

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 034708

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.03.10

(51) Int. Cl. A61K 31/00 (2006.01)

(21) Номер заявки
201791626

(22) Дата подачи заявки
2016.03.07

(54) 1,2,4-ОКСАДИАЗОЛЬНЫЕ И ТИАДИАЗОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ
ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ

(31) 1178/CHE/2015; 1180/CHE/2015

(56) WO-A1-2012168944
WO-A1-2015033299

(32) 2015.03.10

(33) IN

(43) 2018.08.31

(86) PCT/IB2016/051266

(87) WO 2016/142833 2016.09.15

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
АУРИДЖЕН ДИСКАВЕРИ
ТЕКНОЛОДЖИС ЛИМИТЕД (IN)

(72) Изобретатель:
Сасикумар Поттайил Говиндан
Наир, Рамачандра Муралидхара,
Наремаддепалли Ситхарамая Сетти
Сударсхан (IN)

(74) Представитель:
Тагбергенова М.М., Тагбергенова А.Т.
(KZ)

(57) Изобретение относится к 1,2,4-оксадiazольным и тиадiazольным соединениям формулы (I) и их применению для ингибирования сигнального пути запрограммированной гибели клетки 1 (PD1) и/или для лечения нарушений путем ингибирования иммуносупрессивного сигнала, индiciрованного PD-1, PD-L1 или PD-L2.

034708 B1

034708 B1

034708

B1

Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании предварительной заявки Индии №1180/CHE/2015 г., поданной 10 марта 2015 г., и предварительной заявки Индии №1178 CHE/2015 г., поданной 10 марта 2015 г., описания которых включены в настоящий документ посредством ссылки во всей полноте.

Область техники

Изобретение относится к 1,2,4-оксадиазольным и тиadiaзольным соединениям и их производным, подходящим для терапевтического применения в качестве иммуномодуляторов. Изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим 1,2,4-оксадиазольные и тиadiaзольные соединения и их производные.

Уровень техники

Белок запрограммированной гибели клеток-1 (PD-1) является членом надсемейства CD28, который передаёт отрицательные сигналы при взаимодействии с двумя его лигандами PD-L1 или PD-L2. PD-1 и его лиганды широко экспрессируются и проявляют более широкий спектр иммунорегуляторных ролей в активации и толерантности Т-клеток по сравнению с другими членами CD28. PD-1 и его лиганды участвуют в ослаблении инфекционного иммунитета и опухолевого иммунитета и способствуют хронической инфекции и прогрессированию опухоли. Биологическое значение PD-1 и его лиганда указывает на терапевтический потенциал манипуляции с путём PD-1 в отношении различных заболеваний человека (Hyun-Tak Jin, et. al., Curr Top Microbiol Immunol. (2011); 350:17-37).

Активация и дисфункция Т-клеток зависит от прямых и модулированных рецепторов. Основываясь на их функциональном выходном сигнале, молекулы совместной сигнализации могут быть разделены на костимуляторы и коингибиторы, которые положительно и отрицательно регулируют прайминг, рост, дифференцировку и функциональное созревание Т-клеточного ответа (Li Shi, et. al., Journal of Hematology & Oncology 2013, 6:74).

Терапевтические антитела, которые блокируют контрольную точку пути белка запрограммированной гибели-1 (PD-1), предотвращают понижающую регуляцию Т-клеток и стимулируют иммунные реакции против рака. Некоторые ингибиторы пути PD-1 продемонстрировали устойчивую активность на разных этапах клинических испытаний (RD Harvey, Clinical Pharmacology & Therapeutics).

Запрограммированная гибель-1 (PD-1) является корецептором, который экспрессируется преимущественно Т-клетками. Связывание PD-1 с его лигандами PD-L1 или PD-L2 жизненно важно для физиологической регуляции иммунной системы. Основной функциональной ролью сигнального пути PD-1 является ингибирование аутореактивных Т-клеток, которые служат для защиты от аутоиммунных заболеваний. Таким образом, устранение пути PD-1 может привести к разрушению иммунной толерантности, что в конечном итоге может привести к развитию патогенного аутоиммунитета. И наоборот, опухолевые клетки могут иногда кооптировать путь PD-1 для выхода из механизмов иммунного надзора. Таким образом, блокада пути PD-1 стала привлекательной мишенью в терапии рака. Современные подходы включают шесть агентов, которые представляют собой либо PD-1, либо PD-L1 нацеленные нейтрализующие антитела или слитые белки. В настоящее время проводится более сорока клинических испытаний, чтобы лучше определить роль блокады PD-1 в различных типах опухолей (Ariel Pedoeem et. al., Clinical Immunology (2014), 153(1), 145-152).

В международных заявках WO2002086083, WO2004004771, WO2004056875, WO2006121168, WO2008156712, WO2010077634, WO2011066389, WO2014055897 и WO2014100079 сообщается о PD-1, PD-L1 ингибирующих антителах и/или способах идентификации таких антител. Кроме того, в патентах США, таких как US8735553 и US8168757, сообщается об ингибирующих антителах PD-1 или PD-L1 и/или слитых белках.

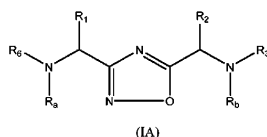
Кроме того, в международных заявках WO2011161699, WO2012168944, WO2013144704 и WO2013132317 сообщается о пептидах или пептидомиметических соединениях, которые способны подавлять и/или ингибировать сигнальный путь запрограммированной гибели клеток 1 (PD1).

Тем не менее, существует потребность в более активных, лучших и/или селективных иммуномодуляторах пути PD-1.

Сущность изобретения

В настоящем изобретении предложены 1,2,4-оксадиазольные и тиadiaзольные соединения и их фармацевтически приемлемые соли или стереоизомеры. Указанные соединения способны подавлять и/или ингибировать сигнальный путь запрограммированной гибели клеток-1 (PD1).

В одном аспекте в настоящем изобретении предложены 1,2,4-оксадиазольные и тиadiaзольные соединения формулы (IA)



или его фармацевтически приемлемая соль; где

R₁ и R₂ представляют собой независимо боковую цепь аминокислоты, выбранной из Ala, Glu, Ser,

Tip, Tyr, Lys, He, Asn, Phe, Thr, Val, Cys, Arg, His, Met, Asp, Gln и Leu, или водород, (C₁-C₆)алкил или 6-членный циклоалкил; где (C₁-C₆)алкил необязательно замещен одним заместителем, выбранными из amino, гетероциклиламино, в котором гетероцикл представляет собой 10-членный гетероцикл, содержащий 2 атома O, (C₁-C₆)алкиламино, (C₁-C₆)ациламино, (C₁-C₆)карбоновой кислоты, -CONR₇R₈, гидроксид, 3-6-членного циклоалкила, 6-членного арила, 5-10-членного гетероарила, содержащего 1-2 атома N, гуанидино, -SH и -S((C₁-C₆)алкила); где 6-членный арил необязательно дополнительно замещен гидроксигруппой; или необязательно где два или три атома углерода (C₁-C₆)алкила образуют часть 3-7-членного гетероциклического кольца, содержащего атом N;

R₃ представляет собой -CO-[Aaa1]_m, -S(O)_p-[Aaa1]_m, -CONR₇R₈, -COR_c, -SO₂R_c или (C₁-C₆)алкил; где (C₁-C₆)алкил необязательно замещен одним 5-членным гетероариллом, содержащим 2 атома N; где 5-членный гетероарил необязательно дополнительно замещен одним (C₁-C₆)алкилом;

R₆ представляет собой водород, (C₁-C₆)алкил или (C₁-C₆)ацил;

R₇ и R₈ независимо представляют собой водород, (C₁-C₈)алкил или 6-членный арил; где (C₁-C₈)алкил или 6-членный арил необязательно замещены одним заместителем, выбранным из гидроксид, амина, 10-членного гетероцикла, содержащего 2 атома O, 5-10-членного гетероарила, содержащего 1-3 гетероатома, выбранных из N и O, 6-членного арила и гуанидино; или

R₇ и R₈ вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют необязательно замещенное 5-6-членное гетероциклическое кольцо, содержащее атом N;

каждый [Aaa1] представляет собой аминокислотный остаток, выбранный из Ala, Thr, He, Glu, Lys, Tyr, Asp, Pro, Met, Gln, Ser, Phe, Val, Trp, Arg, Asn, Leu и Met; где C-концевая карбоксильная группа аминокислотного остатка представляет собой свободную C-концевую карбоксильную группу (-COOH) или C-концевую карбоксильную группу, алкилированную (C₁-C₆)алкилом, и N-концевая аминогруппа аминокислотного остатка представляет собой свободный N-конец (-NH₂);

R_a представляет собой водород или (C₁-C₆)алкил;

R_b представляет собой водород или (C₁-C₆)алкил; или R_b и R₂ вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют пирролидин, необязательно замещенный одной группой, независимо выбранной из гидроксид и (C₁-C₆)алкила;

R_c представляет собой (C₁-C₆)алкил, 3-6-членный циклоалкил или 6-членный арил; где 6-членный арил необязательно замещен одним заместителем, выбранным из гидроксид и (C₁-C₆)алкила;

m представляет собой целое число от 1 до 3; p представляет собой целое число от 1 до 2;

при условии, что, когда R₂ представляет собой боковую цепь Asp, Asn, Glu или Gln, R₃ представляет собой водород, -CO-Ser или -CO-Thr, R₆ представляет собой водород, (C₁-C₆)алкил или (C₁-C₆)ацил и R_a и R_b представляют собой водород, тогда R₁ не является боковой цепью Ser или Thr.

В дополнительном аспекте в настоящем изобретении предложены фармацевтические композиции, содержащие соединение формулы (IA) или его фармацевтически приемлемую соль или стереоизомер и способ получения таких композиций.

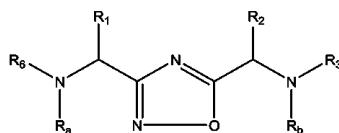
В еще одном аспекте в настоящем изобретении предложены способы введения соединения формулы (IA) или фармацевтически приемлемой соли или стереоизомера для подавления и/или ингибирования сигнального пути запрограммированной гибели клеток 1 (PD1). Например, указанные соединения могут быть использованы для лечения одного или более заболеваний, характеризующихся нарушенной или нежелательной активностью сигнального пути PD1.

Подробное описание изобретения

В настоящем изобретении предложены 1,2,4-оксадиазольные и тиадиазольные соединения и их производные в качестве терапевтических агентов, подходящих для лечения нарушений посредством иммуностимуляции, включающей ингибирование иммуносупрессивного сигнала, индуцированного PD-1, PD-L1 или PD-L2, и терапии, в которых применяются указанные соединения.

Каждый вариант реализации представлен для пояснения изобретения, а не для ограничения изобретения. Фактически, специалистам в данной области будет понятно, что различные модификации и вариации могут быть сделаны для соединений, композиций и способов, описанных в настоящем документе, без отхода от объема или сущности изобретения. Например, признаки, проиллюстрированные или описанные как часть одного варианта реализации, могут быть применены к другому варианту реализации для получения еще одного варианта реализации. Таким образом, предполагается, что настоящее изобретение включает такие модификации и варианты и их эквиваленты. Другие объекты, признаки и аспекты настоящего изобретения раскрыты или очевидны из следующего подробного описания. Специалисту в данной области должно быть понятно, что настоящее обсуждение является описанием только примерных вариантов реализации и не должно истолковываться как ограничение более широких аспектов настоящего изобретения.

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложены соединения формулы (IA)



(IA)

или его фармацевтически приемлемая соль; где

R_1 и R_2 представляют собой независимо боковую цепь аминокислоты, выбранной из Ala, Glu, Ser, Trp, Tyr, Lys, Ile, Asn, Phe, Thr, Val, Cys, Arg, His, Met, Asp, Gln и Leu, или водород, (C_1-C_6) алкил или 6-членный циклоалкил; где (C_1-C_6) алкил необязательно замещен одним заместителем, выбранным из амина, гетероциклиламина, в котором гетероцикл представляет собой 10-членный гетероцикл, содержащий 2 атома O, (C_1-C_6) алкиламина, (C_1-C_6) ациламина, (C_1-C_6) карбоновой кислоты, $-CONR_7R_8$, гидрокси, 3-6-членного циклоалкила, 6-членного арила, 5-10-членного гетероарила, содержащего 1-2 атома N, гуанидино, $-SH$ и $-S((C_1-C_6)алкила)$; где 6-членный арил необязательно дополнительно замещен гидрокси-группой; или необязательно где два или три атома углерода (C_1-C_6) алкила образуют часть 3-7-членного гетероциклического кольца, содержащего атом N;

R_3 представляет собой $-CO-[Aaa1]_m$, $-S(O)_p-[Aaa1]_m$, $-CONR_7R_8$, $-COR_c$, $-SO_2R_c$ или (C_1-C_6) алкил; где (C_1-C_6) алкил необязательно замещен одним 5-членным гетероариллом, содержащим 2 атома N; где 5-членный гетероарил необязательно дополнительно замещен одним (C_1-C_6) алкилом;

R_6 представляет собой водород, (C_1-C_6) алкил или (C_1-C_6) ацил;

R_7 и R_8 независимо представляют собой водород, (C_1-C_8) алкил или 6-членный арил; где (C_1-C_8) алкил или 6-членный арил необязательно замещены одним заместителем, выбранным из гидроксила, амина, 10-членного гетероцикла, содержащего 2 атома O, 5-10-членного гетероарила, содержащего 1-3 гетероатома, выбранных из N и O, 6-членного арила и гуанидино; или

R_7 и R_8 вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют необязательно замещенное 5-6-членное гетероциклическое кольцо, содержащее атом N;

каждый $[Aaa1]$ представляет собой аминокислотный остаток, выбранный из Ala, Thr, Ile, Glu, Lys, Tyr, Asp, Pro, Met, Gln, Ser, Phe, Val, Trp, Arg, Asn, Leu и Met; где C-концевая карбоксильная группа аминокислотного остатка представляет собой свободную C-концевую карбоксильную группу ($-COOH$) или C-концевую карбоксильную группу, алкилированную (C_1-C_6) алкилом, и N-концевая аминогруппа аминокислотного остатка представляет собой свободный N-конец ($-NH_2$);

R_a представляет собой водород или (C_1-C_6) алкил;

R_b представляет собой водород или (C_1-C_6) алкил; или R_1 и R_2 вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют пирролидин, необязательно замещенный одной группой, независимо выбранной из гидроксила и (C_1-C_6) алкила;

R_c представляет собой (C_1-C_6) алкил, 3-6-членный циклоалкил или 6-членный арил; где 6-членный арил необязательно замещен одним заместителем, выбранным из гидроксила и (C_1-C_6) алкила;

m представляет собой целое число от 1 до 3;

p представляет собой целое число от 1 до 2;

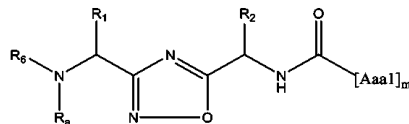
при условии, что, когда R_2 представляет собой боковую цепь Asp, Asn, Glu или Gln, R_3 представляет собой водород, $-CO-Ser$ или $-CO-Thr$, R_6 представляет собой водород, (C_1-C_6) алкил или (C_1-C_6) ацил и R_a и R_b представляют собой водород, тогда R_1 не является боковой цепью Ser или Thr.

R_1 , R_2 , R_3 , R_5 , R_a и R_b являются такими, как определено в формуле (IA).

Согласно некоторым вариантам реализации соединения формулы (IA) R_b представляет собой H.

Согласно дополнительным вариантам реализации соединения формулы (IA) R_3 представляет собой $-CO-[Aaa1]_m$

Например, соединения согласно настоящему изобретению могут иметь структуру формулы (IB)

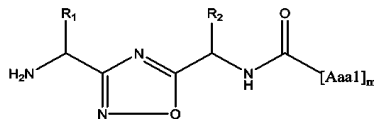


(IB)

или их фармацевтически приемлемая соль или стереоизомер; где,

R_1 , R_2 , R_6 , R_a , $[Aaa1]$ и m являются такими, как определено в формуле (IA).

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложены соединения формулы (IC)



(IC)

или их фармацевтически приемлемая соль или стереоизомер; где, R_1 , R_2 , [Aaa1] и m являются такими, как определено в формуле (IA).

Под аминокислотным остатком в данной области техники понимают карбоновую кислоту, замещенную по альфа, бета или гамма-углероду аминогруппой ($-NH_2$). В группе $-CO-Aaa$ аминокислотный остаток Aaa связан с карбонильной группой CO посредством ковалентной связи между карбонильным углеродом и аминогруппой аминокислотного остатка. В предпочтительных вариантах реализации аминокислота представляет собой альфа-аминокислоту и аминокислотный остаток Aaa соединен с карбонильной группой CO посредством ковалентной связи между карбонильным углеродом и альфа-аминогруппой аминокислотного остатка.

В соответствии с одним из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации формулы (IA) R_3 представляет собой $-CO-Aaa$.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации формулы (IA), (IB) или (IC) R_1 представляет собой (C_1-C_6) алкил, замещенный amino или 5-10-членного гетероарила, содержащего 1-2 атома N. Предпочтительно, R_1 представляет собой $-(CH_2)_4NH_2$.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации R_1 представляет собой боковую цепь аминокислоты.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации R_2 представляет собой боковую цепь аминокислоты.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации R_1 представляет собой боковую цепь Lys, Tyr, Gln, Ser, Ala, Glu, Leu, Asp или His.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации R_1 представляет собой боковую цепь Lys, Tyr или Gln.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации R_1 представляет собой боковую цепь Tyr.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации R_1 представляет собой боковую цепь Lys.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации R_1 представляет собой боковую цепь Gln.

Согласно альтернативным вариантам реализации R_1 не представляет собой боковую цепь Ser или Thr; т.е., R_1 не представляет собой $-CH_2OH$ или $-CH(CH_3)OH$. Согласно дополнительным альтернативным вариантам реализации R_1 не представляет собой боковую цепь Ser или Thr, которые являются алкилированными или ацилированными. Например, согласно некоторым вариантам реализации R_1 не представляет собой $-CH_2OCH_3$, $-CH_2OAc$, $-CH(CH_3)OCH_3$ или $-CH(CH_3)OAc$. Согласно дополнительным вариантам реализации R_1 не представляет собой боковую цепь Ser или Thr, которые необязательно являются алкилированными или ацилированными, т.е., R_1 не представляет собой $-CH_2OH$, $-CH(CH_3)OH$, $-CH_2OCH_3$, $-CH_2OAc$, $-CH(CH_3)OCH_3$ или $-CH(CH_3)OAc$.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации формулы (IA), (IB) или (IC) R_2 представляет собой (C_1-C_6) алкил, замещенный амидо. Согласно некоторым вариантам реализации R_2 представляет собой $-(CH_2)_2C(O)NH_2$ или $-CH_2C(O)NH_2$. Предпочтительно, R_2 представляет собой $-CH_2C(O)NH_2$.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации R_2 представляет собой боковую цепь Gly, Gln, Glu, Ser, Asn, Asp, Ala или Ile.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации R_2 представляет собой боковую цепь Gln, Glu, Asn, Asp или Ile.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации R_2 представляет собой боковую цепь Ile.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации R_2 представляет собой боковую цепь Ala.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации R_2 представляет собой боковую цепь Asn.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации R_1 и R_2 , вместе с атомами, к которым они присоединены, могут образовывать пирролин, необязательно замещенный гидроксильной группой.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации m представляет собой 1.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации [Aaa1] содержит боковую цепь, которая включает фрагмент $-OH$.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации [Aaa1] представляет собой Ala, Thr, Ile, Glu, Lys, Asp, Tyr, Gln, Ser или Phe.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации [Aaa1] представляет собой Ser, Thr, Tyr, Glu, Ala или Ile.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации [Aaa1] представляет собой Tug.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации [Aaa1] представляет собой Glu.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации [Aaa1] представляет собой Ala.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации [Aaa1] представляет собой Thr.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации [Aaa1] представляет собой He.

Согласно альтернативным вариантам реализации R₃ представляет собой -CO-[Aaa1], и Aaa1 не представляет собой аминокислотный остаток Thr или Ser.

Согласно дополнительным альтернативным вариантам реализации R₃ не представляет собой H или -CO-[Aaa1].

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации n представляет собой 1.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации p представляет собой 2.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации один, более или все аминокислотные остатки представляют собой D аминокислотные остатки.

В соответствии с любым из приведенных выше вариантов реализации согласно некоторым вариантам реализации один, более одного или все аминокислотные остатки представляют собой L аминокислотные остатки.

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложено соединение или его фармацевтически приемлемая соль или стереоизомер, выбранные из:

№ соединения	Структура
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	

10	
11	
12	
13	
14	
15	
16	
17	
18	
19	
20	
21	
22	
23	
24	
25	
26	
27	

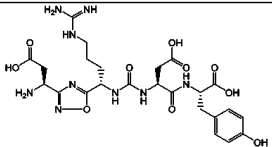
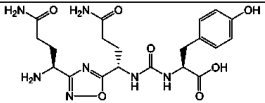
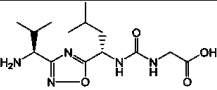
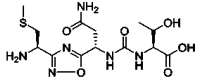
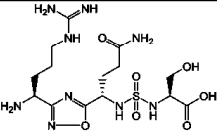
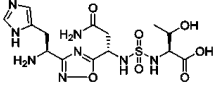
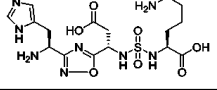
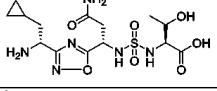
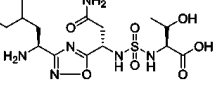
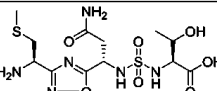
28	
29	
30	
31	
32	
33	
34	
35	
36	
37	
38	
39	
40	
41	
42	
43	
44	

45	
46	
47	
48	
49	
50	
51	
52	
53	
54	
55	
56	
57	
58	
59	
60	
61	
62	

63	
64	
65	
66	
67	
68	
69	
70	
71	
72	
73	
74	
75	
76	
77	
78	
79	

80	
81	
82	
83	
84	
85	
86	
87	
88	
89	
90	
91	
92	
93	
94	
95	
96	
97	

98	
99	
100	
101	
102	
103	
104	
105	
106	
107	
108	
109	
110	
111	
112	
113	
114	

115	
116	
117	
118	
119	
120	
121	
122	
123	
124	

или его фармацевтически приемлемая соль или его стереоизомер.

Согласно некоторым вариантам реализации соединения согласно настоящему изобретению могут также содержать в неприродных пропорциях изотопы атомов одного или более элементов, которые составляют такие соединения. Например, настоящее изобретение также распространяется на меченые изотопами варианты настоящего изобретения, которые являются идентичными указанным в настоящем документе, но в которых один или более атомов соединения замещены атомами, имеющими иные атомные массы или массовые числа, чем преобладающие атомные массы или массовые числа, которые обычно встречаются в природе для данных атомов. Все представленные изотопы любого конкретного атома или элемента находятся в пределах группы соединений согласно настоящему изобретению и их применений. Типичные изотопы, которые могут быть введены в соединения согласно настоящему изобретению, включают изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, фосфора, серы, фтора, хлора и йода, такие как ^2H ("D"), ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{35}S , ^{18}F , ^{36}Cl , ^{123}I и ^{125}I . Меченые изотопами соединения согласно настоящему изобретению могут быть получены, в целом, согласно следующим процедурам, аналогичным тем, которые описаны ниже в схемах и/или в примерах, приведенных в настоящем документе, посредством замещения реагента без изотопной метки меченым изотопом реагентом.

Фармацевтические композиции

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложена фармацевтическая композиция, содержащая соединение, описанное в настоящем документе, необязательно в смеси с фармацевтически приемлемым носителем или разбавителем.

В настоящем изобретении также предложены способы получения составов описанных соединений для фармацевтического введения.

Композиции и способы согласно настоящему изобретению могут быть использованы для лечения нуждающегося в этом индивидуума. Согласно некоторым вариантам реализации индивидуум представляет собой млекопитающее, такое как человек или млекопитающее, не представляющее собой человека. При введении животному, такому как человек, композицию или соединение предпочтительно вводят как

фармацевтическую композицию, содержащую, например, соединение согласно настоящему изобретению и фармацевтически приемлемый носитель. Фармацевтически приемлемые носители хорошо известны в области данной техники и включают, например, водные растворы, такие как вода или буферный физиологический солевой раствор или другие растворители или наполнители, такие как гликоли, глицерин, масла, такие как оливковое масло, или подходящие для инъекций органические сложные эфиры. Согласно предпочтительному варианту реализации, когда такие фармацевтические композиции предназначены для введения человеку, в частности, для инвазивных путей введения (т.е. путей, таких как инъекция или имплантация, которые обходят перенос или диффузию через эпителиальный барьер), водный раствор является апиогенным или по существу апиогенным. Вспомогательные вещества могут быть выбраны, например, чтобы осуществлять замедленное высвобождение агента или селективно воздействовать на один или более типов клеток, тканей или органов. Фармацевтическая композиция может присутствовать в стандартной лекарственной форме, такой как таблетка, капсула (в том числе капсула с покрытыми частицами и желатиновая капсула), гранула, лиофил для восстановления, порошок, раствор, сироп, суппозиторий, инъекция и т.д. Композиция может также присутствовать в трансдермальной системе доставки, например, такой как кожный пластырь. Композиция может также присутствовать в растворе, подходящем для местного введения, таком как глазные капли.

Фармацевтически приемлемый носитель может содержать физиологически приемлемые агенты, которые своим действием, например, стабилизируют, увеличивают растворимость или увеличивают абсорбцию соединения, такого как соединение согласно настоящему изобретению. Такие физиологически приемлемые вещества включают, например, углеводы, такие как глюкоза, сахароза или декстраны, антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или глутатион, хелатирующие агенты, низкомолекулярные белки или другие стабилизаторы или вспомогательные вещества. Выбор фармацевтически приемлемого носителя, включающего физиологически приемлемый агент, зависит, например, от способа введения композиции. Препарат фармацевтической композиции может представлять собой самоэмульгирующуюся систему доставки лекарственного средства или самомикроэмульгирующуюся систему доставки лекарственного средства. Фармацевтическая композиция (препарат) также может представлять собой липосому или другую полимерную матрицу, которая может содержать, например, введенное в нее соединение согласно настоящему изобретению. Например, липосомы, которые включают фосфолипиды или другие липиды, представляют собой нетоксичные, физиологически приемлемые и метаболизируемые носители, которые являются относительно простыми в изготовлении и введении.

Выражение "фармацевтически приемлемый" при использовании в настоящем документе означает такие соединения, материалы, композиции и/или лекарственные формы, которые, с медицинской точки зрения, являются подходящими для применения в контакте с тканями человека и животного, не вызывая чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или осложнений, в соответствии с обоснованным соотношением пользы и риска.

Выражение "фармацевтически приемлемый носитель" при использовании в настоящем документе означает фармацевтически приемлемый материал, композицию или наполнитель, такой как жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, вспомогательное вещество, растворитель или инкапсулирующий материал. Каждый носитель должен быть "приемлемым" в смысле совместимости с другими ингредиентами композиции и не наносить вреда пациенту. Некоторые примеры материалов, которые могут служить в качестве фармацевтически приемлемых носителей, включают: (1) сахара, такие как лактоза, глюкоза и сахароза; (2) крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; (3) целлюлозу и ее производные, такие как натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы, этилцеллюлоза и ацетат целлюлозы; (4) порошкообразный трагакант; (5) солод; (6) желатин; (7) тальк; (8) вспомогательные вещества, такие как масло какао и воски для суппозитория; (9) масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; (10) гликоли, такие как пропиленгликоль; (11) многоатомные спирты, такие как глицерин, сорбит, маннит и полиэтиленгликоль; (12) сложные эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат; (13) агар; (14) буферные агенты, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия; (15) альгиновая кислота; (16) апиогенная вода; (17) изотонический раствор; (18) раствор Рингера; (19) этиловый спирт; (20) фосфатные буферные растворы; и (21) другие нетоксичные совместимые вещества, используемые в фармацевтических составах.

Фармацевтическую композицию (препарат) можно вводить пациенту любым из различных путей введения, включая, например, пероральный (например, жидкие лекарственные формы, представляющие собой водные или неводные растворы или суспензии, таблетки, капсулы (включая капсулы с покрытыми частицами и желатиновые капсулы), болусы, порошки, гранулы, пасты для нанесения на язык); абсорбционный (через слизистую оболочку полости рта, например, сублингвальный); анальный, ректальный или вагинальный (включая, например, пессарий, крем или пену); парентеральный (включая внутримышечный, внутривенный, подкожный или интратекальный, например, в форме стерильного раствора или суспензии); назальный; внутриперитонеальный; подкожный; трансдермальный (например, в форме пластыря, наклеиваемого на кожу); и местный (включая, например, крем, мазь или аэрозоль для нанесения на кожу или глазные капли). Соединение может также содержаться в композиции для ингаляции. Согласно некоторым вариантам реализации соединение может быть просто растворено или суспендировано

в стерильной воде. Подробное описание соответствующих путей введения и композиций, подходящих для указанной цели, можно найти, например, в патентах США №№ 6110973, 5763493, 5731000, 5541231, 5427798, 5358970 и 4172896, а также в процитированных в них патентах.

Составы могут быть удобным образом получены в виде стандартных лекарственных форм и могут быть получены любыми способами, хорошо известными в области фармацевтики. Количество активного ингредиента, с которым может сочетаться материал носителя для получения единичной лекарственной формы, будет изменяться в зависимости от пациента, подлежащего лечению, конкретного способа введения. Количество активного ингредиента, с которым можно комбинировать материал носителя для получения единичной лекарственной формы, будет, как правило, представлять собой такое количество соединения, которое производит терапевтический эффект. Как правило, в расчете на сто процентов, указанное количество будет составлять от примерно 1 процента до примерно девяноста девяти процентов, предпочтительно от примерно 5 процентов до примерно 70 процентов, наиболее предпочтительно от примерно 10 процентов до примерно 30 процентов.

Способы получения указанных составов или композиций включают стадию, на которой объединяют активное соединение, такое как соединение согласно изобретению, носитель и, необязательно, один или более вспомогательных ингредиентов. В целом, составы получают посредством однородного и тщательного объединения соединения согласно изобретению с жидкими носителями и/или тонкоизмельченными твердыми носителями и, в случае необходимости, последующего формования продукта.

Составы согласно настоящему изобретению, которые являются подходящими для перорального введения, могут присутствовать в таких формах, как капсулы (включая капсулы с покрытыми частицами и желатиновые капсулы), облатки, пилюли, таблетки, таблетки для рассасывания (с использованием ароматизированной основы, обычно сахарозы и камеди акации или трагаканта), лиофил, порошки, гранулы, или раствор или суспензия в водной или неводной жидкости, или масляно-водная или водно-масляная жидкая эмульсия, или эликсир или сироп, или пастилки (с использованием инертной основы, такой как желатин и глицерин или сахароза и камедь акации), и/или жидкость для полоскания для полости рта и т.д., где каждый состав содержит заданное количество соединения согласно настоящему изобретению в качестве активного ингредиента. Композиции или соединения можно также применять в форме болюса, электуария или пасты.

Для получения твердых лекарственных форм для перорального введения (капсулы (включая капсулы с покрытыми частицами и желатиновые капсулы), таблетки, пилюли, драже, порошки, гранулы и т.д.), с активным ингредиентом смешивают один или более фармацевтических приемлемых носителей, таких как цитрат натрия или двухзамещенный фосфат кальция, и/или любые из следующих веществ: (1) наполнители или объемные наполнители, такие как крахмалы, лактоза, сахароза, глюкоза, маннит и/или кремниевая кислота; (2) связующие вещества, такие как, например, карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидон, сахароза и/или камедь акации; (3) увлажнители, такие как глицерин; (4) разрыхляющие вещества, такие как агар-агар, карбонат кальция, картофельный крахмал или крахмал тапиоки, альгиновая кислота, некоторые силикаты и карбонат натрия; (5) удерживающие раствор вещества, такие как парафин; (6) ускорители абсорбции, такие как четвертичные аммониевые соединения; (7) смачивающие вещества, такие как, например, цетиловый спирт и моностеарат глицерина; (8) абсорбенты, такие как каолин и бентонитовая глина; (9) смазывающие вещества, такие как тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли, лаурилсульфат натрия и их смеси; (10) комплексообразующие агенты, такие как модифицированные и немодифицированные циклодекстрины; и (11) красящие вещества. В случае капсул (включая капсулы с покрытыми частицами и желатиновые капсулы), таблеток и пилюль фармацевтические композиции могут также включать буферные агенты. Твердые композиции аналогичного типа могут также быть использованы в качестве наполнителей в имеющих мягкое и твердое содержимое желатиновых капсулах с применением таких вспомогательных веществ, как лактоза или молочные сахара, а также высокомолекулярные полиэтиленгликоли и т. п.

Таблетка может быть изготовлена посредством прессования или формования, необязательно с одним или более вспомогательными ингредиентами. Прессованные таблетки можно получать, используя связующее вещество (например, желатин или гидроксипропилметилцеллюлозу), смазывающее вещество, инертный разбавитель, консервант, разрыхлитель (например, натрия крахмал гликолят или сшитая натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы), поверхностно-активное или диспергирующее вещество. Формованные таблетки могут быть изготовлены посредством формования смеси порошкообразного соединения, смоченного инертным жидким разбавителем в подходящем устройстве.

Таблетки и другие твердые лекарственные формы фармацевтических композиций, такие как драже, капсулы (включая капсулы с покрытыми частицами и желатиновые капсулы), пилюли и гранулы, могут быть необязательно изготовлены с насечками или покрытиями и оболочками, такими как энтеросолюбильные покрытия и другие покрытия, хорошо известные в области изготовления фармацевтических веществ. Они могут также быть получены таким образом, чтобы обеспечивать медленное или регулируемое высвобождение содержащегося в них активного ингредиента с использованием, например, гидроксипропилметилцеллюлозы в различных пропорциях, чтобы обеспечивать желательный профиль высвобождения, другие полимерные матрицы, липосомы и/или микросферы. Они могут быть стерилизованы,

например, посредством фильтрации через задерживающий бактерии фильтр или посредством введения стерилизующих веществ в форме стерильных твердых композиций, которые могут быть растворены в стерильной воде или некоторой другой подходящей для инъекций стерильной среде непосредственно перед применением. Указанные композиции могут также необязательно содержать придающие непрозрачность вещества и могут иметь такой состав, чтобы высвобождать один или более активных ингредиентов исключительно или предпочтительно в определенной части желудочно-кишечного тракта, необязательно, в замедленном режиме. Примеры матричных веществ, которые могут быть использованы, включают полимерные вещества и воски. Активный ингредиент может также присутствовать в микроинкапсулированной форме, если это целесообразно, включая одно или более из описанных выше вспомогательных веществ.

Жидкие лекарственные формы, подходящие для применения путем перорального введения, включают фармацевтически приемлемые эмульсии, лиофилы для восстановления, микроэмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. Помимо активного ингредиента, жидкие лекарственные формы могут содержать инертные разбавители, обычно используемые в области техники, такие как, например, вода или другие растворители, циклодекстрины и их производные, солубилизирующие агенты и эмульгаторы, такие как этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, масла (в частности, хлопковое, арахисовое, кукурузное, масло из жмыха зародышей кукурузы, оливковое, касторовое и кунжутное масла), глицерин, тетрагидрофуриловый спирт, полиэтиленгликоли и сложные эфиры жирных кислот и сорбита, а также их смеси.

Помимо инертных разбавителей, пероральные композиции могут также включать вспомогательные вещества, такие как смачивающие агенты, эмульгирующие и суспендирующие агенты, подсластители, вкусовые добавки, красители, ароматизаторы и консерванты.

Помимо активных соединений, суспензии могут содержать суспендирующие агенты, такие как, например, этоксилированные изостеариловые спирты, полиоксиэтиленсорбит и сложные эфиры сорбита, микрокристаллическая целлюлоза, метагидроксид алюминия, бентонит, агар-агар, трагакант и их смеси.

Составы фармацевтических композиций для ректального, вагинального или уретрального введения могут представлять собой суппозитории, которые могут быть получены посредством смешивания одного или более активных соединений с одним или более подходящими нераздражающими вспомогательными веществами или носителями, которые содержат, например, масло какао, полиэтиленгликоль, воск для суппозитория или салицилат и которые являются твердыми при комнатной температуре, но жидкими при температуре тела и, таким образом, будут плавиться в прямой кишке или влагалище и высвобождать активное соединение.

Составы фармацевтических композиций для введения в полость рта могут представлять собой жидкость для полоскания полости рта или пероральный аэрозоль или пероральную мазь.

В качестве альтернативы или в качестве дополнения, композиции могут быть предназначены для доставки через катетер, стент, стержень или другое внутрисосудистое устройство. Доставка через такие устройства может быть особенно подходящей для применения в целях доставки в мочевой пузырь, уретру, мочеточник, прямую кишку или кишечник.

Составы, которые являются подходящими для вагинального введения, также включают pessaries, тампоны, кремы, гели, пасты, пены или аэрозольные лекарственные формы, содержащие такие соответствующие носители, которые известны в данной области техники.

Лекарственные формы для местного или трансдермального применения включают порошки, спреи, мази, пасты, кремы, лосьоны, гели, растворы, пластыри и ингалянты. Активное соединение может быть смешано в стерильных условиях с фармацевтически приемлемым носителем и с любыми консервантами, буферными веществами или пропеллентами, которые могут потребоваться.

Помимо активного соединения, мази, пасты, кремы и гели могут содержать вспомогательные вещества, такие как животные и растительные жиры, масла, воски, парафины, крахмал, трагакант, производные целлюлозы, полиэтиленгликоли, силиконы, бентониты, кремниевую кислоту, тальк и оксид цинка или их смеси.

Помимо активного соединения, порошки и спреи могут содержать вспомогательные вещества, такие как лактоза, тальк, кремниевая кислота, гидроксид алюминия, силикаты кальция и полиамид порошков, или смеси указанных веществ. Спреи могут дополнительно содержать традиционные пропелленты, такие как хлорфторуглероды и летучие незамещенные углеводороды, такие как бутан и пропан.

Трансдермальные пластыри имеют дополнительное преимущество обеспечения регулируемой доставки соединения согласно настоящему изобретению в организм. Такие лекарственные формы могут быть изготовлены посредством растворения или диспергирования активного соединения в соответствующей среде. Усилители абсорбции могут быть также использованы для увеличения потока соединения через кожу. Скорость такого потока можно регулировать, используя регулируемую скорость мембрану или диспергируя соединение в полимерной матрице или геле.

Офтальмологические лекарственные формы, глазные мази, порошки, растворы и т.п., также включены в объем настоящего изобретения. Типичные офтальмологические составы описаны в патентных

публикациях США №№ 2005/0080056, 2005/0059744, 2005/0031697 и 2005/004074 и в патенте США № 6583124, содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки. Если это необходимо, жидкие офтальмологические составы имеют свойства, аналогичные свойствам слезной жидкости, тканевой жидкости или стекловидной влаги или являются совместимыми с такими жидкостями. Предпочтительный способ введения представляет собой местное введение (например, топическое введение, такое как глазные капли, или введение посредством имплантации).

Выражения "парентеральное введение" и "парентерально вводимый" при использовании в настоящем документе означают способы введения, которые не представляют собой энтеральное и местное введение и обычно представляют собой инъекции, включая, без ограничения, внутривенные, внутримышечные, внутриартериальные, внутриоболочечные, внутрикапсульные, внутриорбитальные, внутрисердечные, внутрикожные, внутрибрюшинные, транстрахеальные, подкожные, субкутикулярные, внутрисуставные, субкапсулярные, субарахноидальные, внутрипозвоночные и внутригрудинные инъекции и инфузии.

Фармацевтические композиции, подходящие для парентерального введения, включают один или более активных соединений в сочетании с одним или более фармацевтически приемлемыми стерильными изотоническими водными или неводными растворами, дисперсиями, суспензиями или эмульсиями или стерильными порошками, которые могут быть восстановлены в подходящие для инъекций стерильные растворы или дисперсии непосредственно перед применением, которые могут содержать антиоксиданты, буферные вещества, бактериостаты, растворы которых делают лекарственную форму изотонической по отношению к крови заданного реципиента, или суспендирующие вещества или загустители.

Примеры подходящих водных и неводных носителей, которые могут быть использованы в фармацевтических композициях согласно настоящему изобретению, включают воду, этанол, многоатомные спирты (такие как глицерин, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль и т.п.) и их подходящие смеси, растительные масла, такие как оливковое масло, и подходящие для инъекций органические сложные эфиры, такие как этилолеат. Надлежащая текучесть может поддерживаться, например, посредством применения покровных материалов, таких как лецитин, посредством сохранения требуемого размера частиц в случае дисперсий и посредством применения поверхностно-активных веществ.

Указанные композиции могут также содержать адъюванты, такие как консерванты, смачивающие агенты, эмульгаторы и диспергирующие агенты. Предотвращение действия микроорганизмов может быть обеспечено посредством включения разнообразных антибактериальных и противогрибковых агентов, таких как, например, парабен, хлорбутанол, фенолсорбиновая кислота и т.п. Может также быть желательным включение в композиции изотонических веществ, таких как сахара, хлорид натрия и т.п. Кроме того, замедленная абсорбция подходящей для инъекций фармацевтической формы может быть обеспечена посредством включения агентов, которые замедляют абсорбцию, таких как моностеарат алюминия и желатин.

В некоторых случаях, чтобы продлить действие лекарственного средства, оказывается желательным замедление абсорбции лекарственного средства из подкожной или внутримышечной инъекции. Это можно осуществлять посредством применения жидкой суспензии кристаллического или аморфного материала, имеющего низкую растворимость в воде. Скорость абсорбции лекарственного средства в таком случае зависит от скорости его растворения, которая, в свою очередь, может зависеть от размера кристаллов и кристаллической формы. В качестве альтернативы, замедленная абсорбция парентерально введенной лекарственной формы осуществляется посредством растворения или суспендирования лекарственного средства в масляной переносящей среде.

Подходящие для инъекций формы депо получают путем формирования микроинкапсулированных матриц заданных соединений в биоразлагающихся полимерах, таких как полилактид-полигликолид. В зависимости от соотношения лекарственного средства и полимера и природы конкретного используемого полимера, скорость высвобождения лекарственного средства можно регулировать. Примеры других биоразлагающихся полимеров включают сложные полиортоэфиры и полиангидриды. Подходящие для инъекции составы вида депо также получают посредством помещения лекарственного средства в липосомы или микроэмульсии, которые являются совместимыми с тканями организма.

Для применения в способах согласно настоящему изобретению активные соединения могут присутствовать в чистом виде или в форме фармацевтической композиции, содержащей, например, от 0,1 до 99,5% (предпочтительнее от 0,5 до 90%) активного ингредиента в комбинации с фармацевтически приемлемым носителем.

Способы введения могут быть также обеспечены перезаряжаемыми или биоразлагающимися устройствами. Разнообразные полимерные устройства для медленного высвобождения были разработаны и испытаны *in vivo* в последние годы для регулируемой доставки лекарственных средств, включая белковые биофармацевтические вещества. Разнообразные биосовместимые полимеры (включая гидрогели), включая биоразлагающиеся и неразлагающиеся полимеры, могут быть использованы для образования имплантатов в целях замедленного высвобождения соединения в конкретном целевом месте.

Фактические уровни дозировки активных ингредиентов в фармацевтических композициях можно изменять таким образом, чтобы получать активный ингредиент в количестве, которое будет эффектив-

ным для достижения желательной терапевтической реакции для конкретного пациента, композиции и формы введения, без токсического воздействия на пациента.

Выбранный уровень дозировки будет зависеть от разнообразных факторов, включая активность конкретного используемого соединения или комбинации соединений или соответствующих сложных эфиров, солей или амидов, способ введения, время введения, скорость выделения одного или более конкретных используемых соединений, продолжительность лечения, другие лекарственные средства, соединения и/или материалы, используемые в комбинации с одним или более конкретными используемыми соединениями, возраст, пол, состояние, общий и медицинский анамнез пациента, подлежащего лечению, а также другие факторы, хорошо известные специалистам в области медицины.

Лечащий врач или ветеринар, имеющий опыт в данной области техники, может легко определить и выписать терапевтически эффективное количество требуемой фармацевтической композиции. Например, лечащий врач или ветеринар может устанавливать начальные дозы фармацевтической композиции или соединения на меньшем уровне, чем требуется для достижения желательного терапевтического эффекта, и постепенно увеличивать дозировку до тех пор, пока не будет достигнут желательный эффект. Термин "терапевтически эффективное количество" означает концентрацию соединения, которая является достаточной для проявления желательного терапевтического эффекта. Как правило, понимают, что эффективное количество соединения будет изменяться в зависимости от массы, пола, возраста и анамнеза субъекта. Другие факторы, которые влияют на эффективное количество, могут включать, но не ограничены ими, тяжесть состояния пациента, подлежащее лечению нарушение, устойчивость соединения и, если это необходимо, терапевтическое средство другого типа, принимаемое вместе с соединением согласно настоящему изобретению. Более высокая полная доза может быть доставлена посредством неоднократного введения агента. Способы определения эффективности и дозировки известны специалистам в данной области техники (Isselbacher et. al. (1996) Harrison's Principles of Internal Medicine 13 ed., 1814-1882, которая включена в настоящий документ посредством ссылки).

В целом, подходящая суточная доза активного соединения, используемого в композициях и способах согласно настоящему изобретению, будет представлять собой такое количество соединения, которое составляет минимальную дозу, эффективно обеспечивающую терапевтический эффект. Как правило, такая эффективная доза будет зависеть от факторов, описанных выше.

Если это необходимо, эффективная суточная доза активного соединения может быть введена в виде одной, двух, трех, четырех, пяти, шести или более поддоз, вводимых отдельно с соответствующими интервалами в течение суток, необязательно в единичных лекарственных формах. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения активное соединение может быть введено два или три раза в сутки. В предпочтительных вариантах реализации активное соединение может быть введено один раз в сутки.

Пациент, принимающий указанное лечение, представляет собой любое нуждающееся в этом животное, включая приматов, в частности человека, и других млекопитающих, таких как лошади, крупный рогатый скот, свиньи и овцы; а также птица и домашние животные, в целом.

Смачивающие агенты, эмульгаторы и смазывающие агенты, такие как лаурилсульфат натрия и стearат магния, а также красящие агенты, регулирующие высвобождение агенты, покровные агенты, подсластители, вкусовые добавки и ароматизаторы, консерванты и антиоксиданты могут также присутствовать в композициях.

Примеры фармацевтически приемлемых антиоксидантов включают: (1) растворимые в воде антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота, гидрохлорид цистеина, бисульфат натрия, метабисульфит натрия, сульфит натрия и т.п.; (2) растворимые в масле антиоксиданты, такие как аскорбилпальмитат, бутилированный гидроксианизол (БНА), бутилированный гидрокситолуол (БНТ), лецитин, пропилгаллат, альфа-токоферол и т.п.; и (3) агенты, образующие хелатные комплексы с металлами, такие как лимонная кислота, этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA), сорбит, винная кислота, фосфорная кислота и т.п.

Способы лечения

Путь белка запрограммированной гибели клеток 1 (PD-1) затрагивается при ряде заболеваний и состояний, и, как известно, указанный путь регулирует разнообразные иммунные реакции. Были проведены многочисленные исследования в целях активации иммунной реакции посредством воздействия на путь PD-1, чтобы в результате этого обеспечить лечение определенных состояний, таких как различные виды рака. По существу, исследования показывают, что блокада пути PD-1, например, посредством ингибирования иммуносупрессивного сигнала, индуцированного PD-1, PD-L1 или PD-L2, приводит к противоопухолевой активности в случае рака различных видов, включая рак легкого, молочной железы, толстой кишки, почки, мочевого пузыря, щитовидной железы, предстательной железы, остеосаркому и лимфому Ходжкина.

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложены применения соединения согласно настоящему изобретению для получения лекарственного средства, например, для лечения рака.

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложены способы лече-

ния рака, где указанные способы включают введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества соединения согласно настоящему изобретению.

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложены способы лечения рака посредством введения нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества соединения формулы (IA).

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложены способы лечения рака, где рак выбран из рака легкого, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака почки, рака мочевого пузыря, рака щитовидной железы, рака предстательной железы, остеосаркомы и лимфомы Ходжкина.

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложены способы лечения бактериальной, вирусной или грибковой инфекции или иммунологического состояния посредством введения терапевтически эффективного количества соединения формулы (IA) или их фармацевтически приемлемых солей и соответствующих стереоизомеров нуждающемуся в этом субъекту.

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложены применения соединения согласно настоящему изобретению для получения лекарственного средства для лечения бактериальной, вирусной и грибковой инфекции, а также способы введения терапевтически эффективного количества соединения согласно настоящему изобретению для лечения бактериальной, вирусной или грибковой инфекции.

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложены применения соединения формулы (IA) для получения лекарственного средства для лечения бактериальной, вирусной и грибковой инфекции, а также способы введения терапевтически эффективного количества соединения формулы (IA) или его фармацевтически приемлемой соли и стереоизомера для лечения бактериальной, вирусной или грибковой инфекции.

Согласно другим вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения инфекции посредством блокады пути PD-1, например, ингибирования иммуносупрессивного сигнала, индуцированного PD-1, PD-L1 или PD-L2, где указанный способ включает введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества соединения согласно настоящему изобретению.

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложены применения соединения согласно настоящему изобретению для ингибирования пути PD-1 (например, PD-1, PD-L1 или PD-L2).

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложены способы лечения инфекционного заболевания у субъекта, включающие введение терапевтически эффективного количества соединения согласно настоящему изобретению для лечения инфекционного заболевания.

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложено соединение формулы (IA) или его фармацевтически приемлемая соль и стереоизомер для применения в качестве лекарственного средства.

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложено соединение формулы (IA) или его фармацевтически приемлемая соль и стереоизомер для применения для лечения рака.

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложено соединение формулы (IA) или его фармацевтически приемлемая соль и стереоизомер для применения для лечения рака легкого, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака почки, рака мочевого пузыря, рака щитовидной железы, рака предстательной железы, остеосаркомы и лимфомы Ходжкина.

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложено соединение формулы (IA) или его фармацевтически приемлемая соль и стереоизомер для применения для лечения бактериальной, вирусной или грибковой инфекции или иммунологического состояния.

Типичные инфекционные заболевания включают следующие, но не ограничены ими, ВИЧ, грипп, герпес, лямблиоз, малярия, лейшмания, патогенные инфекции, которые вызывают вирус гепатита (A, B и C), вирус герпеса (например, VZV, HSV-I, HAV-6, HSV-II и CMV, вирус Эпштейна-Барра), аденовирус, вирус гриппа, флавивirus, эховирус, риновирус, вирус Коксаки, корновирус, респираторно-синцитиальный вирус, вирус эпидемического паротита, ротавирус, вирус кори, вирус краснухи, парвовирус, вирус осповакцины, Т-лимфотропный вирус человека, вирус лихорадки денге, вирус папилломы, вирус моллюска, полиовирус, вирус бешенства, вирус Джона Каннингхэма и вирус арбовирусного энцефалита, патогенные инфекции, которые вызывают бактерии хламидии, бактерии риккетсии, микобактерии, стафилококки, стрептококки, пневмококки, менингококки и гонококки, клебсиеллы, протеи, серрации, псевдомонады, кишечные палочки, легионеллы, дифтерия, сальмонелла, бациллы, холера, столбняк, ботулизм, сибирская язва, чума, лептоспироз и болезнь Лайма, патогенные инфекции, которые вызывают грибы родов *Candida* (*albicans*, *krusei*, *glabrata*, *tropicalis* и т.д.), *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* (*fumigatus*, *niger* и т.д.), *Genus Mucorales* (*mucor*, *absidia*, *rhizopus*), *Sporothrix schenckii*, *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Coccidioides immitis* и *Histoplasma capsulatum*, и патогенные инфекции, которые вызывают паразиты *Entamoeba histolytica*, *Balantidium coli*, *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba* sp., *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* sp., *Pneumocystis carinii*, *Plasmodium vivax*, *Babesia microti*, *Trypanosoma*

brucei, Trypanosoma cruzi, Leishmania donovani, Toxoplasma gondi, Nippostrongylus brasiliensis.

Соединения согласно настоящему изобретению могут быть использованы в виде единственных лекарственных средств (монотерапия) или совместно с одним или более другими агентами (комбинированная терапия). Соединения могут быть использованы в чистом виде или, предпочтительно, в составе фармацевтической композиции, в которой с соединением смешаны один или более фармацевтически приемлемых материалов.

Фармацевтическая композиция может быть введена пероральным или ингаляционным путями или парентеральным путем введения. Например, композиции могут быть введены перорально, посредством внутривенной инфузии, местно, внутривнутрибрюшинным, внутривнутрипузырным или внутривнутриоболочечным путями. Примеры парентерального введения включают, но не ограничены ими, внутрисуставный (в суставы), внутривенный, внутримышечный, внутрикожный, внутривнутрибрюшинный и подкожный пути. Подходящие жидкие композиции могут представлять собой водные или неводные изотонические стерильные растворы для инъекций и могут содержать антиоксиданты, буферные вещества, бактериостаты и растворимые вещества, которые делают лекарственную форму изотонической по отношению к крови заданного реципиента, а также водные и неводные стерильные суспензии, которые могут содержать суспендирующие вещества, солюбилизаторы, загустители, стабилизаторы и консерванты. Пероральное введение, парентеральное введение, подкожное введение и внутривенное введение представляют собой предпочтительные способы введения.

Дозировка соединений согласно настоящему изобретению изменяется в зависимости от возраста, массы или симптомов пациента, а также активности или терапевтической эффективности соединения, режима дозирования и/или времени лечения. В целом, подходящие способы введения могут, например, включать пероральное, с помощью глазных капель, ректальное, чресслизистое, местное или кишечное введение; парентеральную доставку, включая внутримышечные, подкожные, костномозговые инъекции, а также внутривнутриоболочечные, непосредственные внутривнутрижелудочковые, внутривенные, внутривнутрибрюшинные, интраназальные или внутривнутриглазные инъекции. Соединения согласно изобретению могут быть введены в количестве от 0,5 мг или 1 мг до 500 мг, 1 г или 2 г в зависимости от режима дозирования. Дозы можно вводить один раз в неделю, через трое суток, через двое суток, один раз в сутки, два раза в сутки, три раза в сутки или с большей частотой. Согласно альтернативным вариантам реализации для определенных взрослых субъектов соединение можно непрерывно вводить посредством внутривенного введения в течение периода времени, назначенного врачом. Поскольку на дозировку влияют различные состояния, в некоторых случаях может быть введено количество, составляющее менее или более, чем назначенная дозировка. Врач может легко определять соответствующую дозировку для пациента, проходящего терапевтическое лечение.

Соединения согласно настоящему изобретению могут быть введены в комбинации с одним или более другими лекарственными средствами, чтобы (1) дополнять и/или усиливать эффект соединения согласно настоящему изобретению, (2) модулировать фармакодинамику, улучшать абсорбцию или уменьшать дозу соединения согласно настоящему изобретению и/или (3) уменьшать или смягчать побочные эффекты соединения согласно настоящему изобретению. В настоящем документе выражение "комбинированное введение" означает любую форму введения двух или более различных терапевтических соединений таким образом, что второе соединение вводят, когда ранее введенное терапевтическое соединение все еще сохраняет свою эффективность в организме (например, два соединения одновременно производят на пациента свое действие, которое может включать синергетические эффекты двух соединений). Например, различные терапевтические соединения могут быть введены в составе одной лекарственной формы или в отдельных лекарственных формах, в том числе одновременно или последовательно. Согласно некоторым вариантам реализации различные терапевтические соединения могут быть введены в течение одного часа, 12, 24, 36, 48, 72 ч или недели относительно друг друга. Таким образом, индивидуум, который получает такое лечение, может испытывать комбинированное действие различных терапевтических соединений. Соответствующие соединения могут быть введены одинаковыми или различными путями и одинаковыми или различными способами.

Дозировка другого лекарственного средства может представлять собой дозировку, которая используется в клинической практике, или она может представлять собой уменьшенную дозировку, которая является эффективной в случае введения в комбинации с соединением согласно настоящему изобретению. Соотношение соединения согласно настоящему изобретению и другого лекарственного средства может изменяться в зависимости от возраста и массы субъекта, подлежащего лечению, способа введения, времени введения, заболевания, подлежащего лечению, симптомов и их сочетания. Например, другое лекарственное средство может быть использовано в количестве от 0,01 до 100 мас.ч. в расчете на 1 мас.ч. соединения согласно настоящему изобретению.

Комбинированная терапия может быть использована для лечения любых заболеваний обсуждаемых в настоящем документе. Например, в предназначенных для лечения рака способах согласно настоящему изобретению соединения согласно настоящему изобретению могут использоваться посредством существующей химиотерапии совместно с применением одной фармацевтической композиции или комбинации различных фармацевтических композиций. Примеры химиотерапевтических средств включают алкили-

рующий агент, нитрозокарбамидный агент, антиметаболит, противораковый антибиотик, алкалоид растительного происхождения, ингибитор топоизомеразы, гормональное лекарственное средство, антагонист гормона, ингибитор ароматазы, ингибитор Р-гликопротеина, производное комплекса платины, другие иммунотерапевтические лекарственные средства и другие противораковые лекарственные средства. Кроме того, соединение согласно изобретению может быть введено совместно с вспомогательным средством для лечения рака, таким как средство для лекарственного лечения лейкопении (нейтропении), лекарственное средство для лечения тромбоцитопении, противорвотное средство и лекарственное средство для уменьшения боли в случае рака, одновременно или в форме смеси. Химиотерапевтические агенты, которые могут быть введены совместно с соединениями согласно изобретению включают следующие: аминоклотетимид, амсакрин, анастрозол, аспарагиназа, bcs, бикалутамид, блеомицин, бортезомиб, бусерелин, бусульфан, кампотecin, капецитабин, карбоплатин, карфилзомиб, кармустин, хлорамбуцил, хлорохин, цисплатин, кладрибин, клондронат, колхицин, циклофосфамид, ципротерон, цитарабин, дакарбазин, дактиномицин, даунорубин, деметоксивиридин, дексаметазон, дихлорацетат, диенэстрол, диэтилстильбестрол, доцетаксел, доксорубин, эпирубин, эстрадиол, эстрамустин, этопозид, эверолимус, эксеместан, филгастим, флударабин, флуорокортизон, фторурацил, флуоксиместерон, флутамид, гемцитабин, генистеин, гозерелин, гидроксикарбамид, идарубин, ифосфамид, иматиниб, интерферон, иринотекан, иронотекан, леналидомид, летрозол, лейковорин, лейпролид, леванизол, ломустин, лонидамин, меклоретамин, медроксипрогестерон, мегестрол, мельфалан, меркаптопурин, месна, метформин, метотрексат, митомицин, митотан, митоксантрон, нилутамид, нокодазол, октреотид, оксалиплатин, паклитаксел, памидронат, пентостатин, перифозин, пликамицин, помалидомид, порфимер, прокарбазин, ратлитрексед, ритускимаб, сорафениб, стрептозоцин, сунитиниб, сурамин, тамоксифен, темозоломид, темсилолимус, тенипрозид, тестостерон, талидомид, тиогуанин, тиотепа, дихлорид титаноцена, топотекан, трастузумаб, третинион, винбластин, винкристин, виндезин и винорелбин.

Согласно некоторым вариантам реализации соединения согласно настоящему изобретению может быть введено совместно с нехимическими способами лечения рака. Согласно дополнительному варианту реализации, соединение согласно настоящему изобретению может быть введено совместно с лучевой терапией. Согласно дополнительному варианту реализации соединения согласно настоящему изобретению может быть введено совместно с хирургией, с термоабляцией, с фокусированной ультразвуковой терапией, с криотерапией или с любым сочетанием указанных видов лечения.

Согласно некоторым вариантам реализации различные соединения согласно настоящему изобретению могут быть введены совместно с одним или более другими соединениями согласно настоящему изобретению. Кроме того, такие комбинации могут быть введены совместно с другими терапевтическими агентами, такими как другие агенты, подходящие для лечения рака, иммунологических или неврологических заболеваний, такие как агенты, перечисленные выше. Согласно некоторым вариантам реализации совместное введение одного или более дополнительных химиотерапевтических агентов с соединением согласно настоящему изобретению обеспечивает синергетический эффект. Согласно некоторым вариантам реализации совместное введение одного или более дополнительных химиотерапевтических агентов обеспечивает аддитивный эффект.

Соединение согласно настоящему изобретению можно применять с одним или более другими иммуномодуляторами и/или потенцирующими агентами при совместном применении в составе одной фармацевтической композиции или посредством комбинации различных фармацевтических композиций. Подходящие иммуномодуляторы включают разнообразные цитокины, вакцины и адъюванты. Типичные цитокины, вакцины и адъюванты, которые стимулируют иммунные реакции, включают GM-CSF, M-CSF, G-CSF, интерферон- α , β или γ , IL-1, IL-2, IL-3, IL-12, Poly(I:C) и C_pG .

Согласно некоторым вариантам реализации потенцирующие агенты включают циклофосфамид и аналоги циклофосфамида, анти-TGF β и иматиниб (гливек), ингибитор митоза, такой как паклитаксел, сунитиниб (сутент) или другие ангиогенные агенты, ингибитор ароматазы, такие как летрозол, антагонист рецептора A2a-аденозина (A2AR), ингибитор ангиогенеза, антрациклины, оксалиплатин, доксорубин, антагонисты TLR4 и антагонисты IL-18.

Определения и сокращения

Если не определено обратное, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют одинаковые значения, и значения таких терминов являются независимыми при каждом их применении и представляют собой значения, которые обычно понимает специалист в области техники, к которой относится настоящий документ. Безотносительно и за исключением определения других условий, следующие определения применяются по всему тексту описания и формулы изобретения. Химические наименования, общепринятые наименования и химические структуры могут быть использованы взаимозаменяемым образом для описания одной и той же структуры. Если химическое соединение описано с одновременным использованием химической структуры и химического наименования, и существует несоответствие между структурой и наименованием, то структура имеет преобладающую силу. Указанные определения применяются независимо от того, использован ли термин индивидуально или в сочетании с другими терминами, если иное не определено. Следовательно, определение "алкил" применимо к алкилу, а также к алкильным частям "гидроксипалкила", "галоалкила", "-О-алкила" и т.д.

Термин "соединения согласно настоящему изобретению" включает соединения формулы (IA) их фармацевтические приемлемые соли и соответствующие стереоизомеры.

Термин "ацил" является известным в области техники и относится к группе, представленной общей формулой гидрокарбилC(O)-, предпочтительно алкилC(O)-.

Термин "ациламино" означает аминогруппу, замещенную ацилом.

Термин "алкокси" означает алкильную группу, предпочтительно низшую алкильную группу, содержащую присоединенный к ней атом кислорода. Типичные алкоксигруппы включают метокси, этокси, пропокси, трет-бутокси и т.п.

Термин "алкенил", при использовании в настоящем документе означает алифатическую группу, содержащую по меньшей мере одну двойную связь, и включает "незамещенные алкенилы" и "замещенные алкенилы", где последние означают алкенильные фрагменты, имеющие заместители, которые замещают водород на одном или более атомах углерода алкенильной группы. Такие заместители могут присутствовать на одном или более атомах углерода, которые включены или не включены в одну или нескольких двойных связей. Кроме того, такие заместители включают все заместители, предусмотренные для алкильных групп, как обсуждалось выше, за исключением случаев, где устойчивость является запретительной. Например, предусмотрено замещение алкенильных групп одной или более алкильными, карбоциклическими, арильными, гетероциклическими или гетероарильными группами.

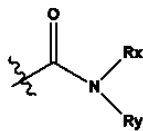
"Алкильная группа" или "алкан" представляет собой неароматический углеводород с прямой или разветвленной цепью, который является полностью насыщенным. Как правило, алкильная группа с прямой или разветвленной цепью содержит от 1 до примерно 20 атомов углерода, предпочтительно от 1 до примерно 10, если не определено иное. Примеры алкильных групп с прямой или разветвленной цепью включают метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, втор-бутил, трет-бутил, пентил, гексил, гептил и октил. C₁-C₆-алкильная группа с прямой или разветвленной цепью также называется термином "низшая алкильная группа". Алкильная группа необязательно может быть замещенной по одному или более положениям, насколько это допускает валентность. Такие необязательные заместители включают, например, галоген, азид, алкил, аралкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, гидроксил, алкоксил, амино, нитро, сульфгидрил, имино, амидо, фосфонат, фосфинат, карбонил, карбоксил, силил, простой эфир, алкилтио, сульфонил, сульфонамидо, кетон, альдегид, сложный эфир, гетероцикл, ароматические или гетероароматические фрагменты, -CF₃, -CN и т.п.

Термин "алкиламино" при использовании в настоящем документе означает аминогруппу, замещенную по меньшей мере одной алкильной группой.

Термин "алкилтио" при использовании в настоящем документе означает тиоловую группу, замещенную алкильной группой, и может быть представлен общей формулой алкил S-.

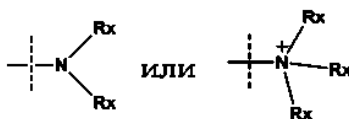
Термин "алкинил" при использовании в настоящем документе означает алифатическую группу, содержащую по меньшей мере одну тройную связь и включает "незамещенные алкинилы" и "замещенные алкинилы", где последние означают алкинильные фрагменты, имеющие заместители, которые замещают атомы водорода на одном или более атомах углерода алкинильной группы. Такие заместители могут присутствовать на одном или более атомах углерода, которые включены или не включены в одну или более тройных связей. Кроме того, такие заместители включают все заместители, предусмотренные для алкильных групп, как обсуждалось выше, за исключением случаев, где устойчивость является запретительной. Например, предусмотрено замещение алкинильных групп одной или более алкильными, карбоциклическими, арильными, гетероциклическими или гетероарильными группами.

Термин "амид" или "амидо" при использовании в настоящем документе означает группу



где каждый R^x и R^y независимо представляют собой водород или гидрокарбильную группу или оба R^x и R^y, взятые совместно с атомом N, к которому они присоединены, образуют гетероцикл, имеющий от 4 до 8 атомов в кольцевой структуре.

Термине "амин" и "амино" являются признанным в данной области и относятся как к незамещенным, так и замещенным аминам и их солям, например, фрагменту, который может быть представлен



где каждый R^x независимо представляет собой водород или гидрокарбильную группу или два R^x взятые совместно с атомом N, к которому они присоединены, образуют гетероцикл, имеющий от 4 до 8 атомов в кольцевой структуре.

Термин "аминоалкил", при использовании в настоящем документе означает алкильную группу, замещенную аминогруппой.

Термины "аралкил" и "арилалкил", при использовании в настоящем документе означают алкильную группу, замещенную арильной группой.

Термин "арил" при использовании в настоящем документе означает замещенные или незамещенные моноциклические ароматические группы, в которых каждый атом кольца представляет собой атом углерода. Предпочтительно, кольцо представляет собой 5-7-членное кольцо, предпочтительнее 6-членное кольцо. Термин "арил" также включает полициклические кольцевые системы, имеющие два или более циклических колец, в которых два или более атомов углерода являются общими для двух прилегающих колец, где по меньшей мере одно из колец является ароматическим, например, другие циклические кольца могут представлять собой циклоалкилы, циклоалкенилы, циклоалкинилы, арилы, гетероарилы и/или гетероциклы. Арильные группы включают бензол, нафталин, фенантрен, фенол, анилин и т.п.

"Циклоалкильная" группа представляет собой циклический углеводород, который является полностью насыщенным. "Циклоалкил" включает моноциклические и бициклические кольца. Как правило, моноциклическая циклоалкильная группа содержит от 3 до примерно 10 атомов углерода, более типично от 3 до 8 атомов углерода, если не определено иное. Второе кольцо бициклического циклоалкила может быть выбрано из насыщенных, ненасыщенных и ароматических колец. Циклоалкил включает бициклические молекулы, в которых один, два или три или более атомов являются общими для двух колец. Термин "конденсированный циклоалкил" означает бициклический циклоалкил, в котором каждое кольцо имеет два общих атома с другим кольцом. Второе кольцо конденсированного бициклического циклоалкила может быть выбрано из насыщенных, ненасыщенных и ароматических колец. "Циклоалкенильная группа" представляет собой циклический углеводород, содержащий одну или более двойных связей. Циклоалкильная группа может быть замещенной по одному или более положениям, насколько это допускает валентность, и содержать любые необязательные заместители, описанные в настоящем документе. Циклоалкильные группы включают, но не ограничены ими, циклопропил, циклобутил, цикlopентил и циклогексил.

Термин "циано" означает группу -CN.

Термин "карбокси" или "карбоновая кислота", при использовании в настоящем документе означает группу, представленную формулой -CO₂H.

Термин "карбоксилат" означает группу, представленную формулой -(CO₂).

Термин "сложный эфир" при использовании в настоящем документе означает группу -C(O)OR^x, где R^x представляет собой гидрокарбильную группу.

Термин "гуанидино" при использовании в настоящем документе означает группу -NH-C(=NH)-NH₂.

Термины "гало" и "галоген" при использовании в настоящем документе означают галоген и включают хлор, фтор, бром и йод.

Термин "галоалкил" при использовании в настоящем документе означает алкильную группу, замещенную атомом галогена.

В настоящем документе термин "карбоцикл", "карбоциклический" или "карбоциклил" означает любое устойчивое 3-, 4-, 5-, 6- или 7-членное моноциклическое или бициклическое или 7-, 8-, 9-, 10-, 11-, 12- или 13-членное бициклическое или трициклическое углеводородное кольцо, любое из которых может быть насыщенным, частично ненасыщенным, ненасыщенным или ароматическим. Примеры карбоциклов включают, но не ограничены ими, циклопропил, циклобутил, циклобутенил, цикlopентил, цикlopентенил, циклогексил, циклогептенил, циклогептил, циклогептенил, адамантанил, циклооктил, циклооктенил, циклооктадиенил, [3.3.0]бициклооктан, [4.3.0]бициклононан, [4.4.0]бициклодекан, [2.2.2]бициклооктан, флуоренил, фенил, нафтил, инданил, адамантил, антраценил и тетрагидронафтил (тетралин). Как представлено выше, связанные мостиком кольца также включены в определение карбоцикла (например, [2.2.2]бициклооктан). Предпочтительные карбоциклы, если не определено иное, представляют собой циклопропил, циклобутил, цикlopентил, циклогексил, фенил и инданил. Когда используют термин "карбоцикл" или "карбоциклил", он включает термин "арил". Соединенные мостиком кольца возникают, когда один или более атомов углерода соединяется с двумя несоседними атомами углерода. Предпочтительные мостики состоят из одного или двух атомов углерода. Следует отметить, что мостик всегда превращает моноциклическое кольцо в трициклическое кольцо. Когда кольцо соединено мостиком, заместители, указанные для кольца, могут также присутствовать на мостике.

Термины "гетаралкил" и "гетероаралкил" при использовании в настоящем документе означают алкильную группу, замещенную гетарильной группой.

Термин "гетероалкил" при использовании в настоящем документе означает насыщенную или ненасыщенную цепь из атомов углерода и по меньшей мере один гетероатом, где никакие два гетероатома не являются соседними.

Термины "гетероарил" и "гетарил" означают замещенные или незамещенные ароматические моноциклические структуры, предпочтительно 5-7-членные кольца, предпочтительнее 5-6-членные кольца, у которых кольцевые структуры включают по меньшей мере один гетероатом, предпочтительно от одного до четырех гетероатомов, предпочтительнее один или два гетероатома. Термины "гетероарил" и "гетарил" также включают полициклические кольцевые системы, имеющие два или более циклических колец, в которых два или более атомов углерода являются общими для двух прилегающих колец, где по мень-

шей мере одно из колец является гетероароматическим, например, другие циклические кольца могут представлять собой циклоалкилы, циклоалкенилы, циклоалкинилы, арилы, гетероарилы и/или гетероциклилы. Гетероарильные группы включают, например, пиррол, фуран, тиафен, имидазол, оксазол, тиазол, пиразол, пиридин, пиразин, пиридазин, индол, 1,3,4-оксадиазол, пиримидин и т.п. Гетероарильная группа может быть замещенной по одному или более положениям, насколько это допускает валентность, и содержать любые необязательные заместители, описанные в настоящем документе.

Термин "гетероатом" при использовании в настоящем документе означает атом любого элемента, отличного от углерода или водорода. Предпочтительные гетероатомы представляют собой азот, кислород и серу.

Термины "гетероциклил", "гетероцикл" и "гетероциклический" означают замещенные или незамещенные неароматические кольцевые структуры, предпочтительно 3-10-членные кольца, предпочтительнее 3-7-членные кольца, у которых кольцевые структуры включают по меньшей мере один гетероатом, предпочтительно от одного до четырех гетероатомов, предпочтительнее один или два гетероатома. Термины "гетероциклил" и "гетероциклический" также включают полициклические кольцевые системы, имеющие два или более циклических колец, в которых два или более атомов углерода являются общими для двух прилегающих колец, где по меньшей мере одно из колец является гетероциклическим, например, другие циклические кольца могут представлять собой циклоалкилы, циклоалкенилы, циклоалкинилы, арилы, гетероарилы и/или гетероциклилы. Гетероциклильные группы включают, например, пиперидин, пиперазин, пирролидин, морфолин, 2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин, лактоны, лактамы и т.п. Гетероциклильные группы могут быть необязательно замещенными, насколько это допускает валентность.

Термин "гетероциклилалкил" или "(гетероциклил)алкил" при использовании в настоящем документе означает алкильную группу, замещенную гетероциклической группой.

Термин "гидроксиалкил" при использовании в настоящем документе означает алкильную группу, замещенную гидроксильной группой.

В настоящем документе термин "гидроксильный" или "гидроксил" означает группу -ОН. В настоящем документе термин "нитро" означает группу -NO₂.

Термин "низший", когда он используется в сочетании с химическим фрагментом, таким как ацил, ацилокси, алкил, алкенил, алкинил или алкокси, означает группы, где в заместителе присутствуют десять или менее, предпочтительно шесть или менее неводородных атомов. "Низший алкил", например, означает алкильную группу, которая содержит десять или менее, предпочтительно шесть или менее атомов углерода. Согласно некоторым вариантам реализации заместители ацил, ацилокси, алкил, алкенил, алкинил или алкокси, определенные в настоящем документе, представляют собой, соответственно, низший ацил, низший ацилокси, низший алкил, низший алкенил, низший алкинил или низший алкокси, независимо от того, присутствуют ли они индивидуально или в комбинации с другими заместителями, например, как упомянутые гидроксиалкил и аралкил (в таком случае, например, атомы в составе арильной группы не учитывают, когда считают атомы углерода в алкильном заместителе).

Термин "замещенный" означает фрагменты, имеющие заместители, замещающие атомы водорода на одном или более атомах углерода в основной цепи. Следует понимать, что термины "замещение" или "замещенный" включают подразумеваемое условие, что такое замещение находится в соответствии с допустимой валентностью замещенного атома и заместителя, и что замещение приводит к стабильному соединению, например, которое не подвергается самопроизвольному превращению, такому как перегруппировка, циклизация, отщепление и т.д. При использовании в настоящем документе термин "замещенный" включает все допустимые заместители органических соединений. В широком аспекте допустимые заместители включают ациклические и циклические, разветвленные и неразветвленные, карбоциклические и гетероциклические, ароматические и неароматические заместители органических соединений. Допустимые заместители могут составлять один или более и быть одинаковыми или различными для соответствующих органических соединений. Для целей настоящего изобретения гетероатомы, такие как азот, могут иметь водородные заместители и/или любые допустимые заместители органических соединений, описанных в настоящем документе, которые удовлетворяют валентностям гетероатомов. Заместители могут включать любые заместители, описанные в настоящем документе, например, галоген, гидроксил, карбонил (такой как карбоксил, алкоксикарбонил, формил или ацил), тиокарбонил (такой как простой тиоэфир, тиоацетат или тиоформиат), алкоксил, фосфорил, фосфат, фосфонат, фосфинат, аминоксид, амидин, имин, циано, нитро, азидо, сульфгидрил, алкилтио, сульфат, сульфонат, сульфоамид, сульфонамид, сульфонил, гетероциклил, аралкил или ароматический или гетероароматический фрагмент. Специалистам в данной области техники будет понятно, что заместители могут сами быть замещенными, если это является целесообразным. Если они не указаны определенным образом как "незамещенные", химические фрагменты, упоминаемые в настоящем документе, следует понимать как включающие замещенные варианты. Например, упоминаемая "арильная" группа или фрагмент включает как замещенный, так и незамещенный варианты.

Термин "тиоалкил" при использовании в настоящем документе означает алкильную группу, замещенную тиольной группой.

Термин "тиосложный эфир" при использовании в настоящем документе означает группу

$-C(O)SR^xmnr-SC(O)R^x$, где R^x представляет собой гидрокарбил.

Термин "тиокислота", "тиокарбокси" или "тиокарбоновая кислота" при использовании в настоящем документе означает группу, представленную формулой $-C(O)SH$.

Термин "тиокарбоксилат" означает группу, представленную формулой $-(C(O)S)^-$.

В настоящем документе терапевтическое средство, которое "предотвращает" расстройство или состояние, означает соединение, которое, для статистического субъекта, уменьшает появление расстройства или состояния прошедшего лечение субъекта по сравнению с не прошедшим лечение контрольным субъектом или замедляет начало или уменьшает тяжесть одного или более симптомов расстройства или состояния по сравнению с не прошедшим лечение контрольным субъектом.

Термин "лечение" включает профилактическое и/или терапевтическое лечение. Термин "профилактическое или терапевтическое лечение" является известным в данной области техники и включает введение хозяину одной или более рассматриваемых композиций. Если введение осуществляется до клинического проявления нежелательного состояния (например, заболевания или другого нежелательного состояния животного-хозяина), то лечение является профилактическим (т.е. оно защищает хозяина от развития нежелательного состояния), в то время как если введение осуществляется после проявления нежелательного состояния, лечение является терапевтическим, (т.е. оно предназначено для устранения, смягчения или стабилизации нежелательного состояния или соответствующих побочных эффектов).

В настоящем документе термин "содержать" или "содержащий" в целом используется в смысле включения, другими словами, допускает присутствие одного или более дополнительных (неуказанных) отличительных признаков или компонентов.

В настоящем документе термин "включающий", а также другие формы, такие как "включать", "включает" и "включенный" не являются ограничительными.

При использовании в настоящем документе термин "аминокислота" означает молекулу, содержащую как аминогруппу, так и карбоксильную группу, включая соответствующие соли, сложные эфиры, комбинации разнообразных солей, а также таутомерные формы. В растворе при нейтральном значении pH аминокислота и кислотная

группа аминокислоты могут обмениваться протоном, образуя дважды ионизированный, хотя в целом нейтральный, фрагмент, определяемый как цвиттерион. В некоторых вариантах реализации аминокислоты представляют собой α -, β -, γ - или δ -аминокислоты, включая их стереоизомеры и рацематы. В настоящем документе термин "L-аминокислота" означает α -аминокислоту, имеющую левовращающую конфигурацию относительно α -углерода, то есть карбоновую кислоту общей формулы $CH(COOH)(NH_2)-$ (боковая цепь), имеющую L-конфигурацию. Аналогичным образом, термин "D-аминокислота" означает карбоновую кислоту общей формулы $CH(COOH)(NH_2)-$ (боковая цепь), имеющую правовращающую конфигурацию относительно α -углерода. Боковые цепи L-аминокислот могут включать встречающиеся в природе и не встречающиеся в природе фрагменты. Боковые цепи не встречающихся в природе (т.е. не природных) аминокислот представляют собой фрагменты, которые используются вместо боковых цепей встречающихся в природе аминокислот, например, в аналогах аминокислот.

Термин "аминокислотный остаток" при использовании в настоящем документе означает фрагмент, имеющий структуру, аналогичную исходной аминокислоте. Аминокислотный остаток может быть ковалентно связан с другим химическим фрагментом посредством аминогруппы остатка или карбоксильной группы остатка (т.е. атом водорода $-NH_2$ или $-OH$ замещается связью с другим химическим фрагментом).

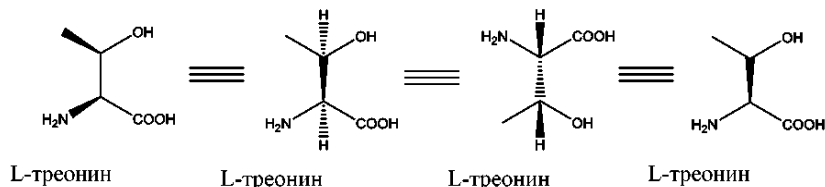
В настоящем документе выражение "боковая цепь аминокислоты" означает фрагмент, который ковалентно связан со структурой D- или L-аминокислоты и может быть представлен как $CH(COOH)(NH_2)-R$. Например, в случае аланина $CH(COOH)(NH_2)(CH_3)$, боковая цепь аминокислоты (R) представляет собой $-CH_3$. Примеры "боковой цепи аминокислоты" включают, но не ограничены ими, (C_1-C_6) алкил, (C_2-C_6) алкенил или (C_2-C_6) алкинил. Боковая цепь аминокислоты может быть замещенной одним или более одинаковыми или различными заместителями, выбранными из следующих, но не ограничиваясь ими: амино, амидо, алкиламино, ациламино, карбоновая кислота, карбоксилат, тиокарбоксилат, тиокислота, гидроксильная, циклоалкил, (циклоалкил)алкил, арил, гетероцикл, гетероарил, гуанидино, $-SH$, $-S$ (алкил); где необязательно циклоалкил, арил, гетероцикл и гетероарил дополнительно замещены одним или более заместителями, такими как гидроксильная, алкокси, галоген, амино, нитро, циано или алкил.

Аминокислоты включают двадцать стандартных аминокислот, используемых в синтезе белков большинством биологических организмов. В качестве остатков неприродных аминокислот могут быть выбраны, не ограничиваясь ими, альфа и альфа-дизамещенные аминокислоты, N-алкиламинокислоты и природные аминокислоты, замещенные нижним алкилом, аралкилом, гидроксильным, арилом, арилокси, галогеналкилом или ацилом.

Например, лизин может быть замещен с образованием неприродной аминокислоты, например, при атоме углерода его боковой цепи или, в качестве альтернативы, посредством моно- или диалкилирования его концевой группы NH_2 (например, когда боковая цепь аминогруппы лизина вместе со своими заместителями образует гетероциклическое кольцо, такое как пиперидин или пирролидин). В другом примере концевая аминогруппа боковой цепи лизина может образовывать кольцо с основной цепью аминокислоты, как в капреомицидине. Дополнительные неприродные производные лизина включают гомолизин и

норлизин. Боковая цепь лизина может, в качестве альтернативы, быть замещенной второй аминогруппой. В следующем примере алкильная часть боковой цепи лизина может быть внедрена в карбоциклическую кольцевую структуру с образованием полужесткого аналога, такого как, например, циклогексил или циклопентил.

По всему тексту описания и формулы настоящего изобретения "остаток L-треонина" и/или "боковая цепь L-треонина", упомянутые в соединении формулы (IA) и/или соответствующих препаратах, могут быть представлены любой из следующих формул.



Согласно некоторым вариантам реализации неприродная аминокислота может представлять собой производное природной аминокислоты, имеющее одну или более двойных связей.

В других типичных вариантах реализации, в треонине бета-метильную группу может замещать этильная, фенильная или другая высшая алкильная группа. В гистидине имидазольная группа может быть замещенной, или, в качестве альтернативы, алкиленовый скелет боковой цепи может быть замещенным.

Дополнительные примеры неприродных аминокислот включают гомосерин и гомологи природных аминокислот.

В дополнительных типичных вариантах реализации неприродная аминокислота может быть алкилированной (например, метилированной) в альфа-положении.

Дополнительные примеры неприродных аминокислот включают альфа,бета- и бета,гамма-дегидро-аминоаналоги аминокислот.

Дополнительные типичные аминокислоты включают пеницилламин и бетаметоксивалин.

Дополнительные примеры неприродных аминокислот включают аминокислоты, в которых боковая цепь включает амина, алкиламина, ациламина, -COO-алкил, циклоалкил, гетероцикл, гетероарил, гуанидино, (циклоалкил)алкил, (гетероцикл)алкил и (гетероарил)алкил.

"Модифицированная N-концевая аминогруппа" и "модифицированная C-концевая карбоксильная группа" означают, что указанная аминогруппа или карбоксильная группа является измененной.

Модификация N-концевой аминогруппы предпочтительно имеет общую формулу $-NR_xR_y$, в которой R_x представляет собой водород или алкил, и R_y представляет собой алкил, алкенил, $-C(=NH)NH_2$, алкинил, ацил, циклоалкил, арил или гетероцикл.

Примеры N-концевых модификаций включают, но не ограничены ими, ацетилированные, формилированные или гуанилированные N-концевые группы.

Модификация C-концевой карбоксильной группы предпочтительно имеет общую формулу $COR_z(R_z)$ (где R_z представляет собой NR_8R_8 , алкокси, амина или имид. C-концевая карбоксильная группа также может быть превращена в гетероциклическое кольцо (такое как 1,2,4-оксадиаксольное или 1,3,4-оксадиазольное кольцо), необязательно замещенное гидроксильной группой, алкилом, гидроксиалкилом, алкоксиалкилом или циклоалкилом.

Настоящее изобретение включает фармацевтически приемлемые соли соединений согласно изобретению и их применение в композициях и способах согласно настоящему изобретению. Согласно некоторым вариантам реализации предусмотренные соли согласно настоящему изобретению включают, но не ограничены ими, соли алкил-, диалкил-, триалкил- или тетраалкиламмония. Согласно некоторым вариантам реализации предусмотренные соли согласно настоящему изобретению включают, но не ограничены ими, соли, которые образуют L-аргинин, бенетамин, бензатин, бетанин, гидроксид кальция, холин, деанол, диэтанолламин, диэтиламин, 2-(диэтиламино)этанол, этаноламин, этилендиамин, N-метилглюкамин, гидрабамин, 1H-имидазол, литий, L-лизин, магний, 4-

(2-гидроксиэтил)морфолин, пиперазин, калий, 1-(2-гидроксиэтил)пирролидин, натрий, триэтанолламин, трометамин и цинк. Согласно некоторым вариантам реализации предусмотренные соли согласно настоящему изобретению включают, но не ограничены ими, соли Na, Ca, K, Mg, Zn или других металлов.

Фармацевтически приемлемые соли присоединения кислоты могут также существовать в виде различных сольватов, например с водой, метанолом, этанолом, диметилформамидом и т.п. Могут быть также получены смеси таких сольватов. Источник такого сольвата может представлять собой кристаллизационный растворитель, растворитель, используемый для получения или кристаллизации или вспомогательный растворитель.

"Фармацевтически приемлемый" означает материал, который подходит для получения фармацевтической композиции, который является, в целом, безопасным, нетоксичным и не является нежелательным ни в биологическом, ни в другом отношении, и который является приемлемым для фармацевтического применения в ветеринарии, а также для фармацевтического применения у человека.

Термин "стереоизомеры" означает любые энантиомеры, диастереоизомеры или геометрические изомеры, например, соединений согласно настоящему изобретению. Когда соединения согласно изобретению являются хиральными, они могут существовать в рацемической или в оптически активной форме. Поскольку фармацевтическая активность рацематов или стереоизомеров соединений согласно настоящему изобретению может различаться, может оказаться желательным применение соединений, которые являются обогащенными одним из энантиомеров. В указанных случаях конечный продукт или даже промежуточные соединения могут быть разделены на энантиомерные соединения химическими или физическими средствами, известными специалистам в данной области техники, или даже использованы в полученном виде в синтезе. В случае рацемических аминов диастереомеры образуются из смеси посредством реакции с оптически активным разделяющим реагентом. Примеры подходящих разделяющих реагентов представляют собой оптически активные кислоты, такие как формы R и S, которые имеют винная кислота, диацетилвинная кислота, дибензоилвинная кислота, миндальная кислота, яблочная кислота, молочная кислота, подходящие N-защищенные аминокислоты (например, N-бензоилпролин или N-бензолсульфонилпролин) или разнообразные оптически активные камфорсульфоновые кислоты. Кроме того, преимущественным является хроматографическое разделение энантиомеров с помощью оптически активного разделяющего реагента (такого как, например, динитробензоилфенилглицин, триацетат целлюлозы или другие производные углеводов или хирально дериватизированные метакрилатные полимеры, иммобилизованные на силикагеле).

Согласно некоторым вариантам реализации соединения согласно настоящему изобретению могут быть рацемическими. Согласно некоторым вариантам реализации соединения согласно настоящему изобретению могут быть обогащены одним энантиомером. Например, соединение согласно изобретению может иметь более чем 30% ee, 40% ee, 50% ee, 60% ee, 70% ee, 80% ee, 90% ee или даже 95% ee или более. Согласно некоторым вариантам реализации соединения согласно настоящему изобретению могут иметь более чем один стереоцентр. В таких определенных вариантах реализации соединения согласно изобретению могут быть обогащены одним или более диастереомерами. Например, соединение согласно настоящему изобретению может иметь более чем 30% de, 40% de, 50% de, 60% de, 70% de, 80% de, 90% de или даже 95% de или более.

Термин "субъект" включает млекопитающих (в частности, человека) и других животных, таких как домашние животные (например, домашние животные-компаньоны, в том числе кошки и собаки) и недомашние животные (такие как дикие животные).

Встречающиеся в природе аминокислоты определены по всему тексту описания и формулы изобретения посредством традиционных трехбуквенных сокращений, которые представлены ниже в таблице.

Таблица (коды аминокислот)

Наименование	Трехбуквенн	Наименование	Трехбуквенн
Аланин	Ala	Лизин	Lys
Аргинин	Arg	Метионин	Met
Аспарагин	Asn	Фенилаланин	Phe
Аспарагинова	Asp	Пролин	Pro
Глутаминовая	Glu	Серин	Ser
Глутамин	Gln	Треонин	Thr
Гистидин	His	Тирозин	Tyr
Изолейцин	Ile	Валин	Val

Сокращения, используемые по всему описанию, кратко представлены ниже посредством их конкретных значений.

°C (градус Цельсия); % (процент); солевой раствор (раствор NaCl); CH₂Cl₂/ДХМ (дихлорметан); Boc (трет-бутилоксикарбонил); Bzl (бензилоксикарбонил); CS₂CO₃ (карбонат цезия); DIC (N,N'-диизопропилкарбодиимид); DIPEA (N,N'-диизопропилэтиламин); ДМФА (диметилформамид); EtOH (этанол); Et₂NH (диэтиламин); Fmoc (9-флуоренилметилоксикарбонил); г или гр (грамм); HOBT (1-гидроксibenзотриазол); ч или час (часы); ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография); K₂CO₃ (карбонат калия); ЖХМС (жидкостная хроматография-масс-спектрометрия); жидкий NH₃ (жидкий аммиак); ммоль (миллимоль); М (молярный); мкл (микролитр); мл (миллилитр); мг (миллиграмм); MS (ES) (масс-спектрометрия с электрораспылением); мин (минута); Na (натрий); NaHCO₃ (бикарбонат натрия); NH₂NH₂•H₂O (гидрат гидразина); NMM (N-метилморфолин); Na₂SO₄ (сульфат натрия); NH₂OH•HCl (гидрохлорид гидроксилamina); PD-1/PD-1 (запрограммированная гибель клеток 1); PD-L1 (лиганд запрограммированной гибели клеток 1); PD-L2 (лиганд 2 запрограммированной гибели клеток 1); преп-ВЭЖХ/препаративная ВЭЖХ (препаративная высокоэффективная жидкостная хроматография); TEA/Et₃N (триэтиламин); TFAA (трифторуксусный ангидрид); ТСХ (тонкослойная хроматография); THF (тетрагидрофуран); TIPS (триизопропилсилан); TFA (трифторуксусная кислота); t_R (время удерживания); Trt (третил или трифенилметил) и т.д.

Экспериментальная часть

В настоящем изобретении предложены способы получения соединений формулы (IA) в соответствии с процедурами следующих примеров с использованием соответствующих материалов. Специалисты в данной области поймут, что для получения указанных соединений могут быть использованы известные вариации условий и процессов следующих процедур получения. Кроме того, с использованием описанных подробно процедур специалист в данной области техники сможет получить дополнительные соединения согласно настоящему изобретению.

Промежуточные соединения или исходные вещества, необходимые для синтеза, являются коммерчески доступными (коммерческие источники, такие как Sigma-Aldrich, USA or Germany; Chem-Impex USA; G.L. Biochem, China and Spectrochem, India) или, альтернативно, указанные промежуточные соединения или исходные вещества могут быть получены с использованием известных литературных способов. Изобретение описано более подробно с помощью конкретных примеров.

Очистка и характеристика соединений.

Аналитический метод ВЭЖХ.

Аналитическая ВЭЖХ проводилась на колонке ZIC HTLIC 200 A° (4,6 мм × 250 мм, 5 мкм), скорость потока 1,0 мл/мин. Используемые условия элюирования: Буфер А: 5 ммоль ацетата аммония, буфер В: ацетонитрил, уравнивание колонки с 90% буфером В и элюирование градиентом от 90% до 40% буфера В в течение 30 мин.

Препаративный метод ВЭЖХ.

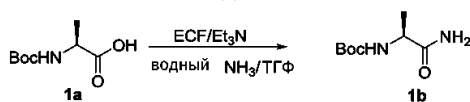
Препаративную ВЭЖХ проводили на колонке SeQuant ZIC HILIC 200 A° (10 мм × 250 мм, 5 мкм), скорость потока: 5,0 мл/мин. Используемые условия элюирования: Буфер А: 5 ммоль ацетата аммония (доводили до pH-4 уксусной кислотой), Буфер В: Ацетонитрил, Уравнивание колонки с 90% буфером В и элюирование градиентом от 90% до 40% буфера В в течение 20 мин.

ЖХМС проводили на тройном квадрупольном масс-спектрометре AP1 2000 LC/MS/MS (Applied biosystems) с ВЭЖХ серии Agilent 1100 с DAD G1315 B с использованием колонки Mercury MS или с использованием одиночного квадрупольного масс-спектрометра Agilent LC/MSD VL с ВЭЖХ серии Agilent 1100 с DAD G1315 B, с использованием колонки Mercury MS, или с использованием квадрупольного масс-спектрометра Shimadzu LCMS 2020 с системой UFLC Prominence с SPD-20 A DAD.

Примеры

Пример 1. Синтез соединения 1.

Стадия 1a



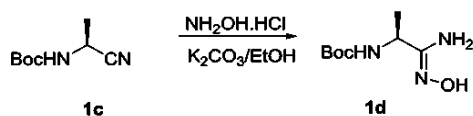
Этилхлорформиат (3,4 г, 31,3 ммоль) и Et₃N (7,0 мл, 52,8 ммоль) добавляли к раствору соединения 1a (5,0 г, 26,4 ммоль) в ТГФ (20 мл) и перемешивали при -20°C в течение 20 мин. Через 20 мин 25% водного раствора аммиака (10 мл, 132,0 ммоль) добавляли к активно перемешанному ангидриду и перемешивали при 0-5°C в течение 30 мин. Полноту реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Летучие вещества выпаривали при пониженном давлении и разделяли между водой и этилацетатом. Органический слой промывали раствором NaHCO₃ с последующим промыванием раствором лимонной кислоты и соевым раствором. Отделенный органический слой сушили над Na₂SO₄, фильтровали и выпаривали при пониженном давлении с получением 4,0 г соединения 1b. ЖХМС: 89,3 (M-Boc-H)⁺

Стадия 1b



Трифторуксусный ангидрид (8,4 г, 39,9 ммоль) добавляли к раствору соединения 1b (5 г, 26,6 ммоль) в пиридине (21,0 мл, 26,6 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Полноту реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Летучие вещества выпаривали при пониженном давлении и разделяли между водой и этилацетатом. Органический слой промывали раствором NaHCO₃ с последующим промыванием раствором лимонной кислоты и соевым раствором. Отделенный органический слой сушили над Na₂SO₄, фильтровали и выпаривали при пониженном давлении с получением 3,5 г соединения 1c, которое непосредственно использовали на следующей стадии.

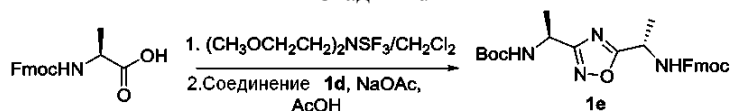
Стадия 1c



Гидрохлорид гидроксилamina (0,92 г, 13,2 ммоль), воду (0,5 мл) и карбонат калия (1,8 г, 13,2 ммоль) добавляли к раствору соединения 1c (1,5 г, 8,8 ммоль) в EtOH (20 мл) и перемешивали при 86°C в

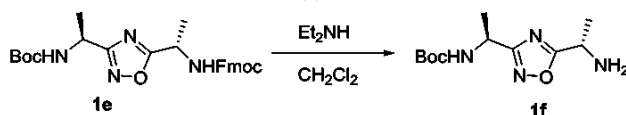
течение 4 ч. Полноту реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Летучие вещества выпаривали при пониженном давлении и разделяли между водой и этилацетатом. Органический слой промывали соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 , затем фильтровали и выпаривали при пониженном давлении с получением 0,9 г соединения 1d. ЖХМС: 104,3 (M-Вос+H)⁺

Стадия 1d



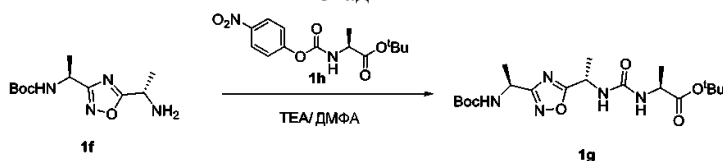
Deохо-Fluor (3,7 г, 16,1 ммоль) добавляли к раствору Fmoc-Ala-OH (5,0 г, 15,0 ммоль) в CH_2Cl_2 (50 мл) и перемешивали при 0°C в течение 1 ч. Затем CH_2Cl_2 выпаривали и растирали с гексаном. Ацетат натрия (0,2 г, 2,4 ммоль) и соединение 1d (0,5 г, 2,4 ммоль) в уксусной кислоте брали в круглой колбе и перемешивали в течение 30 мин. К указанной смеси добавляли Fmoc-Ala-COF (0,996 г, 3,1 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Реакционную смесь перемешивали при 90°C в течение 3 ч. Полноту реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Летучие вещества выпаривали при пониженном давлении и разделяли между водой и этилацетатом. Органический слой промывали раствором NaHCO_3 с последующим промыванием раствором лимонной кислоты и соевым раствором. Отделенный органический слой сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и выпаривали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элюент: 0-5% этилацетата в гексане) с получением 0,3 г соединения 1e. ЖХМС: 379,0 (M-Вос+H)⁺, 501,3 (M+Na)⁺.

Стадия 1e



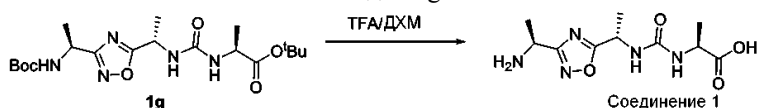
Диэтиламин (1,0 мл) добавляли к раствору соединения 1e (0,35 г, 0,73 ммоль) в CH_2Cl_2 (10 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч и затем полученный раствор концентрировали в атмосфере азота и промывали диэтиловым эфиром и центрифугировали с получением 0,18 г соединения 1f, которое непосредственно использовали на следующей стадии.

Стадия 1f



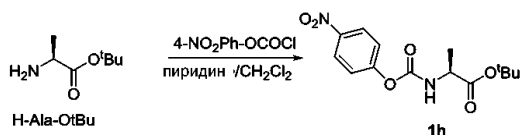
Образование группы мочевины осуществляли с использованием сочетания соединения 1f (0,18 г, 0,71 ммоль) в ДМФА (5,0 мл) с соединением 1h (0,24 г, 0,77 ммоль) при комнатной температуре. Сочетание инициировали путем добавления TEA (0,2 г, 1,4 ммоль) и полученную смесь перемешивали при комнатной температуре. После завершения 3 ч реакцию массу разделяли между водой и этилацетатом. Органический слой промывали водой с последующим промыванием соевым раствором и сушили над Na_2SO_4 . Отделенный органический слой фильтровали и выпаривали при пониженном давлении с получением 0,2 г соединения 1g. ЖХМС: 450,1 (M+Na)⁺.

Стадия 1g



К раствору соединения 1g (0,15 г, 0,35 ммоль) в CH_2Cl_2 (1 мл) добавляли трифторуксусную кислоту (0,5 мл) и каталитическое количество триизопропилсилана и перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Полученный раствор концентрировали при пониженном давлении с получением 0,10 г неочищенного соединения. Неочищенное твердое вещество очищали как описано в экспериментальных условиях для метода ВЭЖХ ЖХМС 272,2 (M+H)⁺, HPLC (t_R) 6,2 мин.

Синтез соединения 1h



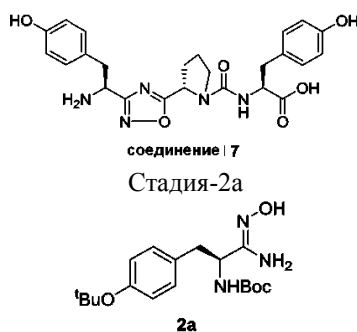
Пиридин (12,0 г, 25,2 ммоль) добавляли к раствору H-Ala-OtBu (2,3 г, 12,6 ммоль) в CH_2Cl_2 (20 мл) и полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 5-10 мин. Раствор 4-нитрофенилхлорформиата (2,8 г, 13,8 ммоль) в CH_2Cl_2 (20 мл) добавляли к указанной выше смеси и перемешивание продолжали при комнатной температуре в течение 1 ч. Полноту реакции подтверждали с

помощью анализа ТСХ После завершения реакции ее разбавляли CH_2Cl_2 (50 мл) и промывали 1,0 М раствором бисульфата натрия (50 мл $\times$ 2) с последующим промыванием 1,0 М раствором карбоната натрия (50 мл $\times$ 2) Органический слой сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного соединения, которое очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элюент 0-20% этилацетата в гексане) с получением 2,0 г соединения 1h.

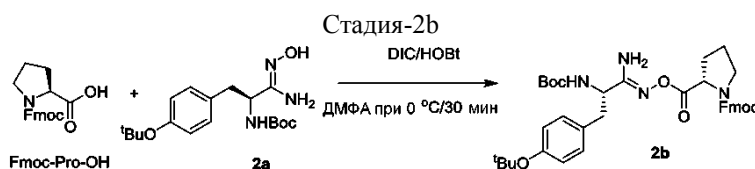
Соединения ниже были получены способом, аналогичным способу, описанному в примере 1 (соединение 1) с соответствующими изменениями в реагентах или аминокислотах, растворителях, количествах реагентов и условиях реакции Аналитические данные соединений приведены в таблице ниже.

№ соединения	Структура	ЖХМС (M+H) ⁺	HPLC (t _R в мин)
2.		403,2	12,6
3.		373,1	9,4
4.		389,1	13,1
5.		388,1	21,9
6.		344,2	12,4

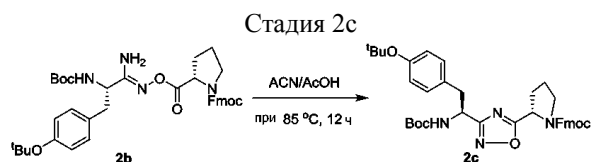
Пример 2. Синтез соединения 7



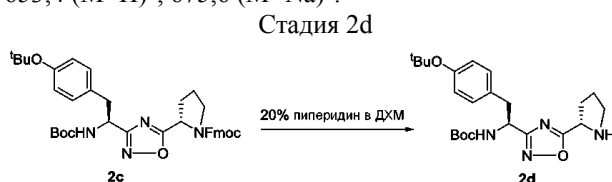
Соединение 2a синтезировали с использованием аналогичной процедуры, как изображено на стадии 1a-с примера 1 (соединение 1) с использованием Вос-Тур(tBu)-ОН вместо Вос-Ala-ОН с получением 9 г соединения 2a.



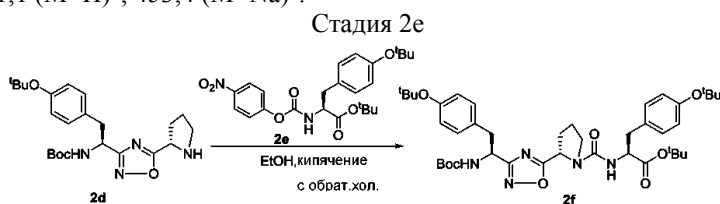
НОВt (3,45 г, 30,8 ммоль) и DIC (4,5 мл, 30,8 ммоль) добавляли к раствору Fmoc-Pro-OH (8,6 г, 25,6 ммоль) в ДМФА (250 мл) при 0°C и перемешивали в течение 30 мин. Соединение 2a (9 г, 25,6 ммоль) дополнительно добавляли к указанной выше реакционной смеси при той же температуре и продолжали перемешивание в течение 2 ч при 0°C с последующим промыванием 2 ч при комнатной температуре. Полноту реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Реакционную смесь гасили ледяной водой, осажденное белое твердое вещество фильтровали, промывали водой (1 л) и сушили при пониженном давлении. Твердое вещество перемешивали с диэтиловым эфиром (500 мл) в течение 15 мин, фильтровали и сушили с получением 14 г соединения 2b. ЖХМС: 671,3 (M+H)⁺, 693,3 (M+Na)⁺.



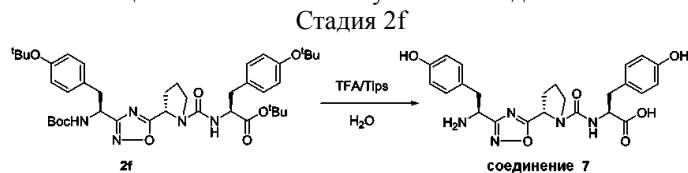
К раствору соединения 2b (13 г, 19,4 ммоль) в ацетонитриле (130 мл), добавляли уксусную кислоту (10,0 мл) при комнатной температуре и кипятили с обратным холодильником при 85°C в течение 12 ч. Полноту реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Летучие вещества выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного полутвердого вещества, которое разбавляли водой и этилацетатом. Органический слой промывали раствором NaHCO_3 с последующим промыванием раствором лимонной кислоты и соевым раствором. Органический слой сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного твердого вещества, которое разбавляли 10% ацетонитрилом в гексане (500 мл) и перемешивали в течение 2 ч с получением белого твердого вещества. Белое твердое вещество фильтровали и промывали н-пентаном (500 л) и сушили с получением 13 г соединения 2с. ЖХМС: 653,4 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, 675,6 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺.



Соединение 2с (13 г, 19,9 ммоль) добавляли к раствору 20% пиперидина в ДХМ (150 мл) при 0°C и перемешивали при 0°C в течение 1 ч. Полноту реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и разбавляли гексаном, перемешивали и фильтровали. Отфильтрованное твердое вещество растворяли в EtOAc и промывали насыщ. раствором NaHCO_3 , соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 фильтровали и выпаривали с получением белого соединения 2d. ЖХМС 431,1 ($\text{M}+\text{H}$)⁺; 453,4 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺.

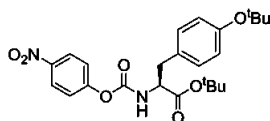


DIPEA добавляли к раствору соединения 2е (5 г, 11,6 ммоль) и соединения 2d (5,3 г, 11,6 ммоль) в сухом ТГФ (50 мл) при 0°C и перемешивали в течение 2 ч. Реакционную смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение дополнительных 4 ч. Летучие вещества выпаривали и разделяли между этилацетатом и водой. Органический слой промывали насыщенным NaHCO_3 10% лимонной кислотой, соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенное соединение очищали с помощью колоночной хроматографии над нейтральным оксидом алюминия с использованием 25% этилацетата в гексане с получением соединения 2f. ЖХМС: 772,5 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺.



Раствор соединения 2f (6,5 г, 8,7 ммоль) и трифторуксусной кислоты (16 мл) в ДХМ (16 мл) перемешивали при 0°C в течение одного часа. Полученную реакционную смесь выпаривали при пониженном давлении, разбавляли диэтиловым эфиром и фильтровали с получением 4 г неочищенного соединения. Неочищенное твердое вещество очищали с помощью препаративного ВЭЖХ метода, описанного в экспериментальных условиях. ЖХМС: 482,3 ($\text{M}+\text{H}$)⁺; HPLC: t_R = 12,92 мин.

Синтез соединения 2е

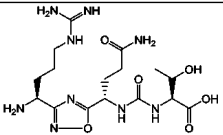
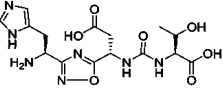
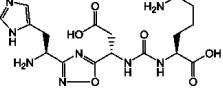
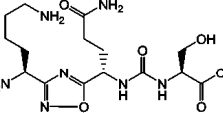
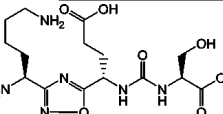
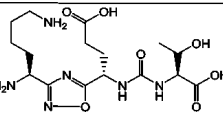
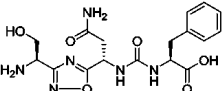
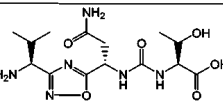
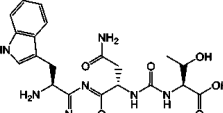
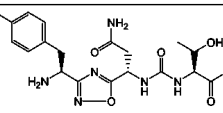
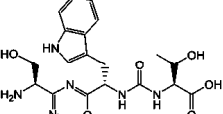
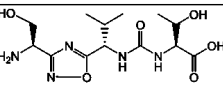
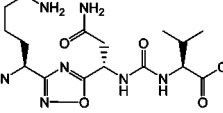
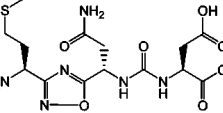


Указанное соединение синтезировали с использованием аналогичной процедуры, как изображено для соединения 1h в Примере 1, с использованием H-Tyr(tBu)-OtBu вместо H-Ala-OtBu.

Соединения ниже были получены способом, аналогичным способу, описанному в примере 2 (Соединение 7) с соответствующими изменениями в реагентах или аминокислотах, растворителях, количествах реагентов и условиях реакции. Аналитические данные соединений приведены в таблице ниже.

№ соединения	Структура	ЖХМС (M+H) ⁺	НPLC (t _R , мин)
8.		402,3	11,87
9.		387,0	11,8
10.		428,9	9,2
11.		375,1	10,6
12.		443,2	-
13.		421	11,0
14.		394,3	7,6
15.		345,3	12,7
16.		360,3	8,4
17.		318,0	11,3

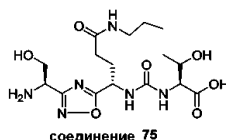
18.		331,0	12,5
19.		498,4	7,6
20.		496,3	5,6
21.		420,3	7,7
22.		450,4	11,4
23.		386,1	14,5
24.		400,0	14,0
25.		325,7	10,3
26.		499,3	9,4
27.		417,3	13,1
28.		387,9	14,9
29.		401,3	14,0
30.		416,2	13,4
31.		388,1	11,2
32.		431,2	18,9

33.		444,4	12,2
34.		412,2	15,4
35.		439,3	11,5
36.		402,4	11,9
37.		403,1	8,5
38.		417,0	8,4
39.		407,5	12,2
40.		373,1	12,7
41.		460,2	11,9
42.		437,2	12,9
43.		433,3	11,6
44.		346,5	11,9
45.		400,1	10,6
46.		419,0	12,7

47.		320,1	14,9
48.		404,1	14,7
49.		385,1	12,6
50.		427,0	10,9
51.		493,3	13,8
52.		386,1	8,5
53.		495,0	11,2
54.		359,0	14,0
56.		401,0	13,6
58.		374,9	14,1
59.		416,1	12,9
60.		420,1	10,6
62.		403,9	9,2
63.		403,1	14,8
64.		458,5	11,8

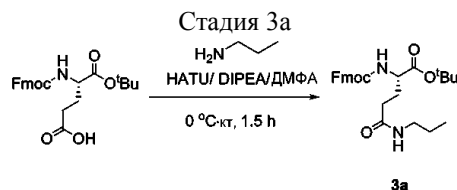
65.		814,1	14,9
73.		391,6	-
74.		386,1	-

Пример 3. Синтез соединения 75

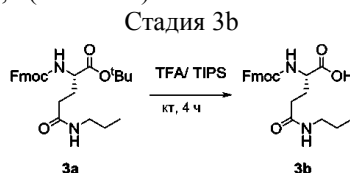


Указанное соединение синтезировали с использованием аналогичной процедуры, как показано в примере 2, с использованием соединения 3b (полученного в соответствии с процедурой, приведенной ниже) вместо Fmoc-Pro-OH. Неочищенное твердое вещество очищали с использованием препаративной ВЭЖХ, описанной в экспериментальных условиях. ЖХМС: 417,5 (M+H)⁺, HPLC: t_R = 12,2 мин.

Синтез соединения 3b.



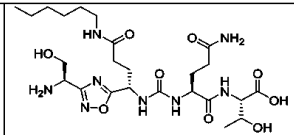
Пропиламин (2,9 мл, 35,25 ммоль), HATU (14,8 г, 38,8 ммоль) и DIPEA (12,3 мл, 70,5 ммоль) добавляли к раствору Fmoc-Glu-OtBu (15,0 г, 35,3 ммоль) в ДМФА (50 мл) при 0 °C и перемешивали при комнатной температуре в течение 1,5 ч. Завершение реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Реакционную смесь гасили водой, полученное твердое вещество фильтровали, промывали диэтиловым эфиром, сушили при пониженном давлении с получением соединения 3a (19,0 г) и использовали на следующей стадии без очистки. ЖХМС: 489,4 (M+Na+H)⁺.



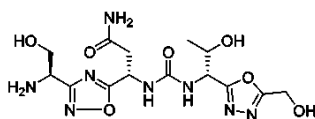
К раствору соединения 3a (19,0 г, 40,72 ммоль) в трифторуксусной кислоте (19,0 мл) добавляли каталитическое количество триизопропилсилана и перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. Полученный раствор выпаривали в атмосфере азота, промывали диэтиловым эфиром с получением 13,3 г неочищенного соединения, которое использовали на следующей стадии без очистки. ЖХМС: 417,5 (M+H)⁺.

Соединения ниже были получены способом, аналогичным способу, описанному в примере 3 с соответствующими изменениями в реагентах или аминокислотах, растворителях, количествах реагентов и условиях реакции. Аналитические данные соединений приведены в таблице ниже.

№ соединения	Структура	ЖХМС (M+H) ⁺	HPLC (t _R , мин)
76.		459,3	9,8
77.		445,0	9,6

78.		587,3	10,7
-----	---	-------	------

Пример 4. Синтез соединения 79

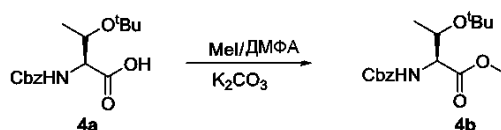


соединение 79

Указанное соединение синтезировали с использованием аналогичной процедуры, как показано в примере 2, с использованием соединения 4f (в соответствии с процедурой, приведенной ниже) вместо H-Tyr(tBu)-OtBu. Неочищенное твердое вещество очищали с использованием препаративной ВЭЖХ, описанной в экспериментальных условиях. ЖХМС: 415,0 (M+H)⁺, HPLC: t_R = 13,1 мин.

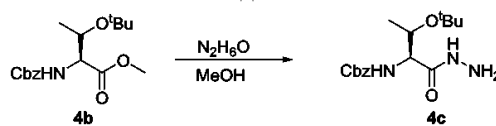
Синтез соединения 4f.

Стадия 4a



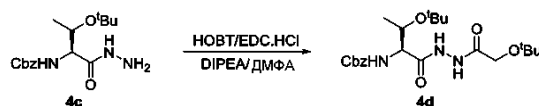
Метилиодид (4,9 г, 34 ммоль) и карбонат калия (6,0 г, 44 ммоль) добавляли к раствору соединения 4a (7,1 г, 22 ммоль) в ДМФА (70 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Полноту реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Реакционную смесь разделяли между ледяной водой и этилацетатом. Органический слой промывали соевым раствором, сушили над Na₂SO₄ и выпаривали при пониженном давлении с получением 6,4 г соединения 4b. ЖХМС: 324,0 (M+H)⁺.

Стадия 4b



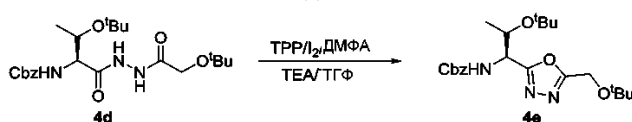
Гидразин-гидрат (6,4 мл) добавляли к раствору соединения 4b (6,4 г) в метаноле (64 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч. Полноту реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Реакционную смесь разделяли между ледяной водой и этилацетатом. Органический слой промывали соевым раствором, сушили над Na₂SO₄ и выпаривали при пониженном давлении с получением 5,5 г соединения 4c. ЖХМС: 324,2 (M+H)⁺.

Стадия 4c



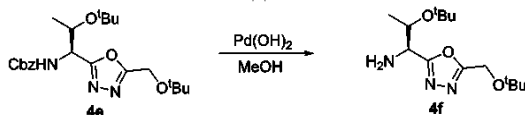
2-(трет-бутокс)уксусную кислоту (1,16 г, 8,8 ммоль), HOBT (1,3 г, 9,6 ммоль), EDC·HCl (1,83 г, 9,6 ммоль), DIPEA (2,5 г, 21 ммоль) добавляли к раствору соединения 4c (2,6 г, 8,8 ммоль) в ДМФА (50 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. Полноту реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Реакционную смесь разделяли между ледяной водой и этилацетатом. Органический слой промывали NaHCO₃, лимонной кислотой, соевым раствором, сушили над Na₂SO₄ и выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного соединения 6, которое дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элюент: 0-50% этилацетата в гексане) с получением 3 г продукта 4d. ЖХМС: 438,2 (M+H)⁺.

Стадия 4d



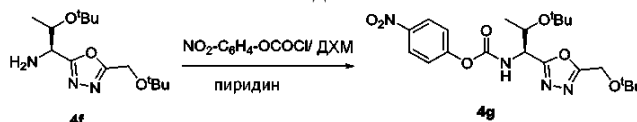
Трифенилфосфин (6,5 г, 24 ммоль), йод (6,2 г, 24 ммоль), TEA (3,5 г, 35 ммоль) добавляли к раствору соединения 4d (3,1 г, 7,0 ммоль) в ТГФ (50 мл) и ДМФА (10 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Полноту реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Реакционную смесь разделяли между раствором тиосульфата натрия и этилацетатом. Органический слой промывали соевым раствором, сушили над Na₂SO₄ и выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного соединения 4е, которое дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элюент: 0-50% этилацетата в гексане) с получением 2,4 г продукта 4е. ЖХМС: 420,2 (M+H)⁺.

Стадия 4е



Гидроксид палладия (0,5 г) добавляли к раствору соединения 4е (2,3 г) в метаноле (30 мл) и перемешивали в атмосфере газообразного H_2 при комнатной температуре в течение 2 ч. Полноту реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Реакционную смесь фильтровали на слое целита и фильтрат выпаривали при пониженном давлении с получением 1,2 г продукта 4f. ЖХМС: 286,1 (M+H)⁺.

Стадия 4f



4-Нитрофенилхлорформат (0,85 г, 4,2 ммоль), пиридин (0,36 г, 4,6 ммоль) добавляли к раствору соединения 4f (1,2 г, 4,2 ммоль) в CH_2Cl_2 (40 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Полноту реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Реакционную смесь разделяли между ледяной водой и этилацетатом. Органический слой промывали лимонной кислотой соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного соединения 4g, которое дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элюент: 0-40% этилацетата в гексане) с получением 1,8 г продукта 4g.

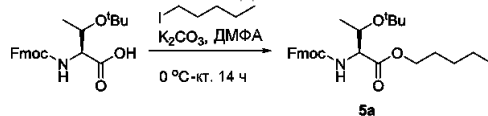
Пример 5. Синтез соединения 80



Указанное соединение синтезировали с использованием аналогичной процедуры, как показано в примере 2, с использованием соединения 5b (полученного в соответствии с процедурой, приведенной ниже) вместо H-Tyr(tBu)-OtBu. Неочищенное твердое вещество очищали с использованием препаративной ВЭЖХ, описанной в экспериментальных условиях. ЖХМС: 431,5 (M+H)⁺, HPLC: t_R = 12,6 мин.

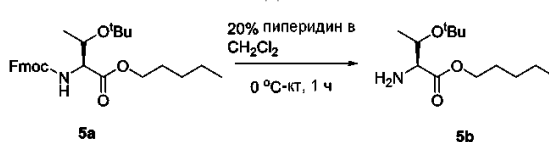
Синтез соединения 5b.

Стадия 5а



К раствору Fmoc-Thr(tBu)-OH (5,5 г, 13,8 ммоль) в ДМФА (25,0 мл) K_2CO_3 (2,9 г, 20,8 ммоль) добавляли при 0°C и перемешивали в течение 30 мин с последующим добавлением йодпентана (2,1 мл, 16,6 ммоль) при 0°C. Указанную выше реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 14 ч. Завершение реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Реакционную смесь разделяли между водой и этилацетатом. Органический слой промывали $NaHCO_3$, соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и выпаривали при пониженном давлении с получением соединения 5а (6,86 г) и использовали на следующей стадии без очистки. ЖХМС: 246,4 (M-Fmoc+H)⁺.

Стадия 5b



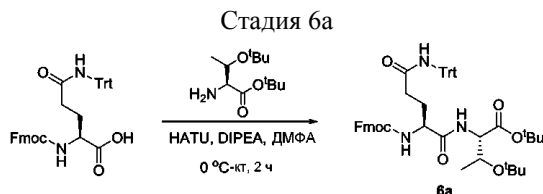
К соединению 5а (6,86 г, 14,67 ммоль) добавляли 20% пиперидин в CH_2Cl_2 (34,3 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Полноту реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Реакционную смесь выпаривали в атмосфере азота и разделяли между водой и этилацетатом. Органический слой промывали $NaHCO_3$, соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и выпаривали при пониженном давлении. Неочищенное соединение 5b очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (Элюент: 0-40% этилацетата в гексане) с получением 2,5 г 5b. ЖХМС: 246,1 (M+H)⁺.

Пример 6. Синтез соединения 81

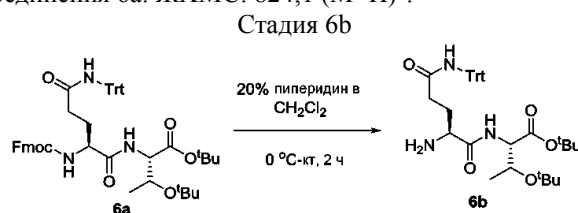


Указанное соединение синтезировали с использованием аналогичной процедуры, как показано в Примере 2, с использованием соединения 6b (полученного в соответствии с процедурой, приведенной ниже) вместо Н-Тур(тВu)-ОtВu. Неочищенное твердое вещество очищали с использованием препаративной ВЭЖХ, описанной в экспериментальных условиях. ЖХМС: 443,8 (M+H)⁺, HPLC: t_R = 8,8 мин.

Синтез соединения 6b.



К раствору Fmoc-Gln(Trt)-OH (5,0 г, 8,2 ммоль) в ДМФА (25,0 мл) HATU (3,4 г, 9,0 ммоль), Н-Тур(ОtВu)-ОtВu (1,9 г, 8,2 ммоль) и DIPEA (2,9 мл, 16,4 ммоль) добавляли при 0 °С и перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Завершение реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Реакционную смесь гасили водой, полученное твердое вещество фильтровали, промывали гексаном и сушили с получением 7,4 г соединения 6a. ЖХМС: 824,1 (M+H)⁺.



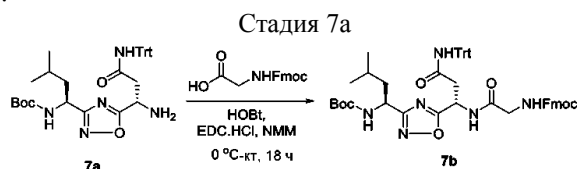
К соединению 6a (7,4 г, 8,9 ммоль) добавляли 20% пиперидин в CH₂Cl₂ (37,0 мл), реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Полноту реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Реакционную смесь выпаривали в атмосфере азота и разделяли между водой и ДХМ. Органический слой промывали NaHCO₃, соевым раствором, сушили над Na₂SO₄ и выпаривали при пониженном давлении. Неочищенное соединение промывали гексаном и сушили при пониженном давлении с получением 3,7 г соединения 6b. ЖХМС: 601,8 (M+H)⁺.

Пример 7. Синтез соединения 82



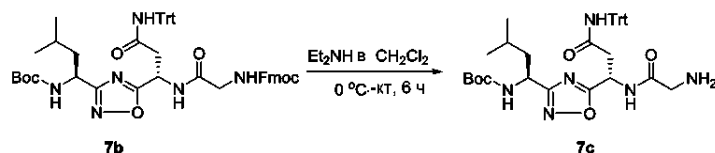
Указанное соединение синтезировали с использованием аналогичной процедуры, как показано в Примере 2, с использованием соединения 7с (полученного в соответствии с процедурой, приведенной ниже) вместо соединения 2d. Неочищенное твердое вещество очищали с использованием препаративной ВЭЖХ, описанной в экспериментальных условиях. ЖХМС: 443,8 (M+H)⁺, HPLC: t_R = 8,8 мин.

Синтез соединения 7с.



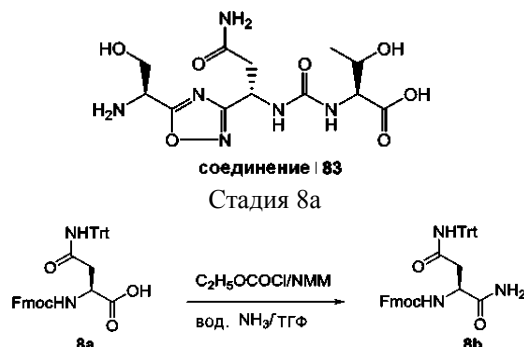
EDC.HCl (2,9 г, 14,97 ммоль), HOBT (2,3 г, 14,97 ммоль), Fmoc-Gly-OH (2,97 г, 9,98 ммоль) и NMM (2,7 мл, 24,95 ммоль) добавляли к раствору соединения 7a (5,83 г, 9,98 ммоль). Указанное соединение 7a синтезировали с использованием аналогичной процедуры, как изображено для соединения 2d в примере-2) в ДМФА (30,0 мл) при 0 °С и перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Реакционную смесь разделяли между водой и этилацетатом. Органический слой промывали лимонной кислотой, NaHCO₃, соевым раствором, сушили над Na₂SO₄ и выпаривали при пониженном давлении, дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (Элюент: 10% этилацетат в гексане-100% этилацетат) с получением 6,0 г соединения 7b. ЖХМС: 885,4 (M+Na+H)⁺.

Стадия 7b



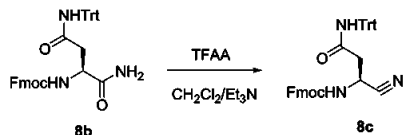
Диэтиламин (24,0 мл) добавляли к раствору соединения 7b (6,0 г, 6,95 ммоль) в CH_2Cl_2 (24,0 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 6 ч при комнатной температуре и полученный раствор концентрировали в атмосфере азота с получением соединения 7c, которое очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (Элюент: 0-10% этилацетат в гексане, затем 2% метанол в ДХМ) с получением 4,5 г соединения 7c. ЖХМС: 641,2 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Пример 8. Синтез соединения 83



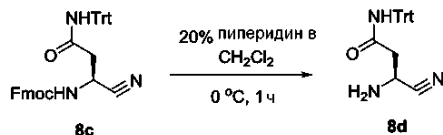
Этилхлорформиат (2,35 мл, 25,05 ммоль) и N-метилморфолин (2,75 мл, 25,05 ммоль) добавляли к раствору соединения 8a (5,0 г, 8,35 ммоль) в ТГФ (50 мл) и перемешивали при -20°C. Через 20 мин. водный раствор аммиака (3,0 мл) добавляли к активно перемешанному ангидриду, образованному in-situ, и перемешивали при 0-5°C в течение 1 ч. Полноту реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Реакционную смесь выливали в воду и гексан, полученное твердое вещество фильтровали, промывали гексаном и сушили с получением 4,2 г соединения 8b. ЖХМС: 596,3 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Стадия 8b



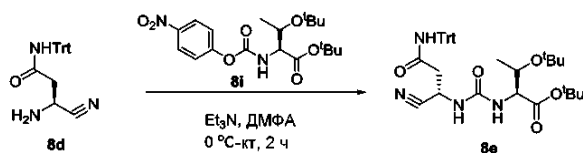
Триэтиламин (3,5 мл, 24,7 ммоль) и трифторуксусный ангидрид (1,5 мл, 10,6 ммоль) добавляли к раствору соединения 8b (4,2 г, 7,1 ммоль) в ТГФ (70 мл) и перемешивали при 0°C в течение 1 ч. Полноту реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Реакционную смесь разделяли между водой и этилацетатом. Органический слой промывали NaHCO_3 , соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и выпаривали при пониженном давлении с получением 4 г неочищенного соединения 8c, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЖХМС: 578,2 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, 600,2 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺.

Стадия 8c



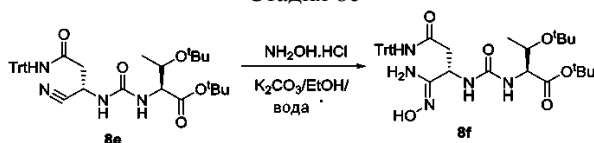
К соединению 8c (1,5 г, 2,59 ммоль) добавляли 20% пиперидин в CH_2Cl_2 (20,0 мл) и реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 1 ч. Полноту реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Реакционную смесь выпаривали в атмосфере азота и разделяли между водой и этилацетатом. Органический слой промывали NaHCO_3 , соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и выпаривали при пониженном давлении. Неочищенное соединение промывали гексаном и 20% диэтиловым эфиром в гексане с получением 0,8 г соединения 8d, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЖХМС: 378,4 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺.

Стадия 8d



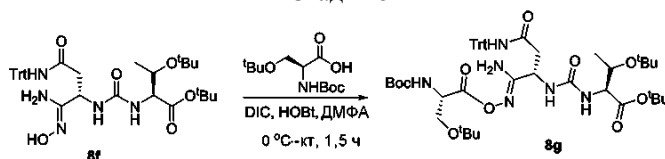
Триэтиламин добавляли к раствору соединения 8d (0,8 г, 2,3 ммоль) в ДМФА (15,0 мл) при 0°C в течение 2 мин. После чего добавляли соединение 8i (1,0 г, 27,0 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Полноту реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Реакционную смесь выливали в воду и полученное твердое вещество фильтровали, промывали гексаном и 20% диэтиловым эфиром в гексане с получением 1,2 г соединения 8e. ЖХМС 613,6 (M+H)⁺.

Стадия 8e



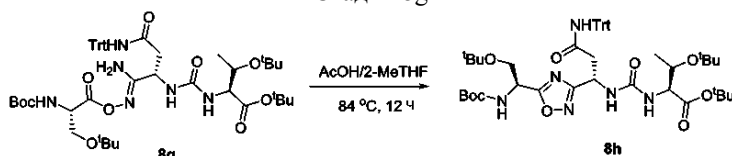
Гидрохлорид гидроксилamina (0,204 г, 29,37 ммоль), воду (10,0 мл) и карбонат калия (0,4 г, 29,37 ммоль) добавляли к раствору соединения 8e (1,2 г, 19,58 ммоль) в EtOH (26,0 мл) и перемешивали при 85°C в течение 2 ч. Полноту реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Реакционную смесь выпаривали при пониженном давлении и гасили водой, полученное твердое вещество фильтровали, промывали гексаном и сушили с получением 1,0 г соединения 8f. ЖХМС: 646,9 (M+H)⁺.

Стадия 8f



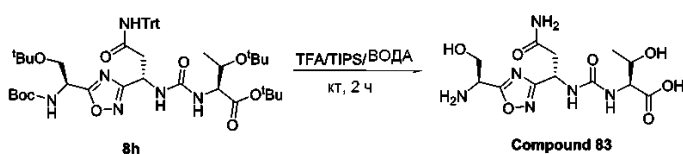
DIC (0,29 мл, 18,58 ммоль) и HOBT (0,25 г, 18,58 ммоль) добавляли к раствору Boc-Ser(tBu)-OH (0,4 г, 15,48 ммоль) в ДМФА (20,0 мл) при 0°C и перемешивали в течение 30 мин с последующим добавлением соединения 8f (1,0 г, 15,48 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 1,5 ч. Полноту реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Реакционную смесь гасили водой, полученное твердое вещество фильтровали, промывали диэтиловым эфиром, сушили при пониженном давлении с получением 1,4 г соединения 8g, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЖХМС: 889,4 (M+H)⁺.

Стадия 8g



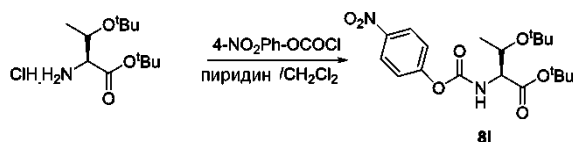
Уксусную кислоту (1,2 мл) добавляли к раствору соединения 8g (1,2 г, 13,49 ммоль) в 2-метил ТГФ (30,0 мл). Реакционную смесь перемешивали при 84°C в течение 12 ч. Полноту реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Реакционную смесь разделяли между водой и этилацетатом. Органический слой промывали NaHCO₃, соевым раствором, сушили над Na₂SO₄ и выпаривали при пониженном давлении. Неочищенное соединение промывали гексаном и 5% диэтиловым эфиром в гексане с получением 0,45 г соединения 8h, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЖХМС: 871,4 (M+H)⁺.

Стадия 8h



К раствору соединения 8h (0,4 г, 4,55 ммоль) в трифторуксусной кислоте (9,5 мл) добавляли триизопропилсилан (0,25 мл) и воду (0,25 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Полученный раствор выпаривали в атмосфере азота с получением 0,1 г неочищенного соединения 83. Неочищенное твердое вещество очищали с использованием метода препаративной ВЭЖХ, описанного в экспериментальных условиях. ЖХМС: 361,1 (M+H)⁺; HPLC: t_R = 13,9 мин.

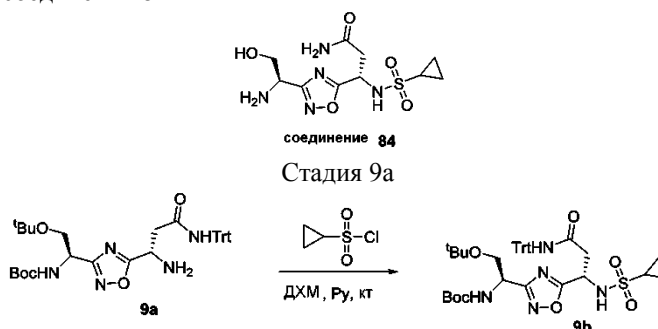
Синтез соединения 8i



К раствору HCl·H-Thr-(^tBu)-O^tBu (8 г, 29,9 ммоль) в CH₂Cl₂ (80 мл), добавляли пиридин (5,9 г, 74,0 ммоль) и указанный раствор перемешивали в течение 5-10 мин при комнатной температуре. К нему до-

бавляли раствор 4-нитрофенилхлорформата (7,2 г, 35,0 ммоль) в CH_2Cl_2 и полученную смесь перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре. Завершение реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. После завершения реакции, реакционную смесь разбавляли CH_2Cl_2 и промывали водой и 5,0 М раствором лимонной кислоты. Отделенный органический слой сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного соединения, которое очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элюент: 0-20% этилацетата в гексане) с получением 9 г соединения 8i. ЖХМС: 397,3 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Пример 9. Синтез соединения 84



К перемешанному раствору соединения 9a (1,00 г) в ДХМ (40,0 мл) добавляли пиридин (0,33 мл) с последующим добавлением циклопропансульфонилхлорида (0,33 мл) и полученную смесь перемешивали в условиях окружающей среды в течение 16 ч, после чего анализ ТСХ показал завершение реакции. Реакционную смесь разделяли между водой и ДХМ и органический слой промывали разб. HCl (1,0 N). Органическую фазу затем сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного сульфонида, который дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии (нейтральный оксид алюминия, элюент гексан- EtOAc (2:3)) с получением требуемого Соединения 9b (1,10 г). ЖХМС: 735,4 ($\text{M}+\text{H}+\text{H}_2\text{O}$)⁺.

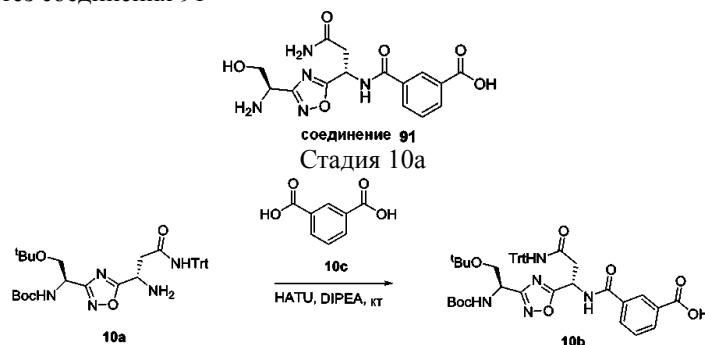


Указанное соединение 84 получали из соединения 9b в соответствии с процедурой, описанной в стадии 1g примера - 1 с соответствующими изменениями в реагентах, количествах реагентов, растворителях и условиях реакции. ЖХМС ($\text{M}+\text{H}$)⁺: 319,9.

Соединения ниже были получены способом, аналогичным способу, описанному в примере 9 (соединение 84), с соответствующими изменениями в реагентах или аминокислотах, растворителях, количествах реагентов и условиях реакции. Аналитические данные соединений приведены в таблице ниже.

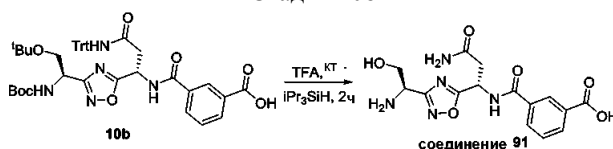
85.		336,2
86.		308,3
87.		322,3
88.		348,2
89.		362,3
90.		413,1

Пример 10. Синтез соединения 91



DIPEA (0,11 г, 0,89 ммоль) добавляли в инертной атмосфере к перемешанному раствору, содержащему соединение 10a (0,25 г, 0,4 ммоль), карбоновую кислоту 10c (74 мг, 0,44 ммоль) и HATU (0,23 г, 0,61 ммоль) в сухом ДМФА (3,0 мл). Реакционную смесь перемешивали в условиях окружающей среды в течение 16 ч. Полученную реакционную смесь разделяли между водой (50 мл) и EtOAc (25 мл) и водный слой экстрагировали EtOAc (25 мл $\times$ 3). Объединенные органические фазы промывали один раз холодной водой, сушили над Na_2SO_4 и растворитель удаляли при пониженном давлении с получением указанного соединения 10b (0,12 г). ЖХМС: 779,0 ($\text{M}+\text{H}$)+.

Стадия 10b

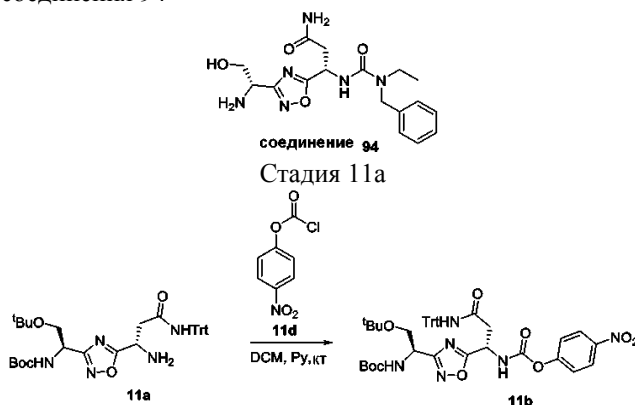


Указанное соединение 90 получали из соединения 10b в соответствии с процедурой, описанной в стадии Ig Примера - 1, с соответствующими изменениями в реагентах, количествах реагентов, растворителях и условиях реакции. ЖХМС ($\text{M}+\text{H}$) : 363,9.

Соединения ниже были получены способом, аналогичным способу, описанному в примере 10 (соединение 91), с соответствующими изменениями в реагентах или аминокислотах, растворителях, количествах реагентов и условиях реакции. Аналитические данные соединений приведены в таблице ниже.

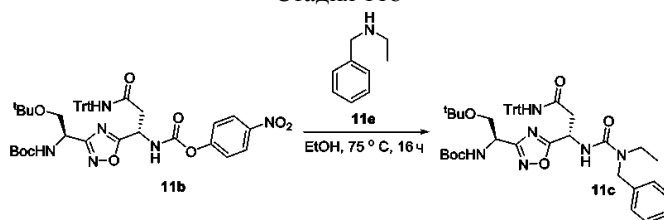
№ соединения	Структура	ЖХМС ($\text{M}+\text{H}$) ⁺
92.		329,3
93.		317,1

Пример 11. Синтез соединения 94



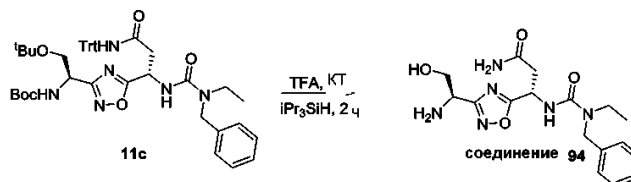
К перемешанному раствору 11a (2,00 г) в ДХМ (40,0 мл) добавляли пиридин (0,53 мл) с последующим добавлением 4-нитрофенилхлорформата (0,65 г) и полученную смесь перемешивали в условиях окружающей среды в течение 16 ч. Реакционную смесь дополнительно разделяли между водой и ДХМ и органический слой промывали разб. HCl (1,0 N). Органическую фазу затем сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного сульфонида, который дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии (нейтральный оксид алюминия, элюент гексан-EtOAc (2:3)) с получением требуемого карбамата 11b (2,66 г). ЖХМС: 801,4 ($\text{M}+\text{H}+\text{Na}$)⁺.

Стадия 11b



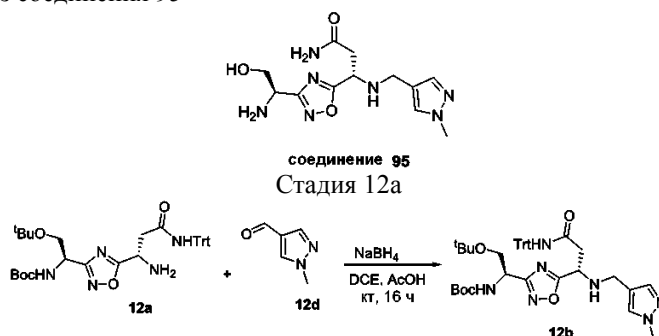
Амин 11e (0,55 г, 4,09 ммоль) добавляли к перемешанному раствору соединения 11b (2,66 г, 3,41 ммоль) в этаноле (30,0 мл) и полученную смесь кипятили с обратным холодильником при 75°C в течение 16 ч. Полноту реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Реакционную смесь выпаривали при пониженном давлении, разбавляли этилацетатом (75 мл) и последовательно промывали водой (80 мл) с последующим промыванием нас. раствором K_2CO_3 (50 мл) и соевым раствором (50 мл). После высушивания органических веществ Na_2SO_4 растворители удаляли при пониженном давлении с получением указанного соединения 11c (1,0 г). ЖХМС: 775,3 (M+H)⁺.

Стадия 11c



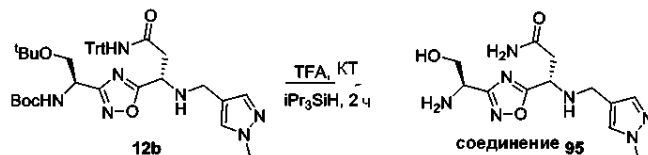
Указанное соединение 91 получали из соединения 11c в соответствии с процедурой, описанной в стадии 1g примера - 1, с соответствующими изменениями в реагентах, количествах реагентов, растворителях и условиях реакции. ЖХМС (M+H)⁺: 377,2.

Пример 12. Синтез соединения 95



Уксусную кислоту (0,2 мл) добавляли к перемешанному раствору соединения 12a (500 мг) и соединения 12d (134 мг) в сухом DCE (20,0 мл) и полученную смесь перемешивали при КТ в течение 12 ч. Боргидрид натрия (77,0 мг) добавляли к указанной выше смеси и полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. Реакционную смесь разбавляли водой (25 мл) и экстрагировали ДХМ (3×25 мл). Объединенные органические фазы промывали соевым раствором и водой, сушили над Na_2SO_4 и растворители удаляли при пониженном давлении с получением неочищенного соединения 12b, которое переносили на следующую стадию без дополнительной очистки (200 мг). ЖХМС: 708,0 (M+H)⁺.

Стадия 12b

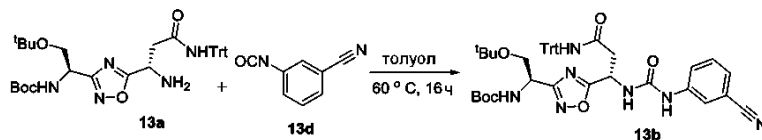


Указанное соединение 92 получали из 12b в соответствии с процедурой, описанной в стадии 1g примера 1, с соответствующими изменениями в реагентах, количествах реагентов, растворителях и условиях реакции. ЖХМС (M+H)⁺: 310,2.

Пример 13. Синтез соединения 96

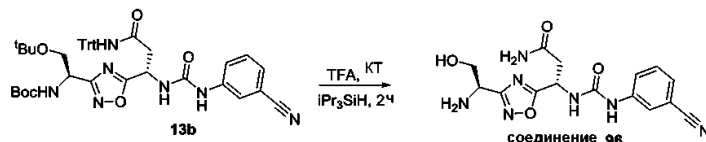


Стадия 13а



Соединение 13d (77,0 мг) добавляли к перемешанному раствору соединения 13a (0,3 г) в толуоле (10,0 мл) в инертной атмосфере и полученную смесь нагревали при 60°C в течение 16 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении, неочищенный продукт неоднократно промывали пентаном (2×10 мл) и диэтиловым эфиром (2×10 мл) и сушили при пониженном давлении с получением соединения 13b (200,0 мг). ЖХМС: 702,0 (M+H-^tBu)⁺.

Стадия 2

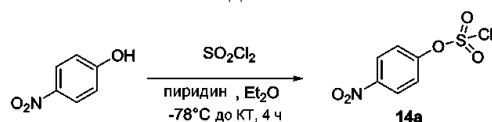


Указанное соединение 96 получали из 13b в соответствии с процедурой, описанной в стадии 1g примера 1, с соответствующими изменениями в реагентах, количествах реагентов, растворителях и условиях реакции. ЖХМС (M+H)⁺: 360,0.

Пример 14. Синтез соединения 97

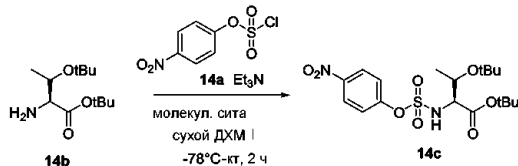


Стадия 14а



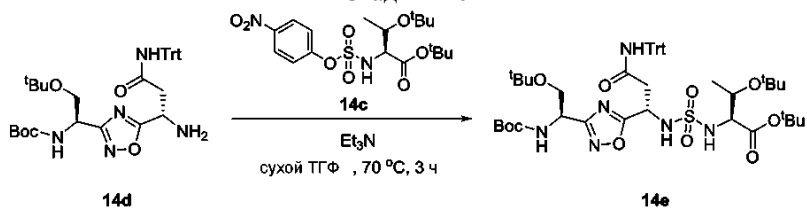
Раствор 4-нитрофенола (1,3 г, 9,99 ммоль) и пиридина (0,8 мл, 9,99 ммоль) в Et₂O (20 мл) добавляли по каплям к раствору SO₂Cl₂ (0,8 мл, 9,99 ммоль) в Et₂O (20 мл) при -78°C в атмосфере аргона. Реакционную смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры, перемешивали в течение 4 ч. Полноту реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Летучие вещества выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного соединения. Неочищенное соединение очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (Элюент: 0-3% этилацетат в гексане) и получали 1,2 г соединения 14а. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 8,39-8,36 (m, 2H), 7,61-7,57 (m, 2H).

Стадия 14b



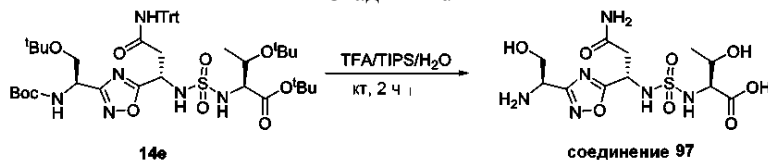
Смесь соединения 14b (0,6 г, 2,59 ммоль), молекулярных сит (1,0 г), 4-нитрофенола (0,72 г, 5,18 ммоль) и Et₃N (1,1 мл, 7,77 ммоль) в сухом CH₂Cl₂ (25,0 мл), добавляли по каплям к раствору соединения 14a (1,2 г, 5,18 ммоль) в сухом CH₂Cl₂ (5,0 мл) при -78°C в атмосфере аргона. После перемешивания в течение 30 мин реакционную смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры в течение 2 ч. Полноту реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Реакционную смесь выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного соединения. Неочищенное соединение очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (Элюент: 0-7% этилацетат в гексане) и получали 0,7 г соединения 14c. ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃): δ 8,30-8,27 (m 2H), 7,52- 7,49(m 2H), 5,70-5,67 (1H d, J 9,6), 4,17-3,90 (1H, m), 1,49 (9H, s), 1,28-1,23 (3H, m), 1,15 (9H, s).

Стадия 14с



Соединение 14с (0,69 г, 1,59 ммоль) в ТГФ (5,0 мл) добавляли к перемешанному раствору соединения 14d (0,7 г, 1,14 ммоль) и Et₃N (0,5 мл, 3,42 ммоль) в сухом ТГФ (10,0 мл) и полученную реакционную смесь перемешивали при 70°C в течение 3 ч. Полноту реакции подтверждали с помощью анализа ТСХ. Летучие вещества выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного соединения. Неочищенное соединение очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (Элюент: 0-33% этилацетат в гексане) и получали 0,55 г соединения 14е. ЖХМС: 907,4 (M+H)⁺.

Стадия 14d

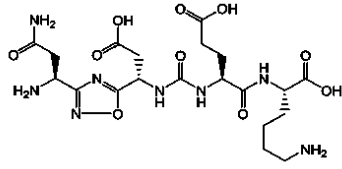
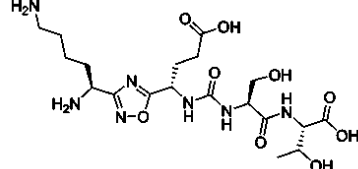
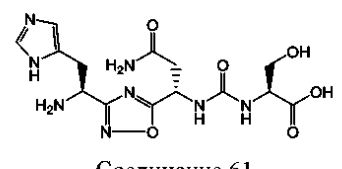
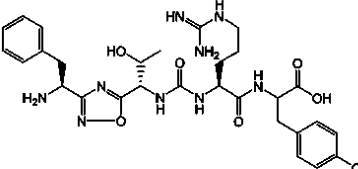
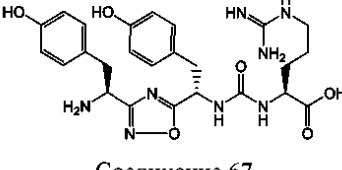
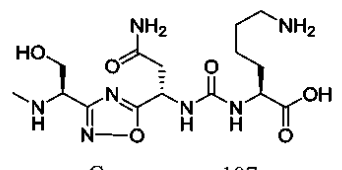
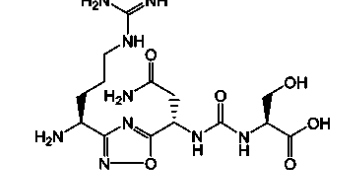


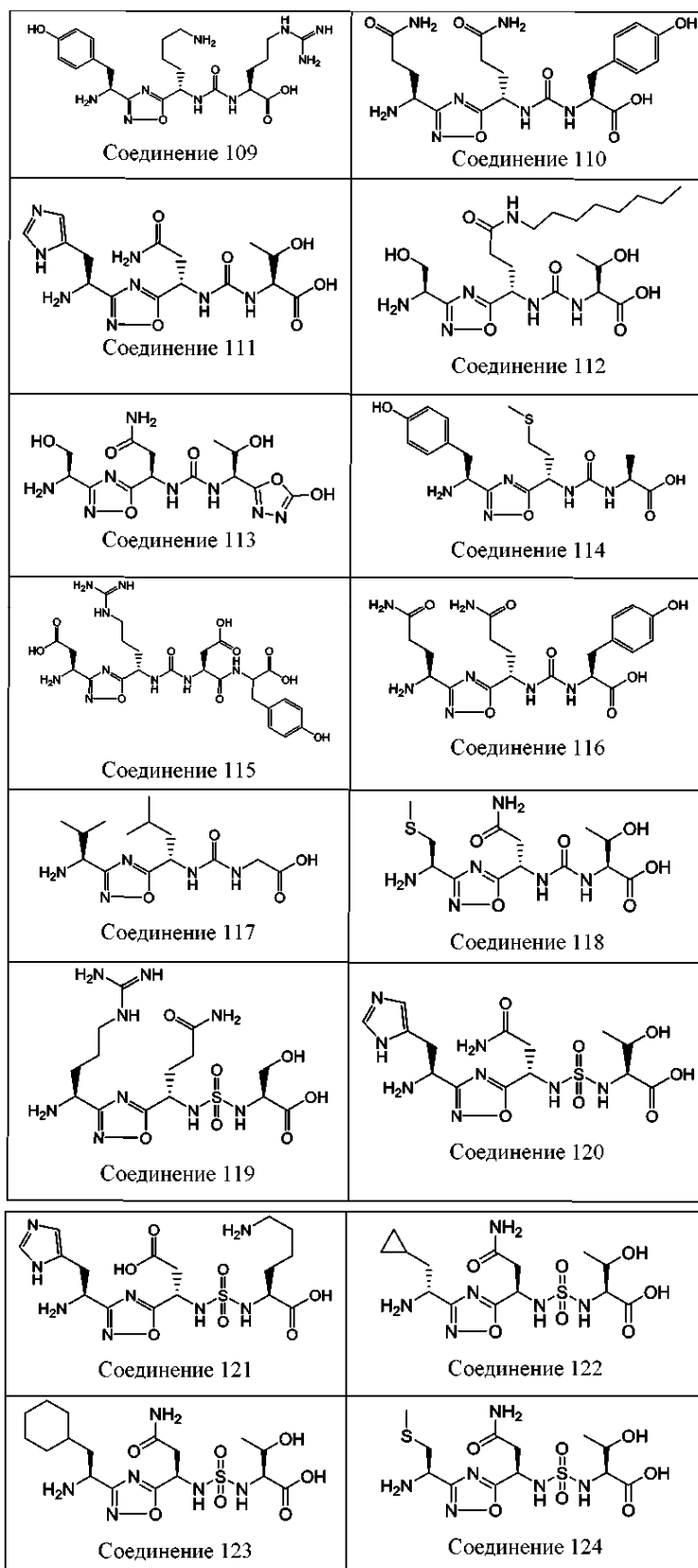
К раствору соединения 14е (0,55 г, 0,55 ммоль) в трифторуксусной кислоте (9,5 мл) добавляли триизопропилсилан (0,25 мл) и воду (0,25 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Полученный раствор выпаривали в атмосфере азота с получением 0,3 г неочищенного соединения 97. Неочищенное твердое вещество очищали с использованием метода препаративной ВЭЖХ, описанного в экспериментальных условиях. ЖХМС: 397,0 (M+H)⁺; HPLC: t_R = 10,547 мин.

Соединения ниже были получены способом, аналогичным способу, описанному в примере 14 (соединение 97), с соответствующими изменениями в реагентах или аминокислотах, растворителях, количествах реагентов и условиях реакции. Аналитические данные соединений приведены в таблице ниже.

№ соединения	Структура	ЖХМС (M+H) ⁺	HPLC (t _R , мин)
98		403,1	14,7
99		439,1	16,9
100		452,4	8,9
101		452,0	-
102		493,4	-
103		438,7	-
104		395,2	10,2

Хотя настоящая заявка была проиллюстрирована некоторыми из предыдущих примеров, она не ограничивается ими; напротив настоящая заявка охватывает общую область, как описано выше. Различные модификации и варианты реализации могут быть сделаны без отклонения от их сущности и объема. Например, следующие соединения, которые могут быть получены, следуя аналогичной процедуре, описанной выше, с подходящей модификацией, известной специалисту в данной области, также включены в объем настоящей заявки:

 Соединение 55	 Соединение 57
 Соединение 61	 Соединение 66
 Соединение 67	 Соединение 68
 Соединение 69	 Соединение 70
 Соединение 71	 Соединение 72
 Соединение 105	 Соединение 106
 Соединение 107	 Соединение 108



Пример 15. Сохранение способности к пролиферации спленцитов мыши в присутствии рекомбинантного PD-L1.

В качестве источника PD-L1 использовали рекомбинантный PD-L1 мыши (gm-PDL-1, каталожный номер: 1019-B7-100; R&D Systems).

Требования: спленциты мыши, полученные от мышей C57 BL6 в возрасте от 6 до 8 недель; RPMI 1640 (GIBCO, каталожный номер: 11875); DMEM с высоким содержанием глюкозы (GIBCO, каталожный номер: D6429); фетальная бычья сыворотка [Hyclone, каталожный номер: SH30071,03]; пенициллин

(10000 единиц/мл) - стрептомицин (10000 мкг/мл) в растворе (GIBCO, каталожный номер: 15140-122); раствор пирувата натрия в модифицированной среде Игла (MEM) 100 мМ (100×) (GIBCO, каталожный номер: 11360); заменимая аминокислота (GIBCO, каталожный номер: 11140); L-глутамин (GIBCO, каталожный номер: 25030); анти-CD3 антитело (eBiosciences - 16-0032); анти-CD28 антитело (eBiosciences - 16-0281); лизирующий буферный раствор ACK (1 мл) (GIBCO, каталожный номер: A10492); раствор Histopaque (плотность 1,083 г/мл) (SIGMA 10831); раствор трипанового синего (SIGMA-T8154); шприц с люэровским наконечником Norm Ject объемом 2 мл (Sigma 2014-12); нейлоновое сито для клеток 40 мкм (BD FALCON 35230); гематометр (Bright line-SIGMA Z359629); буферный раствор FACS (PBS/0,1% BSA); фосфатный буферный солевой раствор (PBS) pH 7,2 (Hi-Media TS1006) с раствором 0,1% бычьего сывороточного альбумина (BSA) (SIGMA A7050) и азидом натрия (SIGMA 08591); концентрированный раствор 5 мМ CFSE: концентрированный раствор CFSE получали, разбавляя лиофилизированный CFSE 180 мкл диметилсульфоксида (ДМСО C_2H_6SO , SIGMA-D-5879) и помещая аликвоты в пробирки для последующего применения. Рабочие концентрации титровали от 10 мкМ до 1 мкМ.

Раствор 0,05% трипсина (eBioscience-650850-85) и раствор 0,02% EDTA (SIGMA 59417C); 96-луночные планшеты для иммуноферментного твердофазного анализа (ELISA) (Corning CLS3390); калибр BD FACS (E6016); рекомбинантный мышинный B7-H1/PDL1 Fc Chimera, (rm-PD-L1 каталожный номер: 1019-B7-100).

Протокол.

Получение и культивирование спленоцитов: спленоциты собирали в пробирке Falcon объемом 50 мл, превращая в пюре селезенку мыши на сите для клеток 40 мкм, а затем обрабатывали 1 мл лизирующего буферного раствора ACK в течение 5 мин при комнатной температуре. После промывания 9 мл полной питательной среды RPMI клетки повторно суспендировали в 3 мл 1×PBS в пробирке объемом 15 мл. На дно пробирки аккуратно добавляли 3 мл Histopaque, не затрагивая верхнего слоя суспензии спленоцитов. После центрифугирования при 800×g в течение 20 мин при комнатной температуре непрозрачный слой спленоцитов аккуратно собирали без возмущения/смешивания слоев. Сплелоциты дважды промывали холодной 1×PBS, а затем подсчитывали общее количество клеток с использованием эксклюзионного способа с применением трипанового синего, и использовали далее в клеточных исследованиях.

Сплелоциты культивировали в полной среде RPMI (RPMI + 10% фетальной бычьей сыворотки + 1 мМ пирувата натрия + 10000 единиц/мл пенициллина и 10000 (мкг/мл стрептомицина) и выдерживали в CO_2 инкубаторе с содержанием 5% CO_2 при 37°C.

Исследование пролиферации с помощью CFSE: сукцинимидиловый эфир карбоксифлуоресцеина (CFSE) представляет собой краситель, который пассивно диффундирует в клетки и связывается с внутриклеточными белками. Собранные спленоциты (1×10⁶ клеток/мл) обрабатывали 5 мкМ CFSE в предварительно нагретом растворе 1×PBS/0,1% BSA в течение 10 мин при 37°C. Избыток CFSE гасили, добавляя в клетки 5 объемов ледяной культуральной среды и инкубируя на льду в течение 5 мин. Меченые CFSE спленоциты дополнительно три раза промывали ледяной полной средой RPMI. Меченые CFSE спленоциты (1×10⁵) помещали в лунки, содержащие либо клетки MDA-MB231 (1×10⁵ клеток, выращенных в среде DMEM с высоким содержанием глюкозы), либо рекомбинантный PDL-1 человека (100 нг/мл) и тестируемые соединения. Сплелоциты стимулировали, добавляя антимышиное CD3 и антимышиное CD28 антитело (по 1 мкг/мл каждого), и культуру дополнительно инкубировали в течение 72 ч при 37°C в среде 5% CO_2 . Клетки собирали и промывали трижды ледяным буфером FACS, и % пролиферации анализировали методом проточной цитометрии с фильтрами возбуждения при 488 нм и излучения при 521 нм.

Сбор, обработка и анализ данных: процент пролиферации спленоцитов анализировали с использованием программы cellquest FACS, и процент сохранения способности к пролиферации спленоцитов посредством соединения оценивали, вычитая % фонового значения пролиферации и нормируя на % стимулированной пролиферации спленоцитов (положительный контроль), принятой как 100%. Результаты представлены в табл. I.

Стимулированные спленоциты: спленоциты + стимуляция анти-CD3/CD28.

Фоновая пролиферация: спленоциты + анти-CD3/CD28 + PD-L1.

Пролиферация под действием соединения: спленоциты + анти-CD3/CD28 + PD-L1 + соединение.

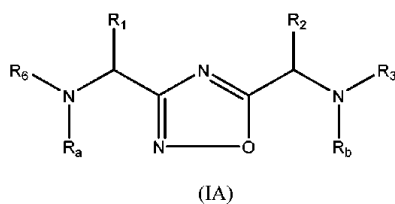
Эффект соединения исследовали посредством добавления соединения в требуемой концентрации в спленоциты, стимулированные анти-CD3/CD28, в присутствии лиганда (PDL-1).

Таблица I. Процент сохранения способности к пролиферации спленоцитов для соединений согласно изобретению

№ соединения	Процент сохранения способности к пролиферации спленоцитов (@ 100 нМ)	№ соединения	Процент сохранения способности к пролиферации спленоцитов (@ 100 нМ)
1	76	39	75
2	68	40	67
3	73	41	78
4	44	42	50
5	38	43	60
6	69	44	71
7	91	45	17
8	48	46	53
9	84	47	49
10	84	51	20
11	66	52	71
13	62	56	26
14	92	60	99
15	28	62	35
16	50	75	119
17	58	76	67
18	57	77	75
19	54	78	42
20	51	79	37
21	51	80	55
23	49	81	18
24	17	82	12
27	37	83	34
28	36	84	71
30	65	88	10
31	42	89	54
32	70	90	66
33	60	94	97
34	59	95	30
35	66	101	70
36	68	102	38
37	60	103	79
38	52		

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (IA)



или его фармацевтически приемлемая соль; где

R_1 и R_2 представляют собой независимо боковую цепь аминокислоты, выбранной из Ala, Glu, Ser, Trp, Tyr, Lys, Ile, Asn, Phe, Thr, Val, Cys, Arg, His, Met, Asp, Gln и Leu, или водород, (C_1-C_6) алкил или 6-членный циклоалкил; где (C_1-C_6) алкил необязательно замещен одним заместителем, выбранным из амина, гетероциклиламина, в котором гетероцикл представляет собой 10-членный гетероцикл, содержащий 2 атома O, (C_1-C_6) алкиламина, (C_1-C_6) ациламина, (C_1-C_6) карбоновой кислоты, $-CONR_7R_8$, гидрокси, 3-6-членного циклоалкила, 6-членного арила, 5-10-членного гетероарила, содержащего 1-2 атома N, гуанидино, $-SH$ и $-S((C_1-C_6)алкила)$; где 6-членный арил необязательно дополнительно замещен гидроксигруппой; или необязательно где два или три атома углерода (C_1-C_6) алкила образуют часть 3-7-членного гетероциклического кольца, содержащего атом N;

R_3 представляет собой $-CO-[Aaa1]_m$, $-S(O)_p-[Aaa1]_m$, $-CONR_7R_8$, $-COR_c$, $-SO_2R_c$ или (C_1-C_6) алкил; где (C_1-C_6) алкил необязательно замещен одним 5-членными гетероариллом, содержащим 2 атома N; где 5-членный гетероарил необязательно дополнительно замещен одним (C_1-C_6) алкилом;

R_6 представляет собой водород, (C_1-C_6) алкил или (C_1-C_6) ацил;

R_7 и R_8 независимо представляют собой водород, (C_1-C_8) алкил или 6-членный арил; где (C_1-C_8) алкил или 6-членный арил необязательно замещены одним заместителем, выбранным из гидроксила, амина, 10-членного гетероцикла, содержащего 2 атома O, 5-10-членного гетероарила, содержащего 1-3 гетероатома, выбранных из N и O, 6-членного арила и гуанидино; или

R_7 и R_8 вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют необязательно замещенное 5-6-членное гетероциклическое кольцо, содержащее атом N;

каждый $[Aaa1]$ представляет собой аминокислотный остаток, выбранный из Ala, Thr, Ile, Glu, Lys, Tyr, Asp, Pro, Met, Gln, Ser, Phe, Val, Trp, Arg, Asn, Leu и Met; где C-концевая карбоксильная группа аминокислотного остатка представляет собой свободную C-концевую карбоксильную группу $(-COOH)$ или C-концевую карбоксильную группу, алкилированную (C_1-C_6) алкилом, и N-концевая аминогруппа аминокислотного остатка представляет собой свободный N-конец $(-NH_2)$;

R_a представляет собой водород или (C_1-C_6) алкил;

R_b представляет собой водород или (C_1-C_6) алкил; или R_b и R_2 вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют пирролидин, необязательно замещенный одной группой, независимо выбранной из гидроксила и (C_1-C_6) алкила;

R_c представляет собой (C_1-C_6) алкил, 3-6-членный циклоалкил или 6-членный арил; где 6-членный арил необязательно замещен одним заместителем, выбранным из гидроксила и (C_1-C_6) алкила;

m представляет собой целое число от 1 до 3;

p представляет собой целое число от 1 до 2;

при условии, что, когда R_2 представляет собой боковую цепь Asp, Asn, Glu или Gln, R_3 представляет собой водород, $-CO-Ser$ или $-CO-Thr$, R_6 представляет собой водород, (C_1-C_6) алкил или (C_1-C_6) ацил и R_a и R_b представляют собой водород, тогда R_1 не является боковой цепью Ser или Thr.

2. Соединение по п.1, отличающееся тем, что R_3 представляет собой $-CO-[Aaa1]_m$.

3. Соединение по п.1 или 2, отличающееся тем, что боковая цепь $[Aaa1]$ содержит (C_1-C_4) алкильную группу, замещенную одним заместителем, выбранным из амина, карбоновой кислоты, $-CONR_7R_8$, гидрокси, 6-членного арила, 10-членного гетероарила, содержащего атом N, и гуанидино.

4. Соединение по п.1, отличающееся тем, что R_3 представляет собой $-COR_c$.

5. Соединение по п.1, отличающееся тем, что R_3 представляет собой $-SO_2R_c$.

6. Соединение по любому из пп.1-5, отличающееся тем, что R_a представляет собой H.

7. Соединение по любому из пп.1-6, отличающееся тем, что R_1 представляет собой (C_1-C_6) алкил, замещенный одним заместителем, выбранным из амина, (C_1-C_6) ациламина, (C_1-C_6) карбоновой кислоты, $-CONR_7R_8$, гидрокси, 3-6-членного циклоалкила, 6-членного арила, 5-членного гетероарила, содержащего 2 атома N, гуанидино, $-SH$ и $-S((C_1-C_6)алкила)$; и где R_7 и R_8 независимо представляют собой водород или (C_1-C_6) алкил.

8. Соединение по любому из пп.1-7, отличающееся тем, что R_1 представляет собой боковую цепь аминокислоты, выбранной из Ala, Asn, Asp, Tyr, Lys, Ser, Thr, Gln, Ile, Val, Glu, Arg, Leu, Trp, His, Met, Cys и Phe.

9. Соединение по любому из пп.1-8, отличающееся тем, что R_2 представляет собой (C_1-C_6) алкил, необязательно замещенный одним заместителем, выбранным из амина, (C_1-C_6) ациламина, (C_1-C_6) карбоновой кислоты, $-CONR_7R_8$, гидрокси, 3-6-членного циклоалкила, 6-членного арила, 10-членного гетероарила, содержащего атом N, гуанидино, $-SH$ и $-S((C_1-C_6)алкила)$, где 6-членный арил необязательно дополнительно замещен гидроксигруппой; и где R_7 и R_8 независимо представляют собой водород или (C_1-C_8) алкил.

10. Соединение по любому из пп.1-9, отличающееся тем, что R_2 представляет собой боковую цепь аминокислоты, выбранной из Ala, Asn, Ile, Lys, Phe, Glu, Asp, Trp, Val, Ser, Gln, Tyr, Thr, Met, Arg и Leu.

11. Соединение по любому из пп.1-8, отличающееся тем, что R_b и R_2 вместе с атомами, к которым они присоединены, образуют пирролидин, который необязательно замещен одной гидроксигруппой.

12. Соединение по любому из пп.1-11, отличающееся тем, что R_6 представляет собой $-(C_1-C_6)алкил$.

13. Соединение по любому из пп.1-11, отличающееся тем, что R_6 представляет собой $-(C_1-C_6)$ ацил.
 14. Соединение по любому из пп.1-11, отличающееся тем, что R_6 представляет собой H.
 15. Соединение по любому из пп.1-14, отличающееся тем, что один или несколько аминокислотных остатка представляют собой D аминокислотные остатки.
 16. Соединение по любому из пп.1-15, отличающееся тем, что один или несколько аминокислотных остатка представляют собой L аминокислотные остатки.
 17. Соединение по п.1, отличающееся тем, что представляет собой соединение, выбранное из:

№ соединения	Структура
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	

9	
10	
11	
12	
13	
14	
15	
16	
17	
18	
19	
20	
21	
22	
23	
24	
25	
26	

27	
28	
29	
30	
31	
32	
33	
34	
35	
36	
37	
38	
39	
40	
41	
42	
43	

44	
45	
46	
47	
48	
49	
50	
51	
52	
53	
54	
55	
56	
57	
58	
59	
60	
61	

62	
63	
64	
65	
66	
67	
68	
69	
70	
71	
72	
73	
74	
75	
76	
77	
78	

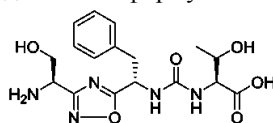
79	
80	
81	
82	
83	
84	
85	
86	
87	
88	
89	
90	
91	
92	
93	
94	
95	
96	

97	
98	
99	
100	
101	
102	
103	
104	
105	
106	
107	
108	
109	
110	
111	
112	
113	
114	

115	
116	
117	
118	
119	
120	
121	
122	
123	
124	

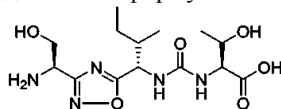
или его фармацевтически приемлемая соль.

18. Соединение по п.1, которое представлено формулой



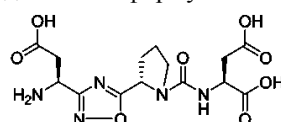
или его фармацевтически приемлемая соль.

19. Соединение по п.1, которое представлено формулой



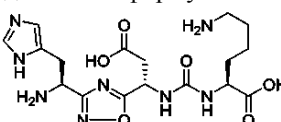
или его фармацевтически приемлемая соль.

20. Соединение по п.1, которое представлено формулой



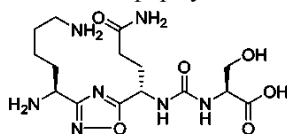
или его фармацевтически приемлемая соль.

21. Соединение по п.1, которое представлено формулой



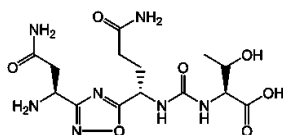
или его фармацевтически приемлемая соль.

22. Соединение по п.1, которое представлено формулой



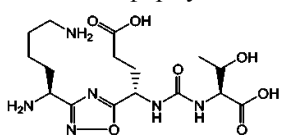
или его фармацевтически приемлемая соль.

23. Соединение по п.1, которое представлено формулой



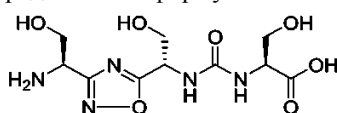
или его фармацевтически приемлемая соль.

24. Соединение по п.1, которое представлено формулой



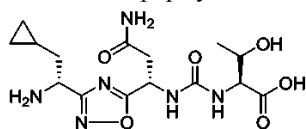
или его фармацевтически приемлемая соль.

25. Соединение по п.1, которое представлено формулой



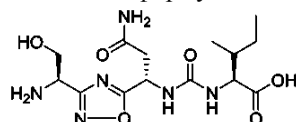
или его фармацевтически приемлемая соль.

26. Соединение по п.1, которое представлено формулой



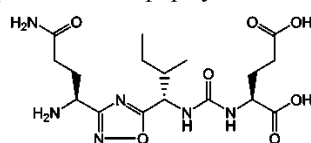
или его фармацевтически приемлемая соль.

27. Соединение по п.1, которое представлено формулой



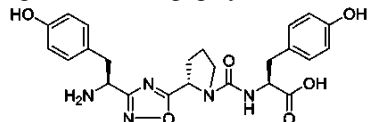
или его фармацевтически приемлемая соль.

28. Соединение по п.1, которое представлено формулой



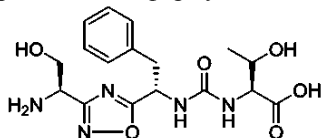
или его фармацевтически приемлемая соль.

29. Соединение по п.1, которое представлено формулой



или его фармацевтически приемлемая соль.

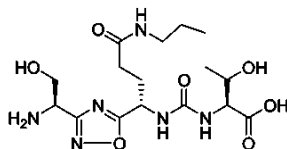
30. Соединение по п.1, которое представлено формулой



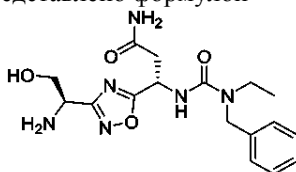
или его фармацевтически приемлемая соль.

31. Соединение по п.1, которое представлено формулой

32. Соединение по п.1, которое представлено формулой



33. Соединение по п.1, которое представлено формулой



47. Применение по п.46, при котором лекарственное средство дополнительно содержит химиотерапевтический агент.