

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 201890395 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2018.08.31

(22) Дата подачи заявки  
2016.07.29

(51) Int. Cl. C07C 227/14 (2006.01)  
C07D 209/10 (2006.01)  
C07F 9/06 (2006.01)  
C07D 317/40 (2006.01)  
A61K 31/404 (2006.01)  
A61K 31/66 (2006.01)  
A61K 31/7076 (2006.01)

(54) ПРОЛЕКАРСТВА АНАЛОГОВ ГЛУТАМИНА

(31) 62/199,566

(32) 2015.07.31

(33) US

(86) PCT/US2016/044767

(87) WO 2017/023774 2017.02.09

(71) Заявитель:

ДЗЕ ДЖОНС ХОПКИНС  
ЮНИВЕРСИТИ (US); УСТАВ  
ОРГАНИКЕ КЕМИЕ Э БАЙОКЕМИЕ  
АВ ЧР, В.В.И. (CZ)

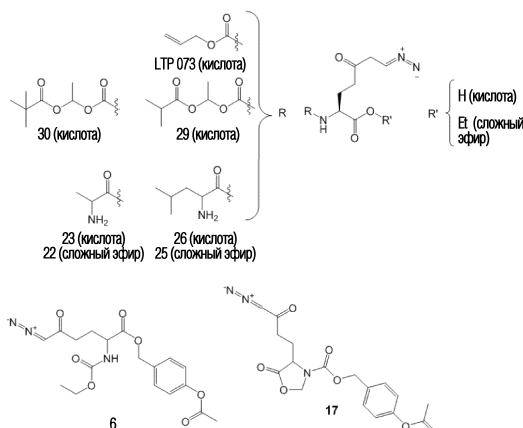
(72) Изобретатель:

Слушер Барбара, Рэйс Рана (US),  
Тенора Лукас (CZ), Майер Павел (US),  
Янкарик Андрей (CZ)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Раскрыты пролекарства аналогов глутамина, такие как пролекарства азасерина, 6-диазо-5-оксо-норлейцина (DON) и 5-диазо-4-оксо-L-норвалина (L-DONV).



A1

201890395

201890395

A1

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-548097EA/081

### ПРОЛЕКАРСТВА АНАЛОГОВ ГЛУТАМИНА

Перекрестная ссылка на связанные заявки

По данной заявке испрашивается преимущественный приоритет согласно предварительной заявке США № 62/199566, поданной 31 июля 2015, которая включена в настоящее описание посредством ссылки во всей своей полноте.

Уровень техники

Пролекарственная методология представляет собой установившуюся стратегию для улучшения физико-химических, биофармацевтических и фармакокинетических свойств молекул потенциального лекарственного средства. Примерно 5-7% лекарственных средств, утвержденных по всему миру, представляют собой пролекарства с годовым объемом продаж в 2013 году 11,2 млрд долларов. Большинство пролекарств являются простыми химическими производными оригинальных молекул. Сложноэфирные пролекарства, наиболее распространенные пролекарства, составляют 49% всех продаваемых пролекарств. Причины популярности сложноэфирных пролекарств включают их обычный прямой передовой синтез, их улучшенную липофильность и проницаемость мембраны и их повсеместную этерифицируемость. Примером подхода к получению сложноэфирного пролекарства является кэппирование кислотного остатка(ов) липофильными алкиловыми или алкилоксиметильными эфирами (т.е. пивалоилоксиметил (POM) или пропилоксикарбонилоксиметил (POC); например, эналаприл, адефовир). Другой подход заключается в том, чтобы закрыть кислотную группу(ы) с аминокислотой для получения амидов, которые распознаются по амидазе/пептидазе в плазме крови при гидролизе, или для получения их субстратов для транспортеров, таких как пептидный транспортер 1 (PEPT1) (например, Romaglumetad метионил, валацикловир).

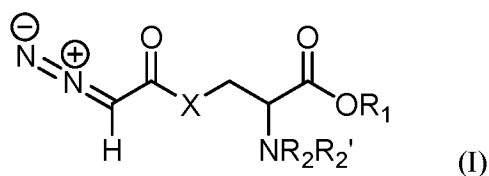
Антагонисты глутамина, такие как 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин (DON) и азасерин, как было показано во многих опубликованных доклинических и нескольких клинических исследованиях, проявляют широкую антивирусную (Antiviral Res. 1997; 33(3):165-75;

Antiviral Res. 1994; 25(3-4):269-79), противоионфекционную (J. Bacteriol. 1965; 89:1348-53), противораковую (см., например, Yoshioka et al., 1992; *Tokushima J. Exp. Med.* 39(1-2):69-76), противовоспалительную и иммунодепрессивную активности (Kulcsar et al., 2014; 111:16053-58; Maciolek et al., 2014; *Curr Opin Immunol.* 27:60-74; Carr et al., 2010; *J Immunol.* 185:1037-1044; Colombo et al., 2010; *Proc Natl Acad Sci USA.* 107:18868-73), а также при подавлении судорог (*Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 1984 Apr 24; 221(1223):145-68), рассеянного склероза (Tohoku, J. Exp. Med. 2009; 217(2):87-92), эпилепсии и вирусного энцефалита (*J. Neurovirool.* 2015 Apr; 21(2):159-73. doi: 10,1007/s13365-015-0314-6). Однако возникновение тяжелой токсичности (например, при дозах, вызывающих GI токсичность, такую как воспаление слизистой оболочки полости рта, кровотечение желудка, тошнота и рвота, боли в животе, лейкопения, тромбоцитопения и т.п.) при введении таких антагонистов глутаминна на уровне терапевтических доз сдерживает их клиническое развитие.

Предыдущие попытки смягчить тяжелую токсичность, связанную с антагонистами глутаминна, такими как DON, были неудачными. Например, разделение ежедневного дозирования и введение DON каждые четыре-шесть часов, по-видимому, удваивали потенциал токсичности (MgGill, et al., 1957). В качестве другого примера, разработка лечения с участием DON, дозируемого с глутаминназой для уменьшения глутаминна в плазме таким образом, чтобы доза DON могла снижаться, была остановлена после опубликования клинических испытаний

#### Сущность изобретения

Представленное изобретение обеспечивает пролекарства антагонистов глутаминна и их фармацевтически приемлемые соли и сложные эфиры. В некоторых аспектах представляемое изобретение обеспечивает пролекарство антагониста глутаминна или его фармацевтически приемлемую соль или его сложный эфир, имеющее структурную формулу (I):



где X выбран из группы, состоящей из связи, -O- и  $-(\text{CH}_2)_n-$ , где n равен целому числу, выбранному из группы, состоящей из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 и 8;  $R_1$  выбран из группы, состоящей из H и первой формирующей пролекарство группы, способной образовывать соль или сложный эфир; и  $R_2$  представляет собой H и вторую формирующую пролекарство группу, способную образовывать амидную связь, карбаматную связь, фосфоамидатную связь или фосфоамидатную связь с азотом, смежным с  $R_2$ ;  $R_2'$  выбран из группы, состоящей из H,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ алкила, замещенного  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ алкила, или  $R_2$  и  $R_2'$ , вместе образуют кольцевую структуру, содержащую  $-\text{C}(=\text{O})-\text{G}-\text{C}(=\text{O})-$ , где G выбран из группы, состоящей из  $\text{C}_1$ - $\text{C}_8$ алкилена,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_8$ гетероалкилена,  $\text{C}_5$ - $\text{C}_8$ циклоалкилена,  $\text{C}_6$ - $\text{C}_{12}$ арилена,  $\text{C}_5$ - $\text{C}_{14}$ гетероарилена, двухвалентного  $\text{C}_4$ - $\text{C}_{10}$ гетероцикла, каждый из которых необязательно замещен; или  $R_1$  и  $R_2'$ , вместе образуют 4-6-членное гетероциклическое кольцо, содержащее атом кислорода, смежный с  $R_1$ , и атом азота, смежный с  $R_2'$ ; при условии, что данное соединение имеет по меньшей мере одну формирующую пролекарство группу, выбранную из группы, состоящей из первой и второй формирующих пролекарство групп.

В других аспектах представленное изобретение обеспечивает фармацевтическую композицию, содержащую соединение формулы (I) и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или эксципиент.

В некоторых аспектах представленное изобретение обеспечивает способ лечения заболевания или состояния, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, соединения формулы (I) или его фармацевтической композиции в эффективном количестве для лечения данного заболевания или состояния. В еще других аспектах представленное изобретение обеспечивает применение соединения формулы (I) или его фармацевтической композиции для лечения заболевания или состояния. В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние выбрано из группы, состоящей из инфекции, рака, аутоиммунного заболевания,

воспалительного заболевания и нейродегенеративного или неврологического заболевания.

В еще другом аспекте представленное изобретение обеспечивает соединение формулы (I) или его фармацевтическую композицию для применения в качестве медицинского препарата.

В еще другом аспекте представленное изобретение обеспечивает соединение формулы (I) или его фармацевтическую композицию для применения при лечении заболевания или состояния, предпочтительно заболевания или состояния, выбранного из группы, состоящей из инфекции, рака, аутоиммунного заболевания, воспалительного заболевания и нейродегенеративного или неврологического заболевания.

В еще другом аспекте представленное изобретение обеспечивает соединение формулы (I) или его фармацевтическую композицию для применения при лечении избыточной и/или аномальной активности глутамина.

Некоторые аспекты представленного объекта изобретения, приведенные выше, которые полностью или частично рассматриваются представленным объектом изобретения, другие аспекты станут очевидны при рассмотрении описания, взятого вместе с сопровождающими примерами и фигурами, как подробно описано ниже.

#### Краткое описание фигур

Таким образом, имея описанный в общих чертах представленное изобретение, теперь будут сделаны ссылки на сопутствующие фигуры, которые, помимо прочего, изображены масштабно, и где

на фиг.1 показан пример amino (R) и карбокси (R') модификаций, сделанных на DON при попытке синтезировать различные медленно высвобождаемые DON пролекарства по настоящему изобретению;

на фиг.2А и фиг.2В продемонстрированы проблемы химической стабильности, возникающие при попытке синтезировать DON пролекарства, включая проблемы стабильности, присутствующие у сложных эфиров DON (фиг.2А) и DON соединений, обладающих свободным концевым карбоксилатом (фиг.2В);

на фиг.3А, фиг.3В, фиг.3С и фиг.3D продемонстрирован ослабленный химизм и плохая фармакокинетика по некоторым

результатам неудачных попыток разработки DON пролекарств. На фиг.3А, фиг.3В, фиг.3С и фиг.3D показано, что большинство DON пролекарств, имеющих свободную карбоксилатную группу, проявляющую незначительное воздействие, по сравнению с DON (за исключением соединения **26**, которое показало некоторое высвобождение; фиг.3А) при пероральном введении мышам, включая соединение **29** (фиг.3В), соединение **23** (фиг.3С) и соединение **30** (фиг.3D), которые показали небольшое высвобождение DON в плазму мышцы после введения. Следует отметить, что высвобождение DON пролекарства **LTP073** было ниже количественного предела во всех образцах плазмы мышцы спустя 30 минут и 5 часов после дозирования (не показано);

на фиг.4А, фиг.4В, фиг.4С и фиг.4D показан процент высвобождения DON в плазму спустя 0,5 часа и 5 ч после введения иллюстративного DON-высвобождающего пролекарства по настоящему изобретению по сравнению с DON. На фиг.4А и фиг.4В показаны результаты фармакокинетического исследования на мышах, показывающие концентрацию DON в плазме после введения DON (1,6 мг/кг п.о.) и DON пролекарства, дозированного при 1,6 мг/кг эквивалентно DON, такого как соединение **22** (фиг.4А; 2,5 мг/кг п.о.) и соединение **25** (фиг.4В; 2,9 мг/кг п.о.). Интересно, что соединение **22** показало меньшее высвобождение спустя 0,5 ч (65% DON), однако уровни были похожи через 5 ч (почти 100%) с DON. На фиг.4С и фиг.4D показаны результаты фармакокинетического исследования на мышах, показывающие концентрацию DON в плазме после введения DON (1,6 мг/кг в.б.) и DON пролекарства **17** (фиг.4С; 3,5 мг/кг п.о.) и соединения **6** (фиг.4D; 3,7 мг/кг п.о.);

на фиг.5 показана стабильность DON пролекарства **25** в забуференном фосфатом физиологическом растворе (PBS) и искусственном желудочном соке (SGF) спустя 30 мин и 60 мин;

на фиг.6 показаны результаты *in vitro* DON пролекарства **25** в плазме мышей, обезьян, свиней и человека спустя 30 мин и 60 мин. Соединение **25**, как было обнаружено, не является стабильным в плазме во всех протестированных образцах, поскольку сложный этиловый эфир и сложный лейциновый эфир подверглись гидролизу

эстеразой плазмы;

на фиг.7 показана общая структура некоторых нацеливающих на клетку DON пролекарств, которые содержат карбоксимодификацию сложного изопропилового эфира;

на фиг.8 показаны результаты скрининга метаболической стабильности *in vitro* нацеленного на клетку фосфамидного DON пролекарства **4** в плазме мышей, обезьян, свиней и человека спустя 30 мин и 60 мин. Соединение **4**, как было обнаружено, не является стабильным в плазме мышей, но стабильно в плазме всех протестированных образцов;

на фиг.9 показаны результаты скрининга метаболической стабильности *in vitro* DON пролекарства **7** в плазме мышей, обезьян, свиней и человека спустя 30 мин и 60 мин. Соединение **7**, как было обнаружено, не является стабильным в плазме мышей, но стабильно в плазме всех протестированных образцов;

на фиг.10 показаны результаты скрининга метаболической стабильности *in vitro* DON пролекарства **9** в плазме собак, мышей, обезьян, свиней и человека спустя 30 мин и 60 мин. Соединение **9**, как было обнаружено, не является стабильным в плазме всех протестированных образцов. Метаболическая идентификация свидетельствует о гидролизе лейцина, а стабильный изопропиловый эфир о конкретном высвобождении внутрь лимфоидных клеток;

на фиг.11A, фиг.11B, фиг.11C, фиг.11D, фиг.11E и фиг.11F продемонстрированы результаты исследования *ex vivo* при сравнении накопления DON и DON пролекарства в плазме, клетках крови, красных кровяных клетках (RBC) и мононуклеарных клетках периферической крови (PBMC) после 30 минут инкубации 20 мкМ DON (фиг.11A) и DON пролекарства **4** (фиг.11B), соединения **7** (фиг.11C), соединения **9** (фиг.11D), соединения **13** (фиг.11E) и соединения **14** (фиг.11F) в цельной крови человека;

на фиг.12A, фиг.12B, фиг.12C и фиг.12D продемонстрированы результаты исследования *ex vivo* при сравнении накопления DON и DON пролекарства в плазме обезьян  *cynomolgus*, клетках крови, RBC и PBMC после 30 минут инкубации 20 мкМ DON (фиг.12A) и DON пролекарства, включая 20 мкМ соединения **4** (фиг.12B), **7** (фиг.12C) и **9** (фиг.12C), в образцах цельной крови обезьян;

на фиг.13А, фиг.13В, и фиг.13С продемонстрированы результаты исследования *ex vivo* при сравнении накопления DON и DON пролекарства в плазме свиней, клетках крови, RBC и PBMC после 30 минут инкубации 20 мкМ DON (фиг.13А) и DON пролекарства, включая 20 мкМ соединения **7** (фиг.13В) и **9** (фиг.13С), в образцах цельной крови свиней;

на фиг.14 показано, что обработка высокой дневной дозой приводит к снижению массы у обработанных DON мышей. Но снижение массы не обнаруживалось у обработанных соединением **25** мышей;

на фиг.15 показано, что обработка высокой дневной дозой приводит к пан-цитопении у обработанных DON мышей. Мыши, обработанные соединением **25**, проявляли некоторую лейкопению;

на фиг.16 показано, что функции почек и печени у мышей, обработанных высокой дозой DON или соединения **25**, не были затронуты;

на фиг.17А и фиг.17В показано, что соединением **25** и DON обрабатывают для лечения лимфомы; DON обработанные мыши умирали, в то время как обработка соединением **25** хорошо переносилась;

на фиг.18А, фиг.18В и фиг.18С показано, что соединение **25** (фиг.18А) снижает  $C_{max}$ ; (фиг.18В) увеличивает опухоль до кишечного индекса; и (фиг.18С) вызывает низкую GI токсичность у мышей по сравнению с DON в эквимоллярных дозах у мышей. Инфицирование вирусом осповакцины яйцеклетки проводилось после ежедневной обработки носителем (Veh), DON (0,8 мг/кг) и соединением **25** (0,8 мг/кг эквивалент) в течение 5 дней. Через 1 ч после последней дозы, животных умерщвляли, тонкий кишечник удаляли, перфузировали DPBS pH 7,4, и закатывали продольно с использованием метода "швейцарский рулет" и фиксировали для парафиновой заливки. Верхняя панель показывает окрашенные гематоксилином и эозином (H и E) разделы тощей кишки-подвздошной кишки при 4-кратном увеличении; нижняя панель показывает некоторые секции в 10-кратном увеличении. DON вызывал значительное воспаление, состоящее из мультифокального искажения крипты (левый круг на рисунке внизу слева) и дилатации с потерей столбчатой эпителиальной морфологии (правый круг на рисунке



внизу слева). DON пролекарство выглядит больше похожим на обработанную наполнителем мышь, со слегка гиперклеточными криптами, но без искажений (левый круг на фото справа внизу) и обычной столбчатой морфологии (правый круг на фото справа внизу);

на фиг.19А и фиг.19В показано, что супрессия костного мозга не обнаружена (фиг.19А), после эффективного дозирования соединением **25** по двум 14-дневным схемам дозирования; (фиг.19В) применение долгосрочных схем перспективного дозирования соединением 25 (48 дней);

на фиг.20 показаны примеры структур DON и основанных на DON- пролекарств;

на фиг.21А и фиг.21В показано, что DON (**1**) ингибирует метаболизм глутамина и рост опухоли множественной глиобластомы (GBM) *in vivo*. На фиг.21А показано, что соединение DON (**1**) (0,8 мг/кг, в.б.) ингибировало метаболизм глутамина, о чем свидетельствует увеличение дозирования эндогенного глутамина в боковой области GBM опухоли через 2 часа после введения относительно обработки носителем контролей; \* $p < 0,05$ . На фиг.21В показаны исследования на эффективность при сравнении с базовым днем 0, у обработанных носителем мышей проявился значительный рост боковой GBM опухоли в ходе эксперимента. С другой стороны, системное введение соединения **1** (0,8 мг/кг, в.б., ежедневно, дни 1-6) вызвало резкое сокращение размера опухоли; \*\*\* $p < 0,001$ , \*\*\*\* $p < 0,0001$ ;

на фиг.22А, фиг.22В и фиг.22С показана фармакокинетика соединения DON (**1**) *in vivo* в мозге и плазме после перорального введения DON (**1**) и соединения **14** мышам. Соединения **1** и **14** дозировали мышам при 0,8 мг/кг эквивалент, перорально через желудочный зонд, и концентрации в плазме и мозге соединения **1** оценивали при помощи ЖХ/МС. Пероральное введение соединений **1** и **14** проявило аналогичные фармакокинетические профили в плазме и мозге из-за полного и быстрого метаболизма соединения **14** в соединение **1** в плазме мыши;

на фиг.23А, фиг.23В и фиг.23С показана фармакокинетика *in vivo* DON после внутривенного (в.в.) введения DON (**1**) и

соединения **14** в плазму обезьян и спинномозговую жидкость (CSF). Соединения **1** и **14** дозировали хвостатым макакам при 1,6 мг/кг эквивалент соединения **1** через в.в. введение, и концентрации DON в плазме (0,25–6 ч) и спинномозговой жидкости (30 мин) оценивали при помощи ЖХ/МС. Относительно соединения **1**, соединение **14** доставляло существенно низшую концентрацию DON в плазму. Обратного эффекта в спинномозговой жидкости не обнаруживалось, при доставке соединением **14** значительно высокой концентрации DON в спинномозговую жидкость, достигалось 10-кратное повышение соотношения спинномозговой жидкости к плазме через 30 минут после дозирования;

на фиг.24 показаны конкретные виды стабильности в плазме соединения **14**; соединение **14** стабильно в плазме человека, свиньи, собаки и обезьяны, но быстро метаболизируется у мышей;

на фиг.25 показаны примеры структур DON и основанных на DON пролекарств **25**, **9**, **38** и **60**; различные N-аминокислотные прогруппы (например, лейцин, триптофан) обеспечивают дифференциал в плазме и микросомную стабильность;

на фиг.26А, фиг.26В, фиг.26С и фиг.26D показана *in vitro* стабильность DON пролекарств **9**, **25**, **38** и **60** в плазме. Метаболизм происходит через удаление N-защитой группы; этиловые и изопропиловые эфиры стабильны в плазме свиней и людей;

на фиг.27А, фиг.27В, фиг.27С и фиг.27D показана *in vitro* микросомальная стабильность печени DON пролекарств **9**, **25**, **38** и **60**; все пролекарства показали умеренно высокую стабильность в микросомах человека и свиньи;

на фиг.28А, фиг.28В, фиг.28С, фиг.28D, фиг.28Е, фиг.28F, фиг.28G, фиг.28H, фиг.28I и фиг.28J показаны *ex-vivo* исследования цельной крови человека и свиньи соединений **9**, **25**, **38** и **60**; DON пролекарства селективно доставляли DON в PBMC людей и свиней при сравнении с плазмой; при сравнении с DON, соотношение PBMC/плазма усиливалось 10–100+ кратно;

на фиг.29А, фиг.29В, фиг.29С, фиг.29D и фиг.29Е показаны *in vivo* исследования на свиньях DON пролекарств **9**, **25**, **38** и **60**; DON пролекарства селективно доставляли DON в PBMC при сравнении с плазмой; при сравнении с DON, соотношение PBMC/плазма

увеличивалось 6-10-кратно;

на фиг.30А, фиг.30В и фиг.30С показана стабильность в плазме соединения метил-РОМ **14** и его производных;

на фиг.31 показаны примеры структур, основанных на N-ацилалкилокси DON, пролекарственных аналогов для внутриклеточной ориентации и проникновения в мозг; добавление их стерического объема в "мостиковому" может привести к медленному гидролизу;

на фиг.32А, фиг.32В и фиг.32С показаны в.в. исследования DON пролекарств на свиньях: *in vivo* у свиней DON пролекарства селективно доставляли DON в РВМС при сравнении с DON;

на фиг.33 показано сравнение соотношения  $AUC_{(0-t)}$  РВМС к плазме DON пролекарств при достижении >6-кратного улучшения соотношения (на основании  $AUC_{0-t}$ ) в сравнении с DON;

на фиг.34А и фиг.34В показаны ВВ исследования DON пролекарства **14**, показавшим низшие концентрации в плазме, но высшие в спинномозговой жидкости, достигнув ~6-7-кратного соотношения >CSF/плазма по сравнению с DON;

на фиг.35 показано соотношение спинномозговой жидкости к плазме через 1 час после в.в. инфузии соединений **1**, **9**, **14а**, **25** и **60**;

на фиг.36 показаны клинические результаты для DON (**1**) и соединения **38** в течение 5-дневного периода наблюдений за обработанными DON свиньями, проявившими более неблагоприятные клинические признаки по сравнению с соединением **38**; дозирование DON (1,6 мг/кг) и соединением **38** (1,5 мг/кг) были выбраны для обеспечения эквивалентного РВМС воздействия; лекарства дозировали в.в. 2 ч/день в течение 5 дней (n=2 свиней); мониторинг клинического заключения проводили для оценки токсичности препарата (например, летаргии, анорексии, диареи, GI-кровотечения и т.д.); спустя 5 дней дозирования, свиней умерщвляли, и ткани собирали для РК и гистопатологии;

на фиг.37А, фиг.37В, фиг.37С и фиг.37D показано, что макроскопически у обработанных DON свиней проявлялась более тяжелая токсичность желудка по сравнению с соединением **38**; расшифровка гистопатологической токсичности для желудочно-

интестинальных и других тканей ожидается; и

на фиг.38 показано, что при эквивалентом РВМС воздействии, введение соединения **38** доставляет меньше DON в GI ткани по сравнению с введением DON; введение DON, как представляется, вызывают более неблагоприятные клинические эффекты по сравнению с введением соединения 38.

Патент или файл заявки содержит по меньшей мере одну фигуру, выполненную в цвете. Копии этого патента или патентных заявок, опубликованных с цветными фигурами, будут предоставлены в Управление по запросу и оплате необходимой пошлины.

Подробное описание

Представленное изобретение теперь будет описано более полно в данном описании со ссылкой на сопровождающие фигуры, в которых представлены некоторые, но не все, варианты осуществления изобретения. Подобные данные относятся к подобным элементам во всем описании. Представленное изобретение может быть воплощено во многих различных формах, и его не следует рассматривать как ограничение вариантами осуществления, представленными в данном описании; скорее эти варианты осуществления предоставляются для раскрытия информации, которая будет удовлетворять применяемым правовым требованиям. Действительно, многие модификации и другие варианты осуществления настоящего изобретения, изложенные в данном описании, на которые обратит внимание специалист в области, к которой относится настоящее изобретение, имея преимущество идей, представленных в данном описании выше, и связанных с ними фигурами. Таким образом, следует понимать, что представленное изобретение не должно быть ограничено раскрытыми конкретными вариантами осуществления, и что модификации и другие варианты осуществления предназначены для включения в объем прилагаемых пунктов формулы изобретения.

I. Пролекарства антагонистов глутамина

DON представляет собой антибиотик, который выделен из *Streptomyces* в 1953 г. DON представляет собой диазоаналог L-глутамина, который вводится в различные реакции при синтезе нуклеиновых кислот и белков, в которых L-глутамин, среди прочего, является донором азота, блокирует различные

распознаваемые глутамин ферменты, такие как глутаминаза, модулирует уровни глутамата в мозге и участвует в энергетическом метаболизме.

Одной из стратегий улучшения терапевтического индекса DON для различных режимов лечения, включая GBM терапию, будет увеличение его воздействия на мозг при ограничении его системного воздействия и, таким образом, на токсичность (Uradhyay, 2014). Пролекарственный подход является установившейся стратегией для изменения фармакокинетики и тканевого распределения молекул лекарственного средства, однако синтетически такой подход является сложной задачей касательно DON. Учитывая, что лабильная диазогруппа DON имеет решающее значение для его глутамин антагонистической активности, добавление прогрупп должно быть выполнено в мягких условиях для сохранения диазокетонной группы.

Представленное изобретение обеспечивает новые композиции по изобретению, где прогруппы добавлены к антагонистам глутамина, таким как 6-диазо-5-оксо-норлейцин (DON) и азасерин.

Раскрываемые в настоящем изобретении пролекарства антагонистов глутамина получают путем блокировки аминных и/или карбоксилатных функциональных групп для изменения фармакокинетики DON, обеспечивая снижение выделения кинетики и клеточной ориентации для повышения переносимости. Кроме того, раскрываемые в настоящем изобретении пролекарства в некоторых вариантах осуществления селективно нацеливают активность антагонистов глутамина на конкретные клетки или обеспечивают снижение высвобождения DON и, таким образом, снижают токсичность молекулы лекарственного средства.

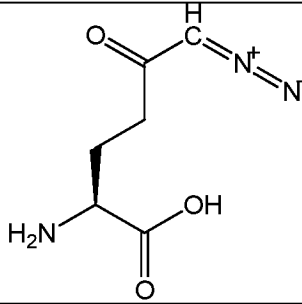
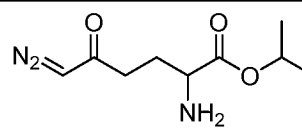
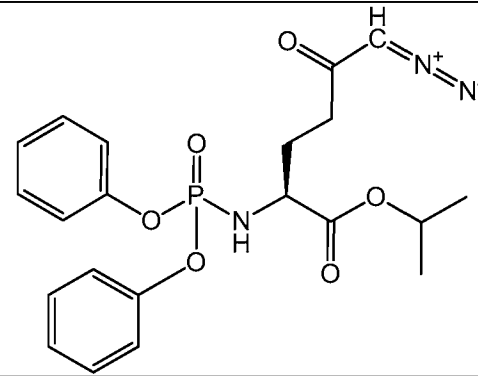
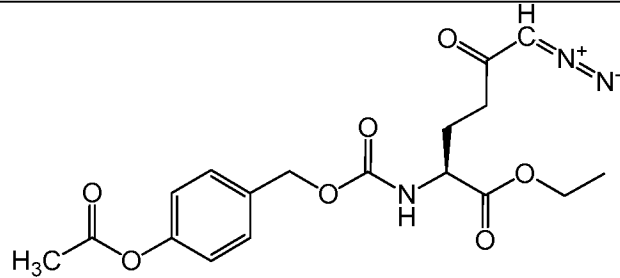
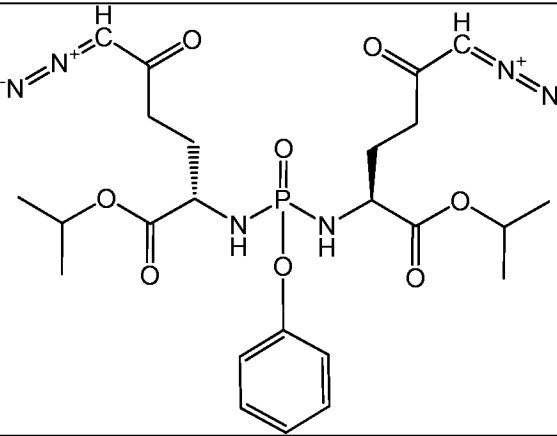
Представленное изобретение демонстрирует, что защита  $\alpha$ -аминогруппы и функциональной карбоксигруппы через образование производного усиливает стабильность пролекарства и пероральную биодоступность. Раскрываемые в настоящем изобретении пролекарства также проявляют стабильность, которая сравнима со стабильностью свободного DON.

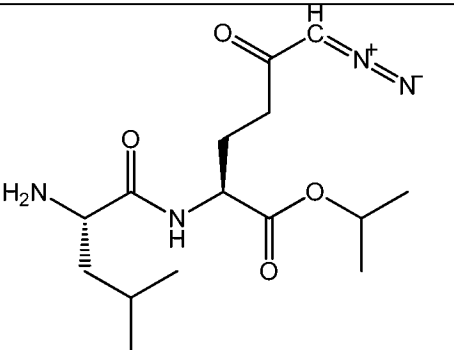
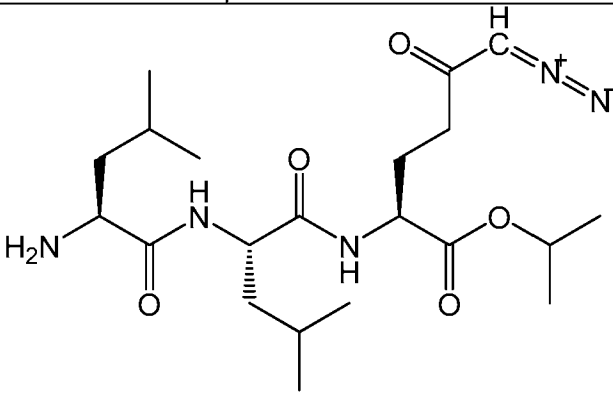
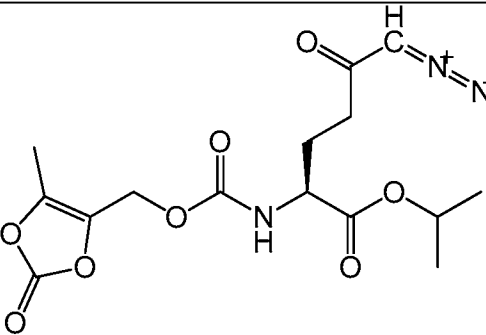
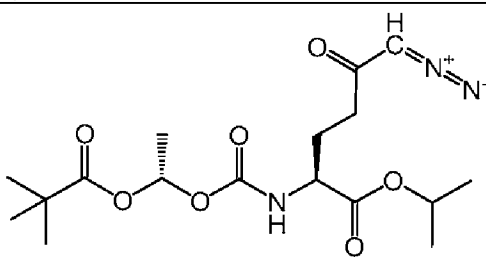
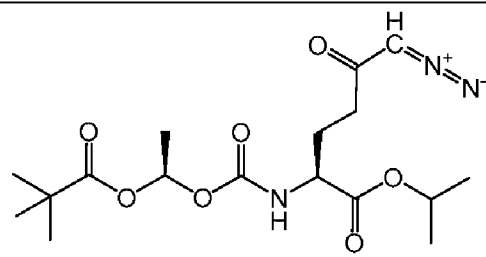
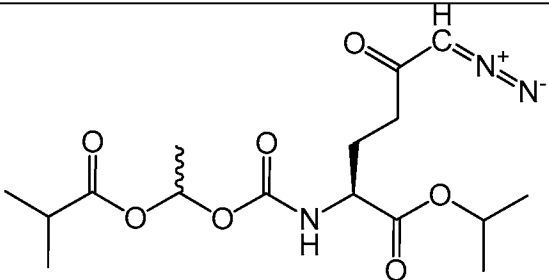
Структуры типичных представителей DON пролекарств

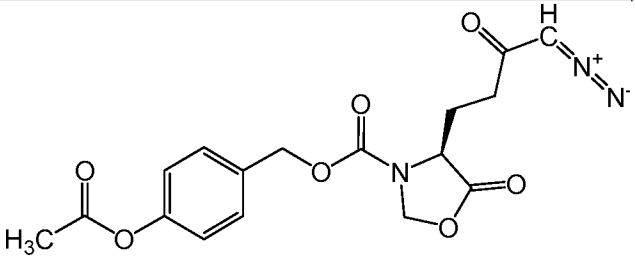
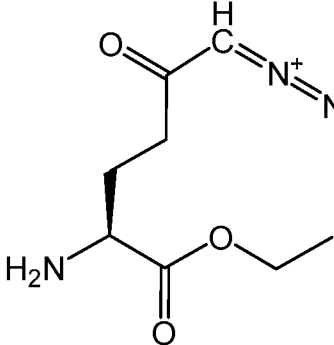
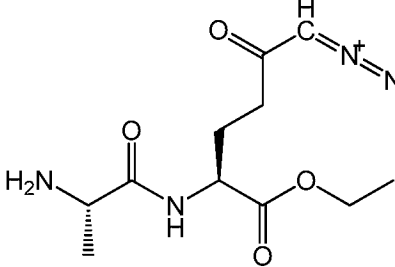
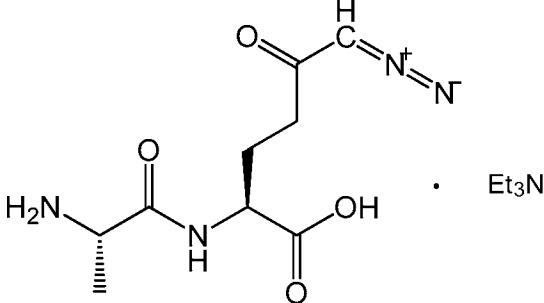
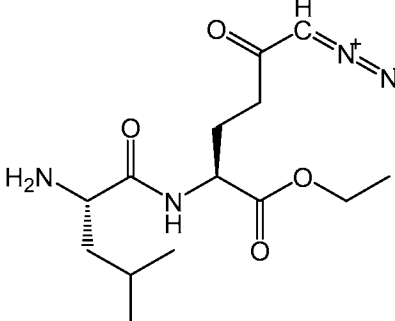
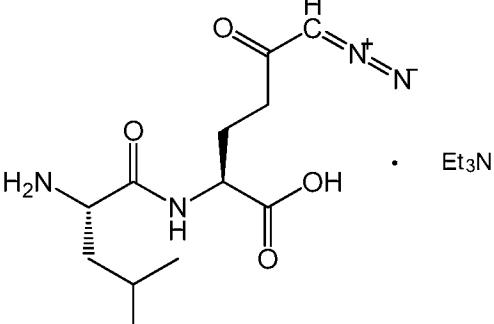
представлены в таблице 1.

Таблица 1

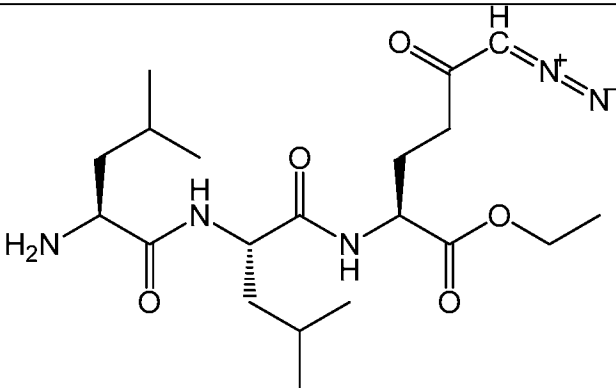
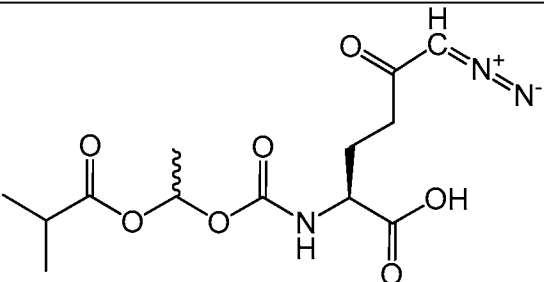
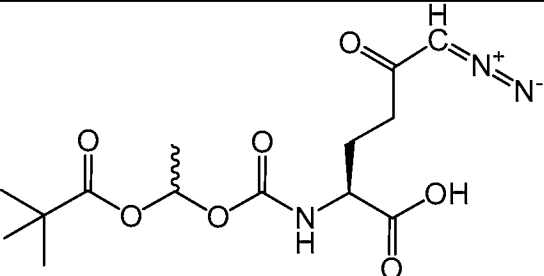
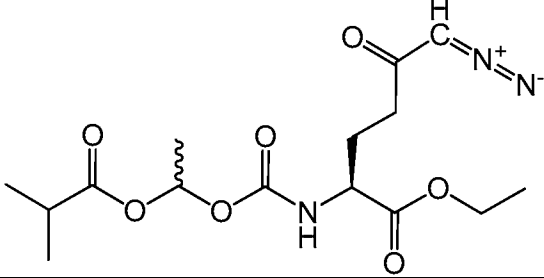
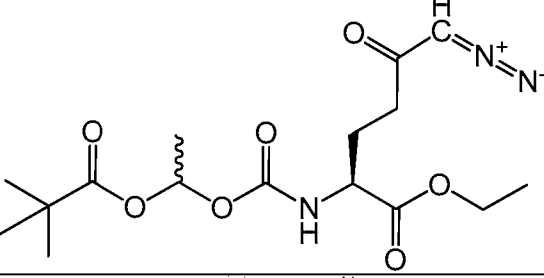
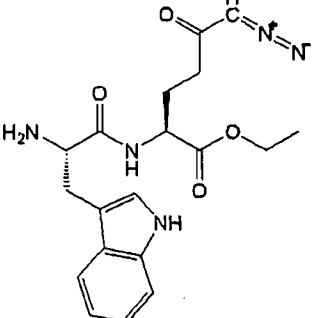
## Структуры типичных представителей DON пролекарств

№ ИОСВ/ № Соединения	Структура	ММ
Соединение 1 (DON)		171, 15
Соединение 3		213, 24
Соединение 4		445, 41
Соединение 6		391, 38
Соединение 7		564, 53

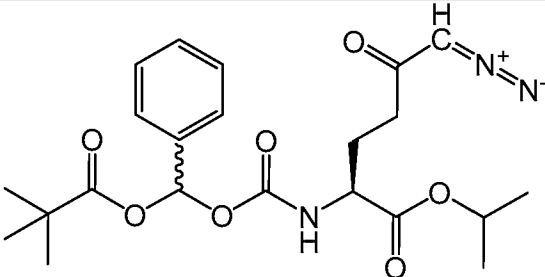
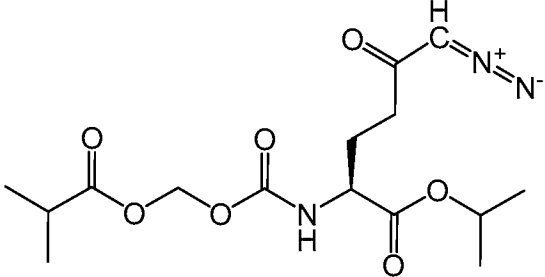
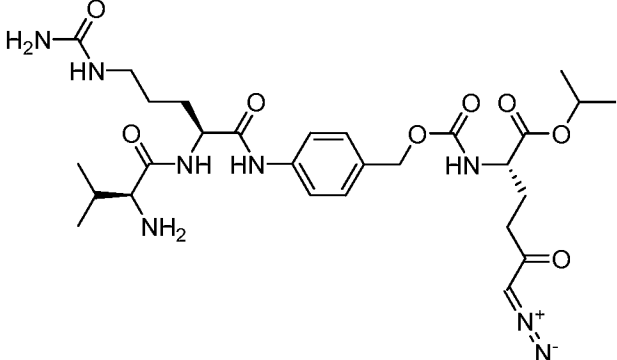
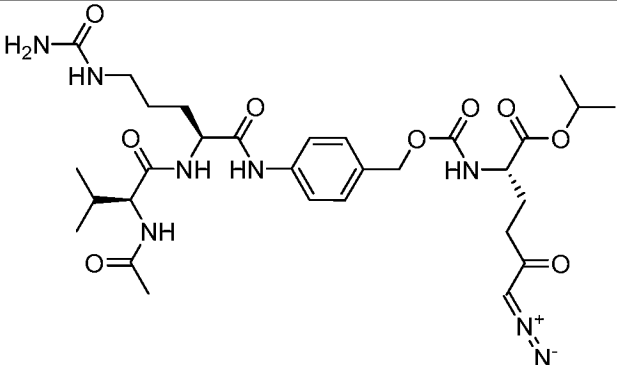
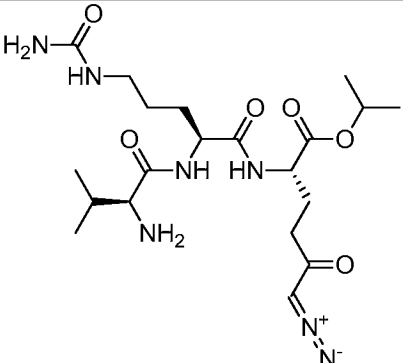
Соединение 9		326, 39
Соединение 11		439, 55
Соединение 13		369, 18
Соединение 14a		385, 41
Соединение 14b		
Соединение 15		371, 39

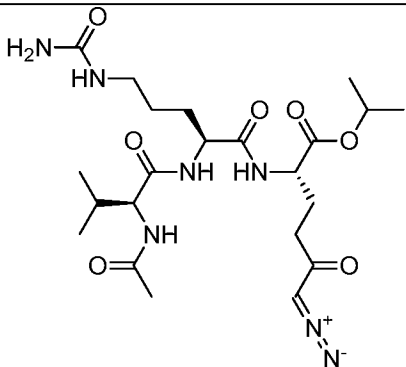
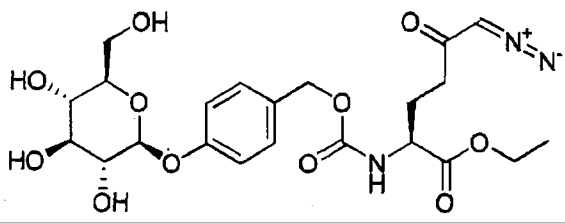
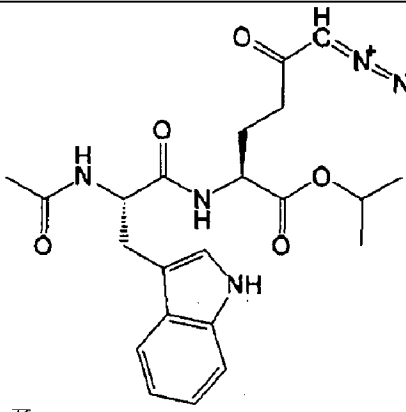
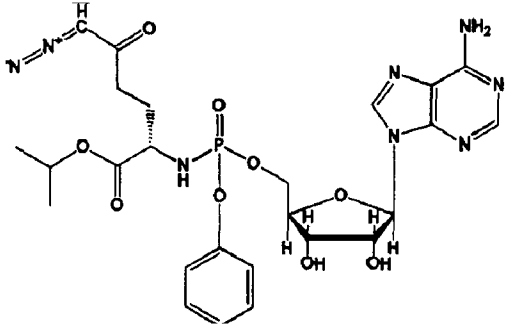
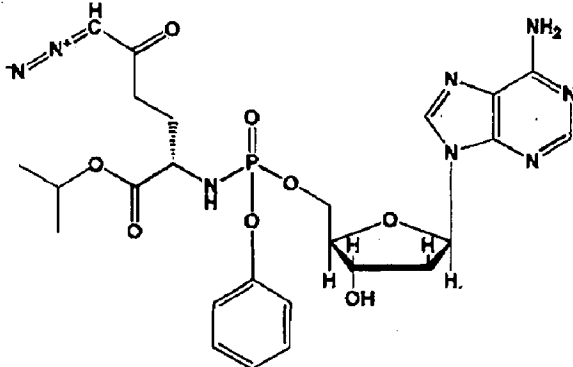
Соединение 17		375, 33
Соединение 20		199, 21
Соединение 22		270, 28
Соединение 23		343, 42
Соединение 25		312, 36
Соединение 26		385, 50

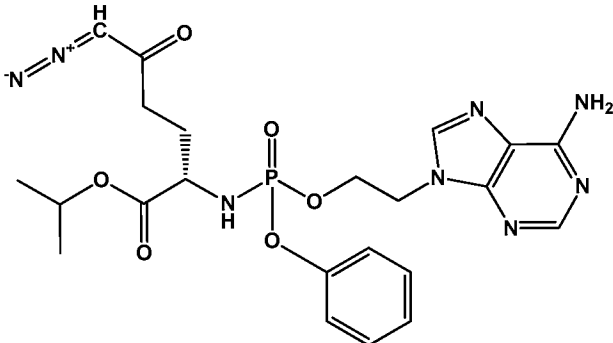
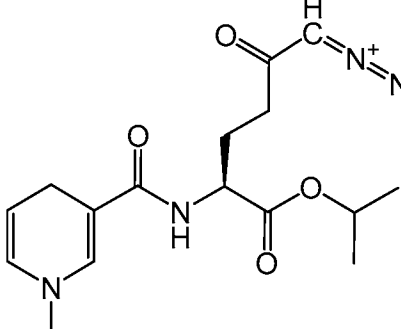
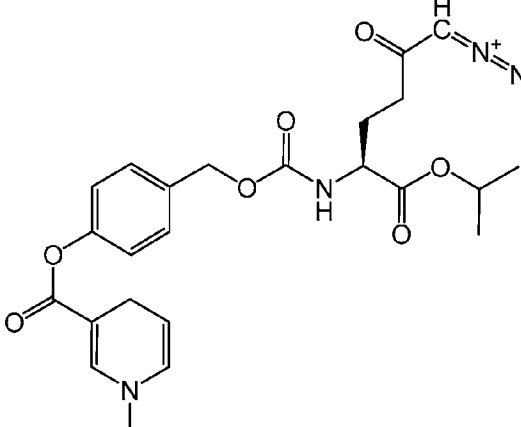
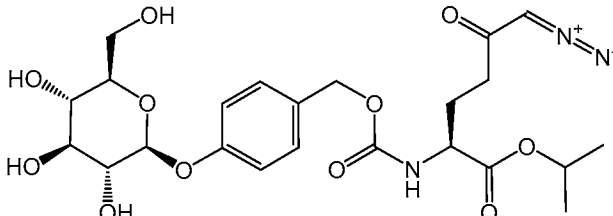
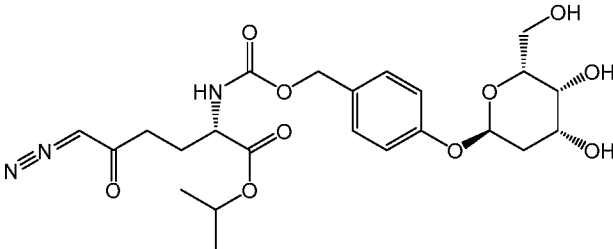
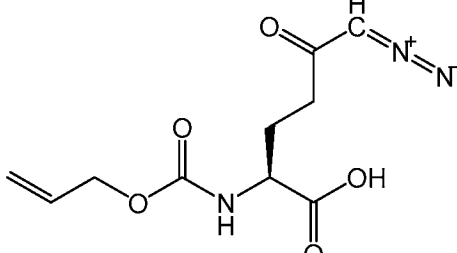


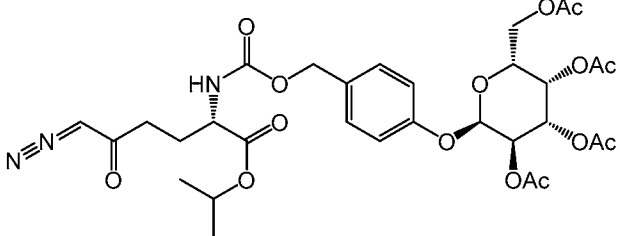
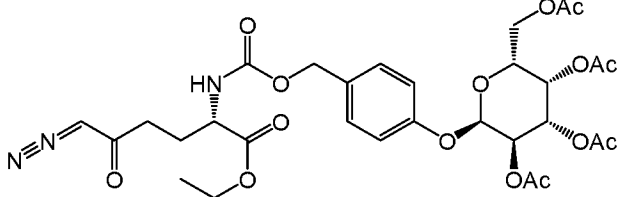
Соединение 28		425, 52
Соединение 29		329, 31
Соединение 30		343, 33
Соединение 31		357, 37
Соединение 32		371, 39
Соединение 34		385, 42

Соединение 35	<chem>CC1=C(C)OC(=O)O1CCOC(=O)N[C@@H](C)C(=O)OCCN=[N+]=[N-]</chem>	327,25
Соединение 36	<chem>CCOC(=O)[C@@H](C)C(=O)OCCN=[N+]=[N-]CCOC(=O)C1=C(C)OC(=O)O1</chem>	355,30
Соединение 38	<chem>CC(C)OC(=O)[C@@H](C)C(=O)OCCN=[N+]=[N-]CCOC(=O)N[C@@H](C)C(=O)N1C=CC=C2C(=N1)N</chem>	399,45
Соединение 40	<chem>CC(C)OC(=O)[C@@H](C)C(=O)OCCN=[N+]=[N-]CCOC(=O)N[C@@H](C)C(=O)OCC(=O)OC1(C)C(C)(C)OCC1</chem>	413,47
Соединение 42	<chem>CC(C)OC(=O)[C@@H](C)C(=O)OCCN=[N+]=[N-]CCOC(=O)N[C@@H](C)C(=O)OCC(=O)OCC1(C)C(C)(C)OCC1</chem>	371,39
Соединение 44	<chem>CC(C)OC(=O)[C@@H](C)C(=O)OCCN=[N+]=[N-]CCOC(=O)N[C@@H](C)C(=O)OCC(=O)OC1(C)C(C)(C)OCC1</chem>	2,44

Соединение 47		447, 49
Соединение 49		357, 36
Соединение 51		618, 69
Соединение 52		660, 73
Соединение 56		469, 54

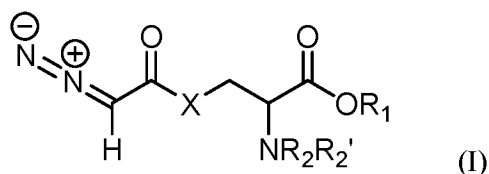
Соединение 57		511, 58
Соединение 59		511, 48
Соединение 60		464, 19
<u>A</u>		618, 54
<u>B</u>		602, 54

C		530, 47
D		334, 38
E		484, 51
F		525, 51
G		509, 51
<u>LTP 073</u>		255, 23

<u>JAM0351</u>		693, 66
<u>JAM0359</u>		679, 63

Специалисту в данной области будет очевидно, что структуры типичных представителей DON пролекарств, приведенных в таблице 1, в сочетании с методологией, раскрываемой в данном описании, позволит специалисту в данной области синтезировать пролекарства других аналогов глутамина, таких как L-DONV, азасерин, как проиллюстрировано на общих структурах формулы (I). Другими словами, следует понимать, что пролекарства других антагонистов глутамина, таких как L-DONV, азасерин, могут быть синтезированы с такими же заместителями  $R_1$ ,  $R_2$  и  $R_2'$  в качестве DON пролекарств, приведенных в таблице 1.

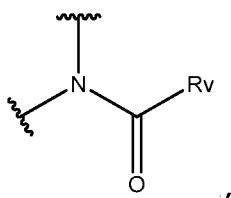
Соответственно, в одном из аспектов представленное изобретение обеспечивает пролекарство антагониста глутамина или его фармацевтически приемлемую соль или его сложный эфир, имеющее структурную формулу (I):



где X выбран из группы, состоящей из связи, -O- и  $-(\text{CH}_2)_n-$ , где n равен целому числу, выбранному из группы, состоящей из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 и 8;  $R_1$  выбран из группы, состоящей из H и первой формирующей пролекарство группы, способной образовывать соль или сложный эфир; и  $R_2$  представляет собой H и вторую формирующую пролекарство группу, способную образовывать амидную связь, карбаматную связь, фосфоамидатную связь или фосфоамидатную связь с азотом, смежным с  $R_2$ ;  $R_2'$  выбран из группы, состоящей из H,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ алкила, замещенного  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ алкила или

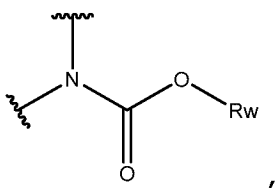
$R_2$  и  $R_2'$ , вместе образуют кольцевую структуру, содержащую  $-C(=O)-G-C(=O)-$ , где  $G$  выбран из группы, состоящей из  $C_1-C_8$ алкилена,  $C_1-C_8$ гетероалкилена,  $C_5-C_8$ циклоалкилена,  $C_6-C_{12}$ арилена,  $C_5-C_{14}$ гетероарилена, двухвалентного  $C_4-C_{10}$ гетероцикла, каждый из которых необязательно замещен; или  $R_1$  и  $R_2'$ , вместе образуют 4-6-членное гетероциклическое кольцо, содержащее атом кислорода, смежный с  $R_1$  и атом азота, смежным с  $R_2'$ ; при условии, что данное соединение имеет по меньшей мере одну формирующую пролекарство группу, выбранную из группы, состоящей из первой и второй формирующих пролекарство групп.

Как использовано в данном описании, термин "амидная связь" включает структуру, представленную формулой:



где  $R_v$  выбран из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, арила, замещенного арила, аралкила, замещенного аралкила, гетероциклила, замещенного гетероциклила, алкенила, замещенного алкенила, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, алкиламина, замещенного алкиламина, гетероарила и замещенного гетероарила.

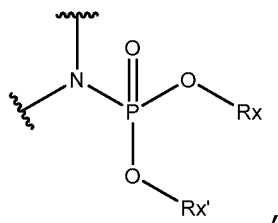
Как использовано в данном описании, термин "карбаматная связь" включает структуру, представленную формулой:



где  $R_w$  выбран из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, арила, замещенного арила, аралкила, замещенного аралкила, гетероциклила, замещенного гетероциклила, алкенила, замещенного алкенила, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, алкиламина, замещенного алкиламина, гетероарила и замещенного гетероарила.

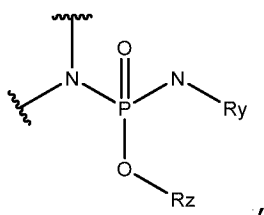
Как использовано в данном описании, термин "фосфоамидатная

связь" включает структуру, представленную формулой:

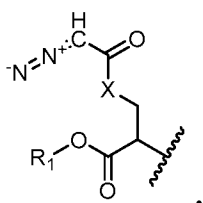


где  $R_x$  и  $R_{x'}$ , каждый независимо, выбран из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, арила, замещенного арила, аралкила, замещенного аралкила, гетероциклила, замещенного гетероциклила, алкенила, замещенного алкенила, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, алкиламина, замещенного алкиламина, гетероарила и замещенного гетероарила.

Как использовано в данном описании, термин "фосфородиамидатная связь" включает структуру, представленную формулой:



где  $R_y$  и  $R_z$ , каждый независимо, выбран из группы, состоящей из H, алкила, замещенного алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, гетероциклила, замещенного гетероциклила, алкенила, замещенного алкенила, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила,  $-(CR_3R_4)_m-Z$ ,  $-(CR_3R_4)_m-Q-Z$ , арила, замещенного арила, алкиламина, замещенного алкиламина, гетероарила, замещенного гетероарила и



В некоторых вариантах осуществления X представляет собой  $-CH_2-$ , и n равен 1.

В других вариантах осуществления X представляет собой  $-O-$ . В некоторых вариантах осуществления пролекарственное соединение имеет как первую формирующую пролекарство группу, так и вторую



формирующую пролекарство группу. В некоторых вариантах осуществления аналог глутамина представляет собой антагонист глутамина, т.е. пролекарством является пролекарство аналога глутамина, которое является антагонистом глутаминного пути. Примеры антагонистов глутамина включают, но без ограничения, 6-диазо-5-оксо-норлейцин (DON) и азасерин, и 5-диазо-4-оксо-L-норвалин (L-DONV).

В некоторых вариантах осуществления представленное изобретение обеспечивает пролекарство DON. В некоторых вариантах осуществления пролекарство DON имеет структуру формулы (I). В некоторых вариантах осуществления представленное изобретение обеспечивает пролекарство L-DONV. В некоторых вариантах осуществления пролекарство L-DONV имеет структуру формулы (I). В некоторых вариантах осуществления представленное изобретение обеспечивает пролекарство азасерина. В некоторых вариантах осуществления пролекарство азасерина имеет структуру формулы (I).

В некоторых вариантах осуществления  $R_1$  формулы (I) включает в себя остаток  $PRO_1$  формирующей пролекарство группы, которая вместе с основной группой и концевой гидроксильной группой формирует соль.

В некоторых вариантах осуществления  $R_1$  формулы (I) включает в себя остаток  $PRO_1$  формирующей пролекарство группы, которая вместе с алкильной группой и кислородом смежной гидроксильной группы образует сложный эфир.

В некоторых вариантах осуществления  $R_1$  формулы (I) включает в себя остаток  $PRO_1$  формирующей пролекарство группы, которая вместе с алкильной группой и атомом азота смежной  $R_2'$  группы, формирует азлактон или оксазолидон.

В некоторых вариантах осуществления  $R_1$  формулы (I) выбран из группы, состоящей из H, алкила, замещенного алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, три (гидрокарбил) аммония и тетра (гидрокарбил) аммония. Предпочтительные заместители алкильной группы, циклоалкильной группы, алкенильной группы,

алкинильной группы и циклоалкенильной группы включают алкил, замещенный алкил, галоген, ариламино, ацил, гидроксил, арилоксил, алкоксил, алкилтио, арилтио, аралкилоксил, аралкилтио, карбоксил, алкоксикарбонил, оксо и циклоалкил.

В некоторых вариантах осуществления  $R_1$  формулы (I) не является H. В некоторых вариантах осуществления  $R_1$  формулы (I) не является H, когда  $R_2$  и  $R_2'$  представляют собой H. В некоторых вариантах осуществления  $R_2$  и  $R_2'$  формулы (I), каждый представляет собой H, когда  $R_1$  не является H.

В некоторых вариантах осуществления  $R_1$  формулы (I) выбран из группы, состоящей из  $C_{1-6}$  неразветвленного алкила, замещенного  $C_{1-6}$  неразветвленного алкила,  $C_{1-6}$  разветвленного алкила, замещенного  $C_{1-6}$  разветвленного алкила, три ( $C_1$ - $C_8$ алкил) аммония, тетра ( $C_1$ - $C_8$ алкил) аммония, трифениламмония, три (гидрокси- $C_1$ - $C_8$ алкил) аммония и тетра (гидрокси- $C_1$ - $C_8$ алкил) аммония.

В некоторых вариантах осуществления  $R_1$  формулы (I) выбран из группы, состоящей из метила, этила, изопропила, циклопентила, циклогексила, триметиламмония, триэтиламмония, три (гидроксиэтил) аммония, трипропиламмония и три (гидроксипропил) аммония. В некоторых вариантах осуществления  $R_1$  формулы (I) представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления  $R_1$  формулы (I) представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления  $R_1$  формулы (I) представляет собой изопропил.

В некоторых вариантах осуществления  $R_2$  формулы (I) включает в себя остаток  $PRO_2$  второй формирующей пролекарство группы, которая вместе с карбонильной, оксикарбонильной или фосфонильной группой и азотом смежной NH, формирует амидную, карбаматную, фосфоамидатную или фосфородиамидатную связь.

В некоторых вариантах осуществления  $R_2$  формулы (I) включает группу, выбранную из группы, состоящей из аминокислоты, N-замещенной аминокислоты, пептида, замещенного пептида, моноциклического кольца, замещенного моноциклического кольца, бициклического кольца, замещенного бициклического кольца, пурин-нуклеозида, замещенного пурин-нуклеозида, пиримидин-нуклеозида и замещенного пиримидин-нуклеозида.

Как использовано в данном описании, термин "аминокислота" включает группы, имеющие группу карбоновой кислоты и аминогруппу. Термин аминокислота также включает природные аминокислоты (включая протеиногенные аминокислоты) и не природные аминокислоты. Термин "природная аминокислота" также включает другие аминокислоты, которые могут быть включены в белки в ходе трансляции (включая пирролизин и селеноцистеин). Кроме того, термин "природная аминокислота" также включает другие аминокислоты, которые формируются в ходе промежуточного метаболизма, например, орнитин, образованный из аргинина в цикле мочевины. Природные аминокислоты обобщены в таблице 2:

**Таблица 2**  
**Природные Аминокислоты (Используемые для биосинтеза белка)**

Аминокислота	3-буквенный код	1-буквенный код
Аланин	ALA	A
Цистеин	CYS	C
Аспарагиновая кислота	ASP	D
Глутаминовая кислота	GLU	E
Фенилаланин	PHE	F
Глицин	GLY	G
Гистидин	HIS	H
Изолейцин	ILE	I
Лизин	LYS	K
Лейцин	LEU	L
Метионин	MET	M
Аспарагин	ASN	N
Пролин	PRO	P
Глутамин	GLN	Q
Аргинин	ARG	R
Серин	SER	S
Треонин	THR	T
Валин	VAL	V
Триптофан	TRP	W
Тирозин	TYR	Y

Природная или не природная аминокислота может быть необязательно замещенной. В одном из вариантов осуществления аминокислота выбрана из протеиногенных аминокислот. Протеиногенные аминокислоты включают глицин, аланин, валин, лейцин, изолейцин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту,

серин, треонин, глутамин, аспарагин, аргинин, лизин, пролин, фенилаланин, тирозин, триптофан, цистеин, метионин и гистидин. Термин аминокислота включает альфа аминокислоты и бета аминокислоты, такие как, но, не ограничиваясь ими, бета аланин и 2-метил-бета-аланин. Термин аминокислота также включает некоторые лактамные аналоги природных аминокислот, такие как, но, не ограничиваясь ими, пироглутамин. Термин аминокислота также включает гомологи аминокислот, включая гомоцитруллин, гомоаргинин, гомосерин, гомотирозин, гомопролин и гомофенилаланин.

Концевое положение аминокислотного остатка или пептида может присутствовать в форме свободной кислоты, т.е. завершаться -COOH группой, или может быть в замаскированной (защищенной) форме, такой как форма карбоксилатного сложного эфира или карбоксамида. В некоторых вариантах осуществления аминокислотный или пептидный остаток заканчивается аминогруппой. В одном из вариантов осуществления данный остаток заканчивается группой карбоновой кислоты -COOH или аминогруппой -NH<sub>2</sub>. В другом варианте осуществления данный остаток заканчивается карбоксамидной группой. В еще одном варианте осуществления данный остаток заканчивается карбоксилатным сложным эфиром.

Как описано в данном описании выше, термин "аминокислота" включает соединения, имеющие -COOH группу и -NH<sub>2</sub> группу. Замещенная аминокислота включает аминокислоту, которая имеет аминогруппу, которая является моно- или дизамещенной. В особых вариантах осуществления аминогруппа может быть монозамещенной. (Протеиногенная аминокислота может быть замещена в другом сайте от ее аминогруппы с образованием аминокислоты, которая представляет собой замещенную протеиногенную аминокислоту). Термин замещенная аминокислота также включает N-замещенные метаболиты природных аминокислот, включая, но, не ограничиваясь ими, N-ацетилцистеин, N-ацетилсерин и N-ацетилтреонин.

Например, термин "N-замещенная аминокислота" включает N-алкиламинокислоты (например, C<sub>1-6</sub> N-алкиламинокислоты, такие как саркозин, N-метилаланин, N-метилглутаминовая кислота и N-трет-

бутилглицин), которые могут включать  $C_{1-6}$  N-замещенные алкиламинокислоты (например, N- (карбоксиалкил) аминокислоты (например, N- (карбоксиметил) аминокислоты) и N-метилциклоалкиламинокислоты (например, N-метилциклопропиламинокислоты)); N, N-диалкиламинокислоты (например, N, N-ди- $C_{1-6}$ алкиламинокислоты (например, N, N-диметиламинокислоту)); N, N, N-триалкиламинокислоты (например, N, N, N-tri- $C_{1-6}$ алкиламинокислоты (например, N, N, N-триметиламинокислоту)); N-ациламинокислоты (например,  $C_{1-6}$  N-ациламинокислоту); N-ариламинокислоты (например, N-фениламинокислоты, такие как N-фенилглицин); N-амидиниламинокислоты (например, N-амидинаминокислоту, т.е. аминокислоту, в которой аминная группа заменена гуанидиногруппой).

Термин "аминокислота" также включает алкиловые эфиры аминокислоты (например,  $C_{1-6}$ алкиловые эфиры аминокислоты); и ариловые эфиры аминокислоты (например, фениловые эфиры аминокислоты).

Для аминокислот, имеющих гидроксигруппу, присутствующую на боковой цепи, термин "аминокислота" также включает O-алкиламинокислоты (например, простые эфиры  $C_{1-6}$  O-алкиламинокислоты); O-ариламинокислоты (например, простые эфиры O-фениламинокислоты); сложные эфиры O-ациламинокислоты и O-карбамоиламинокислоты.

Для аминокислот, имеющих тиольную группу, присутствующую на боковой цепи, термин "аминокислота" также включает S-алкиламинокислоты (например,  $C_{1-6}$  S-алкиламинокислоты, такие как S-метилметионин, которые могут включать  $C_{1-6}$  S-замещенные алкиламинокислоты и S-метилциклоалкиламинокислоты (например, S-метилциклопропиламинокислоту)); S-ациламинокислоты (например,  $C_{1-6}$  S-ациламинокислоты); S-ариламинокислоты (например, S-фениламинокислоту); сульфоксидный аналог серусодержащей аминокислоты (например, метионинсульфоксид) или сульфоксидный аналог S-алкиламинокислоты (например, S-метилцистеинсульфоксид) или S-ариламинокислоты.

Другими словами, представленное изобретение также предусматривает производные природных аминокислот, таких, как представлено выше, которые функционализированы путем простейших синтетических преобразований, известных в данной области (например, как описано в "Protective Groups in Organic Synthesis" by T W Greene and P G M Wuts, John Wiley & Sons Inc. (1999)), и приведенных там ссылках.

Примеры непротеиногенных аминокислот включают, но, не ограничиваясь ими: цитруллин, гидроксипролин, 4-гидроксипролин,  $\beta$ -гидроксивалин, орнитин,  $\beta$ -аминоаланин, альбициин (albizziin), 4-аминофенилаланин, бифенилаланин, 4-нитрофенилаланин, 4-фторфенилаланин, 2,3,4,5,6-пентафторфенилаланин, норлейцин, циклогексилаланин,  $\alpha$ -аминоизомасляную кислоту,  $\alpha$ -аминомасляную кислоту,  $\alpha$ -аминоизомасляную кислоту, 2-аминоизомасляную кислоту, 2-аминоиндан-2-карбоновую кислоту, селенометионин, лантионин, дегидроаланин,  $\gamma$ -аминомасляную кислоту, нафтилаланин, аминоксептановую кислоту, пипеколиновую кислоту, 2,3-диаминопропионовую кислоту, тетрагидроизохинолин-3-карбоновую кислоту, трет-лейцин, трет-бутилаланин, циклопропилглицин, циклогексилглицин, 4-аминопиперидин-4-карбоновую кислоту, диэтилглицин, дипропилглицин и их производные, где азот амина моно- или диалкилирован.

Термин "пептид" относится к аминокислотной цепи, состоящей из 2-9 аминокислот, если специально не указано иное. В предпочтительных вариантах осуществления пептид, используемый в настоящем изобретении, представляет собой 2 или 3 аминокислоты в длину. В одном из вариантов осуществления пептид может быть разветвленным пептидом. В таком варианте осуществления по меньшей мере одна аминокислота боковой цепи в данном пептиде связана с другой аминокислотой (или через одну концевую или боковую цепь).

Термин "N-замещенный пептид" относится к аминокислотной цепи, состоящей из 2-9 аминокислот, в которых одна или более групп NH являются замещенными, например, заместителем, описанным в других местах данного описания, в связи с замещенными

аминогруппами. Необязательно, N-замещенный пептид имеет замещенную N-концевую аминогруппу, и в одном из вариантов осуществления амидные связи являются незамещенными.

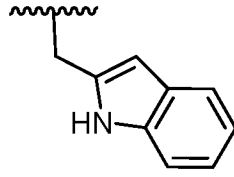
В одном из вариантов осуществления аминокислотная боковая цепь связана с другой аминокислотой. В дополнительном варианте осуществления боковая цепь связана с аминокислотой через аминокислотный N-конец, C-конец или боковую цепь.

Примеры боковых цепей природных аминокислот включают водород (глицин), метил (аланин), изопропил (валин), втор-бутил (изолейцин),  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$  (лейцин), бензил (фенилаланин), п-гидроксibenзил (тирозин),  $-\text{CH}_2\text{OH}$  (серин),  $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$  (треонин),  $-\text{CH}_2-3$ -индоил (триптофан),  $-\text{CH}_2\text{COOH}$  (аспарагиновая кислота),  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$  (глутаминовая кислота),  $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$  (аспарагин),  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$  (глутамин),  $-\text{CH}_2\text{SH}$ , (цистеин),  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$  (метионин),  $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$  (лизин),  $-(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(\text{=NH})\text{NH}_2$  (аргинин) и  $-\text{CH}_2-3$ -имидазоил (гистидин).

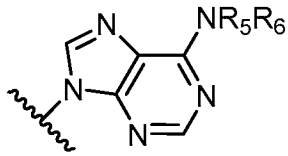
Примеры моноциклических колец и бициклических колец включают, но без ограничения, бензольные, пиримидиновые и пуриновые, и, как правило, арильные и гетероарильные кольца. Примеры гетероариллов включают, но, не ограничиваясь ими, пиридил, пиримидинил, пиразинил, фуранил, тиенил, пиразолил, оксазолил, тиазолил, изотиазолил, изоксазолил, пирролил, имидазолил, индолил, индолинолил и имидазопиридазинил. Арилы включают фенил ( $\text{C}_6$ ), бензил, нафтил ( $\text{C}_{10}$ ) и бифенил ( $\text{C}_{12}$ ). Примеры пиримидинов включают, но без ограничения, цитозин, тимин и урацил. Примеры пуринов включают, но без ограничения, пурин, аденин, N-замещенный аденин, гуанин, гипоксантин, ксантин, теобромин, кофеин, мочевую кислоту и изогуанин. Примеры пурин-нуклеозидов включают, но без ограничения, аденин и гуанин.

В некоторых вариантах осуществления  $\text{R}_2$  формулы (I) выбран из группы, состоящей из H, алкила,  $-\text{C}(\text{=O})-\text{Ar}$ ,  $-\text{C}(\text{=O})-\text{Y}-(\text{CR}_3\text{R}_4)_m-\text{Ar}$ ,  $-\text{C}(\text{=O})-\text{Y}-(\text{CR}_3\text{R}_4)_m-\text{NR}_5\text{R}_6$ ,  $-\text{P}(\text{=O})(\text{OR}_7)_n(\text{NHR}_9)_o$ ,  $-\text{C}(\text{=O})-\text{Y}-(\text{CR}_3\text{R}_4)_m-\text{Ar}-\text{O}-\text{C}(\text{=O})-\text{R}_8$ ,  $-\text{C}(\text{=O})-\text{Y}-(\text{CR}_3\text{R}_4)_m-\text{Ar}-\text{O}-\text{R}_8$ ,  $-\text{C}(\text{=O})-\text{O}-(\text{CR}_3\text{R}_4)_m-\text{O}-\text{C}(\text{=O})-\text{R}_{10}$ ,  $-\text{C}(\text{=O})-\text{O}-\text{R}_9$ ,  $-\text{C}(\text{=O})-\text{Y}-(\text{CR}_3\text{R}_4)_m-\text{Ar}-\text{O}-\text{C}(\text{=O})-\text{Ar}$  и  $-\text{C}(\text{=O})-\text{Y}-(\text{CR}_3\text{R}_4)_m-\text{Ar}-\text{NR}_5\text{R}_6$ ; где Y представляет собой -O- или связь; m равен целому числу, выбранному из группы, состоящей из 0, 1, 2, 3, 4,

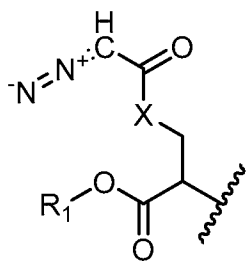
5, 6, 7 и 8; каждый  $n$  и  $o$  равен целому числу от 0 до 2, при условии, что сумма  $n$  и  $o$  равна 2;  $R_3$  и  $R_4$  независимо представляют собой H,  $C_1$ - $C_6$ алкил или замещенный  $C_1$ - $C_6$ алкил, арил или замещенный



арил,  $-(CR_3R_4)_m-NR_5R_6$  или ; каждый  $R_5$  и  $R_6$  независимо представляет собой H, алкил,  $-C(=O)-(CR_3R_4)_m$ ,  $-C(=O)-(NR_5R_6)$  или  $-C(=O)-(CR_3R_4)_m-NR_5R_6$ ; каждый  $R_7$  независимо выбран из группы, состоящей из H, алкила, замещенного алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, гетероциклила, замещенного гетероциклила, алкенила, замещенного алкенила, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила,  $-(CR_3R_4)_m-Z$ ,  $-(CR_3R_4)_m-Q-Z$ , где  $Q$  представляет собой моносахарид, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, и где  $Z$  представляет собой



, или где  $R_7$ , вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, образует пурин или пиримидин-нуклеозид; каждый  $R_9$  независимо выбран из группы, состоящей из H, алкила, замещенного алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, гетероциклила, замещенного гетероциклила, алкенила, замещенного алкенила, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила,  $-(CR_3R_4)_m-Z$ , арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила и



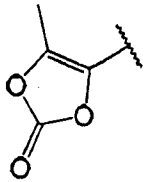
, где  $R_1$  и  $X$  являются такими, как определено выше, при условии, что  $R_1$  не является H;

каждый  $R_8$  независимо представляет собой алкил, замещенный алкил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, моносахарид, ацилированный моносахарид, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил; каждый  $R_{10}$  независимо представляет собой алкил, замещенный алкил, циклоалкил, замещенный циклоалкил,

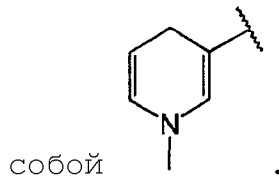


моносахарид, ацилированный моносахарид, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил; и Ar представляет собой арил, замещенный арил, гетероарил или замещенный гетероарил. Следует понимать, что в дополнение к заместителям на аминогруппе Z, один или более заместителей  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$  и/или  $R_6$  могут находиться на 5- или 6-членном кольце Z.

В особых вариантах осуществления Ar представляет собой

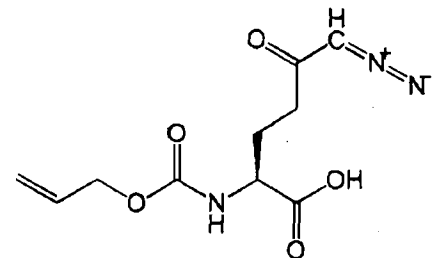


В других особых вариантах осуществления Ar представляет



В еще других особых вариантах осуществления Ar представляет собой бензил.

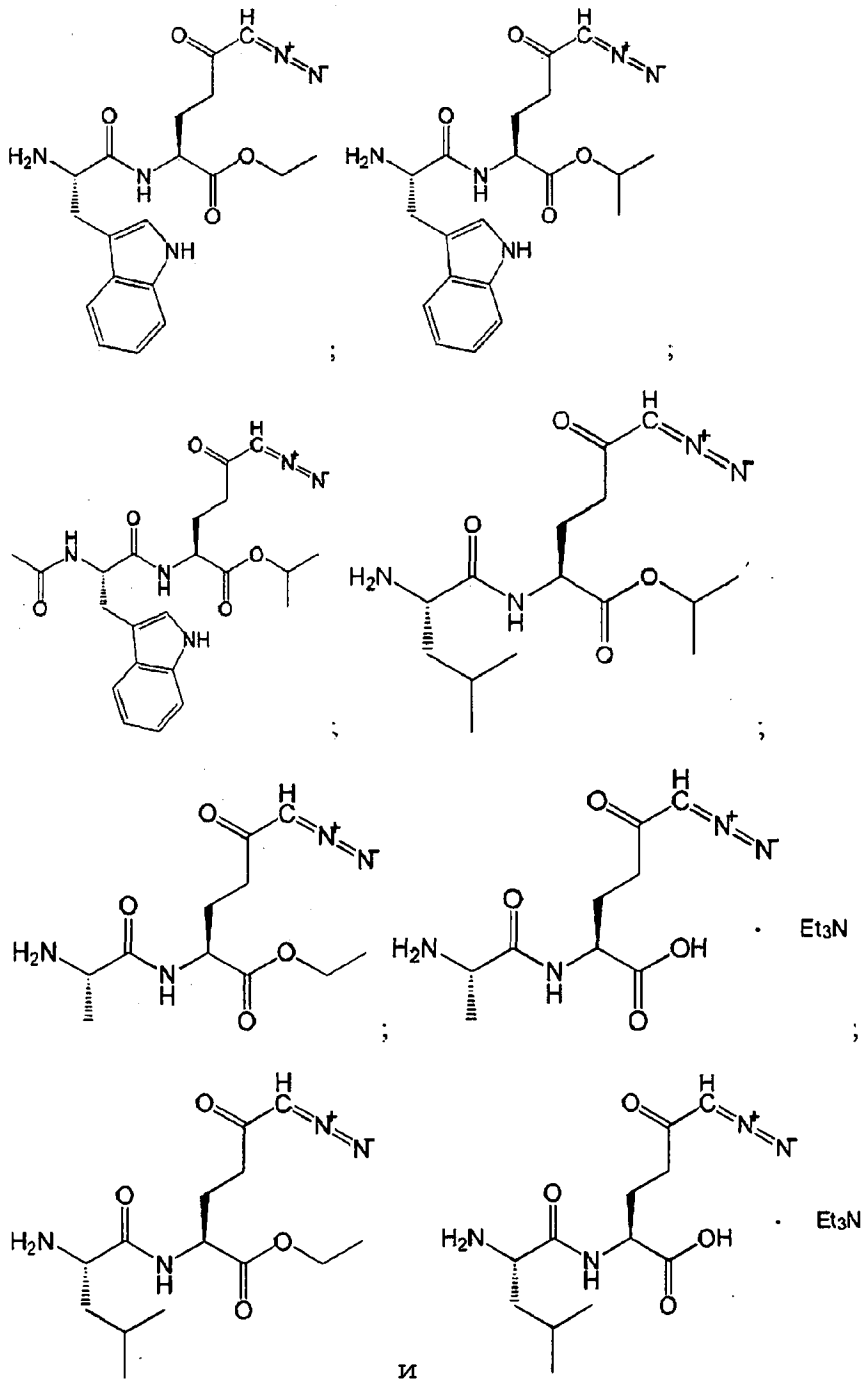
В особых вариантах осуществления пролекарственное



соединение формулы (I) представляет собой

В некоторых вариантах осуществления  $R_2$  формулы (I) представляет собой  $-C(=O)-Y-(CR_3R_4)_m-NR_5R_6$ ; где (i) Y представляет собой связь; m равен 1;  $R_5$  и  $R_6$ , каждый представляет собой H; (ii) Y представляет собой связь; m равен 1;  $R_5$  представляет собой H;  $R_6$  представляет собой  $-C(=O)-(CR_3R_4)_m$ .

В особых вариантах осуществления пролекарственное соединение формулы (I) выбрано из группы, состоящей из:

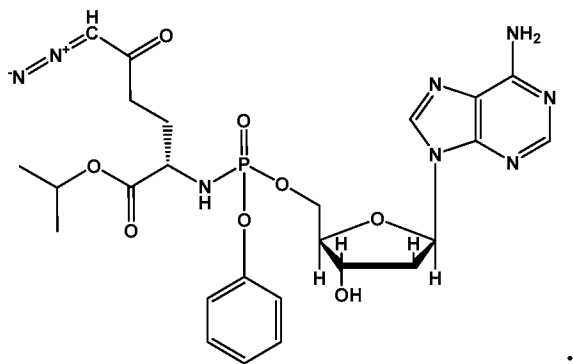


В таких вариантах осуществления следует понимать, что конечные карбоксигруппы соединений формулы (I), показанные выше, могут быть использованы для образования солей. В иллюстративном варианте осуществления соль любого из соединений формулы (I), показанных выше, может быть образована при замене Н группой  $\text{NEt}_3$ , как будет очевидно специалисту в данной области.

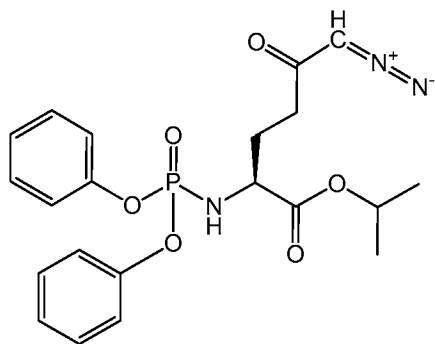
В некоторых вариантах осуществления  $\text{R}_2$  формулы (I) представляет собой  $-\text{P}(=\text{O})(\text{OR}_7)_n(\text{NHR}_9)_o$ ; где  $n$  равен 2, и  $o$  равен 0;  $n$  равен 1, и  $o$  равен 1; или  $n$  равен 0, и  $o$  равен 2.

В особых вариантах осуществления пролекарственное

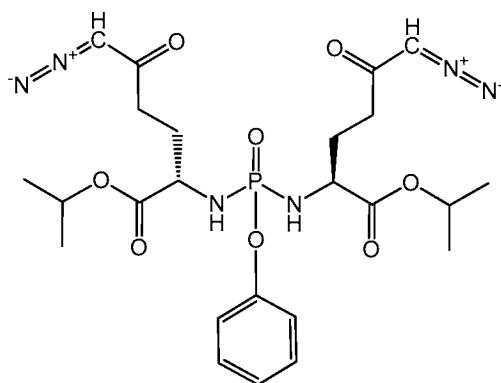
соединение формулы (I) выбрано из группы, состоящей из:



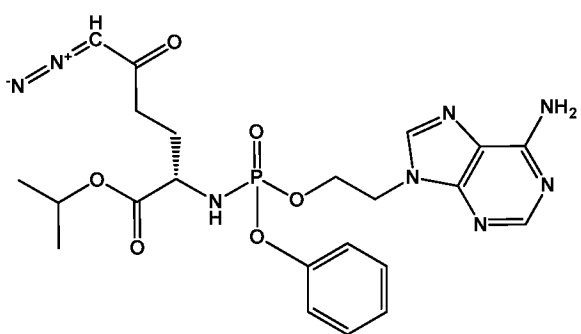
;



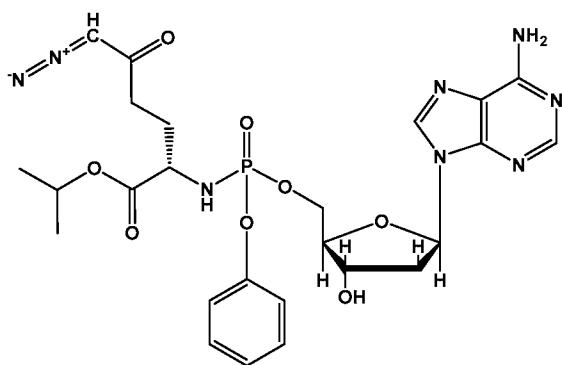
;



;

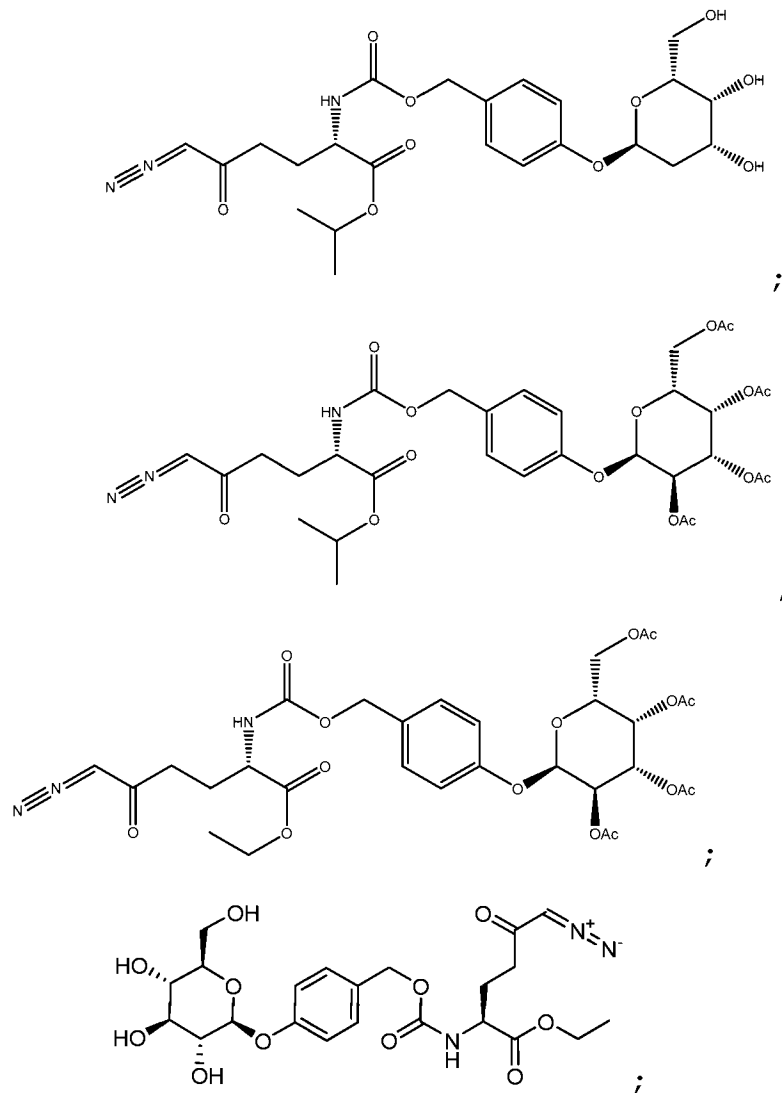


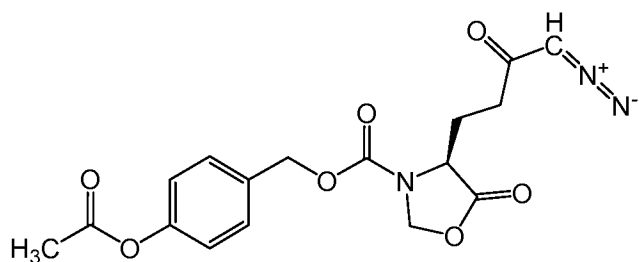
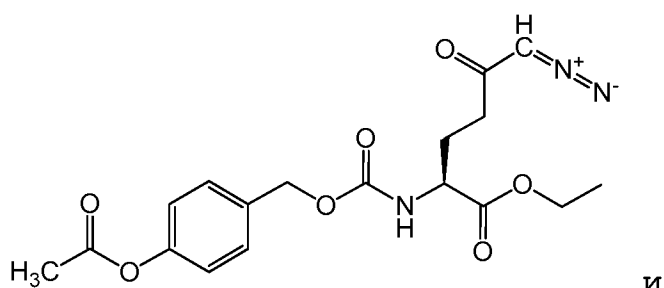
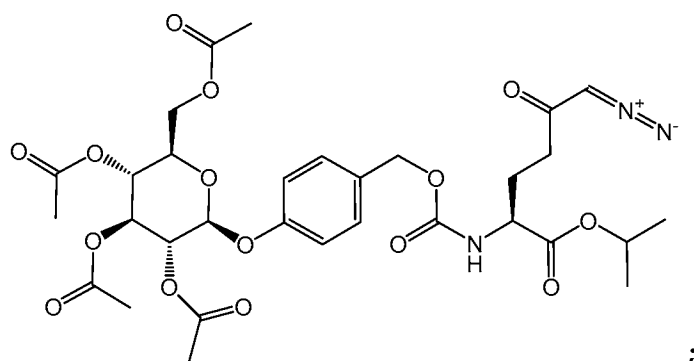
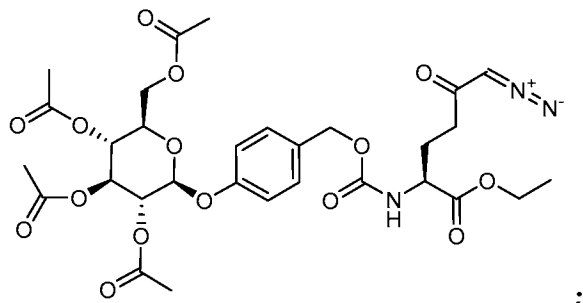
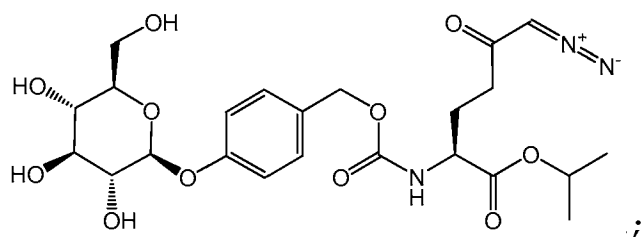
И



В некоторых вариантах осуществления  $R_2$  формулы (I) представляет собой  $-C(=O)-Y-(CR_3R_4)_m-Ar-O-C(=O)-R_8$  или  $-C(=O)-Y-(CR_3R_4)_m-Ar-O-R_8$ ; где  $Y$  представляет собой  $-O-$ ;  $m$  равен 0; и  $Ar$  представляет собой бензил.

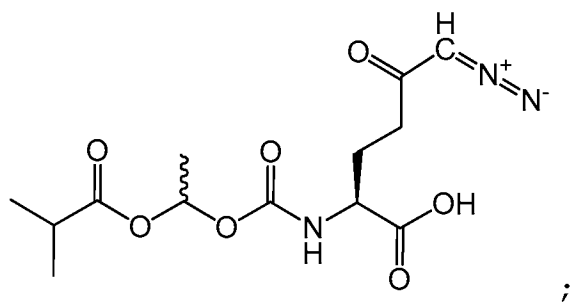
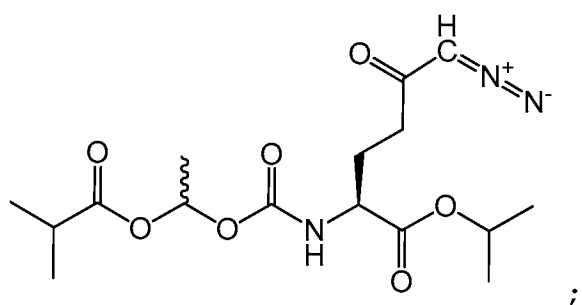
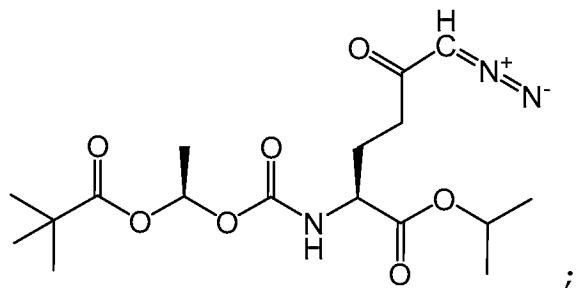
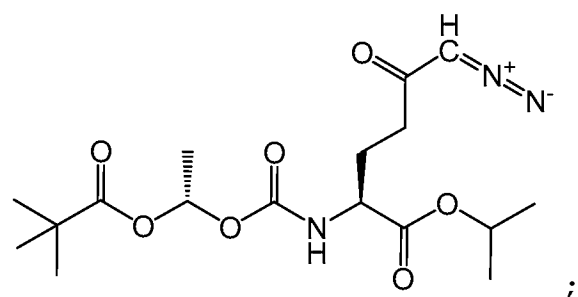
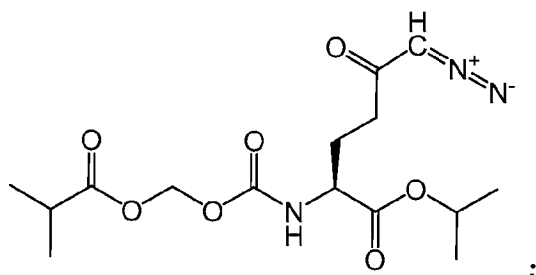
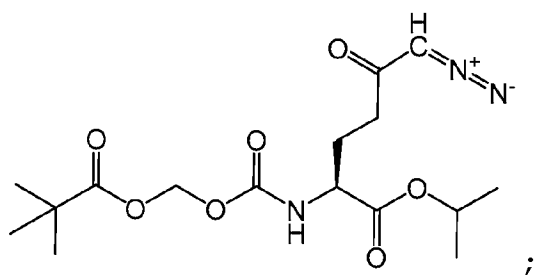
В особых вариантах осуществления пролекарственное соединение формулы (I) выбрано из группы, состоящей из:

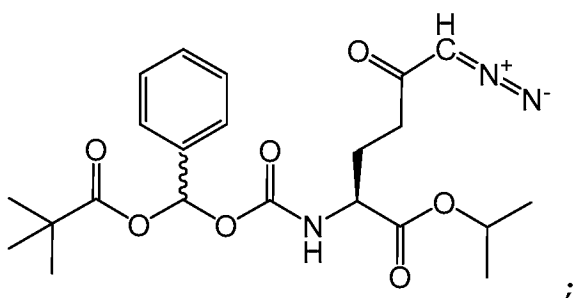
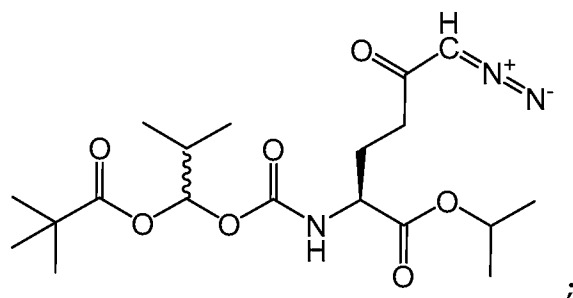
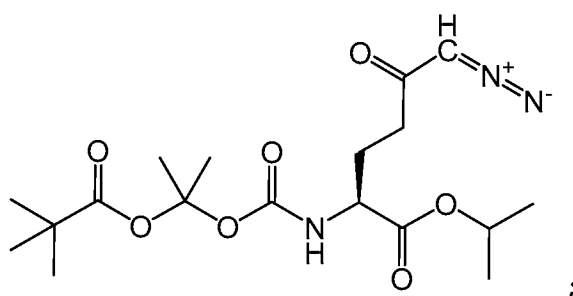
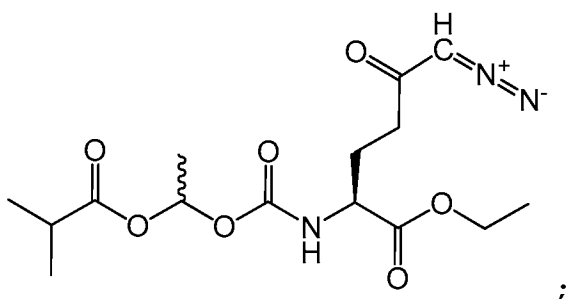
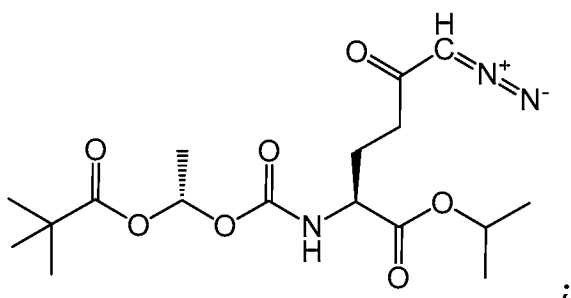
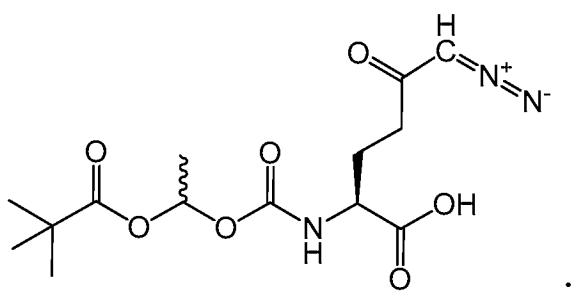


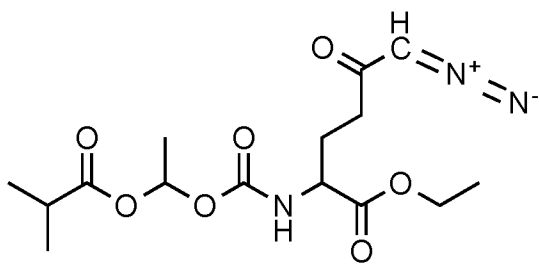


В некоторых вариантах осуществления  $R_2$  формулы (I) представляет собой  $-C(=O)-O-(CR_3R_4)_m-O-C(=O)-R_{10}$ ; где (i)  $m$  равен 1;  $R_3$  представляет собой H; и  $R_4$  представляет собой метил,  $iPr$ , или арил; (ii)  $m$  равен 1;  $R_3$  и  $R_4$ , каждый представляет собой H; или (vi)  $m$  равен 1;  $R_3$  и  $R_4$ , каждый представляет собой метил.

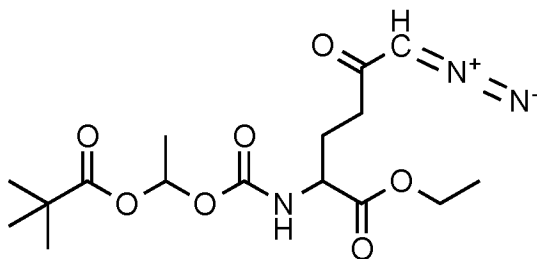
В особых вариантах осуществления пролекарственное соединение формулы (I) выбрано из группы, состоящей из:



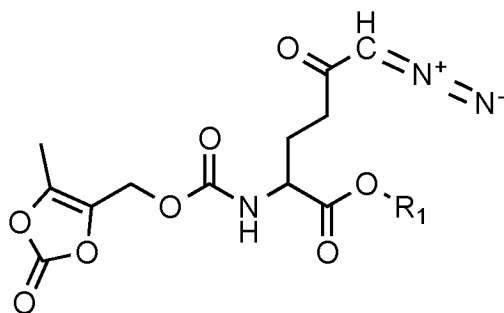




и

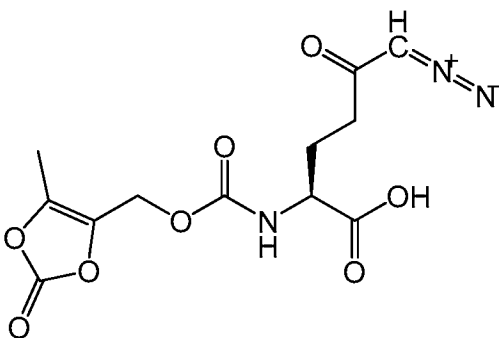


В особых вариантах осуществления пролекарственное соединение формулы (I) представлено формулой:

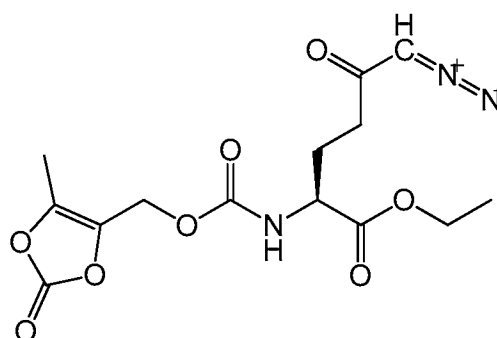


где R<sub>1</sub> является таким, как определено выше.

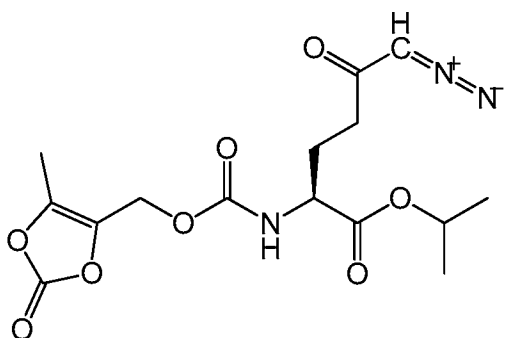
В особых вариантах осуществления пролекарственное соединение формулы (I) выбрано из группы, состоящей из:



;



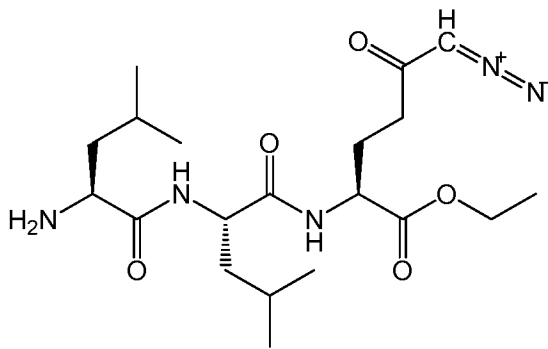
и



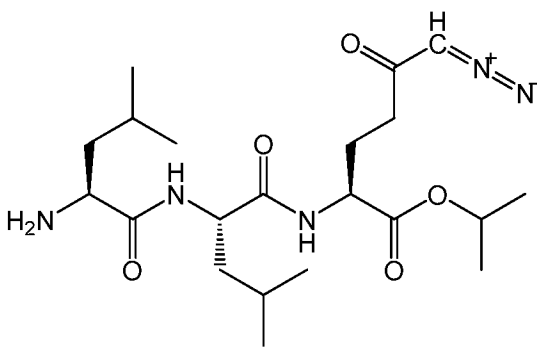


В некоторых вариантах осуществления  $R_2$  формулы (I) представляет собой  $-C(=O)-Y-(CR_3R_4)_m-NR_5R_6$ ; где  $Y$  представляет собой связь; каждый  $m$  равен 1; каждый  $R_5$  представляет собой H; каждый  $R_6$  независимо представляет собой H или  $-C(=O)-(CR_3R_4)_m-NR_5R_6$ .

В особых вариантах осуществления пролекарственное соединение формулы (I) выбрано из группы, состоящей из:

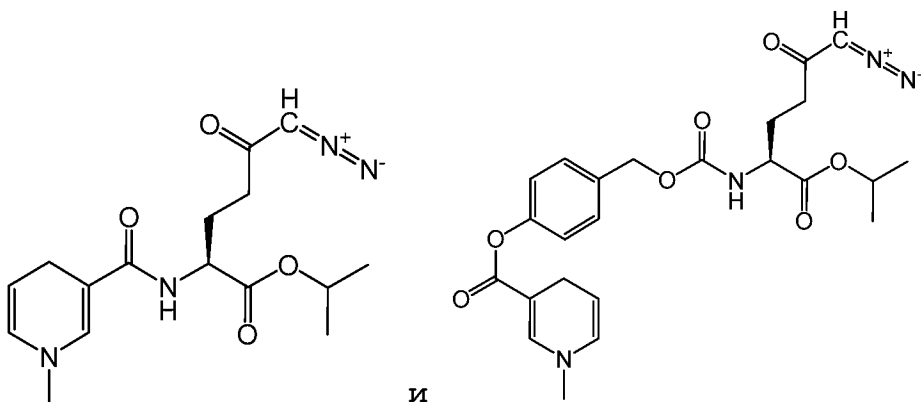


и



В некоторых вариантах осуществления  $R_2$  формулы (I) представляет собой  $-C(=O)-Ar$  или  $-C(=O)-Y-(CR_3R_4)_m-Ar-O-C(=O)-Ar$ .

В особых вариантах осуществления пролекарственное соединение формулы (I) выбрано из группы, состоящей из:

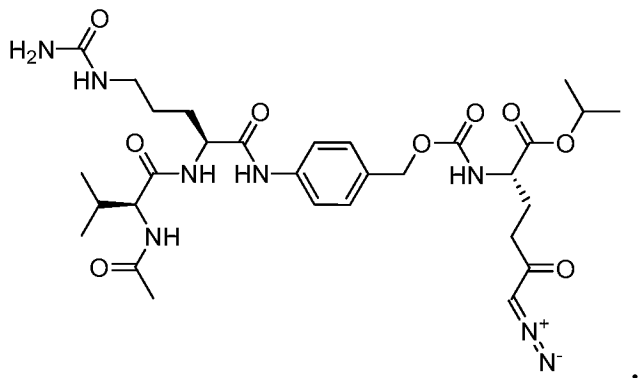
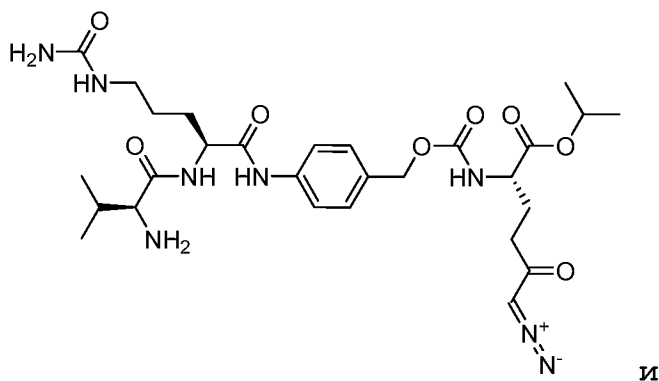


и

В некоторых вариантах осуществления  $R_2$  формулы (I) представляет собой  $-C(=O)-Y-(CR_3R_4)_m-Ar-NR_5R_6$ ; где  $Y$  представляет собой O; каждый  $m$  независимо представляет собой 0, 1 или 3;

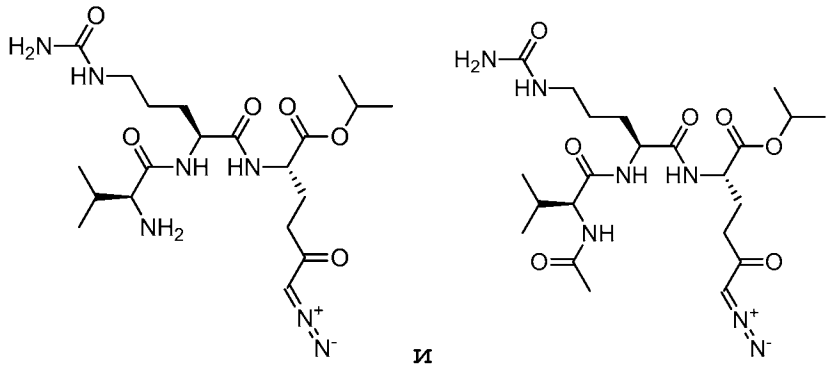
каждый  $R_3$  независимо представляет собой H,  $C_1$ - $C_6$ алкил или  $-(CR_3R_4)_m-NR_5R_6$ ; каждый  $R_4$  представляет собой H; каждый  $R_5$  независимо представляет собой H,  $-C(=O)-(CR_3R_4)_m$ ,  $-C(=O)-NR_5R_6$  или  $-C(=O)-(CR_3R_4)_m-NR_5R_6$ ; каждый  $R_6$  представляет собой H.

В особых вариантах осуществления пролекарственное соединение формулы (I) выбрано из группы, состоящей из:



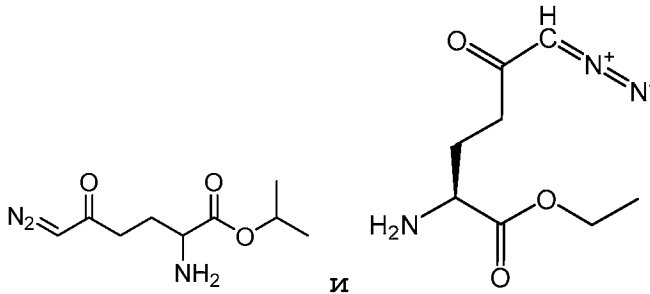
В некоторых вариантах осуществления  $R_2$  формулы (I) представляет собой  $-C(=O)-Y-(CR_3R_4)_m-NR_5R_6$ , где Y представляет собой связь; m равен 1, 2 или 3; каждый  $R_3$  независимо представляет собой H,  $C_1$ - $C_6$ алкил или  $-(CR_3R_4)_m-NR_5R_6$ ; каждый  $R_4$  представляет собой H; каждый  $R_5$  независимо представляет собой H,  $-C(=O)-(CR_3R_4)_m$ ,  $-C(=O)-(NR_5R_6)$  или  $-C(=O)-(CR_3R_4)_m-NR_5R_6$ ; каждый  $R_6$  представляет собой H.

В особых вариантах осуществления пролекарственное соединение формулы (I) выбрано из группы, состоящей из:



В некоторых вариантах осуществления  $R_2$  формулы (I) представляет собой H, и  $R_1$  выбран из группы, состоящей из алкила и замещенного алкила.

В особых вариантах осуществления пролекарственное соединение формулы (I) выбрано из группы, состоящей из:



Следует понимать, что все соединения формулы (I), изображенные в структурных формулах в качестве пролекарства DON, просто являются примерами пролекарств аналогов глутамина, таких как L-DONV и азасерин, которые могут быть синтезированы с использованием методик по представленному изобретению.

## II. Фармацевтические композиции и их введение

В другом аспекте настоящее изобретение предоставляет фармацевтическую композицию, содержащую одно пролекарственное соединение формулы (I), как таковое или в комбинации с одним или более дополнительными терапевтическими средствами в смеси с фармацевтически приемлемым эксципиентом. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления представленное изобретение обеспечивает фармацевтическую композицию, содержащую соединение формулы (I) и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или эксципиент. Специалисту в данной области будет очевидно, что фармацевтические композиции включают фармацевтически приемлемые соли соединений, описанных выше.

Фармацевтически приемлемые соли, как правило, хорошо известны специалистам в данной области и включают соли активных соединений, которые получают с относительно нетоксичными кислотами или основаниями, в зависимости от конкретных групп-заместителей, находящихся на соединениях, описываемых в данном описании. Когда соединения настоящего изобретения содержат относительно кислотные функциональные группы, аддитивные соли оснований могут быть получены путем приведения в контакт нейтральной формы таких соединений с достаточным количеством желаемого основания, либо в чистом виде, либо в подходящем инертном растворителе, или путем ионного обмена, в котором один основной противоион (базовый) в ионном комплексе заменяется другим. Примеры фармацевтически приемлемых аддитивных солей оснований включают соли натрия, калия, кальция, аммония, органических аминов или магния, или подобные соли.

Когда соединения настоящего изобретения содержат относительно основные функциональные группы, кислотно-аддитивные соли могут быть получены путем приведения в контакт нейтральной формы таких соединений с достаточным количеством желаемой кислоты, либо в чистом виде, либо в подходящем инертном растворителе, или путем ионного обмена, при котором один кислый противоион (кислотный) в ионном комплексе заменяется другим. Примеры фармацевтически приемлемых кислотно-аддитивных солей включают производные неорганических кислот подобно хлористоводородной, бромистоводородной, азотной, угольной, моногидроугольной, фосфорной, моногидрофосфорной, дигидрофосфорной, серной, моногидросерной, йодистоводородной или фосфористой кислотам, и подобных, а также соли, производные относительно нетоксичных органических кислот, подобно уксусной, пропионовой, изомасляной, малеиновой, малоновой, бензойной, янтарной, субериновой, фумаровой, молочной, миндальной, фталиевой, бензолсульфоновой, п-толуолсульфоновой, лимонной, винной, метансульфоновой и подобным. Также включенными являются соли аминокислот, таких как аргинат и подобные, и соли органических кислот подобно глюкуроновой или галактурановой

кислотам и подобным (см., например, Berge et al, "Pharmaceutical Salts," Journal of Pharmaceutical Science, 1977, 66, 1-19). Некоторые конкретные соединения настоящего изобретения содержат как основные, так и кислотные функциональные группы, которые дают возможность соединениям преобразовываться либо в основные, либо в кислотно-аддитивные соли.

Соответственно, стабильные фармацевтически приемлемые соли для применения с представленным изобретением включают, например, но без ограничения, ацетат, бензолсульфонат, бензоат, бикарбонат, битартрат, бромид, эдетат кальция, карнсилат, карбонат, цитрат, эдетат, эдисилат, эстолат, эсилат, фумарат, глюцептат, глюконат, глутамат, гликолиларсанилат, гексилресорцинат, гадрабамина, гидробромид, гидрохлорид, гидроксинафтоат, йодид, изетионат, лактат, лактобионат, малат, малеат, манделат, мезилат, мукат, напсилат, нитрат, памоат (эмбонат), пантотенат, фосфат/дифосфат, полигалактуронат, салицилат, стеарат, сабацетат, сукцинат, сульфат, таннат, тартрат или теоклат. Другие фармацевтически приемлемые соли можно найти, например, в Remington: The Science and Practice of Pharmacy (20<sup>th</sup> ed.) Lippincott, Williams & Wilkins (2000).

В особых вариантах осуществления соль представляет собой соль три(гидрокарбил)аммония или тетра(гидрокарбил)аммония. В еще более особых вариантах осуществления соль выбрана из группы, состоящей из солей три(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>алкил)аммония, тетра(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>алкил)аммония, трифениламмония, три(гидрокси-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>алкил)аммония и тетра(гидрокси-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>алкил)аммония. Даже в наиболее особых вариантах осуществления соль выбрана из группы, состоящей из солей триметиламмония, триэтиламмония, три(гидроксиэтил)аммония, трипропиламмония и три(гидроксипропил)аммония.

Для терапевтического и/или диагностического применения соединения по изобретению могут быть сформулированы для различных путей введения, включая оральное (подъязычное, буккальное), пероральное, сублингвальное, системное и местное или локализованное введение. Методики и формулирование, как правило, можно найти в Remington: The Science and Practice of

Pharmacy (20<sup>th</sup> ed.) Lippincott, Williams & Wilkins (2000).

В зависимости от конкретных состояний, подвергаемых лечению, такие средства могут быть сформулированы в виде жидкости (например, растворов, суспензий или эмульсий) или твердых дозированных форм (капсул или таблеток) и введены системно или местно. Данные средства могут быть доставлены, например, в форме временного, контролируемого или замедленного высвобождения, как известно специалисту в данной области. Методики формулирования и введения можно найти в Remington: The Science and Practice of Pharmacy (20<sup>th</sup> ed.) Lippincott, Williams & Wilkins (2000). Подходящие пути могут включать пероральное, буккальное, ингаляцию спреем, сублингвальное, ректальное, трансдермальное, вагинальное, трансмукозальное, назальное или интестинальное введение; парентеральную доставку, включая внутримышечные, подкожные, интрамедуллярные инъекции, а также интратекальные, прямые внутрижелудочковые, внутривенные, внутрисуставные, внутригрудинные, внутрисиновиальные, внутрипеченочные, в поврежденную ткань, внутричерепные, внутриперитонеальные, внутриназальные или внутриглазные инъекции или другие способы доставки. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию вводят перорально. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию вводят внутривенно. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию вводят внутримышечно. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию вводят интратекально. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию вводят подкожно.

Для инъекции, раскрываемые средства могут быть сформулированы и разведены в водных растворах, таких как физиологически совместимые буферы, такие как раствор Хенка, раствор Рингера или забуференный физиологический раствор. Для такого трансмукозального введения, в данных составах используют соответствующие пенетранты, способствующие прохождению через барьер. Такие пенетранты, как правило, известны в данной области.

Использование фармацевтически приемлемых инертных носителей

для формулирования описываемых в данном описании соединений для практического применения изобретения при подходящем дозировании для системного введения входит в объем настоящего изобретения. При надлежащем подборе носителя и подходящей практики изготовления, композиции настоящего изобретения, в частности, сформулированные в виде растворов, могут быть введены парентерально путем внутривенных инъекций. Данные соединения могут быть легко сформулированы при использовании фармацевтически приемлемых носителей, хорошо известных в данной области, в дозах, подходящих для перорального введения. Такие носители дают возможность формулировать соединения по изобретению в виде таблеток, пилюль, капсул, жидкостей, гелей, сиропов, эмульсий, суспензий и подобных, для перорального приема внутрь субъектом (например, пациентом), подвергаемым лечению.

Для назальной или ингаляционной доставки, раскрываемые средства также могут быть сформулированы способами, известными специалисту в данной области, и включают, например, но, не ограничиваясь ими, солюбилизующие, разбавляющие или диспергирующие вещества, такие как солевой раствор; консерванты, такие как бензиловый спирт; промоторы абсорбции; и фторуглероды.

Фармацевтические композиции, подходящие для применения в настоящем изобретении, включают композиции, в которых активные ингредиенты содержатся в эффективном количестве для достижения поставленной цели. Определение эффективного количества находится в компетенции специалиста в данной области, особенно в свете подробного описания, предоставленного в данном описании. Как правило, соединения по настоящему изобретению эффективны в большом диапазоне доз. Например, в лечении взрослых людей могут применяться дозы, например, от 0,01 до 1000 мг, от 0,5 до 100 мг, от 1 до 50 мг в день и от 5 до 40 мг в день. Неограничивающие дозы составляют от 10 до 30 мг в день. Точная дозировка будет зависеть от пути введения, формы, в которой соединение вводят, субъекта, подвергаемого лечению, массы тела субъекта, подвергаемого лечению, биодоступности соединения (й), адсорбции, распределения, метаболизма и экскреции (ADME), токсичности соединения (й) и предпочтений и опыта лечащего врача.

В дополнение к активным ингредиентам, такие фармацевтические композиции могут содержать подходящие фармацевтически приемлемые носители, включающие эксципиенты и вспомогательные вещества, которые облегчают обработку активных соединений в препараты, которые могут быть использованы фармацевтически. Препараты, сформулированные для перорального введения, могут быть в форме таблеток, драже, капсул или растворов.

Фармацевтические препараты для перорального применения могут быть получены путем объединения активных соединений с твердыми эксципиентами, необязательного измельчения полученной смеси и переработки смеси гранул, после добавления подходящих вспомогательных веществ, при желании, для получения таблеток или ядер драже. Подходящие эксципиенты представляют собой, в частности, наполнители, такие как сахара, включая лактозу, сахарозу, маннит или сорбит; препараты целлюлозы, например, кукурузный крахмал, пшеничный крахмал, рисовый крахмал, картофельный крахмал, желатин, камедь траганта, метилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, натрийкарбоксиметилцеллюлоза (СМС) и/или поливинилпирролидон (PVP: повидон). При желании, могут быть добавлены дезинтегрирующие агенты, такие как поперечно сшитый поливинилпирролидон, агар или альгиновая кислота или ее соль, такая как альгинат натрия.

Ядра драже обеспечиваются подходящим покрытием. Для этой цели может использоваться концентрированные растворы сахара, которые могут необязательно содержать гуммиарабик, тальк, поливинилпирролидон, карбополовый гель, полиэтиленгликоль (PEG) и/или диоксид титана, лакирующие растворы и подходящие органические растворители или смешанные растворители. Красящие вещества или пигменты могут быть добавлены к таблеткам или покрытиям драже для идентификации или характеристики доз различных комбинаций активных соединений.

Фармацевтические препараты, которые могут применяться перорально, включают твердые желатиновые капсулы, а также мягкие, герметичные желатиновые капсулы и пластификаторы, такие как глицерин или сорбит. Твердые капсулы могут содержать



активные ингредиенты в смеси с наполнителем, таким как лактоза, связующими, такими как крахмалы, и/или лубрикантами, такими как тальк или стеарат магния, и, необязательно, стабилизаторами. В мягких капсулах активные соединения могут быть растворены или суспендированы в подходящих жидкостях, таких как жирные масла, жидкий парафин или жидкий полиэтиленгликоль (PEG). Кроме того, могут быть добавлены стабилизаторы.

### III. Способы лечения заболеваний или расстройств

Раскрываемые в настоящем изобретении соединения, которые являются перорально биодоступными, представляют собой малотоксичные пролекарства аналогов глутамина, которые являются антагонистами глутамина, дают возможность клинически приемлемому дозированному подходу к заболеваниям или состояниям, при которых наблюдается избыток и/или нарушение активности глутамина. Как использовано в данном описании, термин "антагонист глутамина" относится к аналогу глутамина, который нарушает метаболический путь глутамина, например, ингибирует или блокирует метаболический нисходящий путь глутамина, в котором глутамин действует в качестве предшественника одного или более неглутаминных соединений. Примеры таких метаболических путей хорошо известны (см., например, Hensley et al., "Glutamine and Cancer: cell biology, physiology and clinical opportunities" *J Clin Invest.* 2013; 123(9):3678-3684; DeBerardinis et al., "Q's next: the diverse functions of glutamine in metabolism, cell biology and cancer" *Oncogene.* 2009; 29(3):313-324; и Medina et al., "Relevance of glutamine metabolism to tumor cell growth" *Mol Cell Biochem.* 1992; 113(1):1-15). В некоторых контекстах, термин антагонист глутамина также включает аналоги глутамина, которые ингибируют глутамин, усваиваемый клетками, снижая, таким образом, его биологическую активность. Заболевания или состояния, при которых наблюдается избыток и/или нарушение активности глутамина, включают, но, не ограничиваясь ими, инфекции, рак, аутоиммунные заболевания и нейродегенеративные или неврологические заболевания и другие расстройства центральной нервной системы.

В целом, раскрываемые в настоящем изобретении способы

приводят к снижению тяжести заболевания или состояния у субъекта. Термин "снижение" означает ингибировать, подавить, смягчить, уменьшить, задержать или стабилизировать симптом заболевания или состояния.

Как использовано в данном описании, термины "лечить", "лечение", "обработка" и подобные относятся к сокращению или смягчению заболевания или состояния и/или связанных с ними симптомов. Следует принимать во внимание, хотя и не исключать, что лечение заболевания или состояния не требуется, когда расстройство, состояние или связанные с ними симптомы полностью устранены.

Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предоставляет способ лечения заболевания или состояния, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, соединения формулы (I) или фармацевтической композиции любого из них, в эффективном количестве для лечения данного заболевания или состояния.

Представленное изобретение предусматривает применение пролекарства формулы (I) или фармацевтической композиции, содержащей пролекарство формулы (I), необязательно вместе по меньшей мере с одним противомикробным средством (например, антибиотиком, противовирусным средством и подобным) для лечения инфекции.

Как использовано в данном описании, "инфекция" относится к вторжению в систему тканей организма хозяина заболевания, вызванного организмами, их размножением и реакцией тканей хозяина на эти организмы, и продуцируемые ими токсинами. Инфекционные заболевания, такие как инфекции вирусом или любой бактерией, предусматриваются для лечения с использованием соединения формулы (I) или фармацевтической композиции любого из них.

В некоторых вариантах осуществления инфекция включает бактериальную инфекцию. Антибактериальные воздействия DON были продемонстрированы на *E. coli* (см., Coggin et al., "6-Diazo-5-охо-L-Norleucine Inhibition of *Escherichia coli*," *Journal of*

*Bacteriology*. 1965; 86). В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) или любая его фармацевтическая композиция ингибирует рост и/или выживаемость бактерий.

В некоторых вариантах осуществления инфекция включает вирусную инфекцию. Антивирусные воздействия аналогов глутамин, таких как DON, были продемонстрированы (см., например, Cinatl et al., "Antiviral effects of 6-Diazo-5-oxo-L-Norleucine on replication of herpes simplex virus type 1" *Antiviral Research*. 1997; 33:165-175; Nishio et al., "Antiviral effect of 6-Diazo-5-oxo-L-Norleucine, antagonist of  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase, on replication of human parainfluenza virus type 2," *Journal of General Virology*. 1990; 71:61-67). Примеры вирусных инфекций, предусмотренных для лечения с применением соединения формулы (I) или фармацевтической композиции любого из них, включают, но без ограничения, вирус простого герпеса типа 1 (HSV-1), вирус простого герпеса типа 2 (HSV-2), цитомегаловирус человека (HCMV), вирус человека парагриппа типа 2 (HPIV-2), вирус мэлони лейкемии (MLV), вирус свинки, парамиксовирусы, полиовирус, реовирус типа 3, респираторно-синцитиальный вирус (RSV), Сэндай-вирус и вирус везикулярного стоматита (VSV).

В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) или любая его фармацевтическая композиция ингибирует репликацию вируса. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) или любая его фармацевтическая композиция ингибирует репликацию вируса простого герпеса типа 1 (HSV-1). В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) или любая его фармацевтическая композиция ингибирует репликацию вируса простого герпеса типа 2 (HSV-2). В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) или любая его фармацевтическая композиция ингибирует репликацию цитомегаловируса человека (HCMV). В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) или любая его фармацевтическая композиция ингибирует репликацию вируса человека парагриппа типа 2 (HPIV-2). В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) или любая его

фармацевтическая композиция ингибирует репликацию вируса мэлони лейкемии (MLV). В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) или любая его фармацевтическая композиция ингибирует репликацию вируса свинки. В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I) или любая его фармацевтическая композиция ингибирует репликацию парамиксовируса. В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I) или любая его фармацевтическая композиция ингибирует репликацию полиовируса. В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I) или любая его фармацевтическая композиция ингибирует репликацию реовируса типа 3. В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I) или любая его фармацевтическая композиция ингибирует репликацию респираторно-синцитиального вируса (RSV). В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I) или любая его фармацевтическая композиция ингибирует репликацию Сэндай-вируса. В некоторых вариантах осуществления соединения формулы (I) или любая его фармацевтическая композиция ингибирует репликацию вируса везикулярного стоматита (VSV).

В некоторых вариантах осуществления вирусная инфекция представляет собой грипп. Как использовано в данном описании, "грипп" относится к гриппу А, В или С, вирусному парагриппу и любому, подобному гриппу вирусу (см., например, публикацию США № 2006/0276438, включенную в данное описание посредством ссылки во всей ее полноте, в которой раскрыто применение DON и азасерина для лечения гриппа).

В одном из аспектов представленное изобретение включает применение соединения формулы (I) или его фармацевтической композиции, необязательно вместе с противовирусным средством, для изготовления медицинского препарата для лечения вирусной инфекции и/или ингибирования репликации.

Как использовано в данном описании, "антивирусное средство" включает соединение, которое ингибирует репликацию вирусов в клетках, тканях или организмах. Примеры противовирусных средств, предусмотренных для применения в комбинации с пролекарством формулы (I) или фармацевтической композицией, содержащей

пролекарство формулы (I), включают, но, не ограничиваясь ими, ацикловир (2-амино-1,9-дигидро-9-[(2-гидроксиэтокси)метил]-6Н-пурин-6-он), валацикловир (L-валин, 2-[(2-амино-1,6-дигидро-6-оксо-9Н-пурин-9-ил)метокси]этиловый эфир, пенцикловир (9-[4-гидрокси-3-(гидроксиметилбутил)]гуанин), фамцикловир (2-[2-(амино-9Н-пурин-9-ил)]этил-1,3-пропандиолдиацетат), рибавирин (1-бета-D-рибофуанозил-1-Н-1,2,4-триазол-3-карбоксамид), ламивудин ((2R, цис)-4-амино-1-(2-гидроксиметил-1,3-оксатиолан-5-ил)-(1Н)-пиримидин-2-он), амантадин (1-амантанамин гидрохлорид), и римантадин (гидрохлорид  $\alpha$ -метилтрицикло(3,3,1,1/3,7-декан-1-метиламина).

Представленное изобретение предусматривает применение пролекарства формулы (I) или фармацевтической композиции, содержащей пролекарство формулы (I), необязательно вместе по меньшей мере с одним химиотерапевтическим средством, по меньшей мере с одним радиотерапевтическим средством и/или по меньшей мере с одним иммунотерапевтическим средством для лечения рака. В некоторых вариантах осуществления такое лечение включает любое сочетание с лучевой терапией, иммунотерапией, фотодинамической терапией, протонной терапией и/или хирургией.

"Химиотерапевтическое средство" используется для обозначения соединения или композиции, которые вводят при лечении рака. Химиотерапевтические средства, предусмотренные для применения в комбинации с пролекарством формулы (I) или фармацевтической композицией, содержащей пролекарство формулы (I), включают, но, не ограничиваясь ими, алкилирующие средства, такие как тиотепа и циклофосфамид; алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; азиридины, такие как бензодопа, карбоквон, метуредопа и уредопа; этиленамины и метиламеламины, включая альтретамин, триэтиленемеламин, триэтиленфосфоамид, триэтилентиофосфаорамида и триметилломеламин; азотистые иприты, такие как Хлорамбуцил, хлорнафазин, холофосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлорэтамин, мехлорэтаминоксида гидрохлорид, Мелфалан, новэмбихин, фенестерин, преднимустин, трофосфамид, урацил иприт; нитрозомочевины, такие как кармустин,

хлорозотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин, ранимустин; антибиотики, такие как аклациномицины, актиномицин, аутрамицин, азасерин, блеомицины, кактиномицин, калихеамицин, карабицин, каминомицин, карцинофилин, хромомицины, дактиномицин, даунорубицин, деторубицин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, доксорубицин, эпирубицин, эзорубицин, идарубицин, марцелломицин, митомицины, микофеноловая кислота, ногаламицин, оливомоцины, пепломицин, потфиромицин, пуромицин, квеламицин, родорубицин, стрептонигрин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, циностатин, зорубицин; анти-метаболиты, такие как метотрексат и 5-фторурацил (5-FU); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметрексат; аналоги пурина, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; аналоги пиримидина, такие как анцитабин, азацитидин, 6-азаиридин, кармофур, цитозина арабинозид, дидеоксиуридин, доксифлуридин, энцитабин, флоксуридин, 5-FU; эндрогены, такие как калустерон, дромостанолон пропионат, эпитиостанол, мепитиостан, тестолактон; средства, угнетающие функции надпочечников, такие как аминоклутетимид, митотан, трилостан; наполнители фолиевой кислоты, такие как фолиновая кислота; ацеглатон; алдофосфамида гликозид; аминоклевулиновую кислоту; амсакрин; бестрабуцил; бисантрен; эдатраксат; дефофамин; демеколцин; диазиквон; элформитин; эллиптиния ацетат; этоглюцид; галлия нитрат; гидроксимочевину; лентинан; лонидамин; митоквазон; митоксантрон; мопидамол; нитракрин; пентостатин; фенамет; пирарубицин; подофиллиновую кислоту; 2-этилгидразид; прокарбазин; PSK; разоксан; сизофуран; спирогерманий; тануазоновую кислоту; триазиквон; 2,2',2"-трихлортриэтиламин; уретан; виндезин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид (Ara-C); таксоиды, например, паклитаксел и доцетаксел; хлорамбуцил; гемцитабин; 6-тиогуанин; меркаптопурин; аналоги платины, такие как цисплатин и карбоплатин; винбластин; платиний; этопозид; ифосфамид; митомицин С; митоксантрон; винкристин; винорелбин; навелбин; новантрон; тенипозит; дауномицин; аминоптерин; кселода; ибандронат; СРТ11; ингибитор топоизомеразы RFS 2000; дифторметилорнитин; ретиноевую кислоту;

эсперамицины; капецитабин; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из перечисленного выше. Химиотерапевтические средства также включают противогормональные средства, которые воздействуют на регуляцию или ингибирующую активность гормонов на опухоли, такие как антиэстрогены, включая, например, тамоксифен, ралоксифен, ароматазу ингибирующие 4(5)-имидазолы, 4-гидрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, LY117018, онапристон и торемифен (фарестон); и антиандрогены, такие как флутамид, нилутамид, бикалутамид, леупролид и гозерелин; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из перечисленного выше.

В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтические средства представляют собой ингибитор топоизомеразы. Ингибиторы топоизомеразы представляют собой химиотерапевтические средства, которые мешают воздействию фермента топоизомеразы (например, топоизомеразы I или II). Ингибиторы топоизомеразы включают, но, не ограничиваясь ими, доксорубин HCl, даунорубин цитрат, митоксантрон HCl, актиномицин D, этопозид, топотекан HCl, тенипозид и иронотекан, а также фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из них.

В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтическое средство представляет собой антиметаболит. Антиметаболит является химическим соединением со структурой, аналогичной метаболиту, необходимому для нормальных биохимических реакций, но отличается достаточно, чтобы мешать нормальному функционированию одной или более клеток, такому как деление клеток. Антиметаболиты включают, но, не ограничиваясь ими, гемцитабин, фторурацил, капецитабин, натрия метотрексат, ралитрексед, пеметрексед, тегафур, цитозина арабинозид, тиогуанин, 5-азациитидин, 6-меркаптопурин, азатиоприн, 6-тиогуанин, пентостатин, флударабина фосфат и кладрибин, а также фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из них.

В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтическое средство представляют собой антимитотическое средство, включая, но, не ограничиваясь ими, средства для связывания бутулина. В

некоторых вариантах осуществления данным средством является таксан. В некоторых вариантах осуществления данным средством является паклитаксел или доцетаксел, или его фармацевтически приемлемая соль, кислота или производное паклитаксела или доцетаксела. В некоторых альтернативных вариантах осуществления антимиотическое средство включает алкалоиды барвинка, такие как винкристин, бинбластин, винорелбин или виндезин, или фармацевтически приемлемые соли, кислоты или их производные.

Как использовано в данном описании, термин "иммунотерапевтическое средство" относится к молекуле, которая может помогать лечению заболевания путем индуцирования, усиления или подавления иммунного ответа в клетке, ткани, органе или у субъекта. Примеры иммунотерапевтических средств, предусмотренных для применения в комбинации с пролекарством формулы (I) или фармацевтической композицией, содержащей пролекарство формулы (I), включают, но, не ограничиваясь ими, контрольные точки иммунного ответа молекул (например, антитела к контрольным точкам иммунного ответа белков), интерлейкины (например, IL-2, IL-7, IL-12, IL-15), цитокины (например, интерфероны, G-CSF, имиквимод), хемокины (например, CCL3, CCL26, CXCL7), вакцины (например, пептидные вакцины, вакцины дендритных клеток (DC), EGFRvIII вакцины, мезотилиновые вакцины, G-VAX, листериозные вакцины) и адоптивную Т клеточную терапию, включая рецепторные Т клетки химерного антигена (CAR Т клетки).

Как использовано в данном описании, "радиотерапевтическое средство" означает средство, которое может быть использовано в радиотерапии, которая действует через повреждение клеток (например, злокачественных клеток) в качестве мишеней посредством радиационного облучения. Примеры радиотерапевтических средств, предусмотренных для применения в комбинации с пролекарством формулы (I) или фармацевтической композицией, содержащей пролекарство формулы (I), представляют собой пероксид титана, содержащийся в субстрате частиц, которые генерируют гидроксильный радикал посредством радиационного облучения, и данный гидроксильный радикал оказывает действие



атакующей мишени, как описано в публикации США № 2013/0017266, которая включена в данное описание посредством ссылки во всей ее полноте.

Как использовано в данном описании, "рак" у пациента относится к присутствию клеток, обладающих характеристиками вызывающими рак клеток, например, неконтрольной пролиферацией, потерей специализированных функций, бессмертностью, существенным метастатическим потенциалом, значительным увеличением антиапоптозной активности, быстрым ростом и быстротой пролиферации, и некоторой характерной морфологией и клеточными маркерами. В некоторых обстоятельствах, раковые клетки будут в виде опухоли; такие клетки могут существовать локально в животном или циркулируют в потоке крови, как независимые клетки, например, лейкозные клетки. "Опухоль", как использовано в данном описании, относится к неопластическому росту всех клеток и пролиферации, будь то злокачественные или доброкачественные, и все предраковые и раковые клетки и ткани. "Солидная опухоль", как использовано в данном описании, представляет собой аномальную массу ткани, которая, как правило, не содержит кистозные или жидкие области. Солидная опухоль может находиться, в качестве неограничивающих примеров, в головном мозге, толстой кишке, груди, простате, печени, почках, легких, пищеводе, голове и шеи, яичниках, матке, желудке, толстой кишке, прямой кишке, мочевом пузыре, матке, поджелудочной железе и яичках. В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль регрессирует или ее рост замедляется или приостанавливается после того, как солидная опухоль подвергается лечению раскрываемыми в настоящем изобретении способами. В других вариантах осуществления солидная опухоль является злокачественной. В некоторых вариантах осуществления рака включает в себя 0 стадию рака. В некоторых вариантах осуществления включает в себя I стадию рака. В некоторых вариантах осуществления включает в себя II стадию рака. В некоторых вариантах осуществления включает в себя III стадию рака. В некоторых вариантах осуществления включает в себя IV стадию рака. В некоторых вариантах осуществления рак является

рефракторным и/или метастатическим. Например, рефракторный рак может быть подвергнут лечению лучевой терапией, химиотерапией или монотерапией с иммунотерапией. Рак, как использовано в данном описании, включает вновь диагностируемый или рецидивирующий рак, включая, но без ограничений, острый лимфобластный лейкоз, острый миелобластный лейкоз, прогрессирующую саркому мягких тканей, рак мозга, метастатический или агрессивный рак груди, карциному груди, бронхогенную карциному, хориокарциному, хроническую миелоцитарную лейкемию, карциному толстой кишки, колоректальную карциному, саркому Юинга, карциному гастроинтестинального пути, глиому, множественную глиобластому, плоскоклеточную карциному головы и шеи, гепатоцеллюлярную карциному, болезнь Ходжкина, внутрочерепную эпендимобластому, рак толстой кишки, лейкоз, рак печени, карциному легких, легочную карциному Льюиса, лимфому, злокачественную фиброзную гистиоцитому, опухоль молочной железы, меланому, мезотелиому, нейробластому, остеосаркому, рак яичников, рак поджелудочной железы, мостомозжечковую опухоль, пременопаузный рак груди, рак предстательной железы, рабдомиосаркому, ретикулярно-клеточную саркому, саркому, мелкоклеточный рак легких, солидную опухоль, рак желудка, рак яичка и карциному матки.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой острый лейкоз. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой острый лимфобластный лейкоз. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой острый миелобластный лейкоз. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой прогрессирующую саркому мягких тканей. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак мозга. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак груди (например, метастатический или агрессивный рак груди). В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой карциному молочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой бронхогенную карциному. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой хориокарциному. В некоторых вариантах осуществления рак

представляет собой хроническую миелоцитарную лейкемию. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой карциному толстой кишки (например, аденокарциному). В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой колоректальный рак (например, колоректальную карциному). В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой саркому Юинга. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой карциному гастроинтестинального пути. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой глиому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой множественную глиобластому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой плоскоклеточную карциному головы и шеи. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гепатоцеллюлярную карциному. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой болезнь Ходжкина. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой внутричерепную эпендимобластому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак толстой кишки. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой лейкемию. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак печени. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак легких (например, легочную карциному). В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой легочную карциному Льюиса. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой лимфому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой злокачественную фиброзную гистиоцитому. В некоторых вариантах осуществления рак включает опухоль молочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой меланому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой мезотелиому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой нейробластому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой остеосаркому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак яичников. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак включает мостомозжечковую опухоль. В некоторых вариантах

осуществления рак представляет собой пременопаузный рак груди. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак предстательной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рабдомиосаркому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой ретикулярно-клеточную саркому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой саркому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой мелкоклеточный рак легких. В некоторых вариантах осуществления рак включает солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак желудка. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак яичка. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой карциному матки.

В некоторых вариантах осуществления рак включает глутамин-зависимый рак, при котором глутамин является важным источником клеточной энергии при раке (например, гематобластозе, гепатоме, карциноме Эрлиха (см. Huber et al., "Uptake of glutamine antimetabolites 6-diazo-5-oxo-L-norleucine (DON) in sensitive and Resistant tumor cell lines," *Int. J. Cancer*. 1988; 41:752-755)).

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой Мус-зависимый рак. Как использовано в данном описании, "Мус-зависимый рак" относится к раку, проявляющему активацию, гиперэкспрессию и/или усиление с-Мус. В некоторых контекстах, "Мус-зависимый рак" является раком, при котором с-Мус играет роль в увеличении метаболизма глутамина в раковых клетках. Примеры типов Мус-зависимого рака включают, но без ограничения, лимфому, нейробластому и мелкоклеточный рак легких.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой mTORC1-зависимый рак. Как использовано в данном описании, "mTORC1-зависимый рак" относится к раку, при котором mTORC1 активируется глутамин-зависимым образом, т.е. mTORC1 играет роль в увеличении метаболизма глутамина в раковых клетках.

Представленное изобретение предусматривает применение пролекарства формулы (I) или фармацевтической композиции, содержащей пролекарство формулы (I), необязательно вместе по

меньшей мере с одним иммунодепрессантом и/или противовоспалительным средством при лечении аутоиммунного заболевания, иммунного расстройства или воспалительного расстройства.

Как использовано в данном описании, "иммунодепрессанты" означает средство, которое может быть использовано в иммунотерапии для уменьшения или предотвращения иммунного ответа в клетке, органе, ткани или субъекте. Примеры иммунодепрессантов, предусмотренных для применения в комбинации с пролекарством формулы (I) или фармацевтической композицией, содержащей пролекарство формулы (I), включают кортикостероиды, ингибиторы кальциневрина, антипролиферативные средства, агонисты SIP рецептора, ингибиторы киназы, моноклональные антилимфоцитарные антитела и поликлональные антилимфоцитарные антитела. Неограничивающие примеры кортикостероидов включают преднизон (Deltasone® и Orasone®) и метилпреднизолон (SoluMedrol®). Неограничивающие примеры ингибиторов кальциневрина включают циклоспорин (циклоспорин А, SangCyа, Sandimmune®, Neoral®, Gengraf®), ISA, Tх247, АВТ-281, АSM 981 и такролимус (Prograf®, FK506). Неограничивающие примеры антипролиферативных средств включают мофетил микофенолаг (CellCept®), азатиопрен (Imuran®) и сиролимус (Rapamune®). Неограничивающие примеры агонистов SIP рецептора включают FTY 720 или его аналоги. Неограничивающие примеры ингибиторов киназы включают ингибиторы mTOR киназы, которые представляют собой соединения, белки или антитела которые нацеливают, уменьшают или подавляют активность и/или функции членов семейства серин/треонин mTOR. Они включают, но без ограничения, ССI-779, АВТ578, SAR543, рапамицин и их производные или аналоги, включая 40-0-(2-гидроксиэтил)рапамицин, рапалоги, включая AP23573, AP23464, AP23675 и AP23841 от Ariad, эверолимус (CERTICAN, RAD001), биолимус 7, биолимус 9 и сиролимус (RAPAMUNE). Ингибиторы киназы также включают ингибиторы киназы белка С, которые включают соединения, описанные в публикации РСТ WО 2005/097108 и WО 2005/068455, включенные в данное описание посредством ссылки во всей из

полноте. Неограничивающие примеры моноклональных антилимфоцитарных антител включают муромонаб-CD3 (ортоклон ОКТ3®), антагонист рецептора интерлейкина-2 (базиликсимаб, Simulect®) и даклизумаб (Zenarax®). Неограничивающие примеры поликлональных антилимфоцитарных антител включают антитимоцит глобулина лошадей (Atgam®) и антитимоцит глобулина кролика (RATG, Thymoglobulin®). Другие иммунодепрессанты включают, но без ограничения, SERP-1, ингибитор серинпротеазы, продуцирующей вирусную злокачественную кроличью фиброму (MRV) и вирусную миксому (MYX), описанные в патентной публикации США № 2004/0029801, включенной в данное описание посредством ссылки.

Как использовано в данном описании, "противовоспалительное средство" относится к средству, которое может быть использовано для предотвращения или уменьшения воспалительной реакции или воспаления в клетке, ткани, органе или субъекте. Примеры противовоспалительных средств, предусмотренных для применения в комбинации с пролекарством формулы (I) или фармацевтической композиция, содержащей пролекарство формулы (I), включают, но без ограничения, стероидные противовоспалительные средства, нестероидные противовоспалительные средства или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления противовоспалительные средства включают клобетазол, алклофенак, алклометазона дипропионат, алгестона ацетонид, альфа амилазу, амцинофал, амцинафид, амфенак натрия, амиприлозы гидрохлорид, анакинра, аниролак, анитразафен, апазон, балсалазид динатрия, бендазак, беноксапрофен, бензидамина гидрохлорид, бромелаины, броперамол, будесонид, карпрофен, циклопрофен, цинтазон, клипрофен, клобетазола пропионат, клобетазона бутират, клопирак, клотиказона пропионат, кометазона ацетат, кортодоксон, дефлазакорт, дезонид, дезоксиметазон, дексаметазон, дексаметазона ацетат, дексаметазона дипропионат, диклофенак калия, диклофенак натрия, дифлоразона диацетат, дифлумидон натрия, дифлунизал, дифлупреднат, дифталон, диметилсульфоксид, дроцинонид, эндризон, энлимомаб, эноликама натрия, эпризол, этодолак, этофенамат, фелбинак, фенамол, фенбуфен, фенклофенак, фенклолак, фендозал,

фенпипалон, фентиазак, флазалон, флуазакорт, флуфенамовую кислоту, флумизол, флунизолида ацетат, флуниксин, флуниксина меглумин, флуокортина бутил, фторметолона ацетат, флюквазон, флубипрофен, флуретофен, флутиказона пропионат, фурапрофен, фуробуфен, галцинонид, галобетазола пропионат, галопредона ацетат, ибуфенак, ибупрофен, ибупрофен алюминия, ибупрофена пикнол, илонидап, индометацин, индометацин натрия, индопрофен, индоксол, интразол, изофлупредона ацетат, изоксепак, изоксикам, кетопрофен, лофемизола гидрохлорид, ломоксикам, лотепреднола этабонат, меклофенамат натрия, меклофенамовую кислоту, меклоризона дибутират, мефенамовую кислоту, мезаламин, мезеклазон, метилпреднизолон сулептанат, момифлумат, набуметон, напроксен, напроксен натрия, напроксол, нимазон, олсалазин натрия, орготеин, орпаноксин, оксапрозин, оксифенбутазон, паранилина гидрохлорид, пентозан полисульфат натрия, фенбутазон натрия глицерат, пирфенидон, пироксикам, пироксикама циннамат, пироксикама оламин, пирпрофен, предназат, прифелон, продолиновую кислоту, проквазон, проксазол, проксазола цитрат, римексолон, ромазарит, салколекс, салнацедин, салсалат, санквинария хлорид, секлазон, серметацин, судоксикам, сулиндак, супрофен, талметацин, талнифлумат, талосалат, тебуфелон, тенидап, тенидап натрия, теноксикам, тесикам, тесимид, тетридамин, тиопинак, тиксокортола пивалат, толметин, толметин натрия, триклонид, трифлумидат, зидометацин, зомепирак натрия, аспирин (ацетилсалициловая кислота), салициловую кислоту, кортикостероиды, глюкокортикоиды, такролимус, пимекорлимус, их пролекарства, их солекарства и их комбинации. Противовоспалительные средства также могут представлять собой биологический ингибитор провоспалительных сигнальных молекул, включая антитела к таким биологическим воспалительным сигнальным молекулам.

Аутоиммунность представляет собой неспособность организма распознавать свои собственные составные части (на субмолекулярных уровнях) как "свой", что приводит к иммунному ответу против своих собственных клеток и тканей. Любое заболевание, являющееся результатом такого аномального иммунного

ответа, называется аутоиммунным заболеванием. Нежелательный иммунный ответ может представлять собой, например, иммунный ответ, связанный с аутоиммунным расстройством, аллергией или воспалительными расстройствами. Термин "иммунные расстройства" означает заболевания с участием иммунной системы, которые могут включать, но, не ограничиваясь ими, аллергии, аутоиммунные заболевания, иммунный комплекс заболеваний, заболевания иммунодефицита и типы рака иммунной системы. В некоторых вариантах осуществления аутоиммунным заболеванием, иммунным расстройством или воспалительным расстройством является множественный склероз.

Представленное изобретение предусматривает применение пролекарства формулы (I) или фармацевтической композиции, содержащей пролекарство формулы (I), необязательно вместе по меньшей мере с одним нейропротекторным средством и/или по меньшей мере одним нейротрофическим фактором и/или по меньшей мере одним нейрорегенеративным средством при лечении нейродегенеративного или неврологического расстройства или заболевания.

"Нейродегенеративное расстройство" представляет собой заболевание, расстройство или состояние, которое характеризуется прогрессирующей потерей структуры или функции нейронов (например, дегенерацией или дисфункцией нейронов или других нервных клеток). Катализируемый глутаминой гидролиз глутамата в глутамат является преобладающим источником глутамата в мозге. При нормальной центральной нервной системе (ЦНС) синаптическая передача использует глутамат в качестве основного возбуждающего аминокислотного нейротрансмиттера. Чрезмерная передача глутаматэргического сигнала, известная как эксцитотоксичность, как считается, вызывает повреждения ЦНС при различных нейродегенеративных заболеваниях, таких как инсульт, боковой амиотрофический склероз (ALS), болезнь Хантингтона, болезнь Альцгеймера и ВИЧ ассоциированная деменция. Соответственно, не желая быть связанными с какой-либо теорией, считается, что раскрываемые в настоящем изобретении пролекарства могут быть



использованы при лечении таких нейродегенеративных заболеваний, например, путем ингибирования глутаминазы для уменьшения интенсивности повреждений ЦНС, являющихся результатом эксцитотоксичности, вызванной чрезмерной передачей глутаматэргических сигналов.

В особых вариантах осуществления нейродегенеративное расстройство представляет собой множественный склероз (MS). DON показал, что является эффективным в экспериментах по уменьшению интенсивности аутоиммунного энцефаломиелита (ЕАЕ), на животных моделях множественного склероза (MS) (см., например, Shijie, et al., "Blockade of glutamate release from microglia attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis in mice," *Tohoku J. Exp. Med.* 2009; 217:87-92). В особых вариантах осуществления нейродегенеративное расстройство представляет собой HIV-ассоциированную деменцию (HAD). В особых вариантах осуществления нейродегенеративное расстройство представляет собой ишемию (например, переходную ишемию, вызванную черепно-мозговой травмой). В особых вариантах осуществления нейродегенеративное расстройство представляет собой инсульт. В особых вариантах осуществления нейродегенеративное расстройство представляет собой боковой амиотрофический склероз (ALS). В особых вариантах осуществления нейродегенеративное расстройство представляет собой болезнь Хантингтона. В особых вариантах осуществления нейродегенеративное расстройство представляет собой болезнь Альцгеймера.

В некоторых вариантах осуществления представленное изобретение обеспечивает способы ингибирования активности избыточного и/или аномального глутамина, обнаруженного у субъекта с заболеванием или состоянием. Как использовано в данном описании, термин "ингибирование" означает снижение или сокращение избыточной и/или аберрантной активности глутамина, обнаруженного у субъекта. Термин "ингибирование" также может означать уменьшение, подавление, ослабление, сокращение, задержку или стабилизацию развития или прогрессирования заболевания или состояния. Ингибирование может составлять,

например, по меньшей мере 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% или даже 100%, при сравнении с необработанными контрольными субъектами или субъектами без данного заболевания или расстройства. Как использовано в данном описании, термин "избыточная активность глутамина" означает увеличение активности глутамина у субъекта с заболеванием или состоянием при сравнении с активностью глутамина у субъекта без аналогичного заболевания или состояния, такое как увеличение примерно на 100%, 200%, 300%, 400%, 500%, 600%, 700%, 800%, 900%, 1000% или более. Как использовано в данном описании, термин "аберрантная активность глутамина" означает изменения в биологической активности глутамина у субъекта с заболеванием или состоянием при сравнении с активностью глутамина у субъекта без аналогичного заболевания или состояния, при использовании такого глутамина при росте и/или пролиферации злокачественных, опухолевых или других патологических клеточных процессах.

В некоторых вариантах осуществления в заболевание или состояние вовлечена избыточная и/или аберрантная активность глутамина. В таких аспектах, способ дополнительно включает ингибирование избыточной и/или аберрантной активности глутамина при введении соединения формулы (I) или любой его фармацевтической композиции.

В другом аспекте настоящее изобретение включает применение соединения формулы (I) или любой его фармацевтической композиции при лечении заболевания или состояния. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) или любую его фармацевтическую композицию применяют при лечении заболевания или состояния, выбранного из группы, состоящей из инфекции, рака, аутоиммунного заболевания, воспалительного заболевания и нейродегенеративного или неврологического заболевания. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) или любую его фармацевтическую композицию применяют при лечении заболевания или состояния, выбранного из группы, состоящей из множественного склероза, конвульсий, эпилепсии и вирусного энцефалита. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы (I) или любую его фармацевтическую композицию применяют

при лечении заболевания или состояния, в которое вовлечена избыточная и/или аберрантная активность глутамина. В таких аспектах, при применении ингибирования вовлеченной избыточной и/или аберрантной активности глутамина для лечения данного заболевания или состояния используют соединение формулы (I) или любую его фармацевтическую композицию.

#### IV. Общие определения

Несмотря на то, что в данном описании применяются конкретные термины, их используют в общем и описательном смысле, а не для целей ограничения. Если не определено иное, все технические и научные термины, используемые в данном описании, имеют такое же значение, как обычно понимается специалистом в данной области, к которой настоящее изобретение относится.

Хотя считается, что следующие термины, касающиеся соединений формулы (I), хорошо понятны специалисту в данной области, следующие определения предоставляются в целях упрощения разъяснений касательно настоящего изобретения. Эти определения предназначены для дополнения и иллюстрации, но не исключения определений, которые будут очевидны специалисту в данной области после рассмотрения настоящего изобретения.

Термины *замещенный*, где предшествует термин "необязательно" или *не* и *заместитель*, как использовано в данном описании, относятся к способности, как будет очевидно специалисту в данной области, замены одной функциональной группы другой функциональной группой на молекуле, при условии, что поддерживается валентность всех атомов. Когда более чем одно положение в любой данной структуре может быть замещено более чем одним заместителем, выбранным из указанной группы, данный заместитель может быть либо таким же, или отличаться в каждом положении. Заместители также могут быть дополнительно замещены (например, заместитель арильной группы может иметь другой заместитель, такой как другая арильная группа, которая дополнительно замещена в одном или более положениях).

Когда замещающие группы или связывающие группы конкретно определены их обычными химическими формулами, изображенными

слева направо, они одинаково охватывают химически идентичные заместители, которые возникнут в результате изображения структуры справа налево, например, изображение  $-\text{CH}_2\text{O}-$  эквивалентно  $-\text{OCH}_2-$ ;  $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$  эквивалентно  $-\text{OC}(=\text{O})-$ ;  $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}-$  эквивалентно  $-\text{NRC}(=\text{O})\text{O}-$  и тому подобное.

При использовании термина "независимо выбранный", заместители относящиеся (например, к R группам, таким как группы  $R_1$ ,  $R_2$  и подобные, или переменным, таким как "m" и "n"), могут быть одинаковыми или различными. Например, оба  $R_1$  и  $R_2$  могут представлять собой замещенные алкилы, или  $R_1$  может представлять собой водород, и  $R_2$  может представлять собой замещенный алкил, и тому подобное.

Единственное число при использовании в отношении группы заместителей в данном описании означает по меньшей мере один. Например, когда соединение замещено алкилом или арилом, данное соединение необязательно замещено по меньшей мере одним алкилом и/или по меньшей мере одним арилом. Кроме того, когда группа замещена R заместителем, данная группа может быть названа "R-замещенной". Когда группа является R-замещенной, данная группа замещена по меньшей мере одним R заместителем, и каждый R заместитель необязательно является различным.

Под названием "R" или группа, как правило, имеется в виду структура, которая признана в данной области, как соответствующая группе с таким же названием, если в данном описании не указано иное. Для целей иллюстрации определенных представителей "R" групп, указанных выше, ниже приведены их определения.

Описания соединений настоящего изобретения ограничены принципами химической связи, известными специалистам в данной области. Соответственно, когда группа может быть замещена одним или большим числом заместителей, такие замещения выбираются таким образом, чтобы соблюдать принципы химического связывания и предоставить соединения, которые не являются по существу нестабильными и/или будут известны специалисту в данной области как возможно нестабильные в окружающих условиях, таких как

водные, нейтральные и несколько известных физиологических условий. Например, гетероциклоалкил или гетероарил, присоединенный к остатку молекулы через кольцевой гетероатом с соблюдением принципов химической связи, известны специалистам в данной области, избегая тем самым нестабильности соединений.

Если специально не определено иное, "замещающая группа", как использовано в данном описании, включает функциональную группу, выбранную из одной или более следующих групп, которые определены в данном описании:

Термин углеводород, как использовано в данном описании, относится к любой химической группе, содержащей водород и углерод. Углеводород может быть замещенным или незамещенным. Как известно специалисту в данной области, все валентности должны быть пригодными для выполнения любых замен. Углеводород может быть ненасыщенным, насыщенным, разветвленным, неразветвленным, циклическим, полициклическим или гетероциклическим. Иллюстративные углеводороды определены в данном описании ниже и включают, например, метил, этил, *n*-пропил, изопропил, циклопропил, аллил, винил, *n*-бутил, *трет*-бутил, этинил, циклогексил и подобные.

Кроме того, в целом, "карбил" относится к атому углерода или группе, состоящей из одного или более атомов углерода, действующих как двухвалентный радикал.

Термин "алкил", сам по себе или как часть другого заместителя, означает, если не указано иное, прямую (т.е. неразветвленную) или разветвленную цепь, ациклическую или циклическую углеводородную группу, или их комбинацию, которая может быть полностью насыщенной, моно- или полиненасыщенной и может включать ди- и многовалентные группы, имеющие определенное число атомов углерода (т.е. C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> означает один-десять атомов углерода, включая 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 и 10 атомов углерода). В особых вариантах осуществления термин "алкил" относится к C<sub>1-20</sub> включительно, включая 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 и 20 атомов углерода, линейному (т.е. "с прямой цепью"), разветвленному или

циклическому, насыщенному или по меньшей мере частично и, в некоторых случаях, полностью ненасыщенному (т.е. алкенилу и алкинилу) углеводородному радикалу, производного углеводородных групп, содержащих от одного до двадцати атомов углерода, при удалении одного атома водород.

Иллюстративные примеры насыщенных углеводородных групп включают, но, не ограничиваясь ими, метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил, н-пентил, втор-пентил, изопентил, неопентил, н-гексил, втор-гексил, н-гептил, н-октил, н-децил, н-ундецил, додецил, циклогексил, (циклогексил)метил, циклопропилметил и их гомологи и изомеры.

"Разветвленный" относится к алкильной группе, в которой низшие алкильные группы, такие как метил, этил или пропил, присоединены к линейной алкильной цепи. "Низший алкил" относится к алкильной группе, имеющей от 1 до примерно 8 атомов углерода (т.е. C<sub>1-8</sub>алкил), например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 атомов углерода. "Высший алкил" относится к алкильной группе, имеющей примерно от 10 до примерно 20 атомов углерода, например, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления "алкил" относится, в частности, к C<sub>1-8</sub> неразветвленным алкилам. В других вариантах осуществления "алкил" относится, в частности, к C<sub>1-8</sub>алкилам с разветвленной цепью.

Алкильные группы могут быть необязательно замещены ("замещенный алкил") одним или более заместителями алкильной группы, которые могут быть одинаковыми или различными. Термин "заместитель алкильной группы" включает, но, не ограничиваясь ими, алкил, замещенный алкил, галоген, ариламино, ацил, гидроксил, арилоксил, алкоксил, алкилтио, арилтио, аралкилоксил, аралкилтио, карбоксил, алкоксикарбонил, оксо и циклоалкил. Вдоль алкильной цепи может быть необязательно вставлен один или более атомов кислорода, серы или замещенного или незамещенного азота, где заместителем азота является водород, низший алкил (также называемый в данном описании "алкиламиноалкилом") или арил.

Таким образом, как использовано в данном описании, термин

"замещенный алкил" включает алкильные группы, как определено в данном описании, в которых одна или более групп атомов или функциональных групп алкильной группы заменена другим атомом или функциональной группой, включая например, алкил, замещенный алкил, галоген, арил, замещенный арил, алкоксил, гидроксил, нитро, amino, алкиламино, диалкиламино, сульфат и меркапто.

Термин "гетероалкил", сам по себе или в комбинации с другим термином, означает, если не указано иное, стабильную прямую или разветвленную цепь, или циклическую углеводородную группу, или их комбинации, состоящие по меньшей мере из одного атома углерода и по меньшей мере одного гетероатома выбранного из группы, состоящей из O, N, P, Si и S, и где атомы азота, фосфора и серы могут быть необязательно окислены, и гетероатом азота может быть необязательно кватернизирован. Гетероатом(ы) O, N, P и S и Si могут быть размещены в любом внутреннем положении гетероалкильной группы или в положении, в котором алкильная группа присоединена к оставшейся части молекулы. Примеры включают, но, не ограничиваясь ими,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}=\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_3$ ,  $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ ,  $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{N}-\text{OCH}_3$ ,  $-\text{CH}=\text{CH}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$ ,  $\text{O}-\text{CH}_3$ ,  $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$  и  $-\text{CN}$ . Вплоть до двух или трех гетероатомов могут идти подряд, как, например, в  $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{OCH}_3$  и  $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ .

Как описано выше, гетероалкильные группы, как использовано в данном описании, включают такие группы, которые присоединены к оставшейся части молекулы через гетероатом, такие как  $-\text{C}(\text{O})\text{NR}'$ ,  $-\text{NR}'\text{R}''$ ,  $-\text{OR}'$ ,  $-\text{SR}$ ,  $-\text{S}(\text{O})\text{R}$  и/или  $-\text{S}(\text{O}_2)\text{R}'$ . При ссылке на "гетероалкил", следующее описание конкретных гетероалкильных групп, таких как  $-\text{NR}'\text{R}$  или подобные, следует понимать, что термины гетероалкил и  $-\text{NR}'\text{R}''$  не являются избыточными или взаимоисключающими. Скорее, ссылка на конкретные гетероалкильные группы представляется, чтобы добавить ясности. Таким образом, термин "гетероалкил" в данном описании не следует интерпретировать, как исключение конкретных гетероалкильных

групп, таких как  $-NR'R''$  или подобные.

"Циклический" и "циклоалкил" относятся к неароматической моно- или мультициклической кольцевой системе с примерно от 3 до примерно 10 атомами углерода, например, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 атомами углерода. Данная циклоалкильная группа может быть необязательно частично ненасыщенной. Данная циклоалкильная группа также может быть необязательно замещена заместителем алкильной группы, как определено в данном описании, оксо и/или алкиленом. Вдоль циклической алкильной цепи может быть необязательно вставлен один или более атомов кислорода, серы или замещенного или незамещенного азота, где заместителем азота является водород, незамещенный алкил, замещенный алкил, арил или замещенный арил, обеспечивая, таким образом, гетероциклическую группу. Иллюстративные примеры моноциклического циклоалкильного кольца включают циклопентил, циклогексил и циклогептил. Мультициклические циклоалкильные кольца включают адамантил, октагидронафтил, декалин, камфор, камфан и норадамантил, и конденсированные кольцевые системы, такие как дигидро- и тетрагидронафталин, и подобные.

Термин "циклоалкилалкил", как использовано в данном описании, относится к циклоалкильной группе, как определено в данном описании выше, которая присоединена к остатку основной молекулы через алкильную группу, как определено выше. Примеры циклоалкилалкильных групп включают циклопропилметил и циклопентилэтил.

Термины "циклогетероалкил" или "гетероциклоалкил" относятся к неароматической кольцевой системе, ненасыщенной или частично ненасыщенной кольцевой системе, такой как 3-10-членная замещенная или незамещенная циклоалкильная кольцевая система, включающая один или более гетероатомов, которые могут быть одинаковыми или различными, и выбраны из группы, состоящей из азота (N), кислорода (O), серы (S), фосфора (P) и кремния (Si), и необязательно может включать одну или более двойных связей.

Циклогетероалкильное кольцо может быть необязательно конденсировано с или, в противном случае, присоединено к другому



циклогетероалкильному кольцу и/или неароматическому углеводородному кольцу. Гетероциклические кольца включают такие, которые имеют от одного до трех гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, серы и азота, в которых гетероатомы азота и серы могут быть необязательно окислены, и гетероатом азота может быть необязательно кватернизирован. В некоторых вариантах осуществления термин гетероциклический относится к неароматическому 5-, 6- или 7-членному кольцу или полициклической группе, где по меньшей мере один атом кольца представляет собой гетероатом, выбранный из O, S и N (где гетероатомы азота и серы могут быть необязательно окислены), включая, но, не ограничиваясь ими, би- или трициклическую группу, содержащую шестичленное кольцо, имеющее от одного до трех гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, серы и азота, где (i) каждое 5-членное кольцо имеет от 0 до 2 двойных связей, каждое 6-членное кольцо имеет от 0 до 2 двойных связей, и каждое 7-членное кольцо имеет от 0 до 3 двойных связей, (ii) гетероатомы азота и серы могут быть необязательно окислены, (iii) гетероатом азота может быть необязательно кватернизирован, и (iv) любое из указанных выше гетероциклических колец может быть конденсировано с арильным или гетероарильным кольцом. Иллюстративные примеры циклогетероалкильных кольцевых систем включают, но, не ограничиваясь ими, пирролидинил, пирролинил, имидазолидинил, имидазолинил, пиазолидинил, пиазолинил, пиперидил, пиперазинил, индолинил, хинуклидинил, морфолинил, тиоморфолинил, тиадиазинанил, тетрагидрофуранил и подобные.

Термины "циклоалкил" и "гетероциклоалкил", сами по себе или в комбинации с другими терминами, представляют, если не указано иное, циклические вариации "алкила" и "гетероалкила", соответственно. Кроме того, для гетероциклоалкила, гетероатом может занимать положение, в котором гетероцикл присоединен к оставшейся части молекулы. Примеры циклоалкила включают, но, не ограничиваясь ими, циклопентил, циклогексил, 1-цилогексенил, 3-цилогексенил, циклогептил и подобные. Примеры гетероциклоалкила включают, но, не ограничиваясь ими, 1-(1,2,5,6-

тетрагидропиридил), 1-пиперидинил, 2-пиперидинил, 3-пиперидинил, 4-морфолинил, 3-морфолинил, тетрагидрофуран-2-ил, тетрагидрофуран-3-ил, тетрагидротиен-2-ил, тетрагидротиен-3-ил, 1-пиперазинил, 2-пиперазинил и подобные. Термины "циклоалкилен" и "гетероциклоалкилен" относятся к двухвалентным производным циклоалкила и гетероциклоалкила, соответственно.

Ненасыщенная алкильная группа является группой, имеющей одну или более двойных связей или тройных связей. Примеры ненасыщенных алкильных групп включают, но, не ограничиваясь ими, винил, 2-пропенил, кротил, 2-изопентенил, 2-(бутадиенил), 2,4-пентадиенил, 3-(1,4-пентадиенил), этинил, 1- и 3-пропинил, 3-бутинил и их высшие гомологи и изомеры. Алкильные группы, которые ограничены до углеводородных групп, называются "гомоалкилом".

Более конкретно, термин "алкенил", как использовано в данном описании, относится к одновалентной группе, производной  $C_{1-20}$  включительно прямой или разветвленной углеводородной группы, имеющей по меньшей мере одну углерод-углеродную связь, путем удаления одного водорода молекулы. Алкенильные группы включают, например, этенил (т.е. винил), пропенил, бутенил, 1-метил-2-бутен-1-ил, пентенил, гексенил, октенил, алленил и бутадиенил.

Термин "циклоалкенил", как использовано в данном описании, относится к циклическому углеводороду, содержащему по меньшей мере одну углерод-углеродную связь. Примеры циклоалкенильных групп включают циклопропенил, циклобутенил, циклопентенил, циклопентадиен, циклогексенил, 1,3-циклогексадиен, циклогептенил, циклогептатриенил и циклооктенил.

Термин "алкинил", как использовано в данном описании, относится к одновалентной группе, производной прямого или разветвленного  $C_{1-20}$  углеводорода с определенным числом атомов углерода, содержащей по меньшей мере одну углерод-углеродную тройную связь. Примеры "алкинила" включают группы этинила, 2-пропинила (пропаргила), 1-пропинила, пентинила, гексинила и гептинила, и подобных.

Термин "алкилен", сам по себе или как часть другого

заместителя, относится к прямой или разветвленной двухвалентной алифатической углеводородной группе, производной алкильной группы, имеющей от 1 до примерно 20 атомов углерода, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 атомов углерода. Алкиленовая группа может быть прямой, разветвленной или циклической. Алкиленовая группа также может быть необязательно ненасыщенной и/или замещенной одним или более "заместителями алкильной группы". Вдоль алкиленовой группы может быть необязательно вставлен один или более атомов кислорода, серы или замещенного или незамещенного азота (также называемый в данном описании "алкиламиноалкилом"), где заместителем азота является алкил, как описано выше. Примеры алкиленовых групп включают метилен ( $-\text{CH}_2-$ ); этилен ( $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ); пропилен ( $-(\text{CH}_2)_3-$ ); циклогексилен ( $-\text{C}_6\text{H}_{10}-$ );  $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-$ ;  $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$ ;  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CsCCH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ ,  $-(\text{CH}_2)_q-$   $\text{N}(\text{R})-(\text{CH}_2)_r-$ , где каждый из  $q$  и  $r$  независимо равен целому числу от 0 до примерно 20, например, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20, и  $\text{R}$  представляет собой водород или низший алкил; метилendiоксил ( $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}-$ ); и этилендиоксил ( $-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-$ ). Алкиленовая группа может иметь примерно от 2 до примерно 3 атомов углерода и может дополнительно иметь 6-20 атомов углерода. Обычно, алкильная (или алкиленовая) группа будет иметь от 1 до 24 атомов углерода, как и группы с 10 или меньше атомами углерода, являясь несколькими вариантами осуществления настоящего изобретения. "Низший алкил" или "низший алкилен" представляют собой укороченную цепь алкильной или алкиленовой группы, обычно имеющих восемь или меньше атомов углерода.

Термин "гетероалкилен", сам по себе или как часть другого заместителя, означает двухвалентную группу, производную гетероалкила, как например, но без ограничения,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$  и  $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$ . Касательно гетероалкиленовых групп, гетероатомы также могут занимать любую или обе конечные цепи (например, алкиленоксо, алкилендиоксо, алкиленамино, алкилендиамино и подобные). Еще дополнительно, касательно

алкилен и гетероалкилен связующих групп, отсутствие ориентации связующей группы косвенно указывается направлением, в котором записана формула связующей группы. Например, формула  $-C(O)OR'$  может быть представлена как  $-C(O)OR'$ , так и  $-R'OC(O)-$ .

Термин "арил" означает, если не указано иное, ароматический углеводородный заместитель, которым может быть единственное кольцо или множественные кольца (такие как от 1 до 3 колец), которые конденсированы вместе или ковалентной связью. Арилы включают фенил ( $C_6$ ), нафтил ( $C_{10}$ ) и бифенил ( $C_{12}$ ).

Термин "гетероарил" относится к арильным группам (или кольцам), которые содержат от одного до четырех гетероатомов (в каждом отдельном кольце, в случае множественных колец), выбранных из N, O и S, где атомы азота и серы необязательно окислены, и атом(ы) азота необязательно кватернизирован(ы). Гетероарильная группа может быть присоединена к оставшейся части молекулы через атом углерода или гетероатом. Неограничивающие примеры арильных и гетероарильных групп включают фенил, 1-нафтил, 2-нафтил, 4-бифенил, 1-пирролил, 2-пирролил, 3-пирролил, 3-пиразолил, 2-имидазолил, 4-имидазолил, пиразинил, 2-оксазолил, 4-оксазолил, 2-фенил-4-оксазолил, 5-оксазолил, 3-изоксазолил, 4-изоксазолил, 5-изоксазолил, 2-тиазолил, 4-тиазолил, 5-тиазолил, 2-фурил, 3-фурил, 2-тиенил, 3-тиенил, 2-пиридил, 3-пиридил, 4-пиридил, 2-пиримидил, 4-пиримидил, 5-бензотиазолил, пуринил, 2-бензимидазолил, 5-индолил, 1-изохинолил, 5-изохинолил, 2-хиноксалинил, 5-хиноксалинил, 3-хинолил и 6-хинолил. Заместители для каждой из указанных выше арильных и гетероарильных кольцевых систем выбраны из группы подходящих заместителей, описанных ниже. Термины "арилен" и "гетероарилен" относятся к двухвалентным формам арила и гетероарила, соответственно.

В дополнительных вариантах осуществления термин "гетероарил" относится к  $C_5$ - $C_{20}$  ароматическому кольцу, в котором по меньшей мере один атом углерода заменен гетероатомом, выбранным из O, S, N, необязательно замещенному по меньшей мере одним заместителем, выбранным из группы, состоящей из  $C_1$ - $C_6$ алкила, гидроксигруппы,  $C_1$ - $C_4$ алкокси, меркапто,  $C_1$ - $C_4$ алкилтио, амино,

$-\text{NH}(\text{C}_1-\text{C}_6\text{алкила})$ ,  $-\text{N}(\text{C}_1-\text{C}_6\text{алкил})_2$ ,  $-\text{O}(\text{C}_6-\text{C}_{12}\text{арила})$ ,  $-\text{N}(\text{C}_6-\text{C}_{12}\text{арил})_2$ ,  $-\text{NH}(\text{C}_6-\text{C}_{12}\text{арила})$ ,  $-\text{S}(\text{C}_6-\text{C}_{12}\text{арила})$ , галогена,  $-\text{CF}_3$ ,  $-\text{SO}_3\text{H}$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{COO}(\text{C}_1-\text{C}_8\text{алкила})$ ,  $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{SO}_2\text{NH}(\text{C}_1-\text{C}_6\text{алкила или } \text{C}_6-\text{C}_{12}\text{арила})$ ,  $-\text{CN}$ ,  $-\text{NO}_3$ ,  $-\text{C}(\text{O})(\text{C}_1-\text{C}_8\text{алкила})$ ,  $-\text{C}(\text{O})(\text{C}_6-\text{C}_{12}\text{арила})$ ,  $-\text{N}(\text{C}_1-\text{C}_6\text{алкил или } \text{H})\text{C}(\text{O})(\text{C}_1-\text{C}_6\text{алкил или } \text{H})$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{C}_1-\text{C}_6\text{алкил или } \text{H})_2$ .

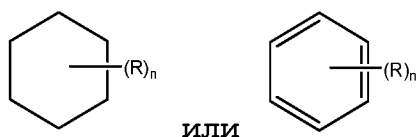
Примеры гетероариллов включают, но, не ограничиваясь ими, пиридил, пиримидинил, пиразинил, фуранил, тиенил, пиразолил, оксазолил, тиазолил, изотиазолил, изоксазолил, пирролил, имидазолил, индолил, индолинолил и имидазопиридазинил.

В дополнительных вариантах осуществления термин "арил" также может относиться к  $\text{C}_6-\text{C}_{14}$ арилу, необязательно замещенному по меньшей мере одним заместителем, выбранным из группы, состоящей из  $\text{C}_1-\text{C}_6$ алкила, гидроксигруппы,  $\text{C}_1-\text{C}_4$ алкокси, меркапто,  $\text{C}_1-\text{C}_4$ алкилтио, амина,  $-\text{NH}(\text{C}_1-\text{C}_6\text{алкила})$ ,  $-\text{N}(\text{C}_1-\text{C}_6\text{алкил})_2$ ,  $-\text{O}(\text{C}_6-\text{C}_{12}\text{арила})$ ,  $-\text{N}(\text{C}_6-\text{C}_{12}\text{арил})_2$ ,  $-\text{NH}(\text{C}_6-\text{C}_{12}\text{арила})$ ,  $-\text{S}(\text{C}_6-\text{C}_{12}\text{арила})$ , галогена,  $-\text{CF}_3$ ,  $-\text{SO}_3\text{H}$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{COO}(\text{C}_1-\text{C}_8\text{алкила})$ ,  $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{SO}_2\text{NH}(\text{C}_1-\text{C}_6\text{алкила или } \text{C}_6-\text{C}_{12}\text{арила})$ ,  $-\text{CN}$ ,  $-\text{NO}_3$ ,  $-\text{C}(\text{O})(\text{C}_1-\text{C}_8\text{алкила})$ ,  $-\text{C}(\text{O})(\text{C}_6-\text{C}_{12}\text{арила})$ ,  $-\text{N}(\text{C}_1-\text{C}_6\text{алкил или } \text{H})\text{C}(\text{O})(\text{C}_1-\text{C}_6\text{алкил или } \text{H})$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{C}_1-\text{C}_6\text{алкил или } \text{H})_2$ .

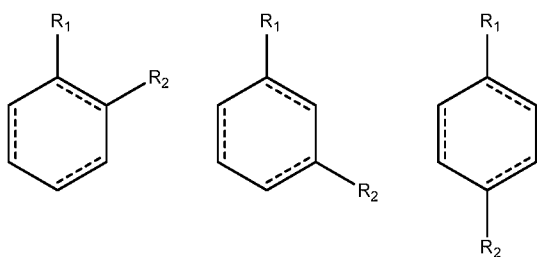
Для краткости, термин "арил", при использовании в комбинации с другими терминами (например, арилокси, арилтиокси, арилалкил), включает как арильные, так и гетероарильные кольца, как определено выше. Таким образом, термины "арилалкил" и "гетероарилалкил" означают включение таких групп, в которых арильная или гетероарильная группа присоединена к алкильной группе (например, бензил, фенэтил, пиридилметил, фурилметил и подобные), включая такие алкильные группы, в которых атом углерода (например, метиленовая группа) заменен, например, атомом кислорода (например, феноксиметил, 2-пиридилоксиметил, 3-(1-нафтилокси)пропил и подобные). Однако, термин "галогенарил", как использовано в данном описании, означает только арилы, замещенные одним или более галогенами.

Когда гетероалкил, гетероциклоалкил или гетероарил включает конкретное число членов кольца (например, "3-7-членный"), термин "член кольца" относится к атому углерода или гетероатому.

Далее, структура, представленная общей формулой:




как использовано в данном описании, относится к кольцевой структуре, например, но, не ограничиваясь ими, 3-углерод, 4-углерод, 5-углерод, 6-углерод, 7-углерод и тому подобное алифатическому и/или ароматическому циклическому соединению, включая насыщенную кольцевую структуру, частично насыщенную кольцевую структуру и ненасыщенную кольцевую структуру, содержащую заместитель R группы, где R группа может присутствовать или отсутствовать, и когда присутствует, одна или более R групп, каждая может быть замещена одним или более доступными атомами углерода кольцевой структуры. Присутствие или отсутствие R группы и число R групп определяется значением переменной "n", которая равна целому числу, обычно составляющему диапазон от 0 до числа атомов углерода кольца, доступных для замещения. Каждая R группа, если более чем одна, замещается на доступном атоме углерода кольцевой структуры, а не на другой R группе. Например, указанная выше структура, где n равен 0-2, будет включать группу соединений, включая, но, не ограничиваясь ими:



и подобные.

Пунктирная линия, представляющая связи в циклической кольцевой структуре, указывает на то, что данная связь может присутствовать или отсутствовать в данном кольце. То есть, пунктирная линия, представляющая связи в циклической кольцевой структуре, указывает на то, что кольцевая структура выбрана из группы, состоящей из насыщенной кольцевой структуры, частично насыщенной кольцевой структуры и ненасыщенной кольцевой

структуры.

Символ () обозначает точку прикрепления группы к оставшейся части молекулы.

Когда названный атом ароматического кольца или гетероциклического ароматического кольца определен как "отсутствует", названный атом заменен прямой связью.

Каждый из приведенных выше терминов (например, "алкил", "гетероалкил", "циклоалкил и "гетероциклоалкил," "арил", "гетероарил", "фосфонат" и "сульфонат", а также их двухвалентные производные) предназначены для включения как замещенных, так и незамещенных форм индивидуальной группы. Необязательные заместители для каждого типа групп представлены ниже.

Заместители для алкильных, гетероалкильных, циклоалкильных, гетероциклоалкильных одновалентных и двухвалентных групп производных (включая группы, часто называемые как алкилен, алкенил, гетероалкилен, гетероалкенил, алкинил, циклоалкил, гетероциклоалкил, циклоалкенила и гетероциклоалкенил) могут представлять собой одну или более различных групп, выбранных из, но, не ограничиваясь ими:  $-OR'$ ,  $=O$ ,  $=NR'$ ,  $=N-OR'$ ,  $-NR'R''$ ,  $-SR'$ , галогена,  $-SiR'R''R'''$ ,  $-OC(O)R'$ ,  $-C(O)R'$ ,  $-CO_2R'$ ,  $-C(O)NR'R''$ ,  $-OC(O)NR'R''$ ,  $-NR''C(O)R'$ ,  $-NR'-C(O)NR''R'''$ ,  $-NR''C(O)OR'$ ,  $-NR-C(NR'R'')=NR'''$ ,  $-S(O)R'$ ,  $-S(O)_2R'$ ,  $-S(O)_2NR'R''$ ,  $-NRSO_2R'$ ,  $-CN$  и  $-NO_2$ , в количестве в диапазоне от нуля до  $(2m'+1)$ , где  $m'$  равен общему числу атомов углерода в каждой из групп.  $R'$ ,  $R''$ ,  $R'''$  и  $R''''$ , каждый независимо, относится к водороду, замещенному или незамещенному гетероалкилу, замещенному или незамещенному циклоалкилу, замещенному или незамещенному гетероциклоалкилу, замещенному или незамещенному арилу (например, арилу, замещенному 1-3 галогенами), замещенному или незамещенному алкилу, алкокси или тиоалкоксигруппам, или арилалкильным группам. Как использовано в данном описании, "алкоксигруппа" представляет собой алкил, присоединенный к оставшейся части молекулы через двухвалентный кислород. Когда соединение настоящего изобретения включает более чем одну R группу, например, каждую из R групп, независимо

выбранных из  $R'$ ,  $R''$ ,  $R'''$  и  $R''''$  групп таким образом, что более чем одна из этих групп присутствует. Когда  $R'$  и  $R''$  присоединены к одному и тому же атому азота, они могут комбинироваться с атомом атом азота с образованием 4-, 5-, 6- или 7-членного кольца. Например,  $-NR'R''$  включает, но, не ограничиваясь ими, 1-пирролидинил и 4-морфолинил. Из приведенного выше обсуждения заместителей, специалисту в данной области будет понятно, что термин "алкил" предназначен для включения групп, содержащих атомы углерода, связанные с группами, отличными от водородных групп, таких как галогеналкил (например,  $-CF_3$  и  $-CH_2CF_3$ ) и ацил (например,  $-C(O)CH_3$ ,  $-C(O)CF_3$ ,  $-C(O)CH_2OCH_3$  и подобные).

Аналогично заместителям, описанным выше для алкильных групп, примеры заместителей для арильных и гетероарильных групп (а также их двухвалентных производных) варьируются и выбраны, например, из: галогена,  $-OR'$ ,  $-NR'R''$ ,  $-SR'$ ,  $-SiR'R''R'''$ ,  $-OC(O)R'$ ,  $-C(O)R'$ ,  $-CO_2R'$ ,  $-C(O)NR'R''$ ,  $-OC(O)NR'R''$ ,  $-NR''C(O)R'$ ,  $-NR'-C(O)NR''R'''$ ,  $-NR''C(O)OR'$ ,  $-NR-C(NR'R''R''')=NR''''$ ,  $-NR-C(NR'R'')=NR''''$ ,  $-S(O)R'$ ,  $-S(O)_2R'$ ,  $-S(O)_2NR'R''$ ,  $-NRSO_2R'$ ,  $-CN$  и  $-NO_2$ ,  $-R'$ ,  $-N_3$ ,  $-CH(Ph)_2$ , фтор( $C_1-C_4$ )алкокс и фтор( $C_1-C_4$ )алкила, в количестве в диапазоне от нуля до общего числа открытых валентностей на ароматической кольцевой системе; и где  $R'$ ,  $R''$ ,  $R'''$  и  $R''''$  могут быть независимо выбраны из водорода, замещенного или незамещенного алкила, замещенного или незамещенного гетероалкила, замещенного или незамещенного циклоалкила, замещенного или незамещенного гетероциклоалкила, замещенного или незамещенного арила и замещенного или незамещенного гетероарила. Когда соединение настоящего изобретения включает более чем одну  $R$  группу, например, каждую из  $R$  групп, независимо выбранных из каждой  $R'$ ,  $R''$ ,  $R'''$  и  $R''''$  групп, таким образом, что более чем одна из этих групп присутствует.

Два заместителя на соседних атомах арильного или гетероарильного кольца могут необязательно образовывать кольцо формулы  $-T-C(O)-(CRR')_q-U-$ , где  $T$  и  $U$  независимо представляют собой  $-NR-$ ,  $-O-$ ,  $-CRR'-$  или простую связь, и  $q$  равен целому числу



от 0 до 3. Альтернативно, два заместителя на соседних атомах арильного или гетероарильного кольца могут быть необязательно заменены заместителем формулы  $-A-(CH_2)_r-B-$ , где и В независимо представляют собой  $-CRR'-$ ,  $-O-$ ,  $-NR-$ ,  $-S-$ ,  $-S(O)-$ ,  $-S(O)_2-$ ,  $-S(O)_2NR'-$  или простую связь, и r равен целому числу от 1 до 4.

Одна из простых связей сформированного таким образом нового кольца может быть необязательно заменена двойной связью. Альтернативно, два заместителя на соседних атомах арильного или гетероарильного кольца могут быть необязательно заменены заместителем формулы  $-(CRR')_s-X'-(C''R''')_d-$ , где s и d независимо равны целому числу от 0 до 3, и X' представляет собой  $-O-$ ,  $-NR'-$ ,  $-S-$ ,  $-S(O)-$ ,  $-S(O)_2-$  или  $-S(O)_2NR'-$ . Заместители R, R', R'' и R''' могут быть независимо выбраны из водорода, замещенного или незамещенного алкила, замещенного или незамещенного циклоалкила, замещенного или незамещенного гетероциклоалкила, замещенного или незамещенного арила и замещенного или незамещенного гетероарила.

Как использовано в данном описании, термин "ацил" относится к органической кислотной группе, где  $-OH$  карбоксильной группы заменен другим заместителем и имеет общую формулу  $RC(=O)-$ , где R представляет собой алкильную, алкенильную, алкинильную, арильную, карбоциклическую, гетероциклическую или ароматическую гетероциклическую группу, как определено в данном описании. Как таковой, термин "ацил" конкретно включает арилацильные группы, такие как 2-(фуран-2-ил)ацетил- и 2-фенилацетильная группа. Конкретные примеры ацильных групп включают ацетил и бензоил. Ацильные группы также предназначены для включения амидов,  $-RC(=O)NR'$ , сложных эфиров,  $-RC(=O)OR'$ , кетонов,  $-RC(=O)R'$  и альдегидов,  $-RC(=O)H$ .

Термины "алкоксил" или "алкокси" используются взаимозаменяемо в данном описании и относятся к насыщенной (т.е. алкил-О-) или ненасыщенной (т.е. алкенил-О- и алкинил-О-) группе, присоединенной к остатку основной молекулы через атомом кислорода, где термины "алкил", "алкенил" и "алкинил" являются такими, как описано выше, и могут включать  $C_{1-20}$ , включительно,

линейную, разветвленную или циклическую, насыщенную или ненасыщенную оксо-углеводородные цепи, включая, например, метоксил, этоксил, пропоксил, изопропоксил, *n*-бутоксил, *втор-*бутоксил, *трет-*бутоксил и *n*-пентоксил, неопентоксил, *n*-гексоксил и подобные.

Термин "алкоксиалкил", как использовано в данном описании, относится к простому алкил-О-алкиловому эфиру, например, метоксиэтильной или этоксиметильной группе.

"Арилоксил" относится к арил-О- группе, где арильная группа является такой, как описано выше, включая замещенный арил. Термин "арилоксил", как использовано в данном описании, может относиться к фенилоксилилу или гексилоксилилу и алкилу, замещенному алкилу, галогену или алкоксил замещенному фенилоксилилу или гексилоксилилу.

"Аралкил" относится к арилалкильной группе, где арил и алкил являются такими, как описано выше, и включают замещенный арил и замещенный алкил. Примеры аралкильных групп включают бензил, фенилэтил и нафтилметил.

"Аралкилоксил" относится к аралкил-О- группе, где аралкильная группа является такой, как описано выше. Примерами аралкилоксильной группы является бензилоксил, т.е.  $C_6H_5-CH_2-O-$ . Аралкилоксильная группа может быть необязательно замещенной.

"Алкоксикарбонил" относится к алкил-О-С(=О)- группе. Примеры алкоксикарбонильных групп включают метоксикарбонил, этоксикарбонил, бутилоксикарбонил и *трет-*бутилоксикарбонил.

"Арилоксикарбонил" относится к арил-О-С(=О)- группе. Примеры арилоксикарбонильных групп включают фенокси- и нафтоксикарбонил.

"Аралкоксикарбонил" относится к аралкил-О-С(=О)- группе. Примером аралкоксикарбонильной группы является бензилоксикарбонил.

"Карбамоил" относится к амидной группе формулы  $-C(=O)NH_2$ . "Алкилкарбамоил" относится к  $R'RN-C(=O)-$  группе, где один из R и R' представляет собой водород, а другой из R и R' представляет собой алкил и/или замещенный алкил, как описано выше.

"Диалкилкарбамоил" относится к  $R'RN-C(=O)-$  группе, где каждый из R и R' независимо представляет собой алкил и/или замещенный алкил, как описано выше.

Термин карбонилдиоксил, как использовано в данном описании, относится к карбонатной группе формулы  $-O-C(=O)-OR$ .

"Ацилоксил" относится к ацил-O- группе, где ацил является таким, как описано выше.

Термин "амино" относится к  $-NH_2$  группе, а также относится к азотсодержащей группе, известной в данной области как производная аммиака путем замены одного или более водородного радикала органическим радикалом. Например, термины "ациламино" и "алкиламино" относятся к конкретным N-замещенным органическим радикалам с ацильными и алкильными заместительными группами, соответственно.

"Аминоалкил", как использовано в данном описании, относится к аминогруппе ковалентно связанной с алкиленовым линкером. Более конкретно, термины алкиламино, диалкиламино и триалкиламино, как использовано в данном описании, относятся к одной, двум или трем, соответственно, алкильным группам, как определено выше, присоединенным к остатку основной молекулы через атом азота. Термин алкиламино относится к группе, имеющей структуру  $-NHR'$ , где R' представляет собой алкильную группу, как определено выше; тогда как термин диалкиламино относится к группе, имеющей структуру  $-NR'R''$ , где R' и R'', каждый независимо, выбран из группы, состоящей из алкильных групп. Термин триалкиламино относится к группе, имеющей структуру  $-NR'R''R'''$ , где R', R'' и R''', каждый независимо, выбран из группы, состоящей из алкильных групп. Кроме того, R', R'' и/или R''', взятые вместе, могут необязательно представлять собой  $-(CH_2)_k-$ , где k равен целому числу от 2 до 6. Примеры включают, но, не ограничиваясь ими, метиламино, диметиламино, этиламино, диэтиламино, диэтиламинокарбонил, метилэтиламино, изопропиламино, пиперидино, триметиламино и пропиламино.

Аминогруппа представляет собой  $-NR'R''$ , где R' и R'' обычно

выбраны из водорода, замещенного или незамещенного алкила, замещенного или незамещенного гетероалкила, замещенного или незамещенного циклоалкила, замещенного или незамещенного гетероциклоалкила, замещенного или незамещенного арила или замещенного или незамещенного гетероарила.

Термины алкилтиоэфир и тиоалкоксил относятся к насыщенной (т.е. алкил-S-) или ненасыщенной (т.е. алкенил-S- и алкинил-S-) группе, присоединенной к остатку основной молекулы через атом серы. Примеры тиоалкоксильных групп включают, но, не ограничиваясь ими, метилтио, этилтио, пропилтио, изопропилтио, *n*-бутилтио и подобные.

"Ациламино" относится к ацил-NH- группе, где ацил является таким, как описано выше. "Ароиламино" относится к ароил-NH- группе, где ароил является таким, как описано выше.

Термин "карбонил" относится к  $-C(=O)-$  группе и может включать альдегидную группу, представленную общей формулой  $R-C(=O)H$ .

Термин "карбоксил" относится к  $-COOH$  группе. Такие группы также называются в данном описании группой "карбоновой кислоты".

Термины "гало", "галид" или "галоген", как использовано в данном описании, относятся к группам фтора, хлора, брома и йода. Кроме того, термины, такие как "галогеналкил", предназначены для включения моногалогеналкила и полигалогеналкила. Например, термин "галоген( $C_1-C_4$ ) алкил" предназначен для включения, но, не ограничиваясь ими, трифторметила, 2,2,2-трифторэтила, 4-хлорбутила, 3-бромпропила и подобных.

Термин "гидроксил" относится к  $-OH$  группе.

Термин "гидроксиалкил" относится к алкильной группе, замещенной  $-OH$  группой.

Термин "меркапто" относится к  $-SH$  группе.

Термин "оксо", как использовано в данном описании, означает атомом кислорода, который связан двойной связью с атомом углерода или другим элементом.

Термин "нитро" относится к  $-NO_2$  группе.

Термин "тио" относится к соединению, описанному выше в данном описании, где атом углерода или кислорода заменен атомом серы.

Термин "сульфат" относится к  $-SO_4$  группе.

Термин тиогидроксил или тиол, как использовано в данном описании, относится к группе формулы  $-SH$ .

Более конкретно, термин "сульфид" относится к соединению, имеющему группу формулы  $-SR$ .

Термин "сульфон" относится к соединению, имеющему сульфонильную группу  $-S(O_2)R$ .

Термин "сульфоксид" относится к соединению, имеющему сульфинильную группу  $-S(O)R$ .

Термин уреидо относится к группе мочевины формулы  $-NH-CO-NH_2$ .

Во всем описании и пунктах формулы изобретения, приведенные химические формулы или названия должны охватывать все таутомеры, конгенеры и оптические и стереоизомеры, а также рацемические смеси, где такие изомеры и смеси существуют.

Некоторые соединения настоящего изобретения могут обладать асимметрическими атомами углерода (оптические или хиральные центры) или двойными связями; энантиомерные, рацемические, диастереомерные, таутомерные, геометрические изомерные, стереоизомерные формы которых могут определяться терминами абсолютной стереохимии, как (R)- или (S)-, или как D- или L- для аминокислот и индивидуальных изомеров, входят в объем настоящего изобретения. Соединения настоящего изобретения не включают такие, которые известны в данной области как слишком нестабильные при синтезе и/или выделении. Настоящее изобретение предназначено для включения соединений в рацемически, скалемически и оптически чистых формах. Оптически активные (R)- и (S)-, или D- и L-изомеры могут быть получены при использовании хиральных синтезов или хиральных реагентов, или разделения с помощью обычных методов. Когда соединения, описываемые в данном описании, содержат олефиновые связи или другие центры геометрической асимметрии, и, если не указано иное,

предполагается, что соединения включают как E, так и Z геометрические изомеры.

Если не указано иное, изображенные в данном описании структуры также предназначены для включения всех стереохимических форм данной структуры; т.е. R и S конфигурации для каждого асимметрического центра. Поэтому, индивидуальные стереохимические изомеры, а также энантиомерные и диастереомерные смеси настоящих соединений входят в объем настоящего изобретения.

Специалисту в данной области будет очевидно, что некоторые соединения настоящего изобретения могут существовать в таутомерных формах, причем все такие таутомерные формы соединений входят в объем настоящего изобретения. Термин "таутомер", как использовано в данном описании, относится к одному из двух или более структурных изомеров, которые находятся в равновесии, и которые легко преобразуются из одной изомерной формы в другую.

Если не указано иное, приведенные в данном описании структуры также предназначены для включения соединений, которые отличаются только присутствием одного или нескольких изотопно обогащенных. Например, соединения, имеющие представленные структуры с водородом, замененным дейтерием или тритием, или с углеродом, замененным на  $^{13}\text{C}$ - или  $^{14}\text{C}$ -обогащенный углерод, входят в объем настоящего изобретения.

Соединения настоящего изобретения также могут содержать неприродное соотношение атомных изотопов к одному или более атомам, которые составляют такие соединения. Например, соединения могут быть радиоактивно мечены радиоактивными изотопами, такими как, например, тритий ( $^3\text{H}$ ), йод-125 ( $^{125}\text{I}$ ) или углерод-14 ( $^{14}\text{C}$ ). Все изотопные варианты соединений настоящего изобретения, радиоактивные или нет, входят в объем настоящего изобретения.

Соединения настоящего изобретения могут существовать в виде солей. Настоящее изобретение включает такие соли. Примеры применимых солевых форм включают гидрохлориды, гидробромиды,

сульфаты, метансульфонаты, нитраты, малеаты, ацетаты, цитраты, fumarаты, тартраты, например, (+)-тартраты, (-)-тартраты или их смеси, включая рацемические смеси, сукцинаты, бензоаты, и соли с аминокислотами, такими как глутаминовая кислота. Указанные соли могут быть получены способами, известными специалисту в данной области. Также включаются аддитивные соли оснований, такие как соли натрия, калия, кальция, аммония, органического amino или соли магния, или аналогичные соли. Когда соединения настоящего изобретения содержат относительно основные функциональные группы, кислотно-аддитивные соли могут быть получены приведением в контакт нейтральной формы таких соединений с достаточным количеством желаемой кислоты, либо как таковой или в подходящем инертном растворителе, или путем ионного обмена. Примеры приемлемых кислотно-аддитивных солей включают производные неорганических кислот, подобно хлористоводородной, бромистоводородной, азотной, угольной, моногидроугольной, фосфорной, моногидрофосфорной, дигидрофосфорной, серной, моногидросерной, йодистоводородной или фосфористой кислотам и подобным, а также соли, производные органических кислот, подобно уксусной, пропионовой, изомасляной, малеиновой, малоновой, бензойной, янтарной, субериновой, fumarовой, молочной, миндальной, фталиевой, бензолсульфоной, п-толилсульфоной, лимонной, винной, метансульфоной и подобным. Также включаются соли аминокислот, такие как аргинат и подобные, и соли органических кислот, подобно глюкуроновой или галактурановой кислотам и подобным. Некоторые конкретные соединения настоящего изобретения содержат как основные, так и кислотные функциональные группы, которые дают возможность соединениям преобразовываться либо в основные, либо в кислотно-аддитивные соли.

Нейтральные формы соединений могут быть регенерированы приведением в контакт данной соли с основанием или кислотой и выделением основного исходного соединения общепринятыми методами. Основная исходная форма соединения отличается от различных солевых форм некоторыми физическими свойствами, такими как растворимость в полярных растворителях.

Некоторые соединения настоящего изобретения могут существовать в несольватированных формах, а также сольватированных формах, включая формы гидратов. Как правило, сольватированные формы эквивалентны несольватированным формам и входят в объем настоящего изобретения. Некоторые соединения настоящего изобретения могут существовать во множественных кристаллических или аморфных формах. Как правило, все физические формы эквивалентны для применения в целях, предусмотренных настоящим изобретением, и предназначены для включения в объем настоящего изобретения.

В дополнение к солевым формам, настоящее изобретение предоставляет соединения, которые представлены в пролекарственной форме. Пролекарствами соединений, описываемых в данном описании, являются такие соединения, которые легко подвергаются химическим изменениям в физиологических условиях, обеспечивая соединения настоящего изобретения. Кроме того, пролекарства могут преобразовываться в соединения настоящего изобретения химическими или биохимическими методами *in vivo* окружающей среде. Например, пролекарства могут медленно преобразовываться в соединения настоящего изобретения при размещении его в трансдермальном пластырном резервуаре с подходящим ферментом или химическим реагентом.

Следуя конвенции по патентному законодательству, термины, используемые в данном описании и пунктах формулы изобретения в единственном числе, относятся к "одному или более". Таким образом, например, ссылка на "объект" включает множественность объектов, если в контексте четко не указано обратное (например, множественность объектов) и так далее.

Во всем описании и пунктах формулы изобретения термины "содержать", "состоять из" и "содержащий" не используются в исключительном смысле, за исключением тех случаев, когда контекст требует иное. Аналогичным образом, термин "включают" и его грамматические варианты не предназначены для ограничения, так чтобы перечень элементов в списке не предназначался для исключения других подобных элементов, которые могут быть



заменены или добавлены к перечисленным элементам.

Для целей данного описания и пунктов формулы изобретения, если специально не указано иное, все числа, указывающие на количество, размеры, объемы, пропорции, формы, составы, параметры, проценты, величины, характеристики и другие числовые обозначения, используемые в данном описании и пунктах формулы изобретения, следует понимать как модификации во всех случаях термина "примерно", даже несмотря на то, что термин "примерно" может не отображаться прямо со значением, количеством или диапазоном. Соответственно, если не указано иное, числовые параметры, приведенные в следующем описании и прилагаемых пунктах формулы изобретения, не являются и не должны быть точными, но могут быть приблизительными и/или больше или меньше, при необходимости, или отражающими допуски, коэффициенты пересчета, округления и ошибки измерения, и тому подобное, и другие факторы, известные специалисту в данной области, в зависимости от желаемых искомым свойств, получаемых от представленного изобретения. Например, термин "примерно", при ссылке на объем, может быть предназначен для охвата вариаций в некоторых вариантах осуществления  $\pm 100\%$ , в некоторых вариантах осуществления  $\pm 50\%$ , в некоторых вариантах осуществления  $\pm 20\%$ , в некоторых вариантах осуществления  $\pm 10\%$ , в некоторых вариантах осуществления  $\pm 5\%$ , в некоторых вариантах осуществления  $\pm 1\%$ , в некоторых вариантах осуществления  $\pm 0,5\%$  и в некоторых вариантах осуществления  $\pm 0,1\%$  от конкретного количества, в качестве таких вариаций, подходящих для проведения описываемых способов или применений раскрываемых композиций.

Также, термин "примерно", при использовании в связи с одним или более числами или числовыми диапазонами, следует понимать, как относящийся ко всем таким числам, включая все числа в данном диапазоне и модификациях данного диапазона при расширении границ выше и ниже приведенных числовых значений. Перечисление численных диапазонов конечными точками включает все числа, например все целые числа, включая их дробные значения, входящие

в этот диапазон (например, перечисление от 1 до 5 включает 1, 2, 3, 4 и 5, а также их дробные значения, например, 1,5, 2,25, 3,75, 4,1 и подобные) и любой диапазон в этом диапазоне.

#### Примеры

Следующие примеры включены для обеспечения методологическими основами специалиста в данной области для практической иллюстрации вариантов осуществления настоящего изобретения. В свете настоящего изобретения и общего уровня знаний специалиста в данной области, данному специалисту будет очевидно, что следующие примеры предназначены только в качестве примеров, и что число изменений, модификаций и альтернатив могут быть использованы, не отходя от заявляемого объема настоящего изобретения. Описания синтезов и конкретных примеров, которые предназначены только для целей иллюстрации, не должны толковаться как ограничивающие каким-либо образом получение соединений настоящего изобретения другими способами.

#### ПРИМЕР 1

##### Методы

*Общая методика:* Коммерчески доступный ВЭЖХ чистый метанол, катализаторы и чистые реагенты использовали в том виде, как получены. ТСХ проводили на покрытых силикагелем 60 F254 алюминиевых пластинах (Merck), и пятна проявляли раствором  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (1%) и  $\text{H}_3\text{P}(\text{Mo}_3\text{O}_{10})_4$  (2%) в серной кислоте (10%). Флэш-хроматографию проводили на силикагеле 60 (0,040-0,063 мм, Fluka) или на Biotage® KP-C18-HS или KP-Sil® SNAP картриджах с использованием системы Isolera One HPFC (Biotage, Inc.). Все химические реагенты приобретали у фирмы Sigma-Aldrich и использовали без дополнительной очистки.  $^1\text{H}$  ЯМР спектры измеряли при 400,1 МГц, 500,1 МГц или 600,1 МГц,  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектры при 100,8 МГц, 125,7 МГц или 150,9 МГц. Для стандартизации  $^1\text{H}$  ЯМР спектра использовали внутренний сигнал TMS ( $\delta$  0,0,  $\text{CDCl}_3$ ) или остаточные сигналы растворителей ( $\delta$  7,26 для  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  2,05 для  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  и  $\delta$  3,31 для  $\text{CD}_3\text{OD}$ ). В случае  $^{13}\text{C}$  спектра использовали остаточные сигналы растворителей ( $\delta$  77,00 для  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  29,84 и  $\delta$  206,26 для  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  и  $\delta$  49,00 для  $\text{CD}_3\text{OD}$ ). Химические сдвиги давали по

$\delta$ -шкале, константы связывания  $J$  представлены в Гц. ESI масс-спектры записывали с использованием ZQ микромасс масс-спектрометра (Waters), оборудованного ESCi мультिवариантным источником ионов и под контролем MassLynx программного обеспечения. Альтернативно, ESI масс-спектры низкого разрешения записывали с использованием квадрупольного времяпролетного tandemного масс-спектрометра с ортогональным ускорением ионов (Q-ToF micro, Waters), и ESI масс-спектры высокого разрешения, используя гибридный FT масс-спектрометр, объединяющий линейные ионные ловушки MC, и масс-анализатора Orbitrap (LTQ Orbitrap XL, Thermo Fisher Scientific). Условия оптимизировали для подходящей ионизации в источнике ESI (скорость потока газа оболочки 35 а.е., скорость потока газа AUX 10 а.е. азота, источник напряжения 4,3 кВ, капиллярное напряжение 40 В, капиллярная температура 275°C, напряжение цилиндрических линз 155 В). Образцы растворяли в метаноле и вносили прямой инъекцией. Оптическое вращение измеряли в  $\text{CHCl}_3$  или ДМФА с использованием прибора Autopol IV (Rudolph Research Analytical). ИК спектр измеряли в  $\text{CHCl}_3$  или KBr.

*Исследования эффективности на мышах.* Все исследования эффективности на мышах проводили согласно протоколу #M013M69, одобренному Комитетом при Университете Джонса Хопкинса по уходу за животными и их использованию. Получали самок бестимусных (мышь RH-Foxn1nu) мышей массой от 25 до 30 г (Harlan Sprague Dawley Inc, Indianapolis, Indiana) и выдерживали при 12-часовом цикле свет-темнота с неограниченным доступом к корму и воде. U87 клетки глиомы человека инъецировали подкожно ( $5 \times 10^6$  клеток в 100 мл PBS) в четырех разных местах в бок каждой мыши. Когда опухоли выросли до объема вокруг 200 мм<sup>3</sup>, мышей рандомизировали на группы носителя (HEPES-буференный солевой раствор, в.б.) или DON (1; 0,8 мг/кг, в.б.). В первой группе мышам вводили единичную дозу соответствующего раствора, спустя два часа после этого, количественно оценивали уровни глутамин в опухоли, как ранее описано (Le et al., 2012). Кратко, опухоли собирали, фиксировали замораживанием и гомогенизировали в жидком N<sub>2</sub>, затем подвергали

метаболической экстракции с использованием метанола и деионизированной воды. Количественную оценку проводили с использованием масс-спектрометра Agilent 6520 Quadrupole-Time-of-Flight (Q-TOF) с Agilent 1290 ВЭЖХ и с использованием программного обеспечения Agilent Mass Hunter и программных пакетов для качественного и количественного анализа Agilent. Содержание глутамина в среднем на группу для каждой отдельной опухоли (n=3-4/группа) изображали как относительную интенсивность и анализировали односторонним t-тестом. Во второй группе проводили эксперименты на эффективность. Мышей инъецировали один раз ежедневно в течение шести дней; объемы опухолей измеряли с использованием цифрового штангенциркуля и рассчитывали по следующей формуле: [объем=(наибольший размер опухоли)×(наименьший размер опухоли)<sup>2</sup>×0,52] на 2, 4 и 6 день после начала обработки. Каждую отдельную опухоль (n=8-10/группа) нормализовали до ее объема перед обработкой, усредняли и анализировали повторяющимся двусторонним дисперсионным анализом (ANOVA). При необходимости, впоследствии проводили ретроспективный анализ по методу Бонферрони. Значение определено как p<0,05.

*Исследование стабильности In Vitro:* Исходный раствор для большинства пролекарств получали в виде 10 мМ раствора в ДМСО для осуществления *in vitro* исследований.

Химическую стабильность пролекарства оценивали с использованием искусственного желудочного сока (SGF; pH 1,2) и забуференного фосфатом физиологического раствора (PBS; pH 7,4). Кратко, пролекарства добавляли (10 мкМ) в соответствующие растворы и инкубировали при 37°C в течение 1 часа. В заранее определенные временные точки (0, 30 и 60 мин), аликвоты 100 мкл удаляли и разводили 100 мкл воды. Исчезновение пролекарства мониторили с использованием проявляющей жидкостной хроматографией и тандемной масс-спектрометрией (ЖХ/МС/МС) описанным ниже методом.

Для метаболической стабильности, использовали плазму (собаки, человека, обезьяны, мыши и свиньи). Для стабильности,

пролекарства (10 мкМ) добавляли в каждый матрикс и инкубировали в орбитальном шейкере при 37°C. В заранее определенное время (0, 30 и 60 мин) 100 мкл аликвот смеси в трех повторах удаляли, и реакцию гасили добавлением трех кратным объемом охлажденного льдом ацетонитрила с добавленным внутренним стандартом (лозартан 0,5 мкМ). Образцы перемешивали вихревым способом в течение 30 сек и центрифугировали при 12000 g в течение 10 мин. 50 мкл Супернатанта, разведенного 50 мкл воды, переносили в 250-мкл полипропиленовую закрываемую пробирку с тефлоновой крышкой. Исчезновение пролекарства мониторили со временем с помощью жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии (ЖХ/МС/МС) описанным ниже методом.

Для ЖХ/МС/МС, пролекарства отделяли при помощи системы Thermo Scientific Accela UPLC, связанной с открытым автоматическим пробоотборником Accela, на UPLC колонке Agilent C18 (100× 2,1 мм в.д.). Температуру автоматического пробоотборника контролировали, и она составляла при работе 10°C. Подвижная фаза, используемая для хроматографического разделения, состояла из смеси ацетонитрил/вода, содержащей 0,1% муравьиную кислоту, и скорость потока составляла 0,5 мл/минута в течение 4,5 минут при градиентном элюировании. Колоночный элюент мониторили с использованием тройного квадрупольного масс-спектрометрического детектора TSQ Vantage, оборудованного набором зондов для электрораспыления в режиме положительной ионизации. Образцы вводили в источник ионизации через подогреваемый распыляемый зонд (350°C).

Для количественной оценки оставшегося соединения, исчезновение пролекарства измеряли по соотношению площадей пиков анализа в IS. Оставшийся процент рассчитывали следующим образом:

$$\frac{\text{Средний ответ}@60 \text{ мин}}{\text{Средний ответ}@0 \text{ мин}} \times 100$$

где ответ = [ (Площадь анализа) / (Площадь внутреннего стандарта) ]

\* Средний ответ представляет собой среднее из двух образцов в каждый момент времени.

*Фармакокинетическое исследование на мышах. Все*

фармакокинетические исследования на мышах проводили согласно протоколу (#M013M113), одобренному Комитетом при Университете Джонса Хопкинса по уходу за животными и их использованию. C57BL/6 мышей массой от 25 до 30 г получали от фирмы Harlan и выдерживали при 12-часовом цикле свет-темнота по выбору с доступом к корму и воде. Для оценки фармакокинетики DON и его пролекарства **5c** в мозге и плазме, 8-12 недельным мышам C57BL/6 вводили DON (**1**; 0,8 мг/кг, п.о. в забуференном фосфатом физиологическом растворе) и его пролекарство **5c** (при 0,8 мг/кг эквивалент DON (**1**), п.о. в забуференном фосфатом физиологическом растворе с 5% EtOH и 5% Tween-80). Мышей умерщвляли путем инъекции пентобарбитала через 10, 30 и 90 минут после введения лекарства, и кровь собирали через прокол сердца и помещали в микродозатор с охлажденным льдом ЭДТА, окрашенным ВД. Образцы крови центрифугировали при 2000 g в течение 15 минут, и плазму удаляли и хранили при -80°C. Ткани мозга заготавливали при следующем сборе крови, и немедленно замораживали в жидком азоте и хранили при -80°C до ЖХ/МС анализов.

*Фармакокинетические исследования на нечеловеческих приматах.* Все исследования обезьян проводили согласно протоколу (#PR15M298), одобренному Комитетом при Университете Джонса Хопкинса по уходу за животными и их использованию. Двух самок хвостатых обезьян (примерно 3,5 кг, ранее не использовавшихся в нелекарственных опытах) профильно содержали в клетках из нержавеющей стали на стойке группового взаимодействия (содержит 4 клетки, каждая 32,5" ширина × 28" глубина × 32" высота), поддерживая температуру 64-84°F, влажность 30-70% с чередующимся циклом свет/темнота 14-10 часов в соответствии с Законом о благополучии животных (USDA Animal Welfare Act, 9 CFR, Parts 1, 2 и 3). Корм предоставляли ежедневно в количестве, соответствующем размеру и возрасту животных, и RO очищенную воду неограниченно предоставляли через клапан in-Cage lixit. Обогащенный корм предоставляли с понедельника до пятницы. Перед введением лекарства, макак успокаивали кетамином в виде внутримышечной инъекции перед проведением введения испытуемого

препарата. Седативный эффект поддерживали через кровь, и собирали образцы спинномозговой жидкости (CSF) с кетаминем при начальной скорости 15 мг/кг с дополнительной дозой 20-30 мг в течение первого часа. В последующих временных точках кетамин вводили при 10-15 мг/кг. DON (50 мМ HEPES забуференный физиологический раствор) и соединение **5c** (диастереоизомер **1**), (50 мМ HEPES забуференный физиологический раствор, содержащий 5% этанол и 5% твин) вводили (1,6 мг/кг эквивалент) животным при объемном дозировании 1 мл/кг внутривенно. Образец спинномозговой жидкости (расчетное значение 50 мкл) получали чрезкожной пункцией мостомозжечковой цистерны через 30 мин после дозирования. Образцы крови (1 мл) забирали спустя 15, 30, 1, 2, 4 и 6 часов после дозирования чрезкожной пункцией периферических вен. Образцы обрабатывали для плазмы (центрифугировали при температуре 4°C, при 3000xg, в течение 10 минут). Все образцы поддерживали охлажденными на льду в ходе обработки. Образцы собирали в микроцентрифужные пробирки, быстро замораживали и помещали в морозильник, поддерживаемый при -80°C до ЖХ/МС анализов.

*Биоанализ DON.* Высокочувствительный метод анализа DON в биологических матрицах (Alt, et al., 2015) был ранее опубликован. Однако из-за химической лабильности DON и его пролекарств, был разработан и утвержден метод мягкой дериватизации при использовании дабзилхлорида. Кратко, DON экстрагировали из образцов (50 мг) 250 мкл метанола, содержащего глутамат-d5 (10 мкМ ISTD), путем интенсивного перемешивания в слабо закрепленных пробирках. Образцы центрифугировали при 16000xg в течение 5 минут для преципитации белков. Супернатанты (200 мкл) перемещали в новые пробирки и сушили при 45°C в вакууме в течение 1 часа. В каждую пробирку добавляли 50 мкл 0,2М буферного бикарбоната натрия (pH 9,0) и 100 мкл 10 мМ дабзилхлорида в ацетоне. После интенсивного перемешивания, образцы инкубировали при 60°C в течение 15 минут для дериватизации. Образцы (2 мкл) инъецировали и разделяли на Agilent 1290, оборудованном Agilent Eclipse plus колонке C18

RRHD 2,1 X100 мМ при 2,5 минутном градиенте 20–95% ацетонитрил+0,1% муравьиная кислота и количественно определяли на масс-спектрометре Agilent 6520 QTOF. Калибровочные кривые в диапазоне 0,005–17,1 мкг/мл в плазме и спинномозговой жидкости для DON строили по отношению площади пика аналита к внутреннему стандарту, с помощью линейной регрессии с весовым коэффициентом  $1/(\text{номинальная концентрация})$ . Коэффициент корреляции между более чем 0,99 получали во всех аналитических пробах. Среднее прогнозируемое относительное стандартное отклонение для обратного расчета концентрации стандартов и QC для всех аналитов составляло диапазон от 85 до 115%, за исключением низких концентраций, которые составляли пределы от 80 до 120% с общей точностью и сходимостью 6,7% и 6,6%, соответственно.

*Фармакокинетический анализ.* Данные средняя концентрация–время использовали для фармакокинетического анализа. Для оценки фармакокинетических параметров использовали неразделительный (Non-Compartmental) аналитический модуль в WinNonlin® (version 5,3). Значения пика концентраций в плазме ( $C_{\max}$ ) и времени до  $C_{\max}$  ( $T_{\max}$ ) получали путем наблюдений. Площадь под кривой (AUC) рассчитывали путем log-линейного правила трапеций в конце отбора образцов ( $AUC_{\text{last}}$ ).

*Методика фармакокинетического анализа высвобождения DON из его пролекарства:*

DON экстрагировали из образцов (50 мкл) 250 мкл метанола, содержащего глутамат-d5 (10 мкМ ISTD) путем интенсивного перемешивания в слабо закрепленных пробирках. Образцы центрифугировали при 16000×g в течение 5 минут для преципитации белков. Супернатанты (200 мкл) переносили в новые пробирки и сушили при 45°C в вакууме (приблизительно 1 час). В каждую пробирку 50 мкл добавляли 0,2М забуференный бикарбонат натрия (pH 9,0) и 100 мкл исходного дабзилхлорида. После интенсивного перемешивания, образцы инкубировали при 60°C в течение 15 минут для дериватизации. Образцы (2–10 мкл) инъецировали и разделяли на Agilent 1290, оборудованном колонкой SB-AQ при 4 минутном градиенте 20–95% ацетонитрил+0,1% муравьиная кислота и



количественно оценивали на масс-спектрометре Agilent 6520 QTOF.

#### ПРИМЕР 2

##### Пролекарственная стратегия - Блокировка функциональной карбоксилатной группы

В одном из вариантов осуществления DON пролекарства были разработаны с блокировкой только функциональных карбоксилатных групп с использованием сложных алкиловых эфиров DON с незащищенными функциональными  $\alpha$ -аминогруппами. Однако у некоторых сложных алкиловых эфиров DON с незащищенной функциональной  $\alpha$ -аминогруппой было обнаружено, что при проведении циклизации происходит формирование 5-членного циклического основания Шиффа. Наблюдаемая циклизация зависит от pH и убыстряется при pH 5-7. При низком pH, при котором циклизация обычно предотвращается или идет в обратном направлении, функциональные диазогруппы становятся нестабильными. Как результат, циклизация становится практически необратимой, придавая некоторым сложным N- $\alpha$ -свободным алкиловым эфирам неприемлемость в качестве DON пролекарств (фиг.1А).

#### ПРИМЕР 3

##### Пролекарственная стратегия - Блокировка функциональной аминогруппы

В другом варианте осуществления DON пролекарства были разработаны с блокировкой только функциональных аминогрупп с использованием N-защитных производных DON с незащищенными функциональными карбоксигруппами. N-защитные производные DON с незащищенной функциональной карбоксигруппой (фиг.1В и фиг.1С) также были нестабильными. Более конкретно, кислотные функциональные карбоксигруппы являются причиной постепенного медленного распада диазогруппы. У некоторых солевых форм, карбоксилатный анион дестабилизирует N- $\alpha$ -защитную группу. Даже более того, как показано на фиг.1D, фиг.1E, фиг.1F, фиг.1G и фиг.1H, многие тестируемые пролекарства со свободной карбоксилатной группой (за исключением соединения **26**) показали незначительное воздействие, по сравнению с DON при пероральном введении, свидетельствуя о преимуществах дериватизации как

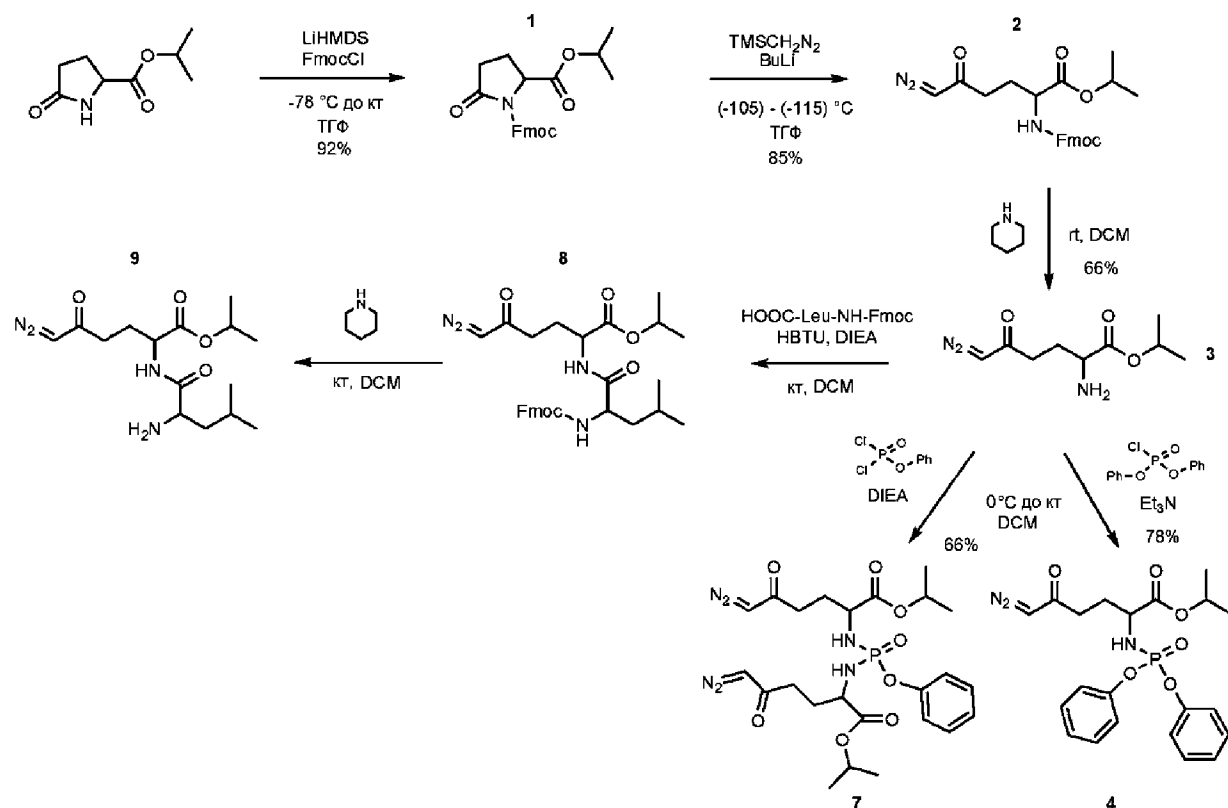
карбоксилатных, так и аминных функциональных групп при пероральной доступности.

#### ПРИМЕР 4

##### Синтез

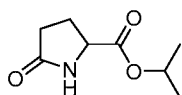
Схемы синтеза иллюстративных примеров пролекарственных соединений показаны ниже (схема 1, схема 2, схема 3, схема 4, схема 5, схема 6, схема 7 и схема 8).

##### Схема 1



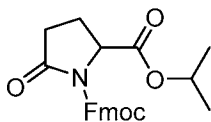
Синтез изопропил 6-диазо-2-((дифеноксифосфорил)амино)-5-оксогексаноата (4)

##### 1-метилэтил 5-оксопролинат JAM0256



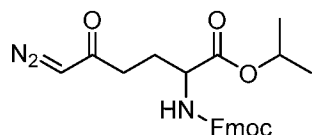
Данное соединение получали способом, известным в литературе.  $^1\text{H}$  ЯМР и  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектры согласовывались с опубликованными данными.

1-(9H-флуорен-9-илметил)-2-(1-метилэтил)-5-оксопирролидин-1,2-дикарбоксилат (1)



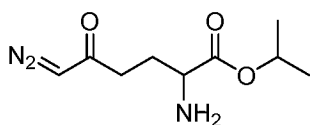
Согласно схеме 1, ранее полученное соединение **JAM0256** (US2008/107623 A1) (2,94 г, 17,16 ммоль) растворяли в абсолютном ТГФ (90 мл) в атмосфере аргона и охлаждали до  $-78^{\circ}\text{C}$ . По каплям добавляли раствор LiHMDS (1М в гексанах, 16,3 мл, 16,302 ммоль, 0,95 эквив.), и полученный раствор перемешивали при этой же температуре в течение 15 мин. Образовавшуюся в результате желтую смесь переносили через канюлю в раствор Fmoc хлорида (22,2 г, 85,8 ммоль, 5 эквив.) в абсолютном ТГФ (90 мл) при  $-78^{\circ}\text{C}$ . Полученную реакционную смесь перемешивали при  $-78^{\circ}\text{C}$  в течение 2 часов. По истечении этого периода, реакцию гасили насыщенным  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (100 мл). Затем экстрагировали этилацетатом (3×50 мл), объединенные органические слои промывали водой (40 мл), насыщенным раствором соли (40 мл) и сушили над безводным  $\text{MgSO}_4$ . Органический растворитель выпаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на силикагеле (гексан-этилацетат 2:1), с получением требуемого продукта **1** (6,2 г, 92%) в виде бесцветного твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,23 (3H, д,  $J=6,2$ ), 1,26 (3H, д,  $J=6,3$ ), 2,06-2,13 (1H, м), 2,34-2,45 (1H, м), 2,53-2,61 (1H, м), 2,67-7,76 (1H, м), 4,31 (1H, т,  $J=7,5$ ), 4,40-4,44 (1H, м), 4,53-4,57 (1H, м), 4,65 (1H, дд,  $J=9,4, 2,6$ ), 5,07 (1H, гепт,  $J=6,3$ ), 7,31-7,35 (2H, м), 7,39-7,43 (2H, м), 7,71-7,78 (4H, м).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 21,69, 21,78, 22,01, 31,31, 46,64, 58,99, 69,20, 69,78, 120,06, 120,08, 125,43, 125,57, 127,32 (2C), 127,98 (2C), 141,31, 141,33, 143,39, 143,43, 151,56, 170,58, 172,92. Оптическое вращение:  $[\alpha]^{22}_{\text{D}}-24,1^{\circ}$  (с 0,332,  $\text{CHCl}_3$ ). ИК ( $\text{CHCl}_3$ ): 3068 w, 3029 m, 2985 m, 2939 w, 2883 vw, 1797 s, 1758 s, sh, 1739 vs, 1724 vs, sh, 1609 vw, 1580 vw, 1479 w, 1463 m, 1452 s, 1421 w, 1386 s, 1377 m, 1305 vs, 1194 m, 1105 s, 1045 m, 1033 m, 621 w, 425 w  $\text{cm}^{-1}$ . ESI MC: 416 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). HR ESI MC: вычислено для  $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{O}_5\text{NNa}$  416,14684; найдено 416,14694.

Изопропил 2-(((9H-флуорен-9-ил) метокси) карбонил) амино)-6-диазо-5-оксогексаноат (**2**)



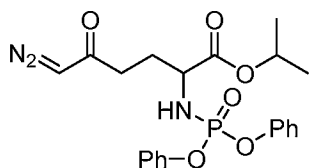
Согласно схеме 1, раствор триметилсилилдиазометана (2М в диэтиловом эфире, 6 мл, 11,93 ммоль, 1,2 эквив.) растворяли в абсолютном ТГФ (55 мл) в атмосфере аргона и охлаждали до  $-98^{\circ}\text{C}$ . По каплям добавляли раствор *n*-бутиллития (2,5М в гексанах, 4,9 мл, 12,23 ммоль, 1,23 эквив.), и полученный раствор перемешивали при  $-98^{\circ}\text{C}$  в течение 30 мин. Полученную в результате смесь переносили через канюлю в раствор полученного выше соединения **1** (3,91 г, 9,94 ммоль, 1 эквив.) в абсолютном ТГФ (100 мл) при  $-116^{\circ}\text{C}$ . Полученную реакционную смесь медленно нагревали до  $-78^{\circ}\text{C}$  и затем гасили насыщенным  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Затем экстрагировали этилацетатом (3×50 мл), объединенные органические слои промывали водой (40 мл), насыщенным раствором соли (40 мл) и сушили над безводным  $\text{MgSO}_4$ . Органический растворитель выпаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на силикагеле (хлороформ-ацетон 20:1), с получением требуемого продукта **2** (3,68 г, 85%) в виде желтоватого твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,25-1,28 (6H, м), 1,95-2,04 (1H, м), 2,17-2,26 (1H, м), 2,31-2,52 (2H, м), 4,22 (1H, т,  $J=7,1$ ), 4,29-4,43 (3H, м), 5,06 (1H, гепт,  $J=6,1$ ), 5,27 (1H, с), 5,59 (1H, д,  $J=8,2$ ), 7,30-7,34 (2H, м), 7,38-7,42 (2H, м), 7,59-7,62 (2H, м), 7,75-7,77 (2H, м).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 21,81, 21,84, 27,69, 36,56, 47,21, 53,67, 67,10, 69,62, 120,08, 120,09, 125,18, 125,21, 127,16 (2C), 127,81 (2C), 141,35, 141,37, 143,75, 143,96, 156,16, 171,50, 193,67. Оптическое вращение:  $[\alpha]^{22}_{\text{D}}+15,1^{\circ}$  (с 0,674,  $\text{CHCl}_3$ ). ИК ( $\text{CHCl}_3$ ): 3428 м, 3116 w, 3068 w, 2985 м, 2940 w, 2882 w, 2110 vs, 1731 vs, sh, 1719 vs, 1641 s, 1608 w, sh, 1580 vw, 1509 s, 1478 м, 1466 м, 1451 s, 1418 w, sh, 1386 s, sh, 1377 s, 1349 s, 1232 s, 1105 s, 1052 s, 1033 м, 622 w, 539 м, 488 м, 426 w  $\text{cm}^{-1}$ . ESI MS: 458 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). HR ESI MS: вычислено для  $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{O}_5\text{NaN}$  458,16864; найдено 458,16873.

### Изопропил 2-амино-6-диазо-5-оксгексаноат (3)



Согласно схеме 1, ранее полученное соединение **2** (900 мг, 2,07 ммоль) растворяли в дихлорметане (10 мл). Добавляли пиперидин (514 мкл 5,17 ммоль, 2,5 эквив.), и полученную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 часов. Органический растворитель выпаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на силикагеле (хлороформ-метанол 30:1), с получением требуемого продукта (290 мг, 66%) в виде желтого масла.  $^1\text{H ЯМР}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,21 (3H, д,  $J=1,8$ ), 1,23 (3H, д,  $J=1,8$ ), 1,52 (2H, шир.с), 1,74-1,85 (1H, м), 2,02-2,10 (1H, м), 2,36-2,53 (2H, шир.м), 3,37 (1H, дд,  $J=8,4, 5,0$ ), 5,00 (1H, гепт,  $J=6,3$ ), 5,27 (1H, с).  $^{13}\text{C ЯМР}$  (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 21,87, 21,89, 29,65, 36,99, 53,94, 68,64, 175,21, 194,25. **Оптическое вращение:**  $[\alpha]_D^{22} +6,5^\circ$  (с 0,444,  $\text{CHCl}_3$ ). **ИК** ( $\text{CHCl}_3$ ): 3390 w, 3323 vw, 3116 w, 2984 s, 2939 m, 2877 w, 2109 vs, 1725 vs, 1640 s, 1467 m, 1454 m, 1439 w, sh, 1388 s, sh, 1376 vs, 1349 s, 1199 s, 1106 vs  $\text{cm}^{-1}$ . **ESI MC:** 236 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ); **HR ESI MC:** вычислено для  $\text{C}_9\text{H}_{15}\text{O}_3\text{N}_3\text{Na}$  236,1006; найдено 236,1007.

**Изопропил 6-диазо-2-((дифеноксифосфорил)амино)-5-оксогексаноат (4)**

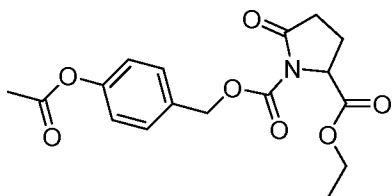


Согласно схеме 1, изопропил DON **3** (80 мг, 0,38 ммоль) растворяли в абсолютном дихлорметане (4 мл), и добавляли триэтиламин (210 мкл, 1,5 ммоль, 4 эквив.). Полученный раствор охлаждали до  $0^\circ\text{C}$ , и по каплям добавляли дифенилхлорфосфат (156 мкл, 0,75 ммоль, 2 эквив.). Полученную реакционную смесь перемешивали при  $0^\circ\text{C}$  в течение 30 мин, и затем охлаждающую баню удаляли. Полученную реакционную смесь затем перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Органический растворитель выпаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на силикагеле (хлороформ-ацетон 30:1), с получением требуемого

продукта (131 мг, 78%) в виде желтого твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,19 (3H, д,  $J=1,0$ ), 1,21 (3H, д,  $J=1,0$ ), 1,84–1,93 (1H, м), 2,07–2,16 (1H, м), 2,19–2,41 (2H, м), 3,79–3,84 (1H, м), 4,97 (1H, гепт,  $J=6,2$ ), 5,07 (1H, с).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 21,75, 21,81, 29,34, 35,88, 54,29, 69,80, 80,90, 120,32 (2С, д,  $J_{\text{C,P}}=5,0$ ), 120,39 (2С, д,  $J_{\text{C,P}}=4,9$ ), 125,23 (2С, д,  $J_{\text{C,P}}=1,0$ ), 125,28 (2С, д,  $J_{\text{C,P}}=1,0$ ), 130,00 (2С), 150,68 (д,  $J_{\text{C,P}}=5,8$ ), 150,75 (д,  $J_{\text{C,P}}=6,2$ ), 171,93 (д,  $J_{\text{C,P}}=5,9$ ), 193,51.  $^{31}\text{P}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 0,32. **Оптическое вращение:**  $[\alpha]^{22}_{\text{D}}+15,1^\circ$  (с 0,337,  $\text{CHCl}_3$ ). **ИК** ( $\text{CHCl}_3$ ): 3383 w, 3115 w, 3101 vw, 3063 vw, 2985 m, 2938 w, 2878 vw, 2110 vs, 1731 s, 1642 s, 1600 m, sh, 1591 m, 1490 s, 1467 w, 1456 m, 1448 vw, sh, 1426 m, 1385 s, sh, 1377 s, 1350 m, 1191 vs, 1163 s, 1071 w, 1026 m, 941 vs, 904 m, 821 w, 690 m, 617 w, 487 m  $\text{cm}^{-1}$ . **ESI MS:** 468 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). **HR ESI MS:** вычислено для  $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_6\text{N}_3\text{NaP}$  468,12949; найдено 468,12952.

*Синтез этил 2-(((4-ацетоксибензил)окси)карбонил)амино)-6-диазо-5-оксогексаноата (6)*

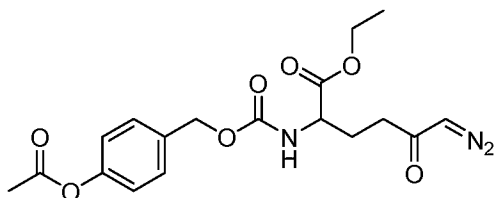
**1-[4-(ацетилокси)бензил]-2-этил-5-оксопирролидин-1,2-дикарбоксилат (5)**



В раствор фосгена (15% масс. в толуоле, 10 мл, 14 ммоль, 2,5 эквив.), охлажденный до  $0^\circ\text{C}$ , добавляли раствор 4-ацетоксибензилового спирта (934 мг, 5,6 ммоль) в толуоле (6,7 мл). Полученную реакционную смесь перемешивали при этой же температуре в течение ночи. Летучие вещества удаляли в вакууме, и продукт 4-(ацетокси)бензилхлорформиат растворяли в ТГФ (5 мл) и использовали без какой-либо очистки. Этилпироглутамат (800 мг, 5,1 ммоль) растворяли в абсолютном ТГФ (13 мл) в атмосфере аргона и охлаждали до  $-78^\circ\text{C}$ . По каплям добавляли раствор  $\text{LiHMDS}$  (1М в гексанах, 6,12 мл, 6,12 ммоль, 1,2 эквив.), и полученный раствор перемешивали при этой же температуре в течение 15 мин. Образовавшуюся в результате желтую смесь переносили через канюлю

в раствор 4-(ацетокси)бензилхлорформиата (5,6 ммоль, 1 эквив.) при  $-78^{\circ}\text{C}$ . Полученную реакционную смесь перемешивали при  $-78^{\circ}\text{C}$  в течение 2 часов. По истечении этого периода, реакцию гасили насыщенным  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (100 мл). Затем экстрагировали этилацетатом (3×50 мл), объединенные органические слои промывали водой (40 мл), насыщенным раствором соли (40 мл) и сушили над безводным  $\text{MgSO}_4$ . Органический растворитель выпаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на силикагеле (гексан-этилацетат 1:1), с получением требуемого продукта **5** (1,16 г, 65%) в виде бесцветного твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,16 (3H, т,  $J=7,2$ ), 1,99-2,06 (1H, м), 2,25 (3H, с), 2,28-2,36 (1H, м), 2,42-2,50 (1H, м), 2,55-2,64 (1H, м), 4,11 (1H, квд,  $J=7,1$ , 2,6), 4,62 (1H, дд,  $J=9,4$ , 2,7), 5,16 (1H, д,  $J=12,4$ ), 4,25 (1H, д,  $J=12,4$ ), 7,02-7,05 (2H, м), 7,35-7,39 (2H, м).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 14,02, 21,08, 21,79, 30,99, 58,74, 61,82, 67,58, 121,75, 129,46, 132,62, 150,70, 150,83, 169,28, 170,97, 172,93. **Оптическое вращение:**  $[\alpha]^{22}_{\text{D}}-30,7^{\circ}$  (с 0,298,  $\text{CHCl}_3$ ). **ИК** ( $\text{CHCl}_3$ ): 2968 w, 2942 vw, 2876 vw, 1797 s, 1753 vs, 1717 s, sh, 1609 w, 1597 vw, 1510 m, 1476 vw, 1463 w, 1450 w, 1447 w, 1421 w, 1402 w, sh, 1380 m, 1372 m, 1303 s, 1288 s, 1259 m, 1198 vs, 1166 s, 1107 vw, 1045 m, 1019 m, 1012 m, sh, 913 w, 846 w, 596 w,  $\text{cm}^{-1}$ . **ESI MC:** 372 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). **HR ESI MC:** вычислено для  $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{O}_7\text{NNa}$  372,10537; найдено 372,10541.

**Этил 2-(((4-ацетоксибензил)окси)карбонил)амино)-6-диазо-5-оксогексаноат (6)**

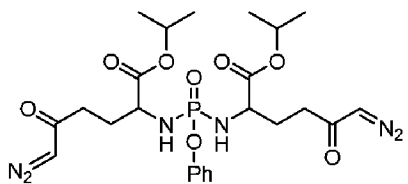


Раствор триметилсилилдиазометана (2M в диэтиловом эфире, 1,7 мл, 3,43 ммоль, 1,2 эквив.) растворяли в абсолютном ТГФ (17 мл) в атмосфере аргона и охлаждали до  $-98^{\circ}\text{C}$ . По каплям добавляли раствор н-бутиллития (2,5M в гексанах, 1,4 мл, 3,52 ммоль, 1,23 эквив.), и полученный раствор перемешивали при  $-98^{\circ}\text{C}$  в течение 30 мин. Полученную в результате смесь переносили через канюлю в

раствор полученного выше соединения **5** (1,0 г, 2,86 ммоль, 1 эквив.) в абсолютном ТГФ (27 мл) при  $-116^{\circ}\text{C}$ . Полученную реакционную смесь медленно нагревали до  $-78^{\circ}\text{C}$  и затем гасили насыщенным  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Затем экстрагировали этилацетатом (3×50 мл), объединенные органические слои промывали водой (40 мл), насыщенным раствором соли (40 мл) и сушили над безводным  $\text{MgSO}_4$ . Органический растворитель выпаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на силикагеле (хлороформ-ацетон 20:1), с получением требуемого продукта **6** (460 мг, 41%) в виде желтоватого твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,25 (3H, т,  $J=7,1$ ), 1,92-2,03 (1H, м), 2,13-2,23 (1H, м), 2,28 (3H, с), 2,32-2,43 (1H, м), 4,18 (1H, кв,  $J=7,1$ ), 4,29-4,34 (1H, м), 5,04 (1H, д,  $J=12,4$ ), 5,10 (1H, д,  $J=12,1$ ) 5,22 (1H, с), 7,31 (1H, д,  $J=8,2$ ), 7,04-7,07 (2H, м), 7,34-7,37 (2H, м).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 14,22, 21,19, 27,53, 36,45, 53,62, 61,78, 66,38, 121,78, 129,52, 134,01, 150,59, 156,01, 169,51, 171,90, 193,60. **Оптическое вращение:**  $[\alpha]_D^{22} +15,5^{\circ}$  (с 0,129,  $\text{CHCl}_3$ ). **ИК** ( $\text{CHCl}_3$ ): 3428 w, 3116 w, 2966 w, 2110 s, 1721 vs, 1742 s, sh, 1641 m, 1609 w, sh, 1595 vw, sh, 1509 s, 1418 vw, 1381 s, sh, 1371 s, 1344 m, 1197 vs, 1166 m, 1106 vw, 1053 m, br, 1019 m, 1012 m, sh, 913 w, 848 w, 595 w, 492 w  $\text{cm}^{-1}$ . **ESI MC:** 414 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). **HR ESI MC:** вычислено для  $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{O}_7\text{N}_3\text{Na}$  414,12717; найдено 414,12713.

*Синтез* 1-метилэтил 2,6-бис[4-(1 $\lambda^5$ -дiazинилиден)-3-оксобутил]-9-метил-7-оксо-4-фенокси-8-окса-3,5-диаза-4-фосфадекан-1-оат 4-оксида (7)

1-метилэтил 2,6-бис[4-(1 $\lambda^5$ -дiazинилиден)-3-оксобутил]-9-метил-7-оксо-4-фенокси-8-окса-3,5-диаза-4-фосфадекан-1-оат 4-оксид (7)



Согласно схеме 1, изопропил DON **3** (100 мг, 0,38 ммоль) растворяли в абсолютном дихлорметане (3 мл) и добавляли диизопропилэтиламин (327 мкл, 1,88 ммоль, 4 эквив.). Полученный

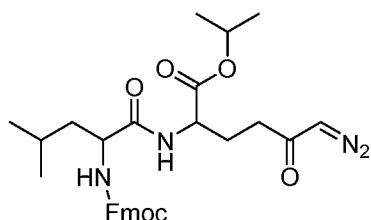


раствор охлаждали до 0°C, и по каплям добавляли фенолдиморфосфат (31,6 мкл, 0,21 ммоль, 0,45 эквив.). Полученную реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 30 мин, и затем охлаждающую баню удаляли. Полученную реакционную смесь затем перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Органический растворитель выпаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на силикагеле (этилацетат-метанол 40:1), с получением требуемого продукта (78 мг, 66%) в виде желтого масла.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,21-1,24 (12H, м), 1,81-1,93 (2H, м), 2,09-2,19 (2H, м), 2,24-2,52 (4H, м), 3,61-3,70 (2H, м), 3,90-3,98 (2H, м), 4,99 (1H, гепт,  $J=6,3$ ) 4,99 (1H, гепт,  $J=6,2$ ), 5,24 (1H, с), 5,33 (1H, с), 7,10-7,14 (1H, м), 7,17-7,20 (2H, м), 7,28-7,31 (2H, м).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 21,81 (4C), 29,26, 29,43, 36,21 (2C), 53,78 (д,  $J_{\text{C,P}}=1,7$ ), 53,97, 69,54, 69,66, 120,43 (д,  $J_{\text{C,P}}=4,8$ ), 124,76, 129,76 (2C), 151,03 (2C, д,  $J_{\text{C,P}}=6,8$ ), 172,47 (д,  $J_{\text{C,P}}=5,5$ ), 172,64 (д,  $J_{\text{C,P}}=5,2$ ), 194,07 (2C).  $^{31}\text{P}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 11,08. **Оптическое вращение:**  $[\alpha]^{22}_{\text{D}}+6,4^\circ$  (с 0,313,  $\text{CHCl}_3$ ). **ИК** ( $\text{CHCl}_3$ ): 3099 w, 3303 w, 2104 vs, 1732 s, 1639 s, 1592 w, 1492 m, 1385 sh, m, 1376 s, 1240 sh, m, 1211 s, 1183 sh, m, 1167 m, 1144 m, 1132 sh, m, 1106 s, 1072 w, 1025 w, 1006 m, 923 m, 832 sh, w, 771 w, m, 692 w  $\text{cm}^{-1}$ .

**ESI MS:** 587 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). **HR ESI MS:** вычислено для  $\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{N}_6\text{O}_8\text{PNa}$  587,19897; найдено 587,19899.

*Синтез изопропил 2-(2-амино-4-метилпентанамидо)-6-диазо-5-оксогексаноата (9)*

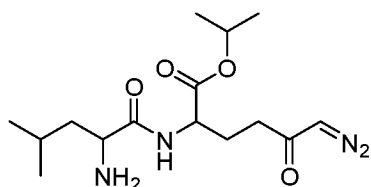
**Изопропил 2-(2-(((9H-флуорен-9-ил) метокси) карбонил) амино) - 4-метилпентанамидо)-6-диазо-5-оксогексаноат (8)**



Согласно схеме 1, Fmoc-NH-(L)-Leu-COOH (874 мг, 2,47 ммоль, 1,1 экв.) и HBTU (1023 мг, 2,70 ммоль, 1,2 экв.) суспендировали в сухом DCM (15 мл). DIEA (872 мг, 1,18 мл, 6,75 ммоль, 3 экв.) и затем раствор  $\text{NH}_2\text{-DON-COOiPr}$  (448 мг, 2,25 ммоль, 1 экв.) в

сухом DCM (5 мл) добавляли при помощи шприца. Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре в инертной атмосфере. Добавляли DCM (20 мл), и органическую фазу промывали насыщенным  $\text{NaHCO}_3$  (40 мл), 1М  $\text{HCl}$  (40 мл), водой (2×40 мл) и насыщенным  $\text{NaCl}$  (40 мл), сушили над  $\text{MgSO}_4$ . DCM выпаривали. Неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией (DCM/EtOAc 4:1,  $R_f$  0,27), и получали светло-желтое твердое вещество (949 мг) с выходом 79%.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 0,91-0,96 (6H, м), 1,23-1,25 (6H, м), 1,51-1,73 (3H, м), 1,93-2,02 (1H, м), 2,14-2,24 (1H, м), 2,26-2,44 (2H, м), 4,16-4,24 (2H, м), 4,33-4,37 (1H, м), 4,39-4,44 (1H, м), 4,47-4,52 (1H, м), 4,96-5,08 (1H, м), 5,18 (1H, с), 5,36 (1H, д,  $J=8,2$ ), 6,84 (1H, д,  $J=7,8$ ), 7,30 (2H, тт,  $J=7,4$ , 1,2), 7,37-7,42 (2H, м), 7,58 (2H, д,  $J=7,4$ ), 7,75 (2H, д,  $J=7,5$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 21,70, 21,72, 22,04, 22,92, 24,66, 27,04, 36,37, 41,75, 47,14, 52,05, 53,56, 67,08, 69,47, 119,98, 120,01, 125,06, 125,13, 127,10, 127,11, 127,74, 127,75, 141,28 (2C), 143,76, 143,81, 156,14, 170,95, 172,29, 193,80. **Оптическое вращение:**  $[\alpha]^{22}_D -6,1^\circ$  (с 0,472,  $\text{CHCl}_3$ ). **ИК** ( $\text{CHCl}_3$ ): 3304 м, sh, 3067 w, 3018 w, 2105 s, 1730 s, 1704 s, 1659 vs, 1639 sh, m, 1612 sh, w, 1580 sh, w, 1539 s, 1478 m, 1451 m, 1467 m, 1386 sh, s, 1375 s, 1244 s, 1172 sh, m, 1145 m, 1106 s, 834 sh, w, 759 m, 740 s, 621 m, 427  $\text{cm}^{-1}$ . **ESI MC:** 571 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). **HR ESI MC:** вычислено для  $\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{O}_4\text{N}_4\text{Na}$  571,25271; найдено 571,25271.

**Изопропил 2-(2-амино-4-метилпентанамидо)-6-диазо-5-оксогексаноат (9)**

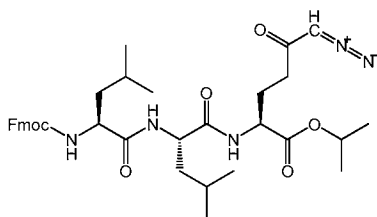


Использовали способ получения, аналогично примененному выше для получения соединения **3**. Согласно схеме 1, соединение **8** (90 мг, 0,164 ммоль), дихлорметан (1 мл), пиперидин (41 мкл 0,41 ммоль, 2,5 эквив.). Хроматография на силикагеле (хлороформ-метанол 20:1). Продукт (31 мг, 66%) в виде желтого твердого

вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 0,94 (3H, д,  $J=6,3$ ), 0,98 (3H, д,  $J=6,4$ ), 1,25 (3H, д,  $J=2,8$ ), 1,26 (3H, д,  $J=2,8$ ), 1,35-1,42 (1H, м), 1,76-1,79 (2H, м), 1,95-2,04 (1H, м), 2,17-2,25 (1H, м), 2,33-2,49 (2H, м), 3,48 (1H, дд,  $J=9,7, 4,1$ ), 4,52 (1H, тд,  $J=8,5, 4,7$ ), 5,04 (1H, гепт,  $J=6,3$ ), 5,35 (1H, с), 7,87 (1H, д,  $J=8,3$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 27,59, 28,19, 33,40, 66,39, 80,90, 124,87, 128,33, 128,35, 128,66, 136,10, 140,58, 166,01, 172,75. **Оптическое вращение:**  $[\alpha]^{22}_{\text{D}} +^\circ$  (с 0,33,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). **ИК** ( $\text{CHCl}_3$ ): 3412 w, 3343 w, 2110 vs, 1731 s, 1663 s, 1643 sh, s, 1603 sh, w, 1510 s, 1413 w, 1386 sh, s, 1376 sh, s, 1370 sh, s, 1349 m, 1145 m, 1105 s  $\text{cm}^{-1}$ . **ESI MC:** 327 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ). **HR ESI MC:** вычислено для  $\text{C}_{15}\text{H}_{27}\text{O}_4\text{N}_4\text{Na}$  327,20268; найдено 327,20280.

*Синтез 1-метилэтил L-лейцил-L-лейцил-6-(1 $\lambda^5$ -дiazинилиден)-5-оксо-L-норлейцината (11)*

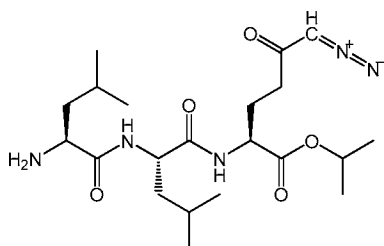
**1-Метилэтил N-[(9H-флуорен-9-илметокси) карбонил]-L-лейцил-L-лейцил-6-(1 $\lambda^5$ -дiazинилиден)-5-оксо-L-норлейцинат (10)**



Fmoc-NH-(L)-Leu-COOH (224 мг, 0,634 ммоль, 1,1 эквив.) и тетрафторборат 2-бензотриазол-1-ил-тетраметилурония (TBTU) (222 мг, 0,69 ммоль, 1,2 эквив.) суспендировали в абсолютном дихлорметане (5 мл), и добавляли диизопропилэтиламин (301 мкл, 1,73 ммоль, 3 эквив.). Полученную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин., и затем раствор **9** (188 мг, 0,58 ммоль) в сухом дихлорметане (3 мл) добавляли при помощи шприца. Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре в инертной атмосфере. Органический растворитель выпаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на силикагеле (гексан:этилацетат, 1:1), с получением требуемого продукта **10** (188 мг, 49%) в виде желтоватого аморфного твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 0,86-0,98 (12H, м), 1,24 (3H, д,  $J=5,0$ ), 1,25 (3H, д,  $J=5,0$ ), 1,47-1,56 (2H, м), 1,57-1,72 (4H, м), 1,91-2,04 (1H, м), 2,14-

2,24 (1H, м), 2,26-2,48 (2H, м), 4,14-4,22 (1H, м), 4,21 (1H, т,  $J=6,8$ ), 4,36-4,49 (4H, м), 5,03 (1H, пепт,  $J=6,3$ ), 5,14 (1H, д,  $J=7,5$ ), 5,32 (1H, с), 6,41 (1H, д,  $J=7,7$ ), 6,83 (1H, д,  $J=6,8$ ), 7,32 (2H, тт,  $J=7,4, 1,3$ ), 7,41 (2H, тт,  $J=7,5, 1,5$ ), 7,58 (2H, д,  $J=7,5$ ), 7,77 (2H, тт,  $J=7,6, 1,1$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 21,82, 21,84, 21,96, 22,22, 22,91, 23,14, 24,83 (2С), 27,22, 36,46, 41,29, 41,39, 47,26, 51,94, 52,12, 53,74, 55,00, 67,22, 69,54, 120,12, 120,14, 125,11, 125,15, 127,22 (2С), 127,88, 127,89, 141,42 (2С), 143,77, 143,89, 156,42, 171,03, 171,81, 172,39, 193,97. **Оптическое вращение:**  $[\alpha]^{22}_{\text{D}}$   $-25,2^\circ$  (с 0,385,  $\text{CHCl}_3$ ). **ИК** ( $\text{CHCl}_3$ ): 3426 м, 3332 w, sh, 3116 w, 3068 w, 2961 s, 2873 м, 2110 s, 1726 vs, 1672 vs, 1640 sh, м, 1610 sh, w, 1579 sh, w, 1541 м, 1506 vs, 1479 м, 1468 м, 1387 s, 1371 sh, s, 1377 s, 1349 м, 1286 м, 1234 s, 1171 sh, м, 1146 м, 1105 s, 1046 м, 1023 sh, w, 824 w, 585 w, 488 w, sh, 426 w  $\text{cm}^{-1}$ . **ESI MC:** 684 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). **HR ESI MC:** вычислено для  $\text{C}_{36}\text{H}_{47}\text{O}_7\text{N}_5\text{Na}$  684,33677; найдено 684,33607.

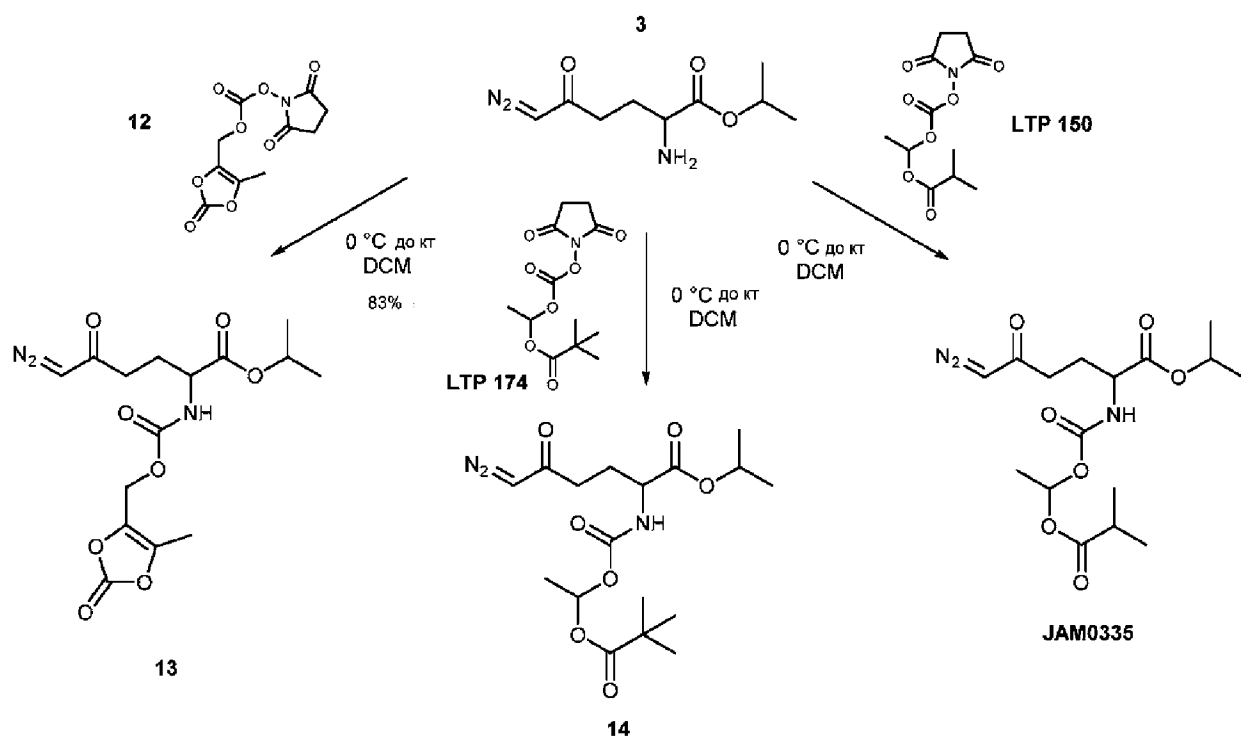
**1-Метилэтил L-лейцил-L-лейцил-6-(1 $\lambda^5$ -дiazинилиден)-5-оксо-L-норлейцинат (11)**



Соединение **10** (180 мг, 0,272 ммоль) растворяли в дихлорметане (4 мл). Добавляли пиперидин (67 мкл 0,68 ммоль, 2,5 эквив.), и полученную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 часов. Органический растворитель выпаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на силикагеле (хлороформ:метанол, 30:1), с получением требуемого продукта **11** (80 мг, 67%) в виде желтого аморфного твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 0,88-0,98 (12H, м), 1,24 (3H, д,  $J=5,2$ ), 1,26 (3H, д,  $J=5,3$ ), 1,37-1,47 (1H, м), 1,50-1,79 (5H, м), 1,91-2,07 (1H, м), 2,08-2,28 (3H, м), 2,31-2,50 (2H, м), 3,52 (1H, дд,  $J=9,5, 3,8$ ), 4,39 (1H, тд,  $J=8,7, 5,3$ ), 4,46

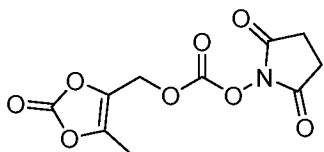
(1H, тд,  $J=8,0, 4,6$ ), 5,03 (1H, гепт,  $J=6,2$ ), 5,37 (1H, с), 7,02 (1H, д,  $J=7,4$ ), 7,77 (1H, д,  $J=8,1$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 21,46, 21,83, 21,86, 22,05, 23,09, 23,53, 24,95, 25,01, 27,13, 36,52, 40,89, 43,94, 51,55, 52,16, 53,61, 55,01, 69,49, 171,09, 172,36, 175,91, 194,21. **Оптическое вращение:**  $[\alpha]^{22}_{\text{D}} -31,7^\circ$  (с 0,439,  $\text{CHCl}_3$ ). **ИК** ( $\text{CHCl}_3$ ): 3415 w, 3343 w, br, 3117 w, 2984 m, 2961 s, 2936 m, 2873 m, 2855 w, 2110 vs, 1731 s, 1665 vs, br, 1653 vs, br, 1630 s, sh, 1509 s, 1468 m, 1454 w, 1450 w, 1440 w, 1386 s, 1377 s, 1370 s, 1349 m, 1201 m, 1183 w, 1146 m, 1105 s  $\text{cm}^{-1}$ . **ESI MC:** 440 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ). **HR ESI MC:** вычислено для  $\text{C}_{21}\text{H}_{38}\text{O}_5\text{N}_5$  440,28675; найдено 440,28674.

Схема 2



Синтез 1-метилэтил 6-(1 $\lambda^5$ -дiazинилиден)-N-{[(5-метил-2-оксо-1,3-диоксол-4-ил)метокси]карбонил}-5-оксо-L-норлейцината (13)

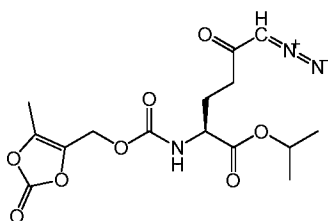
2,5-Диоксопирролидин-1-ил-(5-метил-2-оксо-1,3-диоксол-4-ил)метилкарбонат (12)



4-(Гидроксиметил)-5-метил-1,3-диоксол-2-он (1,00 г, 7,89 ммоль, 1 экв.) растворяли в сухом  $\text{Et}_2\text{O}$  (30 мл), и полученный

раствор охлаждали до 0°C. При этой температуре добавляли пиридин (608 мг, 619 мкл, 7,69 ммоль, 1 экв.), и наконец, по каплям добавляли раствор *S*-этилкарбонхлоридотионата (1,04 г, 874 мкл, 8,38 ммоль, 1,09 экв.) в сухом Et<sub>2</sub>O (8 мл). Полученную смесь перемешивали в течение 1 часа при 0°C и в течение ночи при кт (18 ч). Et<sub>2</sub>O удаляли в вакууме и добавляли DCM (70 мл). Полученную реакционную смесь промывали насыщенным NaHCO<sub>3</sub> (40 мл) и водой (3×40 мл), сушили над MgSO<sub>4</sub>, и DCM удаляли на ротаторном испарителе. Неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией (гексан/EtOAc 5:1, R<sub>f</sub> 0,24). Получали светло-желтую жидкость (1,29 г) с выходом 77%. *S*-Этил *O*-((5-метил-2-оксо-1,3-диоксол-4-ил)метил)карбонотиоат (800 мг, 3,67 ммоль, 1 экв.) и *N*-гидроксисукцинимид (844 мг, 7,33 ммоль, 2 экв.) суспендировали в сухом DCM (8 мл). Полученный раствор охлаждали до 0°C, и по каплям добавляли перуксусную кислоту (836 мг (100%), 2,32 г (36%), 11,00 ммоль, 3 экв., 36% раствор в уксусной кислоте) за 10 минут. Конечную смесь перемешивали в течение 30 минут при 0°C и 2 часов при кт. Добавляли DCM (20 мл), и органическую фазу промывали водой (2×35 мл) и насыщенным NaCl (35 мл). DCM выпаривали, и продукт **12** получали в виде бесцветного твердого вещества (750 мг) с выходом 76%. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 2,20 (3H, с), 2,86 (4H, с), 5,05 (2H, с). <sup>13</sup>C ЯМР (101 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 9,67, 25,58, 59,89, 131,61, 142,20, 151,65, 168,39. ИК (CHCl<sub>3</sub>): 1842 м, 1824 с, 1819 с, 1792 с, 1749 vs, 1431 w, 1386 w, 1309 м, 1195 с, 935 w, 900 w, 811 vw см<sup>-1</sup>. ESI MC: 294 ([M+Na]<sup>+</sup>). HR ESI MC: вычислено для C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>O<sub>8</sub>NNa 294,02204; найдено 294,02213.

**1-Метилэтил 6-(1<sup>λ</sup>5-дiazинилиден)-*N*-{ [(5-метил-2-оксо-1,3-диоксол-4-ил) метокси] карбонил}-5-оксо-L-норлейцинат (13)**

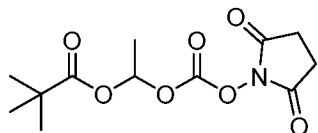


Согласно схеме 2, соединение **12** (70 мг, 0,258 ммоль, 1,1

эквив.) растворяли в абсолютном дихлорметане (2 мл). Полученный раствор охлаждали до 0°C, и по каплям добавляли раствор соединения **3** (50 мг, 0,235 ммоль) в дихлорметане (1 мл). Реакционную смесь перемешивали 15 мин при 0°C, охлаждающую баню удаляли. Полученную реакционную смесь затем перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Органический растворитель выпаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на силикагеле (хлороформ:ацетон, 10:1), с получением требуемого продукта **13** (72 мг, 83%) в виде желтого масла. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 1,24 (3H, д, J=3,4), 1,26 (3H, д, J=5,6), 1,94-2,04 (1H, м), 2,13-2,24 (1H, м), 2,16 (3H, с), 2,32-2,49 (2H, м), 4,23-4,28 (1H, м), 4,77-4,87 (2H, м), 5,04 (1H, гепт, J=6,3), 5,28 (3H, с), 5,66 (1H, д, J=7,9). <sup>13</sup>C ЯМР (101 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 9,51, 21,82, 21,85, 27,32, 36,33, 53,86, 54,57, 69,79, 133,93, 140,07, 152,31, 155,25, 171,12, 193,50. **Оптическое вращение:** [α]<sup>22</sup><sub>D</sub> +15,1° (с 0,417, CHCl<sub>3</sub>). **ИК (CHCl<sub>3</sub>):** 3424 w, 3012 w, 2984 w, 2935 w, 2111 s, 1836 sh, s, 1821 vs, 1736 sh, vs, 1725 vs, 1641 m, 1603 sh, w, 1509 s, 1391 sh, m, 1383 s, 1366 sh, m, 1105 s см<sup>-1</sup>. **ESI MS:** 392 ([M+Na]<sup>+</sup>). **HR ESI MS:** вычислено для C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>O<sub>8</sub>N<sub>3</sub>Na 392,10644; найдено 392,10650.

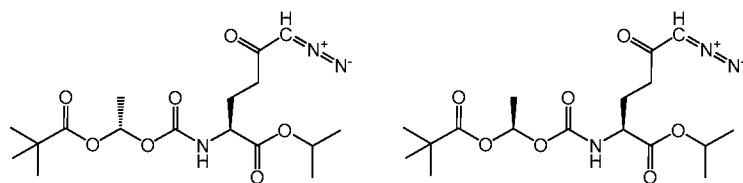
**Синтез 1-метилэтил 6-(1λ<sup>5</sup>-дiazинилиден)-N-({1-[(2,2-диметилпропаноил)окси]этокси}карбонил)-5-оксо-L-норлейцината (14a) и (14b)**

**1-(((2,5-Диоксопирролидин-1-ил)окси)карбонил)окси)этилпивалат (LTP 174)**



Данное соединение получали согласно литературной методике (WO 2008033572 A1).

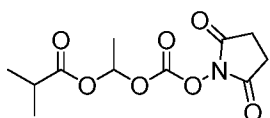
**1-Метилэтил 6-(1λ<sup>5</sup>-дiazинилиден)-N-({1-[(2,2-диметилпропаноил)окси]этокси}карбонил)-5-оксо-L-норлейцинат (14a) и (14b)**



Согласно схеме 2, соединения **14a** и **14b** получали из соединения **3** (200 мг, 0,938 ммоль), как описано для получения соединения **13**, при использовании дихлорметана (8 мл) и 1-(((2,5-диоксопирролидин-1-ил)окси)карбонил)окси)этилпивалата (297 мг, 1,032 ммоль, 1,1 эквив.), с последующей хроматографией на силикагеле (хлороформ:ацетон, 20:1), с выходом двух диастереоизомеров **14a** (90 мг,  $R_f=0,25$ ) и **14b** (50 мг,  $R_f=0,2$ ) в виде желтых масел (39%).  $^1\text{H ЯМР}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,18 (9H, с), 1,25 (3H, д,  $J=3,0$ ), 1,26 (3H, д,  $J=3,1$ ), 1,46 (3H, д,  $J=5,4$ ), 1,94-2,04 (1H, м), 2,15-2,24 (1H, м), 2,31-2,49 (2H, м), 4,24-4,30 (1H, м), 5,04 (1H, гепт,  $J=6,2$ ), 5,28 (1H, с), 5,50 (1H, д,  $J=7,9$ ), 6,77 (1H, кв,  $J=5,4$ ).  $^{13}\text{C ЯМР}$  (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 19,78, 21,83, 21,85, 27,00 (3C), 27,79, 36,56, 38,79, 53,58, 69,76, 89,70, 153,90, 171,16, 176,61, 193,59. ИК ( $\text{CHCl}_3$ ): 3427 w, 3116 w, 2984 m, 2960 sh, m, 2937 w, 2875 w, 2857 sh, w, 2110 s, 1745 sh, vs, 1730 sh, vs, 1641 m, 1508 s, 1480 m, 1467 sh, w, 1461 w, 1455 sh, w, 1392 sh, s, 1383 sh, s, 1377 s, 1371 sh, s, 1365 sh, s, 1350 m, 1027 m  $\text{cm}^{-1}$ . Оптическое вращение (**14a**):  $[\alpha]^{22}_{\text{D}} +22,0^\circ$  (с 0,191,  $\text{CHCl}_3$ ). Оптическое вращение (**14b**):  $[\alpha]^{22}_{\text{D}} +7,6^\circ$  (с 0,158,  $\text{CHCl}_3$ ). ESI MS (**14a**): 408 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). ESI MS (**14b**): 408 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). HR ESI MS (**14a**): вычислено для  $\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{O}_7\text{N}_3\text{Na}$  408,17412; найдено 408,17425. HR ESI MS (**14b**): вычислено для  $\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{O}_7\text{N}_3\text{Na}$  408,17412; найдено 408,17421. Диастереомер **14a** использовали для всех биологических исследований.

Синтез изопропил 6-диазо-2-(((1-((3-метилбутаноил)окси)этокси)карбонил)амино)-5-оксогексаноата (JAM0335)

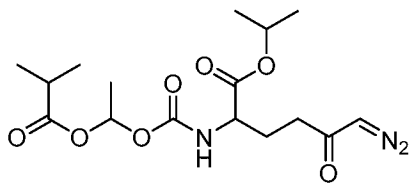
1-(((2,5-Диоксопирролидин-1-ил)окси)карбонил)окси)этилизобутират (LTP 150)





Данное соединение получали согласно описанной в литературе методике (Magill et al., 1957).

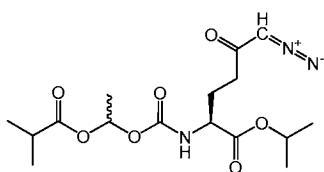
**Изопропил 6-диазо-2-(((1-((3-метилбутаноил)окси)этокси)карбонил)амино)-5-оксогексаноат (JAM0335)**



Использовали способ получения, аналогично примененному выше для получения соединения **13**. Согласно схеме 2, **LTP150** (74 мг, 0,258 ммоль, 1,1 эквив.), дихлорметан (2 мл). Соединение **3** (50 мг, 0,235 ммоль), дихлорметан (1 мл). Хроматография на силикагеле (хлороформ-ацетон 20:1). Продукт (31 мг, 66%) выделяли в виде желтого масла.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,48 (9H, с), 2,54-2,64 (4H, м), 5,11 (2H, с), 5,48 (1H, м), 6,07 (1H, д,  $J=1,2$ ), 7,30-7,40 (5H, м).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 27,59, 28,19, 33,40, 66,39, 80,90, 124,87, 128,33, 128,35, 128,66, 136,10, 140,58, 166,01, 172,75. **ESI MC**: 313 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). **HR ESI MC**: вычислено для  $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_4\text{Na}$  313,14103; найдено 313,14103.

Синтез 1-метилэтил 6-(1 $\lambda^5$ -дiazинилиден)-N-({1-[ (2-метилпропаноил)окси]этокси}карбонил)-5-оксо-L-норлейцината (**15**)

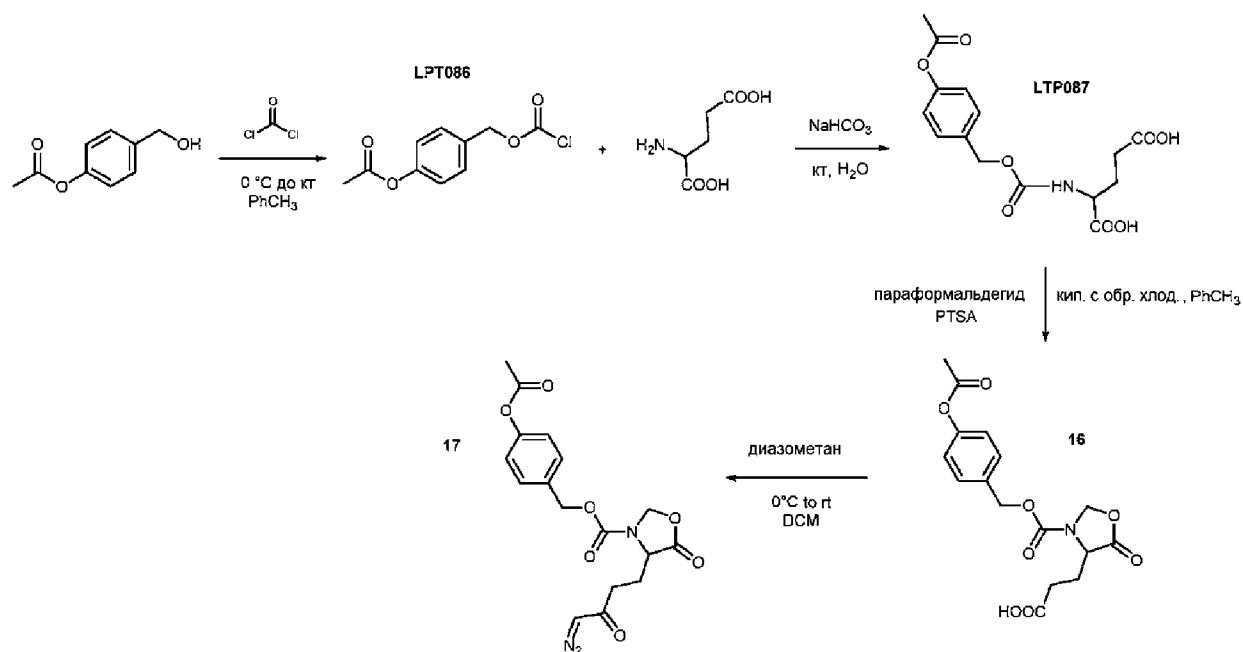
**1-Метилэтил 6-(1 $\lambda^5$ -дiazинилиден)-N-({1-[ (2-метилпропаноил)окси]этокси}карбонил)-5-оксо-L-норлейцинат (**15**)**



Соединение **15** получали из соединения **3** (300 мг, 1,4 ммоль), как описано для получения соединения **13**, с использованием 1-[[[(2,5-диоксопирролидин-1-ил)окси]карбонил]окси]этил 2-метилпропаноата (полученный по WO 2005066122, 423 мг, 1,55 ммоль, 1,1 эквив.) и дихлорметана (4 мл), с последующей хроматографией на силикагеле (хлороформ:ацетон, 20:1). Желтое масло (426 мг, 82%).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,13-1,17 (6H, м), 1,24-1,26 (6H, м), 1,46 (3H, д,  $J=5,4$ ), 1,89-2,03 (1H, м), 2,15-

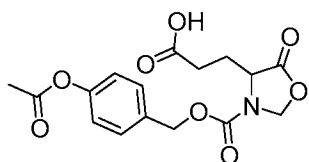
2,26 (1H, м), 2,31-2,58 (3H, м), 4,25-4,31 (1H, м), 5,03 (1H, гепт,  $J=6,3$ ), 5,29 и 5,34 (1H, 2× с), 5,48 и 5,52 (1H, 2× д,  $J=8,2$  и 7,9), 6,75-6,81 (1H, м).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 18,78 (2С), 19,83, 21,81, 21,84, 27,81, 33,98, 36,40, 53,47, 54,92, 69,75, 89,53, 153,87, 171,12, 175,19, 193,60. ИК ( $\text{CHCl}_3$ ): 3427 w, 3116 w, 2983 m, 2940 w, 2879 w, 2110 s, 1746 vs, 1733 vs, 1641 m, 1509 s, 1449 m, 1387 s, 1349 s, 1341 m, 1321 m, 1030 s  $\text{cm}^{-1}$ . ESI MC: 394 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). HR ESI MC: вычислено для  $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{O}_7\text{N}_3\text{Na}$  394,15847; найдено 394,15859.

Схема 3



Синтез 4-ацетоксибензил 4-(4-диазо-3-оксобутил)-5-оксооксазолидине-3-карбоксилата (17)

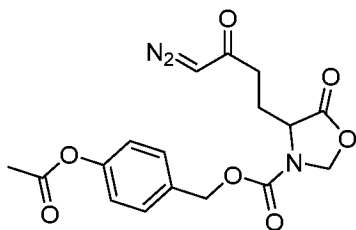
3-(3-((4-ацетоксибензил)окси)карбонил)-5-оксооксазолидин-4-ил)пропионовая кислота (16)



Согласно схеме 3, раствор фосгена (15% об.) (2,12 г, 2,25 мл, 21,43 ммоль, 2,21 экв.) в  $\text{PhCH}_3$  (15 мл) охлаждали до  $0^\circ\text{C}$ . 4-(Гидроксиметил)фенилацетат (1,61 г, 9,70 ммоль, 1 экв.) в  $\text{PhCH}_3$  (15 мл) по каплям добавляли около 15 мин. Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 1 часа при  $0^\circ\text{C}$  и затем при комнатной

температуре в течение ночи (20 ч). Растворитель выпаривали, и неочищенный продукт 4-[(хлоркарбонил)окси]метил}фенилацетат (**LTP 086**) использовали на следующей стадии без очистки. L-глутаминовую кислоту (951 мг, 6,46 ммоль, 1 экв.) суспендировали в воде (8 мл), и несколькими порциями добавляли  $\text{NaHCO}_3$  (1,37 г, 16,30 ммоль, 2,52 экв.). Спустя 15 мин перемешивания, неочищенный **LTP 086** (2,2 г, 9,70 ммоль, 1 экв.) добавляли при помощи шприца около 2 минут при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи (20 ч). 1M HCl добавляли к полученной смеси до pH 1, и водную фазу затем экстрагировали EtOAc (10×15 мл). Объединенные органические фракции промывали насыщенным NaCl (150 мл), сушили над  $\text{MgSO}_4$ , и растворитель выпаривали. Неочищенный продукт N-[[[4-(ацетилокси)фенил]метокси]карбонил]-L-глутаминовой кислоты (**LTP 087**) (2,2 г, 6,48 ммоль, 1 экв.) использовали на следующей стадии без очистки. **LTP 087** (2,2 г, 6,48 ммоль, 1 экв.) растворяли в  $\text{PhCH}_3$  (45 мл). Добавляли параформальдегид (389 мг, 12,97 ммоль, 2 экв.) и п-толуолсульфоновую кислоту (PTSA) (123 мг, 0,648 ммоль, 0,1 экв.), и полученную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 1 часа. Тoluол выпаривали, и неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  20:1). Требуемый продукт **16** получали в виде бесцветного густого масла (280 мг) с выходом 12% за три стадии.

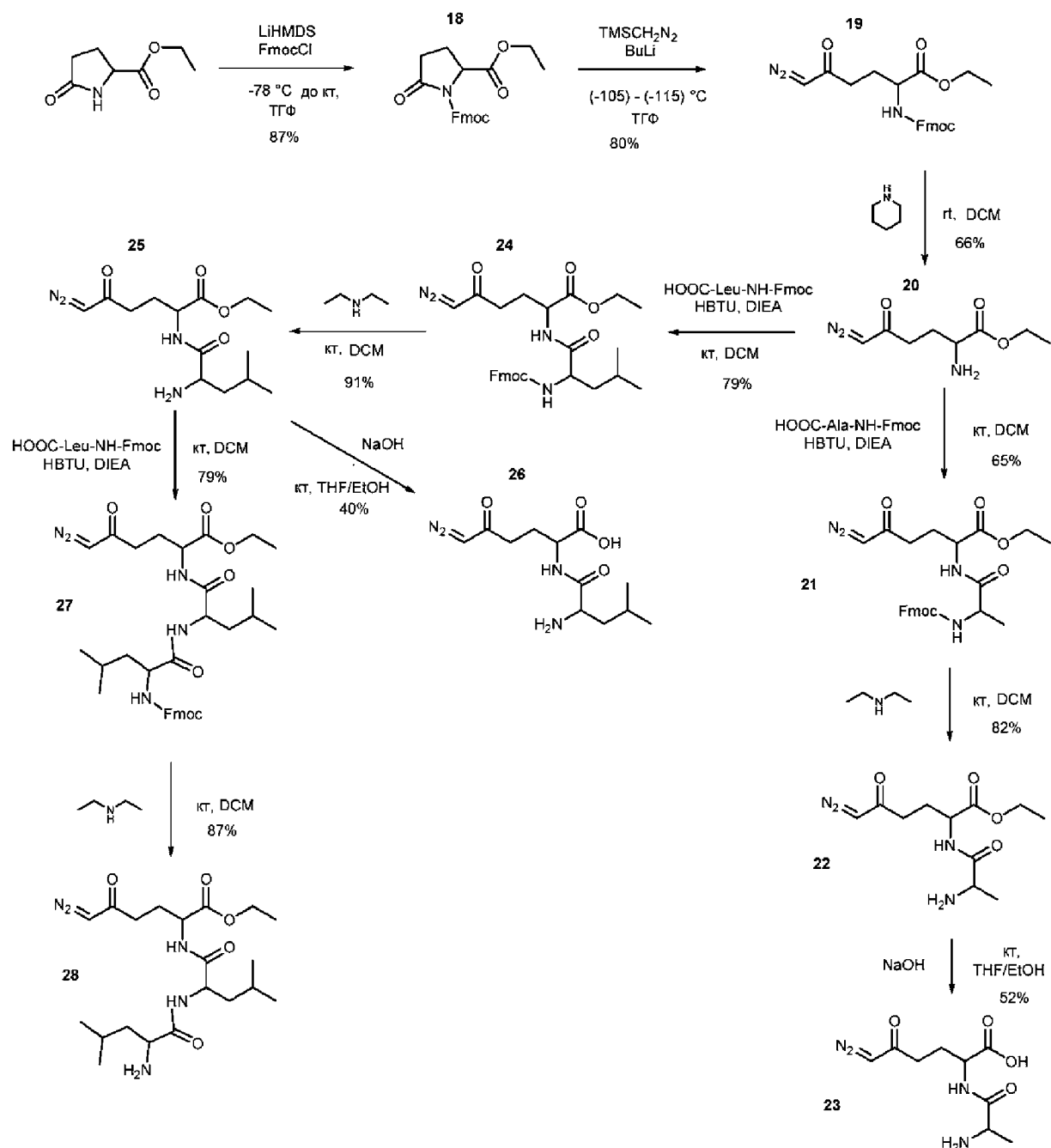
**4-ацетоксибензил 4-(4-диазо-3-оксобутил)-5-оксооксазолидин-3-карбоксилат (17)**



Соединение **LTP088** (257 мг, 0,732 ммоль) растворяли в абсолютном ТГФ (3 мл), охлаждали до  $-15^\circ\text{C}$ , и по каплям добавляли триэтиламин (153 мкл, 1,097 ммоль, 1,5 эквив.). Затем добавляли этилхлорформиат, и полученную реакционную смесь перемешивали при  $-15^\circ\text{C}$  в течение 1,5 ч. Затем добавляли раствор диазометана, и

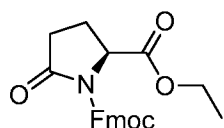
полученную реакционную смесь перемешивали еще в течение 30 мин при  $-15^{\circ}\text{C}$ , и затем охлаждающую баню удаляли. Полученную реакционную смесь затем перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Органический растворитель выпаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на силикагеле (гексан-этилацетат 1:1), с получением требуемого продукта (220 мг, 66%) в виде желтого аморфного твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 2,14 (2H, м), 2,29 (3H, с), 2,32-2,56 (2H, м), 4,34 (1H, т,  $J=6,2$ ), 5,11-5,25 (4H, м), 5,51 (1H, с), 7,07-7,10 (2H, м), 7,37-7,40 (2H, м).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 21,19, 25,80, 35,36, 54,12, 67,49, 77,89, 122,06 (2С), 129,96 (2С), 130,02, 150,97, 152,98, 169,49, 171,81, 192,64. ИК ( $\text{CHCl}_3$ ): 3116 w, 2964 vw, 2922 w, 2111 s, 1802 s, 1768 m, sh, 1756 s, 1716 vs, 1642 m, 1610 w, 1597 vw, sh, 1510 m, 1423 m, 1410 s, 1383 m, 1371 s, 1355 s, 1197 vs, 1167 s, 1128 m, 1106 w, 1019 m, 1013 m, 914 m, 850 w, 596 w, 492 w,  $\text{cm}^{-1}$ . ESI MS: 398 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). HR ESI MS: вычислено для  $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{O}_7\text{N}_3\text{Na}$  398,09587; найдено 398,09596.

#### Схема 4



Синтез этил 2-(2-аминопропанамидо)-6-диазо-5-оксогексаноата (22)

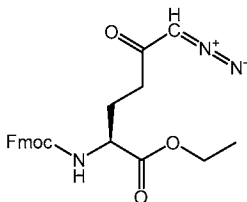
1-(9H-флуорен-9-илметил)-2-этил-5-оксопирролидин-1,2-дикарбоксилат (18)



Согласно схеме 4, 5-оксо-L-пролинэтиловый эфир (4,00 г, 25,45 ммоль, 1 экв.) растворяли в абсолютном ТГФ (120 мл) в инертной атмосфере и охлаждали до  $-78^\circ\text{C}$ . По каплям добавляли

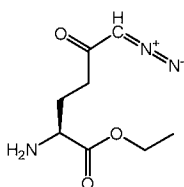
раствор LiHMDS (1M в ТГФ, 24,2 мл, 24,18 ммоль, 0,95 экв.), и полученный раствор перемешивали при этой же температуре в течение 20 мин. Образовавшуюся в результате желтую смесь переносили через канюлю в раствор Fmoc хлорида (32,9 г, 127,3 ммоль, 5 экв.) в абсолютном ТГФ (90 мл) при  $-78^{\circ}\text{C}$ . Полученную реакционную смесь перемешивали при  $-78^{\circ}\text{C}$  в течение 2 часов и при кт в течение ночи (18 ч). По истечении этого периода реакцию гасили насыщенным  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (34 мл) и водой (18 мл). Водную фазу экстрагировали EtOAc (60 мл), и комбинированные органические части промывали насыщенным раствором соли ( $2 \times 100$  мл) и сушили над безводным  $\text{MgSO}_4$ . Органический растворитель выпаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на силикагеле (гексан:EtOAc 3:1 до 1:1) и, наконец, ЖХ с обращенной фазой (MeOH:H<sub>2</sub>O, 2:1 до 100% MeOH), с получением требуемого продукта **18** (8,40 г, 87%) в виде бесцветного твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,26 (3H, д,  $J=7,1$ ), 2,12 (1H, ддт,  $J=13,4, 9,4, 2,9$ ), 2,40 (1H, ддт,  $J=13,4, 10,8, 9,3$ ), 2,57 (1H, ддд,  $J=17,5, 9,2, 3,1$ ), 2,72 (1H, ддд,  $J=17,5, 10,7, 9,4$ ), 4,20 (2H, кв,  $J=7,1$ ), 4,30 (1H, т,  $J=7,3$ ), 4,44 (1H, дд,  $J=10,5, 7,4$ ), 4,57 (1H, дд,  $J=10,6, 7,3$ ), 4,65 (1H, дд,  $J=9,4, 2,5$ ), 7,33 (2H, тт,  $J=7,4, 1,1$ ), 7,41 (2H, тдд,  $J=6,9, 1,3, 0,6$ ), 7,71 (1H, дд,  $J=7,5, 1,0$ ), 7,75 (1H, дд,  $J=7,5, 1,0$ ), 7,77 (2H, дд,  $J=7,8, 1,0$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 14,14, 21,96, 31,21, 46,62, 58,76, 61,92, 69,03, 119,99, 120,01, 125,30, 125,44, 127,26 (2C), 127,91 (2C), 141,27, 141,29, 143,35, 143,40, 151,44, 170,80, 172,99. Оптическое вращение:  $[\alpha]^{22}_{\text{D}}-17,2^{\circ}$  (с 0,285,  $\text{CHCl}_3$ ). ИК ( $\text{CHCl}_3$ ): 3068 м, 2985 м, 2941 w, 2898 w, 2875 w, 1797 vs, 1745 vs, br, 1723 vs, 1609 w, 1580 vw, 1478 м, 1463 м, 1452 s, 1400 м, sh, 1385 s, 1197 vs, 1116 vw, sh, 1104 м, 1097 w, sh, 1033 s, 621 м, 426 w,  $\text{cm}^{-1}$ . ESI MS: 402 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). HR ESI MS: вычислено для  $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{O}_5\text{NNa}$  402,1312; найдено 402,1313.

**Этил 2-(((9H-флуорен-9-ил) метокси) карбонил) амино)-6-диазо-5-оксогексаноат (19)**



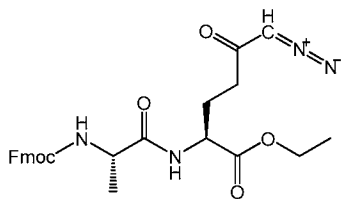
Раствор триметилсилилдиазометана (2M в диэтиловом эфире, 7,9 мл, 15,81 ммоль, 1,2 экв.) растворяли в абсолютном ТГФ (70 мл) в атмосфере аргона и охлаждали до  $-98^{\circ}\text{C}$ . По каплям добавляли раствор *n*-бутиллития (2,5M в гексанах, 6,5 мл, 16,21 ммоль, 1,23 экв.), и полученный раствор перемешивали при  $-98^{\circ}\text{C}$  в течение 30 мин. Полученную в результате смесь переносили через канюлю в раствор соединения **18** (5,00 г, 13,18 ммоль, 1 экв.) в абсолютном ТГФ (120 мл) при  $-116^{\circ}\text{C}$ . Полученную реакцию смесь перемешивали в течение 30 мин при этой температуре и затем медленно нагревали до  $-78^{\circ}\text{C}$  и гасили насыщенным  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (150 мл). Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3×50 мл), объединенные органические слои промывали насыщенным раствором соли (200 мл) и сушили над безводным  $\text{MgSO}_4$ . Органический растворитель выпаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на силикагеле ( $\text{CHCl}_3$ :ацетон, 20: ), с получением требуемого продукта **19** (4,42 г, 80%) в виде желтоватого твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,29 (3H, т,  $J=7,1$ ), 1,93-2,10 (1H, м), 2,17-2,29 (1H, м), 2,33-2,53 (2H, м), 4,22 (3H, т,  $J=7,1$ ), 4,32-4,43 (3H, м), 5,27 (1H, шир.с), 5,56 (1H, д,  $J=8,1$ ), 7,32 (2H, тт,  $J=7,4, 1,3$ ), 7,41 (2H, т,  $J=7,5$ ), 7,60 (2H, т,  $J=6,6$ ), 7,77 (2H, дд,  $J=7,6, 1,0$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 14,30, 27,63, 36,56, 47,26, 53,63, 54,96, 61,89, 67,17, 120,11, 120,14, 125,22, 125,24, 127,20 (2C), 127,86 (2C), 141,40, 141,43, 143,78, 143,99, 156,18, 172,03, 193,65. Оптическое вращение:  $[\alpha]^{22}_{\text{D}}+10,6^{\circ}$  (с 0,265,  $\text{CHCl}_3$ ). ИК ( $\text{CHCl}_3$ ): 3428 w, 3116 w, 3068 w, 2985 w, 2942 w, 2907 vw, 2110 s, 1740 s, sh, 1721 vs, 1642 m, 1510 s, 1478 w, 1465 w, 1451 m, 1381 s, 1105 w, 1052 m, 1033 m, 622 w, 426 w  $\text{cm}^{-1}$ . ESI MC: 444 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). HR ESI MC: вычислено для  $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{O}_5\text{N}_3\text{Na}$  444,15299; найдено 444,15292.

**Этил 2-амино-6-диазо-5-оксогексаноат (20)**



Соединение **20** получали из соединения **19** (100 мг, 0,237 ммоль), как описано для получения соединения **3**, при использовании дихлорметана (10 мл) и пиперидина (58 мкл 0,59 ммоль, 2,5 эквив.), с последующей хроматографией на силикагеле (хлороформ:метанол, 30:1). Желтое масло (31 мг, 66%).  $^1\text{H ЯМР}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,27 (3H, т,  $J=7,1$ ), 1,55 (2H, шир.с), 1,78-1,88 (1H, м), 2,06-2,17 (1H, м), 2,40-2,54 (2H, шир.м), 3,44 (1H, дд,  $J=8,3, 5,1$ ), 4,17 (2H, кв,  $J=7,1$ ), 5,27 (1H, с).  $^{13}\text{C ЯМР}$  (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 14,24, 29,56, 36,86, 53,77, 54,56, 61,05, 175,58, 194,15. **Оптическое вращение:**  $[\alpha]^{22}_{\text{D}} +^\circ$  (с 0,33,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). **ИК** ( $\text{CHCl}_3$ ): 3410 w, vbr, 3327, vw, vbr, 2986 m, 2941 w, 2910 w, 2874 w, 2110 s, 1739 vs, 1641 m, 1605 m, sh, 1586 m, 1552 w, 1513 w, br, 1476 w, 1463 m, 1446 m, 1395 m, sh, 1377 s, 1200 s, 1115 m, 1096 m  $\text{cm}^{-1}$ . **ESI MC:** 182 ( $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$ ). **HR ESI MC:** вычислено для  $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_2$  182,0930; найдено 182,0931.

**Этил** **2-(2-(((9H-Флуорен-9-ил) метокси) карбонил) амино) пропанамидо) -6-диазо-5-оксгексаноат**  
(21)

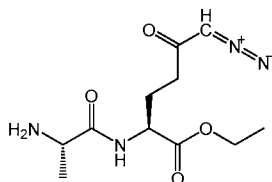


Фмос-NH-(L)-Ala-COOH (483 мг, 1,55 ммоль, 1,1 экв.) и HBTU (642 мг, 1,69 ммоль, 1,2 экв.) суспендировали в сухом DCM (10 мл). Добавляли DIEA (547 мг, 737 мкл, 4,32 ммоль, 3 экв.) и затем раствор соединения **20** (281 мг, 1,41 ммоль, 1 экв.) в сухом DCM (3 мл) при помощи шприца. Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при кт в инертной атмосфере. Добавляли DCM (15 мл), и органическую фазу промывали насыщенным  $\text{NaHCO}_3$  (25 мл), 1M HCl (25 мл), водой (2×25 мл) и насыщенным NaCl (25 мл), сушили над  $\text{MgSO}_4$ . DCM выпаривали. Неочищенный продукт



очищали колоночной хроматографией (DCM:EtOAc, 1:1,  $R_f$  0,40), с получением соединения **21** в виде светло-желтого твердого вещества (452 мг, 65%).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,28 (3H, т,  $J=7,5$ ), 1,42 (3H, д,  $J=7,1$ ), 1,98–2,08 (1H, м), 2,16–2,28 (1H, м), 2,30–2,48 (2H, м), 4,15–4,30 (4H, м), 4,39 (2H, д,  $J=7,3$ ), 4,53 (1H, тд,  $J=8,0$ , 4,5), 5,21 (1H, с), 5,38 (1H, д,  $J=7,4$ ), 6,81 (1H, д,  $J=7,8$ ), 7,32 (2H, т,  $J=7,5$ ), 7,41 (2H, т,  $J=7,5$ ), 7,60 (2H, д,  $J=7,5$ ), 7,77 (2H, д,  $J=7,5$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 14,25, 18,86, 27,00, 36,48, 38,74, 47,22, 50,65, 55,11, 61,84, 67,24, 120,11, 120,13, 125,20, 125,24, 127,22 (2C), 127,87 (2C), 141,40 (2C), 143,92 (2C), 156,01, 171,58, 172,47, 193,99. **Оптическое вращение:**  $[\alpha]^{22}_{\text{D}}+0,4^\circ$  (с 0,225,  $\text{CHCl}_3$ ). **ИК** ( $\text{CHCl}_3$ ): 3424 м, 3330 w, br, 3116 vw, 3068 vw, 2986 м, 2941 w, 2908 w, 2875 vw, 2110 s, 1731 vs, 1720 vs, sh, 1682 vs, 1639 м, 1585 vw, 1503 vs, 1478 м, 1451 s, 1377 s, 1233 s, 1116 м, 1105 м, sh, 1095 w, 1032 м, 622 w, 424 w,  $\text{cm}^{-1}$ . **ESI MC:** 515 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). **HR ESI MC:** вычислено для  $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_6\text{N}_4\text{Na}$  515,19011; найдено 515,19044.

**Этил 2-(2-аминопропанамидо)-6-диазо-5-оксогексаноат (22)**

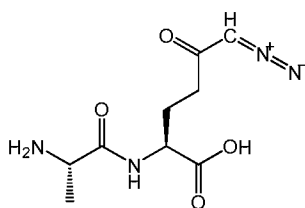


Соединение **21** (225 мг, 0,457 ммоль, 1 экв.) растворяли в сухом DCM (4 мл). Диэтиламин (167 мг, 236 мкл, 2,28 ммоль, 5 экв.) добавляли при помощи шприца. Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 6 часов при кт в инертной атмосфере. DCM выпаривали. Неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией ( $\text{CHCl}_3$ :MeOH, 15:1,  $R_f$  0,07), с получением соединения **22** в виде светло-желтого твердого вещества (101 мг, 82%).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,22 (3H, т,  $J=7,1$ ), 1,28 (3H, д,  $J=7,0$ ), 1,89–1,94 (2H, м), 1,94–2,01 (1H, м), 2,10–2,21 (1H, м), 2,27–2,43 (2H, м), 3,47 (1H, кв,  $J=7,0$ ), 4,13 (2H, кв,  $J=7,1$ ), 4,47 (1H, тд,  $J=8,4$ , 4,9), 5,32 (1H, с), 7,81 (1H, д,  $J=8,4$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 14,28, 18,56, 27,44, 36,80, 51,63, 55,05, 58,55, 61,74, 171,90, 175,25, 193,93. **Оптическое вращение:**

$[\alpha]_D^{22} -31,1^\circ$  (с 0,260,  $\text{CHCl}_3 + \text{DMF}$ ). ИК ( $\text{CHCl}_3$ ): 3393 w, 3336 vw, br, 3211 vw, br, 3116 vw, 2958 m, 2927 s, 2871 m, 2856 m, 2110 s, 1736 m, 1684 vs, 1639 m, 1517 w, 1379 s, 1115 vw, sh, 1097 w,  $\text{cm}^{-1}$ . ESI MC: 271 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ). HR ESI MC: вычислено для  $\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{O}_4\text{N}_4$  271,14008; найдено 271,14024.

Синтез 2-(2-аминопропанамидо)-6-диазо-5-оксогексановой кислоты (23)

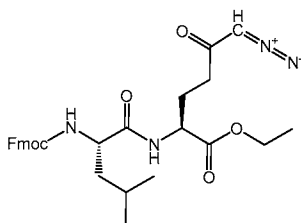
2-(2-Аминопропанамидо)-6-диазо-5-оксогексановая кислота (23)



Согласно схеме 4, соединение 22 (225 мг, 0,457 ммоль, 1 экв.) суспендировали в EtOH (3 мл) и ТГФ (3 мл). Добавляли 1М раствор NaOH (16 мг, 397 мкл, 0,95 экв.), и полученную смесь перемешивали в течение 15 минут. Реакцию гасили 1М муравьиной кислотой (397 мкл, 0,95 экв.) и, после 10 минутного перемешивания, полученную смесь упаривали досуха. Неочищенный продукт очищали препаративной ВЭЖХ с буферной смесью  $\text{Et}_3\text{N}/\text{CH}_3\text{COOH}$  буфером. Требуемый продукт 23 получали в виде светло-оранжевого твердого вещества (50 мг) с выходом 52%.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,45 (3H, д,  $J=7,0$ ), 2,06-2,22 (2H, м), 2,45-2,56 (2H, м), 4,01-4,13 (2H, м), 5,86 (1H, шир.с).

Синтез этил 2-(2-амино-4-метилпентанамидо)-6-диазо-5-оксогексаноата (25)

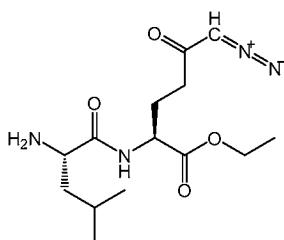
Этил 2-(2-(((9H-флуорен-9-ил) метокси) карбонил) амино)-4-метилпентанамидо)-6-диазо-5-оксогексаноат (24)



Согласно схеме 4, Fmoc-NH-(L)-Leu-COOH (874 мг, 2,47 ммоль, 1,1 экв.) и HBTU (1023 мг, 2,70 ммоль, 1,2 экв.) суспендировали в сухом DCM (15 мл). DIEA (872 мг, 1,18 мл, 6,75 ммоль, 3 экв.)

и затем раствор **20** (448 мг, 2,25 ммоль, 1 экв.) в сухом DCM (5 мл) добавляли при помощи шприца. Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при кт в инертной атмосфере. Добавляли DCM (20 мл), и органическую фазу промывали насыщенным  $\text{NaHCO}_3$  (40 мл), 1М  $\text{HCl}$  (40 мл), водой (2×40 мл) и насыщенным  $\text{NaCl}$  (40 мл), сушили над  $\text{MgSO}_4$ . DCM выпаривали. Неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией (DCM:EtOAc, 4:1,  $R_f$  0,27), с получением соединения **24** в виде светло-желтого твердого вещества (949 мг, 79%).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 0,95 (6H, д,  $J=5,9$ ), 1,26 (3H, т,  $J=7,5$ ), 1,50-1,59 (1H, м), 1,62-1,75 (2H, м), 1,95-2,05 (1H, м), 2,17-2,27 (1H, м), 2,29-2,45 (2H, м), 4,14-4,25 (4H, м), 4,34-4,45 (2H, м), 4,49-4,58 (1H, м), 5,19 (1H, с), 5,27 (1H, д,  $J=8,4$ ), 6,80 (1H, д,  $J=7,6$ ), 7,31 (2H, т,  $J=7,4$ ), 7,40 (2H, т,  $J=7,8$ ), 7,59 (2H, д,  $J=7,5$ ), 7,76 (2H, д,  $J=7,6$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 14,12, 22,03, 22,92, 24,66, 26,96, 36,33, 41,65, 47,14, 51,94, 53,56, 55,00, 61,73, 67,09, 120,00, 120,03, 125,05, 125,13, 127,12 (2C), 127,76, 127,77, 141,29, 143,64, 143,75, 143,79, 156,15, 171,46, 172,26, 193,81. **Оптическое вращение:**  $[\alpha]^{22}_D -9,7^\circ$  (с 0,109, ДМФА). **ИК** ( $\text{CHCl}_3$ ): 3304 м, sh, 3067 w, 3018 w, 2105 s, 1730 s, 1704 s, 1659 vs, 1639 sh, m, 1612 sh, w, 1580 sh, w, 1539 s, 1478 m, 1451 m, 1467 m, 1386 sh, s, 1375 s, 1244 s, 1172 sh, m, 1145 m, 1106 s, 834 sh, w, 759 m, 740 s, 621 m, 427  $\text{cm}^{-1}$ . **ESI MC:** 557 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). **HR ESI MC:** вычислено для  $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{O}_6\text{N}_4\text{Na}$  557,23706; найдено 557,23707.

**Этил 2-(2-амино-4-метилпентанамидо)-6-диазо-5-оксогексаноат (25)**

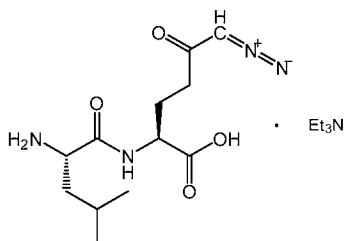


Согласно схеме 4, соединение **24** (945 мг, 1,77 ммоль, 1 экв.) растворяли в сухом DCM (9 мл). Диэтиламин (646 мг, 914 мкл, 8,84 ммоль, 5 экв.) добавляли при помощи шприца. Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 4 часов при кт в инертной атмосфере. DCM выпаривали. Неочищенный продукт очищали

колоночной хроматографией ( $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ , 15:1,  $R_f$  0,38), с получением соединения **25** в виде бесцветного твердого вещества (500 мг, 91%).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 0,94 (6H, дд,  $J=14,0$ , 6,3), 1,27 (3H, т,  $J=7,1$ ), 1,28-1,37 (1H, м), 1,45 (2H, с), 1,57-1,83 (2H, м), 1,92-2,08 (1H, м), 2,16-2,26 (1H, м), 2,26-2,49 (2H, м), 3,39 (1H, дд,  $J=10,0$ , 3,9), 4,19 (2H, дкв,  $J=7,1$ , 1,4), 4,54 (1H, дт,  $J=8,5$ , 4,8), 5,30 (1H, с), 7,85 (1H, д,  $J=8,3$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 14,25, 21,40, 23,54, 24,97, 27,71, 36,82, 44,29, 51,48, 53,60, 54,86, 61,65, 171,99, 175,99, 193,67. Оптическое вращение:  $[\alpha]_D^{22}$ -54,8° (с 0,323,  $\text{CHCl}_3$ ). ИК ( $\text{CHCl}_3$ ): 3412 w, 3343 w, 2110 vs, 1731 s, 1663 s, 1643 sh, s, 1603 sh, w, 1510 s, 1413 w, 1386 sh, s, 1376 sh, s, 1370 sh, s, 1349 m, 1145 m, 1105 s  $\text{cm}^{-1}$ . ESI MC: 335 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). HR ESI MC: вычислено для  $\text{C}_{14}\text{H}_{25}\text{O}_4\text{N}_4$  313,18703; найдено 313,18712.

Синтез триэтиламмониевой соли 2-(2-амино-4-метилпентанамидо)-6-диазо-5-оксогексановой кислоты (**26**)

Триэтиламмониевая соль 2-(2-амино-4-метилпентанамидо)-6-диазо-5-оксогексановой кислоты (**26**)

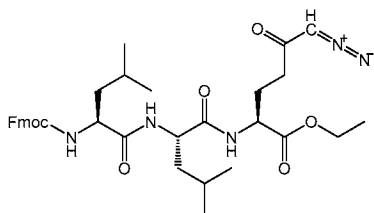


Соединение **25** (134 мг, 0,429 ммоль, 1 экв.) суспендировали в EtOH (3 мл) и ТГФ (3 мл). Добавляли 1М раствор NaOH (16 мг, 408 мкл, 0,95 экв.), и полученную смесь перемешивали в течение 15 минут. Реакцию гасили 1М муравьиной кислотой (408 мкл, 0,95 экв.) и, после 10 минутного перемешивания, полученную смесь упаривали досуха. Неочищенный продукт очищали препаративной ВЭЖХ с буферной смесью  $\text{Et}_3\text{N}/\text{CH}_3\text{COOH}$ . Требуемый продукт **26** получали в виде светло-оранжевого твердого вещества (46 мг) с выходом 40%.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,10 (6H, д,  $J=6,4$ ), 1,50-1,61 (1H, м), 1,63-1,83 (2H, м), 1,96-2,06 (1H, м), 2,11-2,23 (1H, м), 2,33-2,48 (1H, м), 3,67 (1H, дд,  $J=8,6$ , 5,6), 4,27 (1H, дд,  $J=7,0$ , 5,1), 5,51 (1H, шир.с).

Синтез этил 2-(2-(2-амино-4-метилпентанамидо)-4-

метилпентанамидо)-6-диазо-5-оксогоксаноата (28)

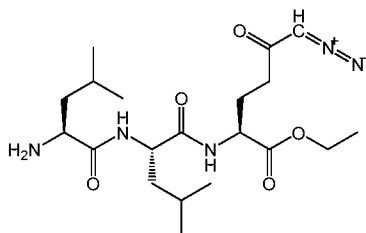
Этил 11-(4-диазо-3-оксобутил)-1-(9H-флуорен-9-ил)-5,8-диизобутил-3,6,9-триоксо-2-окса-4,7,10-триазадодекан-12-оат (27)



Согласно схеме 4, Fmoc-NH-(L)-Leu-COOH (125 мг, 0,352 ммоль, 1,1 экв.) и HBTU (146 мг, 0,384 ммоль, 1,2 экв.) суспендировали в сухом DCM (3 мл). DIEA (124 мг, 167 мкл, 0,960 ммоль, 3 экв.) и затем раствор соединения **25** (100 мг, 0,320 ммоль, 1 экв.) в сухом DCM (3 мл) добавляли при помощи шприца. Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при кт в инертной атмосфере. Добавляли DCM (10 мл), и органическую фазу промывали насыщенным NaHCO<sub>3</sub> (20 мл), 1M HCl (20 мл), водой (2×20 мл) и насыщенным NaCl (20 мл), сушили над MgSO<sub>4</sub>. DCM выпаривали. Неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией (DCM:EtOAc, 2:1, R<sub>f</sub> 0,35), с получением соединения **27** в виде бесцветного твердого вещества (145 мг, 79%). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 0,92 (6H, д, J=6,5), 0,95 (6H, д, J=6,1), 1,28 (3H, т, J=7,1), 1,49-1,59 (2H, м), 1,60-1,74 (4H, м), 1,95-2,06 (1H, м), 2,18-2,28 (1H, м), 2,30-2,50 (2H, м), 4,17-4,27 (4H, м), 4,32-4,64 (4H, м), 5,29 (1H, д, J=8,0), 5,35 (1H, с), 6,54 (1H, д, J=8,0), 7,00 (1H, д, J=7,7), 7,31 (2H, т, J=7,5, 2,6), 7,40 (2H, тд, J=7,3, 2,2), 7,57 (2H, д, J=7,5), 7,76 (2H, д, J=7,5). <sup>13</sup>C ЯМР (101 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 14,26, 21,96, 22,17, 22,94, 23,15, 24,85, 27,12, 29,84, 36,48, 38,28, 41,17, 41,33, 47,27, 51,94, 52,03, 61,79, 67,22, 120,14, 120,16, 125,10, 125,14, 127,23 (2C), 127,90, 127,91, 141,43, 143,75, 143,89, 156,43, 171,54, 171,81, 172,39, 194,00. Оптическое вращение: [α]<sup>22</sup><sub>D</sub>-34,5° (с 0,109, ДМФА). ИК (CHCl<sub>3</sub>): 3426 m, 3317 w, br, 3116 w, 3068 w, 2961 s, 2873 m, 2109 s, 1795 w, 1731 vs, 1719 vs, 1667 vs, br, 1635 s, sh, 1508 vs, 1478 m, 1468 m, 1451 s, 1385 s, 1375 s, 1371 s, 1233 s, 1045 m, 1033 m, 622 w, 426 w, см<sup>-1</sup>. ESI MC: 670 ([M+Na]<sup>+</sup>). HR ESI MC: вычислено для C<sub>35</sub>H<sub>45</sub>O<sub>7</sub>N<sub>5</sub>Na 670,32112; найдено

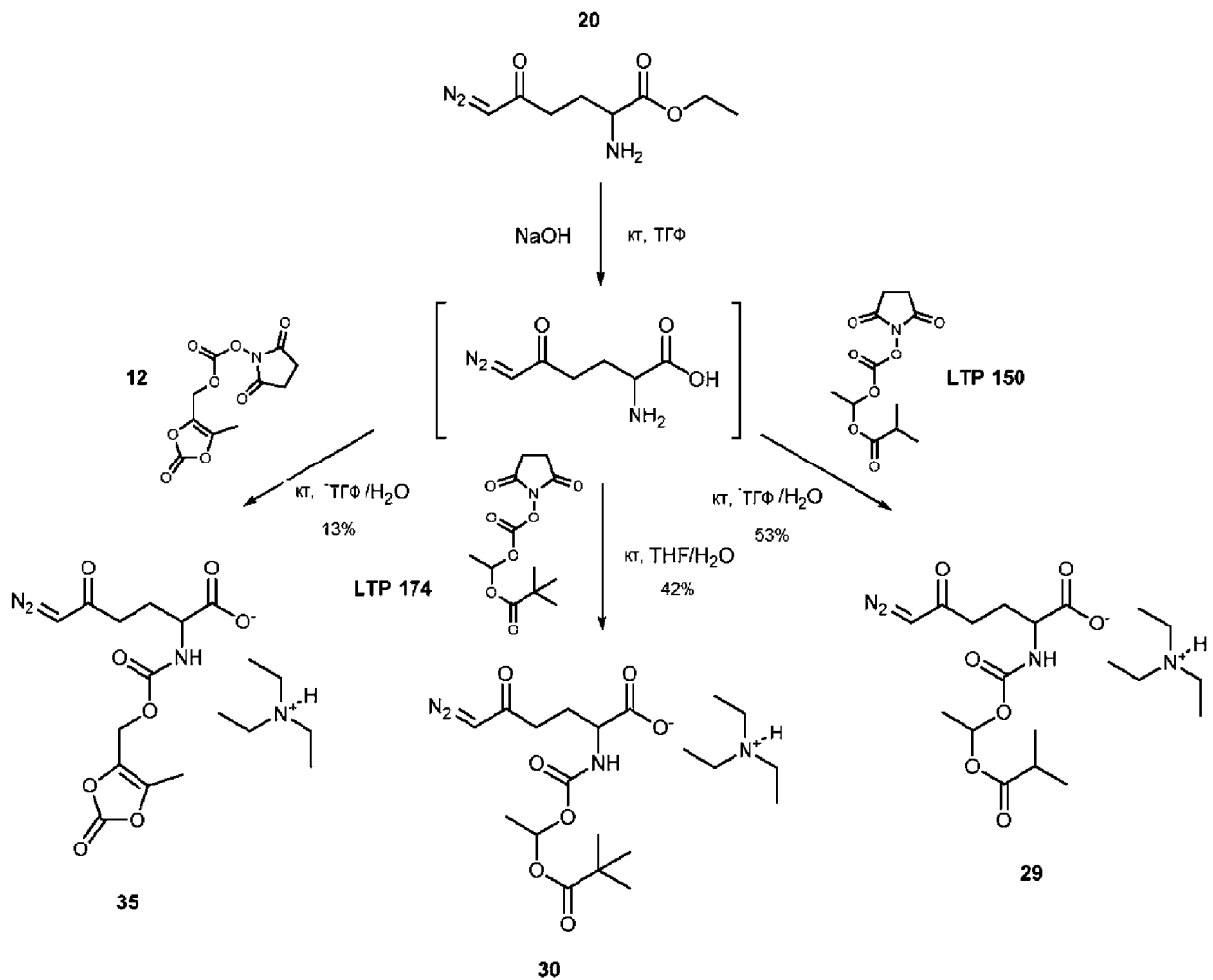
670,32122.

Этил 2-(2-(2-амино-4-метилпентанамидо)-4-метилпентанамидо)-6-диазо-5-оксогексаноат (28)



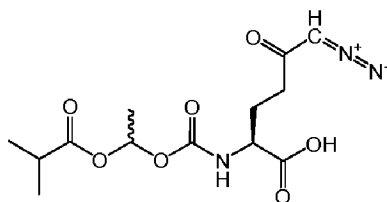
Соединение **27** (136 мг, 0,210 ммоль, 1 экв.) растворяли в сухом DCM (3 мл). Диэтиламин (77 мг, 109 мкл, 1,05 ммоль, 5 экв.) добавляли при помощи шприца. Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 8 часов при кт в инертной атмосфере. DCM выпаривали. Неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 20:1, R<sub>f</sub> 0,30), с получением соединения **28** в виде светло-желтого масла (77 мг, 87%). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 0,92 (6H, т, J=6,0), 0,95 (6H, т, J=5,9), 1,26 (3H, т, J=7,1), 1,34-1,41 (1H, м), 1,52-1,61 (1H, м), 1,60-1,79 (4H, м), 1,95-2,03 (1H, м), 2,15-2,25 (1H, м), 2,30-2,52 (2H, м), 3,48 (1H, дд, J=9,5, 4,1), 3,96 (2H, с), 4,18 (2H, кв, J=7,1), 4,41 (1H, тд, J=8,8, 5,4), 4,49 (1H, тд, J=8,0, 4,6), 5,36 (1H, с), 7,08-7,17 (1H, м), 7,74 (1H, д, J=8,2). <sup>13</sup>C ЯМР (101 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 14,25, 21,51, 22,02, 23,06, 23,45, 24,91, 24,97, 27,03, 36,49, 40,77, 43,77, 51,63, 52,04, 53,54, 55,13, 61,76, 171,60, 172,44, 175,74, 194,29. Оптическое вращение: [α]<sup>22</sup><sub>D</sub>-25,8° (с 0,124, ДМФА). ИК (KBr): 3413 s, vbr, 3314 s, vbr, 3072 m, br, 2105 s, 1739 s, 1655 vs, br, 1539 s, br, 1468 s, 1386 s, 1370 s, 1208 s, br, 1029 s, см<sup>-1</sup>. ESI MC: 426 ([M+H]<sup>+</sup>). HR ESI MC: вычислено для C<sub>20</sub>H<sub>36</sub>O<sub>5</sub>N<sub>5</sub> 426,27110; найдено 426,27124.

Схема 5



Синтез триэтиламмониевой соли 6-диазо-2-((1-(изобутирилокси)этоксикарбонил)амино)-5-оксогексановой кислоты (29)

Триэтиламмониевая соль 6-диазо-2-((1-(изобутирилокси)этоксикарбонил)амино)-5-оксогексановой кислоты (29)

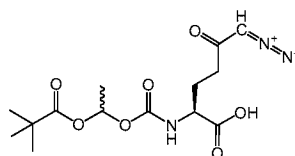


Согласно схеме 5, соединение **20** (121 мг, 0,607 ммоль, 1 экв.) растворяли в ТГФ (5 мл). Добавляли 1М раствор NaOH (24 мг, 607 мкл, 1 экв.), и полученную смесь перемешивали в течение 1 часа. Добавляли воду (2 мл) и 1-[[[(2,5-диоксопирролидин-1-ил)окси]карбонил]окси]этил 2-метилпропаноат (LTP 150) (183 мг, 0,668 ммоль, 1,1 экв.) в ТГФ (3 мл). Полученный раствор перемешивали в течение следующих 2 часов при кт. Реакцию гасили

1М муравьиной кислотой (607 мкл, 1 экв.) и, после 5 минутного перемешивания, полученную смесь упаривали досуха. Неочищенный продукт очищали препаративной ВЭЖХ с буферной смесью Et<sub>3</sub>N/CH<sub>3</sub>COOH, что давало соединение **29** в виде светло-оранжевого твердого вещества (106 мг, 53%). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 1,11 (6H, д, J=6,4), 1,35-1,46 (3H, м), 1,84-2,32 (2H, м), 2,36-2,75 (2H, м), 4,15-4,48 (1H, м), 4,60-4,97 (1H, м), 5,70-6,12 (1H, м), 6,67-6,82 (1H, м), 8,40 (1H, шир.с).

Синтез триэтиламмониевой соли 6-диазо-2-((1-(пивалоилокси)этоксикарбонил)амино)-5-оксогексановой кислоты (**30**)

Триэтиламмониевая соль 6-Диазо-2-((1-(пивалоилокси)этоксикарбонил)амино)-5-оксогексановой кислоты (**30**)

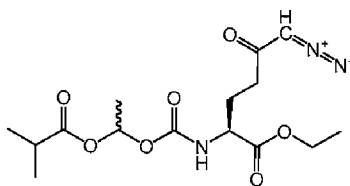


Согласно схеме 5, соединение **20** (89 мг, 0,446 ммоль, 1 экв.) растворяли в ТГФ (3 мл). Добавляли 1М раствор NaOH (18 мг, 446 мкл, 1 экв.), и полученную смесь перемешивали в течение 1 часа. Добавляли воду (1 мл) и 1-(((2,5-диоксопирролидин-1-ил)окси)карбонил)окси)этилпивалат (**LTP174**) (141 мг, 0,490 ммоль, 1,1 экв.) в ТГФ (1,5 мл). Полученный раствор перемешивали в течение следующих 2 часов при кт. Реакцию гасили 1М муравьиной кислотой (446 мкл, 1 экв.) и, после 5 минутного перемешивания, полученную смесь упаривали досуха. Неочищенный продукт очищали препаративной ВЭЖХ с буферной смесью Et<sub>3</sub>N/CH<sub>3</sub>COOH, что давало соединение **30** в виде светло-оранжевого твердого вещества (64 мг) с выходом 42%. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 1,18 (9H, с), 1,36-1,59 (3H, м), 1,94-2,36 (2H, м), 2,40-2,77 (2H, м), 4,18-4,48 (1H, м), 4,53-4,97 (1H, м), 5,45-6,07 (1H, м), 6,68-6,84 (1H, м), 8,87 (1H, шир.с).

Синтез этил 6-диазо-2-((1-(изобутирилокси)этоксикарбонил)амино)-5-оксогексаноат (**31**)

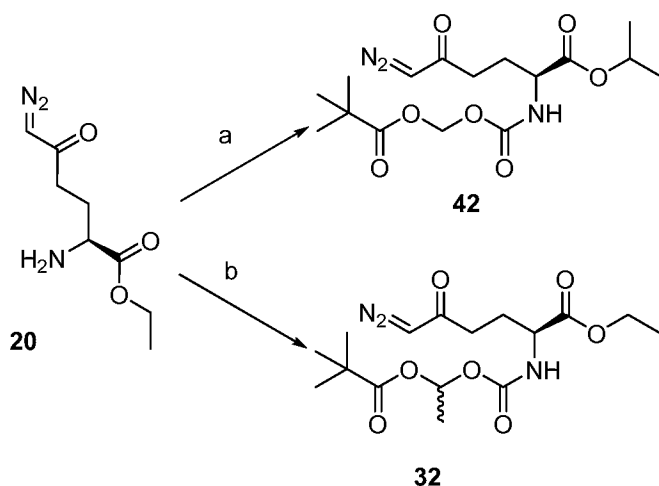
Этил 6-диазо-2-((1-(изобутирилокси)этоксикарбонил)амино)-



**5-оксогексаноат (31)**

1-[[[(2,5-Диоксопирролидин-1-ил)окси]карбонил]окси]этил 2-метилпропаноат (226 мг, 0,828 ммоль, 1,1 экв.) суспендировали в сухом DCM (6 мл). Полученную реакционную смесь охлаждали до 0°C, и по каплям добавляли соединение **20** (150 мг, 0,753 ммоль, 1 экв.) в сухом DCM (3 мл). Полученную смесь перемешивали в течение 15 минут при 0°C и затем 1 час при кт. Неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией (EtOAc/гексан 1:10 до 1:2), и требуемое соединение **31** получали с выходом 56% (150 мг) в виде желтого масла (смесь двух стереоизомеров 1:1). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>, стереоизомер 1): 1,14 (6H, д, J=6,7), 1,27 (3H, т, J=7,1), 1,46 (3H, д, J=5,4), 1,88-2,09 (1H, м), 2,16-2,29 (1H, м), 2,34-2,47 (2H, м), 2,51 (1H, сеп, J=7,1), 4,19 (2H, кв, J=7,1), 4,27-4,36 (1H, м), 5,29 (1H, шир.с), 5,49 (1H, д, J=8,3), 6,78 (1H, кв, J=7,7). <sup>13</sup>C ЯМР (101 МГц, CDCl<sub>3</sub>, стереоизомер 1): 14,26, 18,78, 18,80, 19,84, 27,73, 33,99, 36,35, 53,39, 54,92, 61,92, 89,54, 153,87, 171,62, 175,18, 193,54. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>, стереоизомер 2): 1,16 (6H, д, J=6,7), 1,27 (3H, т, J=7,1), 1,46 (3H, д, J=5,4), 1,88-2,09 (1H, м), 2,16-2,29 (1H, м), 2,34-2,47 (2H, м), 2,51 (1H, сеп, J=7,1), 4,20 (2H, кв, J=7,1), 4,27-4,36 (1H, м), 5,29 (1H, шир.с), 5,53 (1H, д, J=8,1), 6,80 (1H, кв, J=7,7). <sup>13</sup>C ЯМР (101 МГц, CDCl<sub>3</sub>, стереоизомер 2): 14,26, 18,80, 18,85, 19,87, 27,84, 33,99, 36,47, 53,50, 54,97, 61,92, 89,72, 153,95, 171,79, 175,30, 193,77. **Оптическое вращение:** [α]<sup>22</sup><sub>D</sub>+19,8° (с 0,177, CHCl<sub>3</sub>). **ИК** (CHCl<sub>3</sub>): 3428 w, 3116 w, 2981 m, 2940 w, 2877 w, 2856 w, 2110 vs, 1741 vs, br, 1641 m, 1510 s, 1469 m, 1388 s, 1377 s, 1232 m, 1199 m, см<sup>-1</sup>. **ESI MC:** 380 ([M+Na]<sup>+</sup>). **HR ESI MC:** вычислено для C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O<sub>7</sub>N<sub>3</sub> 358,16088; найдено 358,16118.

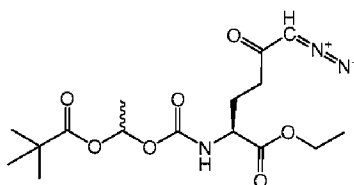
**Схема 6**



Реагенты и соединения: (a) POM-NHS, DCM, 40% (b) Me-POM-NHS, DCM, 68%

Синтез ЭТИЛ 6-диазо-2-(((1-(пивалоилокси)этокси)карбонил)амино)-5-оксогексаноата (32)

**Этил 6-диазо-2-(((1-(пивалоилокси)этокси)карбонил)амино)-5-оксогексаноат (32)**

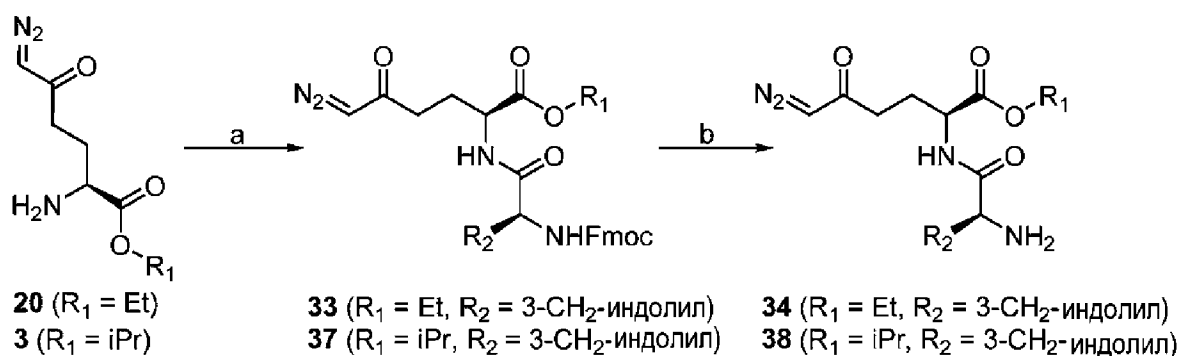


Согласно схеме 6, 1-(((2,5-диоксопирролидин-1-ил)окси)карбонил)окси)этилпивалат (238 мг, 0,828 ммоль, 1,1 экв.) суспендировали в сухом DCM (6 мл). Полученную реакционную смесь охлаждали до 0°C, и по каплям добавляли соединение **20** (150 мг, 0,753 ммоль, 1 экв.) в сухом DCM (3 мл). Полученную смесь перемешивали в течение 15 минут при 0°C и затем 1 час при кт. Неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией (EtOAc/гексан 1:10 до 1:2), и требуемый соединение **32** получали с выходом 68% (190 мг) в виде желтого масла (смесь двух стереоизомеров 1:1). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>, стереоизомер 1): 1,16 (9H, с), 1,26 (3H, т, J=7,1), 1,43 (3H, с), 1,88-2,05 (1H, м), 2,14-2,26 (1H, м), 2,30-2,50 (2H, м), 4,18 (2H, кв, J=7,1), 4,24-4,34 (1H, м), 5,31 (1H, шир.с), 5,51 (1H, д, J=7,7), 6,74 (1H, кв, J=7,3). <sup>13</sup>C ЯМР (101 МГц, CDCl<sub>3</sub>, стереоизомер 1): 14,23, 19,72, 26,95, 27,57, 36,31, 38,74, 53,33, 54,89, 61,85, 89,66, 153,87, 171,61, 176,56, 193,56. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>,

стереоизомер 2): 1,18 (9H, с), 1,26 (3H, т,  $J=7,1$ ), 1,45 (3H, с), 1,88-2,05 (1H, м), 2,14-2,26 (1H, м), 2,30-2,50 (2H, м), 4,18 (2H, кв,  $J=7,1$ ), 4,24-4,34 (1H, м), 5,33 (1H, шир.с), 5,55 (1H, д,  $J=7,9$ ), 6,76 (1H, кв,  $J=7,3$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ , стереоизомер 2): 14,24, 19,74, 26,97, 27,80, 36,46, 38,75, 53,48, 54,89, 61,87, 89,81, 153,95, 171,77, 176,68, 193,75.

**Оптическое вращение:**  $[\alpha]^{22}_{\text{D}}+16,2^\circ$  (с 0,259,  $\text{CHCl}_3$ ). **ИК** ( $\text{CHCl}_3$ ): 3428 м, 3358 w, 3116 w, 2982 s, 2874 м, 2110 s, 1740 vs, 1640 s, 1510 s, 1480 м, 1393 s (sh), 1377 s, 1349 s, 1284 s, 1232 s, 1025 s,  $\text{cm}^{-1}$ . **ESI MC:** 394 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). **HR ESI MC:** вычислено для  $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{O}_7\text{N}_3\text{Na}$  394,15847; найдено 394,15886.

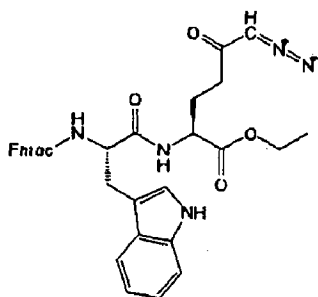
Схема 7



Реагенты и соединения: (а) Fmoc-NH-(L)-Trp-COOH, HBTU, DIEA, DCM для соединений **33** (66%) и **37** (46%); (b) пиперидин, DCM, кт, 50% для соединения **34**; 53% для соединения **38**.

Синтез этил 2-(2-амино-3-(1H-индол-3-ил)пропанамидо)-6-диазо-5-оксогексаноата (**34**)

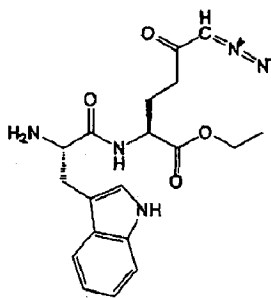
Этил 2-(2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-3-(1H-индол-3-ил)пропанамидо)-6-диазо-5-оксогексаноат (**33**)



Согласно схеме 7, Fmoc-NH-(L)-Trp-COOH (353 мг, 0,828 ммоль, 1,1 экв.) и HBTU (343 мг, 0,904 ммоль, 1,2 экв.) суспендировали в сухом DCM (5 мл). DIEA (292 мг, 394 мкл, 2,26 ммоль, 3 экв.) и затем раствор соединения **20** (150 мг, 0,753

ммоль, 1 экв.) в сухом DCM (3 мл) добавляли при помощи шприца. Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при кт в инертной атмосфере. Добавляли DCM (20 мл), и органическую фазу промывали насыщенным  $\text{NaHCO}_3$  (20 мл), 1M  $\text{HCl}$  (20 мл), водой (30 мл) и насыщенным  $\text{NaCl}$  (30 мл), сушили над  $\text{MgSO}_4$ . DCM выпаривали. Неочищенный продукт очищали ЖХ (DCM/EtOAc 2:1,  $R_f$  0,21), с получением соединения **33** в виде светло-желтого твердого вещества (303 мг) с выходом 66%.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,22 (3H, т,  $J=7,2$ ), 1,82-1,93 (1H, м), 2,00-2,26 (3H, м), 3,18 (1H, дд,  $J=14,5$ , 7,1), 3,38 (1H, дд,  $J=14,0$ , 5,3), 4,09 (2H, кв,  $J=8,2$ ), 4,20 (1H, т,  $J=7,1$ ), 4,32-4,48 (3H, м), 4,50-4,59 (1H, м), 5,05 (1H, шир.с), 5,51 (1H, д,  $J=7,9$ ), 6,61 (1H, д,  $J=7,5$ ), 7,07 (1H, шир.с), 7,13 (1H, т,  $J=7,4$ ), 7,20 (1H, т,  $J=7,2$ ), 7,30 (2H, т,  $J=7,5$ ), 7,35 (1H, д,  $J=8,0$ ), 7,40 (2H, т,  $J=7,5$ ), 7,57 (2H, т,  $J=6,6$ ), 7,67 (1H, д,  $J=7,9$ ), 7,76 (2H, д,  $J=7,6$ ), 8,28 (1H, шир.с).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 14,20, 27,09, 28,51, 36,20, 47,25, 52,13, 54,86, 55,76, 61,77, 67,25, 110,29, 111,39, 118,88, 120,00, 120,10, 120,11, 122,41, 123,66, 125,25, 125,29, 126,92, 127,22 (2C), 127,62, 127,86 (2C), 136,38, 141,40, 143,87, 143,96, 156,09, 171,28, 171,48, 193,84. **Оптическое вращение:**  $[\alpha]_D^{22} -28,6^\circ$  (с 0,178, ДМФА). **ИК (KBr):** 3424 s, 3308 m, sh, 2978 w, 2106 m, 1728 s, 1697 m, sh, 1654 m, 1519 m, 1478 w, 1450 m, 1382 m, sh, 1376 m, 1343 m, 1289 m, 1224 m, 1104 m-w, 1081 m-w, 1040 m, 1032 m, 877 w, 855 w, 760 m, 742 m, 621 m, 427 w,  $\text{cm}^{-1}$ . **ESI MC:** 630 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). **HR ESI MC:** вычислено для  $\text{C}_{34}\text{H}_{33}\text{O}_6\text{N}_5\text{Na}$  630,23230; найдено 630,23236.

**Этил 2-(2-амино-3-(1H-индол-3-ил)пропанамидо)-6-диазо-5-оксогексаноат (34)**

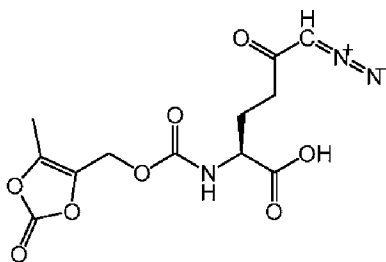


Согласно схеме 7, соединение **33** (303 мг, 0,499 ммоль, 1 экв.) растворяли в сухом DCM (5 мл). Пиперидин (212 мг, 244 мкл,

2,49 ммоль, 5 экв.) добавляли при помощи шприца. Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 4,5 ч при кт в инертной атмосфере. DCM выпаривали. Неочищенный продукт очищали колоночной ЖХ (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 20:1 до 10:1, R<sub>f</sub> 0,29), и соединение **34** в виде бесцветного твердого вещества (96 мг) получали с выходом 50%. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 1,27 (3H, т, J=7,0), 1,57 (2H, шир.с), 1,91-2,01 (1H, м), 2,06-2,27 (3H, м), 3,05 (1H, дд, J=14,4, 8,1), 3,30 (1H, дд, J=14,4, 4,0), 3,75 (1H, дд, J=8,1, 4,2), 4,18 (1H, квд, J=7,1, 2,0), 4,55 (1H, тд, J=8,3, 4,1), 5,11 (1H, шир.с), 7,09 (1H, д, J=2,4), 7,12 (1H, ддд, J=8,1, 7,0, 1,1), 7,20 (1H, ддд, J=8,1, 7,0, 1,2), 7,37 (1H, дт, J=8,2, 1,0), 7,68 (1H, дд, J=7,9, 1,1), 7,88 (1H, д, J=8,3), 8,31 (1H, шир.с). <sup>13</sup>C ЯМР (101 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 14,29, 27,60, 30,82, 36,58, 51,56, 54,77, 55,50, 61,71, 111,36, 111,49, 119,23, 119,79, 122,39, 123,45, 127,69, 136,52, 171,92, 175,02, 193,81. **Оптическое вращение:** [α]<sup>22</sup><sub>D</sub>-57,6° (с 0,210, ДМФА). **ИК (CHCl<sub>3</sub>):** 3479 м, 3355 w, 3215 vw, 3116 w, 2982 м, 2930 м, 2872 w, 2855 w, 2110 vs, 1737 s, 1687 s, 1641 м, 1511 м, 1373 м, 1353 м, 1336 м, sh, 1191 м, 1115 w, 1092 м, 1009 w, см<sup>-1</sup>. **ESI MC:** 408 ([M+Na]<sup>+</sup>). **HR ESI MC:** вычислено для C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>O<sub>4</sub>N<sub>5</sub>Na 408,16423; найдено 408,16435.

*Синтез триэтиламмониевой соли 6-диазо-2-(((5-метил-2-оксо-1,3-диоксол-4-ил)метокси)карбонил)амино)-5-оксогексановой кислоты (35)*

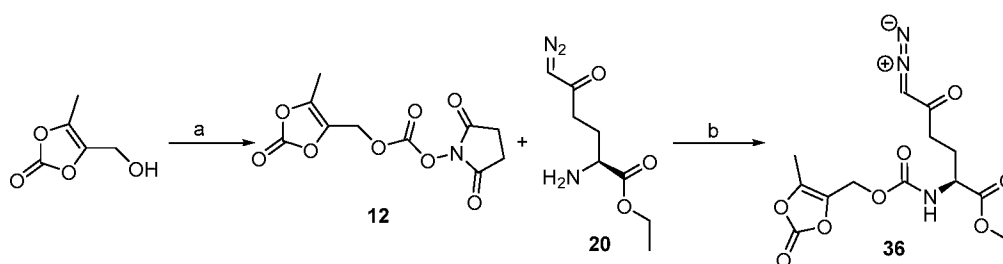
**Триэтиламмониевая соль 6-диазо-2-(((5-метил-2-оксо-1,3-диоксол-4-ил)метокси)карбонил)амино)-5-оксогексановой кислоты (35)**



Согласно схеме 5, соединение **20** (238 мг, 1,19 ммоль, 1 экв.) растворяли в ТГФ (10 мл). Добавляли 1М раствор NaOH (48 мг, 1,18 мл, 1 экв.), и полученную смесь перемешивали в течение

1 часа. Добавляли воду (4 мл) и соединение **12** (389 мг, 1,43 ммоль, 1,2 экв.) в ТГФ (10 мл). Полученный раствор перемешивали в течение следующих 2 часов при кт. Реакцию гасили 1М муравьиной кислотой (1,15 мл, 0,95 экв.) и, после 5 минутного перемешивания, полученную смесь упаривали досуха. Неочищенный продукт очищали препаративной ВЭЖХ с буферной смесью Et<sub>3</sub>N/CH<sub>3</sub>COOH. Требуемый продукт **35** получали в виде светло-оранжевого твердого вещества (50 мг) с выходом 13%. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 1,96-2,28 (2H, м), 2,15 (3H, с), 2,37-2,70 (2H, м), 4,40-4,76 (1H, м), 4,98 (2H, с).

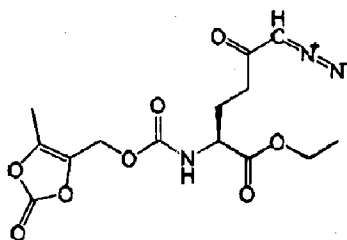
### Схема 8



Реагенты и соединения: (а) *S*-этилкарбонохлоридотионат, пиридин, Et<sub>2</sub>O; NHS, перуксусная кислота, DCM 58%; (b) DCM, 0°C-кт, 65%

Синтез этил 6-диазо-2-(((5-метил-2-оксо-1,3-диоксол-4-ил)метокси)карбонил)амино)-5-оксогексаноата (**36**)

Этил 6-диазо-2-(((5-метил-2-оксо-1,3-диоксол-4-ил)метокси)карбонил)амино)-5-оксогексаноат (**36**)

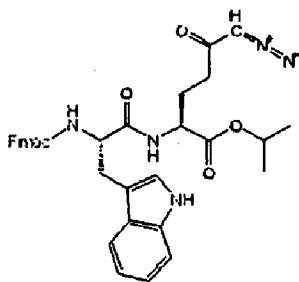


Согласно схеме 8, соединение **12** (180 мг, 0,663 ммоль, 1,1 экв.) суспендировали в сухом DCM (5 мл). Полученную реакционную смесь охлаждали до 0°C, и по каплям добавляли соединение **20** (120 мг, 0,602 ммоль, 1 экв.) в сухом DCM (3 мл). Полученную смесь перемешивали в течение 15 минут при 0°C и затем 1 час при кт. Неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией (EtOAc:гексан, 1:1), и требуемое соединение **36** получали с

выходом 65% (139 мг) в виде желтого масла.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,27 (3H, т,  $J=7,1$ ), 1,95- 2,06 (1H, м), 2,10- 2,27 (1H, м), 2,16 (3H, с), 2,31- 2,50 (2H, м), 4,19 (2H, кв,  $J=7,1$ ), 4,29 (1H, тд,  $J=8,1, 4,8$ ), 4,82 (2H, дд,  $J=13,9$ ), 5,29 (1H, шир.с), 5,72 (1H, д,  $J=7,7$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 9,48, 14,24, 27,18, 36,32, 53,76, 54,58, 55,00, 61,92, 133,90, 140,08, 152,30, 155,26, 171,63, 193,52. **Оптическое вращение:**  $[\alpha]^{22}_{\text{D}}+12,2^\circ$  (с 0,229,  $\text{CHCl}_3$ ). **ИК** ( $\text{CHCl}_3$ ): 3425 м, 3345 w, vbr, 3116 w, 2111 vs, 1838 s, sh, 1820 vs, 1736 vs, 1722 vs, sh, 1640 s, 1511 s, 1229 s, 1200 s, 1114 м, 1097 м, 1045 s,  $\text{cm}^{-1}$ . **ESI MC:** 378 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). **HR ESI MC:** вычислено для  $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{O}_8\text{N}_3\text{Na}$  378,09079; найдено 378,09102.

*Синтез* *изопропил 2-(2-амино-3-(1H-индол-3-ил)пропанамидо)-6-диазо-5-оксогексаноата (38)*

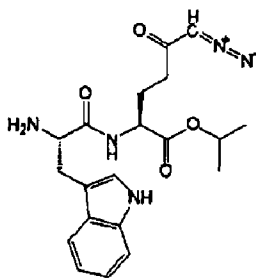
**Изопропил 2-(2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-3-(1H-индол-3-ил)пропанамидо)-6-диазо-5-оксогексаноат (37)**



Согласно схеме 7, Fmoc-NH-(L)-Trp-COON (880 мг, 2,06 ммоль, 1,1 экв.) и HBTU (854 мг, 2,25 ммоль, 1,2 экв.) суспендировали в сухом ДМФА (14 мл). DIEA (727 мг, 980 мкл, 5,63 ммоль, 3 экв.) и затем раствор соединения **3** (400 мг, 1,88 ммоль, 1 экв.) в сухом ДМФА (5 мл) добавляли при помощи шприца. Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 4 часов при кт в инертной атмосфере. ДМФА выпаривали, добавляли DCM (100 мл), и органическую фазу промывали насыщенным  $\text{NaHCO}_3$  (100 мл), водой (100 мл), 1M HCl (100 мл), водой (100 мл) и насыщенным NaCl (100 мл), сушили над  $\text{MgSO}_4$ . DCM выпаривали. Неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией (DCM:EtOAc, 5:1,  $R_f$  0,15), с получением соединения **37** в виде светло-желтого твердого вещества (540 мг) с выходом 46%.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,19 (3H, д,  $J=6,3$ ), 1,23 (3H, т,  $J=6,3$ ), 1,81-1,92 (1H, м), 2,01-2,28 (3H,

м), 3,18 (1H, дд,  $J=14,5, 7,1$ ), 3,39 (1H, дд,  $J=14,2, 5,2$ ), 4,20 (1H, т,  $J=7,1$ ), 4,30-4,48 (3H, м), 4,54 (1H, кв,  $J=6,9$ ), 4,88-4,99 (1H, м), 5,07 (1H, шир.с), 5,50 (1H, д,  $J=7,9$ ), 6,59 (1H, д,  $J=7,4$ ), 7,07 (1H, шир.с), 7,14 (1H, т,  $J=7,0$ ), 7,20 (1H, т,  $J=7,2$ ), 7,30 (2H, тдд,  $J=7,5, 2,5, 1,1$ ), 7,36 (1H, д,  $J=8,0$ ), 7,40 (2H, т,  $J=7,5$ ), 7,56 (2H, т,  $J=6,6$ ), 7,67 (1H, д,  $J=7,9$ ), 7,77 (2H, д,  $J=7,6$ ), 8,23 (1H, шир.с).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 21,78, 21,83, 27,20, 28,47, 36,20, 47,23, 52,19, 54,91, 55,75, 67,23, 69,22, 110,28, 111,40, 118,88, 120,03, 120,10, 120,12 (2C), 122,45, 123,66, 125,25, 125,30, 127,23 (2C), 127,61, 127,86 (2C), 136,35, 141,40 (2C), 143,85, 143,96, 156,09, 170,80, 171,42, 193,92. **Оптическое вращение:**  $[\alpha]^{22}_{\text{D}}-32,0^\circ$  (с 0,193, ДМФА). **ИК (KBr):** 3424 s, 3300 m, 3130 vw, 2980 w, 2932 s, 2110 m, 1722 s, 1695 s, 1654 s, 1625 m, 1547 m, sh, 1532 m, 1520 m, sh, 1478 w, 1385 m, 1375 m, 1353 m, 1343 m, 1288 m, 1236 m, 1182 w, 11145 m, 1105 m, 1031 m-w, 1010 w, 852 w, 798 w, 758 m, 741 m, 621 w, 427 w-m,  $\text{cm}^{-1}$ . **ESI MS:** 644 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). **HR ESI MS:** вычислено для  $\text{C}_{35}\text{H}_{35}\text{O}_6\text{N}_5\text{Na}$  644,24795; найдено 644,24811.

**Изопропил 2-(2-амино-3-(1H-индол-3-ил)пропанамидо)-6-диазо-5-оксогексаноат (38)**



Согласно схеме 7, соединение **37** (500 мг, 0,804 ммоль, 1 экв.) растворяли в сухом DCM (15 мл). Пиперидин (342 мг, 393 мкл, 4,02 ммоль, 5 экв.) добавляли при помощи шприца. Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 4 часов при кт в инертной атмосфере. DCM выпаривали. Неочищенный продукт очищали колоночной ЖХ ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  30:1,  $R_f$  0,14), с получением соединения **38** в виде желтого аморфного твердого вещества (170 мг) с выходом 53%.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,24 (3H, д,  $J=6,0$ ), 1,25 (3H, д,  $J=6,0$ ), 1,50 (2H, шир.с), 1,88-2,00 (1H, м), 2,04-2,27 (3H, м), 3,04 (1H, дд,  $J=14,4, 8,2$ ), 3,30 (1H, ддд,  $J=14,2, 4,2, 0,9$ ),

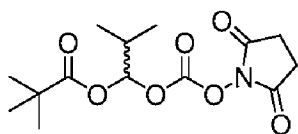


3,74 (1H, дд,  $J=8,1, 4,2$ ), 4,51 (1H, тд,  $J=8,3, 4,0$ ), 5,02 (1H, гепт,  $J=6,0$ ), 5,11 (1H, шир.с), 7,08 (1H, д,  $J=2,3$ ), 7,11 (1H, ддд,  $J=8,0, 7,1, 1,0$ ), 7,19 (1H, ддд,  $J=8,1, 7,1, 1,1$ ), 7,36 (1H, д,  $J=8,1$ ), 7,67 (1H, д,  $J=7,9$ ), 7,88 (1H, д,  $J=8,2$ ), 8,45 (1H, шир.с).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 21,83, 27,65, 30,81, 36,55, 51,64, 54,80, 55,51, 69,49, 111,37 (2С), 119,17, 119,72, 122,31, 123,48, 127,67, 136,53, 171,42, 175,09, 193,92.

**Оптическое вращение:**  $[\alpha]^{22}_{\text{D}} -1,2^\circ$  (с 0,012,  $\text{CHCl}_3$ ). **ИК** ( $\text{CHCl}_3$ ): 3311 m, vbr, 2980 w, 2924 w, 2874 w, vs, 2853 w, 2104 vs, 1731 s, 1650 s, br, 1618 m, sh, 1512 m, 1388 m, sh, 1375 s, 1253 m, 1232 m, 1183 m, 1145 m, 1105 s, 1010 w, 972 vw, 933 vw, 744 m,  $\text{cm}^{-1}$ . **ESI MC:** 422 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). **HR ESI MC:** вычислено для  $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{O}_4\text{N}_5\text{Na}$  422,17988; найдено 422,17992.

Синтез изопропил 6-диазо-2-(((2-метил-1-(пивалоилокси)пропокси)карбонил)амино)-5-оксогексаноата (40)

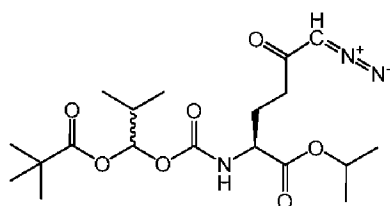
1-(((2,5-Диоксопирролидин-1-ил)окси)карбонил)окси)-2-метилпропилпивалат (39)



1-Хлор-2-метилпропил карбонохлоридат (2,00 г, 1,71 мл, 11,69 ммоль, 1 экв.) растворяли в сухом  $\text{Et}_2\text{O}$  (20 мл). Полученную реакционную смесь охлаждали до  $0^\circ\text{C}$ , и по каплям добавляли смесь  $\text{Et}_3\text{N}$  (1,18 г, 1,63 мл, 11,69 ммоль, 1 экв.) и  $\text{EtSH}$  (727 мг, 866 мкл, 11,69 ммоль, 1 экв.), растворенную в сухом  $\text{Et}_2\text{O}$  (10 мл), в течение 10 минут. Полученную реакционную смесь перемешивали в течение ночи (23 ч) при кт, образовавшийся осадок отфильтровывали через рыхлый слой целита, и растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт *O*-(1-хлор-2-метилпропил)-*S*-этилкарбонотиоата (бесцветная жидкость, 2,20 г, 96%) использовали на следующей стадии без очистки. *O*-(1-Хлор-2-метилпропил)-*S*-этилкарбонотиоат (1,20 г, 6,10 ммоль, 1 экв.) растворяли в пивалиновой кислоте (3,74 г, 4,20 мл, 36,61 ммоль, 6 экв.), и свежеприготовленную соль пивалиновой кислоты (1,87 г, 2,10 мл, 18,31 ммоль, 3 экв.) и DIEA (2,37 г, 3,19 мл, 18,31

ммоль, 3 экв.) добавляли несколькими порциями. Полученную реакционную смесь нагревали при 60°C в течение 70 ч. Добавляли EtOAc (100 мл), и органическую фазу экстрагировали водой (50 мл), насыщенным NaHCO<sub>3</sub> (3×50 мл), насыщенным NaCl (50 мл), сушили над MgSO<sub>4</sub>, и растворитель выпаривали. Неочищенный продукт 1-(((этилтио)карбонил)окси)-2-метилпропилпивалата (светло-желтая жидкость, 1,32 г, 83%) использовали на следующей стадии без очистки. 1-(((этилтио)карбонил)окси)-2-метилпропилпивалат (1,28 г, 4,88 ммоль, 1 экв.) растворяли в сухом DCM (13 мл), добавляли *N*-гидроксисукцинимид (1,12 г, 9,76 ммоль, 2 экв.), и полученную суспензию охлаждали до 0°C. Перуксусную кислоту (1,11 г (100%), 3,09 г (36%), 14,64 ммоль, 3 экв., 36% раствор в уксусной кислоте) по каплям добавляли в течение 10 минут. Конечную смесь перемешивали в течение 60 минут при 0°C и 2 часа при кт. Добавляли DCM (40 мл), и органическую фазу промывали водой (20 мл) и насыщенным NaCl (20 мл), и сушили над MgSO<sub>4</sub>. DCM выпаривали, и продукт очищали ЖХ (гексан/EtOAc 5:3, R<sub>f</sub> 0,26). Продукт **39** получали в виде светло-желтого масла (863 мг) с выходом 56% (за 3 стадии). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 1,00 (6H, д, J=6,9), 1,21 (9H, с), 2,08-2,19 (1H, м), 2,81 (4H, с), 6,55 (1H, д, J=5,0). <sup>13</sup>C ЯМР (101 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 16,06, 16,38, 25,55, 26,89, 31,84, 39,05, 98,19, 150,37, 168,48, 176,14. **Оптическое вращение:** [α]<sub>D</sub><sup>22</sup>-3,0° (с 0,230, CHCl<sub>3</sub>). **ИК** (CHCl<sub>3</sub>): 2978 м, 2938 w, 2878 w, 1821 s, 1795 s, 1748 vs, br, 1481 м, 1463 w, 1432 м, 1396 w, 1373 м, 1366 м, sh, 1279 м, 1199 s, 1046 м, 998 м, sh, 987 м, 932 s см<sup>-1</sup>. **ESI MS:** 338 ([M+Na]<sup>+</sup>). **HR ESI MS:** вычислено для C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>O<sub>7</sub>NNa 338,12102; найдено 338,12115.

**Изопропил** **6-диазо-2-(((2-метил-1-(пивалоилокси)пропокси)карбонил)амино)-5-оксогексаноат (40)**

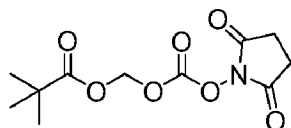


Соединение **39** (399 мг, 1,27 ммоль, 0,9 экв.) суспендировали в сухом DCM (7 мл). Полученную реакционную смесь охлаждали до

0°C, и по каплям добавляли соединение **3** (300 мг, 1,41 ммоль, 1 экв.) в сухом DCM (3 мл). Полученную смесь перемешивали в течение 15 минут при 0°C и затем 2 часа при кт. Неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией (EtOAc/гексан 1:2, R<sub>f</sub> 0,29 и 0,31), и требуемое соединение **40** получали с выходом 54% (285 мг) в виде желтого масла (смесь двух стереоизомеров 1:1). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>, стереоизомер 1): 0,94 (6H, д, J=6,8), 1,16 (9H, с), 1,23 (6H, т, J=6,3), 1,83-2,50 (4H, м), 4,22-4,31 (1H, м), 5,02 (1H, гепт, J=6,8), 5,29 (1H, шир.с), 5,48 (1H, д, J=8,3), 6,52 (1H, д, J=4,9). <sup>13</sup>C ЯМР (101 МГц, CDCl<sub>3</sub>, стереоизомер 1): 16,40, 16,54, 27,00, 28,05, 31,87, 36,29, 38,96, 53,38, 54,82, 69,64, 94,21, 154,28, 171,31, 176,56, 193,87. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>, стереоизомер 2): 0,93 (6H, д, J=6,8), 1,18 (9H, с), 1,22 (6H, т, J=6,3), 1,83-2,50 (4H, м), 4,22-4,31 (1H, м), 5,00 (1H, септ, J=6,8), 5,37 (1H, шир.с), 5,45 (1H, д, J=8,3), 6,48 (1H, д, J=4,9). <sup>13</sup>C ЯМР (101 МГц, CDCl<sub>3</sub>, стереоизомер 2): 16,37, 16,54, 26,98, 27,74, 31,91, 36,55, 38,92, 53,54, 54,82, 69,66, 93,87, 154,22, 171,17, 176,81, 193,58. **Оптическое вращение:** [α]<sup>22</sup><sub>D</sub>+11,5° (с 0,261, CHCl<sub>3</sub>). **ИК** (CHCl<sub>3</sub>): 3428 м, 3116 w, 2982 s, 2936 м, 2878 м, 2110 vs, 1741 vs, br, 1731 vs, sh, 1641 s, 1508 s, 1480 м, 1463 м, 1400 м, sh, 1385 s, sh, 1377 s, 1365 s, sh, 1281 s, 1231 s, 1183 м, 1146 s, 1105 s, 990 s, 941 м см<sup>-1</sup>. **ESI MC:** 436 ([M+Na]<sup>+</sup>). **HR ESI MC:** вычислено для C<sub>19</sub>H<sub>31</sub>O<sub>7</sub>N<sub>3</sub>Na 436,20542; найдено 436,20553.

*Синтез* *изопропил* *6-диазо-5-оксо-2-*  
 ((( (пивалоилокси) метокси) карбонил) амино) гексаноата (**42**)

((( (2,5-Диоксопирролидин-1-  
 ил) окси) карбонил) окси) метилпивалат (**41**)



Хлорметилкарбонохлоридат (2,00 г, 1,38 мл, 15,51 ммоль, 1 экв.) растворяли в сухом Et<sub>2</sub>O (20 мл). Полученную реакционную смесь охлаждали до 0°C, и по каплям добавляли смесь Et<sub>3</sub>N (1,57 г, 2,16 мл, 15,51 ммоль, 1 экв.) и EtSH (964 мг, 1,15 мл, 15,51

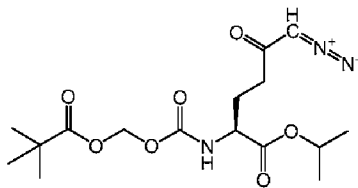
ммоль, 1 экв.), растворенную в сухом Et<sub>2</sub>O (5 мл), в течение 5 минут. Полученную реакционную смесь перемешивали в течение ночи (25 ч) при кт, образовавшийся осадок отфильтровывали через рыхлый слой целита, и растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт *O*-(хлорметил)-*S*-этилкарбонотиоат (бесцветная жидкость) использовали на следующей стадии без очистки. *O*-(Хлорметил)-*S*-этилкарбонотиоат (2,40 г, 15,51 ммоль, 1 экв.) растворяли в пивалиновой кислоте (9,51 г, 93,14 ммоль, 6 экв.), и свежеприготовленную соль пивалиновой кислоты (4,76 г, 46,57 ммоль, 3 экв.) и DIEA (6,02 г, 8,1 мл, 46,57 ммоль, 3 экв.) добавляли несколькими порциями. Полученную реакционную смесь нагревали до 60°C в течение 22 ч. Добавляли EtOAc (100 мл), и органическую фазу экстрагировали водой (100 мл), насыщенным NaHCO<sub>3</sub> (3×100 мл), насыщенным NaCl (100 мл), сушили над MgSO<sub>4</sub>, и растворитель выпаривали. Неочищенный продукт ((этилтио)карбонил)окси)метилпивалата (светло-желтая жидкость, 3,30 г, 97%) использовали на следующей стадии без очистки. ((Этилтио)карбонил)окси)метилпивалат (3,20 г, 14,53 ммоль, 1 экв.) растворяли в сухом DCM (40 мл), добавляли *N*-гидроксисукцинимид (3,34 г, 29,05 ммоль, 2 экв.), и полученную суспензию охлаждали до 0°C. Перуксусную кислоту (3,31 г (100%), 9,21 г (36%), 43,58 ммоль, 3 экв., 36% раствор в уксусной кислоте) по каплям добавляли за 15 минут. Конечную смесь перемешивали в течение 60 минут при 0°C и 2 часа при кт. Добавляли DCM (50 мл), и органическую фазу промывали водой (30 мл) и насыщенным NaCl (30 мл), и сушили над MgSO<sub>4</sub>. DCM выпаривали, и продукт очищали ЖХ (гексан:EtOAc, 2:1, R<sub>f</sub> 0,27). Продукт **41** получали в виде бесцветного твердого вещества (2,54 г) с выходом 64% (за 3 стадии). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 1,24 (9H, с), 2,84 (4H, с), 5,86 (2H, с). <sup>13</sup>C ЯМР (101 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 25,56 (2C), 26,86 (3C), 38,96, 83,67, 150,90, 168,34 (2C), 176,54. ИК (CHCl<sub>3</sub>): 2979 m, 2939 w, 2876 w, 1823 s, 1796 vs, 1649 vs, 1481 m, 1463 m, 1456 w, 1431 m, 1398 w, 1371 m, 1367 m, 1280 m, 1199 vs, 1110 vs, 1047 m, 998 s, 986 s, 942 m, sh, 924 s, 853 w, см<sup>-1</sup>. ESI MC: 296 ([M+Na]<sup>+</sup>). HR ESI MC: вычислено для

$C_{11}H_{15}O_7NNa$  296,07407; найдено 296,07410.

Изопропил

6-диазо-5-оксо-2-

(( (пивалоилокси) метокси) карбонил) амино) гексаноат (42)



Согласно схеме 6, соединение **41** (320 мг, 1,17 ммоль, 1,0 экв.) суспендировали в сухом DCM (6 мл). Полученную реакционную смесь охлаждали до 0°C, и по каплям добавляли  $NH_2-DON-COOEt$  (250 мг, 1,17 ммоль, 1 экв.) в сухом DCM (3 мл). Полученную смесь перемешивали в течение 15 минут при 0°C и затем 2 часа при кт. Неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией (EtOAc:гексан, 1:2,  $R_f$  0,21), и требуемое соединение **42** получали с выходом 40% (175 мг) в виде желтого масла.  $^1H$  ЯМР (400 МГц,  $CDCl_3$ ): 1,19 (9H, с), 1,23 (3H, д,  $J=6,2$ ), 1,24 (3H, д,  $J=6,2$ ), 1,90-2,05 (1H, м), 2,14-2,25 (1H, м), 2,31-2,51 (2H, м), 4,28 (1H, тд,  $J=8,2, 4,7$ ), 5,03 (1H, гепт,  $J=6,2$ ), 5,27 (1H, шир.с), 5,65 (1H, д,  $J=8,1$ ), 5,69 (1H, д,  $J=5,7$ ), 5,73 (1H, д,  $J=5,7$ ).  $^{13}C$  ЯМР (101 МГц,  $CDCl_3$ ): 21,79, 21,81, 26,97, 36,34, 38,86, 53,63, 54,90, 69,75, 80,33, 154,40, 171,01, 177,51, 193,43. Оптическое вращение:  $[\alpha]_D^{22} +13,0^\circ$  (с 0,184,  $CHCl_3$ ). ИК ( $CHCl_3$ ): 3424 м, 3354 w, br, 3116 w, 2984 s, 2937 м, 2875 s, 2110 vs, 1747 vs, 1730 vs, sh, 1642 s, 1512 s, 1481 м, 1466 м, 1453 м, 1377 s, 1282 s, 1182 м, 1145 s, 1105 s, 994 s, 942 м,  $cm^{-1}$ . ESI MS: 394 ( $[M+Na]^+$ ). HR ESI MS: вычислено для  $C_{16}H_{25}O_7N_3Na$  394,15847; найдено 394,15855.

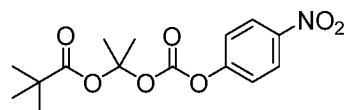
Синтез

изопропил

6-диазо-5-оксо-2-

(( (пивалоилокси) пропан-2-ил) окси) карбонил) амино) гексаноата (44)

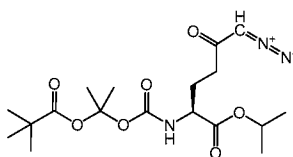
2-((4-нитрофенилокси) карбонил) окси) пропан-2-илпивалат (43)



2-Хлорпропан-2-ил(4-нитрофенил) карбонат (полученный по способу, представленному в США 2006/229361 А1, 300 мг, 1,16 ммоль, 1 экв.) растворяли в сухом DCM (15 мл). Добавляли пивалат

ртути (559 мг, 1,39 ммоль, 1,2 экв.), и реакционную смесь перемешивали в течение ночи (19 ч) при кт в инертной атмосфере. Образовавшийся твердый осадок ( $\text{HgCl}_2$ ) удаляли фильтрованием, добавляли DCM (15 мл), и RM экстрагировали насыщенным  $\text{NaHCO}_3$  (15 мл), насыщенным раствором соли (15 мл), сушили над  $\text{MgSO}_4$ , и растворитель выпаривали. Продукт **43** получали в виде светло-желтого масла (301 мг) с выходом 80%.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,20 (9H, с), 1,91 (6H, с), 7,34–7,40 (2H, м), 8,24–8,30 (2H, м).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 25,28 (2C), 27,02 (3C), 39,59, 107,71, 121,98 (2C), 125,40 (2C), 145,50, 149,07, 155,41, 175,97. ИК ( $\text{CHCl}_3$ ): 3031 w, 2976 w, 2875 w, 1777 m, 1736 m, 1618 w, 1595 w, 1528 m-s, 1493 m, 1481 w, 1439 w, 1396 w, 1376 w, 1349 m, 1322 w, 1264 m, 1191 m, 1112 vs, 1094 s, sh, 1030 w, 980 w, 859 m, 682 vw, 491 vw  $\text{cm}^{-1}$ . ESI MC: 348 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). HR ESI MC: вычислено для  $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{O}_7\text{NNa}$  348,10537; найдено 348,10543.

**Изопропил 6-диазо-5-оксо-2-(((2-(пивалоилокси)пропан-2-ил)окси)карбонил)амино)гексаноат (44)**

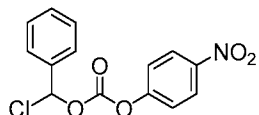


Соединение **43** (48 мг, 0,148 ммоль, 1 экв.) растворяли в сухом ДМФА (2 мл), и реакционную смесь охлаждали до  $0^\circ\text{C}$ . Соединение **3** (79 мг, 0,369 ммоль, 2,5 экв.), растворенное в сухом ДМФА (1 мл), добавляли при помощи шприца. Реакционную смесь перемешивали при  $0^\circ\text{C}$  в инертной атмосфере в течение ночи в течение 3 ч. ДМФА выпаривали, и неочищенную смесь очищали ЖХ (гексан:EtOAc, 2:1). Продукт **44** получали в виде светло-желтого масла (49 мг) с выходом 83%.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,19 (9H, с), 1,23 (3H, д,  $J=6,3$ ), 1,24 (3H, д,  $J=6,3$ ), 1,80 (3H, с), 1,83 (3H, с), 1,90–2,01 (1H, м), 2,14–2,27 (1H, м), 2,29–2,51 (2H, м), 4,24 (1H, дт,  $J=8,3, 4,7$ ), 5,05 (1H, гепт,  $J=6,3$ ), 5,31 (1H, шир.с), 5,44 (1H, д,  $J=8,2$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 21,80, 21,82, 25,76, 25,91, 27,07 (3C), 27,79, 36,46, 39,48, 53,26, 54,87, 69,59, 105,44, 153,16, 171,31, 176,21, 193,63. Оптическое вращение:  $[\alpha]^{22}_D +12,8^\circ$  (с 0,133,  $\text{CHCl}_3$ ). ИК ( $\text{CHCl}_3$ ): 3430 w, 3116

w, 2984 m, 2936 m, 2874 m, 2110 s, 1732 vs, br, 1641 m, 1502 s, 1481 m, 1466 m, 1462 m, 1455 m, 1452 m, 1397 m, sh, 1384 s, 1374 s, 1365 s, sh, 1198 s, 1184 s, 1147 m, sh, 1128 s, 1112 s, 1105 s, 1045 m, 942 w  $\text{cm}^{-1}$ .

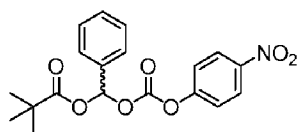
Синтез *изопропил* *6-диазо-5-оксо-2-*  
((фенил (пивалоилокси) метокси) карбонил) амино) гексаноата (47)

**Хлор (фенил) метил (4-нитрофенил) карбонат (45)**



Хлор (фенил) метилкарбонохлоридат (полученный по US20110319422, 900 мг, 4,39 ммоль, 1 экв.) растворяли в сухом DCM (20 мл). Добавляли 4-нитрофенол (611 мг, 4,39 ммоль, 1 экв.), и полученную смесь охлаждали до 0°C. Пиридин (347 мг, 355 мкл, 4,39 ммоль, 1 экв.), растворенный в сухом DCM (5 мл), по каплям добавляли в течение 5 минут. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при кт. DCM выпаривали, и неочищенный продукт очищали ЖХ (DCM:гексан, 1:1). Продукт **45** получали в виде бесцветного твердого вещества (520 мг) с выходом 39%.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 7,33 (1H, c), 7,41-7,50 (5H, м), 7,58-7,63 (2H, м), 8,28-8,34 (2H, м).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 87,37, 121,83 (2C), 125,59 (2C), 126,41 (2C), 129,07 (2C), 130,56, 136,35, 145,91, 150,50, 155,07. **Оптическое вращение:**  $[\alpha]^{22}_{\text{D}} -0,9^\circ$  (с 0,318,  $\text{CHCl}_3$ ). **ИК** ( $\text{CHCl}_3$ ): 3119 w, 3088 w, 3071 vw, 3032 w, 1788 vs, 1772 s, sh, 1619 m, 1595 m, 1530 vs, 1492 s, 1456 m, 1349 vs, 1317 m, 1296 m, 1232 vs, sh, 1178 m, sh, 1165 m, 1111 m, 1105 w, sh, 1078 m, 1054 s, 1029 m, 1014 m, 1002 w, 978 s, 920 w, 872 s, 854 s, 830 vw, 708 s, 695 m, sh, 680 w, 626 vw, 618 vw, 530 vw, 495 w, 403 w  $\text{cm}^{-1}$ . **ESI MC:** 329 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). **HR ESI MC:** вычислено для  $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_5\text{NClNa}$  330,01397; найдено 330,01367.

**((4-Нитрофенилокси) карбонил) окси) (фенил) метилпивалат (46)**



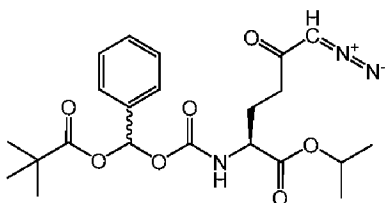
Соединение **45** (100 мг, 0,325 ммоль, 1 экв.) и пивалат ртути (157 мг, 0,390 ммоль, 1,2 экв.) растворяли в сухом DCM (6 мл).

Реакционную смесь перемешивали при кт в инертной атмосфере в течение ночи (16 ч). Добавляли DCM (10 мл), и реакционную смесь промывали насыщенным  $\text{NaHCO}_3$  (10 мл) и насыщенным раствором соли (10 мл), органическую фазу сушили над  $\text{MgSO}_4$ , и DCM выпаривали. Продукт **46** (115 мг) получали с выходом 95% и использовали на следующей стадии без какой-либо очистки.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,28 (9H, c), 7,38–7,43 (2H, м), 7,44–7,50 (3H, м), 7,57–7,60 (1H, м), 7,61 (1H, c), 8,23–8,33 (2H, м).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 27,02 (3C), 39,11, 93,80, 121,86 (2C), 125,47 (2C), 126,84 (2C), 128,97 (2C), 130,48, 134,39, 145,69, 150,73, 155,32, 176,44. Оптическое вращение:  $[\alpha]^{22}_{\text{D}} -6,0^\circ$  (с 0,201,  $\text{CHCl}_3$ ). ИК ( $\text{CHCl}_3$ ): 3118 w, 3087 w, 3072 w, 3031 m, 2980 m, 2875 w, 1775 vs, 1747 s, 1618 m, 1595 m, 1529 vs, 1493 s, 1480 m, 1459 m, 1399 m, 1365 m, 1349 vs, 1279 vs, 1248 vs, 1165 s, 1123 vs, 1112 s, sh, 1030 s, 1014 m, 1003 m, 970 s, br, 943 s, 918 m, 865 s, 860 s, 832 w, 697 s, 682 w, 633 w, 619 vw, 530 vw, 495 w, 403 vw  $\text{cm}^{-1}$ . ESI MC: 396 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). HR ESI MC: вычислено для  $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{O}_7\text{NNa}$  396,10537; найдено 396,10546.

Изопропил

6-диазо-5-оксо-2-

((фенил (пивалоилокси) метокси) карбонил) амино) гексаноат (47)

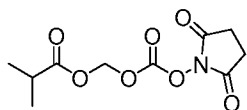


Соединение **46** (115 мг, 0,308 ммоль, 1 экв.) растворяли в сухом DCM (3 мл). Сложный iPr эфир DON (72 мг, 0,339 ммоль, 1,1 экв.), растворенный в сухом DCM (2 мл), добавляли при помощи шприца. Реакционную смесь перемешивали при кт в инертной атмосфере в течение ночи (24 ч). Дополнительно добавляли сложный iPr эфир DON (72 мг, 0,339 ммоль, 1,1 экв.), растворенный в сухом DCM (2 мл), и перемешивание продолжали в течение следующих 24 часов. DCM выпаривали, и полученную неочищенную смесь очищали препаративной ВЭЖХ ( $\text{AcN}/\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{HCOOH}$ ). Продукт **47** получали в виде светло-коричневого масла (66 мг) с выходом 48%.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,17–1,31 (15H, м), 1,90–2,06 (1H, м), 2,12–2,31 (1H, м),



2,31-2,54 (2H, м), 4,27-4,36 (1H, м), 5,03 (1H, гепт,  $J=6,3$ ), 5,29 (1H, шир.с), 5,59 (1H, д,  $J=8,1$ ), 7,36-7,42 (3H, м), 7,46-7,51 (2H, м), 7,61 (s, 1H).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 21,82 (2C), 26,99 (3C), 27,70, 36,35, 38,99, 53,55, 54,90, 69,79, 90,93, 126,57 (2C), 128,66 (2C), 129,64, 135,95, 153,82, 171,10, 176,33, 193,51. **Оптическое вращение:**  $[\alpha]^{22}_{\text{D}}+12,5^\circ$  (с 0,246,  $\text{CHCl}_3$ ). **ИК** ( $\text{CHCl}_3$ ): 3425 w, 3116 w, 3098 vw, 3070 vw, 3029 m, 2984 m, 2937 m, 2875 w, 2110 s, 1735 vs, br, 1641 s, 1590 w, 1507 s, 1480 m, 1457 m, 1398 m, 1377 s, 1367 s, sh, 1366 s, sh, 1280 s, 1182 m, 1146 s, sh, 1133 s, 1105 s, 1085 m, 1057 s, 1027 s, 1003 m, 942 m, 918 w, 697 m, 619 vw  $\text{cm}^{-1}$ . **ESI MS:** 470 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ).

Синтез изопропил 6-диазо-2-  
 (((изобутирилокси)метокси)карбонил)амино)-5-оксогексаноата (49)  
 (((2,5-Диоксопирролидин-1-  
 ил)окси)карбонил)окси)метилизобутират (48)



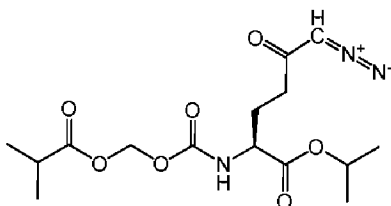
Хлорметилкарбонхлоридат (1,00 г, 690 мкл, 7,76 ммоль, 1 экв.) растворяли в сухом  $\text{Et}_2\text{O}$  (10 мл). Полученную реакционную смесь охлаждали до  $0^\circ\text{C}$ , и по каплям добавляли смесь  $\text{Et}_3\text{N}$  (785 мг, 1081 мкл, 7,76 ммоль, 1 экв.) и  $\text{EtSH}$  (482 мг, 574 мкл, 7,76 ммоль, 1 экв.), растворенную в сухом  $\text{Et}_2\text{O}$  (3 мл), за 5 минут. Полученную реакционную смесь перемешивали в течение ночи (18 ч) при кт, образовавшийся осадок отфильтровывали через рыхлый слой целита, и растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт (хлорметил)-*S*-этилкарбонотиоата (бесцветная жидкость) использовали на следующей стадии без очистки. *O*- (Хлорметил)-*S*-этилкарбонотиоат (1,10 г, 7,11 ммоль, 1 экв.) растворяли в изомасляной кислоте (1,88 г, 1,94 мл, 21,35 ммоль, 3 экв.), и свежеприготовленную соль изомасляной кислоты (1,88 г, 1,94 мл, 21,35 ммоль, 3 экв.) и DIEA (2,76 г, 3,81 мл, 21,35 ммоль, 3 экв.) добавляли несколькими порциями. Полученную реакционную смесь нагревали до  $60^\circ\text{C}$  в течение 20 ч. Добавляли  $\text{EtOAc}$  (50 мл), и органическую фазу экстрагировали водой (50 мл),

насыщенным  $\text{NaHCO}_3$  (3×50 мл), насыщенным  $\text{NaCl}$  (50 мл), сушили над  $\text{MgSO}_4$ , и растворитель выпаривали. Неочищенный продукт ((этилтио)карбонил)окси)метилизобутират (светло-желтая жидкость, 1,14 г, 72%) использовали на следующей стадии без очистки. ((Этилтио)карбонил)окси)метилизобутират (1,12 г, 5,04 ммоль, 1 экв.) растворяли в сухом DCM (15 мл), добавляли *N*-гидроксисукцинимид (1,16 г, 10,08 ммоль, 2 экв.), и полученную суспензию охлаждали до 0°C. Перуксусную кислоту (1,15 г (100%), 3,19 г (36%), 15,12 ммоль, 3 экв., 36% раствор в уксусной кислоте) по каплям добавляли за 10 минут. Конечную смесь перемешивали в течение 60 минут при 0°C и 2 часа при кт. Добавляли DCM (20 мл), и органическую фазу промывали водой (15 мл) и насыщенным  $\text{NaCl}$  (15 мл) и сушили над  $\text{MgSO}_4$ . DCM выпаривали, и продукт очищали ЖХ (гексан:EtOAc, 2:1,  $R_f$  0,24). Продукт **48** получали в виде бесцветного масла (842 мг) с выходом 64% (за 3 стадии).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,19 (6H, д,  $J=7,0$ ), 2,63 (1H, гепт,  $J=7,0$ ), 2,83 (4H, с), 5,85 (2H, с).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 18,60, 25,54, 33,77, 83,50, 150,92, 168,39, 175,08. ИК ( $\text{CHCl}_3$ ): 2981 м, 2945 w, 2880 w, 1823 s, 1795 vs, 1748 vs, br, 1720 m, sh, 1471 m, 1431 m, 1389 w, 1370 m, 1231 vs, 1199 vs, 1113 s, 1045 m, 925 s,  $\text{cm}^{-1}$ . ESI MC: 282 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). HR ESI MC: вычислено для  $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{O}_7\text{NNa}$  282,05842; найдено 282,05848.

## Изопропил

## 6-диазо-2-

## (((изобутирилокси)метокси)карбонил)амино)-5-оксогексаноат (49)

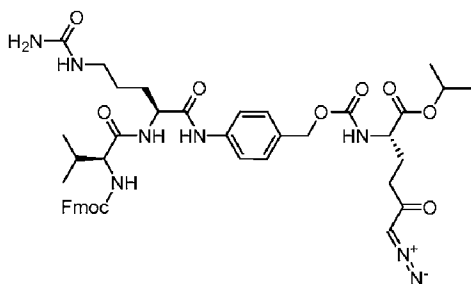


Соединение **48** (268 мг, 1,03 ммоль, 1,1 эквив.) растворяли в абсолютном дихлорметане (8 мл). Полученный раствор охлаждали до 0°C, и по каплям добавляли раствор соединения **3** (200 мг, 0,94 ммоль) в дихлорметане (1 мл). Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 15 мин при 0°C на охлаждающей бане. Полученную реакционную смесь затем перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Органический растворитель

выпаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на силикагеле (хлороформ:ацетон, 10:1), с получением требуемого продукта **49** (180 мг, 54%) в виде желтого аморфного твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,17-1,19 (6H, м), 1,25-1,27 (6H, м), 1,94-2,04 (1H, м), 2,18-2,26 (1H, м), 2,32-2,49 (2H, м), 2,59 (1H, гепт,  $J=6,9$ ), 4,31 (1H, тд,  $J=8,1, 4,7$ ), 5,05 (1H, гепт,  $J=6,3$ ), 5,28 (1H, с), 5,62 (1H, д,  $J=8,0$ ), 5,71 (1H, д,  $J=5,8$ ), 5,75 (1H, д,  $J=5,8$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 18,82 (2С), 21,84, 21,86, 27,67, 33,91, 36,37, 53,66, 54,99, 69,84, 80,14, 154,45, 171,03, 176,19. ИК ( $\text{CHCl}_3$ ): 3424 w, 2111 s, vs, 1750 sh, vs, 1732 vs, 1641 m, s, 1512 s, 1387 sh, s, 1377 s, 1370 sh, s  $\text{cm}^{-1}$ . Оптическое вращение:  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} +5,4^\circ$  (с 0,202,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). ESI MC: 380 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). HR ESI MC: вычислено для  $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{O}_7\text{N}_3\text{Na}$  380,14282; найдено 380,14286.

Синтез изопропил 2-(((4-(2-(2-амино-3-метилбутанамидо)-5-уреидопентанамидо) бензил) окси) карбонил) амино)-6-диазо-5-оксогексаноата (**51**)

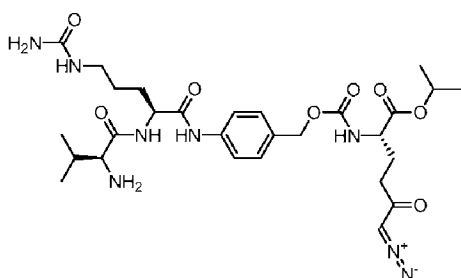
Изопропил 2-(((4-(2-(2-(((9H-флуорен-9-ил) метокси) карбонил) амино)-3-метилбутанамидо)-5-уреидопентанамидо) бензил) окси) карбонил) амино)-6-диазо-5-оксогексаноат (**50**)



9-Флуоренилметилоксикарбонил-валил-цитрулил-(4-аминобензил)-(4-нитрофенил) карбонат (191 мг, 0,249 ммоль, 1,2 эквив.) растворяли в сухом ДМФА (2,0 мл), и по каплям добавляли раствор соединения **3** (44 мг, 0,208 ммоль) в сухом ДМФА (1,0 мл). К полученной реакционной смеси по каплям добавляли диизопропилэтиламин (130 мкл, 0,747 ммоль, 3 эквив.). Полученную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Органический растворитель выпаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на силикагеле (хлороформ:метанол, 15:1), с получением требуемого продукта **50** (110 мг, 53%) в виде

белого аморфного твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО): 0,85 (3H, д,  $J=6,8$ ), 0,88 (3H, д,  $J=6,9$ ), 1,16 (3H, д,  $J=6,6$ ), 1,18 (3H, д,  $J=6,6$ ), 1,31-1,49 (2H, м), 1,54-1,81 (3H, м), 1,89-2,03 (2H, м), 2,35-2,44 (2H, м), 2,89-3,05 (2H, м), 3,91-3,98 (2H, м), 4,20-4,34 (3H, м), 4,39-4,44 (1H, м), 4,86-5,00 (3H, м), 5,40 (2H, с), 5,97 (1H, т,  $J=5,9$ ), 6,05 (1H, с), 7,28 (2H, д,  $J=8,7$ ), 7,32 (2H, тд,  $J=7,5, 1,2$ ), 7,39-7,44 (3H, м), 7,59 (2H, д,  $J=8,3$ ), 7,66 (1H, д,  $J=7,7$ ), 7,74 (2H, т,  $J=7,8$ ), 7,89 (2H, д,  $J=7,6$ ), 8,12 (1H, д,  $J=7,5$ ), 10,06 (1H, с).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц, ДМСО): 18,28, 19,23, 21,45, 21,52, 25,78, 26,80, 29,48, 30,46, 36,32, 38,58, 46,69, 53,10, 53,42, 60,08, 65,29, 65,69, 68,04, 118,91 (2C), 120,10 (2C), 125,37 (2C), 127,07 (2C), 127,65 (2C), 128,61 (2C), 131,65, 138,64, 140,71 (2C), 143,77, 143,90, 156,13 (2C), 158,90, 170,60, 171,28, 171,55, 194,03. ИК (KBr): 3400 s, br, sh, 3327 s, br, 3066 w, 2964 m, 2937 m, 2106 s, 1705 vs, br, 1651 vs, 1609 s, 1533 vs, 1517 vs, sh, 1479 m, 1466 m, 1450 s, 1415 m, 1386 s, sh, 1376 s, 1334 s, 1320 s, sh, 1248 s, 1183 m, 1145 m, 1106 s, 1047 m, 1020 m, sh, 826 w, 777 w, sh, 621 w, 427 w  $\text{cm}^{-1}$ . Оптическое вращение:  $[\alpha]^{22}_{\text{D}} -15,6^\circ$  (с 0,631, ДМСО). ESI MS: 863 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). HR ESI MS: вычислено для  $\text{C}_{43}\text{H}_{52}\text{N}_8\text{O}_{10}\text{Na}$  863,36986; найдено 863,36997.

Изопропил 2-(((4-(2-(2-амино-3-метилбутанамидо)-5-уреидопентанамидо)бензил)окси)карбонил)амино)-6-диазо-5-оксогексаноат (51)

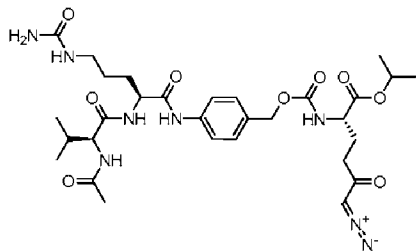


Соединение **50** (110 мг, 0,131 ммоль) растворяли в сухом ДМФА (0,5 мл). Добавляли пиперидин (32 мкл 0,327 ммоль, 2,5 эквив.), и полученную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 часов. Органический растворитель выпаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на силикагеле (хлороформ:метанол, 2:1), с получением требуемого продукта **51**

(70 мг, 87%) в виде белого аморфного твердого вещества.

*Синтез* *изопропил* *2-(((4-(2-(2-ацетиамидо-3-метилбутанамидо)-5-уреидопентанамидо)бензил)окси)карбонил)амино)-6-диазо-5-оксогексаноата (52)*

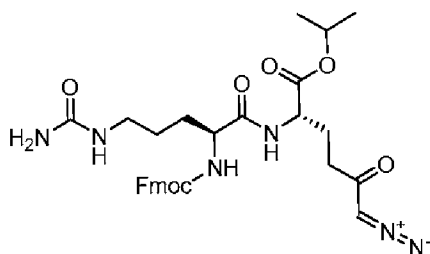
**Изопропил 2-(((4-(2-(2-ацетиамидо-3-метилбутанамидо)-5-уреидопентанамидо)бензил)окси)карбонил)амино)-6-диазо-5-оксогексаноат (52)**



Соединение **51** (100 мг, 0,162 ммоль) растворяли в сухом ДМФА (2 мл), и в полученный раствор по каплям добавляли диизопропилэтиламин (144 мкл, 0,842 ммоль, 5,1 эквив.) с последующим добавлением ацетангидрида (76,5 мкл, 0,81 ммоль, 5,0 эквив.). Полученную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Органический растворитель выпаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на силикагеле (хлороформ:метанол, 7:1), с получением требуемого продукта **52** (97 мг, 91%) в виде желтого аморфного твердого вещества.

*Синтез* *изопропил* *2-(2-(2-амино-3-метилбутанамидо)-5-уреидопентанамидо)-6-диазо-5-оксогексаноата (56)*

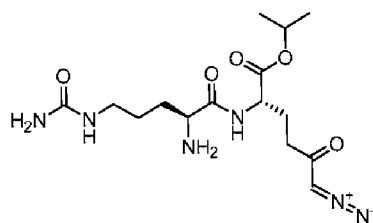
**Изопропил 2-(2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-5-уреидопентанамидо)-6-диазо-5-оксогексаноат (53)**



Fmoc-Cit-COOH (2,05 г, 5,16 ммоль, 1,1 эквив.) и ТВТУ (1,81 г, 5,63 ммоль, 1,2 эквив.) растворяли в абсолютном ДМФА (40 мл), и добавляли диизопропилэтиламин (2,51 мл, 14,07 ммоль, 3 эквив.). Полученную реакционную смесь перемешивали при комнатной

температуре в течение 30 мин., и затем при помощи шприца добавляли раствор соединения **3** (1,0 г, 4,69 ммоль) в абсолютном ДМФА (20 мл). Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре в инертной атмосфере. Органический растворитель выпаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на силикагеле (хлороформ:метанол, 15:1), с получением требуемого продукта **53** (1,84 г, 66%) в виде желтого аморфного твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО): 1,16 (3H, д,  $J=4,6$ ), 1,17 (3H, д,  $J=4,4$ ), 1,37-1,57 (3H, м), 1,61-1,70 (1H, м), 1,76-1,86 (1H, м), 1,94-2,03 (1H, м), 2,33-2,46 (2H, м), 2,94-3,03 (2H, м), 4,03-4,08 (1H, м), 4,15-4,31 (4H, м), 4,88 (1H, гепт,  $J=6,3$ ), 5,42 (2H, с), 5,96 (1H, т,  $J=5,8$ ), 6,01 (1H, с), 7,31-7,34 (2H, м), 7,39-7,43 (2H, м), 7,53 (1H, д,  $J=8,1$ ), 7,73-7,74 (2H, м), 7,88 (2H, д,  $J=7,5$ ), 8,28 (1H, д,  $J=7,5$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц, ДМСО): 21,45, 21,49, 25,91, 26,72, 29,39, 36,22, 38,77, 46,68, 51,48, 54,06, 65,67, 68,02, 120,10 (2C), 125,36 (2C), 127,09 (2C), 127,65 (2C), 140,72 (2C), 143,80, 143,91, 155,96, 158,87, 171,05, 172,29, 194,04. ИК (KBr): 3435 vs, br, 3348 vs, br, sh, 3068 m, 2979 m, 2936 m, 2871 w, 2105 s, 1723 s, 1678 vs, br, 1610 s, sh, 1540 s, br, 1478 s, 1466 m, sh, 1450 m, 1386 s, sh, 1376 s, 1252 s, 1220 m, sh, 1184 m, sh, 1146 m, 1105 s, 1052 m, 1032 m, 760 m, 741 m, 621 m, 427 s  $\text{cm}^{-1}$ . ESI MC: 615 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). HR ESI MC: вычислено для  $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{O}_7\text{N}_6\text{Na}$  615,25377; найдено 615,25383.

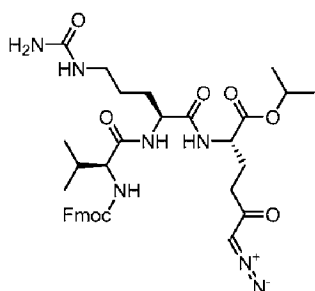
Изопропил 2-(2-амино-5-уреидопентанамидо)-6-диазо-5-оксогексаноат (**54**)



Соединение **53** (1,84 г, 3,11 ммоль) растворяли в сухом ДМФА (24 мл). Добавляли пиперидин (767 мкл 7,76 ммоль, 2,5 эквив.), и полученную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 часов. Органический растворитель выпаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на силикагеле

(хлороформ:метанол, 2:1), с получением требуемого продукта **54** (874 мг, 76%) в виде белого аморфного твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО): 1,17 (3H, д,  $J=4,4$ ), 1,18 (3H, д,  $J=4,3$ ), 1,27-1,47 (3H, м), 1,48-1,58 (1H, м), 1,76-1,85 (1H, м), 1,93-2,01 (1H, м), 2,31-2,43 (2H, м), 2,93 (2H, кв,  $J=6,4$ ), 3,14 (1H, дд,  $J=7,3, 5,3$ ), 4,88 (1H, гепт,  $J=6,3$ ), 5,36 (2H, с), 5,90 (1H, т,  $J=5,7$ ), 6,07 (1H, с), 8,13 (1H, д,  $J=7,7$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц, ДМСО): 21,45, 21,50, 26,08, 26,48, 32,69, 36,25, 51,22, 54,21, 68,03, 158,72, 171,18, 175,56, 194,05. ИК ( $\text{CHCl}_3$ ): 3509 w, 3414 w, sh, 3446 w, 3357 m, br, sh, 3116 w, 2939 w, 2110 s, 1731 s, 1664 vs, br, 1598 m, 1467 w, 1450 m, 1387 m, sh, 1377 s, 1349 m, 1183 w, 1145 m  $\text{cm}^{-1}$ . Оптическое вращение:  $[\alpha]^{22}_{\text{D}}-3,2^\circ$  (с 0,218,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). ESI MS: 371 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ). HR ESI MS: вычислено для  $\text{C}_{31}\text{H}_{40}\text{O}_{15}\text{N}_3\text{Na}$  393,18569; найдено 393,18575.

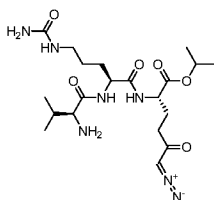
Изопропил 11-(4-диазо-3-оксобутил)-1-(9H-флуорен-9-ил)-5-изопропил-3,6,9-триоксо-8-(3-уреидопропил)-2-окса-4,7,10-триазадодекан-12-оат (**55**)



Fmoc-Val-COOH (484 мг, 1,43 ммоль, 1,1 эквив.) и TBUTU (499 мг, 1,55 ммоль, 1,2 эквив.) растворяли в абсолютном ДМФА (10 мл), и добавляли диизопропилэтиламин (677 мкл, 3,89 ммоль, 3 эквив.). Полученную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин., и затем при помощи шприца добавляли раствор соединения **54** (480 мг, 1,30 ммоль) в абсолютном ДМФА (5 мл). Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при комнатной температуре в инертной атмосфере. Органический растворитель выпаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на силикагеле (хлороформ:метанол, 15:1), с получением требуемого продукта **55** (750 мг, 84%) в виде белого аморфного твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО): 0,84 (3H, д,  $J=6,7$ ), 0,86 (3H, д,  $J=6,8$ ), 1,16

(3H, д,  $J=4,5$ ), 1,17 (3H, д,  $J=4,5$ ), 1,32-1,54 (3H, м), 1,60-1,68 (1H, м), 1,73-1,82 (1H, м), 1,91-2,04 (2H, м), 2,30-2,46 (2H, м), 2,90-3,02 (2H, м), 3,90 (1H, дд,  $J=9,1, 7,0$ ), 4,13-4,18 (1H, м), 4,20-4,34 (4H, м), 4,87 (1H, гепт,  $J=6,2$ ), 5,41 (2H, с), 5,94 (1H, т,  $J=5,8$ ), 6,04 (1H, с), 7,30-7,34 (2H, м), 7,39-7,45 (3H, м), 7,72-7,76 (2H, м), 7,89 (2H, д,  $J=7,5$ ), 8,01 (1H, д,  $J=7,6$ ), 8,31 (1H, д,  $J=7,4$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц, ДМСО): 18,26, 19,26, 21,48, 21,52, 25,99, 26,57, 29,54, 30,51, 36,09, 38,79, 46,71, 51,37, 52,15, 60,05, 65,68, 68,04, 120,15 (2С), 125,41 (2С), 127,12 (2С), 127,68 (2С), 140,72, 140,75, 143,79, 143,93, 156,12, 158,84, 171,03, 171,11, 171,76, 194,15. ИК (KBr): 3415 м, vbr, sh, 3360 м, br, 3283 м, 3068 w, 2964 w, 2937 w, 2873 w, 2106 м, 1727 м, 1686 s, 1655 vs, sh, 1645 vs, 1540 s, br, 1478 w, 1465 м, 1451 м, 1386 м, sh, 1376 м, 1293 м, 1249 м, 1226 м, 1183 w, sh, 1146 м, 1106 м, 1033 w, 1009 vw, 760 w, 741 w, 621 vw, 427 vw  $\text{cm}^{-1}$ . Оптическое вращение:  $[\alpha]^{22}_{\text{D}}-19,3^{\circ}$  (с 0,114, ДМСО). ESI MS: 714 ( $[\text{M}+\text{Na}]^{+}$ ). HR ESI MS: вычислено для  $\text{C}_{35}\text{H}_{45}\text{N}_7\text{O}_8\text{Na}$  714,32218; найдено 714,32218.

**Изопропил 2-(2-(2-амино-3-метилбутанамидо)-5-уреидопентанамидо)-6-диазо-5-оксогексаноат (56)**



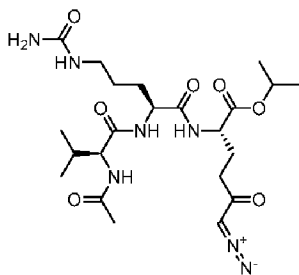
Соединение **55** (200 мг, 0,289 ммоль) растворяли в сухом ДМФА (3 мл). Добавляли пиперидин (71 мкл 0,723 ммоль, 2,5 эквив.), и полученную реакцию смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 часов. Органический растворитель выпаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на силикагеле (хлороформ:метанол, 2:1), с получением требуемого продукта **56** (110 мг, 81%) в виде белого аморфного твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО): 0,77 (3H, д,  $J=6,8$ ), 0,87 (3H, д,  $J=6,9$ ), 1,16 (3H, д,  $J=5,3$ ), 1,18 (3H, д,  $J=5,2$ ), 1,30-1,52 (3H, м), 1,57-1,68 (1H, м), 1,73-1,83 (1H, м), 1,86-2,01 (2H, м), 2,34-2,44 (2H, м), 2,89-3,00 (2H, м), 4,06-4,18 (2H, м), 4,29-4,37 (1H,



м), 4,88 (1H, гепт,  $J=6,3$ ), 5,37 (2H, с), 5,91 (1H, т,  $J=5,8$ ), 6,05 (1H, с), 8,04 (1H, д,  $J=7,8$ ), 8,34 (1H, д,  $J=7,4$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц, ДМСО): 17,49, 18,76, 21,46, 21,50, 25,86, 26,44, 29,61, 30,44, 36,08, 38,64, 51,45, 51,93, 57,96, 68,04, 158,99, 169,93, 170,95, 171,58, 194,03. ИК (KBr): 3500 w, br, sh, 3338 m, vbr, 3116 w, 2984 s, 2965 s, 2936 m, 2874 m, 2109 s, 1731 s, 1653 vs, br, 1602 s, br, sh, 1552 s, br, 1517 s, 1466 m, 1452 m, 1387 s, sh, 1376 s, 1234 s, 1183 m, 1145 s, 1106 s  $\text{cm}^{-1}$ . Оптическое вращение:  $[\alpha]^{22}_{\text{D}}-13,0^\circ$  (с 0,270, ДМСО). ESI MC: 470 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ). HR ESI MC: вычислено для  $\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{O}_6\text{N}_7$  470,27216; найдено 470,27208.

Синтез изопропил 2-(2-(2-ацетамидо-3-метилбутанамидо)-5-уреидопентанамидо)-6-диазо-5-оксогексаноата (57)

Изопропил 2-(2-(2-ацетамидо-3-метилбутанамидо)-5-уреидопентанамидо)-6-диазо-5-оксогексаноат (57)

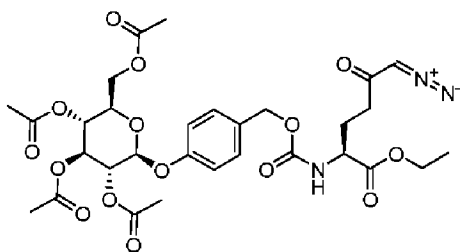


Соединение 56 (50 мг, 0,107 ммоль) растворяли в сухом ДМФА (1 мл), и к полученному раствору по каплям добавляли диизопропилэтиламин (95 мкл, 0,543 ммоль, 5,1 эквив.) с последующим добавлением ацетангида (50 мкл, 0,532 ммоль, 5,0 эквив.). Полученную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Органический растворитель выпаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на силикагеле (хлороформ:метанол, 7:1), с получением требуемого продукта 57 (50 мг, 92%) в виде желтого аморфного твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 0,82 (3H, д,  $J=6,9$ ), 0,84 (3H, д,  $J=7,1$ ), 1,16 (3H, д,  $J=4,8$ ), 1,17 (3H, д,  $J=4,9$ ), 1,31-1,53 (3H, м), 1,60-1,68 (1H, м), 1,73-1,82 (1H, м), 1,86 (3H, с), 1,89-2,00 (2H, м), 2,31-2,44 (2H, м), 2,93-2,97 (2H, м), 4,12-4,17 (2H, м), 4,21-4,26 (1H, м), 4,87 (1H, гепт,  $J=6,3$ ), 5,39 (2H, с), 5,92 (1H, т,  $J=5,8$ ), 6,02 (1H, с), 7,86 (1H, д,  $J=8,7$ ), 7,97 (1H, д,

$J=7,6$ ), 8,20 (1H, д,  $J=7,5$ ).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 18,20, 19,21, 21,45, 21,49, 22,51, 25,95, 26,56, 29,36, 30,40, 36,10, 38,77, 51,33, 52,11, 57,67, 68,01, 158,80, 169,37, 170,97, 171,05, 171,70, 194,05. **Оптическое вращение:**  $[\alpha]^{22}_{\text{D}}-22,6^\circ$  (с 0,257, ДМСО). **ESI MC:** 534 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ). **HR ESI MC:** вычислено для  $\text{C}_{22}\text{H}_{37}\text{O}_7\text{N}_7\text{Na}$  534,26467; найдено 513,26456.

*Синтез (S)-6-диазо-5-оксо-2-(((4-(((2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-тригидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)бензил)окси)карбонил)амино)гексаноата (59)*

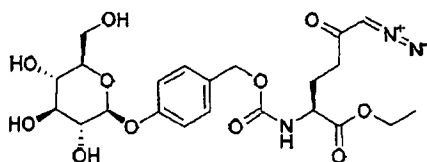
**2-(ацетоксиметил)-6-(4-(((6-диазо-1-этокси-1,5-диоксогексан-2-ил)карбамоил)окси)метил)фенокси)тетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триилтриацетат (58)**



4-[[[(4-Нитрофенокси)карбонил]окси]метил]фенил- $\beta$ -D-глюкопиранозид 2,3,4,6-тетраацетат (полученный при помощи способа, аналогично описанному в *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, 45, 5345-5348, 800 мг, 1,3 ммоль) растворяли в сухом ДМФА (6 мл), и по каплям добавляли раствор соединения **20** (330 мг, 1,66 ммоль, 1,3 эквив.) в сухом ДМФА (3 мл). К полученной реакционной смеси по каплям добавляли диизопропилэтиламин (0,91 мл, 5,2 ммоль, 4 эквив.). Полученную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Органический растворитель выпаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на силикагеле (хлороформ:ацетон, 7:1), с получением требуемого продукта **58** (596 мг, 68%) в виде желтого аморфного твердого вещества.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,25 (3H, м), 1,93-2,04 (1H, м), 2,02 (3H, с), 2,03 (3H, с), 2,04 (3H, с), 2,06 (3H, с), 2,15-2,23 (1H, м), 2,28-2,51 (2H, м), 3,85 (1H, ддд,  $J=10,0, 5,3, 2,5$ ), 4,13-4,20 (3H, м), 4,25-4,34 (2H, м), 5,03-5,07 (3H, м), 5,13-5,17 (1H, м), 5,21-5,31 (3H, м), 5,49 (1H, д,  $J=7,9$ ), 6,94-6,97 (2H, м), 7,27-7,31 (2H, м).  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 14,24, 20,71, 20,72,

20,80, 21,82, 27,59, 36,50, 53,61, 54,87, 61,80, 62,01, 66,56, 68,34, 71,23, 72,16, 72,78, 99,13, 117,05 (2C), 129,95 (2C), 131,38, 156,06, 156,86, 169,39, 169,50, 170,32, 170,66, 171,91, 193,55. ИК (CHCl<sub>3</sub>): 3429 w, 2110 s, 1757 vs, 1744 sh, vs, 1720 sh, s, 1641 m, 1613 m, 1592 w, 1512 s, 1377 m, 1368 s, 1178 m, 1070 sh, s, 651 w cm<sup>-1</sup>. Оптическое вращение:  $[\alpha]^{22}_D -3,3^\circ$  (с 0,631, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). ESI MC: 680 ([M+H]<sup>+</sup>). HR ESI MC: вычислено для C<sub>30</sub>H<sub>38</sub>O<sub>15</sub>N<sub>3</sub> 680,22974; найдено 680,22998.

Этил (S)-6-диазо-5-оксо-2-(((4-((2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-тригидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)бензил)окси)карбонил)амино)гексаноат (59)

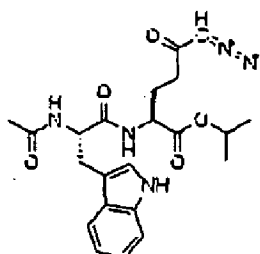


Соединение **58** (833 мг, 1,3 ммоль) растворяли в метаноле (20 мл), и по каплям добавляли 50-60% раствор гидразингидрата в воде (417 мкл, 7,36 ммоль, 6,0 эквив.). Полученную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Органический растворитель выпаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на силикагеле (хлороформ:метанол 7:1), с получением требуемого продукта **59** (240 мг, 37%) в виде желтого аморфного твердого вещества. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО): 1,18 (3H, т, J=7,1), 1,72-1,81 (1H, м), 1,91-2,00 (1H, м), 2,34-2,45 (2H, м), 3,12-3,19 (1H, м), 3,20-3,28 (2H, м), 3,29-3,34 (1H, м), 3,42-3,48 (1H, м), 3,66-3,71 (1H, м), 3,97-4,03 (1H, м), 4,05-4,12 (2H, м), 4,54 (1H, т, J=5,8), 4,86 (1H, д, J=7,3) 4,96 (2H, с), 5,01 (1H, д, J=5,3), 5,08 (1H, д, J=4,6), 5,30 (1H, д, J=4,8), 6,05 (1H, с), 7,01 (2H, д, J=8,6), 7,28 (2H, д, J=8,6), 7,67 (1H, д, J=7,8). <sup>13</sup>C ЯМР (101 МГц, ДМСО): 14,07, 25,82, 36,30, 53,27, 60,59, 60,70, 65,30, 69,72, 73,23, 76,63, 77,04, 100,28, 116,11 (2C), 129,49 (2C), 130,09, 156,16, 157,14, 172,06, 201,32. ИК (KBr): 3413 м, 2979 w, 2935 w, 2108 м, 1718 м, 1649 м, 1614 м, 1592 w, 1513 м, 1392 м, sh, 1383 м, 1346 м, 1233 с, 1179 м, sh, 1074 с, 1046 с, sh, 1018 м, 948 w, sh, 832 w, 511 w cm<sup>-1</sup>. Оптическое вращение:  $[\alpha]^{22}_D -18,9^\circ$  (с 0,254, ДМСО). ESI MC:

534 ( $[M+Na]^+$ ). **HR ESI MS:** вычислено для  $C_{22}H_{29}O_{11}N_3Na$  534,16943; найдено 534,16951.

*Синтез*                      *изопропил*                      *2-(2-ацетамидо-3-(1H-индол-3-ил)пропанамидо)-6-диазо-5-оксогексаноата (60)*

**Изопропил**                      **2-(2-ацетамидо-3-(1H-индол-3-ил)пропанамидо)-6-диазо-5-оксогексаноат (60)**

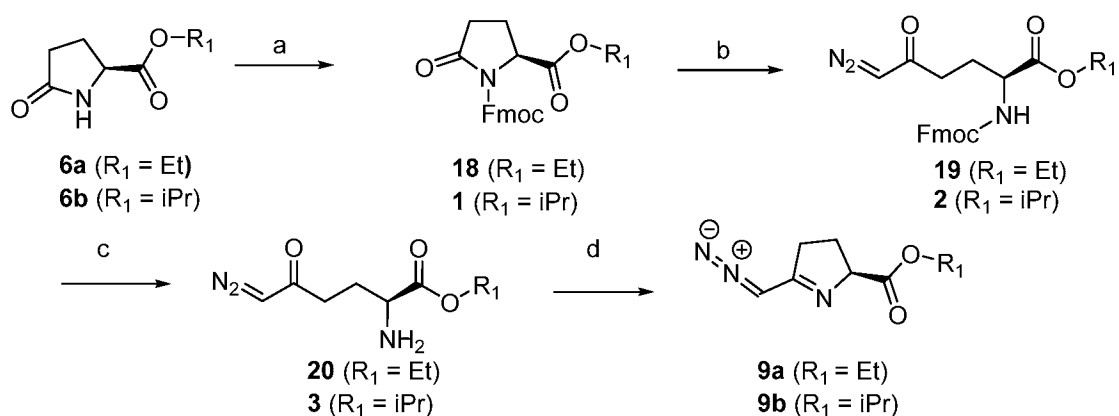


Соединение **38** (425 мг, 1,06 ммоль, 1 экв.) растворяли в сухом ДМФА (8 мл). При помощи шприца добавляли пиридин (168 мг, 171 мкл, 2,13 ммоль, 2 экв.), с последующим добавлением ацетангида (130 мг, 121 мкл, 1,28 ммоль, 1,2 экв.). Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при кт в инертной атмосфере. ДМФА выпаривали. Неочищенный продукт очищали колоночной ЖХ ( $CHCl_3:MeOH$ , 20:1), с получением 423 мг продукта **60** в виде желтого аморфного твердого вещества (90% выход).  $^1H$  ЯМР (400 МГц,  $CDCl_3$ ): 1,20 (3H, д,  $J=6,3$ ), 1,24 (3H, д,  $J=6,3$ ), 1,81-1,94 (1H, м), 1,98 (3H, с), 2,04-2,33 (3H, м), 3,17 (1H, дд,  $J=14,6, 7,2$ ), 3,33 (1H, дд,  $J=14,7, 5,4$ ), 4,37 (1H, тд,  $J=7,7, 4,4$ ), 4,75 (1H, тд,  $J=7,4, 5,4$ ), 4,95 (1H, гепт,  $J=6,3$ ), 5,16 (1H, шир.с), 6,22 (д,  $J=7,6$ ), 6,64 (1H, д,  $J=7,3$ ), 7,09-7,14 (2H, м), 7,18 (1H, ддд,  $J=8,2, 7,0, 1,3$ ), 7,32-7,38 (1H, м), 7,66 (1H, дд,  $J=7,9, 1,1$ ), 8,31 (1H, шир.с).  $^{13}C$  ЯМР (101 МГц,  $CDCl_3$ ): 21,77, 21,82, 23,38, 26,97, 28,29, 36,25, 52,28, 54,07, 54,95, 69,54, 110,38, 111,42, 118,78, 119,79, 122,27, 123,57, 127,74, 136,35, 170,25, 170,85, 171,58, 194,04.

**Оптическое вращение:**  $[\alpha]^{22}_D -11,6^\circ$  (с 0,284,  $CHCl_3$ ). **ИК** ( $CHCl_3$ ): 3478 м, 3417 м, 3329 w, vbr, 3117 w, 2986 м, 2934 w, 2874 vw, 2855 w, 2110 s, 1732 s, 1660 vs, br, 1635 s, sh, 1600 w, sh, 1554 м, br, sh, 1505 s, br, 1467 w, 1457 м, 1385 s, sh, 1377 w, vbr, 1350 м, 1183 м, 1146 м, 1105 s, 1093 м, sh, 1012 w. **ESI MS:** 464 ( $[M+Na]^+$ ). **HR ESI MS:** вычислено для  $C_{22}H_{27}O_5N_5Na$

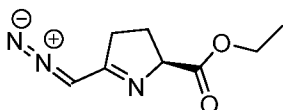
464,19044; найдено 464,19050.

Схема 9



Реагенты и соединения: (a) LiHMDS, Fmoc-Cl, ТГФ,  $-78^\circ\text{C}$ , 87% для соединения **7a**, 92% для соединения **7b**; (b) *n*-BuLi, TMS диазометан, ТГФ, от  $-116$  до  $-78^\circ\text{C}$ , 80% для соединения **8a**, 85% для соединения **8b**; (c) Пиперидин, DCM, кт, 66% для соединения **2a** и 66% для соединения **2b**; (d)  $\text{CH}_3\text{CN}$ ,  $60^\circ\text{C}$ , 50% для соединения **9a**;  $\text{CDCl}_3$ , кт, в течение ночи, 41% для соединения **9b**.

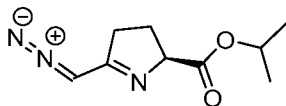
**Этил 5-(дiazометил)-3,4-дигидро-2H-пирроле-2-карбоксилат (9a)**



Согласно схеме 9, соединение **20** (117 мг, 0,588 ммоль, 1 экв.) растворяли в  $\text{CH}_3\text{CN}$  (1 мл). Полученную реакционную смесь нагревали в течение 2 часов при  $60^\circ\text{C}$  в инертной атмосфере.  $\text{CH}_3\text{CN}$  выпаривали, и неочищенный продукт очищали ВЭЖХ ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{HCOOH}$ ) с получением светло-оранжевого масла (53 мг) с выходом 50%.  $^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ): 1,27 (3H, т,  $J=7,1$ ), 2,83-2,93 (1H, м), 2,93-3,07 (2H, м), 3,09-3,20 (1H, м), 4,24 (2H, дкв,  $J=7,1, 2,4$ ), 5,17 (1H, дд,  $J=9,2, 3,5$ ), 7,43 (1H, с);  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 14,11, 19,98, 34,19, 59,06, 62,53, 126,82, 142,77, 168,70; ИК ( $\text{CHCl}_3$ ): 2942 w, 2910 w, 2875 vw, 2103 vw, 1747 vs, 1475 w, 1676 m, 1605 vw, 1552 w, 1462 w, 1446 w, 1396 w, 1377 m, 1202 vs, 1177 m, 1116 w, 1095 m,  $\text{cm}^{-1}$ ; ESI MC: 182 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ); HR ESI MC: вычислено для  $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{O}_2\text{N}_3$  182,0930; найдено 182,0931.

**Изопропил**

**5-(дiazометил)-3,4-дигидро-2H-пирроле-2-**

**карбоксилат (9b)**

Согласно схеме 9, соединение **3** (100 мг, 0,469 ммоль, 1 экв.) растворяли в  $\text{CDCl}_3$  (2 мл). Полученную реакционную смесь перемешивали при кт в течение ночи.  $\text{CDCl}_3$  выпаривали, и неочищенный продукт очищали ВЭЖХ ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{HCOOH}$ ), с получением светло-оранжевого масла (41 мг) с выходом 45%.  $^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ): 1,25 (3H, д,  $J=6,1$ ), 1,27 (3H, д,  $J=6,1$ ), 2,81-2,95 (2H, м), 2,96-3,06 (1H, м), 3,08-3,18 (1H, м), 5,09 (1H, гепт,  $J=6,1$ ), 5,13 (1H, дд,  $J=9,1, 3,4$ ), 7,43 (1H, с);  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 20,00, 21,69 (2С), 21,75, 34,24, 59,20, 70,48, 126,84, 142,71, 168,25; **Оптическое вращение:**  $[\alpha]^{22}_{\text{D}}-31,8^\circ$  (с 0,110,  $\text{CHCl}_3$ ); **ИК** ( $\text{CHCl}_3$ ): 2104 w, 1741 vs, 1675 w, 1644 w, 1551 w, 1465 m, 1388 m, sh, 1376 m, 1209 s, 1182 m, 1147 m, 1106 s,  $\text{cm}^{-1}$ ; **ESI MS:** 196 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ); **HR ESI MS:** вычислено для  $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}_2\text{N}_3$  196,10805; найдено 196,10808.

**ПРИМЕР 5**Оценка DON пролекарства

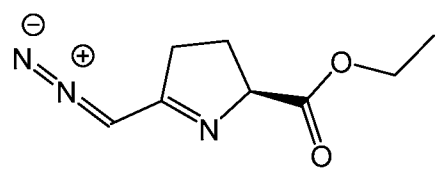
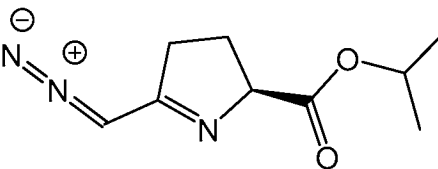
**Обзор.** Настоящее изобретение демонстрирует значительную эффективность DON на мышинных моделях GBM, хотя была отмечена выраженная токсичность. При попытке увеличить терапевтический индекс DON, направленно синтезировали несколько DON пролекарств. Первоначальная стратегия включает блокировку DON карбоновой кислоты простейшими алкиловыми эфирами, такими как этиловый эфир **20** и изопропиловый эфир **3** (фиг.20). Однако соединение **3** и **20** проявили химическую нестабильность циклизации с образованием неспецифического диазоимина. Учитывая эту нестабильность, первичный амин и карбоксилат DON далее блокировали пролекарственными группами. Использовали три типа аминных прогрупп, включая (оксодиоксоленил)метилкарбаматные сложные эфиры (**13** и **36**), дипептиды (**9** и **25**) и пивалоилоксиметилловые (POM) сложные эфиры (**14**, **32** и **42**). Пролекарства, содержащие двойные прогруппы, привели к достаточной химической стабильности, позволяющей проводить дальнейшую оценку

метаболической стабильности в анализах *in vitro*. Хотя все пролекарства проявили быстрый метаболизм в плазме мышей, некоторые обеспечивали отличную стабильность в плазме обезьян и людей. При оценке *in vivo*, самое стабильное DON пролекарство (**5c**, сложный метил-РОМ-DON-изопропиловый эфир) приводило к десятикратному развитию умственных способностей: соотношение плазмы по сравнению с DON у обезьян, таким образом, обеспечивает возможный клинический путь к применению DON пациентами с GBM.

*Химия.* Схема 9 описывает синтез и характеристику сложноэфирного пролекарства на основе соединений 20 и 3 DON и их последующую циклизацию в новые диазоимины **9a-b**. Сложные пироглутаматные эфиры **6a-b** (D'Andrea, et al., 2008) FMOC-защищали, с получением соединений **18** и **1**. Формирование diaзокетонов **19** и **2** выполняли с использованием TMS диазометана с хорошим выходом. Быстрое удаление защиты с пиперидином приводило к получению сложноэфирного пролекарства на основе соединений **20** и **3**. Неожиданно медленная циклизация не обнаруживалась даже в мягких условиях (например, перемешивание в хлороформе при комнатной температуре), приводя к получению новых диазоиминов **9a** и **9b**. Считается, что это является первым примером функциональной группы, описанной в химической литературе. Попытки избежать циклизации соединений 20 и 3 при солеобразовании в протонатный амин привели к нестабильности диазогруппы. Кроме того, в отличие от большинства иминов, 5-членные циклические диазоимины **9a-b** были признаны стабильными, даже при кислом pH, и не преобразовывались обратно в сложные эфиры DON (результаты не показаны).

Таблица 3

## Новые диазоимины

<u><b>9a</b></u>	
<u><b>9b</b></u>	

Учитывая их достаточную химическую стабильность, соединения **20** и **3** использовали в качестве синтетических полупродуктов для получения пролекарств с двойной прогруппой (схемы **8** и **2**). (Оксодиоксоленил)метилкарбаматные аддукты соединений **36** и **13** синтезировали, как представлено на схемах **8** и **2**. 4-(Гидроксиметил)-5-метил-1,3-диоксол-2-он подвергали взаимодействию с S-этилкарбонохлоридотионатом (Keicher, et al., 2009) с последующим взаимодействием с N-гидроксисукцинимидом, с получением соединения **12**. Взаимодействие соединений **20** и **3** с соединением **12** приводило к (оксодиоксоленил)метилкарбаматным сложным эфирам **36** и **13** с превосходным выходом.

На схемах **1**, **4** и **7** изображен синтез дипептидных сложных эфиров DON. Сложные эфиры DON **20** и **3** подвергали сочетанию с Fmoc-L-лейцином или Fmoc-L-триптофаном с использованием HBTU с высоким выходом с образованием защищенных дипептидов **33** и **37** (схема **7**). Удаление защиты с диэтиламина или пиперидина приводило к желаемому лейцин-DON **25** (схема **4**) и **9** (схема **1**) и триптофан-DON пролекарству **34** и **38** (схема **7**).

Как показано на схеме **6**, POM производное **42** синтезировали из соединения **20** с использованием сложного POM-N-гидроксисукцинамидатного эфира (Gallop, et al., 2008) с выходом 40%. Введение метильной группы в POM сложный эфир приводило к образованию метил-POM производного **32** (схема **6**) и **14** (схема **2**), с добавленным хиральным центром. Оба соединения **32** и **14** синтезировали из соединений **20** и **3** с использованием 1-(((2,5-диоксопирролидин-1-ил)окси)карбонил)окси)этилпивалата (Gallop, et al., 2008). Соединение **32** получали в виде смеси двух диастереомеров (1:1 соотношение) с выходом 68%. Соединение **14** также получали в виде диастереомерной смеси в соотношении (1:1), далее очищали в его соответствующие диастереомеры **1** и **2**, среди которых диастереомер **1** использовали для последующего биологического тестирования, как описано ниже.

#### *Результаты и обсуждение*

DON показал надежное ингибирование метаболизма глутамина и противоопухолевую эффективность на мышинных моделях GBM. Несмотря на независимые линии доказательств, свидетельствующих о



потенциальной терапевтической эффективности нацеливания метаболизма глутамина на GBM эффект, пока отсутствуют сообщения о воздействии DON на рост опухоли GBM *in vivo*. С использованием модели бокового ксенотрансплантата GBM на мышах U87 (Eshleman, et al., 2002) было первым подтверждением того, что системное введение DON (0,8 мг/кг, в.б.) тормозит метаболизм глутамина, как отражено в накоплении эндогенного глутамина в опухоли (фиг.21A;  $p < 0,05$ ) аналогично другим системам моделей. (Willis, et al., 1977; Windmueller, et al., 1974). Затем оценивали противоопухолевую эффективность, и было отмечено, что DON не только останавливает рост опухоли, но также эффективно индуцирует регрессию опухоли. В частности, у обработанных носителем мышей проявлялся значительный рост опухоли в течение эксперимента, в то время как у мышей, обработанных DON (0,8 мг/кг, в.б., ежедневно), проявлялось >50% уменьшение объема опухоли (фиг.21B; основное действие во времени [ $F(3,48)=6,049$ ,  $p=0,0014$ ]; обработка [ $F(1,16)=33,42$ ,  $p < 0,0001$ ]; взаимодействие [ $F(3,48)=21,70$ ,  $p < 0,0001$ ]). Хотя DON проявлял отличную противоопухолевую эффективность, у всех мышей, получавших DON, проявлялись существенные признаки токсичности, включая снижение массы (12+4,1%), скрючивание, птоз и летаргия. Эти результаты согласуются с другими докладами об эффективности DON и токсичности как *in vitro*, так и *in vivo*. (Fogal, et al., 2015; Cervantes-Madrid, et al., 2015; Potter, et al., 2015).

Некоторые простые алкилэфирные пролекарства DON обнаруживают нестабильность. Блокировка карбоксилатных и аминных функциональных групп DON усиливает стабильность некоторых пролекарств. Пролекарственная стратегия часто применяется для повышения проницаемости ткани и изменения фармакокинетических параметров эффективных лекарственных средств. Действительно, пролекарственная стратегия является обычным делом при разработке лекарственных средств, так как 5-7% от утвержденных во всем мире препаратов составляют пролекарства (Rautio, et al., 2008). Первоначальная пролекарственная стратегия DON заключается в блокировке карбоновой кислоты легкими алкиловыми эфирами, такими как этиловый соединения **20** и изопропиловый соединения **3**. Синтез

этих двух производных представляет собой простое объединение соединения **20** и **3** с хорошим выходом. Удивительно, что про эти простые алкиловые эфиры DON ранее не сообщалось в химической литературе, учитывая, что химия и применение DON описывалось в многочисленных группах на протяжении более 60 лет (Magill, et al., 1957; Dion, et al., 1956; Magill, et al., 1956; Coffey, et al., 1956). Одной из возможных причин является обнаружение того, что соединения **20** и **3** были нестабильными, медленно циклизующимися с образованием неспецифических диазоиминов **9a** и **9b**. Эти два неспецифических производных считались химически стабильными даже при кислом pH, что исключало их применение в качестве DON пролекарства.

Учитывая нестабильность некоторых простых сложноэфирных пролекарств, первичный аминный и карбоксилатный DON блокировали пролекарственными группами. Такая двойная прогрупповая стратегия была рациональна для устранения потенциальной циклизации и потенциально дальнейшего улучшения липофильности. Использовали три аминные прогруппы, включая (оксодиоксоленил)метилкарбаматные сложные эфиры (фиг.20, соединения **36**, **13**), дипептиды (**25** и **38**) и пивалоилоксиметилловые, основанные на (POM) сложные эфиры (**42**, **32**, **14**). Эти прогруппы были выбраны потому, что они ориентированы на различные метаболические ферменты, включая параоксигеназу, аминопептидазу и карбоксилэстеразу, соответственно. Для придания дальнейшей метаболической стабильности POM производного (таблица 3, соединение **42**), получали соответствующие метил-POM аналоги (**32**, **14**). Все содержащие двойную прогруппу пролекарства проявляли достаточную химическую стабильность для дальнейшей оценки.

Все DON пролекарства быстро метаболизируются в плазме мыши, однако соединения **32** и **14** обнаруживали стабильность в плазме людей и обезьян. В таблице 3 показана стабильность DON пролекарств **36**, **13**, **25**, **9**, **34**, **38**, **42**, **32** и **14** в плазме. Все пролекарства полностью метаболизируются в плазме мыши в течение времени инкубации 60 мин. Однако в плазме обезьян и человека, пролекарства **32** и **14** с метил-POM на амине и этиловом или изопропиловом эфире карбоксилата, соответственно,

продемонстрировали средний/высокий уровень стабильности у 60–75% пролекарств, оставшихся в плазме обезьян, и 80–90% оставшихся в плазме крови человека за время инкубации 60 мин. Учитывая лучшую стабильность профиля в плазме крови человека соединения 14, оно было выбрано для дальнейшей оценки в фармакокинетических исследованиях и сравнения с DON по его способности проникновения в мозг и выделения DON.

Таблица 4

Соединение #	Стабильность в плазме		
	Мыши	Обезьяны	Люди
36	0	0	0
13	0	0	0
25	0	1	1
9	0	1	1
34	0	4	12
38	0	10	30
42	0	0	9
32	0	75	88
14	0	61	91

Пролекарство **14** приводит к усилению доставки DON в мозг обезьян, но не мышей.

Как и ожидалось, DON пролекарство, которое полностью метаболизируется в плазме мыши, обнаруживает, что при пероральном введении DON (1) (0,8 мг/кг) и соединения 14 (0,8 мг/кг эквивалент) обнаруживаются аналогичные профили концентрации DON в плазме (фиг.22А) и мозге (фиг.22В), при дозировании мышей.  $AUC_{0-t}$  DON после введения DON и соединения 14 в плазму составляла 1,25 нмоль\*ч/мл и 1,22 нмоль\*ч/мл, соответственно, предлагая быстрое и полное высвобождение DON из соединения 14 *in vivo*. Аналогичным образом, в мозгу мыши  $AUC_{0-t}$  DON после введения DON или соединения 14 составляла 0,57 нмоль\*ч/г и 0,69 нмоль\*ч/г, соответственно, с соотношением мозг/плазма примерно 0,46 от DON против 0,56 пролекарства 14. Результаты фармакокинетических исследований, подтвержденные *in vitro* исследованиями метаболизма, предлагаемое соединение 14 было полностью преобразовано в DON в плазме мыши.

После исследований на мышах, фармакокинетику DON и соединения **14a** оценивали на обезьянах, так как у обезьян лучше имитируется профиль стабильности с плазмой человека. У хвостатых

макак при в.в. введении DON и соединения **14** (1,6 мг/кг DON эквивалент) продемонстрировано значительное различие профилей DON в плазме (фиг.23А). Введение DON обеспечивало высокое воздействие на плазму с  $AUC_{0-t}$  42,7 нмоль\*ч/мл. В противоположность этому, введение соединения **14** доставляло примерно 7-кратное снижение воздействия DON на плазму с  $AUC_{0-t}$  5,71 нмоль\*ч/мл. Противоположные наблюдения в спинномозговой жидкости показали повышенные уровни DON после введения соединения **14**. В спинномозговой жидкости на 30 мин постдозирования введение DON приводило к доставке 0,33 нмоль/г DON, в то время как соединение 14 доставляло 1,43 нмоль/г DON. При сравнении плазмы с соотношением спинномозговой жидкости за 30 мин, соединение 14 продемонстрировало 10-кратное повышение доставки DON в спинномозговую жидкость по сравнению с DON (фиг.23В).

Антагонист глутамин 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин (DON, **1**) показывает надежную противораковую эффективность в доклинических и клинических исследованиях, но его разработка была приостановлена из-за заметной системной токсичности. В данном описании было продемонстрировано, что DON ингибирует метаболизм глутамин и проявляет противораковую эффективность на мышинной модели глиобластомы, не обнаруживая при этом токсичности. Для повышения терапевтического индекса DON, использовали пролекарственную стратегию для увеличения его доставки в головной мозг и ограничения системного воздействия. Неожиданно было обнаружено, что простое алкилсложноэфирное пролекарство было неэффективно из-за химической нестабильности циклизации с образованием неспецифического диазоимина. Однако блокировка аминных и карбоксилатных функциональных групп DON придавала достаточную химическую стабильность для биологического тестирования. Хотя эти общие двойные пролекарственные группы проявляли быстрый метаболизм в плазме мыши, некоторые из них обеспечивали отличную стабильность в плазме обезьян и крови человека. Наиболее стабильное соединение (14, метил-РОМ-DON изопропиловый сложный эфир) является весьма стабильным в плазме обезьяны, человека, свиньи и собаки, но быстро метаболизируется

в плазме мышей. При оценке эквимоллярного дозирования обезьян, соединение 14 поставляет низкие уровни DON в плазму, но повышенные уровни в спинномозговую жидкость, достигая 10-кратного повышения соотношения мозг:плазма по сравнению с DON. Такая стратегия может обеспечивать путь к использованию DON пациентами с GBM.

#### Ссылки

Все публикации, патентные заявки, патенты и другие ссылки, представленные в данном описании, являются показателем уровня специалиста в данной области, к которой настоящее изобретение относится. Все публикации, патентные заявки, патенты и другие ссылки, представленные в данном описании, включены посредством ссылки в той же степени, как будто каждая отдельная публикация, патентная заявка, патент и другие ссылки были специально и индивидуально включены посредством ссылки. Следует понимать, хотя число патентных заявок, патентов и других ссылок, приведенных в данном описании, что такая ссылка не является признанием того, что любой из этих документов является частью общих знаний в данной области техники. В случае конфликта между данным описанием и включенными ссылками, настоящее описание (включая любые его изменения, которые могут быть основаны на включенных ссылках) будет контрольным. В данном описании используются стандартные приемлемые в данной области термины, если не указано иное. В данном описании используются стандартные аббревиатуры для различных терминов.

Ahluwalia, G. S.; Grem, J. L.; Hao, Z.; Cooney, D. A. Metabolism and action of amino acid analog anti-cancer agents. *Pharmacol Ther* **1990**, *46*, 243-271.

Alt, J.; Potter, M. C.; Rojas, C.; Slusher, B. S. Bioanalysis of 6-diazo-5-oxo-l-norleucine in plasma and brain by ultra-performance liquid chromatography mass spectrometry. *Anal Biochem* **2015**, *474*, 28-34.

Barclay, R. K.; Phillipps, M. A. Effects of 6-diazo-5-oxol-norleucine and other tumor inhibitors on the biosynthesis of nicotinamide adenine dinucleotide in mice. *Cancer Res* **1966**, *26*, 282-286.

Cervantes-Madrid, D.; Romero, Y.; Duenas-Gonzalez, A. Reviving Lonidamine and 6-Diazo-5-oxo-L-norleucine to Be Used in Combination for Metabolic Cancer Therapy. *Biomed Res Int* **2015**, *2015*, 690492.

Coffey, G. L.; Ehrlich, J.; Fisher, M. W.; Hillegas, A. B.; Kohberger, D. L.; Machamer, H. E.; Rightsel, W. A.; Roegner, F. R. 6-Diazo-5-oxo-L-norleucine, a new tumor-inhibitory substance. I. Biologic studies. *Antibiot Chemother (Northfield)* **1956**, *6*, 487-497.

D'Andrea, S.; Zheng, Z.; Scola, P. Inhibitors of Hepatitis C Virus. In Google Patents: 2008.

Dion, H. W.; Fusari, S. A.; Jakubowski, Z. L.; Zora, J. G.; Bartz, Q. R. 6-Diazo-5-oxo-L-norleucine, A New Tumor-inhibitory Substance. II.1 Isolation and Characterization. *J. Am. Chem. Soc.*, **1956**, *78*, 3075-3077.

Dranoff, G.; Elion, G. B.; Friedman, H. S.; Bigner, D. D. Combination chemotherapy in vitro exploiting glutamine metabolism of human glioma and medulloblastoma. *Cancer Res* **1985**, *45*, 4082-4086.

Dranoff, G.; Elion, G. B.; Friedman, H. S.; Campbell, G. L.; Bigner, D. D. Influence of glutamine on the growth of human glioma and medulloblastoma in culture. *Cancer Res* **1985**, *45*, 4077-4081.

Eagan, R. T.; Frytak, S.; Nichols, W. C.; Creagan, E. T.; Ingle, J. N. Phase II study on DON in patients with previously treated advanced lung cancer. *Cancer Treat Rep* **1982**, *66*, 1665-1666.

Earhart, R. H.; Amato, D. J.; Chang, A. Y.; Borden, E. C.; Shiraki, M.; Dowd, M. E.; Comis, R. L.; Davis, T. E.; Smith, T. J. Phase II trial of 6-diazo-5-oxo-L-norleucine versus aclacinomycin-A in advanced sarcomas and mesotheliomas. *Invest New Drugs* **1990**, *8*, 113-119.

Earhart, R. H.; Koeller, J. M.; Davis, H. L. Phase I trial of 6-diazo-5-oxo-L-norleucine (DON) administered by 5-day courses. *Cancer Treat Rep* **1982**, *66*, 1215-1217.

Erickson, J. W.; Cerione, R. A. Glutaminase: a hot spot for

regulation of cancer cell metabolism? *Oncotarget* **2010**, *1*, 734-740.

Eshleman, J. S.; Carlson, B. L.; Mladek, A. C.; Kastner, B. D.; Shide, K. L.; Sarkaria, J. N. Inhibition of the mammalian target of rapamycin sensitizes U87 xenografts to fractionated radiation therapy. *Cancer Res* **2002**, *62*, 7291-7297.

Fogal, V.; Babic, I.; Chao, Y.; Pastorino, S.; Mukthavaram, R.; Jiang, P.; Cho, Y. J.; Pingle, S. C.; Crawford, J. R.; Piccioni, D. E.; Kesari, S. Mitochondrial p32 is upregulated in Myc expressing brain cancers and mediates glutamine addiction. *Oncotarget* **2015**, *6*, 1157-1170.

Gallop, M. A.; Xu, F.; Phan, T.; Dilip, U.; Peng, G. Acyloxyalkyl carbamate prodrugs, methods of synthesis and use. In Google Patents: 2008.

Grayzel, A. I.; Seegmiller, J. E.; Love, E. Suppression of uric acid synthesis in the gouty human by the use of 6-diazo-5-oxo-L-norleucine. *J Clin Invest* **1960**, *39*, 447-454.

Gross, M. I.; Demo, S. D.; Dennison, J. B.; Chen, L.; Chernov-Rogan, T.; Goyal, B.; Janes, J. R.; Laidig, G. J.; Lewis, E. R.; Li, J.; MacKinnon, A. L.; Parlatti, F.; Rodriguez, M. L. M.; Shwonek, P. J.; Sjogren, E. B.; Stanton, T. F.; Wang, T.; Yang, J.; Zhao, F. Y.; Bennett, M. K. Antitumor Activity of the Glutaminase Inhibitor CB-839 in Triple-Negative Breast Cancer. *Mol Cancer Ther* **2014**.

Harding, J. J. T., M.L.; Munster, P.N.; Le, M.H.; Molineaux, C.; Bennett, M.K.; Mittra, E.; Burris, H.A.; Clark, A.S.; Dunphy, M.; Meric-Bernstam, F.; Patel, M.R.; DeMichele, A.; Infante, J.R. Safety and tolerability of increasing doses of CB-839, a first-in-class, orally administered small molecule inhibitor of glutaminase, in solid tumors. *J Clin Oncol* **2015**.

Hensley, C. T.; Wasti, A. T.; DeBerardinis, R. J. Glutamine and cancer: cell biology, physiology, and clinical opportunities. *J Clin Invest* **2013**, *123*, 3678-3684.

Hofer, A.; Steverding, D.; Chabes, A.; Brun, R.; Thelander, L. Trypanosoma brucei CTP synthetase: a target for the treatment of African sleeping sickness. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2001**, *98*,

6412-6416.

Hu, X.; Stern, H. M.; Ge, L.; O'Brien, C.; Haydu, L.; Honchell, C. D.; Haverty, P. M.; Peters, B. A.; Wu, T. D.; Amler, L. C.; Chant, J.; Stokoe, D.; Lackner, M. R.; Cavet, G. Genetic alterations and oncogenic pathways associated with breast cancer subtypes. *Mol Cancer Res* **2009**, *7*, 511-522.

Keicher, J. D.; Roberts, C. D.; Rajwanshi, V. K.; Griffith, R. C.; Zheng, X.; Liehr, S. J. R.; Prhavic, M.; Kim, C. U.; Ray, A. S. Amino tricyclic-nucleoside compounds, compositions, and methods of use. In Google Patents: 2009.

Konopleva, M. Y.; Flinn, I. W.; Wang, E.; DiNardo, C. D.; Bennett, M.; Molineaux, C.; Le, M.; Maris, M.; Frankfurt, O. In *Phase 1 study: Safety and tolerability of increasing doses of cb-839, an orally-administered small molecule inhibitor of glutaminase, in acute leukemia*, Haematologica, 2015; Ferrata Storti Foundation Via Giuseppe Belli 4, 27100 Pavia, Italy: 2015; pp 378-379.

Le, A.; Lane, A. N.; Hamaker, M.; Bose, S.; Gouw, A.; Barbi, J.; Tsukamoto, T.; Rojas, C. J.; Slusher, B. S.; Zhang, H.; Zimmerman, L. J.; Liebler, D. C.; Slebos, R. J.; Lorkiewicz, P. K.; Higashi, R. M.; Fan, T. W.; Dang, C. V. Glucose-independent glutamine metabolism via TCA cycling for proliferation and survival in B cells. *Cell Metab* **2012**, *15*, 110-121.

Lee, Y. Z.; Yang, C. W.; Chang, H. Y.; Hsu, H. Y.; Chen, I. S.; Chang, H. S.; Lee, C. H.; Lee, J. C.; Kumar, C. R.; Qiu, Y. Q.; Chao, Y. S.; Lee, S. J. Discovery of selective inhibitors of Glutaminase-2, which inhibit mTORC1, activate autophagy and inhibit proliferation in cancer cells. *Oncotarget* **2014**, *5*, 6087-6101.

Lynch, G.; Kemeny, N.; Casper, E. Phase II evaluation of DON (6-diazo-5-oxo-L-norleucine) in patients with advanced colorectal carcinoma. *Am J Clin Oncol* **1982**, *5*, 541-543. Magill, G. B.; Myers, W. P. Alterations in calcium metabolism in cancer patients treated with 6-diazo-5-oxo-L-norleucine. *Proc Soc Exp Biol Med* **1956**, *93*, 314-318.



Magill, G. B.; Myers, W. P.; Reilly, H. C.; Putnam, R. C.; Magill, J. W.; Sykes, M. P.; Escher, G. C.; Karnofsky, D. A.; Burchenal, J. H. Pharmacological and initial therapeutic observations on 6-diazo-5-oxo-L-norleucine (DON) in human neoplastic disease. *Cancer* **1957**, *10*, 1138-1150.

McDermott, L. A.; Iyer, P.; Verneti, L.; Rimer, S.; Sun, J.; Boby, M.; Yang, T.; Fioravanti, M.; O'Neill, J.; Wang, L.; Drakes, D.; Katt, W.; Huang, Q.; Cerione, R. Design and evaluation of novel glutaminase inhibitors. *Bioorg Med Chem* **2016**, *24*, 1819-1839.

Ostrom, Q. T.; Gittleman, H.; Fulop, J.; Liu, M.; Blanda, R.; Kromer, C.; Wolinsky, Y.; Kruchko, C.; Barnholtz-Sloan, J. S. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2008-2012. *Neuro Oncol* **2015**, *17 Suppl 4*, iv1-iv62.

Potter, M. C.; Baxter, V. K.; Mathey, R. W.; Alt, J.; Rojas, C.; Griffin, D. E.; Slusher, B. S. Neurological sequelae induced by alphavirus infection of the CNS are attenuated by treatment with the glutamine antagonist 6-diazo-5-oxo-L-norleucine. *J Neurovirol* **2015**, *21*, 159-173.

Rahman, A.; Smith, F. P.; Luc, P. T.; Woolley, P. V. Phase I study and clinical pharmacology of 6-diazo-5-oxo-L-norleucine (DON). *Invest New Drugs* **1985**, *3*, 369-374.

Rautio, J.; Kumpulainen, H.; Heimbach, T.; Oliyai, R.; Oh, D.; Jarvinen, T.; Savolainen, J. Prodrugs: design and clinical applications. *Nat Rev Drug Discov* **2008**, *7*, 255-270.

Ru, P.; Williams, T. M.; Chakravarti, A.; Guo, D. Tumor metabolism of malignant gliomas. *Cancers (Basel)* **2013**, *5*, 1469-1484.

Schulze, A.; Harris, A. L. How cancer metabolism is tuned for proliferation and vulnerable to disruption. *Nature* **2012**, *491*, 364-373.

Shukla, K.; Ferraris, D. V.; Thomas, A. G.; Stathis, M.; Duvall, B.; Delahanty, G.; Alt, J.; Rais, R.; Rojas, C.; Gao, P.; Xiang, Y.; Dang, C. V.; Slusher, B. S.; Tsukamoto, T. Design, synthesis, and pharmacological evaluation of bis-2-(5-

phenylacetamido-1,2,4-thiadiazol-2-yl)ethyl sulfide 3 (BPTES) analogs as glutaminase inhibitors. *J Med Chem* **2012**, *55*, 10551-10563.

Sklaroff, R. B.; Casper, E. S.; Magill, G. B.; Young, C. W. Phase I study of 6-diazo-5-oxo-L-norleucine (DON). *Cancer Treat Rep* **1980**, *64*, 1247-1251.

Stupp, R.; Hegi, M. E.; Mason, W. P.; van den Bent, M. J.; Taphoorn, M. J.; Janzer, R. C.;

Ludwin, S. K.; Allgeier, A.; Fisher, B.; Belanger, K.; Hau, P.; Brandes, A. A.; Gijtenbeek, J.; Marosi, C.; Vecht, C. J.; Mokhtari, K.; Wesseling, P.; Villa, S.; Eisenhauer, E.; Gorlia, T.; Weller, M.; Lacombe, D.; Cairncross, J. G.; Mirimanoff, R. O. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol* **2009**, *10*, 459-466.

Stupp, R.; Mason, W. P.; van den Bent, M. J.; Weller, M.; Fisher, B.; Taphoorn, M. J.; Belanger, K.; Brandes, A. A.; Marosi, C.; Bogdahn, U.; Curschmann, J.; Janzer, R. C.; Ludwin, S. K.; Gorlia, T.; Allgeier, A.; Lacombe, D.; Cairncross, J. G.; Eisenhauer, E.; Mirimanoff, R. O. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* **2005**, *352*, 987-996.

Sullivan, M. P.; Beatty, E. C., Jr.; Hyman, C. B.; Murphy, M. L.; Pierce, M. I.; Severo, N. C. A comparison of the effectiveness of standard dose 6-mercaptopurine, combination 6-mercaptopurine and DON, and high-loading 6-mercaptopurine therapies in treatment of the acute leukemias of childhood: results of a cooperative study. *Cancer Chemother Rep* **1962**, *18*, 83-95.

Sullivan, M. P.; Nelson, J. A.; Feldman, S.; Van Nguyen, B. Pharmacokinetic and phase I study of intravenous DON (6-diazo-5-oxo-L-norleucine) in children. *Cancer Chemother Pharmacol* **1988**, *21*, 78-84.

Tanaka, K.; Sasayama, T.; Irino, Y.; Takata, K.; Nagashima, H.; Satoh, N.; Kyotani, K.; Mizowaki, T.; Imahori, T.; Ejima,

Y.; Masui, K.; Gini, B.; Yang, H.; Hosoda, K.; Sasaki, R.; Mischel, P. S.; Kohmura, E. Compensatory glutamine metabolism promotes glioblastoma resistance to mTOR inhibitor treatment. *J Clin Invest* **2015**, *125*, 1591-1602.

Thangavelu, K.; Chong, Q. Y.; Low, B. C.; Sivaraman, J. Structural basis for the active site inhibition mechanism of human kidney-type glutaminase (KGA). *Sci Rep* **2014**, *4*, 3827.

Upadhyay, R. K. Drug delivery systems, CNS protection, and the blood brain barrier. *Biomed Res Int* **2014**, *2014*, 869269.

Weller, M.; van den Bent, M.; Hopkins, K.; Tonn, J. C.; Stupp, R.; Falini, A.; Cohen-Jonathan-Moyal, E.; Frappaz, D.; Henriksson, R.; Balana, C.; Chinot, O.; Ram, Z.; Reifenberger, G.; Soffietti, R.; Wick, W. EANO guideline for the diagnosis and treatment of anaplastic gliomas and glioblastoma. *Lancet Oncol* **2014**, *15*, e395-403.

Willis, R. C.; Seegmiller, J. E. The inhibition by 6-diazo-5-oxo-l-norleucine of glutamine catabolism of the cultured human lymphoblast. *J Cell Physiol* **1977**, *93*, 375-382.

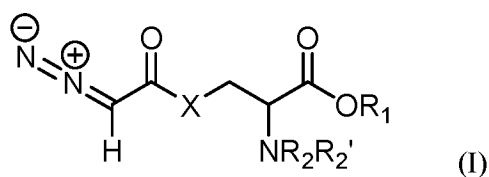
Windmueller, H. G.; Spaeth, A. E. Uptake and metabolism of plasma glutamine by the small intestine. *J Biol Chem* **1974**, *249*, 5070-5079.

Wise, D. R.; Thompson, C. B. Glutamine addiction: a new therapeutic target in cancer. *Trends Biochem Sci* **2010**, *35*, 427-433.

Хотя представленное выше изобретение было описано в некоторых деталях путем иллюстрации и примеров с целью ясности понимания, специалисту в данной области техники будет понятно, что возможны некоторые изменения и модификации в объеме прилагаемой формулы изобретения.

### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Пролекарство аналога глутамина или его фармацевтически приемлемая соль или его сложный эфир, имеющее структурную формулу (I):



где

X выбран из группы, состоящей из связи, -O- и -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-, где n равен целому числу, выбранному из группы, состоящей из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 и 8;

R<sub>1</sub> выбран из группы, состоящей из H и первой формирующей пролекарство группы, способной образовывать соль или сложный эфир; и

R<sub>2</sub> представляет собой H и вторую формирующую пролекарство группу, способную образовывать амидную связь, карбаматную связь, фосфоамидатную связь или фосфоамидатную связь с азотом, смежным с R<sub>2</sub>;

R<sub>2</sub>' выбран из группы, состоящей из H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкила, замещенного C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>алкила, или

R<sub>2</sub> и R<sub>2</sub>', вместе образуют кольцевую структуру, содержащую -C(=O)-G-C(=O)-, где G выбран из группы, состоящей из C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>алкилена, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>гетероалкилена, C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub>циклоалкилена, C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>арилена, C<sub>5</sub>-C<sub>14</sub>гетероарилена, двухвалентного C<sub>4</sub>-C<sub>10</sub>гетероцикла, каждый из которых необязательно замещен; или

R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub>', вместе образуют 4-6-членное гетероциклическое кольцо, содержащее атом кислорода, смежный с R<sub>1</sub>, и атом азота, смежный с R<sub>2</sub>';

при условии, что данное соединение имеет по меньшей мере одну формирующую пролекарство группу, выбранную из группы, состоящей из первой и второй формирующих пролекарство групп.

2. Пролекарство по п.1, где X представляет собой -CH<sub>2</sub>-.

3. Пролекарство по п.1, где X представляет собой -O-.

4. Пролекарство по п.1, где аналог глутамина представляет собой антагонист глутамина, выбранный из группы, состоящей из 6-

диазо-5-оксо-норлейцина (DON), 5-диазо-4-оксо-L-норвалина (L-DONV) и азасерина.

5. Пролекарство по п.1, где  $R_1$  включает в себя остаток  $PRO_1$  формирующей пролекарство группы, которая вместе с:

(i) основной группой и концевой гидроксильной группой образует соль;

(ii) алкильной группой и кислородом смежной гидроксильной группы образует сложный эфир; или

(iii) алкильной группой и атомом азота, присоединяющего  $R_2'$ , формирует азлактон или оксазолидон.

6. Пролекарство по п.1, где  $R_1$  выбран из группы, состоящей из H, алкила, замещенного алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, три(гидрокарбил) аммония и тетра(гидрокарбил) аммония.

7. Пролекарство по п.6, где  $R_1$  выбран из группы, состоящей из  $C_{1-6}$  неразветвленного алкила, замещенного  $C_{1-6}$  неразветвленного алкила,  $C_{1-6}$  разветвленного алкила, замещенного  $C_{1-6}$  разветвленного алкила, три( $C_1-C_8$ алкил) аммония, тетра( $C_1-C_8$ алкил) аммония, трифениламмония, три(гидрокси- $C_1-C_8$ алкил) аммония и тетра(гидрокси- $C_1-C_8$ алкил) аммония.

8. Пролекарство по п.1, где  $R_1$  выбран из группы, состоящей из метила, этила, изопропила, циклопентила, циклогексила, триметиламмония, триэтиламмония, три(гидроксиэтил) аммония, трипропиламмония и три(гидроксипропил) аммония.

9. Пролекарство по п.1, где  $R_2$  включает в себя остаток  $PRO_2$  второй формирующей пролекарство группы, которая содержит карбонильную, оксикарбонильную или фосфонильную группу, где карбонильная, оксикарбонильная или фосфонильная группа связана с азотом смежной  $NR_2'$  с образованием амидной, карбаматной, фосфоамидатной или фосфородиамидатной связи.

10. Пролекарство по п.9, где  $PRO_2$  включает в себя группу, выбранную из группы, состоящей из аминокислоты, N-замещенной аминокислоты, пептида, замещенного пептида, моноциклического кольца, замещенного моноциклического кольца, бициклического

кольца, замещенного бициклического кольца, пурин-нуклеозида, замещенного пурин-нуклеозида, пиримидин-нуклеозида замещенного пиримидин-нуклеозида.

11. Пролекарство по п.1, где  $R_2$  выбран из группы, состоящей из H, алкила,  $-C(=O)-Ar$ ,  $-C(=O)-Y-(CR_3R_4)_m-Ar$ ,  $-C(=O)-Y-(CR_3R_4)_m-NR_5R_6$ ,  $-P(=O)(OR_7)_n(NHR_9)_o$ ,  $-C(=O)-Y-(CR_3R_4)_m-Ar-O-C(=O)-R_8$ ,  $-C(=O)-Y-(CR_3R_4)_m-Ar-O-R_8$ ,  $-C(=O)-O-(CR_3R_4)_m-O-C(=O)-R_{10}$ ,  $-C(=O)-O-R_9$ ,  $-C(=O)-Y-(CR_3R_4)_m-Ar-O-C(=O)-Ar$  и  $-C(=O)-Y-(CR_3R_4)_m-Ar-NR_5R_6$ ;

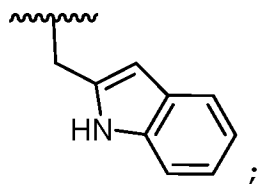
где

Y представляет собой  $-O-$  или связь;

m равен целому числу, выбранному из группы, состоящей из 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 и 8;

каждый n и o равен целому числу от 0 до 2, при условии, что сумма n и o равна 2;

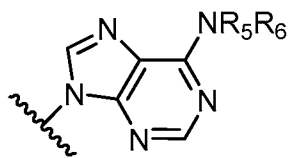
каждый  $R_3$  и  $R_4$  независимо представляет собой H,  $C_1-C_6$ алкил или замещенный  $C_1-C_6$ алкил, арил или замещенный арил,  $-(CR_3R_4)_m-$



$NR_5R_6$  или

каждый  $R_5$  и  $R_6$  независимо представляет собой H, алкил,  $-C(=O)-(CR_3R_4)_m$ ,  $-C(=O)-(NR_5R_6)$  или  $-C(=O)-(CR_3R_4)_m-NR_5R_6$ ;

каждый  $R_7$  независимо выбран из группы, состоящей из H, алкила, замещенного алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, гетероциклила, замещенного гетероциклила, алкенила, замещенного алкенила, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила,  $-(CR_3R_4)_m-Z$ ,  $-(CR_3R_4)_m-Q-Z$ , где Q представляет собой моносахарид, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, и где

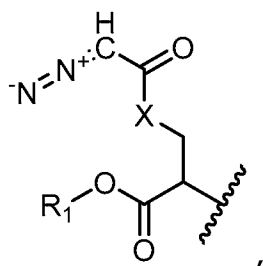


Z представляет собой

или где  $R_7$ , вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, формирует пурин- или пиримидин-нуклеозид;

каждый  $R_9$  независимо выбран из группы, состоящей из H, алкила, замещенного алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, гетероциклила, замещенного гетероциклила, алкенила,

замещенного алкенила, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила,  $-(CR_3R_4)_m-Z$ , арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного



гетероарила и

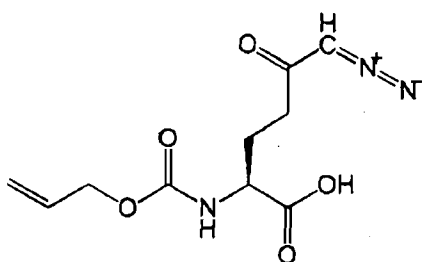
где  $R_1$  и  $X$  являются такими, как определено в п.1, при условии, что  $R_1$  не является H,

каждый  $R_8$  независимо представляет собой алкил, замещенный алкил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, моносахарид, ацилированный моносахарид, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил;

каждый  $R_{10}$  независимо представляет собой алкил, замещенный алкил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, моносахарид, ацилированный моносахарид, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил; и

$Ar$  представляет собой арил, замещенный арил, гетероарил или замещенный гетероарил.

12. Пролекарство по п.11, где соединение формулы (I) представляет собой



13. Пролекарство по п.11, где  $R_2$  представляет собой  $-C(=O)-Y-(CR_3R_4)_m-NR_5R_6$ ;

где

(i)  $Y$  представляет собой связь;

$m$  равен 1;

$R_5$  и  $R_6$ , каждый представляет собой H; или

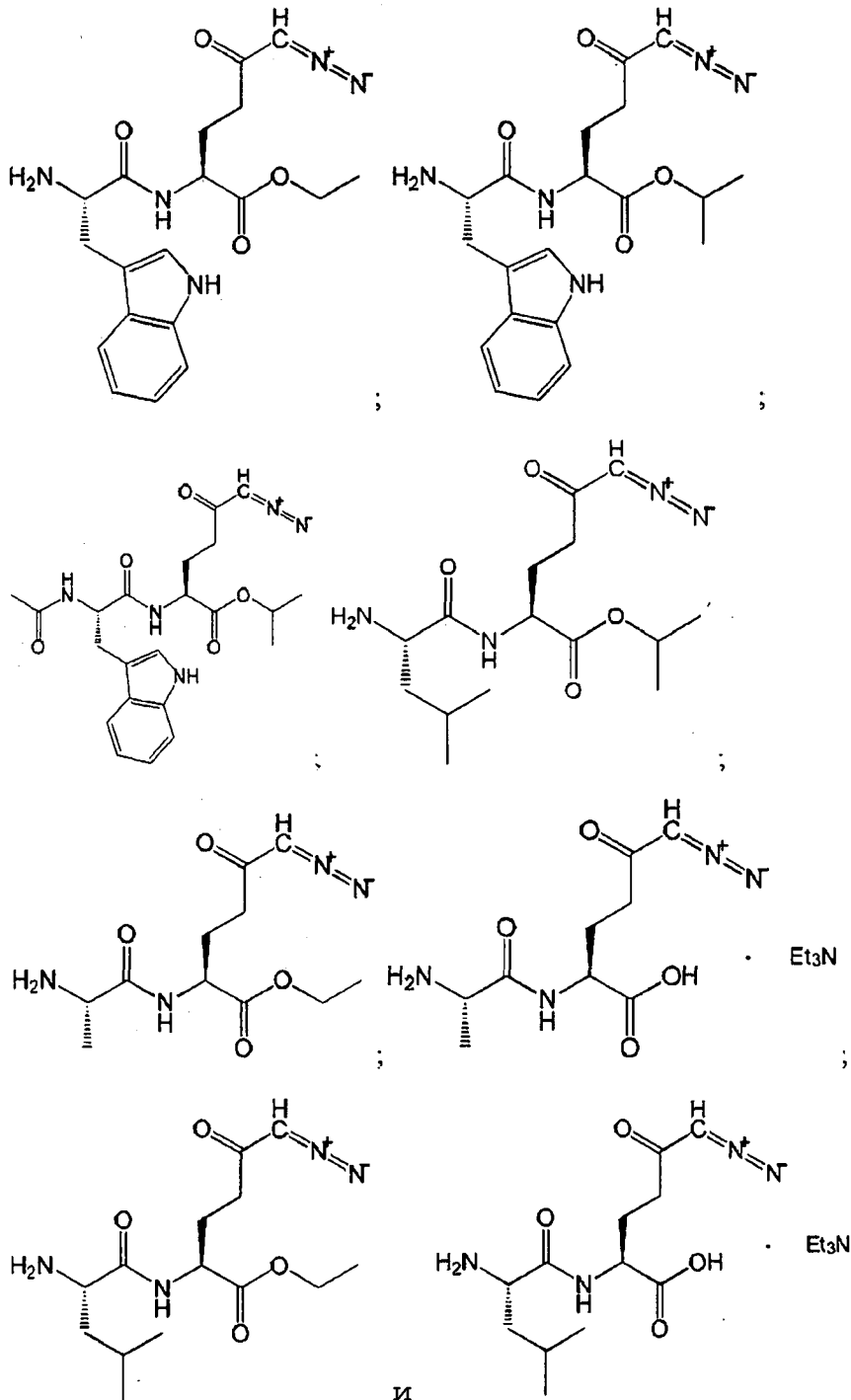
(ii)  $Y$  представляет собой связь;

$m$  равен 1;

$R_5$  представляет собой H;

$R_6$  представляет собой  $-C(=O)-(CR_3R_4)_m$ .

14. Пролекарство по п.13, где соединение формулы (I) выбрано из группы, состоящей из:



15. Пролекарство по п.11, где  $R_2$  представляет собой  $-P(=O)(OR_7)_n(NHR_9)_o$ ;

где

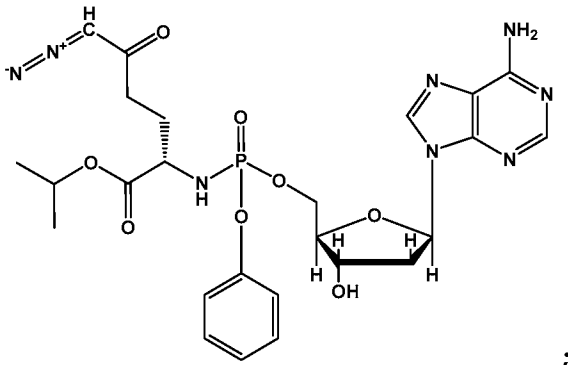
$n$  равен 2, и  $o$  равен 0;

$n$  равен 1, и  $o$  равен 1; или

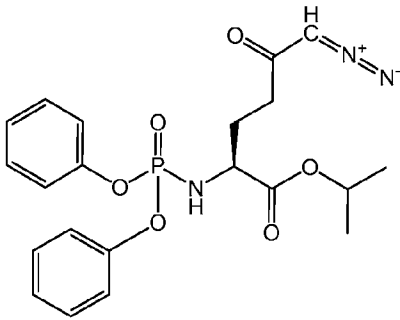
$n$  равен 0, и  $o$  равен 2.



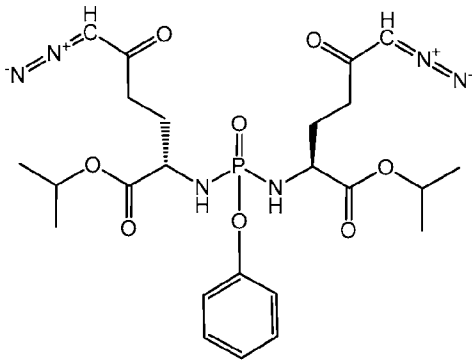
16. Пролекарство по п.15, где соединение формулы (I) выбрано из группы, состоящей из:



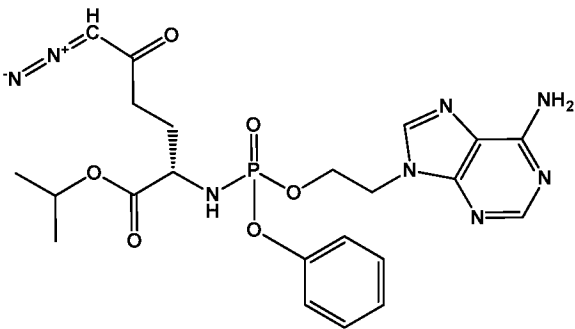
;



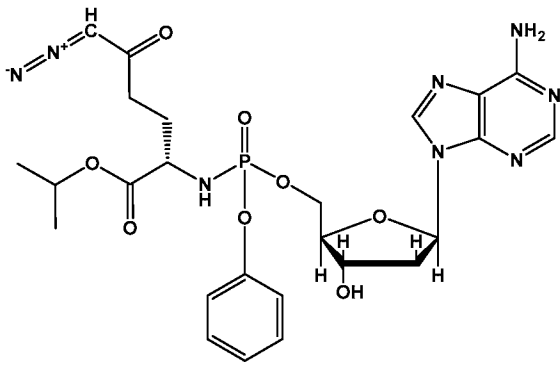
;



;



И



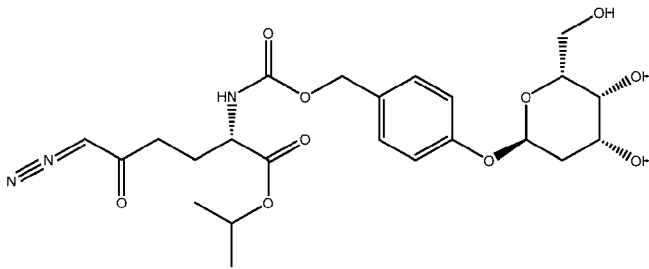
17. Пролекарство по п.11, где  $R_2$  представляет собой  $-C(=O)-Y-(CR_3R_4)_m-Ar-O-C(=O)-R_8$  или  $-C(=O)-Y-(CR_3R_4)_m-Ar-O-R_8$ ; и

$Y$  представляет собой  $-O-$ ;

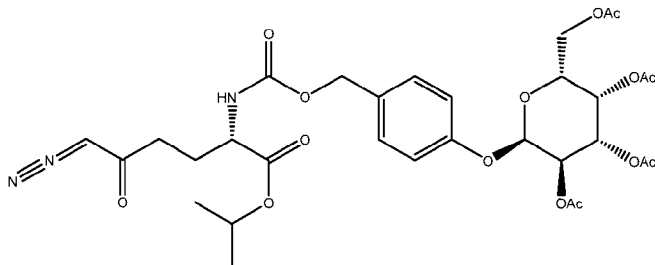
$m$  равен 0; и

$Ar$  представляет собой бензил.

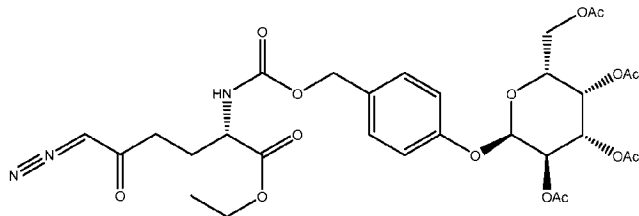
18. Пролекарство по п.17, где соединение формулы (I) выбрано из группы, состоящей из:



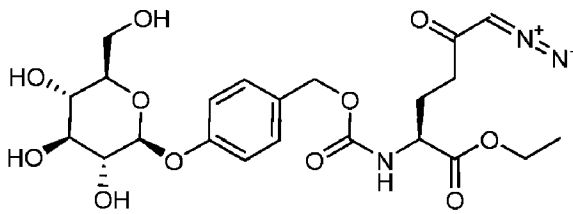
;



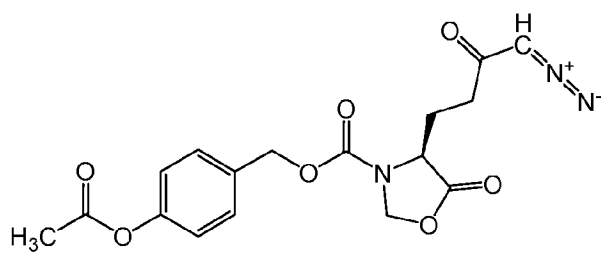
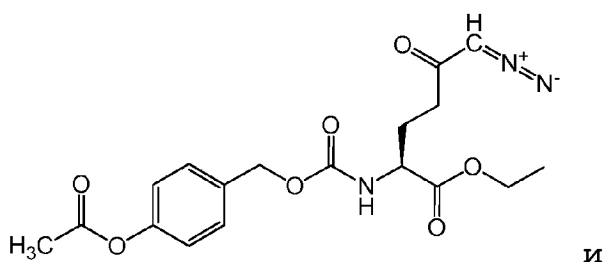
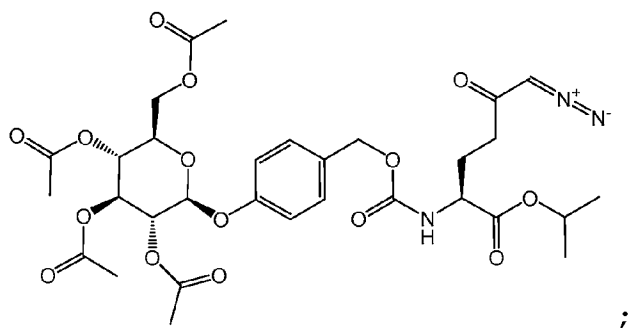
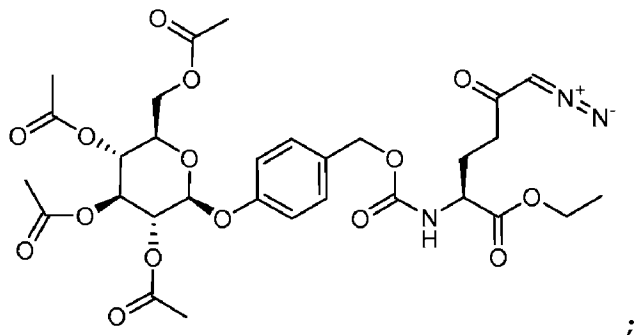
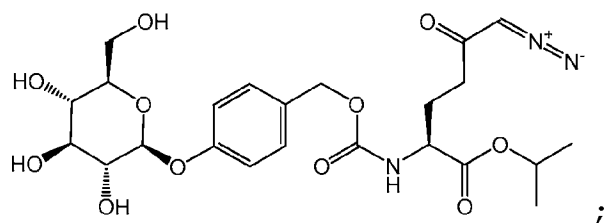
;



;



;



19. Пролекарство по п.11, где  $R_2$  представляет собой  $-C(=O)-O-(CR_3R_4)_m-O-C(=O)-R_{10}$ ;

где

(i)  $m$  равен 1;

$R_3$  представляет собой H; и

$R_4$  представляет собой метил, изо-Pr или арил;

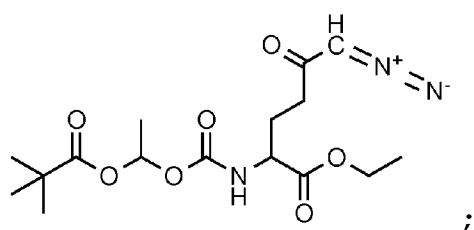
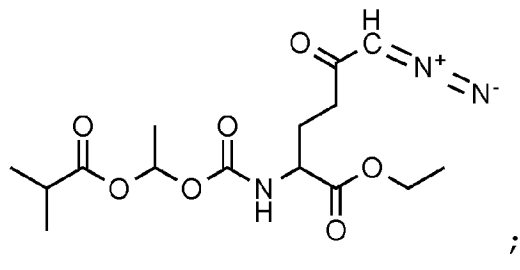
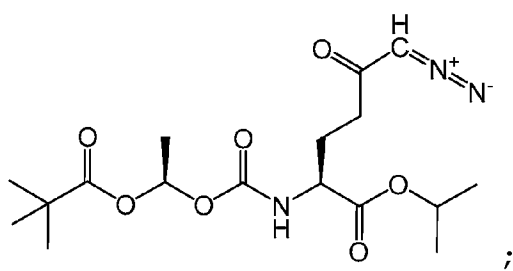
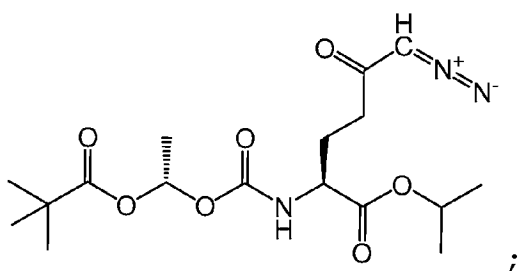
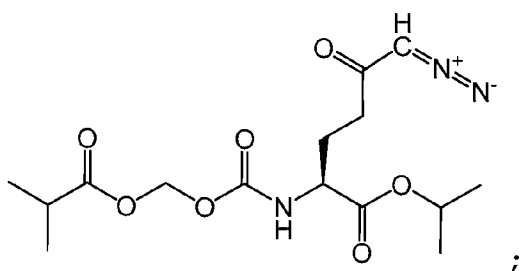
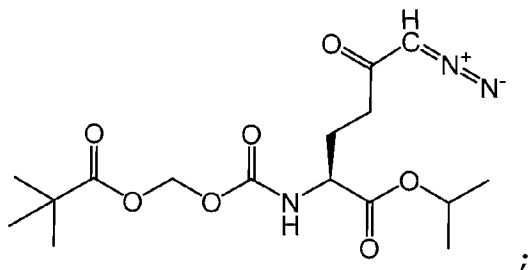
(ii)  $m$  равен 1;

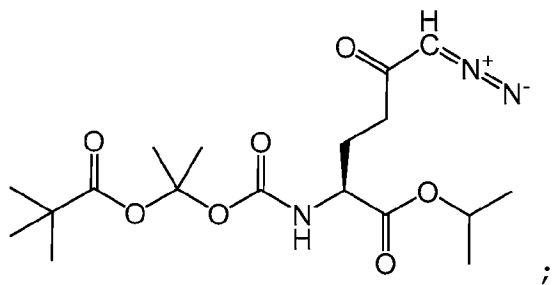
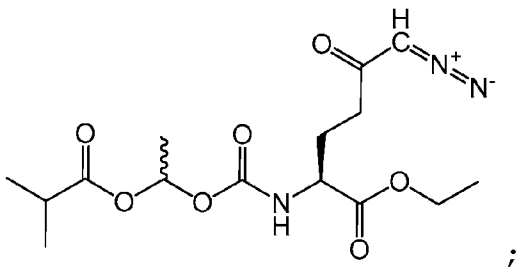
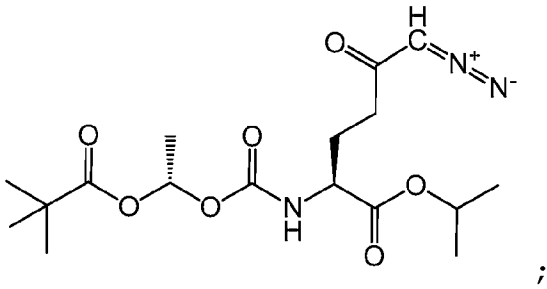
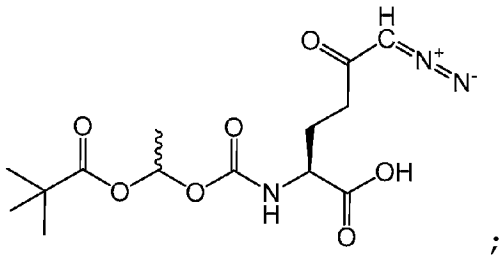
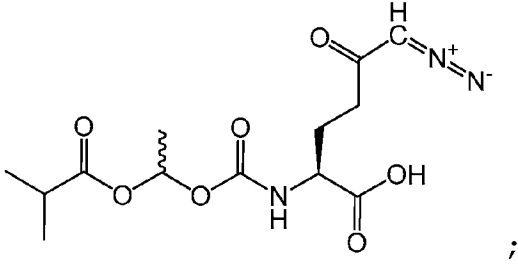
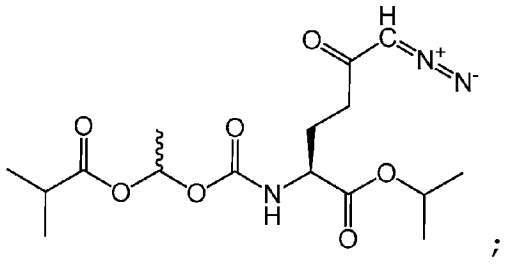
$R_3$  и  $R_4$ , каждый представляет собой H; или

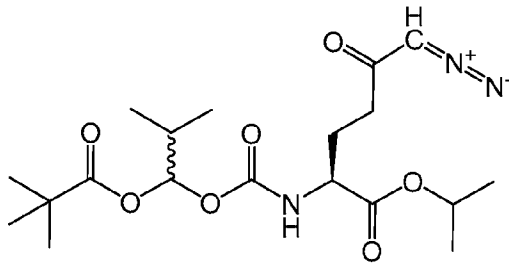
(iii)  $m$  равен 1;

$R_3$  и  $R_4$ , каждый представляет собой метил.

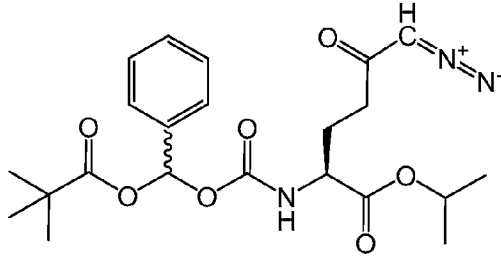
20. Пролекарство по п.19, где соединение формулы (I) выбрано из группы, состоящей из:



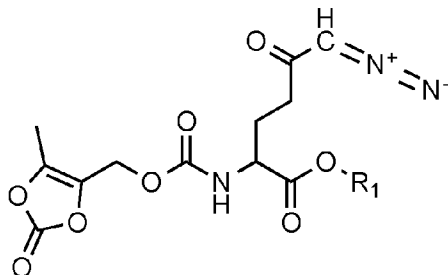




и

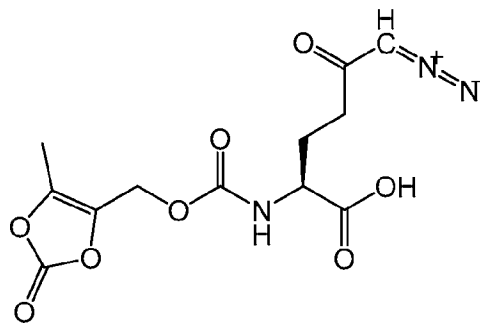


21. Пролекарство по п.11, где соединение формулы (I) представлено формулой:

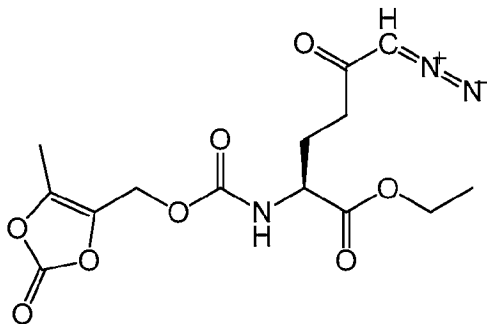


где  $R_1$  является таким, как определено в п.1.

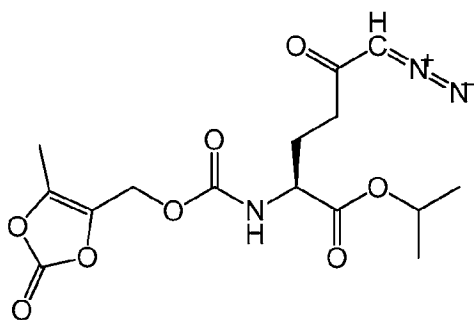
22. Пролекарство по п.21, где соединение формулы (I) выбрано из группы, состоящей из:



;



и



23. Пролекарство по п.11, где  $R_2$  представляет собой  $-C(=O)-Y-(CR_3R_4)_m-NR_5R_6$ ; где

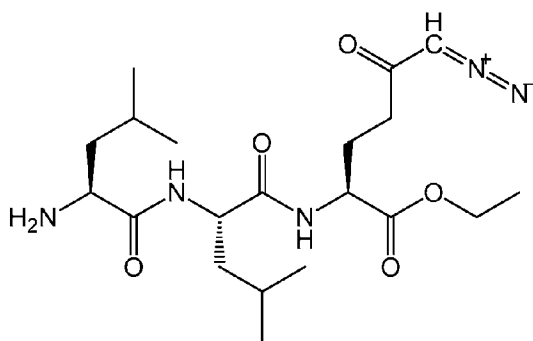
$Y$  представляет собой связь;

каждый  $m$  равен 1;

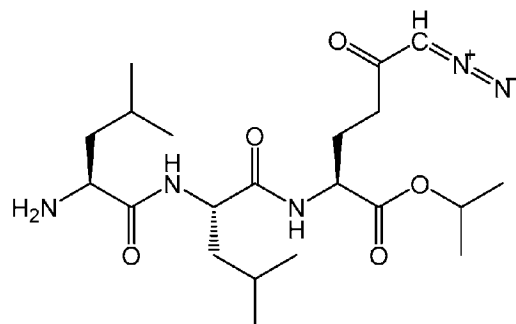
каждый  $R_5$  представляет собой  $H$ ;

каждый  $R_6$  независимо представляет собой  $H$  или  $-C(=O)-(CR_3R_4)_m-NR_5R_6$ .

24. Пролекарство по п.23, где соединение формулы (I) выбрано из группы, состоящей из:

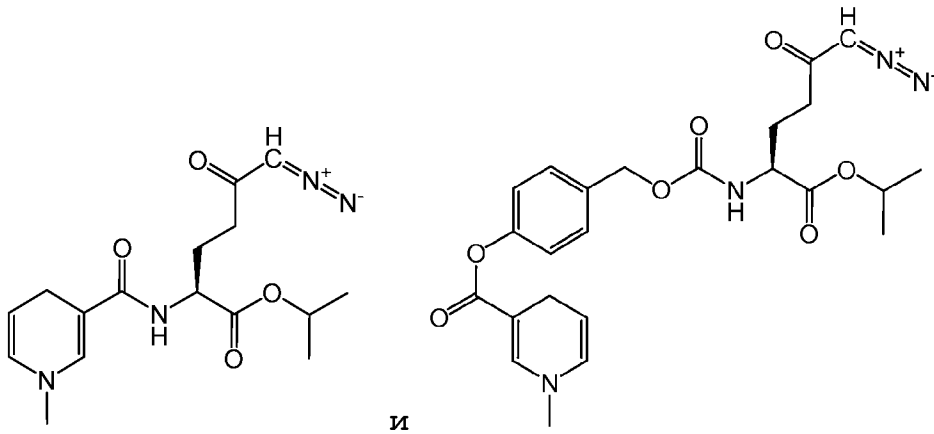


и



25. Пролекарство по п.11, где  $R_2$  представляет собой  $-C(=O)-Ar$  или  $-C(=O)-Y-(CR_3R_4)_m-Ar-O-C(=O)-Ar$ .

26. Пролекарство по п.25, где соединение формулы (I) выбрано из группы, состоящей из:



27. Пролекарство по п.11, где  $R_2$  представляет собой  $-C(=O)-Y-(CR_3R_4)_m-Ar-NR_5R_6$ ; где

$Y$  представляет собой  $O$ ;

каждый  $m$  независимо равен  $0, 1$  или  $3$ ;

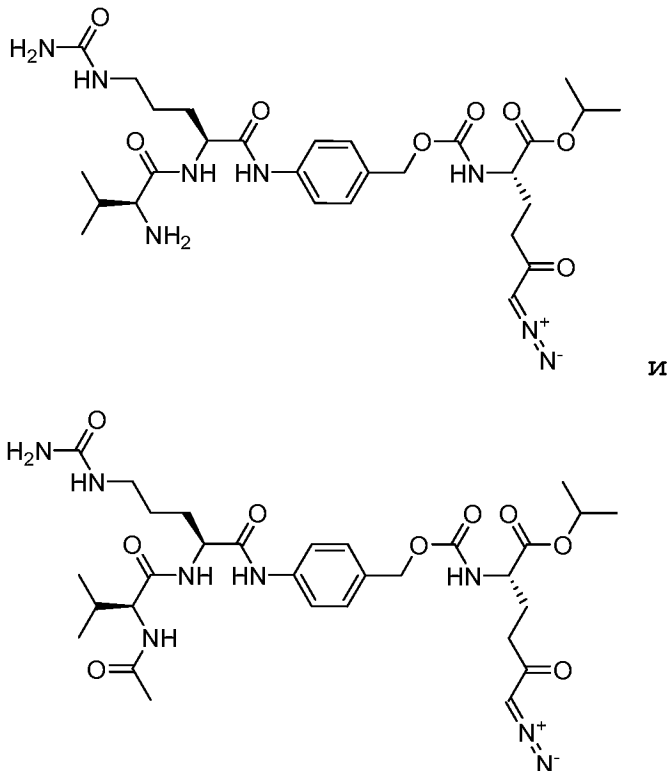
каждый  $R_3$  независимо представляет собой  $H$ ,  $C_1-C_6$ алкил или  $-(CR_3R_4)_m-NR_5R_6$ ;

каждый  $R_4$  представляет собой  $H$ ;

каждый  $R_5$  независимо представляет собой  $H$ ,  $-C(=O)-(CR_3R_4)_m$ ,  $-C(=O)-NR_5R_6$  или  $-C(=O)-(CR_3R_4)_m-NR_5R_6$ ;

каждый  $R_6$  представляет собой  $H$ .

28. Пролекарство по п.27, где соединение формулы (I) выбрано из группы, состоящей из:





29. Пролекарство по п.11, где  $R_2$  представляет собой  $-C(=O)-Y-(CR_3R_4)_m-NR_5R_6$ , где

$Y$  представляет собой связь;

каждый  $m$  независимо равен 1, 2 или 3;

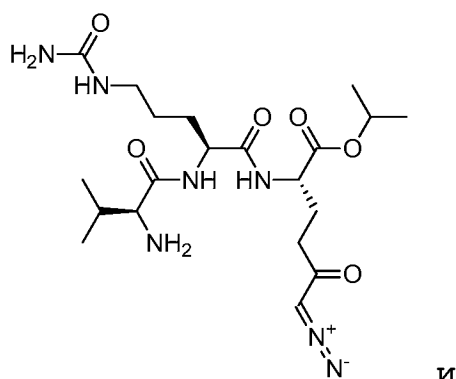
каждый  $R_3$  независимо представляет собой H,  $C_1-C_6$ алкил или  $-(CR_3R_4)_m-NR_5R_6$ ;

каждый  $R_4$  представляет собой H;

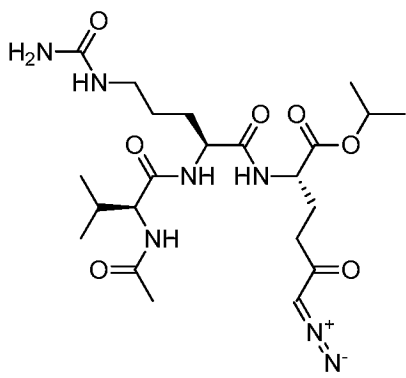
каждый  $R_5$  независимо представляет собой H,  $-C(=O)-(CR_3R_4)_m$ ,  $-C(=O)-(NR_5R_6)$  или  $-C(=O)-(CR_3R_4)_m-NR_5R_6$ ;

каждый  $R_6$  представляет собой H.

30. Пролекарство по п.29, где соединение формулы (I) выбрано из группы, состоящей из:

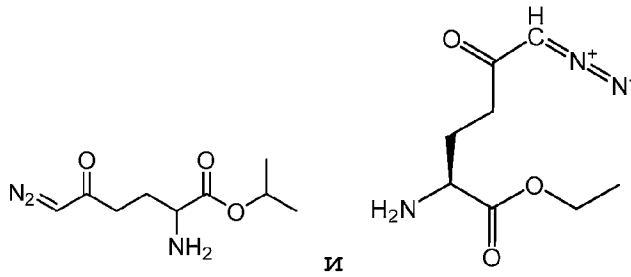


и



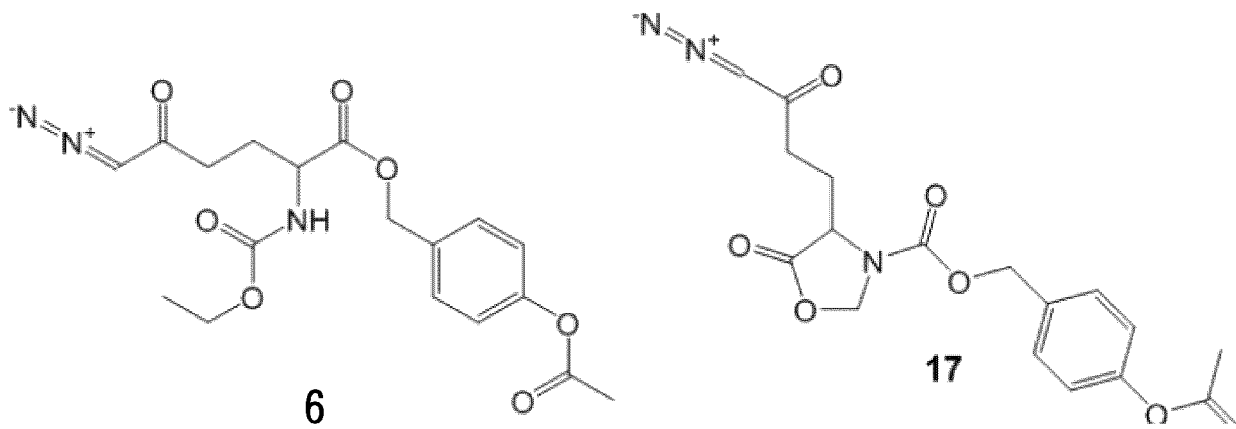
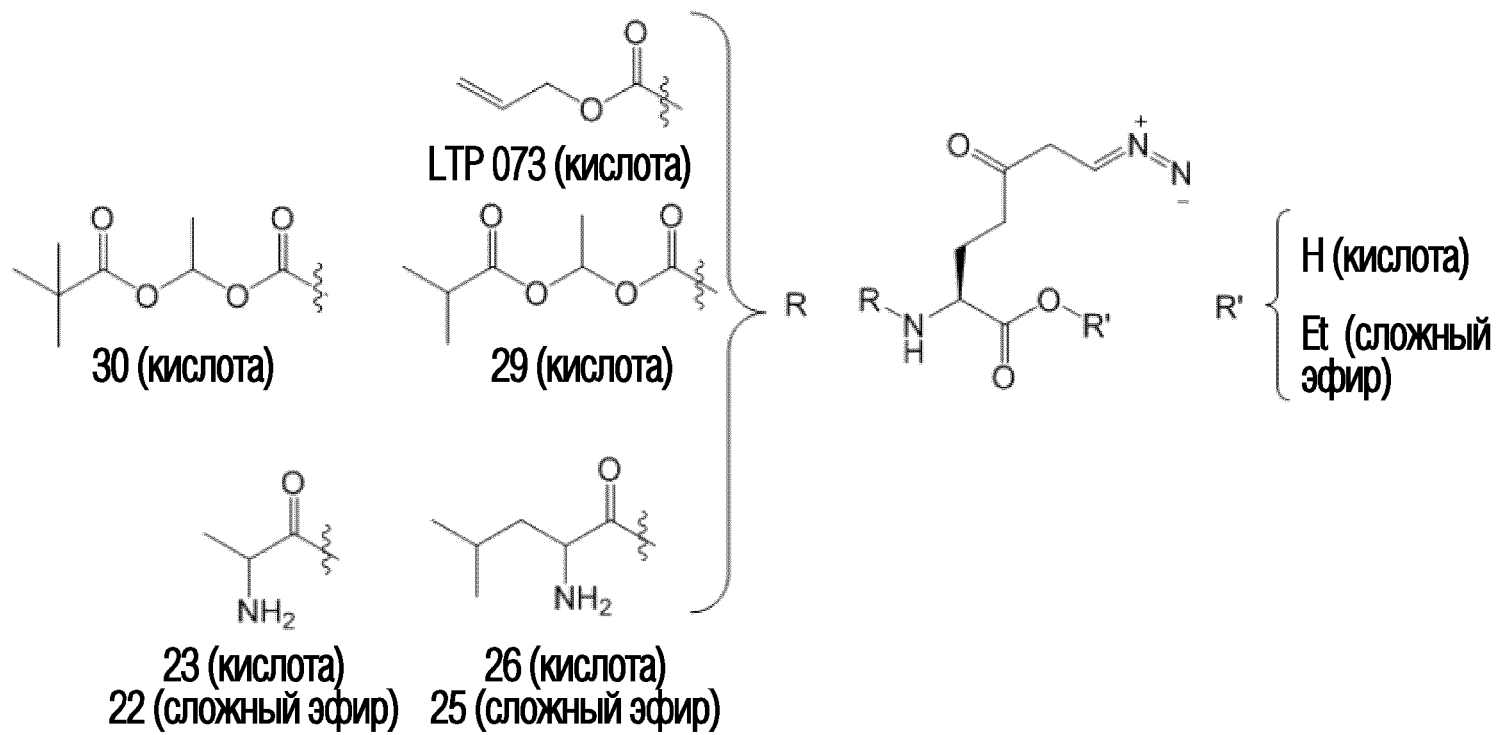
31. Пролекарство по п.11, где  $R_2$  представляет собой H, и  $R_1$  выбран из группы, состоящей из алкила и замещенного алкила.

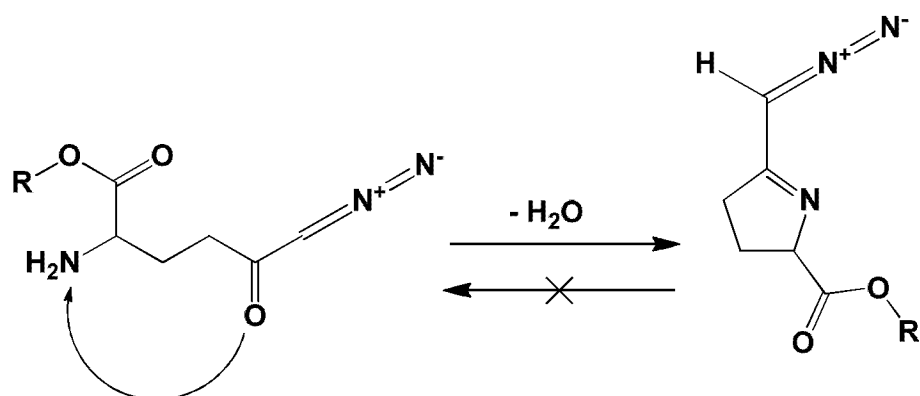
32. Пролекарство по п.31, где соединение формулы (I) выбрано из группы, состоящей из:



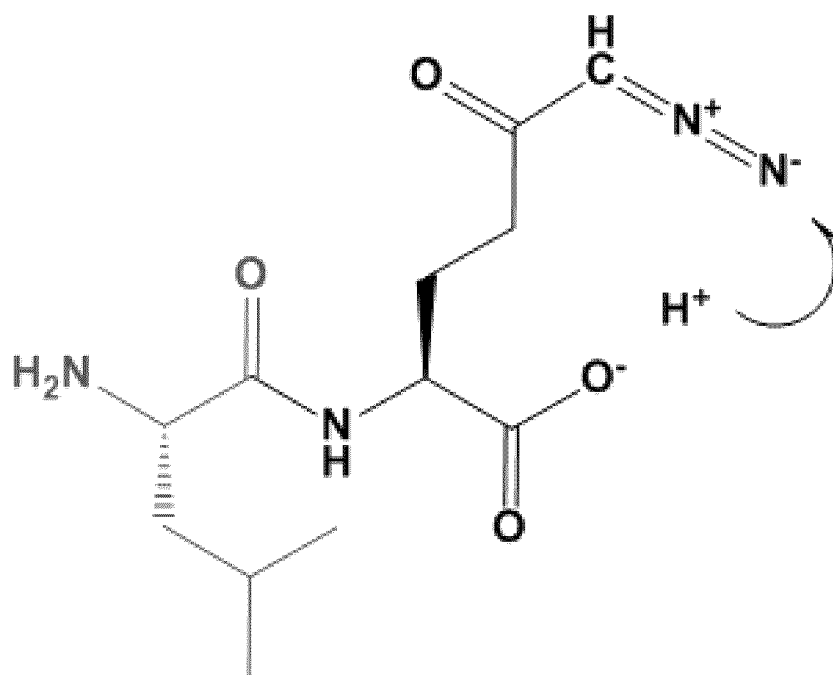
33. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (I) и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или эксципиент.

По доверенности



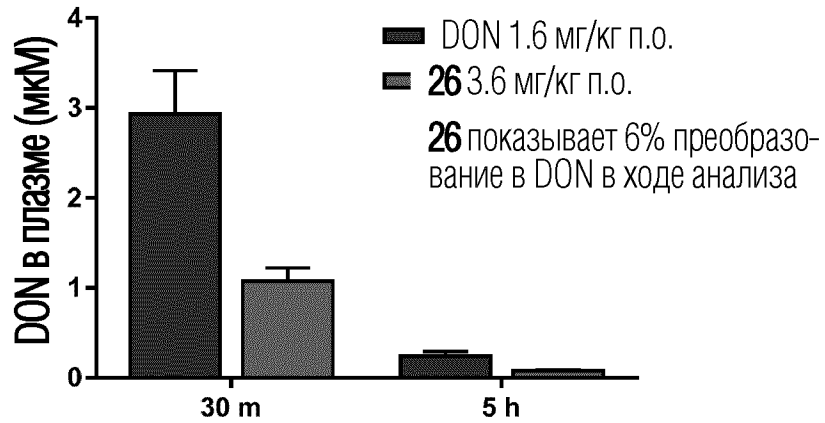


ФИГ. 2А



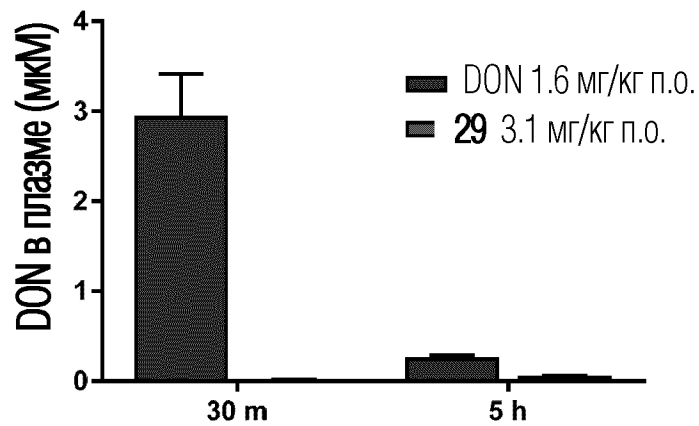
ФИГ. 2В

## 26 : DON в плазме мыши



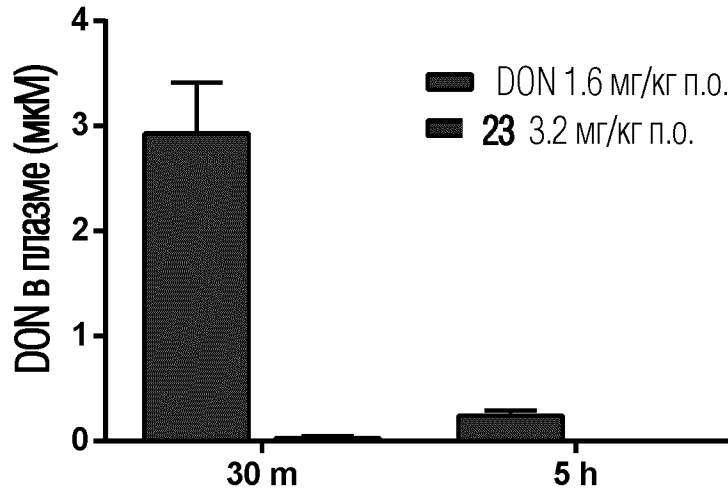
ФИГ. 3А

## 29 : DON в плазме мыши



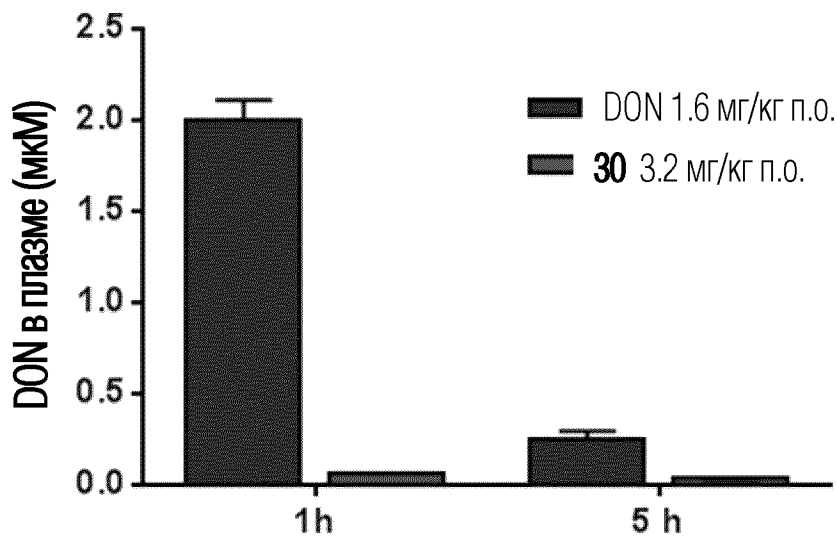
ФИГ. 3В

23 : DON в плазме мыши

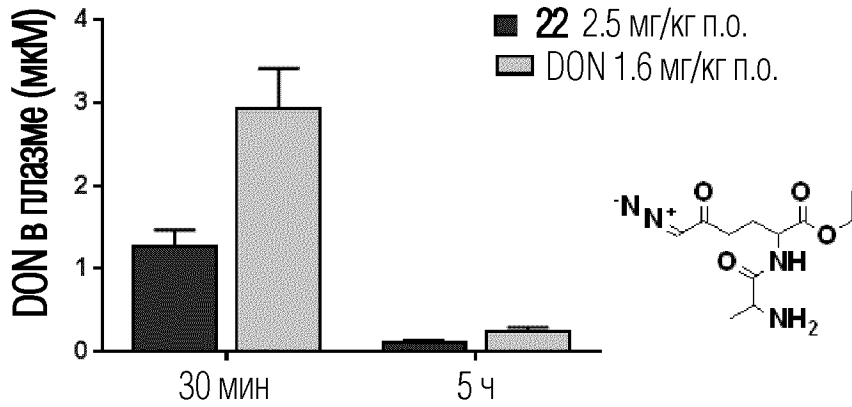


ФИГ. 3С

30 : DON в плазме мыши



ФИГ. 3D

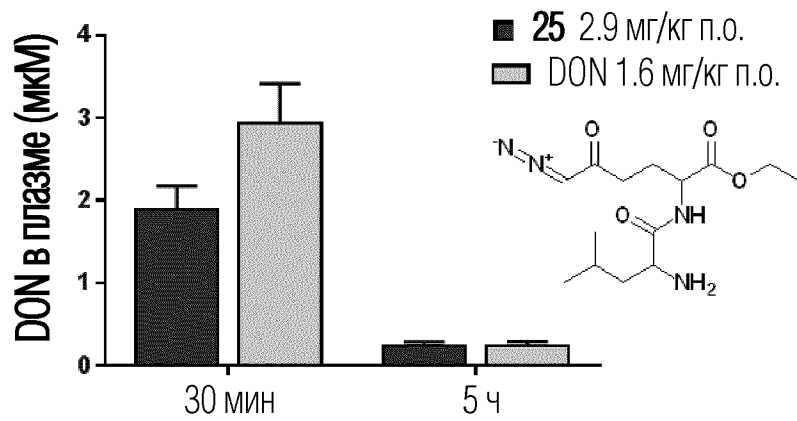


22

Time	Concentration (mкM)	Percent of DON
0.5 ч	1.3 мкМ	43%
5 ч	0.1 мкМ	45%

процент в сравнении с DON

ФИГ. 4А

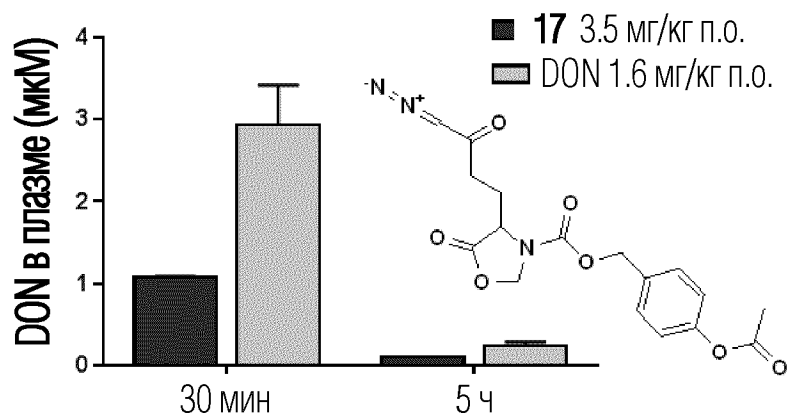


25

Time	Concentration (mкM)	Percent of DON
0.5 ч	1.9 мкМ	65%
5 ч	0.2 мкМ	96%

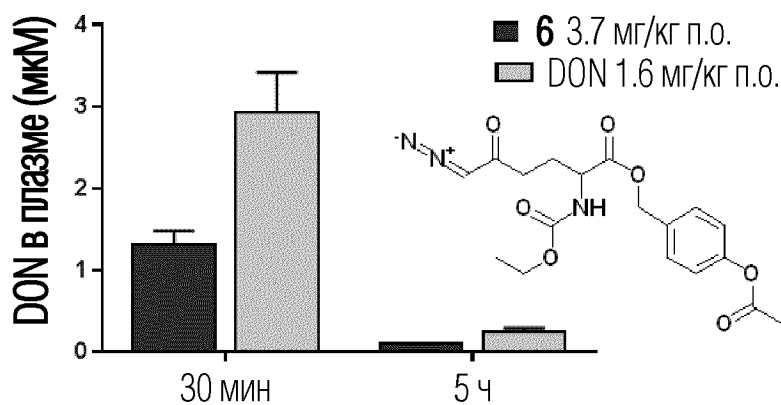
процент в сравнении с DON

ФИГ. 4В



17	0.5 ч	5 ч	
	1.1 мкМ	0.1 мкМ	процент в сравнении с DON
	37%	42%	

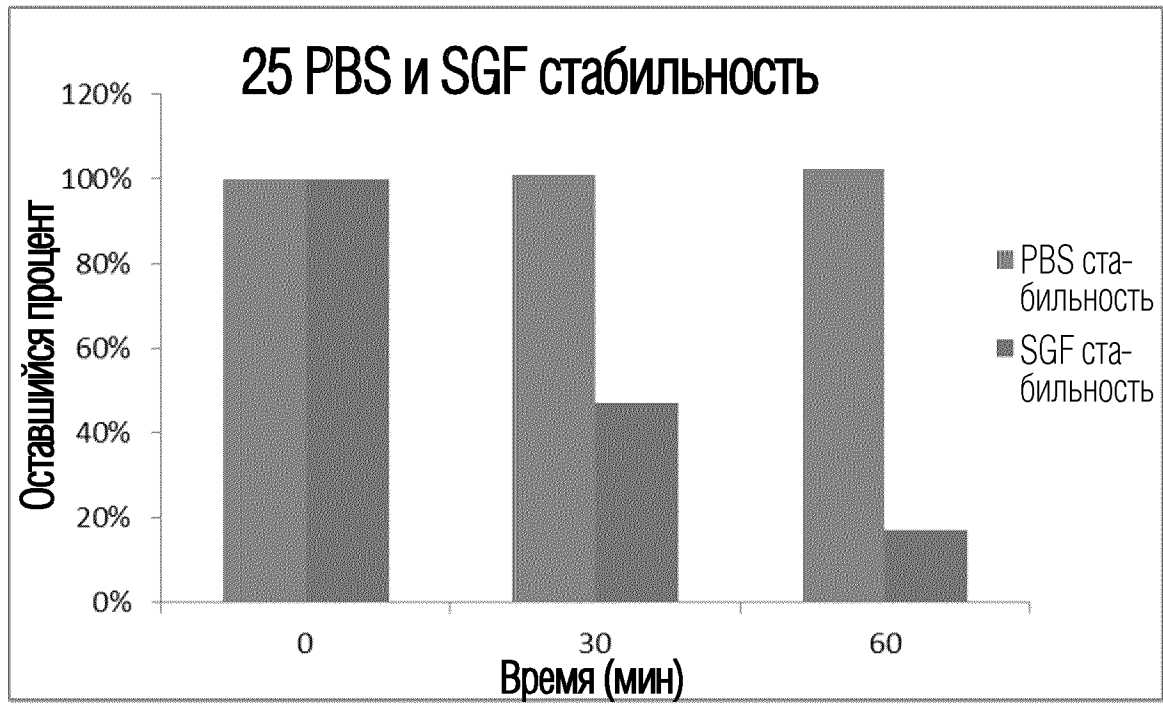
ФИГ. 4С



6	0.5 ч	5 ч	
	1.3 мкМ	0.1 мкМ	процент в сравнении с DON
	45%	42%	

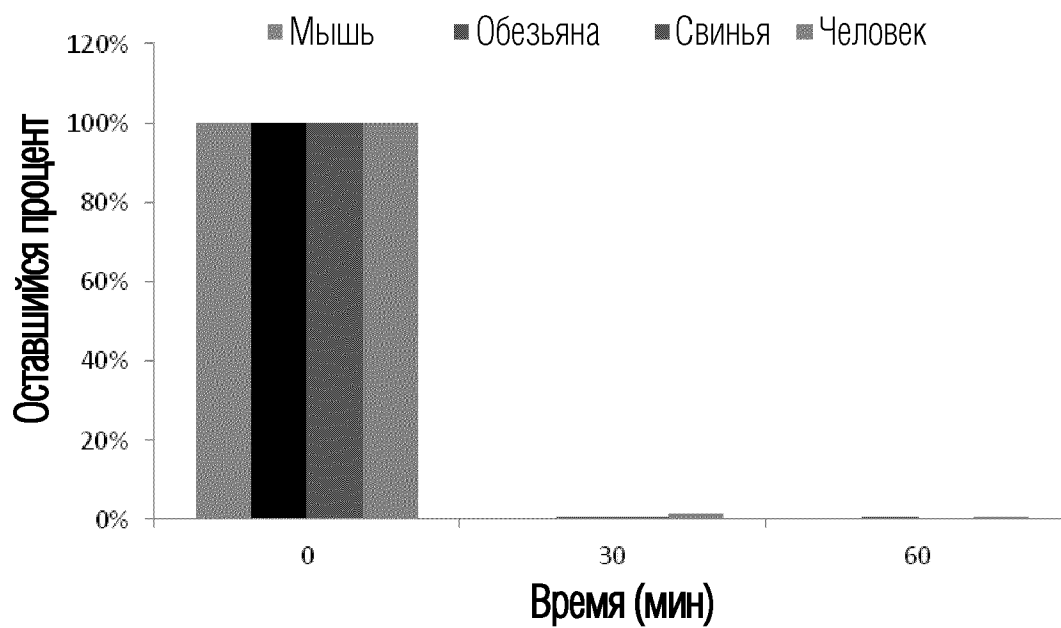
ФИГ. 4D





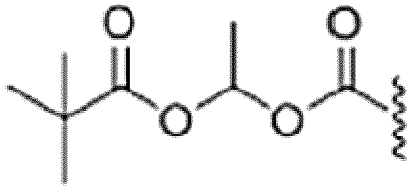
ФИГ. 5

## Формы стабильности в плазме соединения 25

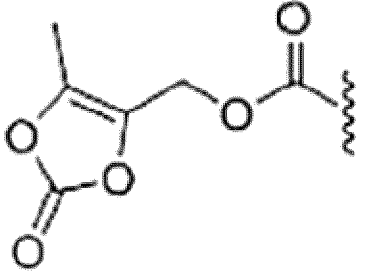


ФИГ. 6

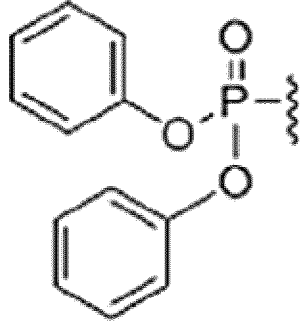
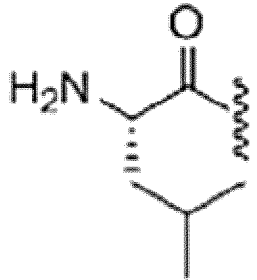
Фиг. 7



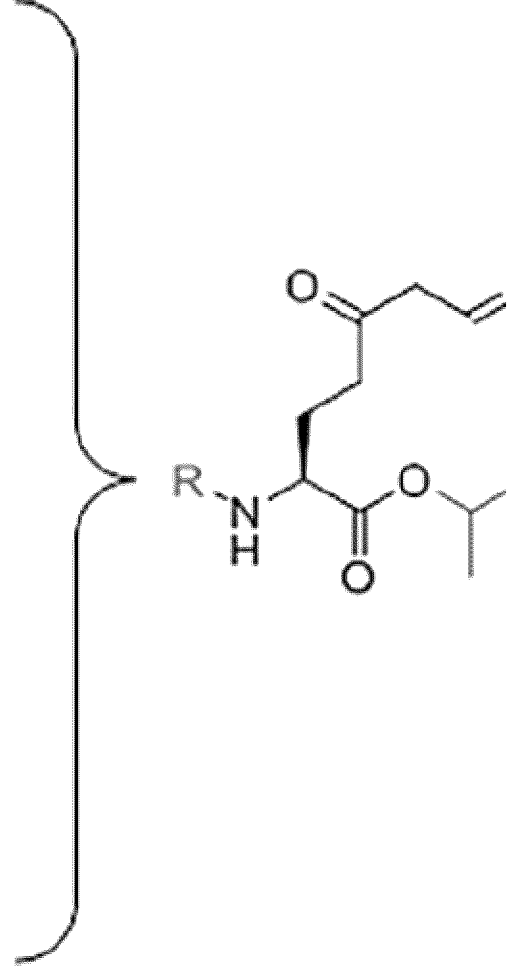
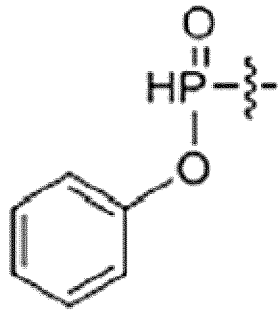
14

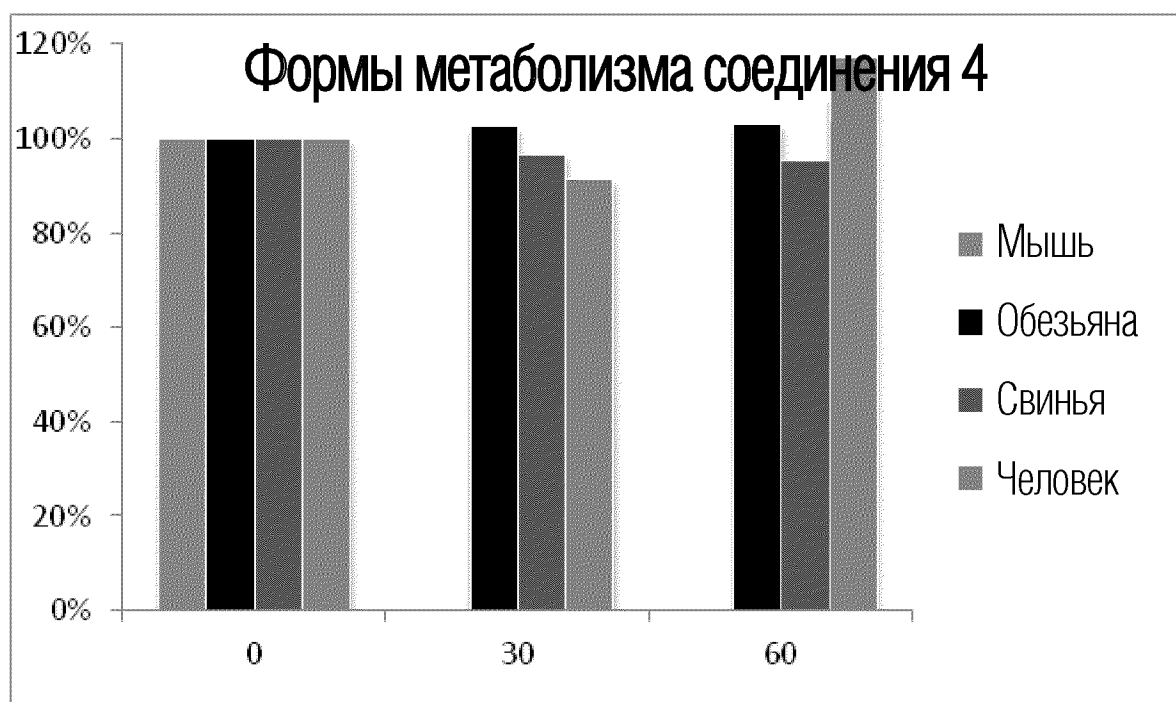


8

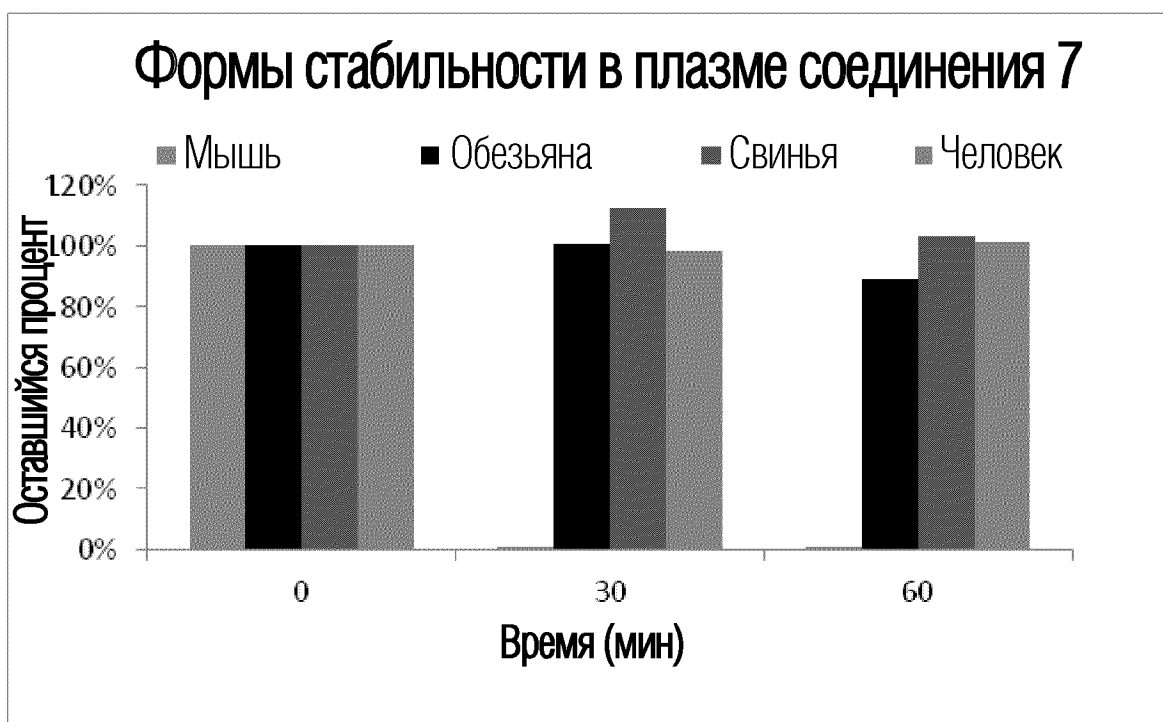


4

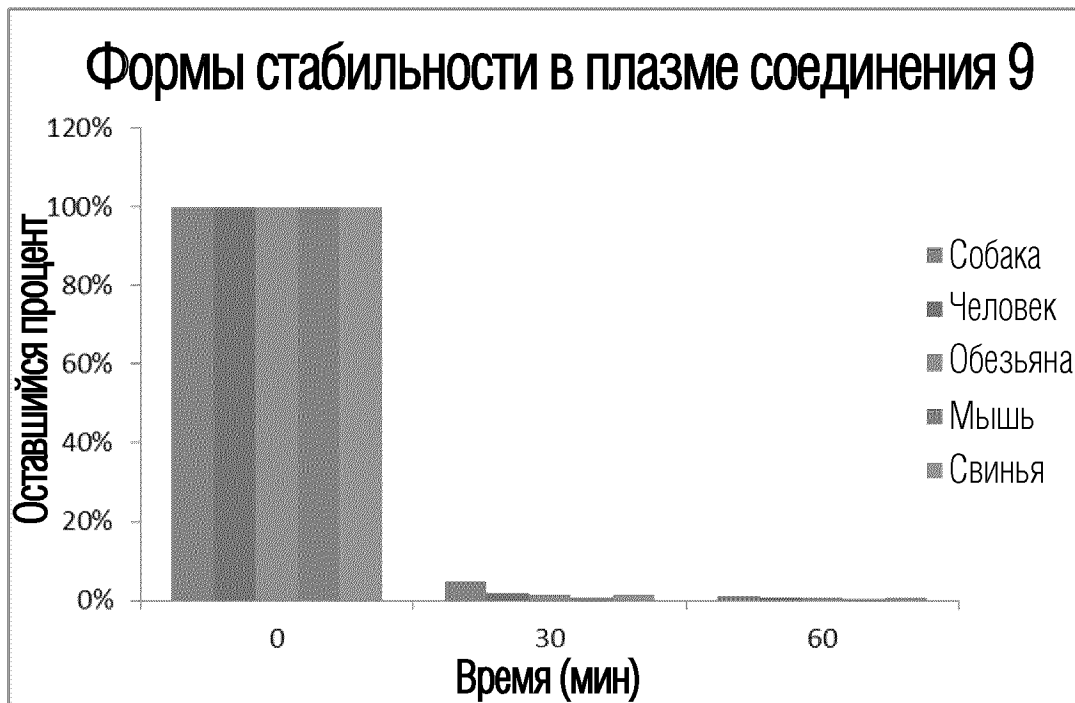




ФИГ. 8



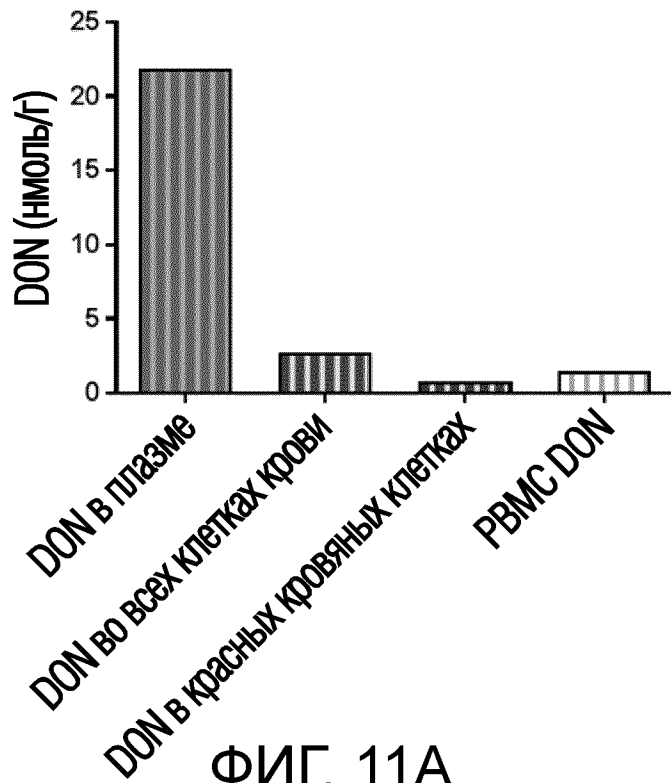
ФИГ. 9



ФИГ. 10

## DON в крови человека по методу добавок

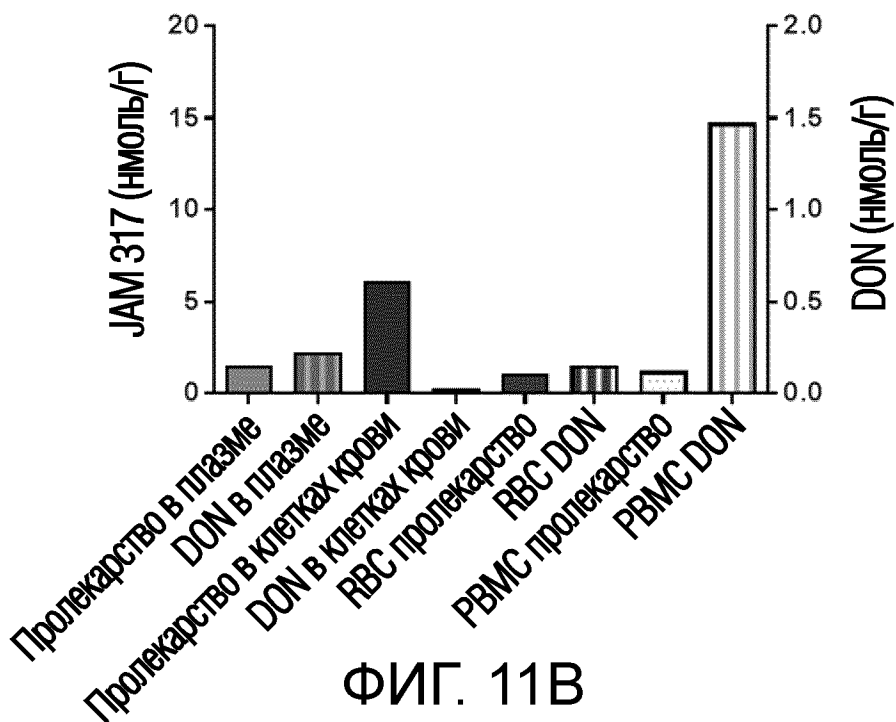
30 мин инкубации при 20 мкМ



ФИГ. 11А

## Соединение 4 в крови человека по методу добавок

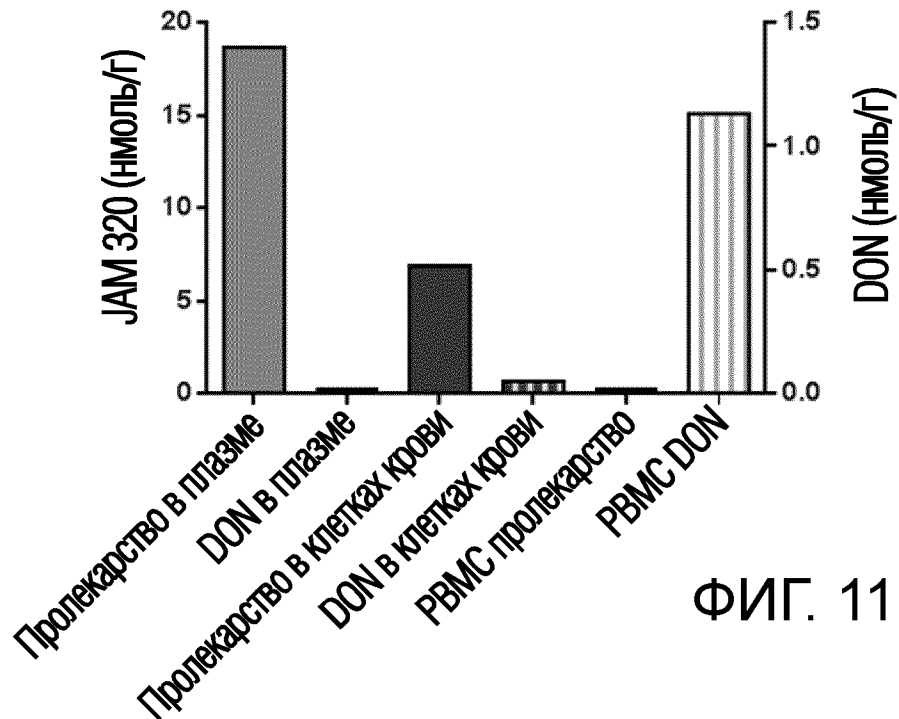
30 мин инкубации при 20 мкМ



ФИГ. 11В

## Соединение 7 в крови человека по методу добавок

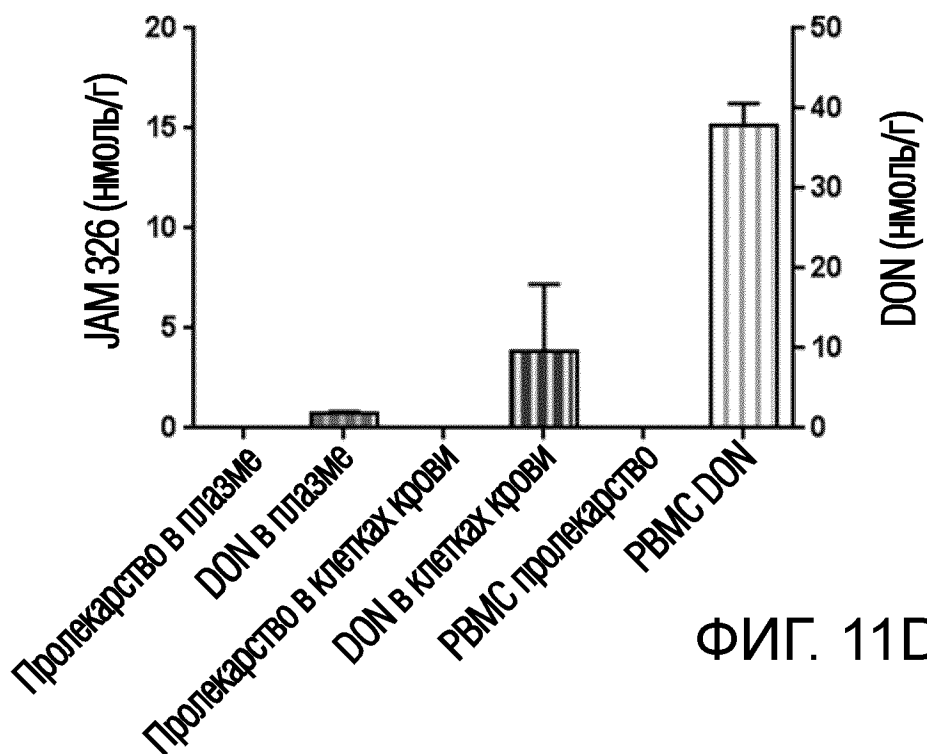
30 мин инкубации при 20 мкМ



ФИГ. 11С

## Соединение 9 в крови человека по методу добавок

30 мин инкубации при 20 мкМ

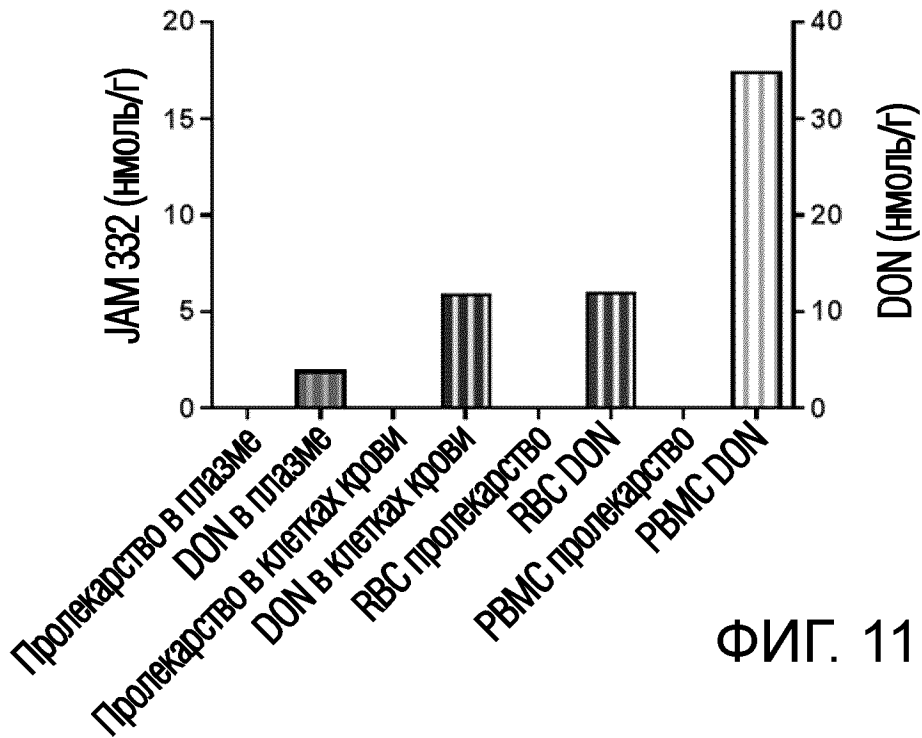


ФИГ. 11D



## Соединение 13 в крови человека по методу добавок

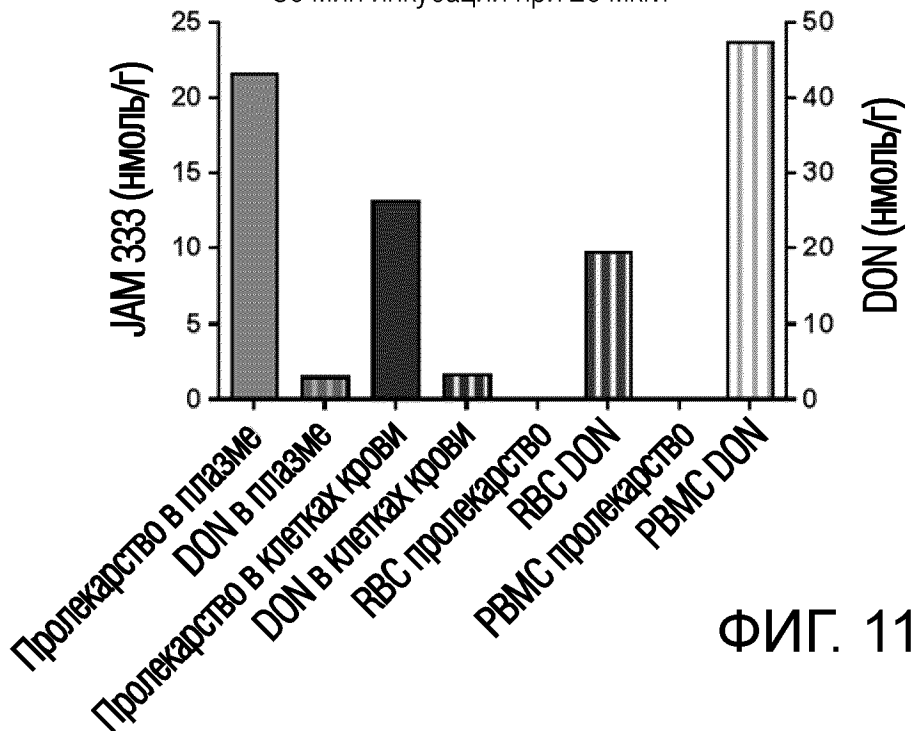
30 мин инкубации при 20 мкМ



ФИГ. 11Е

## Соединение 14 в крови человека по методу добавок

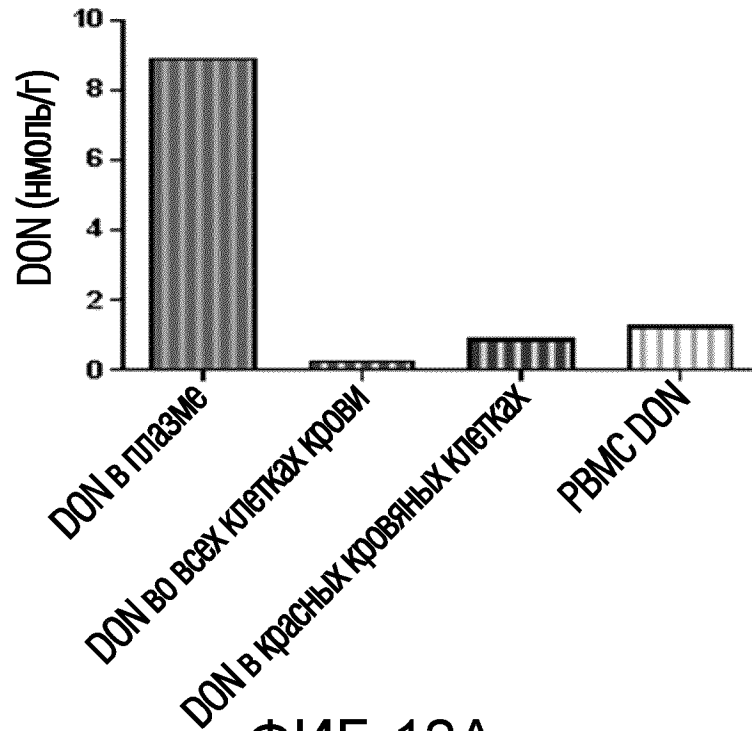
30 мин инкубации при 20 мкМ



ФИГ. 11F

## DON в крови человека по методу добавок

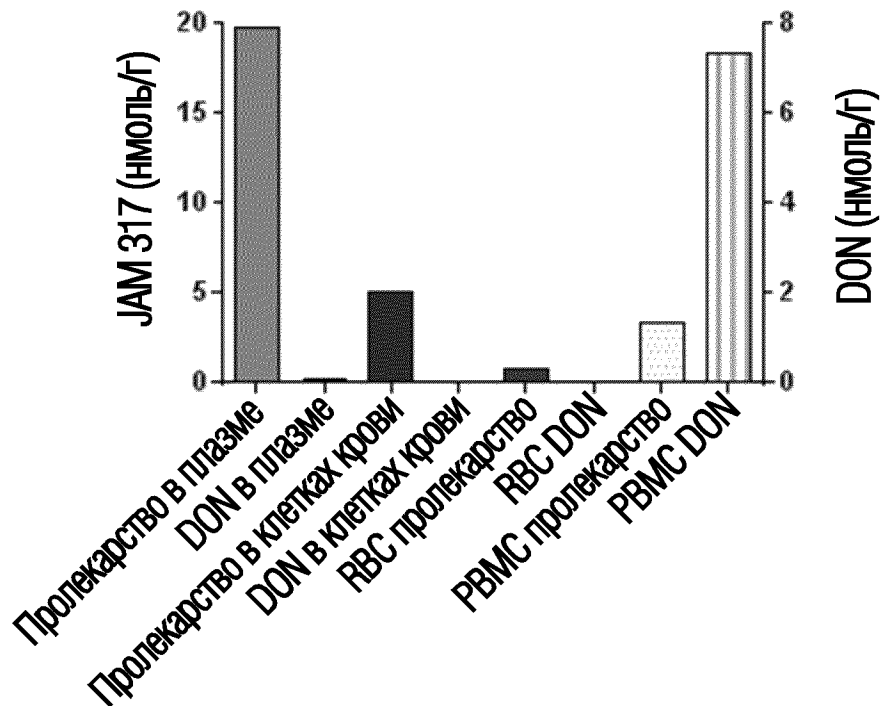
30 мин инкубации при 20 мкМ



ФИГ. 12А

## Соединение 4 в крови человека по методу добавок

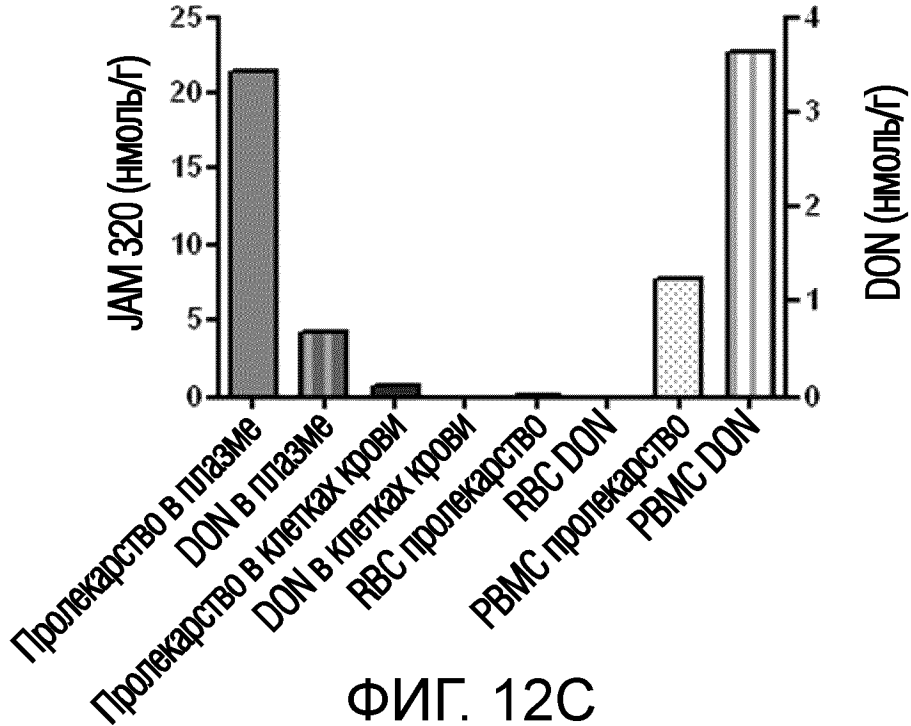
30 мин инкубации при 20 мкМ



ФИГ. 12В

## Соединение 7 в крови человека по методу добавок

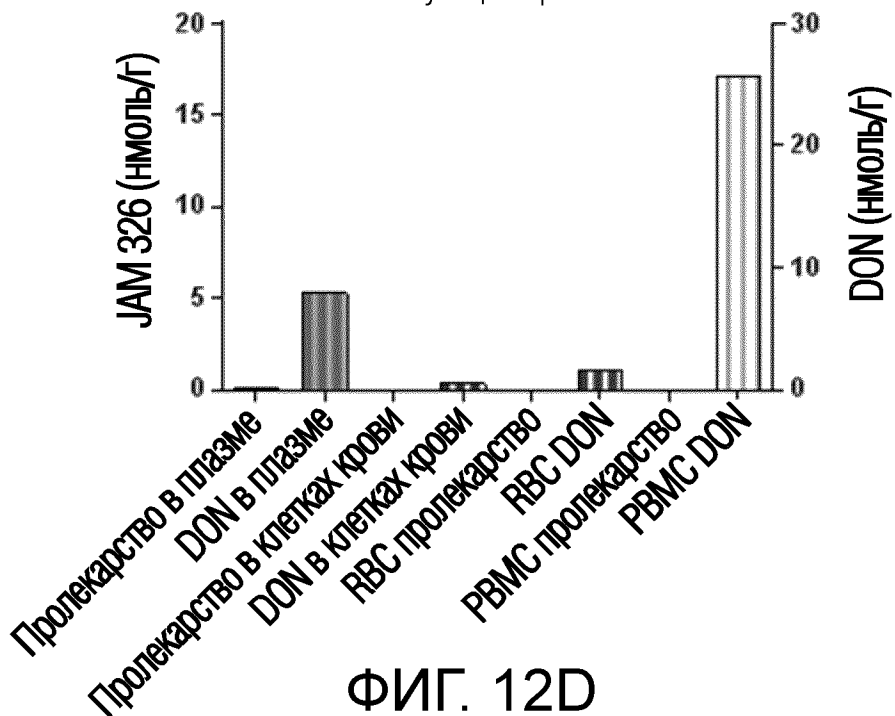
30 мин инкубации при 20 мкМ



ФИГ. 12С

## Соединение 9 в крови человека по методу добавок

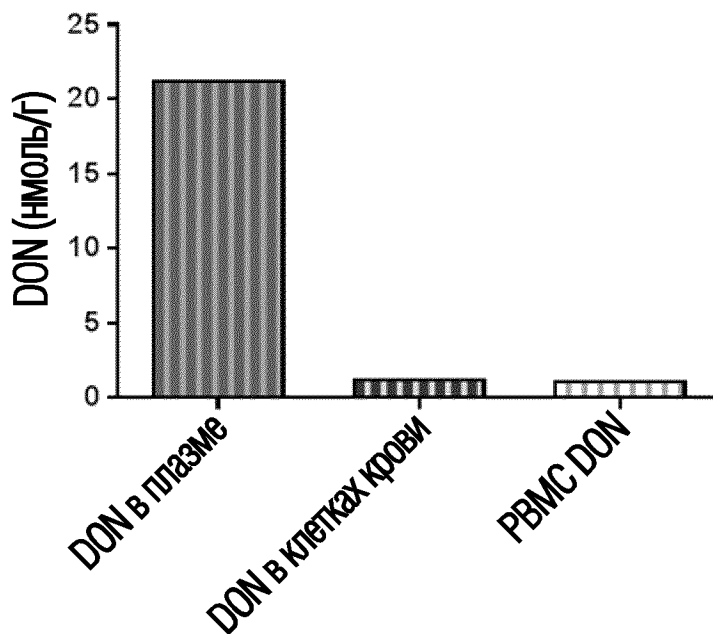
30 мин инкубации при 20 мкМ



ФИГ. 12D

## DON в крови человека по методу добавок

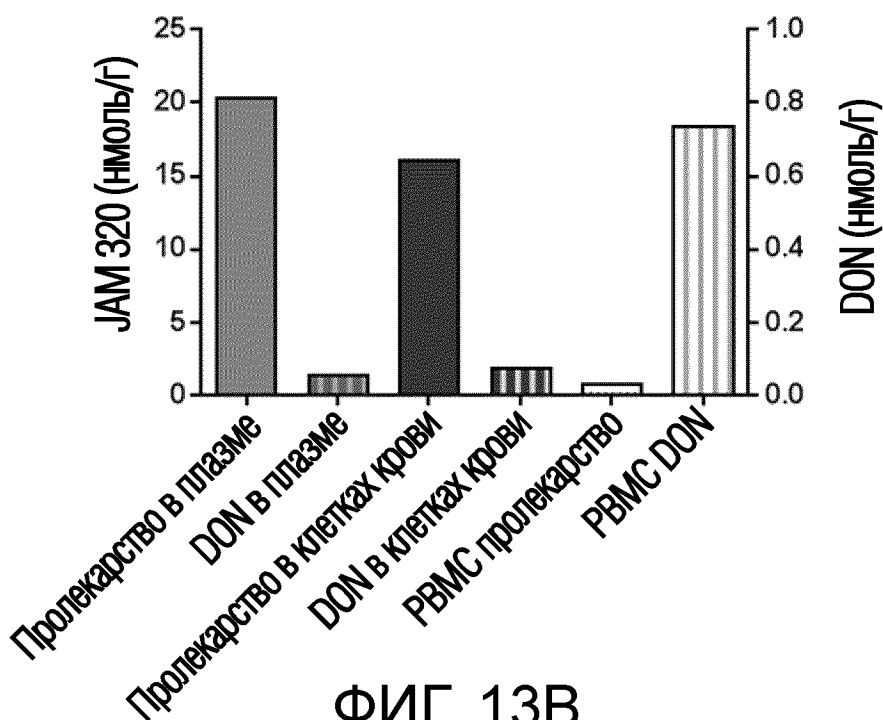
30 мин инкубации при 20 мкМ



ФИГ. 13А

## Соединение 7 в крови человека по методу добавок

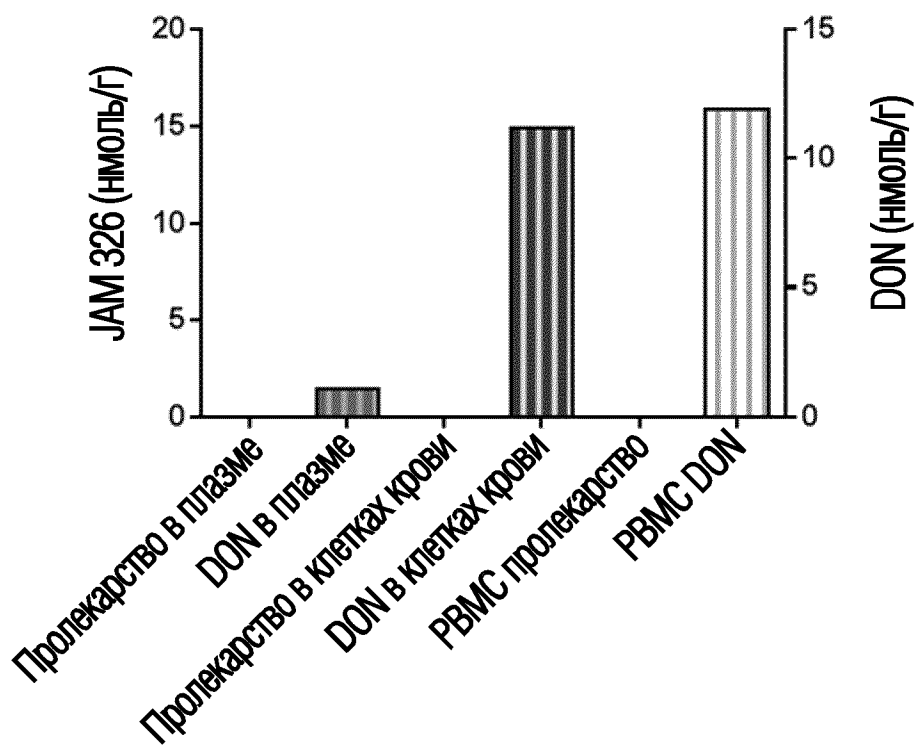
30 мин инкубации при 20 мкМ



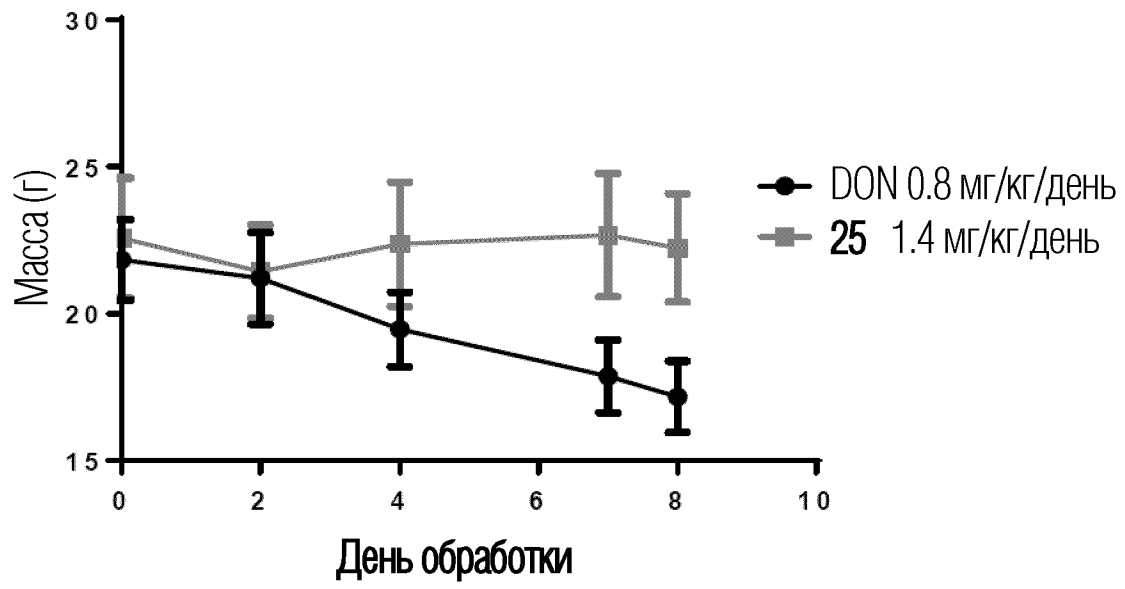
ФИГ. 13В

## Соединение 9 в крови человека по методу добавок

30 мин инкубации при 20 мкМ



ФИГ. 13С



ФИГ. 14

	DON	25	Нормальный диапазон
WBC	1.06	1.07	4.45 - 13.96 К/мкл
Hgb	11.80	13.87	10.8 - 19.2 г/дл
Plt	315.67	715.33	841 - 2159 К/мкл

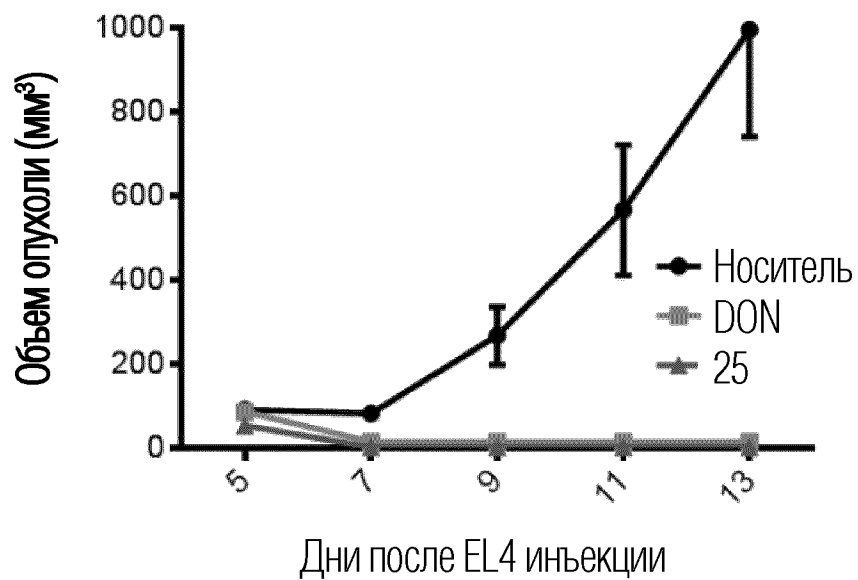
N = 3 мыши на группу

ФИГ. 15

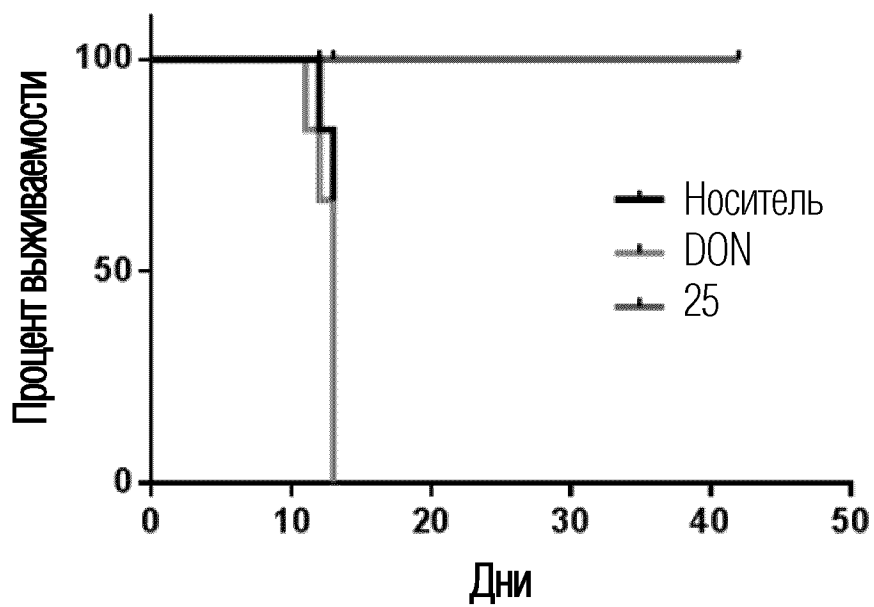
	DON (n=2)	25 (n=3)	Нормальный диапазон
AST	158	94	46-392 Ед/л
ALT	14	22	28-129 Ед/л
ALP	70	143	111-275 Ед/л
GGT	7	5	0-8 Ед/л
Общий белок	3.9	4.7	4.8-7.0 г/дл
Альбумин	2.3	3.4	2.8-3.8 г/дл
Креатинин	0.30	0.30	0.2-0.5 мг/дл
Кальций	8.6	8.5	9.7-12.5 мг/дл
BUN	26	21	7-28 мг/дл
Общий билирубин	0.7	0.3	0.2-0.6 мг/дл
Глюкоза	228	391	172-378 мг/дл

ФИГ. 16

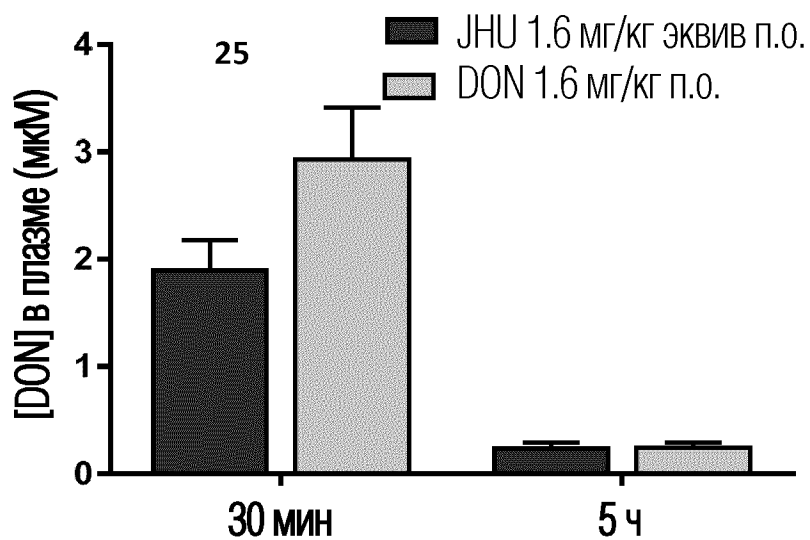




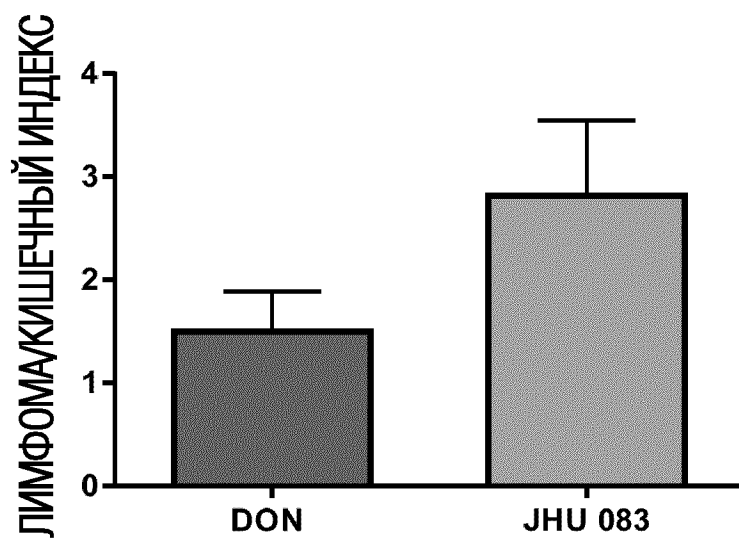
ФИГ. 17А



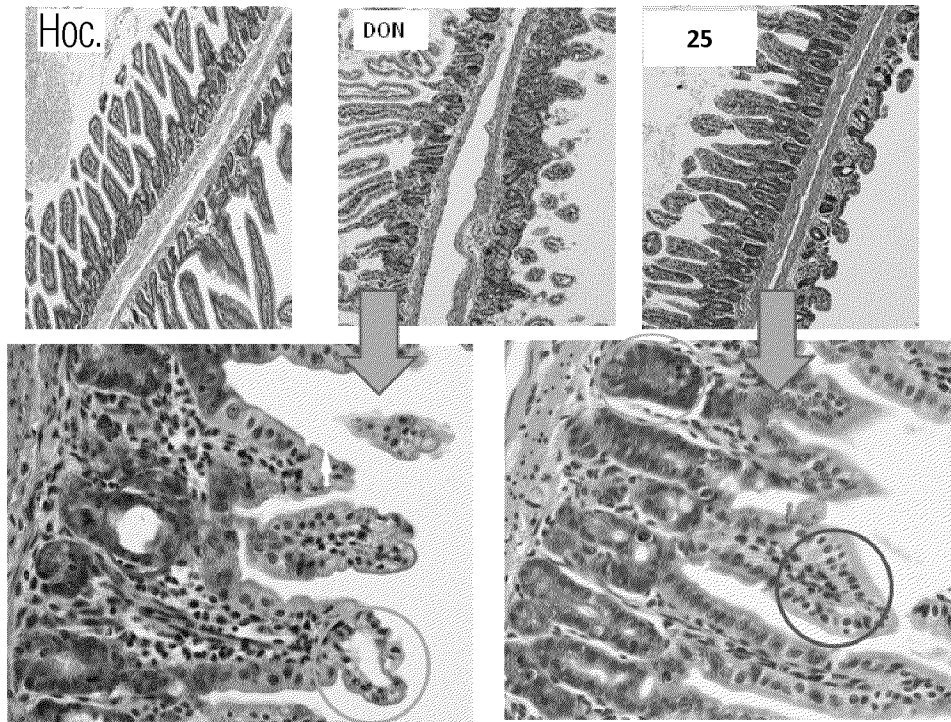
ФИГ. 17В



ФИГ. 18А



ФИГ. 18В



ФИГ. 18С

	Введение и поддержание	Дозирование дважды в сутки	Норма
WBC	11.25	11.19	4.45 - 13.96 К/мкл
Hgb	14.73	14.57	10.8 - 19.2 г/дл
Plt	1567.00	1193.67	841 - 2159 К/мкл

N = 3 мыши на группу

Введения поддерживающей дозы: 1,0 мг ежедневно в течение 5 дней, затем 0,3 мг ежедневно в течение 9 дней

Дозирование дважды в сутки: 1,0 мг ПО дважды в сутки в течение 14 дней

## ФИГ. 19А

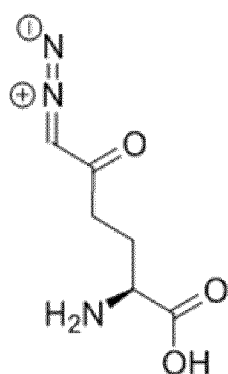
	Дальнейшее введение 0.1 мг/кг/день	Дальнейшее введение 0.3 мг/кг/день	Норма
WBC	10.16	8.36	4.45 - 13.96 К/мкл
Hgb	13.73	13.90	10.8 - 19.2 г/дл
Plt	1040.67	1166.00	841 - 2159 К/мкл

N = 3 мыши на группу

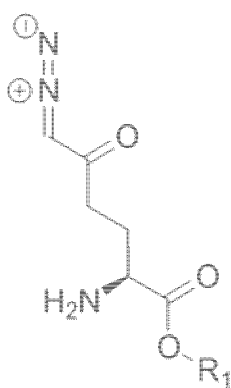
Мышей оценивали спустя 10 дней после введения и 38 дней после поддерживающей терапии JHU-083

## ФИГ. 19В

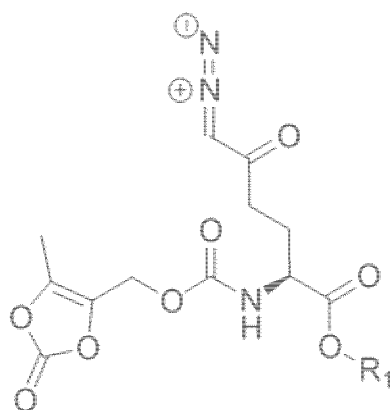
27/49



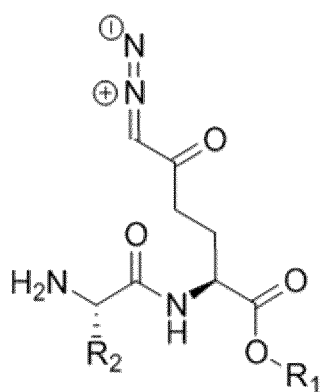
1,6-Диазо-5-оксо-L-норлейцин (DON)



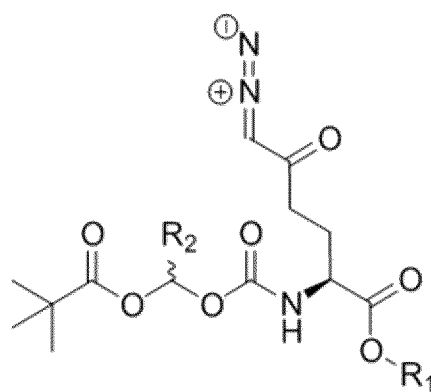
20 ( $R_1 = \text{Et}$ )  
3 ( $R_1 = \text{iPr}$ )



36 ( $R_1 = \text{Et}$ )  
13 ( $R_1 = \text{iPr}$ )

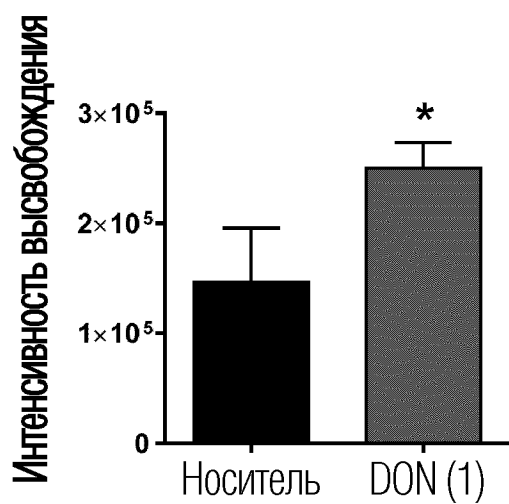


25 ( $R_1 = \text{Et}, R_2 = \text{iBu}$ )  
9 ( $R_1 = \text{iPr}, R_2 = \text{iBu}$ )  
34 ( $R_1 = \text{Et}, R_2 = -\text{CH}_2\text{-3-ИНДОЛИЛ}$ )  
38 ( $R_1 = \text{iPr}, R_2 = -\text{CH}_2\text{-3-ИНДОЛИЛ}$ )

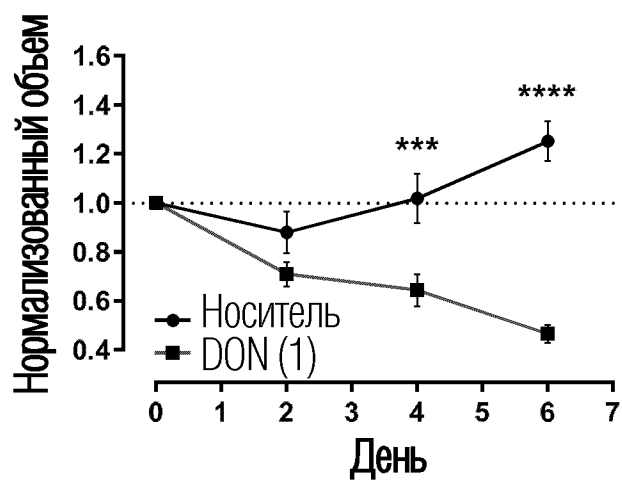


42 ( $R_1 = \text{iPr}, R_2 = \text{H}$ )  
32 ( $R_1 = \text{Et}, R_2 = \text{CH}_3$ )  
14 ( $R_1 = \text{iPr}, R_2 = \text{CH}_3$ )

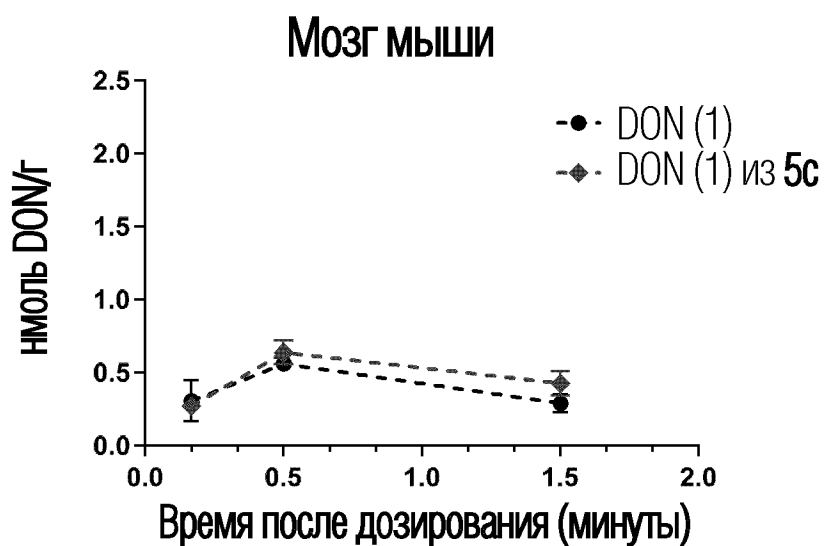
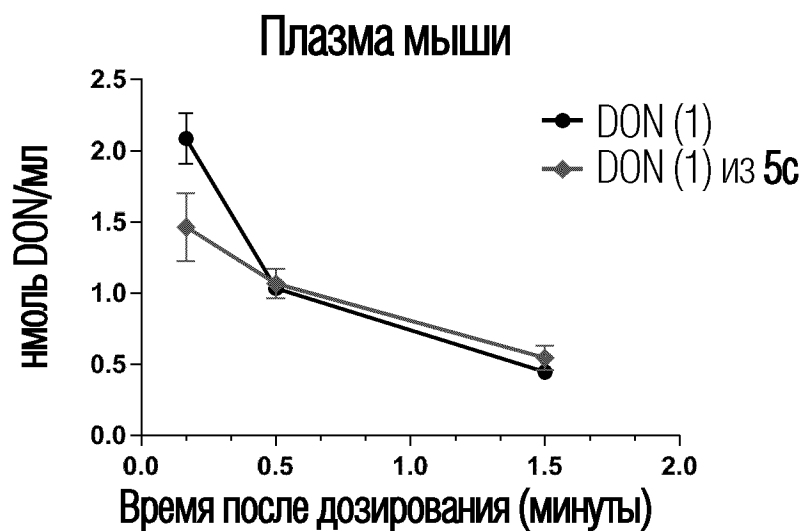
ФИГ. 20



ФИГ. 21А



ФИГ. 21В

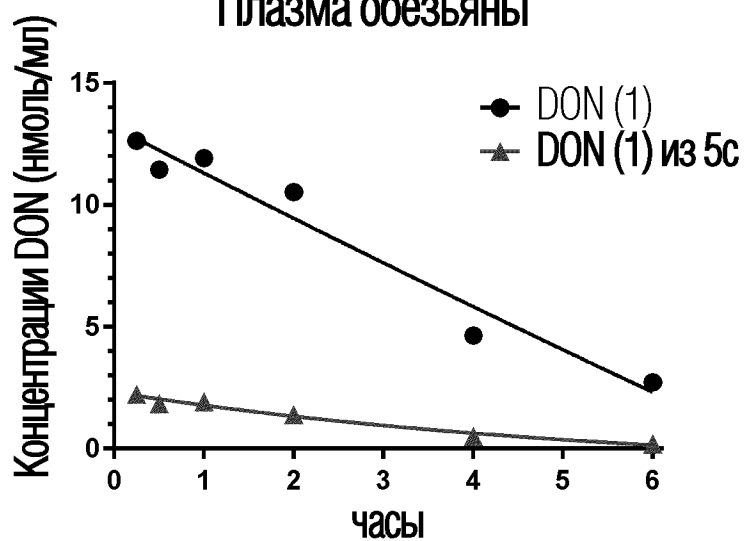


Дозированное соединение	Доза (мг/кг эквив)	Ткань	DON $C_{max}$ (нмоль/мл или нмоль/г)	DON $T_{max}$ (час)	DON $AUC_{0-t}$ (час*нмоль/мл или час*нмоль/г)	Соотношение мозг к плазме
DON (1)	0.8	Плазма	2.2	0.17	1.25	0.46
		Мозг	0.56	0.50	0.57	
5с	0.8	Плазма	1.5	1.50	1.22	0.57
		Мозг	0.64	30	0.69	

ФИГ. 22С

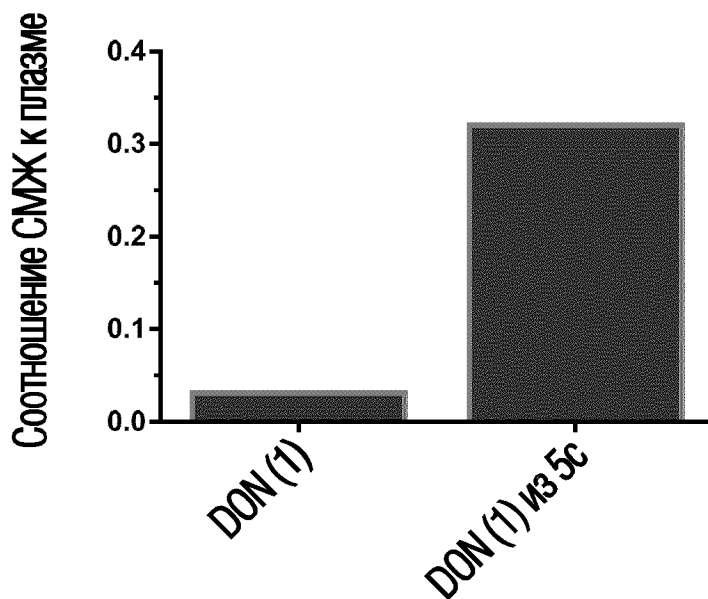
30/49

## Плазма обезьяны



ФИГ. 23А

## Спинномозговая жидкость обезьяны

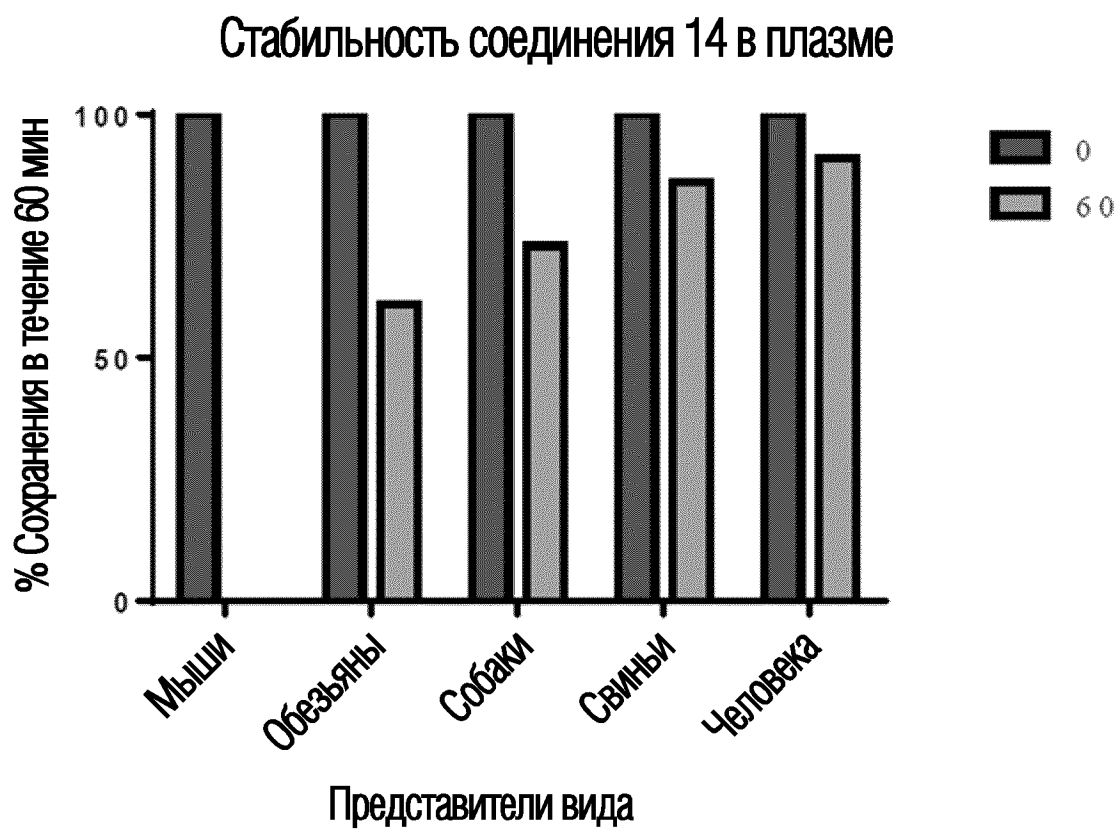


ФИГ. 23В

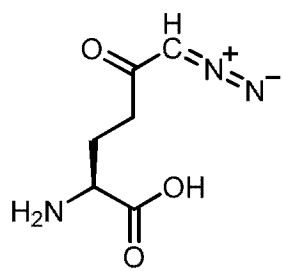
Дозированное соединение	Доза (МГ/КГ ЭКВИВ)	DON C <sub>max</sub> (НМОЛЬ/МЛ)	DON T <sub>max</sub> (ЧАС) <sup>max</sup>	DON AUC <sub>0-t</sub> (ЧАС*НМОЛЬ/МЛ)
1	1.6	12.6	0.25	42.7
5с	1.6	2.23	0.25	5.71

ФИГ. 23С

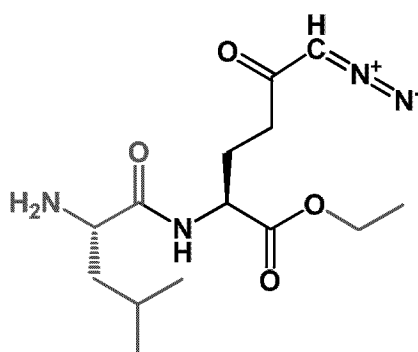




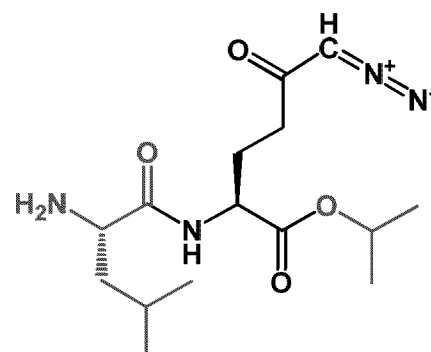
ФИГ. 24



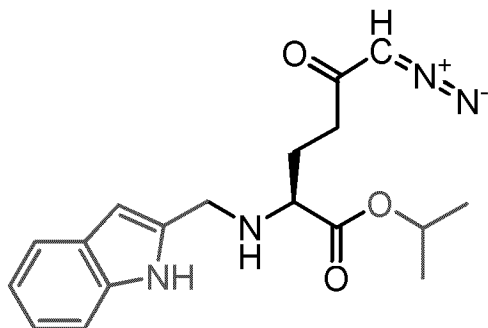
DON



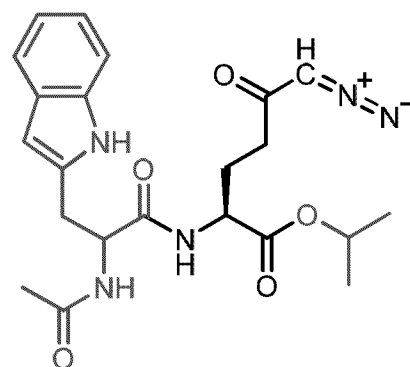
25



9

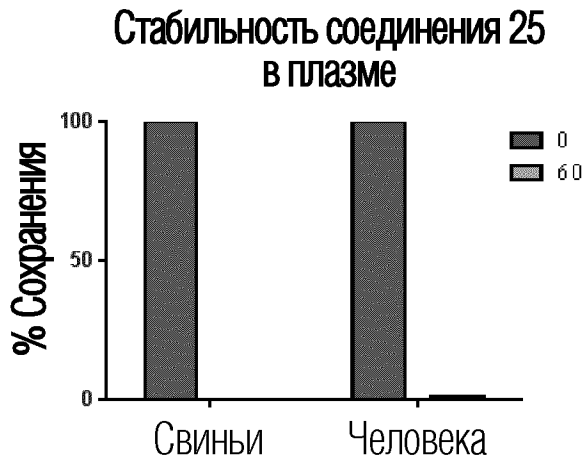


38

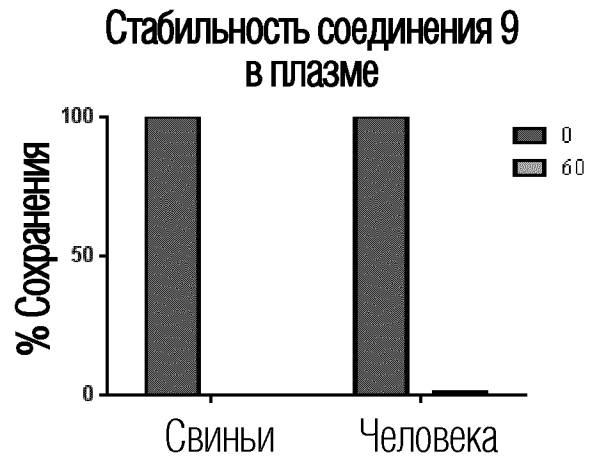


60

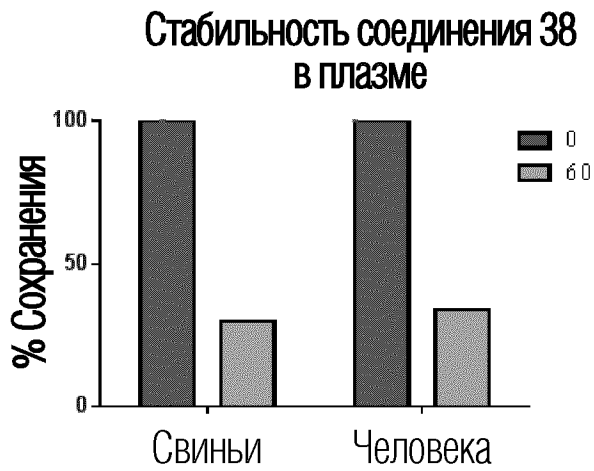
ФИГ. 25



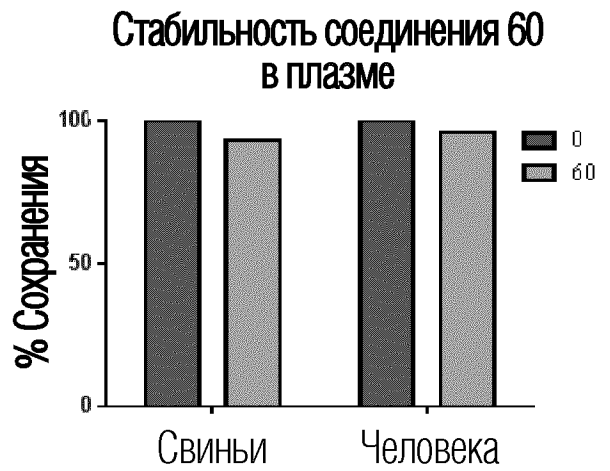
ФИГ. 26А



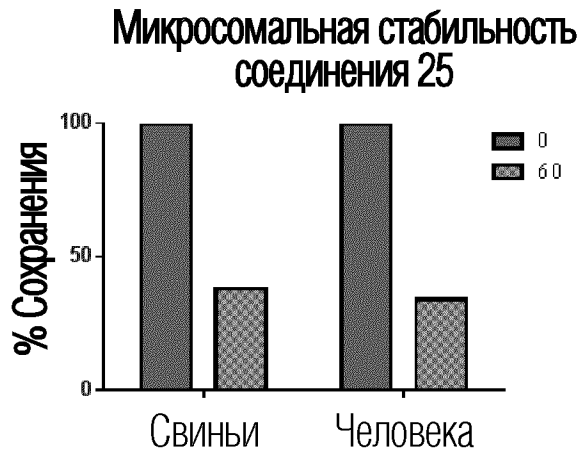
ФИГ. 26В



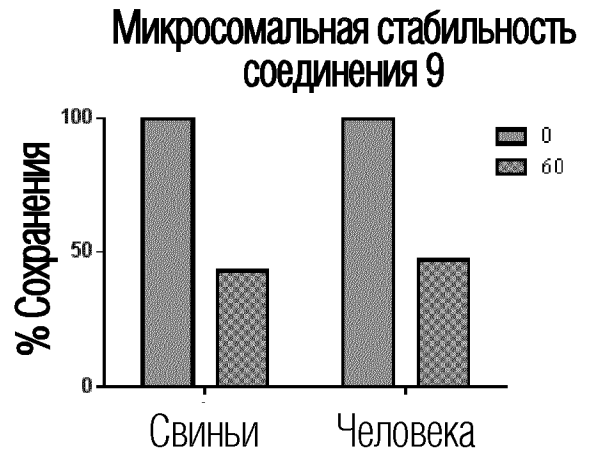
ФИГ. 26С



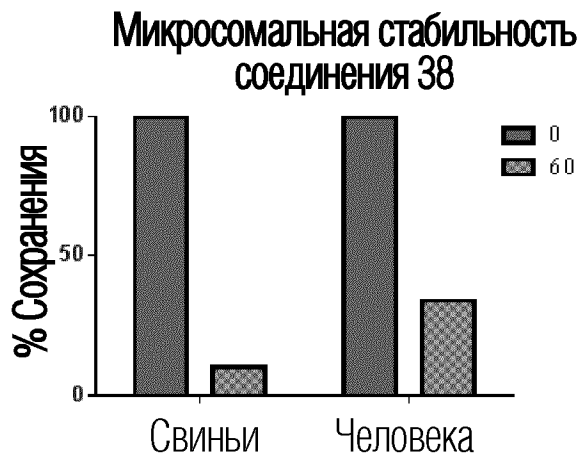
ФИГ. 26D



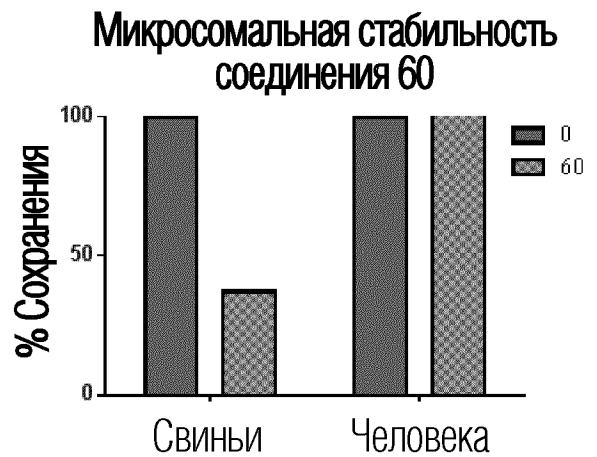
ФИГ. 27А



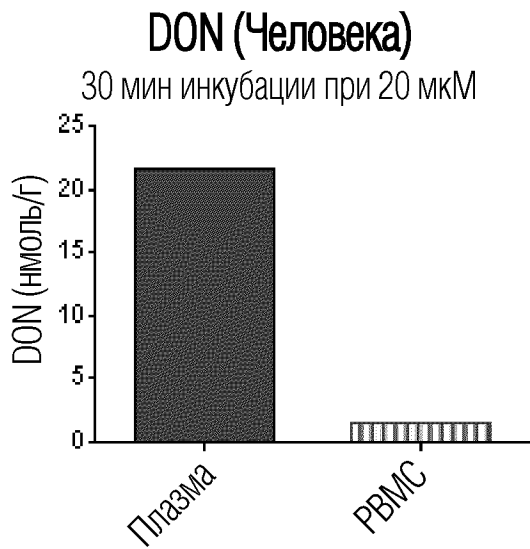
ФИГ. 27В



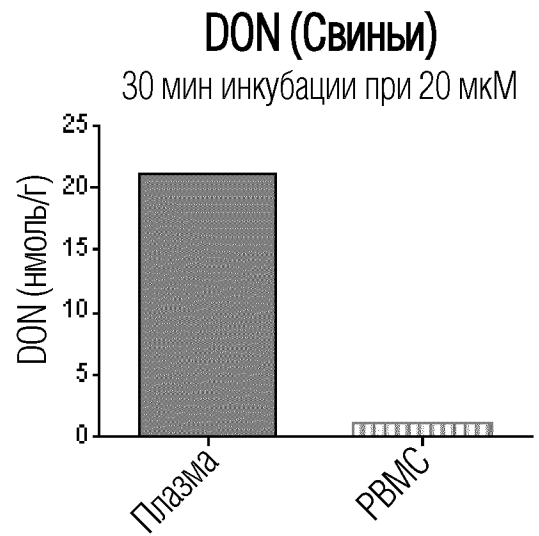
ФИГ. 27С



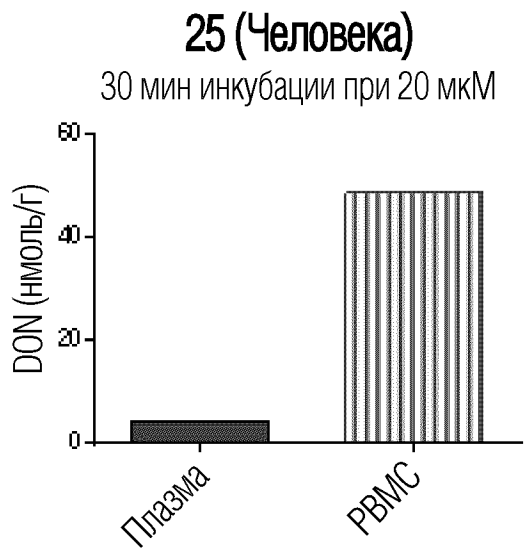
ФИГ. 27D



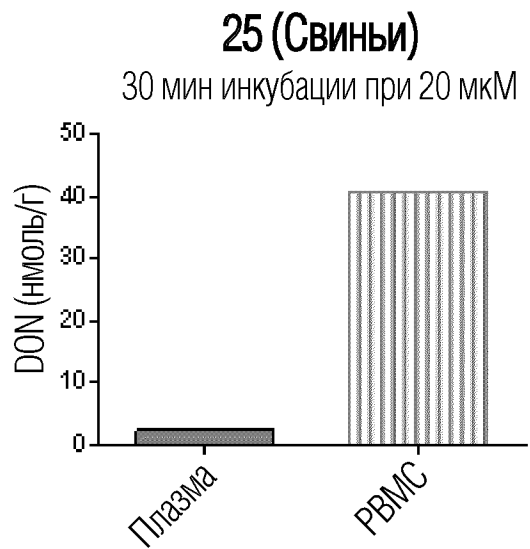
ФИГ. 28А



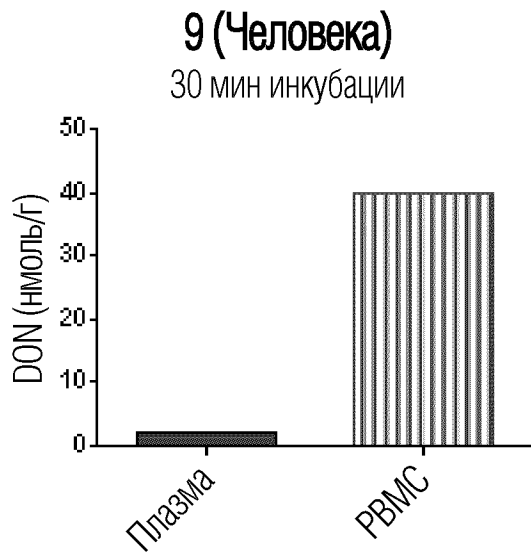
ФИГ. 28В



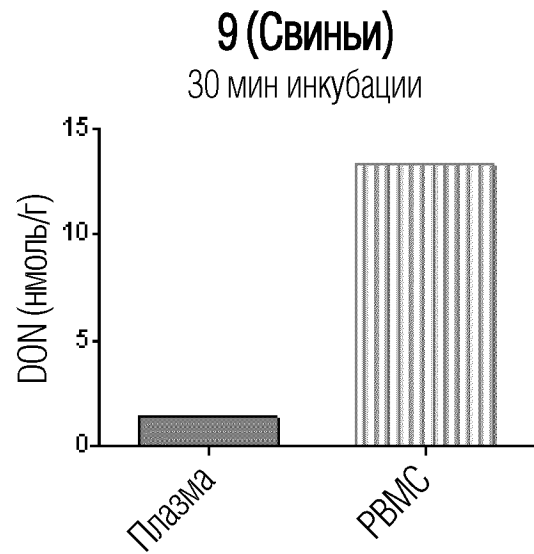
ФИГ. 28С



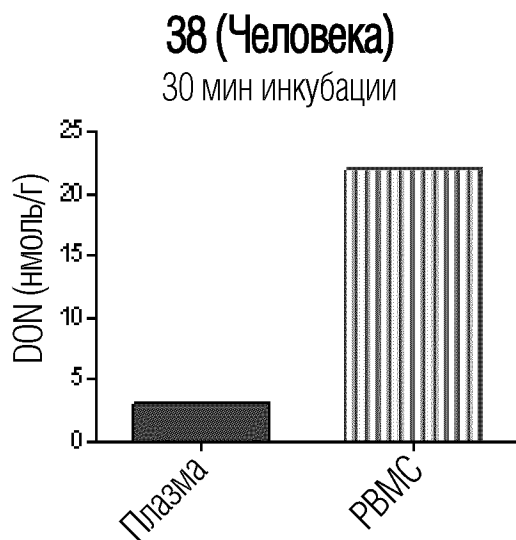
ФИГ. 28D



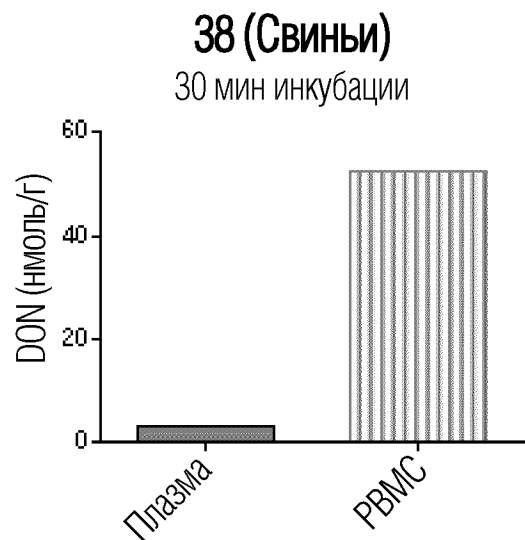
ФИГ. 28Е



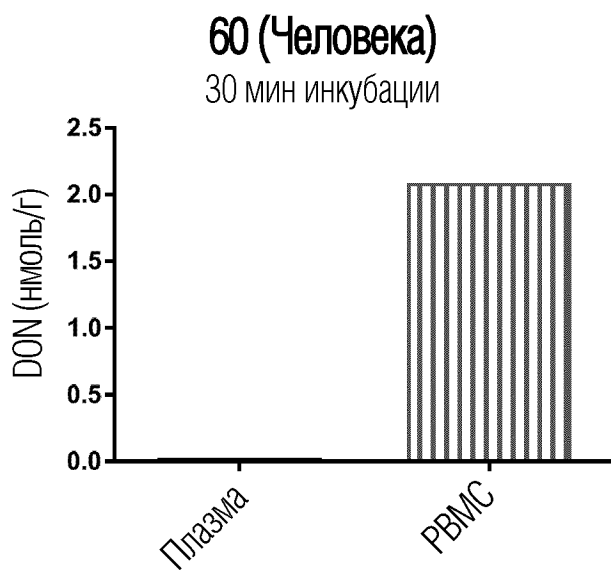
ФИГ. 28Ф



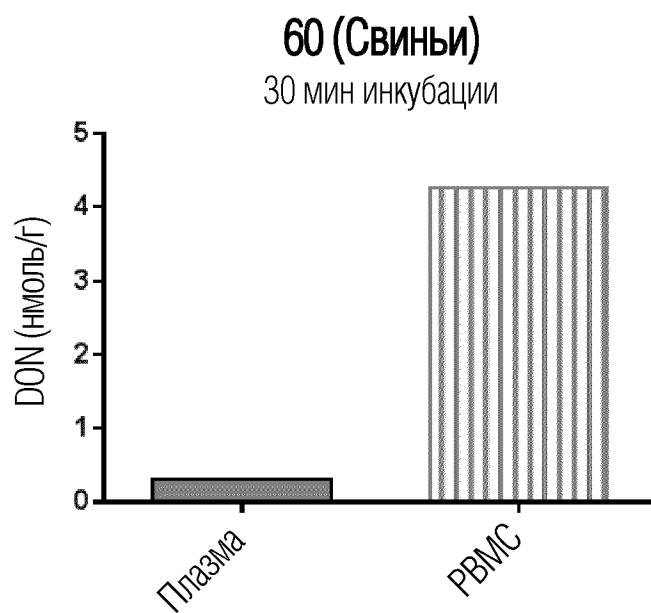
ФИГ. 28G



ФИГ. 28H

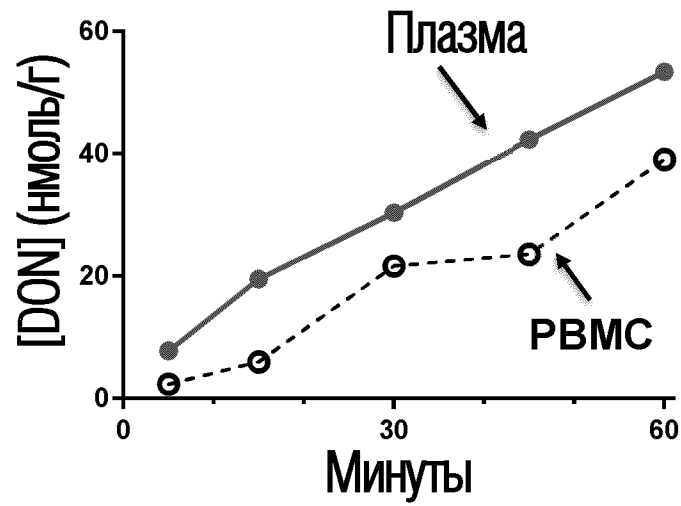


ФИГ. 28I



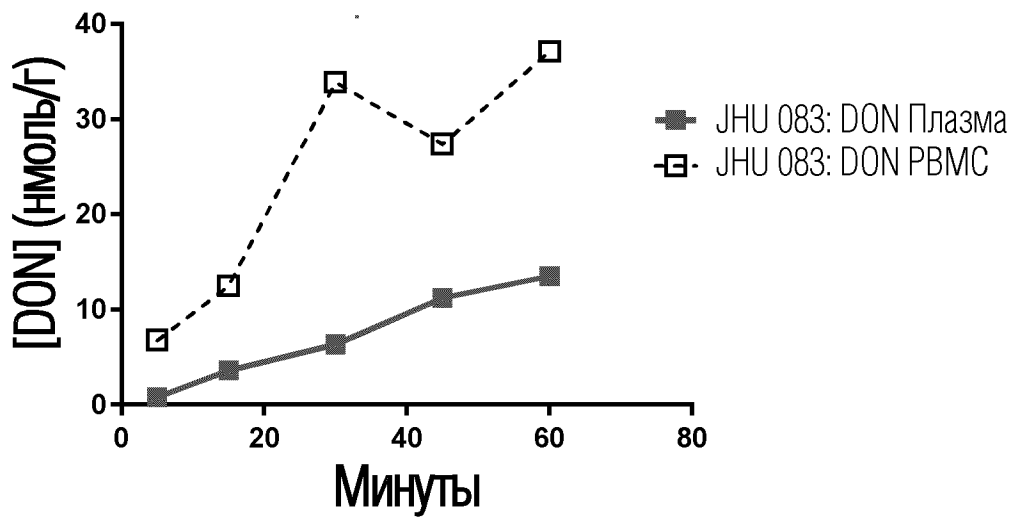
ФИГ. 28J

DON: 1 час в.в. инфузия



ФИГ. 29А

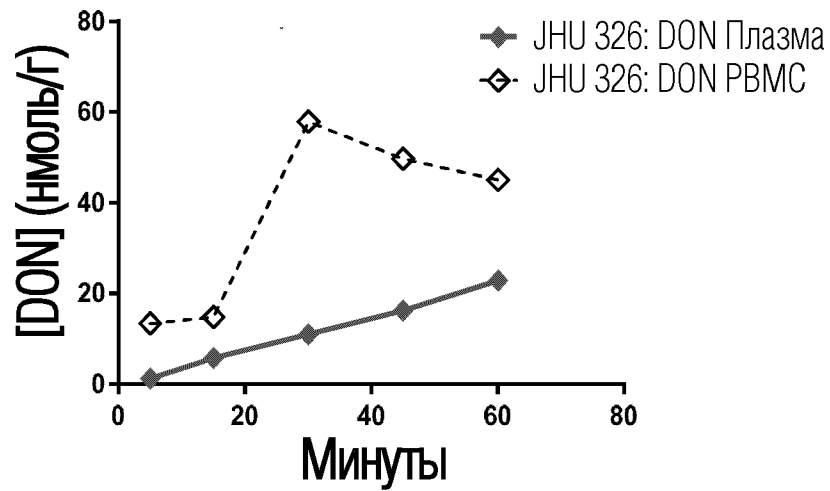
Соединение 25: 1 час в.в. инфузия



ФИГ. 29В

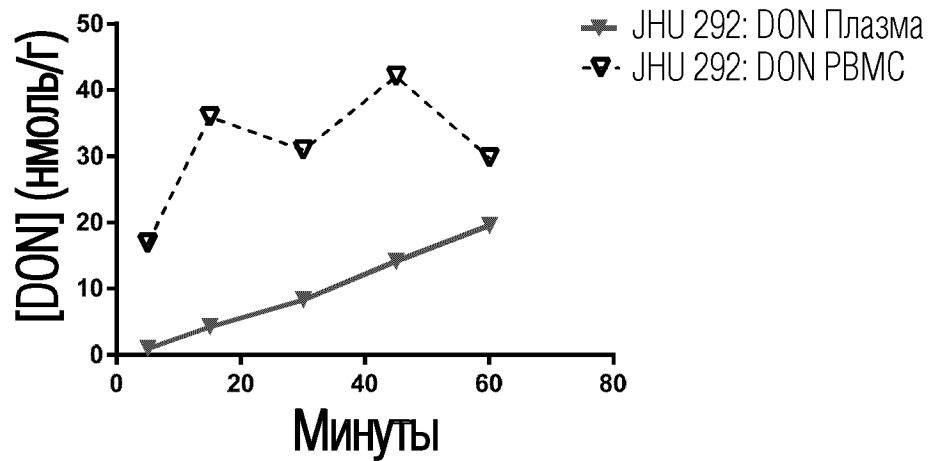


## Соединение 9: 1 час в.в. инфузия



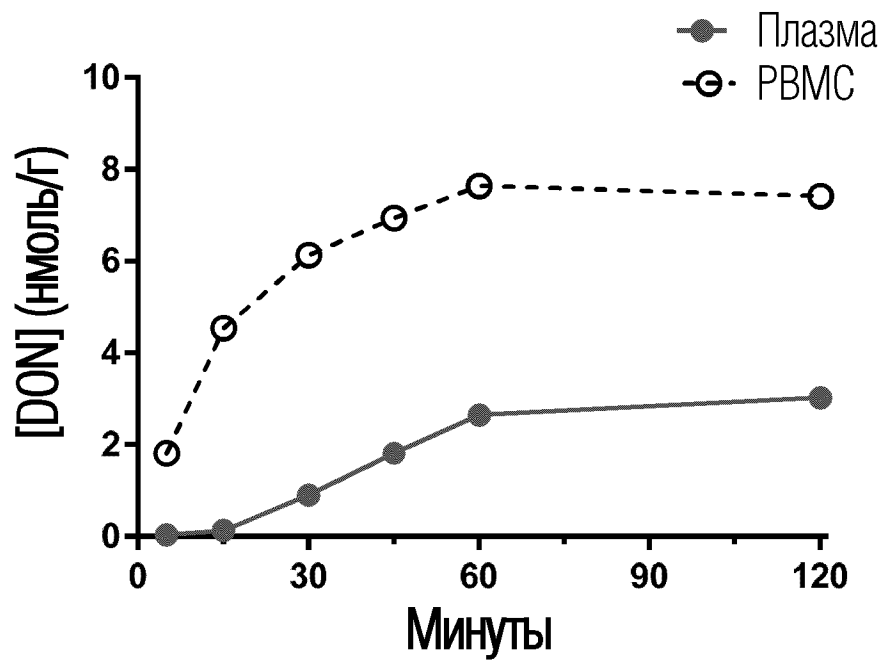
ФИГ. 29С

## Соединение 38: 1 час в.в. инфузия

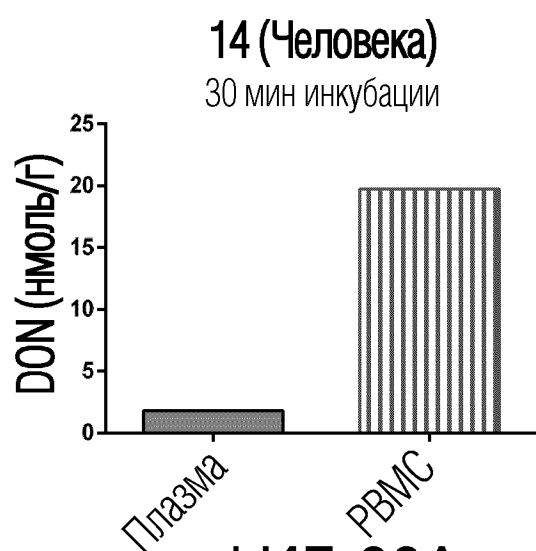


ФИГ. 29D

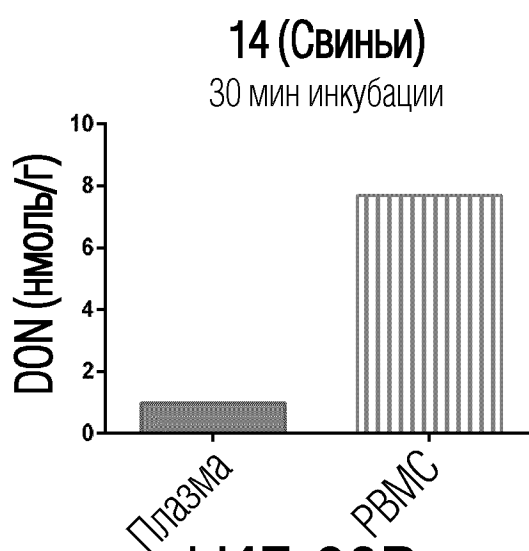
## Соединение 60: 1 час в.в. инфузия



ФИГ. 29Е

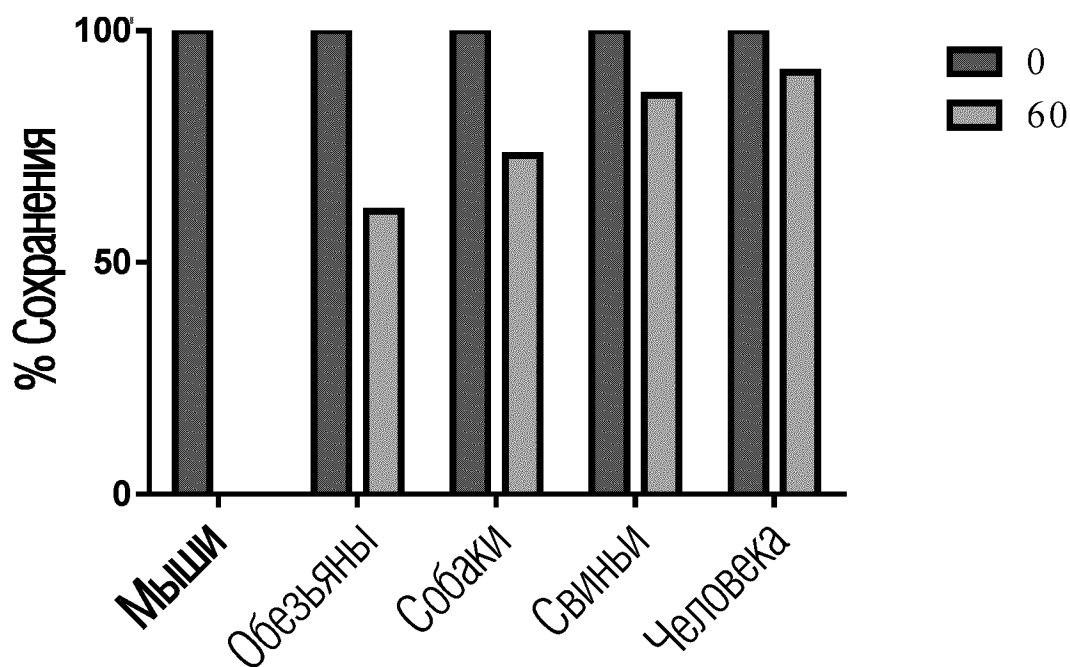


ФИГ. 30А



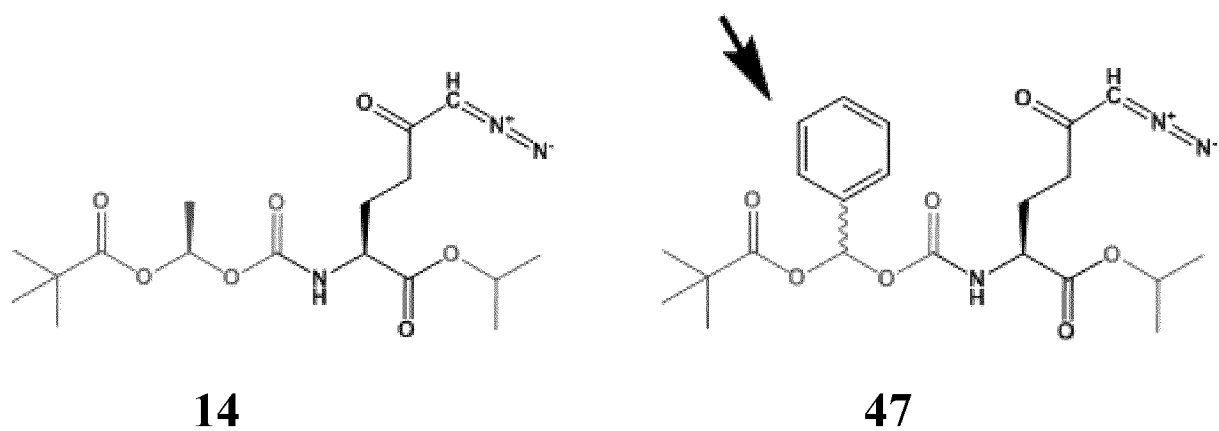
ФИГ. 30В

### Стабильность соединения 14 в плазме

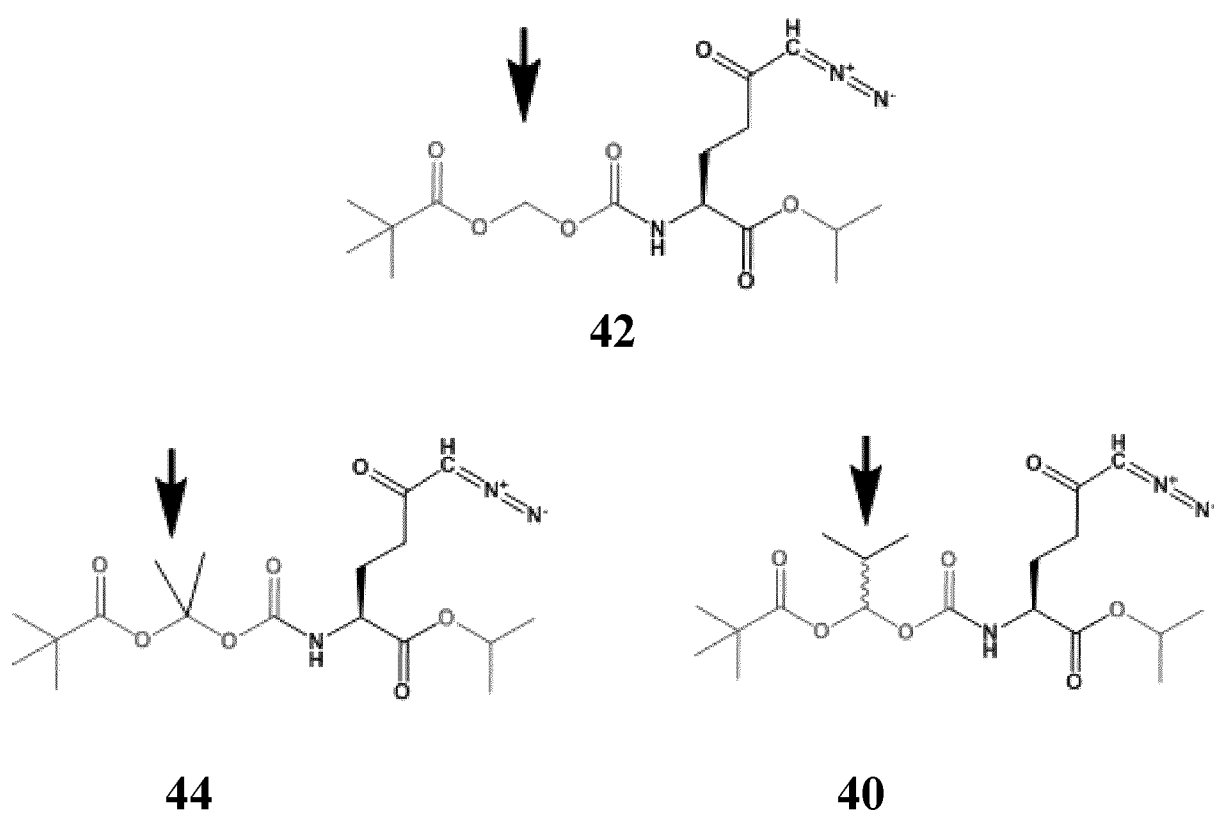


Представители вида

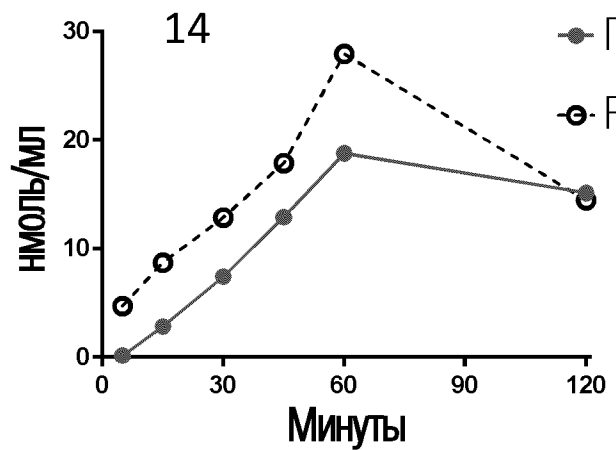
ФИГ. 30С



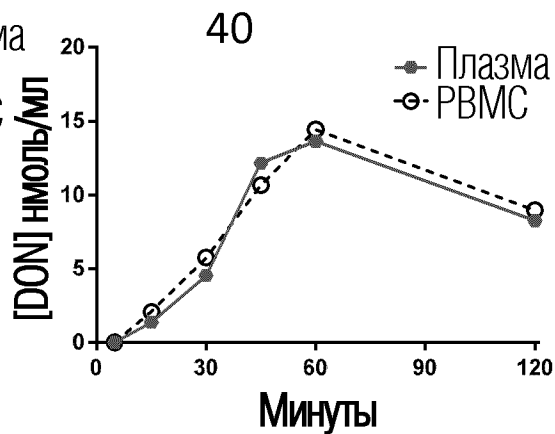
ССЫЛОЧНОЕ СОЕДИНЕНИЕ



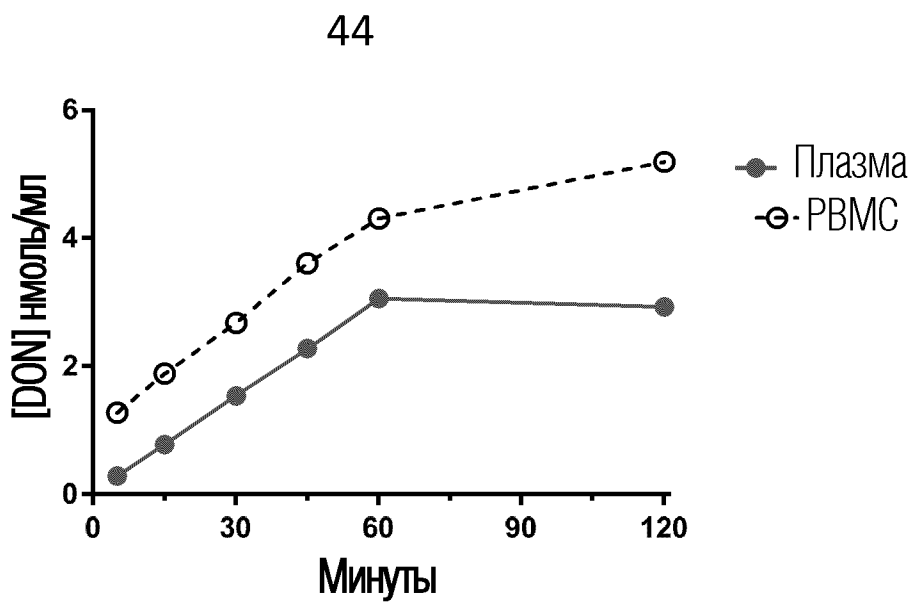
ФИГ. 31



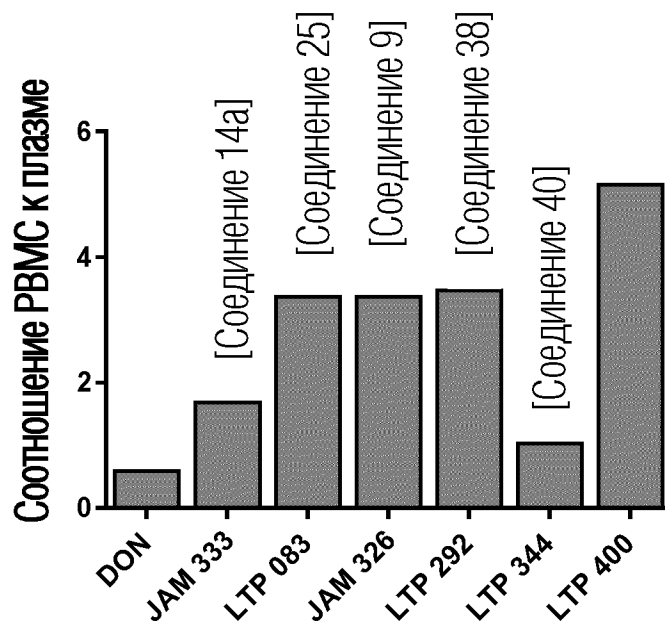
ФИГ. 32А



ФИГ. 32В



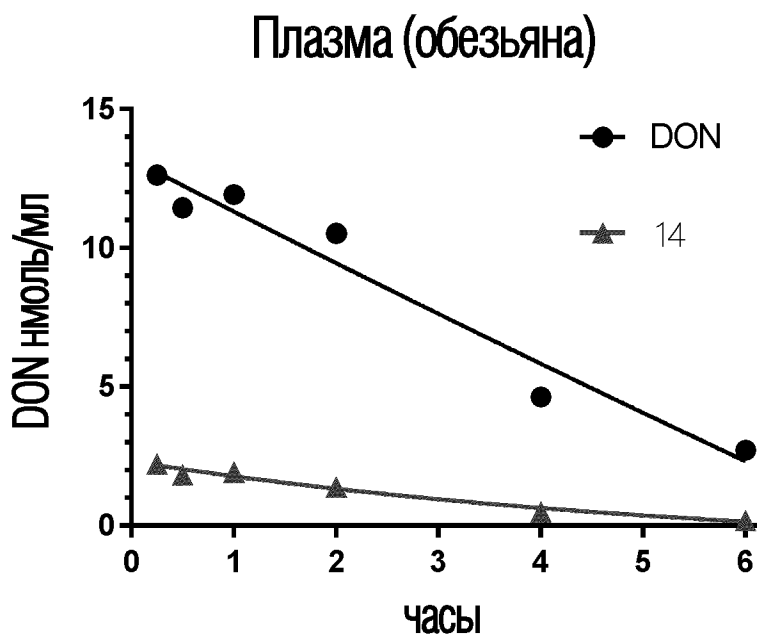
ФИГ. 32С



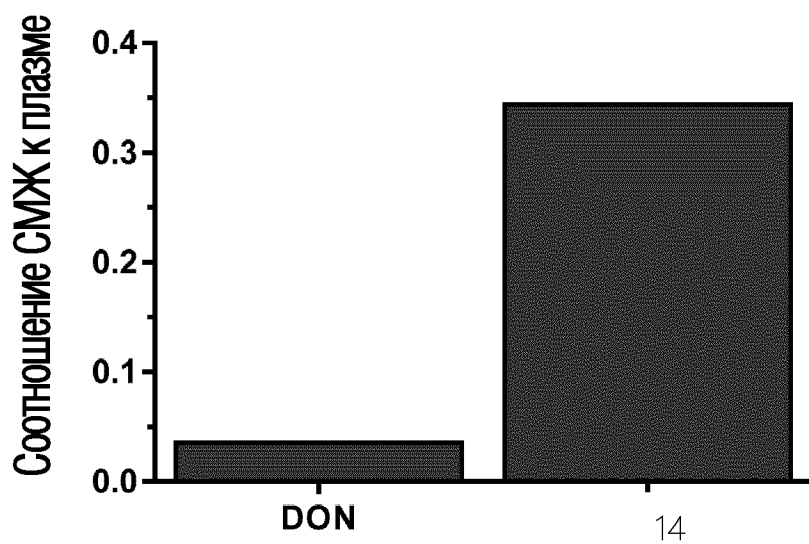
	DON	JAM 333	LTP 083	JAM 326	LTP 292	LTP 344	LTP 400	LTP 387
Плазма	29.9	8.0	6.9	11.1	9.1	6.2	1.4	1.5
RBMS	17.7	13.6	23.4	37.3	31.6	6.3	7.2	2.7

Соотношение RBMS/плазма	0.59	1.69	3.37	3.37	3.47	1.03	5.15	1.73

ФИГ. 33

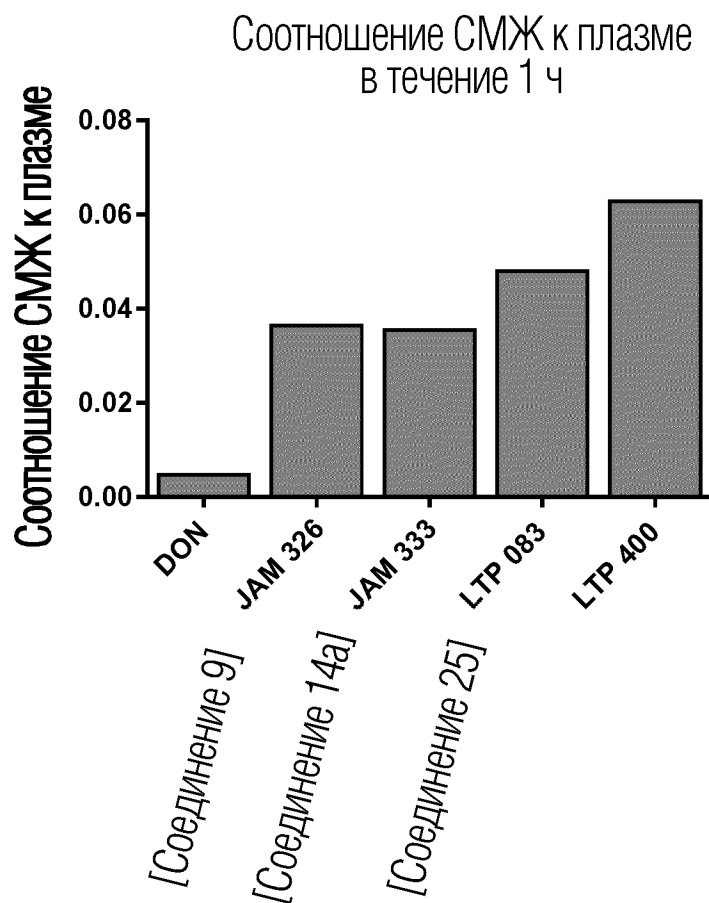


ФИГ. 34А



ФИГ. 34В

- СМЖ НПКО (<30 нМ) через 10 и 30 минут после LTD 400 инфузии
- $\approx 170$  нМ через час (последняя временная точка для СМЖ)



ФИГ. 35



Клинические заключения за  
5-дневный период наблюдений

	DON		38	
	Свинья 22987	Свинья 23302	Свинья 23172	Свинья 23199
День 1	WNL	WNL	WNL	WNL
День 2	WNL	WNL	WNL	WNL
День 3	WNL	WNL	WNL	WNL
День 4	анорексия летаргия	анорексия, летаргия, нет опорожнения кишечника	пониженный аппетит	WNL
День 5	анорексия, летаргия, легкая диарея	анорексия, нет опорожнения кишечника	WNL	пониженный аппетит

WNL (в нормальных пределах)  
анорексия = нет потребления корма

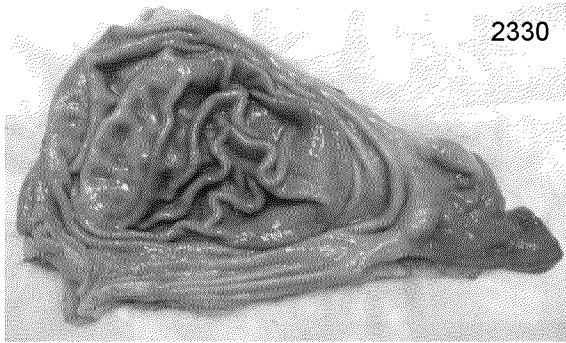
Обработанная DON свинья  
#22987



- синие уши и морда
- опущенная голова
- снижение активности в клетке
- снижение социального взаимодействия
- диарея

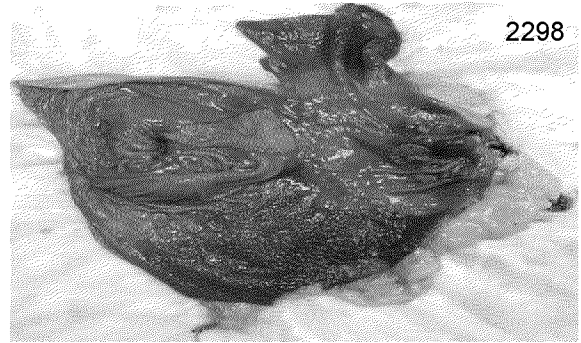
ФИГ. 36

**DON**



Умеренно локализованный  
ФИГ. 37А

**DON**



Отделено генерализованный  
ФИГ. 37В

**38**

2317



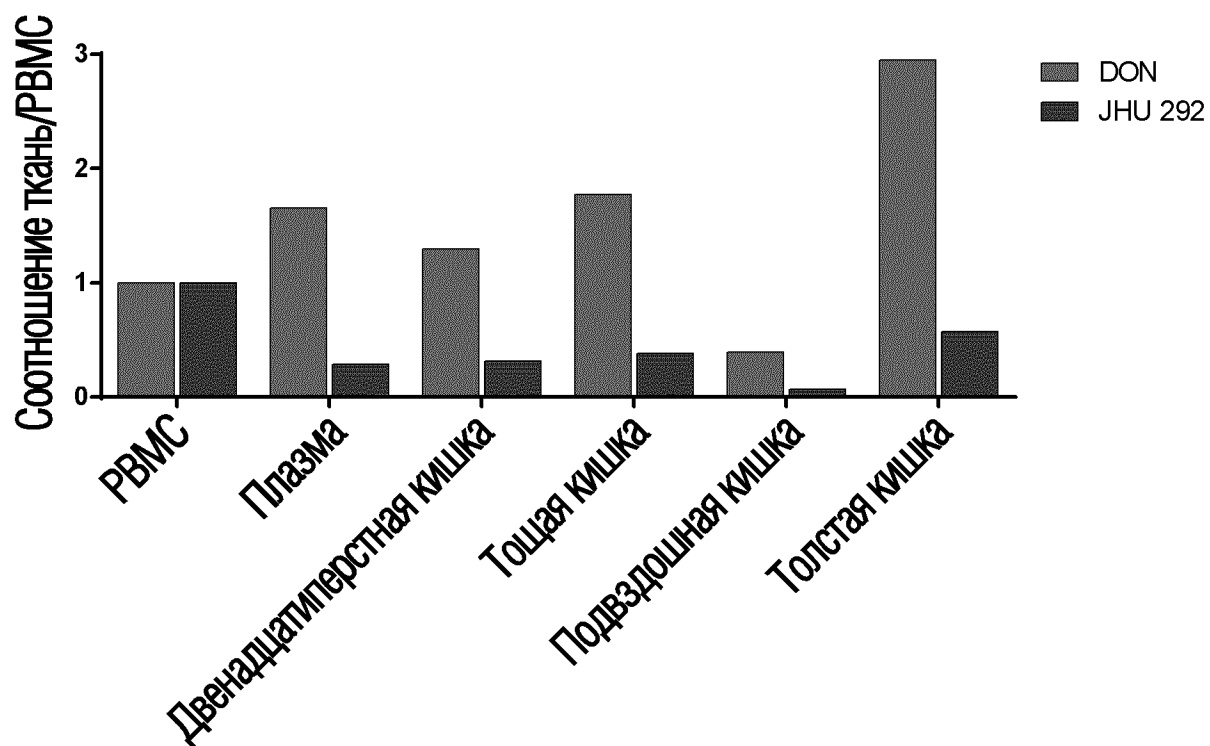
Нормально представленный желудок  
ФИГ. 37С

**38**

2319



Нормально представленный желудок  
ФИГ. 37D



ФИГ. 38