

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202091647 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.10.05

(22) Дата подачи заявки
2019.01.04

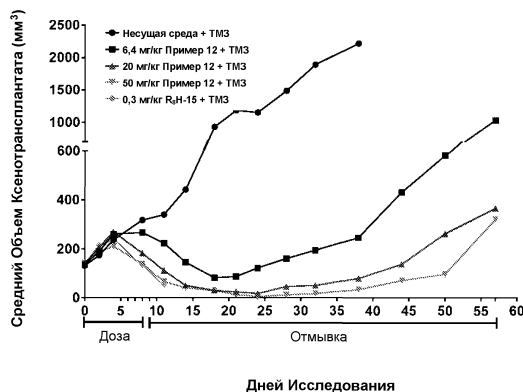
(51) Int. Cl. *A61P 9/00* (2006.01)
A61K 38/16 (2006.01)
A61K 31/454 (2006.01)
C07D 487/06 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) СОЕДИНЕНИЯ, КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ, СВЯЗАННЫХ С АЦИДОЗНЫМИ ИЛИ ГИПОКСИЧЕСКИМИ ПОРАЖЕННЫМИ ТКАНЯМИ

(31) 62/613,931; 62/758,264
(32) 2018.01.05; 2018.11.09
(33) US
(86) PCT/US2019/012413
(87) WO 2019/136298 2019.07.11
(71) Заявитель:
СИБРЕКСА 1, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Маршалл Дэниел Ричард, Ксенджири
Джоанна Мэри, Кинг Далтон,
Волкманн Роберт А., Решетняк Яна,
Андреев Олег, Энглемен Дон (US)
(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Соединения для лечения заболеваний, включающих ацидозные или гипоксические больные ткани, и фармацевтические композиции, содержащие данные соединения, а также способы получения и применения указанных соединений и композиций.



202091647

A1

A1

202091647

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-563854ЕА/042

СОЕДИНЕНИЯ, КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ, СВЯЗАННЫХ С АЦИДОЗНЫМИ ИЛИ ГИПОКСИЧЕСКИМИ ПОРАЖЕННЫМИ ТКАНЯМИ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Данное изобретение относится к терапевтическим соединениям и фармацевтическим композициям для лечения заболеваний, связанных с ацидозными или гипоксическими больными тканями, включающих рак, сердечно-сосудистые заболевания, такие как инсульт и инфаркт миокарда, и долгосрочные нейродегенеративные заболевания, а также к способам их применения и производства.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Гипоксия и ацидоз являются физиологическими маркерами многих болезненных процессов, в том числе рака. При раке, гипоксия представляет собой один механизм, ответственный за развитие кислой среды в солидных опухолях. В результате, ионы водорода должны быть удалены из клетки (например, с помощью протонного насоса), чтобы поддерживать нормальный pH внутри клетки. Как следствие данного выведения ионов водорода, раковые клетки имеют повышенный градиент pH через липидный бислой клеточной мембраны и меньший pH во внеклеточной среде по сравнению с нормальными клетками.

Рак представляет собой группу заболеваний, характеризующихся аномальным контролем роста клеток. Ежегодная заболеваемость раком оценивается свыше 1,6 млн только в Соединенных Штатах. В то время как хирургия, радиация, химиотерапия, и гормоны используются для лечения рака, он остается второй крупнейшей причиной смерти в США. Подсчитано, что около 600 тысяч американцев умирают от рака каждый год.

Лечение рака у человека при системном введении фармацевтических средств, часто работает по принципу замедления или прекращения неконтролируемой репликации, которая является характеристикой раковых клеток. Один класс таких агентов представляет собой ингибиторы репарации ДНК. Такое замедление или прекращение, однако, влияет не только на репликацию раковых клеток, но и репликацию не-раковых клеток, что приводит к хорошо известным нежелательным побочным эффектам такого лечения рака. Было бы весьма желательно выборочно доставлять такие агенты к раковым клеткам-мишеням и свести к минимуму или избежать побочных эффектов, вызванных системным введением.

Семейство ферментов PARP, включающее поли(АДФ-рибоза)полимеразу (PARP-1) и родственные ферменты PARP-2 и PARP-3 (совместно именуемые «PARP»), являются важными элементами в репарации одноцепочечных разрывов ДНК, в частности, через путь эксцизионной репарации оснований ДНК. Если одноцепочечные разрывы не восстанавливаются до репликации ДНК, то могут образовываться двуцепочечные

разрывы ДНК. Клетки с увеличением числа двуцепочечных разрывов ДНК становятся более зависимыми от других путей репарации, таких как гомологичная рекомбинация, и (если одноцепочечные разрывы ДНК продолжают оставаться невосстановленными) клетки погибают.

Ингибиторы PARP были разработаны и продолжают разрабатываться в качестве противораковых агентов. Поскольку данные ингибиторы предотвращают репарацию ДНК одноцепочечных разрывов, они имеют множество ролей в лечении рака. (См., например, Nicola J. Curtin and Ricky A. Sharma - "PARP Inhibitors for Cancer Treatment", Cancer Drug Discovery and Development, vol 83, Humana Press 2015.)

Ингибиторы PARP могут быть применены для лечения форм рака, которые более зависимы от PARP, чем нормальные клетки (так называемые «PARP-чувствительных раковых заболеваний»). Так, например, пациентов с нарушением гомологичной рекомбинации (HRD), например, с участием генов BRCA1 и BRCA2, с успехом подвергают лечению ингибитором PARP, в виде монотерапии или в комбинации с другими агентами. Так как репарация ДНК и выживание ингибированных PARP клеток в значительной степени зависят от HR, пациенты, несущие связанные с BRCA мутации (которые демонстрируют HRD) хорошо подходят для лечения ингибиторами PARP.

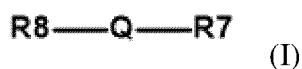
Хотя ингибиторы PARP полезны при лечении рака, данные соединения проявляют также побочные эффекты. Побочные эффекты PARP, которые включают серьезные гематологические и желудочно-кишечные побочные реакции и потенциально смертельный острый миелоидный лейкоз, крайне нежелательны.

Ожидается, что другое лечение рака ингибированием репарации ДНК аналогичным образом проявляет нежелательные побочные эффекты при введении системно. Такие другие лечения рака ингибированием репарации ДНК включают те, которые нацелены на протеинкиназу, мутантную при атаксии-телангиэктазии (ATM), ATM-Rad3-связанную протеинкиназу (ATR), и ядерную серин/треонин протеинкиназу ДНК-ПК. Лечение рака значительно выиграет, если соединения, действующие по данным механизмам могли бы быть доставлены избирательно в очаги рака, таким образом, избегая нежелательных эффектов на нормальные клетки.

Кроме того, ингибиторы PARP имеют потенциал пригодности при лечении других заболеваний, помимо рака, включающих сердечно-сосудистые и воспалительные заболевания, путем возможной роли PARP в иных функциях, чем репарация ДНК, таких как участие в регуляции транслокации митохондрии-к-ядру апоптоз-индуцирующего фактора (AIF), или участие в регуляции экспрессии белков, участвующих в воспалении. (См., например, Pacher and Szabo - "Role of Poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP-1) in Cardiovascular Diseases: The Therapeutic Potential of PARP Inhibitors, Cardiovasc Drug Rev. 2007; 25(3): 235-260). Преимущественная доставка ингибиторов PARP в данные больные ткани также была бы полезной.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Данное изобретение относится, *помимо прочего*, к соединению Формулы (I):



или его фармацевтически приемлемой соли, где составные переменные определены в данном документе.

В широком смысле, данное изобретение относится к (1) соединениям, содержащим терапевтическую молекулу (например, R^7) и pH-чувствительный (или pH-зависимый) пептид (например, R^8) связанные друг с другом, например, посредством дисульфид-содержащего линкера или другого линкера, который будет расщеплен во внутриклеточной среде, (2) фармацевтической композициям, содержащим данные соединения и фармацевтически приемлемый носитель, (3) способам применения данных соединений и композиций при лечении заболеваний и состояний у человека и других млекопитающих, включающих ацидозные и/или гипоксические клетки, и (4) способам получения указанных соединений и композиций, а также промежуточным продуктам, используемым в указанных способах.

Данное описание также относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение по данному описанию, или его фармацевтически приемлемую соль и, по меньшей мере, один фармацевтически приемлемый носитель или вспомогательное вещество.

Данное описание также относится к способам лечения заболеваний или состояний, включающих ацидозные или гипоксические больные ткани путем введения человеку или другому млекопитающему, нуждающемуся в таком лечении, терапевтически эффективного количества соединения по данному описанию. Данное описание также относится к способам снижения токсичности на костный мозг, связанной с применением ионизирующего излучения или цитотоксического агента, которые включают введение человеку или другому млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения по данному описанию в комбинации с ионизирующим излучением или цитотоксическим агентом.

Данное описание также относится к применениям соединений, описанных в данном документе, в производстве лекарственного средства для применения в лечении. Данное описание также относится к соединениям, описанным в данном документе, для применения в лечении.

Данное описание также относится к способам синтеза соединений по данному описанию и промежуточным продуктам, используемым в данных способах.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На Фиг. 1 проиллюстрирована задержка роста опухоли $\text{R}^8\text{H-15}$ и Примера 12 у $\text{BRCA}^{-/-}$ Мышей.

На Фиг. 2 проиллюстрировано выживание $\text{R}^8\text{H-15}$ и Примера 12 у $\text{BRCA}^{-/-}$ Мышей.

На Фиг. 3 проиллюстрирована задержка роста опухоли $\text{R}^8\text{H-16}$ и Примера 18 у $\text{BRCA}^{-/-}$ Мышей.

На Фиг. 4 проиллюстрирован эффект 9-дневного внутрибрюшинного введения

Примера 18 и R⁸H-16 на поли-АДФ-рибозилирование опухоли в мышинной DLD-1 BRCA2^{-/-} модели ксенотрансплантата.

На Фиг. 5 проиллюстрировано поли-АДФ-рибозилирование в клетках костного мозга после внутривенного введения Примера 12 или перорального введения R⁸H-15 в комбинации с пероральным введением темозоломида (TMZ) безтимусным мышам.

На Фиг. 6 проиллюстрировано поли-АДФ-рибозилирование в клетках костного мозга после внутрибрюшинного введения Примера 18 или R⁸H-16 безтимусным мышам.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

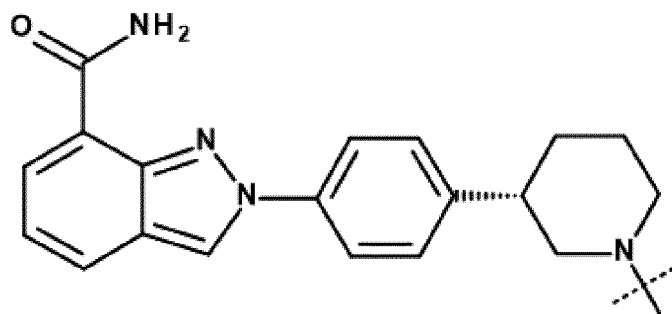
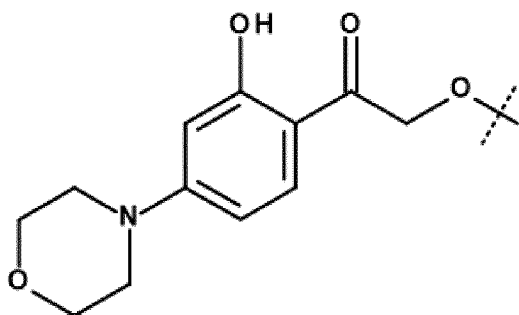
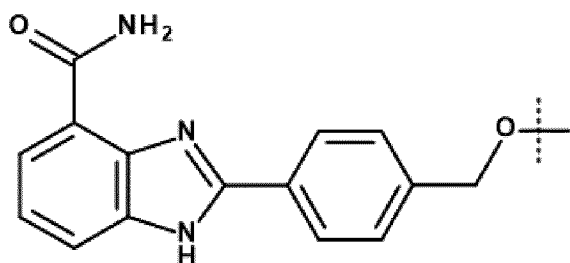
В данном документе предложено соединение Формулы (I):

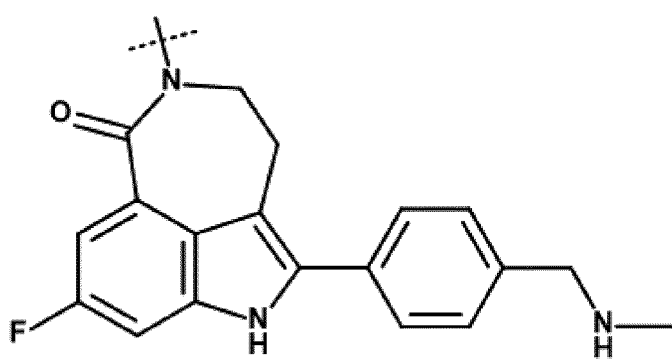
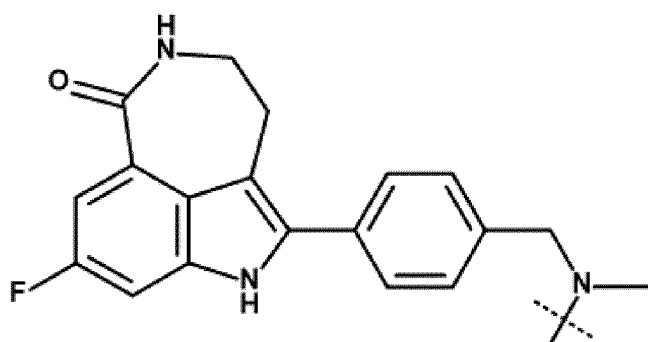
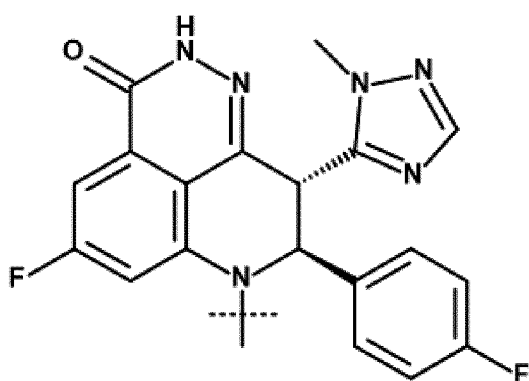
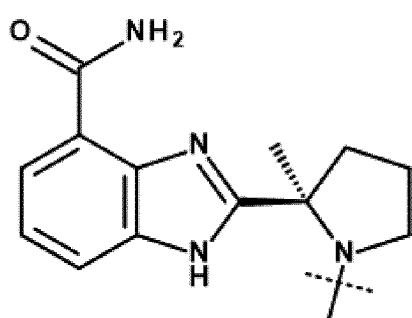


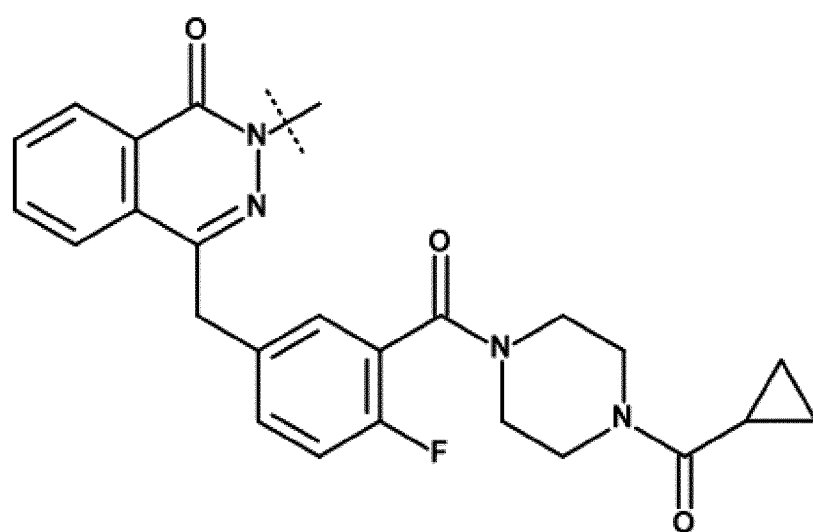
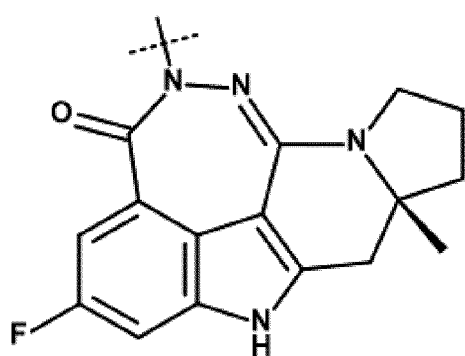
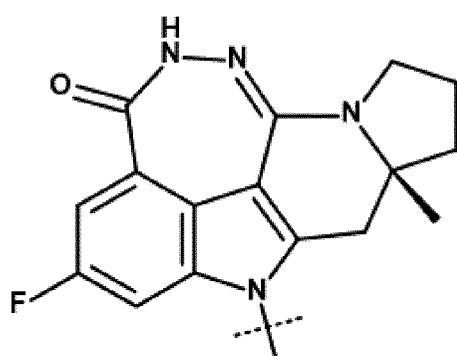
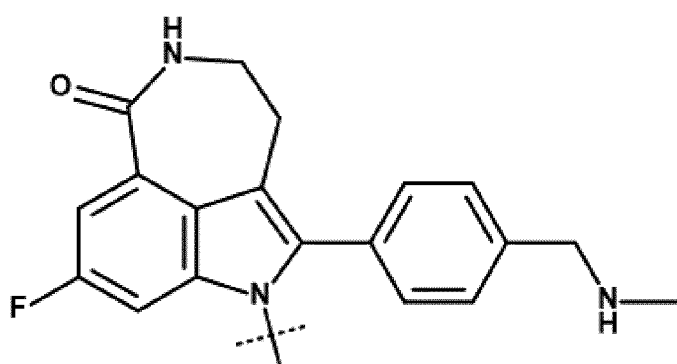
или его фармацевтически приемлемая соль, где:

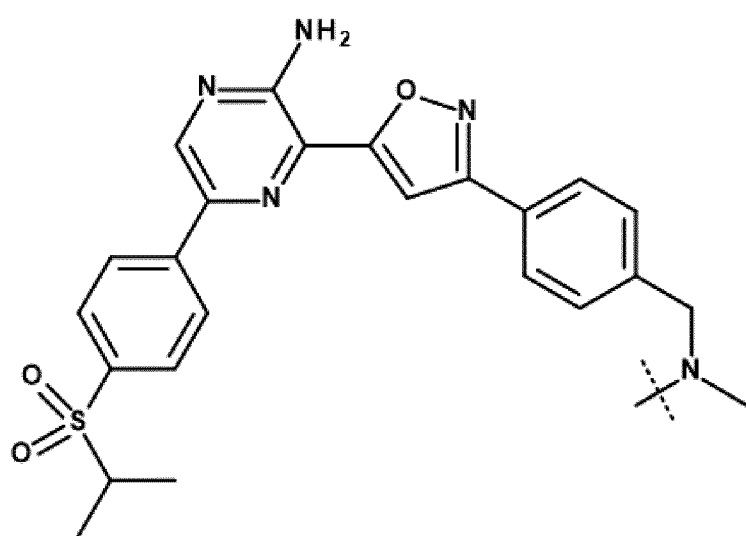
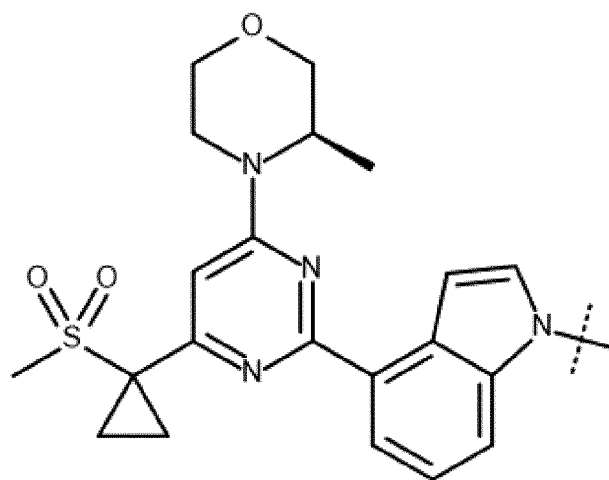
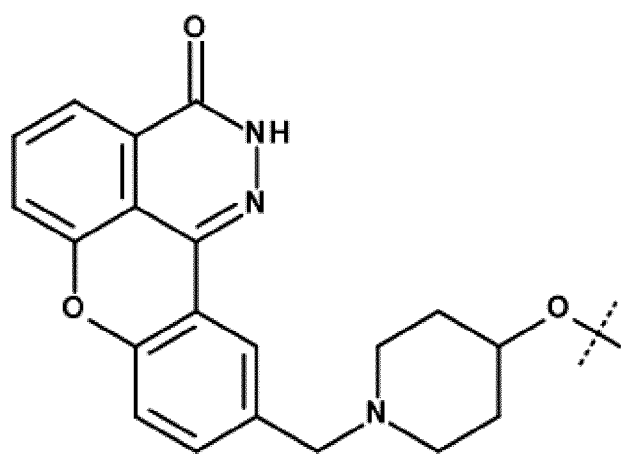
R⁷ представляет собой пептид;

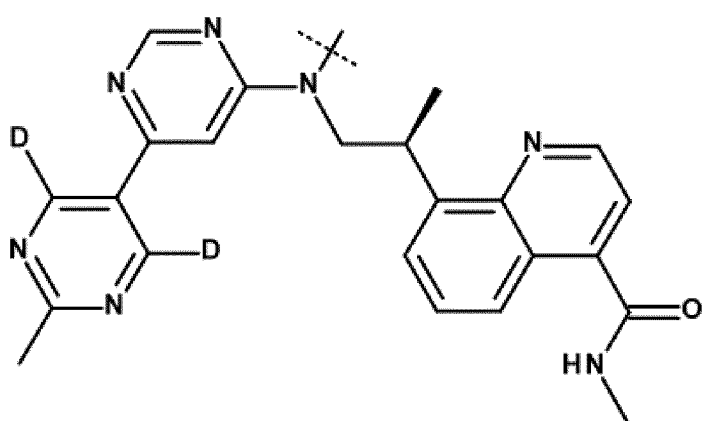
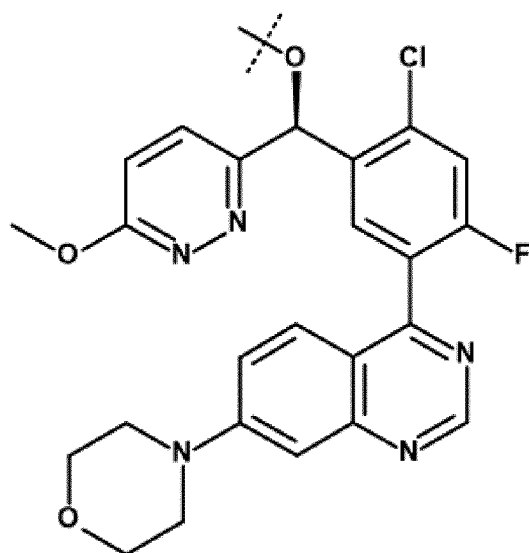
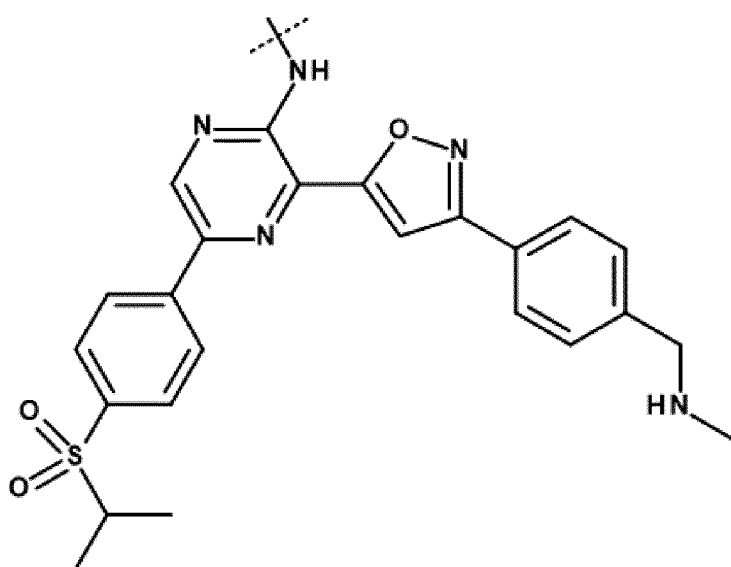
R⁸ выбран из группы, состоящей из:

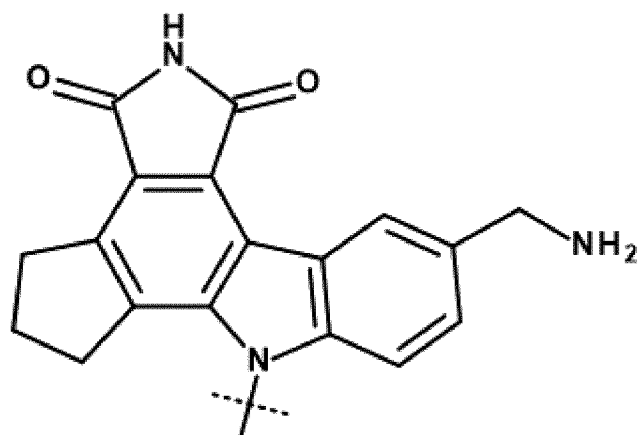
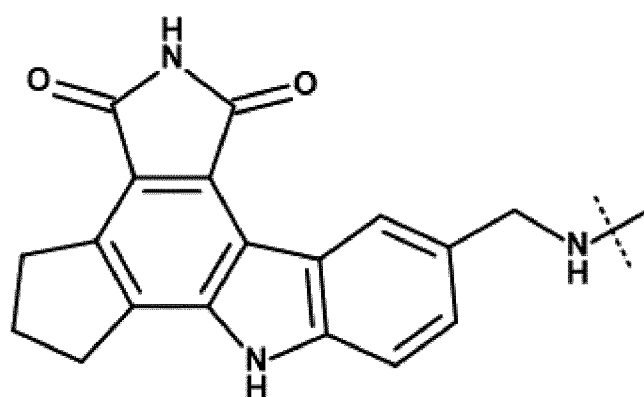
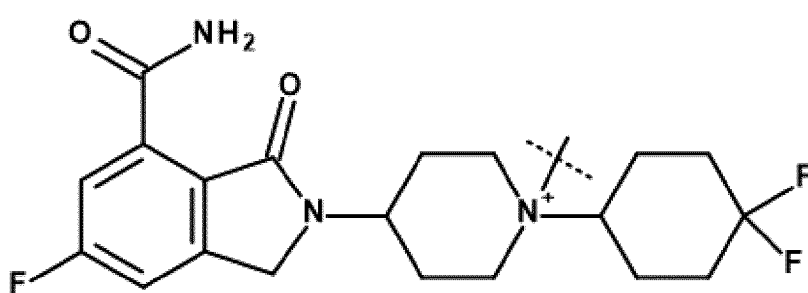
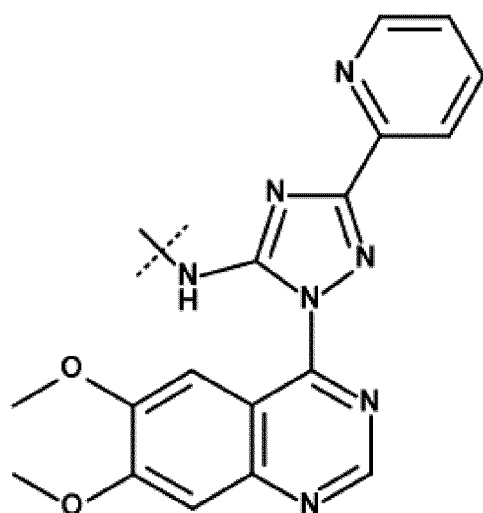


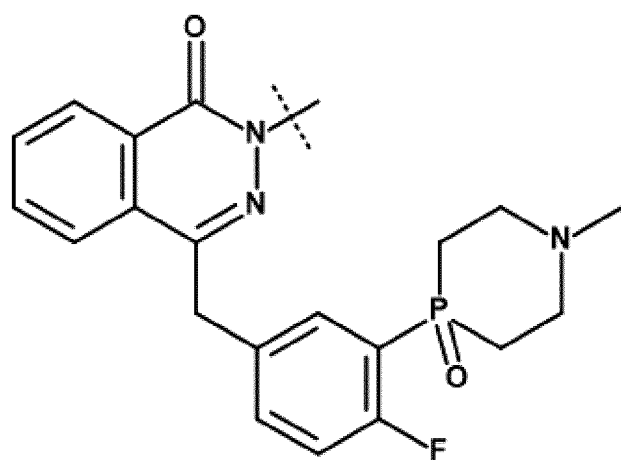
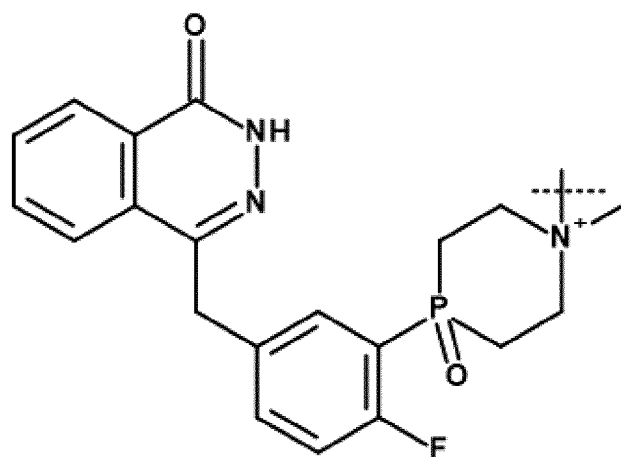
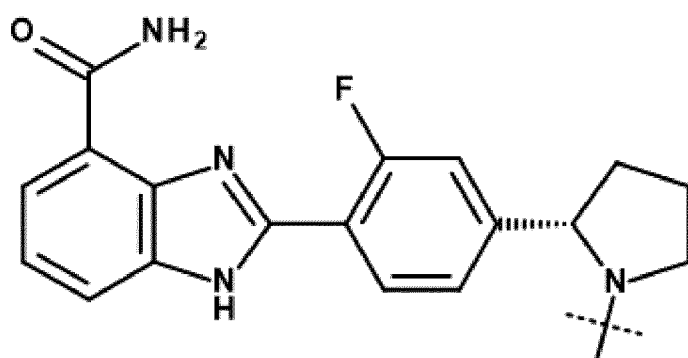


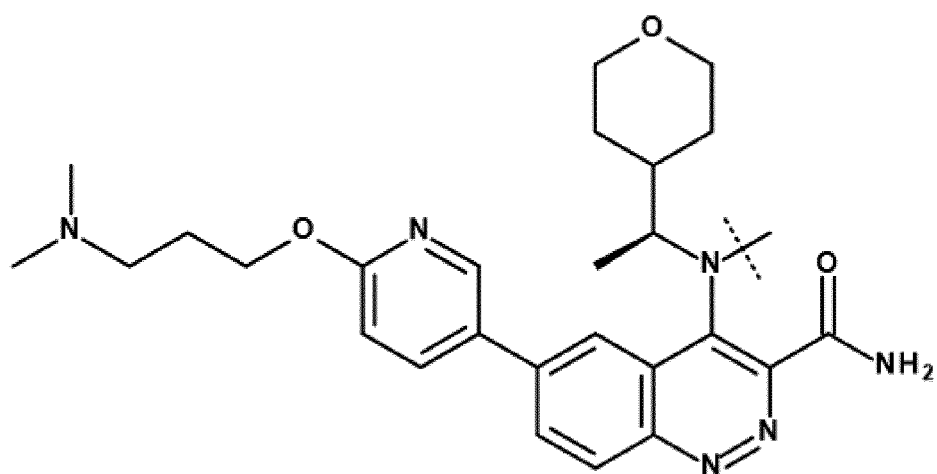
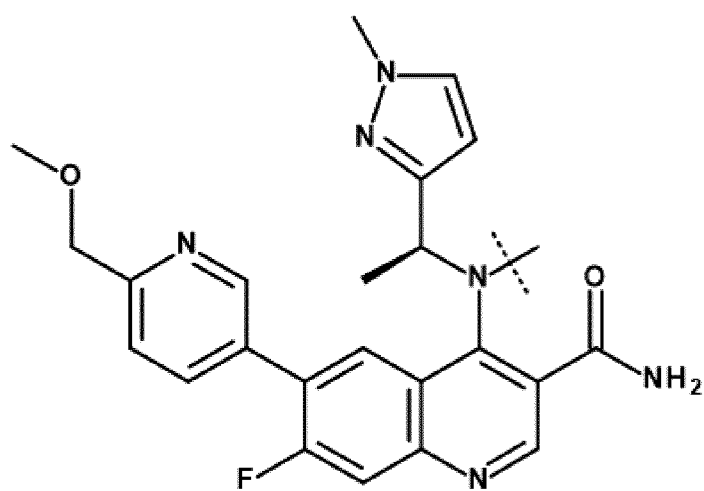
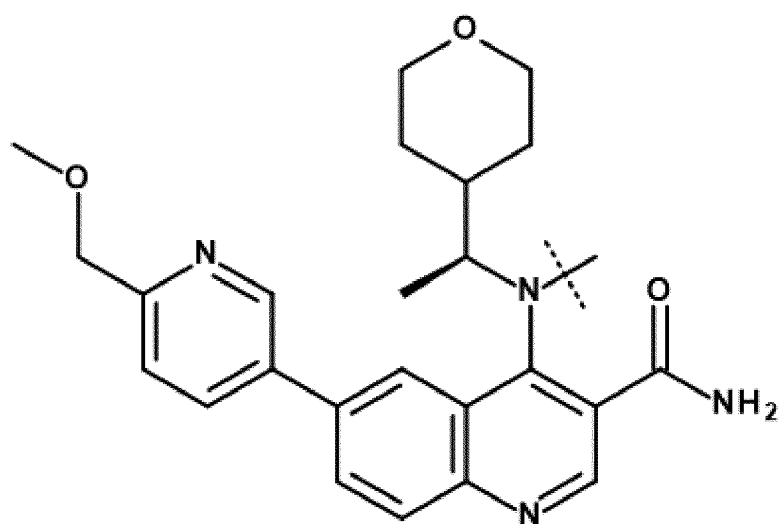


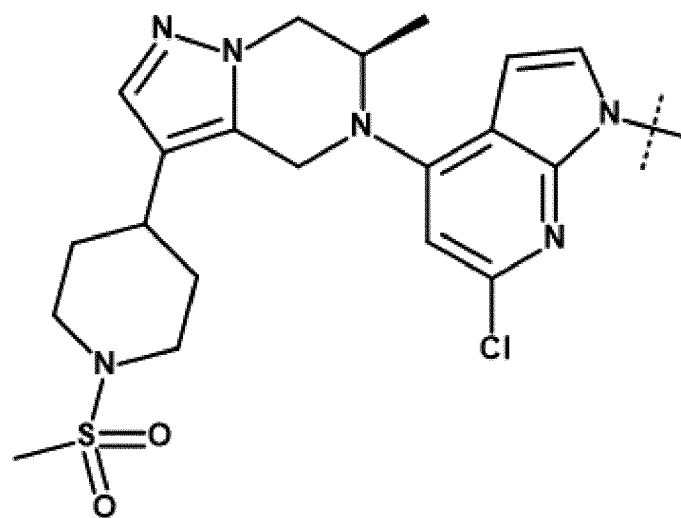
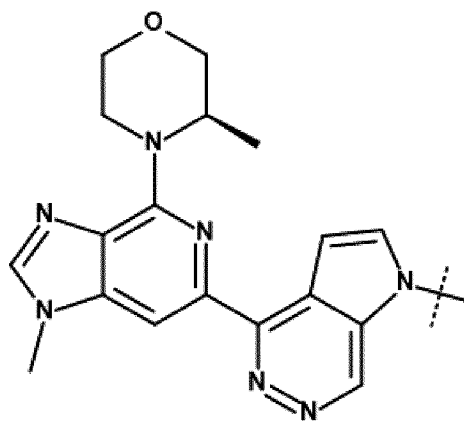
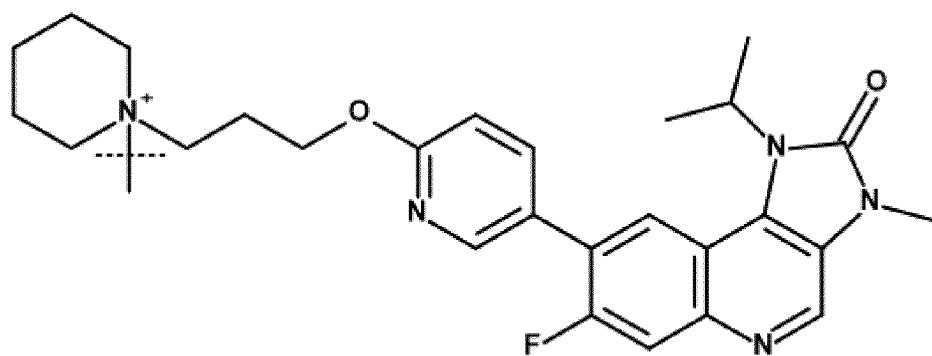


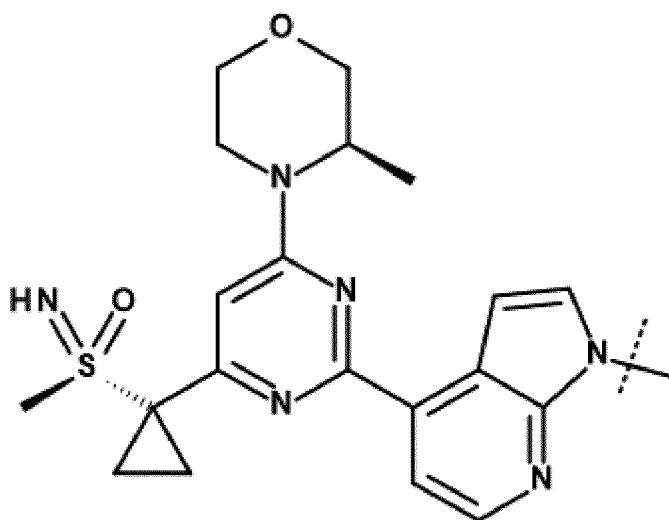




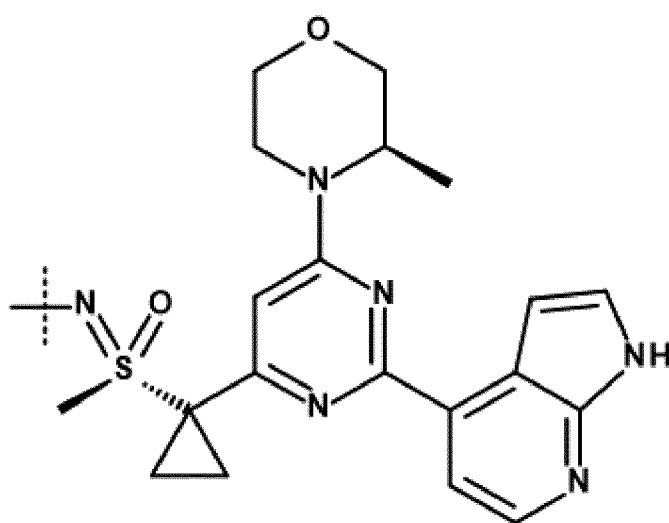






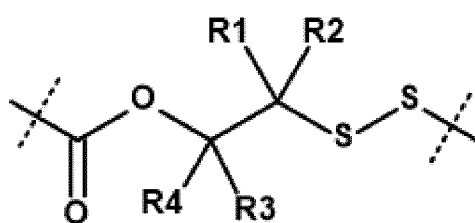


и

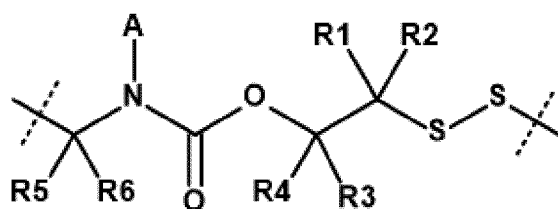


;

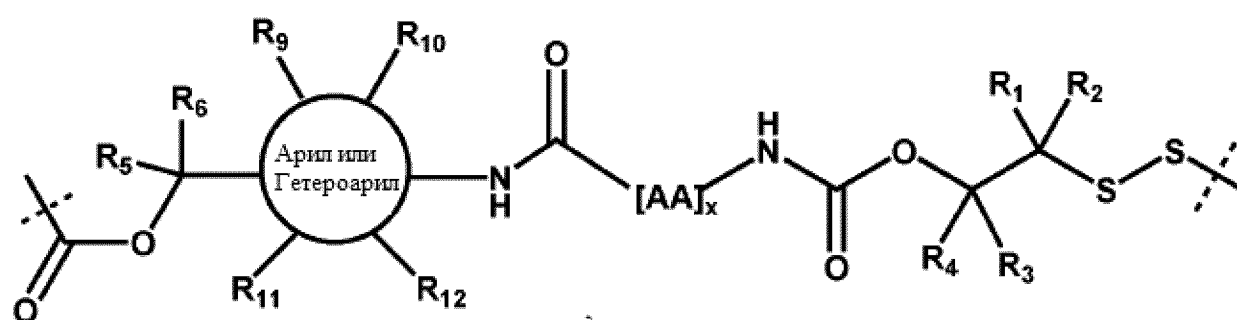
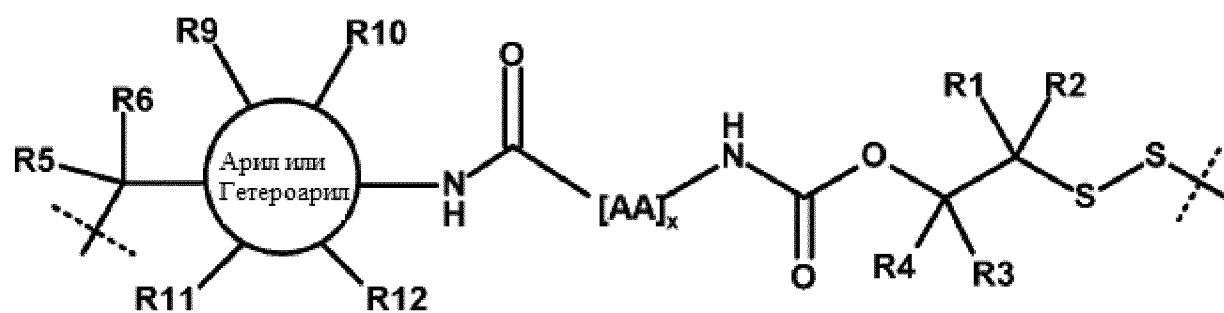
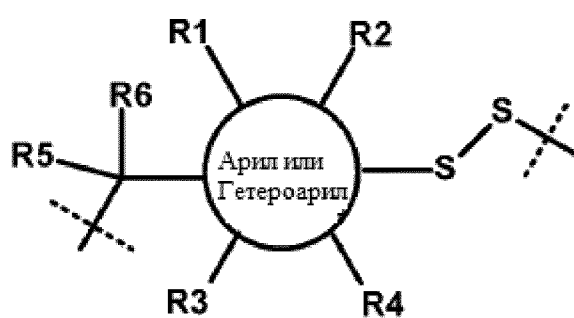
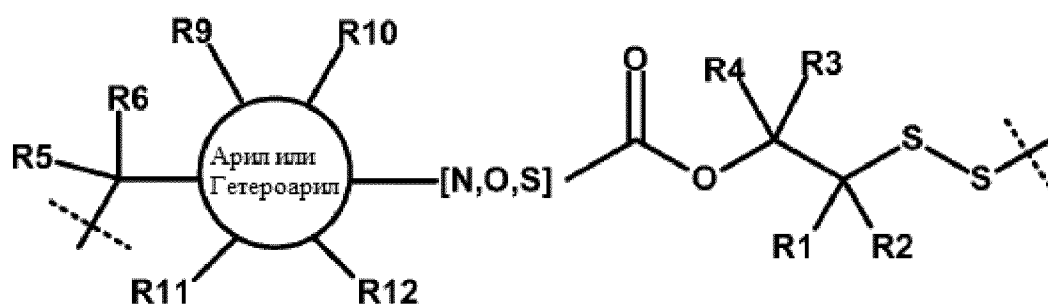
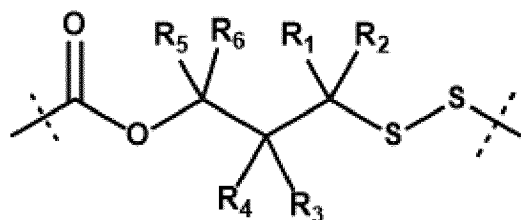
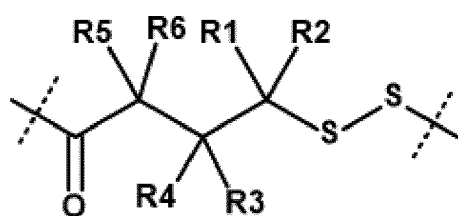
Q выбран из группы, состоящей из

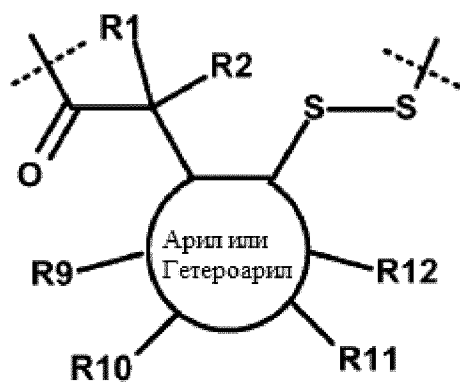
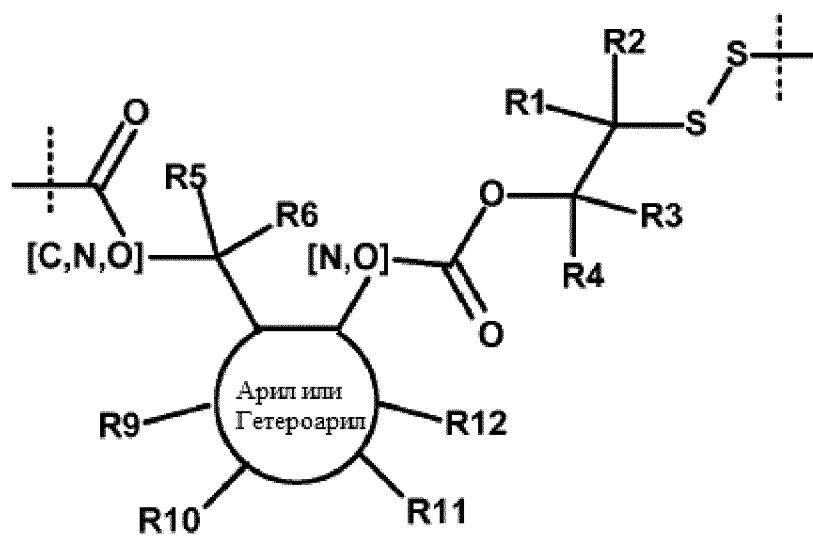
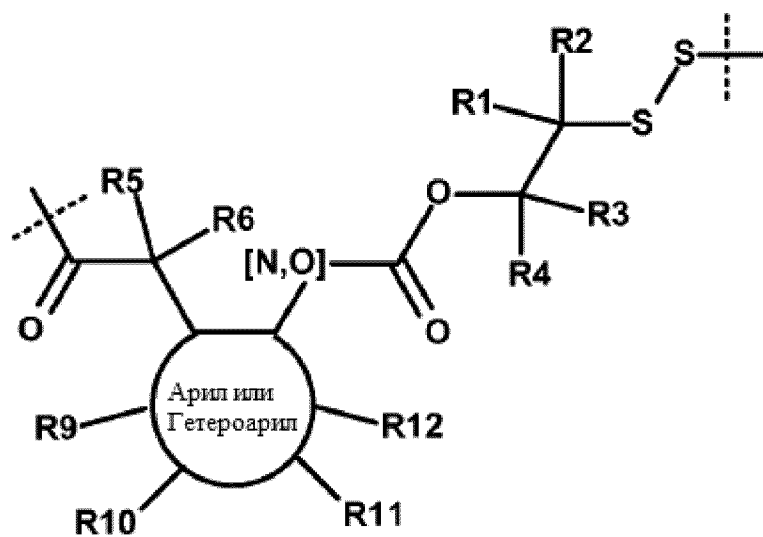
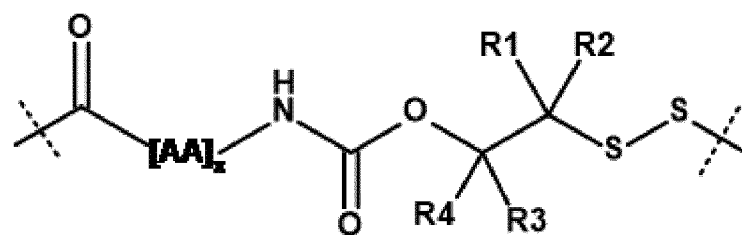


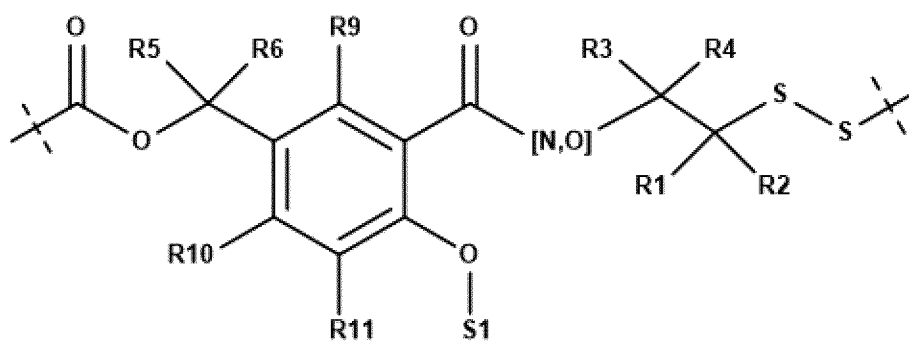
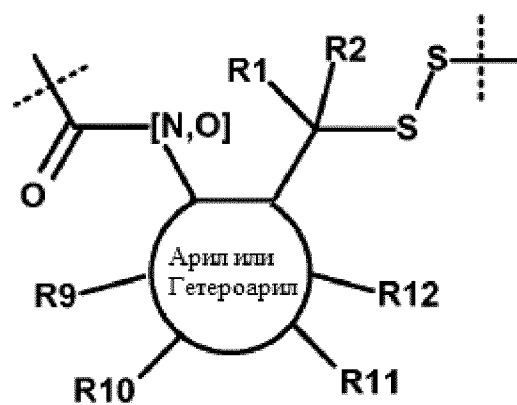
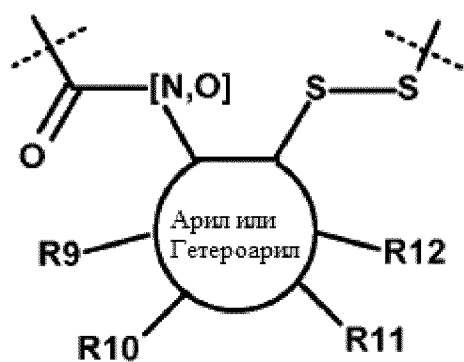
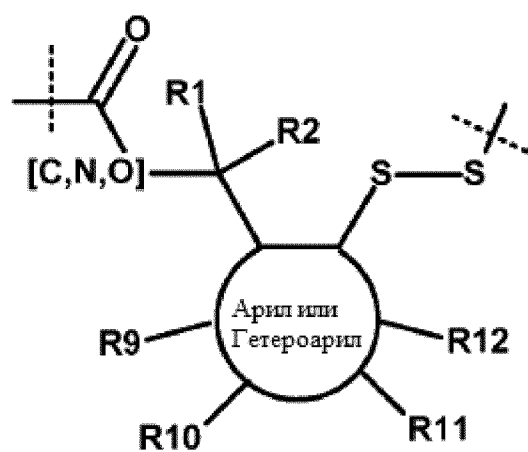
,

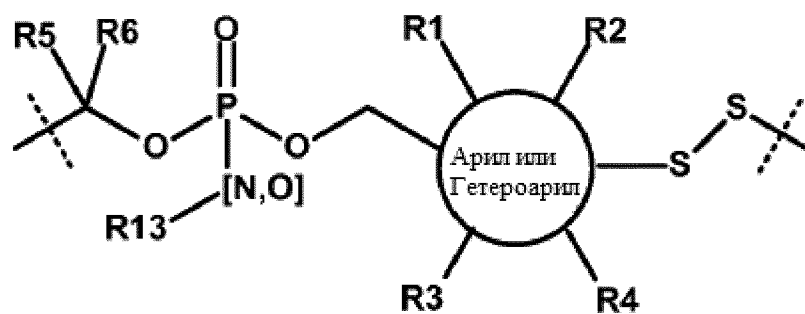
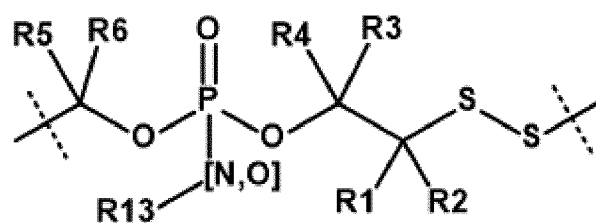
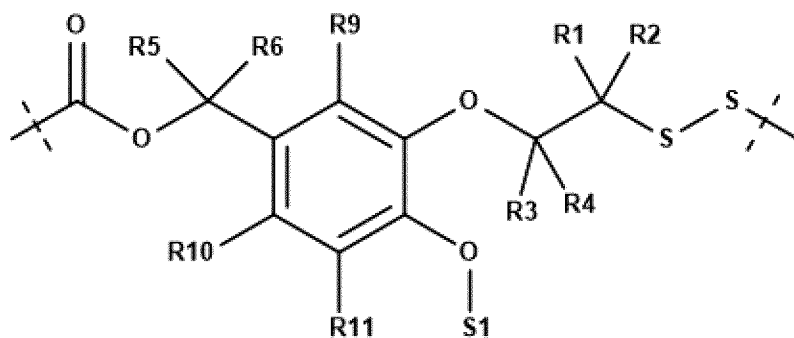
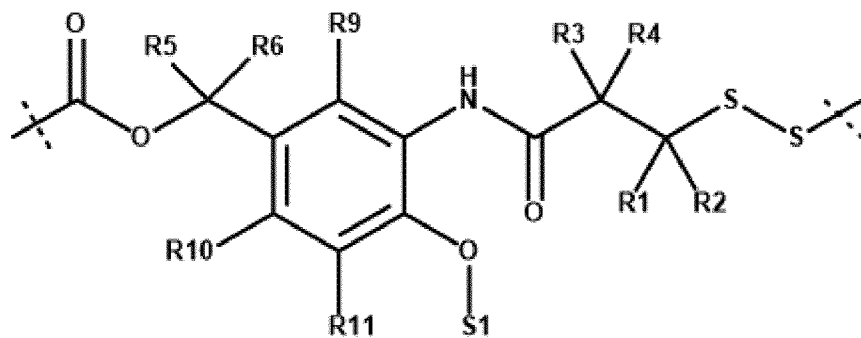
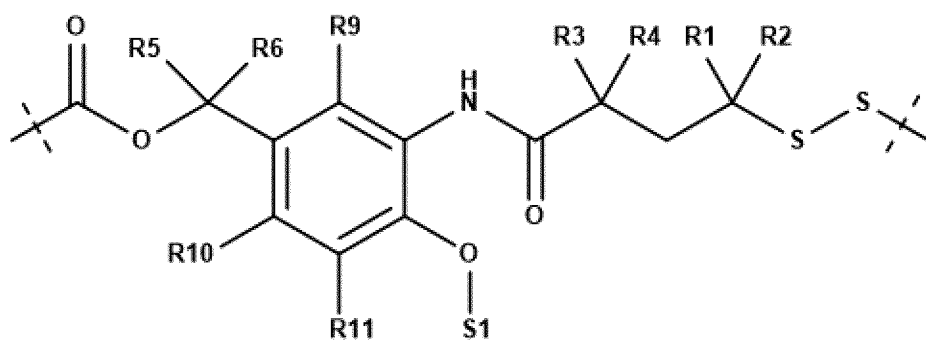


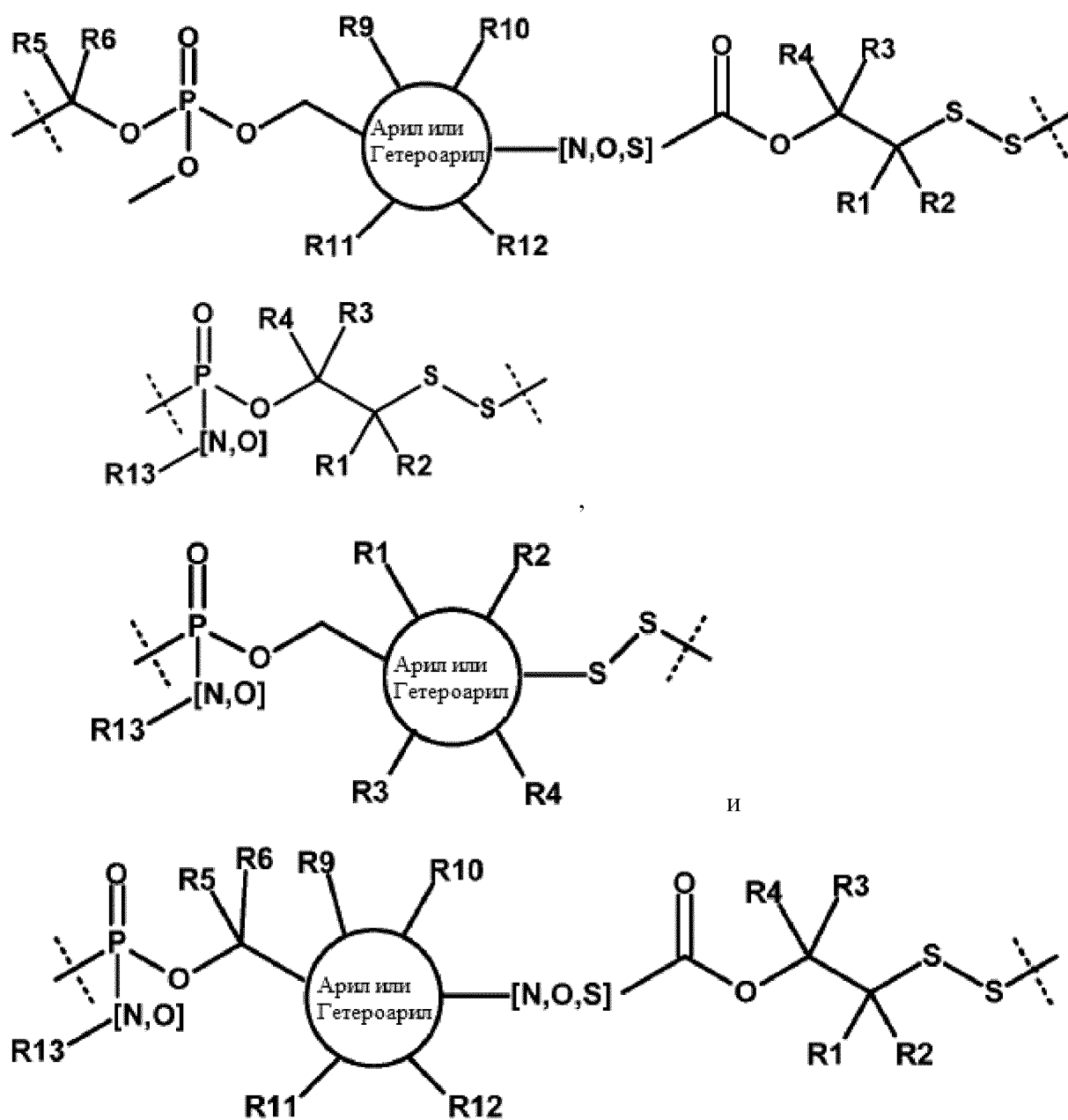
,











$R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R^6, R^9, R^{10}, R^{11}$ и R^{12} каждый независимо выбран из H, C_{1-4} алкила, C_{1-4} алкенила, C_{6-10} ариал, 5-10 членного гетероарила, галогена, CN, NO_2 , OR^{al} , SR^{al} , $C(O)R^{bl}$, $C(O)NR^{cl}R^{dl}$, $C(O)OR^{al}$, $OC(O)R^{bl}$, $OC(O)NR^{cl}R^{dl}$, $NR^{cl}R^{dl}$, $NR^{cl}C(O)R^{bl}$, $NR^{cl}C(O)OR^{al}$ и $NR^{cl}C(O)NR^{cl}R^{dl}$, где указанный C_{1-4} алкил, C_{1-4} алкенил, C_{6-10} арил, и 5-10 членный гетероарил, каждый необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из галогена, CN, NO_2 , OR^{al} , SR^{al} , $C(O)R^{bl}$, $C(O)NR^{cl}R^{dl}$, $C(O)OR^{al}$, $OC(O)R^{bl}$, $OC(O)NR^{cl}R^{dl}$, $NR^{cl}R^{dl}$, $NR^{cl}C(O)R^{bl}$, $NR^{cl}C(O)OR^{al}$ и $NR^{cl}C(O)NR^{cl}R^{dl}$;

или R^1 и R^2 вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют C_{3-7} циклоалкильную группу необязательно замещенную 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из галогена, CN, NO_2 , OR^{al} , SR^{al} , $C(O)R^{bl}$, $C(O)NR^{cl}R^{dl}$, $C(O)OR^{al}$, $OC(O)R^{bl}$, $OC(O)NR^{cl}R^{dl}$, $NR^{cl}R^{dl}$, $NR^{cl}C(O)R^{bl}$, $NR^{cl}C(O)OR^{al}$ и $NR^{cl}C(O)NR^{cl}R^{dl}$;

или R^1 и R^3 вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют C_{3-7} циклоалкильную группу необязательно замещенную 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из галогена, CN, NO_2 , OR^{a1} , SR^{a1} , $C(O)R^{b1}$, $C(O)NR^{c1}R^{d1}$, $C(O)OR^{a1}$, $OC(O)R^{b1}$, $OC(O)NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}C(O)R^{b1}$, $NR^{c1}C(O)OR^{a1}$ и $NR^{c1}C(O)NR^{c1}R^{d1}$;

или R^3 и R^4 вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют C_{3-7} циклоалкильную группу необязательно замещенную 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из галогена, CN, NO_2 , OR^{a1} , SR^{a1} , $C(O)R^{b1}$, $C(O)NR^{c1}R^{d1}$, $C(O)OR^{a1}$, $OC(O)R^{b1}$, $OC(O)NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}C(O)R^{b1}$, $NR^{c1}C(O)OR^{a1}$ и $NR^{c1}C(O)NR^{c1}R^{d1}$;

или R^5 и R^6 вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют C_{3-7} циклоалкильную группу необязательно замещенную 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из галогена, CN, NO_2 , OR^{a1} , SR^{a1} , $C(O)R^{b1}$, $C(O)NR^{c1}R^{d1}$, $C(O)OR^{a1}$, $OC(O)R^{b1}$, $OC(O)NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}C(O)R^{b1}$, $NR^{c1}C(O)OR^{a1}$ и $NR^{c1}C(O)NR^{c1}R^{d1}$;

R^{13} представляет собой H или C_{1-6} алкил;

A представляет собой H или C_{1-4} алкил;



представляет собой C_{6-10} арил или 5-10 членный гетероарил; где указанный 5-10 членный гетероарил имеет, по меньшей мере, один образующий кольцо атом углерода и 1, 2, 3, или 4 образующих кольцо гетероатомов, независимо выбранных из N, O и S;

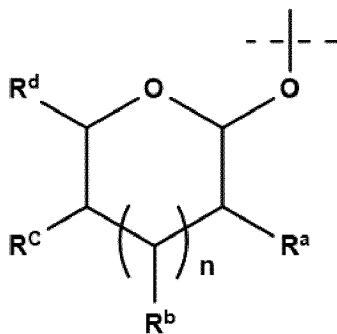
[N, O, S] представляет собой NH, O или S;

[N, O] представляет собой NH или O;

[C, N, O] представляет собой $CR^X R^Y$, NH или O;

каждый R^X и R^Y независимо выбраны из H и C_{1-4} алкила;

$[AA]_x$ представляет собой пептид, который может быть расщеплен действием ферментов;



S1 представляет собой

;

каждый R^a , R^b , R^c и R^d независимо выбраны из H, C_{1-4} алкила, OR^{a2} , CO_2R^{a2} и $OC(=O)R^{a2}$, где указанный C_{1-4} алкил необязательно замещен OR^{a2} , CO_2R^{a2} и $OC(=O)R^{a2}$;

R^{a1} , R^{b1} , R^{c1} и R^{d1} каждый независимо выбран из H, C_{1-6} алкила, C_{2-6} алкенила, C_{2-6} алкинила, C_{1-6} галогеналкила, OH, CN, NO_2 и CO_2CH_3 ; где указанный C_{1-6} алкил и C_{2-6} алкенил каждый необязательно замещен OH, CN, NO_2 или CO_2CH_3 ;

R^{a2} представляет собой H или C_{1-4} алкил; и

n равно 0 или 1.

В некоторых вариантах реализации изобретения левая часть Q присоединяется к R^8 , а правая часть Q присоединяется к R^7 .

В некоторых вариантах реализации изобретения атом серы дисульфидного фрагмента Q является частью цистеинового остатка R^7 .

Пригодные пептиды для применения как R^7 описаны, например, в патентах США 8076451 и 9289508 (которые включены в данный документ в полном объеме посредством ссылки), хотя могут быть применены и другие пептиды, способные к такой селективной вставке. Другие пригодные пептиды описаны, например, в Weerakkody, et al., PNAS 110 (15), 5834-5839 (April 9, 2013), который также включен в данный документ в полном объеме посредством ссылки. Не ограничиваясь теорией, считается, что R^7 пептид обратимо сворачивается и встраивается через клеточные мембраны в ответ на изменения pH. Указанный R^7 пептид может таргетировать кислотную ткань и селективно перемещать полярные, клеточно непроницаемые молекулы через клеточные мембраны в ответ на низкий уровень внеклеточного pH. В некоторых вариантах реализации изобретения R^7 представляет собой пептид, способный селективно доставлять R_8Q^- через клеточную мембрану, имеющую кислотную или гипоксическую мантию, имеющую pH менее чем около 6,0. В некоторых вариантах реализации изобретения R^7 представляет собой пептид, способный селективно доставлять R_8Q^- через клеточную мембрану, имеющую кислотную или гипоксическую мантию, имеющую pH менее чем около 6,5. В некоторых вариантах реализации изобретения R^7 представляет собой пептид, способный селективно доставлять R_8Q^- через клеточную мембрану, имеющую кислотную или гипоксическую мантию, имеющую pH менее чем около 5,5. В некоторых вариантах реализации изобретения R^7 представляет собой пептид, способный селективно доставлять R_8Q^- через клеточную мембрану, имеющую кислотную или гипоксическую мантию, имеющую pH между около 5,0 и около 6,0.

В некоторых вариантах реализации R^7 присоединен к Q через цистеиновый остаток R^7 . В некоторых вариантах реализации изобретения атом серы цистеинового остатка может образовывать часть дисульфидной связи линкера, содержащего дисульфидную связь.

В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой пептид, содержащий, по меньшей мере, одну из следующих последовательностей:

ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (SEQ ID NO. 1; Pv1),

AEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLVDADECG (SEQ ID NO. 2; Pv2), и

ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (SEQ ID NO. 3; Pv3);

Ac-AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLVDADEGKCG (SEQ ID NO. 4;

Pv4); и

AAEQNPYIYWAYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTC (SEQ ID NO. 5; Pv5);

где R⁷ присоединен к Q через цистеиновый остаток R⁷.

В некоторых вариантах осуществления R⁷ представляет собой пептид, содержащий, по меньшей мере, одну из следующих последовательностей:

ADDQNPWAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (SEQ ID NO. 1; Pv1),

AEQNPIYWAYADWLFTTPLLALLDLALLVDADECG (SEQ ID NO. 2; Pv2), и

ADDQNPWAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (SEQ ID NO. 3; Pv3),

где R⁷ присоединен к Q через цистеиновый остаток R⁷.

В некоторых вариантах реализации изобретения R⁷ представляет собой пептид, содержащий последовательность ADDQNPWAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (SEQ ID NO. 1; Pv1).

В некоторых вариантах реализации изобретения R⁷ представляет собой пептид, содержащий последовательность AEQNPIYWAYADWLFTTPLLALLDLALLVDADECG (SEQ ID NO. 2; Pv2).

В некоторых вариантах реализации изобретения R⁷ представляет собой пептид, содержащий последовательность ADDQNPWAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (SEQ ID NO. 3; Pv3).

В некоторых вариантах реализации изобретения R⁷ представляет собой пептид, содержащий последовательность Ас-AAEQNPYIYWAYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTKCG (SEQ ID NO. 4; Pv4).

В некоторых вариантах реализации изобретения R⁷ представляет собой пептид, содержащий последовательность AAEQNPYIYWAYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTC (SEQ ID NO. 5; Pv5).

В некоторых вариантах реализации изобретения R⁷ представляет собой пептид, состоящий из последовательности ADDQNPWAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (SEQ ID NO. 1; Pv1).

В некоторых вариантах реализации изобретения R⁷ представляет собой пептид, состоящий из последовательности AEQNPIYWAYADWLFTTPLLALLDLALLVDADECG (SEQ ID NO. 2; Pv2).

В некоторых вариантах реализации изобретения R⁷ представляет собой пептид, состоящий из последовательности ADDQNPWAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (SEQ ID NO. 3; Pv3).

В некоторых вариантах реализации изобретения R⁷ представляет собой пептид, состоящий из последовательности Ас-AAEQNPYIYWAYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTKCG (SEQ ID NO. 4; Pv4).

В некоторых вариантах реализации изобретения R⁷ представляет собой пептид, состоящий из последовательности AAEQNPYIYWAYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTC (SEQ ID NO. 5; Pv5).

В некоторых вариантах осуществления R⁷ представляет собой пептид,

содержащий, по меньшей мере, одну последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 6 - SEQ ID NO: 311 как показано в Таблице 1.

В некоторых вариантах осуществления R⁷ представляет собой пептид, состоящий из, последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 6 - SEQ ID NO: 311 как показано в Таблице 1.

Таблица 1. Дополнительные R⁷ Последовательности

SEQ ID NO.	Последовательность
6	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
7	AEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGT
8	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGT
9	AEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGT
10	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
11	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
12	ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTG
13	ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGT
14	AKEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGT
15	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
16	AKEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADECT
17	ACEQNPIYWARYANWLFTTPLLLLNALLVDADEGTG
18	ACEQNPIYWARYAKWLFTTPLLLKLALLVDADEGTG
19	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVNANQGT
20	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLALALLVDADEGT
21	AAEQNPIYWARYAAWLFTTPLLLLDLALLVDADEGT
22	AAEQNPIYWARYADWLFTTALLLLDLALLVDADEGT
23	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLELALLVDADEGT
24	AAEQNPIYWARYAEWLFTTPLLLLDLALLVDADEGT
25	AAEQNPIYWARYADWLFTDPLLLLDLALLVDADEGT
26	GEQNPIYWAQYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
27	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLLALLVDADEGTCG
28	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLLDALLVDADEGTCG
29	GGEQNPIYWARYDAWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
30	GGEQNPIYWARYAWDLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
31	AAEQNPIYWARYADWLFTTGLLLLDLALLVDADEGT

32	DDDEDNPIYWARYADWLFTTPLLLLHGALLVDADECT
33	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLLLHGALLVDADEGCT
34	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLLLHGALLVNADECT
35	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLLLHGALLVNANECT
36	AEQNPIYWARYADFLFTTPLLLLDLALLVDADET
37	AEQNPIYFARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGT
38	AEQNPIYFARYADFLFTTPLLLLDLALLWDADET
39	AKEDQNPYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDG
40	ACEDQNPYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDG
41	AEDQNPYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDCG
42	AEDQNPYWARYADWLFTTPLLLLELALLVECG
43	AKEDQNPYWRAYADLFTPLTLLDLLALWDG
44	ACEDQNPYWRAYADLFTPLTLLDLLALWDG
45	ACDDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLW
46	TEDADVLLALDLLLLPTTFLWD
47	AEQNPIYWARYADWLFTTPL
48	AEQNPIYWARYADWLFTTPCL
49	ACEQNPIYWARYADWLFTTPL
50	AEQNPIYFARYADWLFTTPL
51	KEDQNPWARYADLLFPTTLAW
52	ACEDQNPWARYADLLFPTTLAW
53	ACEDQNPWARYADWLFTTLLLLD
54	ACEEQNPWARYAELLFPTTLAW
55	ACEEQNPWARYAEWLFPTTLLLE
56	ACEEQNPWARYLEWLFPTETLLLEL
57	GGEQNPIY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGT
58	ACEQNPIY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV
59	WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGTCG
60	WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGCT
61	GGEQNPIY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGTCG
62	ACEQNPIY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGT
63	AKEQNPIY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGT
64	AKEQNPIY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADECT
65	AAEQNPIY WARYADWLFTTALLLLDLALLV DADEGT

66	ACAEQNPIY WARYADWLFTTGLLLLDLALLV DADEGT
67	AEQNPIY WARYADFLFTTALLLLDLALLV DADE_T
68	AEQNPIY FARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGT
69	AEQNPIY FARYADFLFTTPLLLLDLALLW DADE_T
70	AKEDQNP_Y WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DG_____
71	ACEDQNP_Y WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DG_____
72	AEDQNP_Y WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DG_____
73	AEDQNP_Y WARYADWLFTTPLLLLELALLV ECG_____
74	AKEDQNP_Y WRAYAD_LFT_PLTLLDLLALW DG_____
75	ACEDQNP_Y WRAYAD_LFT_PLTLLDLLALW DG_____
76	AKEDQNDP_Y WARYADWLFTTPLLLLDLALLV G_____
77	TEDADVLLALDLLLLPTTFLWDAYRAWYPNQECA
78	GGEQNPIY WARYADWLFTTPLLLLDLALLV DADEGT
79	AEQNPIY WARYADWLFTTPL
80	AEQNPIY WARYADWLFTTPCL
81	ACEQNPIY WARYADWLFTTPL
82	ACEQNPIY FARYADWLFTTPL
83	ACDDQNP WRAYLDLLFPTDTLLLDLLW
84	ACEEQNP WRAYLELLFPTETLLLELLW
85	ACDDQNP WARYLDWLFPTDTLLLDL
86	CDNNNP WRAYLDLLFPTDTLLLDW
87	ACEEQNP WARYLEWLFPTETLLLEL
88	ACEDQNP WARYADWLFPTTLLLD
89	ACEEQNP WARYAEWLFPTTLLLE
90	ACEDQNP WARYADLLFPTTLAW
91	ACEDQNP WARYAELLFPTTLW
92	KEDQNP WARYADLLFPTTLW
93	DDDEDNP IYWARYAHWLFTTPLLLLHGALLVDADECT
94	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLLLDGALLVDADECT
95	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLLLHGALLVNADECT
96	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLLLHGALLVNANECT
97	DDDEDNPIYWARYADWLFTTPLLLLHGALLVDADECT
98	ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGIG
99	ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADET

100	ACEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGT
101	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCTG
102	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDALLVDADEGTCTG
103	GGEQNPIYWARYAWDLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCTG
104	AAEQNPIYWARYAEWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCTG
105	AAEQNPIYWARYAEWLFTTPLLALLELALLVDADEGTCTG
106	GGEQNPIYWARYDAWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCTG
107	GGEQNPIYWAQYDAWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCTG
108	GGEQNPIYWAQDYAWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCTG
109	AAEQNPIYWARYAAWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCTG
110	ACEQNPIYWARYANWLFTTPLLALLNLALLVDADEGTG
111	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLALLHGALLVNANECT
112	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLALLHGALLVNADECT
113	DDDEDNPIYWARYADWLFTTPLLALLHGALLVDADECT
114	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLALLHGALLVDADECT
115	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLALLDGALLVDADECT
116	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVNANQGT
117	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLELALLVDADEGTCTG
118	AAEQNPIYWARYAEWLFTTPLLALLELALLVDADEGTCTG
119	AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLELALLVDADEGTCTG
120	GGEQNPIYWAQYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCTG
121	GGEQNPIYWAQYDAWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCTG
122	GGEQNPIYWAQDYAWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCTG
123	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDALLVNANQGT
124	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLALLHGALLVNADECT
125	DDDEDNPIYWARYAHLFTTPLLALLHGALLVNANECT
126	ACEQNPIYWARYAKWLFTTPLLALLKLALLVDADEGTG
127	GGEQNPIYWAQDYAWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCTG
128	GGEQNPIYWAQYDAWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCTG
129	GGEQNPIYWAQYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCTG
130	AAEQNPIYWARYAAWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCTG
131	AAEQNPIYWARYADWLFTDLPLLALLDLALLVDADEGT
132	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDALLVDADEGTCTG
133	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTCTG

134	AAEQNPYIYWAYADWLFTTGLLLLDLALLVDADEGT
135	AEQNPYIYWAYAAWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
136	GGEQNPYIYWAYQYDAWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
137	GGEQNPYIYWAYQDYAWLFTTPLLLLDLALLDADEGTCG
138	GGEQNPYIYWAYDAWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
139	AAEQNPYIYWAYADWLFTTPLLLLLALALLVDADEGTCG
140	AAEQNPYIYWAYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCGEGTK(родамин)C(фаллоидин)G
141	AAEQNPYIYWAYADWLFTTPLLLLELALLDADEGTCG
142	AAEQNPYIYWAYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
143	AAEQNPYIYWAYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTC(фаллоидин)G
144	GGEQNPYIYWAYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
145	ACEQNPYIYWAYADWLFTTPLLLLDLALLVDADET
146	ACEQNPYIYWAYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTG
147	ACEQNPYIYWAYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGT
148	GGEQNPYIYWAYADWLFTTPLLLLDLALLVNANQGT
149	DDDEDNPYIYWAYAHWLFTTPLLLLLHGALLVNADECT
150	DDDEDNPYIYWAYAHWLFTTPLLLLLHGALLVNANECT
151	GGEQNPYIYWAYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
152	AAEQNPYIYWAYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTC(фаллоидин)G
153	AAEQNPYIYWAYADWLFTTPLLLLELALLVDADEGTCG
154	AAEQNPYIYWAYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
155	DDDEDNPYIYWAYAHWLFTTPLLLLLBGALLVDADECT
156	DDDEDNPYIYWAYAHWLFTTPLLLLLDGALLVDADECT
157	DDDEDNPYIYWAYAHWLFTTPLLLLLBGALLVNADECT
158	DDDEDNPYIYWAYAHWLFTTPLLLLLBGALLVNANECT
159	DDDEDNPYIYWAYADWLFTTPLLLLLIBGALLVDADECT
160	DDDEDNPYIYWAYADWTFTTPLLLLLHGALLVDADECT
161	DDDEDNPYIYWAYAHWLFTTPLLLLLDGALLVDADECT
162	DDDEDNPYIYWAYAHWLFTTPLLLLLHGALLVDADECT
163	DDDEDNPYIYWAYAHWLFTTPLLLLLHGALLVNADECT
164	DDDEDNPYIYWAYHWFFTTPLLLLLHGALLVNANECT
165	DDDEDNPYIYWAYAHWLFTTPLLLLLHGALLVNANECT
166	DDDEDNPYIYWAYAHWLFTTPLLLLLHGALLVNADECT

167	DDDEDNPIYWARYADWLFTTPLLLLHGALLVDADECT
168	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLLLHGALLVDADECT
169	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLLLDGALLVDADECT
170	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVNANQGT
171	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLLLHGALLVNADECT
172	DDDEDNPIYWARYADWLFTTPLLLLHGALLVDADECT
173	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLLLHGALLVDADECT
174	DDDEDNPIYWARYAHMLFTTPLLLLDGALLVDADECT
175	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLLLHGALLVNANECT
176	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLLLDGALLVDADECT
177	DDDEDNPIYWARYADWLFTTPLLLLHGALLVDADECT
178	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLLLHGALLVDADECT
179	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLLLHGALLVNADECT
180	DDDEDNPIYWARYAHWLFTTPLLLLHGALLVNANECT
181	AAEQNPIYWARYADWLFTTGLLLLDLALLVDADEGT
182	GGEQNPIYWARYAWDLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
183	GGEQNPIYWARYDAWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
184	GGEQNPIYWAQYDAWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
185	GGEQNPIYWAQDYAWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
186	AAEQNPIYWARYAAWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
187	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDALLVDADEGTCG
188	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLLALLVDADEGTCG
189	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLLDLLALLVDADEGTCG
190	GGEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLLDALLVDADEGTCG
191	GGEQNPIYWAQYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
192	GGEQNPIYWAQYDAWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
193	GGEQNPIYWAQDYAWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
194	GGEQNPIYWAQYDAWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
195	GGEQNPIYWAQDYAWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
196	GGEQNPIYWAQYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
197	AAEQNPIYWARYAAWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
198	GGEQNPIYWAQDYAWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
199	GGEQNPIYWAQYDAWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG
200	GGEQNPIYWAQYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTCG

201	AAEQNPYIYARYAAWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTGCG
202	AAEQNPYIYARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTGCG
203	EGTK(ридамин)C(фаллоидин)G
204	AAEQNPYIYARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTGCG
205	ACEQNPYIYARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTG
206	AAEQNPYIYARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTG(фаллоидин)G
207	AAEQNPYIYARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTGCG
208	AAEQNPYIYARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTGCG
209	AAEQNPYIYARYADWLFTDPLLLLDLALLVDADEGT
210	AAEQNPYIYARYAAWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTGCG
211	GGEQNPYIYAWQYDAWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTGCG
212	GGEQNPYIYAWQDYAWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTGCG
213	GGEQNPYIYARYDAWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTGCG
214	AAEQNPYIYARYAEWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTGCG
215	AAEQNPYIYARYAEWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTGCG
216	AAEQNPYIYARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTGCG
217	AAEQNPYIYARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTGCG
218	AAEQNPYIYARYAEWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTGCG
219	AAEQNPYIYARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTGCG
220	ACEQNPYIYARYAKWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTG
221	ACEQNPYIYARYANWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTG
222	AAEQNPYIYARYADWLFTTALLLLDLALLVDADEGT
223	AEQNPYIYARYADLLFPTTLAW
224	AEQNPYIYARYADLLFPTTLAF
225	AEQNPYIYARYADLLFPTTLAW
226	ACEQNPYIYARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADET
227	GGEQNPYIYARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGT
228	AAEQNPYIYARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTGCG
229	AAEQNPYIYARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADEGTGCG
230	AKEQNPYIYARYADWLFTTPLLALLDLALLVDADECT
231	CCTCTTACCTCAGTTACA
232	D-Arg8 D-Arg8-CCTCTTACCTCAGTTACA
233	D-Lys4 D-Lys4-CCTCTTACCTCAGTTACA
234	S-S-CCTCTTACCTCAGTTACA

235	S-S-CCTCTGACCTCATTTACA
236	D-Arg8-Дека D-Arg8-Дека-CCTCTTACCTCAGTTACA
237	D-Arg8-Дека-несоответствие D-Arg8-Дека-CCTCTGACCTCATTTACA
238	S-S-CCTCTTACCTCAGTTACA
239	AAEQNPY WARYADWLFTTPLL LLDLALLVDADEGTCG
240	AEDQNPY WARYDWLFTTPLL LLDLALLVDCG
241	AEDQNPY WARYADWLFTTPLL LLELALLVECG
242	AEQNPIY WARYADWLFTTPLL LLDLALLVDADEGCT
243	ACEQNPIY WARYADWLFTTPLL LLDLALLVDADET
244	AE-QN-PI YWARYADWLFTTPLL LLDLALLV DADEGT-COOH
245	AEDQN-P- YWARYADWLFTTPLL LLDLALLV D---G--COOH
246	AEDQNDP-YWARYADWLFTTPLL LLDLALLV ----G--COOH
247	AEQNPI YWARYADFLFTTPLL LLDLALLV DADET-COOH
248	AEQNPI YFARYADWLFTTPLL LLDLALLV DADET-COOH
249	AEQNPI YFARYADFLFTTPLL LLDLALLW DADET-COOH
250	AE-QN-PI YWARYADWLFTTPLL LLDLALLV DADEGCT-COOH
251	AEDQN-PI YWARYADWLFTTPLL LLDLALLV DC--G-T-COOH
252	AEDQNDPI YWARYADWLFTTPLL LLELALLV EC--G-T-COOH
253	Хелат-ACEEQNPWARYLEWLFPTETLLEL
254	AEQNPIY WARYADWLFTTPLL LLDLALLV DADEGT-COOH
255	AKEDQNPY WARYADWLFTTPLL LLDLALLV DG-COOH
256	AKEDQNDPY WARYADWLFTTPLL LLDLALLV G-COOH
257	AEQNPI YWARYADWLFTTPLL LLDLALLV DADEGC-Биотин-Т-СОО Н
258	AEDQNP YWARYADWLFTTPLL LLDLALLV DC-Биотин-G-COOH
259	AEDQNP YWARYADWLFTTPLL LLELALLV EC-Биотин-G-COOH
260	ACEQNPIY WARYADWLFTTPLL LLDLALLV DADEGT
261	ACEDQNPY WARYADWLFTTPLL LLDLALLV DG
262	ACEDQNPY WRAYADLFTPLTLLDLLALW DG
263	ACDDQNP WRAYDLLFPTDTLLLDLLW
264	WARYLELLFPTETLLELLW
265	WARYLDWLFPTDTLLLDL
266	WRAYDLLFPTDTLLLDW
267	WARYLEWLFPTETLLEL
268	WAQYLELLFPTETLLEW

269	WRAYLELLFPTETLLLEW
270	WARYADWLFPTTLLLLD
271	WARYAEWLFPTTLLLLE
272	ACEDQNP WARYADLLFPTTLAW
273	ACEEQNP WARYAELLFPTTLAW
274	Ac-TEDAD VLLALDLLLLPTTFLWDAYRAW YPNQECA-Am
275	CDDDDDDNP NY WARYANWLFTTPLLNGALLV EAEET
276	CDDDDDDNP NY WARYAPWLFTTPLLPGALLV EAEET
277	Ac-AEQNPY WARYADWLFTTPLLDDLALLVDADEGCT
278	Ac-AEQNPY WARYADWLFTTPLLDDLALLVDADEGTG
279	ACEQNPY WARYANWLFTTPLLNLALLVDADEGT
280	Ac-AAEQNPY WARYADWLFTTPLLLELALLVDADEGTKCG
281	DDDEDNPY WARYADWLFTTPLLHLGALLVDADET
282	CDDDEDNPY WARYAHWLFTTPLLHLGALLVDADET
283	DDDEDNPY WARYAHWLFTTPLLHLGALLVDADEGT
284	DDDEDNPY WARYAHWLFTTPLLHLGALLVNADEGT
285	DDDEDNPY WARYAHWLFTTPLLHLGALLVNANEGT
286	AKEDQNDPY WARYADWLFTTPLLDDLALLVG
287	AEDQNPY WARYADWLFTTPLLLELALLVCG
288	AKDDQNP WRAYLDLLFPTDTLLLDLLWC
289	ACEEQNP WRAYLELLFPTETLLLELLW
290	ACDDQNP WARYLDWLFPTDTLLLDL
291	CDNNNP WRAYLDLLFPTDTLLLDW
292	CEEQQP WAYLELLFPTETLLLEW
293	EEQQP WRAYLELLFPTETLLLEW
294	CDDDDDDNP NY WARYANWLFTTPLLNGALLVEAEET
295	CDDDDDDNP NY WARYAPWLFTTPLLPGALLVEAEE
296	AEQNPY FARYADLLFPTTLAW
297	AEQNPY WARYADLLFPTTLAF
298	AEQNPY WARYADLLFPTTLAW
299	KEDQNP WARYADLLFPTTLW
300	ACEEQNPQAEYAEWLFPTTLLLLE
301	AAEQNP WARYLEWLFPTETLLLEL
302	AKEEQNP WARYLEWLFPTETLLLEL

303	AAEQNPYIYWAYADWLFTTPLLALLVDADEGTGG
304	XXEXNPYIYWAYXXXXXLFTXXLLLXXXALLVXAXXXTXG
305	DAAEQNPYIYWAYADWLFTTPLLALLVDADEGTGG
306	GGEQNPYIYWAYADWLFTTPLLALLVDADEGTGG
307	XXEXNPYIYWAYXXXXXLFTXXLLLXXXALLVXAXXXTXG
308	DGGEQNDPYIYWAYADWLFTTPLLALLVDADEGTGG
309	AAEQNPYIYWAYADWLFTTPLLALLVDADEGTGG
310	AEDQNPYIYWAYADWLFTTPLLALLVDCG
311	GLAGLAGLLGLEGLLGLPLGLLEGLWLGLELEGN

В некоторых вариантах реализации R^7 представляет собой пептид, имеющий от 10 до 50 аминокислот. В некоторых вариантах реализации R^7 представляет собой пептид, имеющий от 20 до 40 аминокислот. В некоторых вариантах реализации R^7 представляет собой пептид, имеющий от 20 до 40 аминокислот. В некоторых вариантах реализации R^7 представляет собой пептид, имеющий от 10 до 20 аминокислот. В некоторых вариантах реализации R^7 представляет собой пептид, имеющий от 20 до 30 аминокислот. В некоторых вариантах реализации R^7 представляет собой пептид, имеющий от 30 до 40 аминокислот.

Пригодные терапевтические молекулы (например, R^8) для применения в данном изобретении включают те, которые имеют нежелательные побочные эффекты при доставке системно из-за их возможного вредоносного влияния на нормальную ткань. Примеры терапевтических молекул представляют собой соединения ингибирующие репарации ДНК, такие как ингибиторы PARP, ATR, ДНК-ПК и ATM. Такое соединение ингибирующее репарации ДНК является пригодным для лечения рака и других заболеваний, при которых ингибирование репарации ДНК было бы желательным.

Три ингибитора PARP (олапариб, рупапариб и нирапариб) коммерчески доступны в настоящее время, а другие находятся в стадии разработки, такие как AG-014699 (Agiroon/Pfizer), KU-0059436 (KuDOS/AstraZeneca), INO-1001 (Inotek/Genentech), NT-125 (сейчас E-7449; Eisai; 3H-пиридазино[3,4,5-de]хиназолин-3-он, 8-[(1,3-дигидро-2H-изоиндол-2-ил)метил]-1,2-дигидро-), 2X-121 (2X Oncology; 3H-пиридазино[3,4,5-de]хиназолин-3-он, 8-[(1,3-дигидро-2H-изоиндол-2-ил)метил]-1,2-дигидро-) и ABT-888 (Abbvie). Ингибиторы PARP описаны (например) в патентах США 6100283; 6310082; 6495541; 6548494; 6696437; 7151102; 7196085; 7449464; 7692006; 7781596; 8067613; 8071623; и 8697736, данные патенты включены в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

В некоторых вариантах реализации изобретения R^1 и R^2 каждый независимо выбран из H и метила, и R^3 , R^4 , R^5 и R^6 каждый представляет собой водород.

В некоторых вариантах реализации изобретения R^1 и R^2 каждый независимо выбраны из H и метила.

В некоторых вариантах реализации изобретения R^1 и R^2 каждый представляют собой Н.

В некоторых вариантах реализации изобретения R^3 и R^4 каждый представляют собой Н.

В некоторых вариантах реализации изобретения R^5 и R^6 каждый представляют собой Н.

В некоторых вариантах реализации изобретения R^9 , R^{10} , R^{11} и R^{12} каждый независимо выбраны из Н и метила.

В некоторых вариантах реализации изобретения фермент, способный на расщепление $[AA]_x$ представляет собой катепсин В, матриксные-металлопротеиназы (MMP), DPPIV, гликопротеин, пептидазу или каспазу. В некоторых вариантах реализации изобретения $[AA]_x$ представляет собой пептид, имеющий от двух до двенадцати (х равно от 2 до 12) аминокислотных (AA) остатков. В некоторых вариантах реализации изобретения $[AA]_x$ представляет собой пептид, имеющий от двух до десяти (х равно от 2 до 10) аминокислотных (AA) остатков. В некоторых вариантах реализации изобретения $[AA]_x$ представляет собой пептид, имеющий от двух до пяти (х равно от 2 до 5) аминокислотных (AA) остатков. В некоторых вариантах реализации изобретения $[AA]_x$ представляет собой пептид, имеющий от шести до девяти (х равно от 6 до 9) аминокислотных (AA) остатков. В некоторых вариантах реализации изобретения $[AA]_x$ представляет собой пептид, имеющий от трех до восьми (х равно от 3 до 8) аминокислотных (AA) остатков.

Пептидные линкеры (например, $[AA]_x$) которые способны быть расщеплены белками, описаны в Yang, Y., *Acta Pharmaceutica Sinica B* 2011, 1(3), 143-159; Choi, K., *Theranostics* 2012, 2, 156-178; и Anderson, C., *Ind. Eng. Chem. Res.* 2017, 56, 4761-5777.

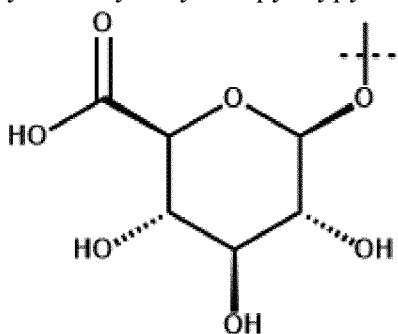
Пептидные линкеры (например, $[AA]_x$) которые способны быть расщеплены DPPIV, описаны в Diez-Torrubia, A., *J. Med. Chem.* 2010, 53, 559-572; Garcia-Aparicio, C., *J. Med. Chem.* 2006, 49, 5339-5351; Diez-Torrubia, A., *ChemMedChem* 2012, 7, 618-628; Dahan, A., *Mol. Pharmaceutics* 2014, 11, 4385-4394; Wickstrom, M., *Oncotarget* 2017, 8, 66641-66655; и Simplicio, A. L., *Molecules*, 2008, 13, 519-547.

Пептидные линкеры (например, $[AA]_x$) которые способны быть расщеплены катепсином В, описаны в Saculitan, N., *Cancer Res.* 2017, 77(24), 7027-7037; Zhong, Y-J, *International Journal of Oncology* 2013, 42, 373-383; и Fan, P., *Drug Metabolism and Disposition* 2016, 44, 1253-1261.

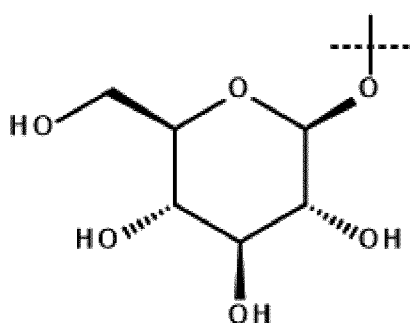
Пептидные линкеры (например, $[AA]_x$) которые способны быть расщеплены MMP (например, MMP-9), описаны в Kalafatovic, D., *Biomaterials* 98 (2016), 192-202; Kim, HS, *Gene Therapy* 2013, 20, 378-385; и Yao, W., *Trends in Pharmacological Sciences* 2018, 39, 766-781.

В некоторых вариантах реализации изобретения $[AA]_x$ представляет собой -Pro_Gly-; -Val_Cit-, -Gly_Pro_Leu_Gly_Leu_Ala_Gly_Asp_Asp-, -Gly_Pro_GLeu_Gly_Val_Arg_Gly, или -Ser_Ser_Lys_Leu_Gly-.

В некоторых вариантах реализации изобретения S1 представляет собой группу, имеющую следующую структуру:



В некоторых вариантах реализации изобретения S1 представляет собой группу, имеющую следующую структуру:



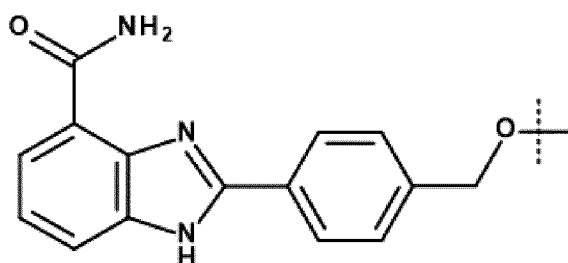
Группа S1 может представлять собой углевод, который может быть расщеплен глюкуронидазой. Такие углеводные группы применяют в данной области техники как глюкуронидные пролекарства, и описаны в Grinda, M. Med. Chem. Commun. 2012, 3, 68-70; Herceg, V., Biorganic Chemistry 2018, 78, 372-380; Adiyala P., Bioorganic Chemistry 2018, 76, 288-293; и Kolakowski, R., Angew. Chem. Int. Ed. 2016, 55, 7948-7951.

В данном документе также предложено соединение формулы (I)

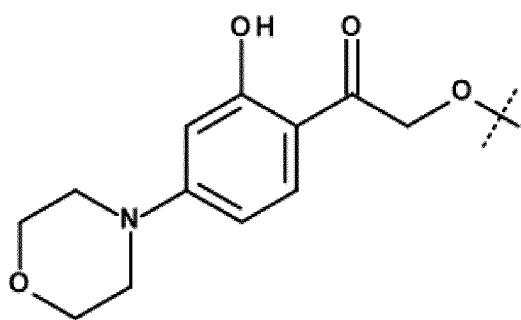


и его фармацевтически приемлемые соли, где

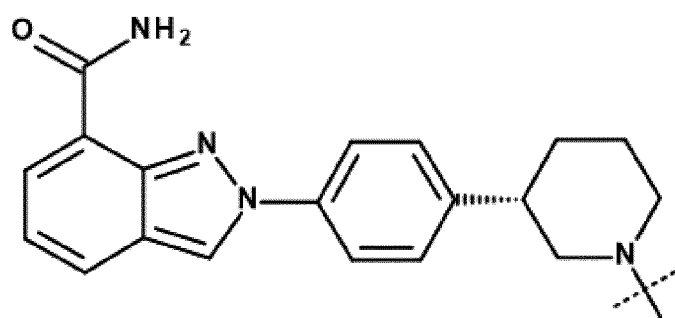
R⁸ представляет собой член, выбранный из группы, состоящей из:



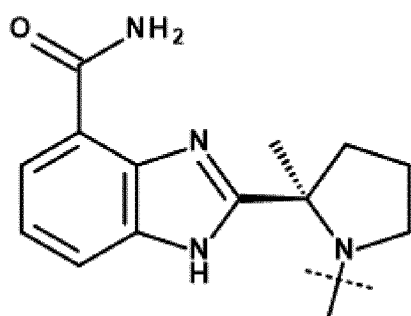
;



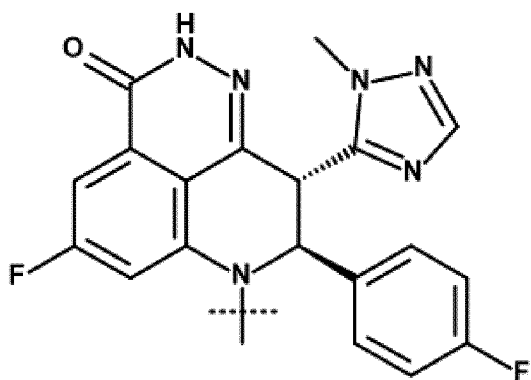
;



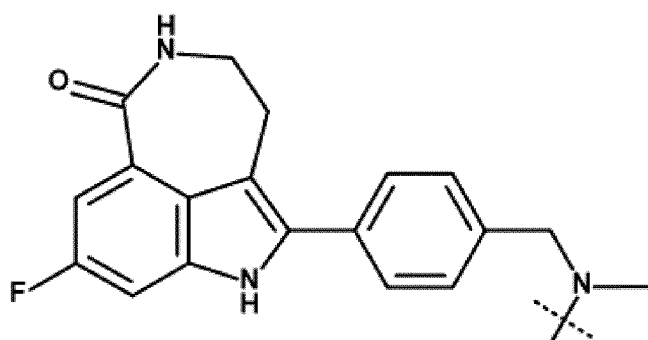
;



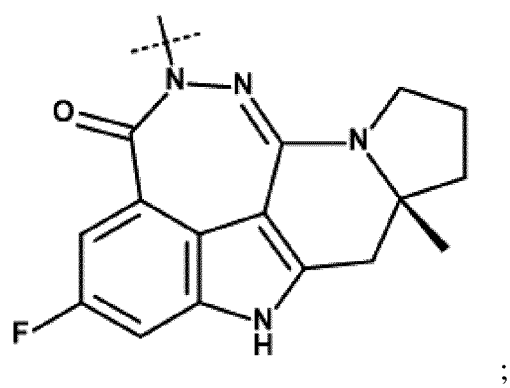
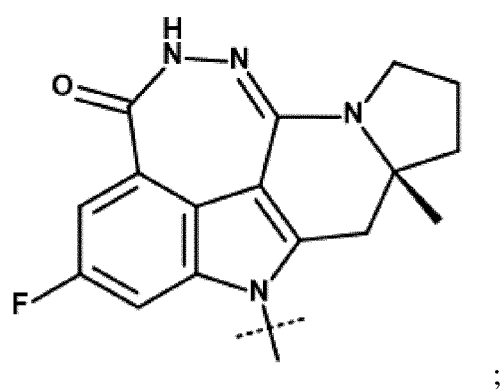
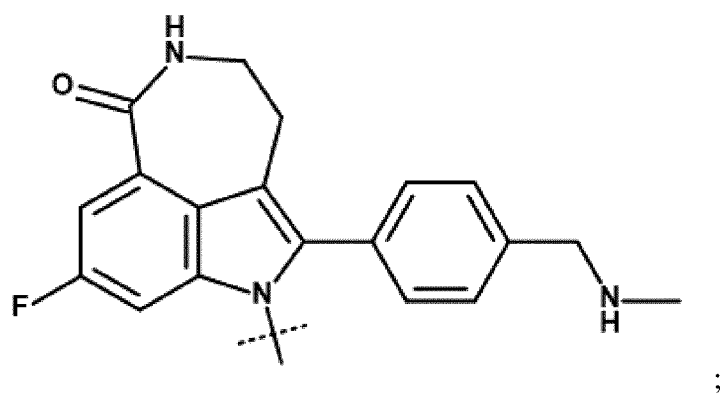
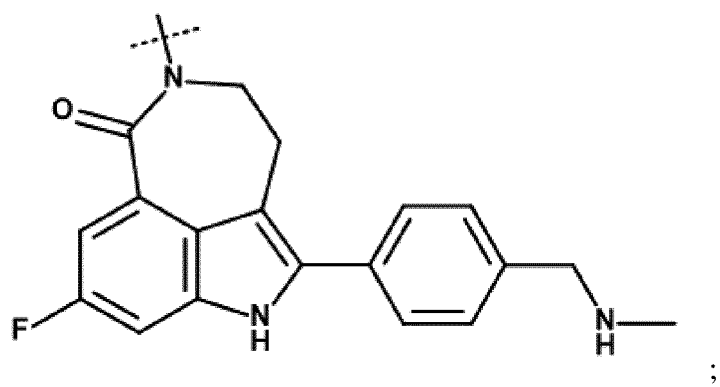
;

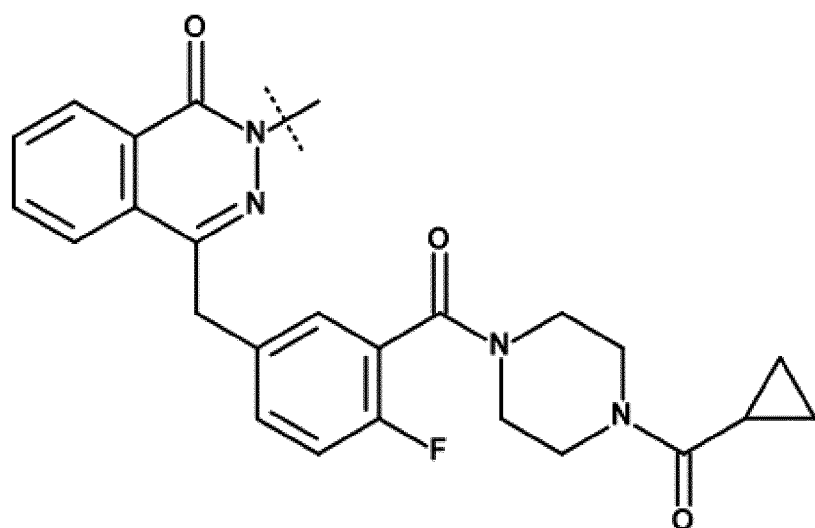


;

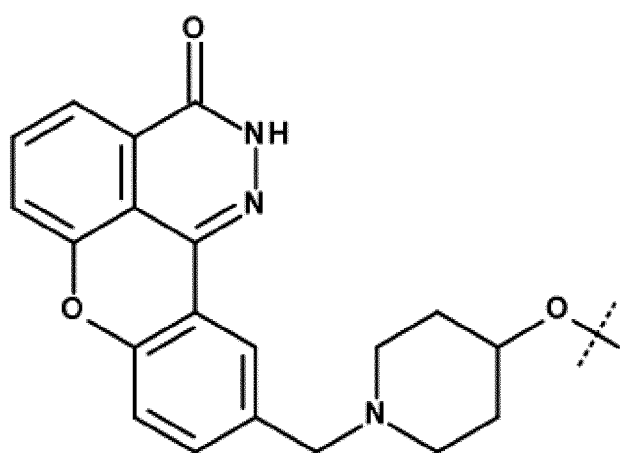


;

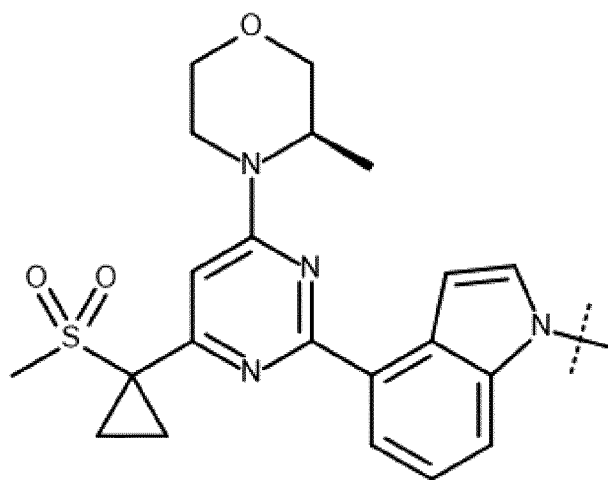




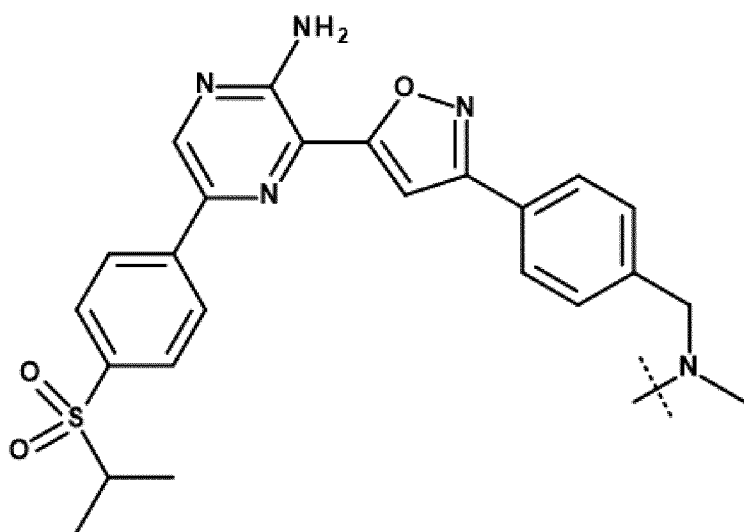
;



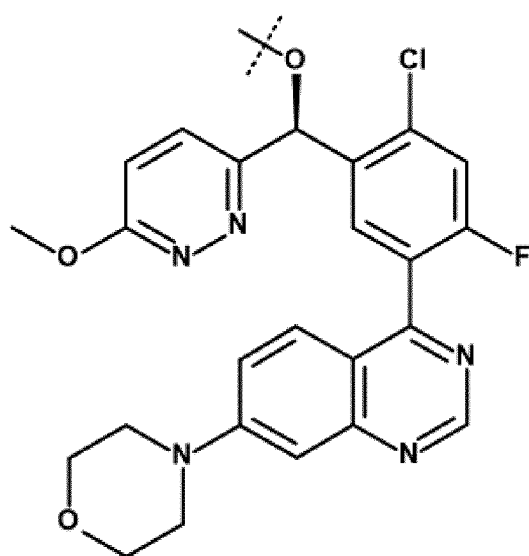
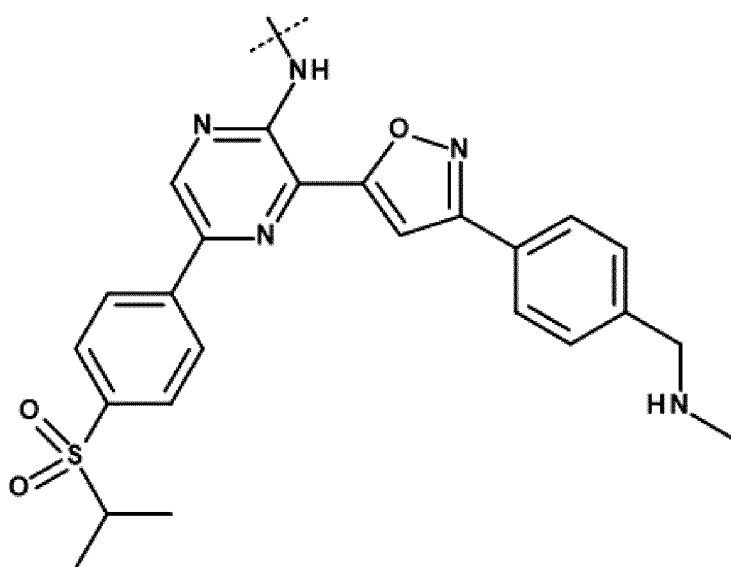
;



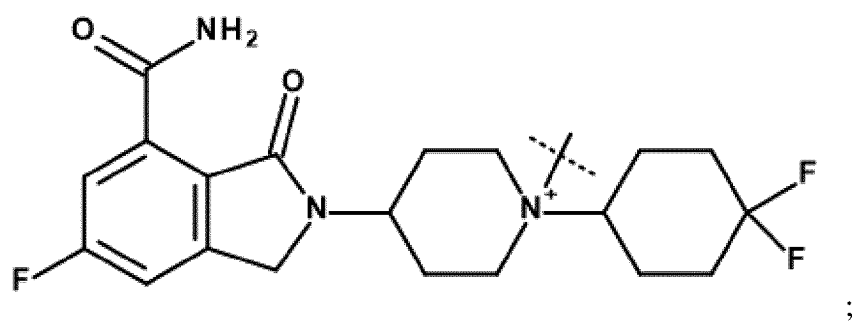
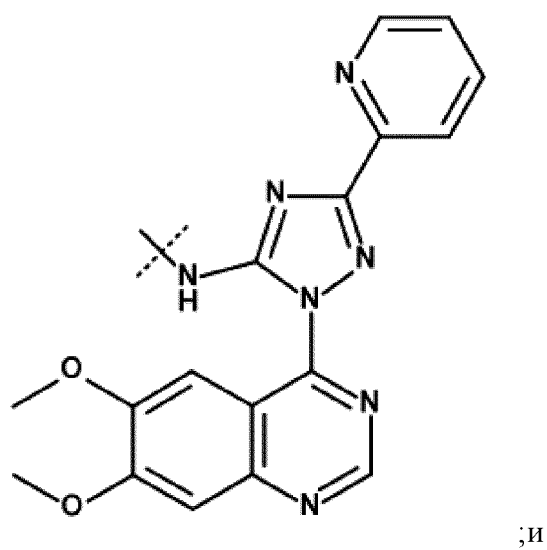
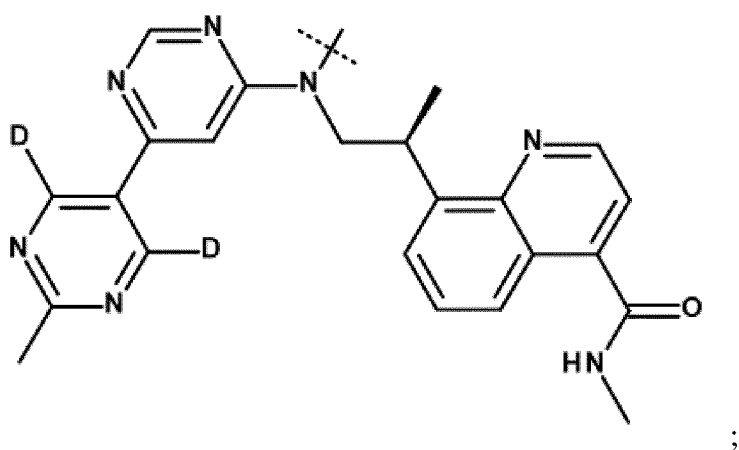
;



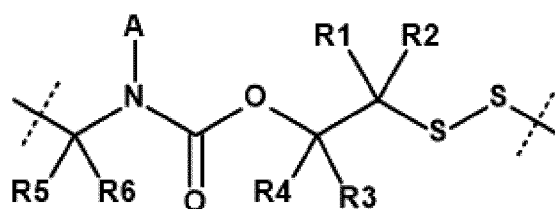
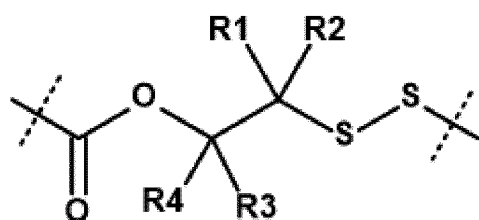
;



;

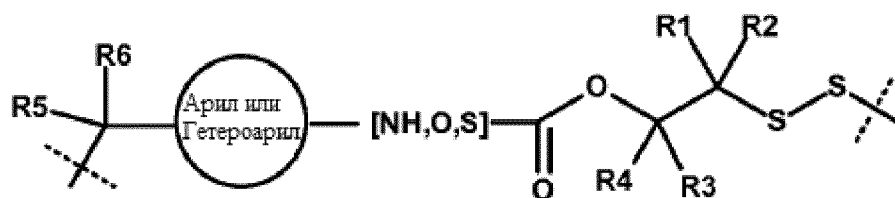


Q представляет собой член, выбранный из группы, состоящей из



;

и



где R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , и R^6 независимо выбраны из H, необязательно замещенного C_1 - C_4 алкила, необязательно замещенного C_1 - C_4 алкенила, необязательно замещенного C_1 - C_4 алкокси, amino, необязательно замещенного одним или двумя C_1 - C_4 алкильными заместителями, галогена, нитро или гидроксид, и где [NH, O,S] означает линкерный NH, O или S фрагмент,

и

R^7 представляет собой пептид, способный селективно доставлять R^8Q через клеточную мембрану, имеющую кислотную или гипоксическую мантию pH зависимым образом.

В некоторых вариантах реализации изобретения R^7 представляет собой член, состоящий из ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (SEQ ID NO. 1; Pv1),

AEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLVDADECG (SEQ ID NO. 2; Pv2), и

ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (SEQ ID NO. 3; Pv3),

где R^7 и Q присоединены через остаток цистеина.

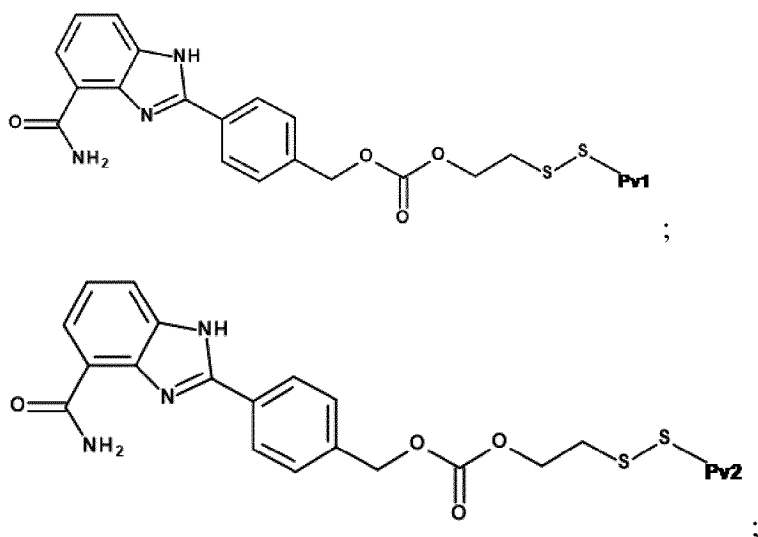
В некоторых вариантах реализации изобретения R^1 и R^2 каждый независимо выбран из H и метила, и R^3 , R^4 , R^5 и R^6 каждый представляет собой водород.

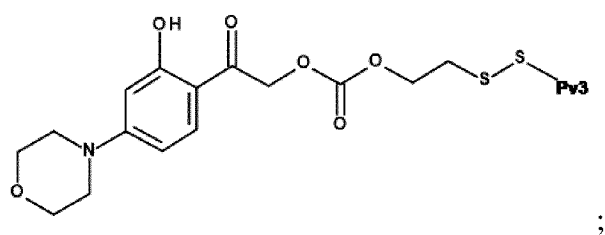
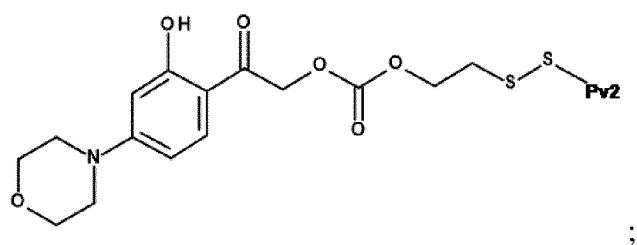
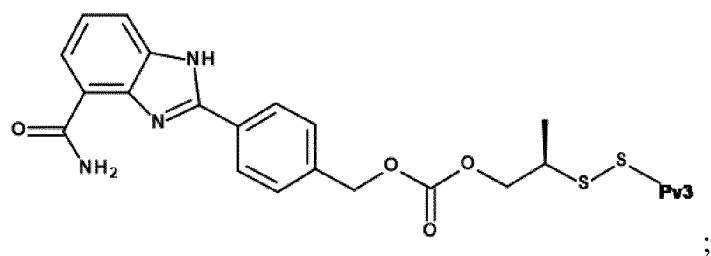
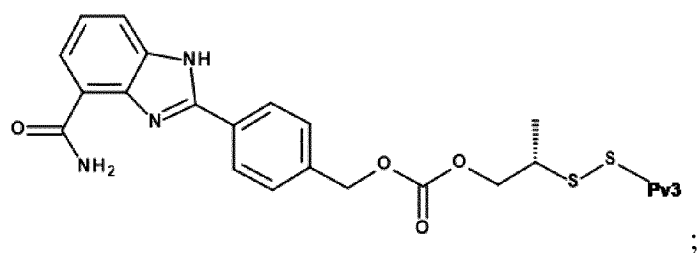
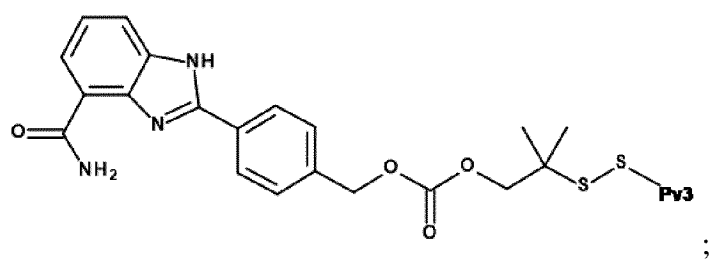
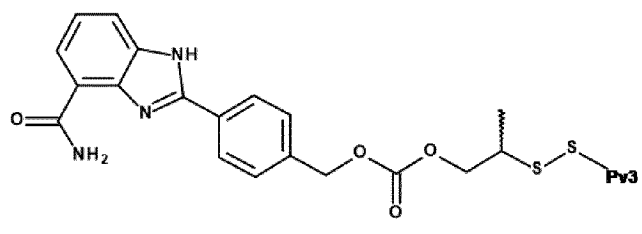
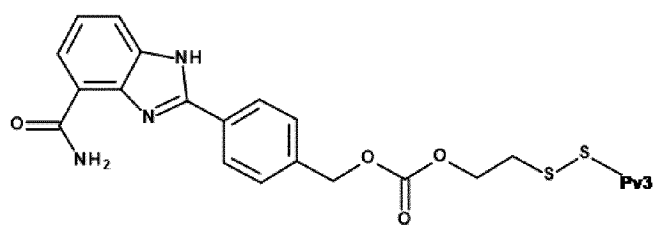
В некоторых вариантах реализации изобретения R^7 представляет собой ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (SEQ ID NO. 1; Pv1).

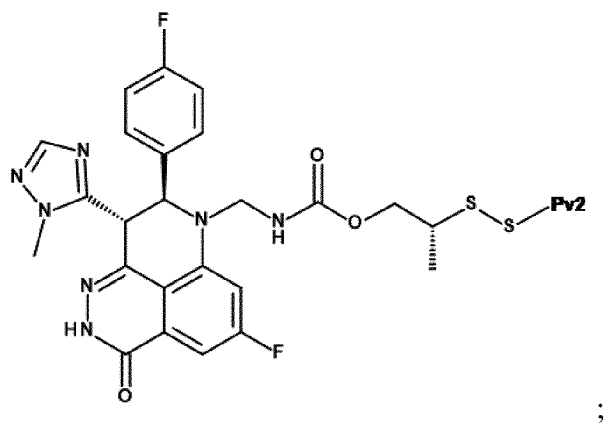
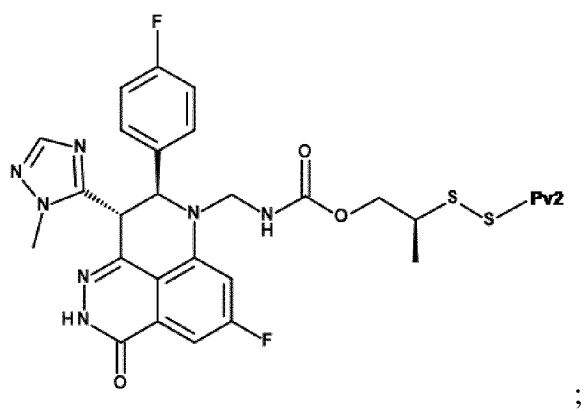
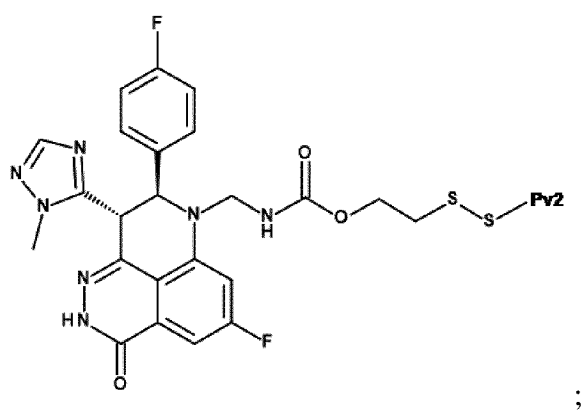
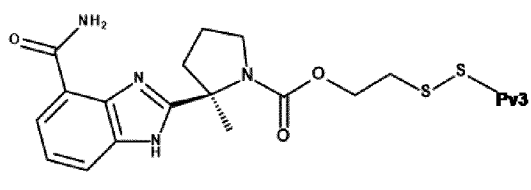
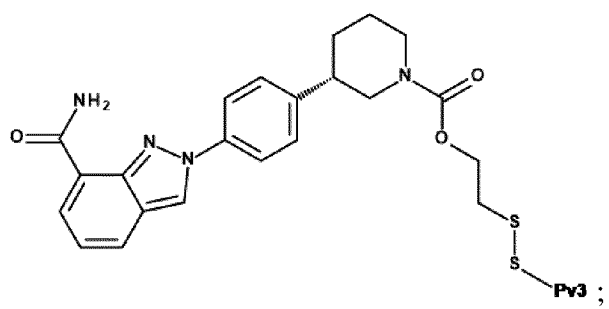
В некоторых вариантах реализации изобретения R^7 представляет собой AEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLVDADECG (SEQ ID NO. 2; Pv2).

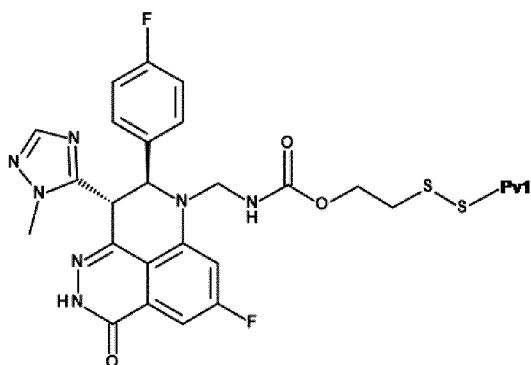
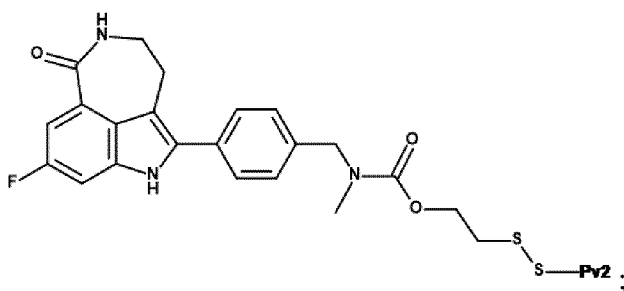
В некоторых вариантах реализации изобретения R^7 представляет собой ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (SEQ ID NO. 3; Pv3).

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение Формулы (I) выбрано из:

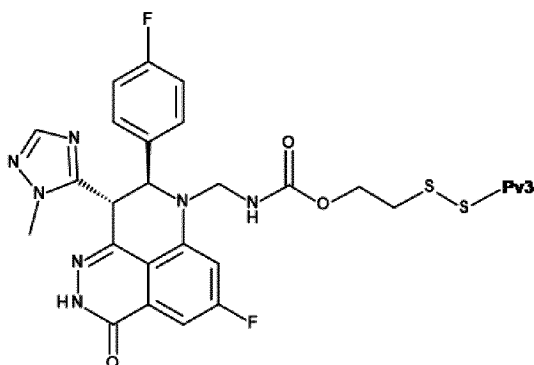








; и



Молекулы данного изобретения могут быть помечены, например, зондом, таким как флуорофор, радиоизотоп и тому подобное. В некоторых вариантах реализации изобретения зонд представляет собой флуоресцентный зонд, такой как LICOR. Флуоресцентный зонд может содержать любой фрагмент, который может повторно излучать свет при возбуждении (например, флуорофор).

Аминокислоты представлены сокращениями ИЮПАК, как показано ниже: Аланин (Ala; A), Аргинин (Arg; R), Аспарагин (Asn; N), Аспарагиновая кислота (Asp; D), Цистеин (Cys; C), Глутамин (Gln; Q), Глутаминовая кислота (Glu; E), Глицин (Gly; G), Гистидин (His; H), Изолейцин (Ile; I), Лейцин (Leu; L), Лизин (Lys; K), Метионин (Met; M), Фенилаланин (Phe; F), Пролин (Pro; P), Серин (Ser; S), Треонин (Thr; T), Триптофан (Trp; W), Тирозин (Tyr; Y), Валин (Val; V). Термин «Pv1» означает ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG, который представляет собой пептид последовательности SEQ ID No. 1. Термин «Pv2» означает AEQNPIYWARYADWLFTTPLLDDLLVDADECG, который представляет собой пептид последовательности SEQ ID No. 2. Термин «Pv3» означает ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG, который представляет собой пептид последовательности SEQ ID No. 3. Термин «Pv4» означает Ас-

AAEQNPYIYWAYADWLFTTPLLALLVDADGKCG, который представляет собой пептид последовательности SEQ ID NO. 4. Термин "Pv5" означает AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLVDADGTC, который представляет собой пептид последовательности SEQ ID NO. 5. В соединениях по данному изобретению, пептиды R⁷ присоединены к дисульфидному линкеру остатком цистеина.

Термин «ацидозная и/или гипоксическая мантия» относится к окружающей среде клетки в пораженной рассматриваемой ткани, имеющей pH ниже 7,0 и предпочтительно ниже 6,5. Ацидозная или гипоксическая мантия более предпочтительно имеет pH около 5,5 и наиболее предпочтительно имеет pH около 5,0. Соединения формулы (I), встраиваются через клеточную мембрану, имеющую ацидозную и/или гипоксическую мантию pH-зависимым образом для встраивания R⁸Q в клетку, после чего дисульфидный линкер расщепляется для доставки свободного R⁸H. Поскольку соединения формулы (I) являются pH-зависимыми, они преимущественно встраиваются через клеточную мембрану только в присутствии ацидозной или гипоксической мантии, окружающей клетку, а не через клеточную мембрану «нормальных» клеток, которые не имеют ацидозной или гипоксической мантии.

Термины «pH-чувствительный» или «pH-зависимый», как используется в данном документе для обозначения пептида R₇ или способа встраивания пептида R⁷ или соединений по данному изобретению через клеточную мембрану, означает, что данный пептид обладает более высоким сродством к липидному бислою клеточной мембраны, имеющему ацидозную или гипоксическую мантию, чем к липидному бислою мембраны при нейтральном pH. Таким образом, соединения по данному изобретению предпочтительно встраиваются через клеточную мембрану для встраивания R⁸Q во внутреннюю часть клетки (и, таким образом, доставляют R⁸H, как описано выше), когда липидный бислой клеточной мембраны имеет ацидозную или гипоксическую мантию («больная» клетка) но не встраиваются через клеточную мембрану, когда мантия (среда липидного бислоя клеточной мембраны) не является ацидозной или гипоксической («нормальная» клетка). Считается, что данное преимущественное встраивание достигается в результате пептида R⁷, образующего спиральную конфигурацию, что облегчает встраивание в мембрану.

Кроме того, следует понимать, что определенные признаки данного изобретения, которые для ясности описаны в контексте отдельных вариантов реализации, также могут быть предложены в комбинации в одном варианте реализации (в то время как варианты реализации предназначены для объединения, как если бы они были написаны в многократно зависимой форме). И наоборот, различные признаки данного изобретения, которые для краткости описаны в контексте одного варианта реализации, также могут быть предложены отдельно или в любой пригодной подкомбинации. Таким образом, предполагается, что признаки, описанные как варианты реализации соединений Формулы (I), могут быть объединены в любую подходящую комбинацию.

В различных местах данного описания определенные признаки соединений

описаны в группах или в диапазонах. В частности, предполагается, что такое описание включает каждую отдельную подкомбинацию членов таких групп и диапазонов. Например, термин " C_{1-6} алкил" в частности предполагает индивидуальное описание (без ограничений) метила, этила, C_3 алкила, C_4 алкила, C_5 алкила и C_6 алкила.

Термин " n -членный", где n представляет собой целое число, как правило описывает число атомов, образующих кольцо, во фрагменте, где число атомов, образующих кольцо, равно n . Например, пиперидинил представляет собой пример 6-членного гетероциклоалкильного кольца, пиразолил представляет собой пример 5-членного гетероарильного кольца, пиридил представляет собой пример 6-членного гетероарильного кольца и 1,2,3,4-тетрагидро-нафталин представляет собой пример 10-членной циклоалкильной группы.

В различных местах в данном описании могут быть описаны переменные, определяющие двухвалентные линкерные группы. В частности, предполагается, что каждый линкерный заместитель включает как прямую, так и обратную форму линкерного заместителя. Например, $-NR(CR'R'')_n-$ включает обе формы $-NR(CR'R'')_n-$ и $-(CR'R'')_nNR-$ и предназначено для описания каждой из форм в отдельности. Если для структуры требуется линкерная группа, переменные Маркуша, перечисленные для этой группы, понимаются как линкерные группы. Например, если для структуры требуется линкерная группа и определения группы Маркуша для этой переменной перечислены как «алкил» или «арил», то следует понимать, что «алкил» или «арил» представляет собой линкерную алкиленовую группу или ариленовую группу, соответственно.

Термин «замещенный» означает, что атом или группа атомов формально заменяет водород в качестве «заместителя», присоединенного к другой группе. Термин «замещенный», если не указано иное, относится к любому уровню замещения, *например*, моно-, ди-, три-, тетра- или пентазамещению, где такое замещение допускается. Заместители выбираются независимо, и замещение может быть в любом химически доступном положении. Следует понимать, что замещение у данного атома ограничено валентностью. Следует понимать, что замещение у данного атома приводит к химически стабильной молекуле. Фраза «необязательно замещенный» означает незамещенный или замещенный. Термин «замещенный» означает, что атом водорода удален и заменен заместителем. Один двухвалентный заместитель, *например* оксо, может заменить два атома водорода.

Термин « C_{n-m} » обозначает диапазон, который включает в себя конечные точки, где n и m являются целыми числами и указывают на число атомов углерода. Примеры включают C_{1-4} , C_{1-6} и тому подобное.

Термин «алкил», используемый отдельно или в сочетании с другими терминами, относится к насыщенной углеводородной группе, которая может быть линейной или разветвленной. Термин « C_{n-m} алкил» относится к алкильной группе, имеющей от n до m атомов углерода. Алкильная группа формально соответствует алкану с одной C-H-связью, замененной точкой присоединения алкильной группы к остальной части соединения. В

некоторых вариантах реализации изобретения алкильная группа содержит от 1 до 6 атомов углерода, от 1 до 4 атомов углерода, от 1 до 3 атомов углерода или от 1 до 2 атомов углерода. Примеры алкильных фрагментов включают, но не ограничиваются ими, химические группы, такие как метил, этил, *n*-пропил, изопропил, *n*-бутил, *трет*-бутил, изобутил, *втор*-бутил; высшие гомологи, такие как 2-метил-1-бутил, *n*-пентил, 3-пентил, *n*-гексил, 1,2,2-триметилпропил и тому подобное.

Термин «алкенил», используемый отдельно или в сочетании с другими терминами, относится к углеводородной группе с прямой или разветвленной цепью, соответствующей алкильной группе, имеющей одну или более двойных углерод-углеродных связей. Алкенильная группа формально соответствует алкену с одной С-Н-связью, замененной точкой присоединения алкенильной группы к остальной части соединения. Термин «C_{n-m} алкенил» относится к алкенильной группе, имеющей от *n* до *m* атомов углерода. В некоторых вариантах реализации изобретения алкенильный фрагмент содержит от 2 до 6, от 2 до 4 или от 2 до 3 атомов углерода. Примеры алкенильных групп включают, но не ограничиваются ими, этенил, *n*-пропенил, изопропенил, *n*-бутенил, *втор*-бутенил и тому подобное.

Термин «алкинил», используемый отдельно или в сочетании с другими терминами, относится к углеводородной группе с прямой или разветвленной цепью, соответствующей алкильной группе, имеющей одну или более тройных углерод-углеродных связей. Алкинильная группа формально соответствует алкину с одной С-Н-связью, замененной точкой присоединения алкильной группы к остальной части соединения. Термин «C_{n-m} алкинил» относится к алкинильной группе, имеющей от *n* до *m* атомов углерода. Примеры алкинильных групп включают, но не ограничиваются ими, этинил, пропин-1-ил, пропин-2-ил и тому подобное. В некоторых вариантах реализации изобретения алкинильный фрагмент содержит от 2 до 6, от 2 до 4 или от 2 до 3 атомов углерода.

Термин «алкилен», используемый отдельно или в сочетании с другими терминами, относится к двухвалентной алкильной линкерной группе. Алкиленовая группа формально соответствует алкану с двумя С-Н-связями, замененными точками присоединения алкиленовой группы к остальной части соединения. Термин «C_{n-m} алкилен» относится к алкиленовой группе, имеющей от *n* до *m* атомов углерода. Примеры алкиленовых групп включают, но не ограничиваются ими, этан-1,2-диил, этан-1,1-диил, пропан-1,3-диил, пропан-1,2-диил, пропан-1,1-диил, бутан-1,4-диил, бутан-1,3-диил, бутан-1,2-диил, 2-метил-пропан-1,3-диил и тому подобное.

Термин «амино» относится к группе формулы -NH₂.

Термин «карбонил», используемый отдельно или в сочетании с другими терминами, относится к группе -C(=O)-, которая также может быть записана как C(O).

Термин «циано» или «нитрил» относится к группе формулы -C≡N, которая также может быть записана как -CN.

Термины «галоген» или «галоген», используемые отдельно или в сочетании с другими терминами, относятся к фтору, хлору, бром и иоду. В некоторых вариантах реализации

изобретения «галоген» относится к атому галогена, выбранному из F, Cl или Br. В некоторых вариантах реализации изобретения галогеногруппы представляют собой F.

Термин «галогеналкил» в данном контексте относится к алкильной группе, в которой один или более атомов водорода замещены атомом галогена. Термин «C_{n-m} галогеналкил» относится к C_{n-m} алкильной группе, имеющей от n до m атомов углерода и от по меньшей мере одного до {2(от n до m)+1} атомов галогена, которые могут быть одинаковыми или разными. В некоторых вариантах реализации изобретения атомы галогена представляют собой атомы фтора. В некоторых вариантах реализации изобретения галогеналкильная группа имеет от 1 до 6 или от 1 до 4 атомов углерода. Примеры галогеналкильных групп включают CF₃, C₂F₅, CHF₂, CH₂F, CCl₃, CHCl₂, C₂Cl₅ и тому подобное. В некоторых вариантах реализации изобретения галогеналкильная группа представляет собой фторалкильную группу.

Термин «галогеналкокси», используемый отдельно или в сочетании с другими терминами, относится к группе формулы -О-галогеналкил, где галогеналкильная группа является такой, как определено выше. Термин «C_{n-m} галогеналкокси» относится к галогеналкоксигруппе, галогеналкильная группа которой имеет от n до m атомов углерода. Примеры галогеналкоксигрупп включают трифторметокси и тому подобное. В некоторых вариантах реализации изобретения галогеналкокси группа имеет от 1 до 6, от 1 до 4 или от 1 до 3 атомов углерода.

Термин «оксо» относится к атому кислорода в качестве двухвалентного заместителя, образующего карбонильную группу при присоединении к углероду или присоединенного к гетероатому, образующему сульфоксидную или сульфоновую группу или N-оксидную группу. В некоторых вариантах реализации изобретения гетероциклические группы могут быть необязательно замещены 1 или 2 оксо (=O) заместителями.

Термин «окисленный» по отношению к образующему кольцо атому N относится к образующему кольцо N-оксиду.

Термин «окисленный» по отношению к образующему кольцо атому S относится к образующему кольцо сульфону или образующему кольцо сульфину.

Термин «ароматический» относится к карбоциклу или гетероциклу, имеющему одно или несколько полиненасыщенных колец, имеющих ароматический характер (*т. е.*, имеющих (4n+2) делокализованных π (пи) электронов, где n представляет собой целое число).

Термин «арил», используемый отдельно или в сочетании с другими терминами, относится к ароматической углеводородной группе, которая может быть моноциклической или полициклической (*например*, имеющей 2 конденсированных кольца). Термин «C_{n-m} арил» относится к арильной группе, имеющей от n до m кольцевых атомов углерода. Арильные группы включают, *например*, фенил, нафтил и тому подобное. В некоторых вариантах реализации изобретения арильные группы имеют от 6 до около 10 атомов углерода. В некоторых вариантах реализации изобретения арильные группы

имеют 6 атомов углерода. В некоторых вариантах реализации изобретения арильные группы имеют 10 атомов углерода. В некоторых вариантах реализации изобретения арильная группа представляет собой фенил.

Термин «гетероарил» или «гетероароматический», используемый отдельно или в сочетании с другими терминами, относится к моноциклическому или полициклическому ароматическому гетероциклу, имеющему по меньшей мере один член гетероатомного кольца, выбранный из серы, кислорода и азота. В некоторых вариантах реализации изобретения гетероарильное кольцо имеет 1, 2, 3 или 4 гетероатомных члена, независимо выбранных из азота, серы и кислорода. В некоторых вариантах реализации изобретения любой образующий кольцо N в гетероарильной части может представлять собой N-оксид. В некоторых вариантах реализации изобретения гетероарил имеет 5-14 атомов кольца, включая атомы углерода, и 1, 2, 3 или 4 гетероатомных члена кольца, независимо выбранных из азота, серы и кислорода. В некоторых вариантах реализации изобретения гетероарил имеет 5-10 атомов кольца, включая атомы углерода, и 1, 2, 3 или 4 гетероатомных члена кольца, независимо выбранных из азота, серы и кислорода. В некоторых вариантах реализации изобретения гетероарил имеет 5-6 атомов кольца и 1 или 2 гетероатомных члена кольца, независимо выбранных из азота, серы и кислорода. В некоторых вариантах реализации изобретения гетероарил представляет собой пятичленное или шестичленное гетероарильное кольцо. В других вариантах реализации изобретения гетероарил представляет собой восьмичленное, девятичленное или десятичленное конденсированное бициклическое гетероарильное кольцо.

Пятичленное гетероарильное кольцо представляет собой гетероарильную группу, имеющую пять кольцевых атомов, где один или более (*например*, 1, 2 или 3) кольцевых атомов независимо выбраны из N, O и S.

Шестичленное гетероарильное кольцо представляет собой гетероарильную группу, имеющую шесть кольцевых атомов, где один или более (*например*, 1, 2 или 3) кольцевых атомов независимо выбраны из N, O и S.

Термин «циклоалкил», используемый отдельно или в сочетании с другими терминами, относится к неароматической углеводородной кольцевой системе (моноциклической, бициклической или полициклической), включая циклизированные алкильные и алкенильные группы. Термин «C_{n-m} циклоалкил» относится к циклоалкилу, который имеет от n до m атомов углерода в кольце. Циклоалкильные группы могут включать моно- или полициклические (*например*, имеющие 2, 3 или 4 конденсированных кольца) группы и спироциклы. Циклоалкильные группы могут иметь 3, 4, 5, 6 или 7 образующих кольцо атомов углерода (C₃₋₇). В некоторых вариантах реализации изобретения циклоалкильная группа имеет от 3 до 6 членов кольца, от 3 до 5 членов кольца или от 3 до 4 членов кольца. В некоторых вариантах реализации изобретения циклоалкильная группа является моноциклической. В некоторых вариантах реализации изобретения циклоалкильная группа является моноциклической или бициклической. В некоторых вариантах реализации изобретения циклоалкильная группа представляет собой

C₃₋₆ моноциклическую циклоалкильную группу. Кольцевые атомы углерода циклоалкильной группы могут быть необязательно окислены с образованием оксо или сульфидогруппы. Циклоалкильные группы также включают циклоалкилиденy. В некоторых вариантах реализации изобретения, циклоалкил представляет собой циклопропил, циклобутил, циклопентил или циклогексил. Также в определение циклоалкила включены фрагменты, которые имеют одно или несколько ароматических колец, конденсированных (*т. е.* имеющих общую связь с) с циклоалкильным кольцом, *например*, бензо- или тиенильные производные циклопентана, циклогексана и тому подобное. Циклоалкильная группа, содержащая конденсированное ароматическое кольцо, может быть присоединена через любой образующий кольцо атом, включая образующий кольцо атом конденсированного ароматического кольца. Примеры циклоалкильных групп включают в себя циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил, циклопентенил, циклогексенил, циклогексаденил и тому подобное. В некоторых вариантах реализации изобретения циклоалкильная группа представляет собой циклопропил, циклобутил, циклопентил или циклогексил.

Термин «гетероциклоалкил», используемый отдельно или в сочетании с другими терминами, относится к неароматическому кольцу или кольцевой системе, которая может необязательно содержать одну или несколько алкениленовых групп в качестве части кольцевой структуры, которая имеет по меньшей мере один гетероатомный член кольца независимо выбранный из азота, серы, кислорода и фосфора и содержит 4-10 кольцевых членов, 4-7 кольцевых членов или 4-6 кольцевых членов. В термин «гетероциклоалкил» включены моноциклические 4-, 5-, 6- и 7-членные гетероциклоалкильные группы. Гетероциклоалкильные группы могут включать моно- или бициклические (*например*, имеющие два конденсированных или мостиковых кольца) или спироциклические кольцевые системы. В некоторых вариантах реализации изобретения гетероциклоалкильная группа представляет собой моноциклическую группу, имеющую 1, 2 или 3 гетероатома, независимо выбранных из азота, серы и кислорода. Кольцевые атомы углерода и гетероатомы гетероциклоалкильной группы могут быть необязательно окислены с образованием оксо или сульфидогруппы или другой окисленной связи (*например*, C(O), S(O), C(S) или S(O)₂, N-оксид и *т. д.*), или атом азота может быть кватернизирован. Гетероциклоалкильная группа может быть присоединена через образующий кольцо атом углерода или образующий кольцо гетероатом. В некоторых вариантах реализации изобретения гетероциклоалкильная группа содержит от 0 до 3 двойных связей. В некоторых вариантах реализации изобретения гетероциклоалкильная группа содержит от 0 до 2 двойных связей. Также в определение гетероциклоалкила включены фрагменты, которые имеют одно или несколько ароматических колец, конденсированных (*т. е.* имеющих общую связь с) с гетероциклоалкильным кольцом, *например*, бензо- или тиенильные производные пиперидина, морфолина, азепина и *т. д.* Гетероциклоалкильная группа, содержащая конденсированное ароматическое кольцо, может быть присоединена через любой образующий кольцо атом, включая образующий

кольцо атом конденсированного ароматического кольца. Примеры гетероциклоалкильных групп включают 2-пирролидинил; морфолинил; азетидинил; и пиперазинил.

В определенных местах определения или варианты реализации изобретения относятся к конкретным кольцам (*например*, азетидиновому кольцу, пиридиновому кольцу и т. д.). Если не указано иное, данные кольца могут быть присоединены к любому кольцевому элементу при условии, что валентность атома не превышена. Например, азетидиновое кольцо может быть присоединено в любом положении кольца, тогда как азетидин-3-ильное кольцо присоединено в 3-положении.

Соединения, описанные в данном документе, могут являться асимметричными (*например*, имеющими один или более стереоцентров). Все стереоизомеры, такие как энантиомеры и диастереомеры, являются включенными, если не указано иное. Соединения по данному изобретению, которые содержат несимметрично замещенные атомы углерода, могут быть выделены в оптически активной или рацемической формах. Методы о том, как получать оптически активные формы из оптически неактивных исходных материалов, известны в данной области техники, например, путем разделения рацемических смесей или путем стереоселективного синтеза. Многие геометрические изомеры олефинов, C=N двойные связи и тому подобное могут также присутствовать в соединениях, описанных в данном документе, и все такие стабильные изомеры предусмотрены в данном изобретении. *Цис* и *транс* геометрические изомеры соединений по данному изобретению описаны и могут быть выделены в виде смеси изомеров или в виде разделенных изомерных форм.

Разделение рацемических смесей соединений может быть осуществлено с помощью любого из многочисленных методов, известных в данной области техники. Один из методов включает фракционную перекристаллизацию с использованием хиральной разделяющей кислоты, которая является оптически активной, образующей соль органической кислотой. Пригодные разделяющие агенты для методов фракционной кристаллизации представляют собой, *например*, оптически активные кислоты, такие как D и L-формы винной кислоты, диацетил-винной кислоты, дибензоил-винной кислоты, миндальной кислоты, яблочной кислоты, молочной кислоты или различные оптически активные камфорсульфоновые кислоты, такие как β -камфорсульфоновая кислота. Другие разделяющие агенты для методов фракционной кристаллизации включают стереоизомерически чистые формы α -метилбензиламина (*например*, S и R формы или диастереомерно чистые формы), 2-фенилглицинола, норэфедрина, эфедрина, N-метилэфедрина, циклогексилэтиламина, 1,2-диаминоциклогексана и тому подобное.

Разделение рацемических смесей также может быть осуществлено путем элюирования на колонке, заполненной оптически активным разделяющим агентом (*например*, динитробензоилфенилглицином). Пригодная композиция элюента может быть определена специалистом в данной области техники.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединения по данному изобретению имеют (R)-конфигурацию. В других вариантах реализации изобретения

данные соединения имеют (S)-конфигурацию. В соединениях с более чем одним хиральным центром, каждый из хиральных центров в соединении независимо может иметь (R) или (S) конфигурацию, если не указано иное.

Соединения по данному изобретению также включают таутомерные формы. Таутомерные формы являются результатом замены одинарной связи на соседнюю двойную связь вместе с сопутствующей миграцией протона. Таутомерные формы включают прототропные таутомеры, которые являются изомерными состояниями протонирования, имеющими одинаковую эмпирическую формулу и суммарный заряд. Примеры прототропных таутомеров включают кетон - енольные пары, пары амид - имидной кислоты, лактам - лактимные пары, енамин - иминовые пары и кольцевые формы, где протон может занимать два или более положений гетероциклической системы, *например*, 1Н- и 3Н-имидазол, 1Н-, 2Н- и 4Н- 1,2,4-триазол, 1Н- и 2Н- изоиндол и 1Н- и 2Н-пиразол. Таутомерные формы могут находиться в равновесии или являться стерически заблокированными в одной форме путем соответствующего замещения.

Соединения по данному изобретению могут также включать все изотопы атомов, присутствующих в промежуточных или конечных соединениях. Изотопы включают те атомы, которые имеют одинаковый атомный номер, но разные массовые числа. Например, изотопы водорода включают тритий и дейтерий. Один или несколько составляющих атомов соединений по данному изобретению могут быть заменены или замещены изотопами атомов в естественном или неприродном содержании. В некоторых вариантах реализации изобретения соединение включает, по меньшей мере, один атом дейтерия. Например, один или несколько атомов водорода в соединении по данному изобретению могут быть заменены или замещены дейтерием. В некоторых вариантах реализации изобретения соединение включает два или более атомов дейтерия. В некоторых вариантах реализации изобретения соединение содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 атомов дейтерия. Методы синтеза для включения изотопов в органические соединения известны в данной области техники (Deuterium Labeling in Organic Chemistry by Alan F. Thomas (New York, N.Y., Appleton-Century-Crofts, 1971; The Renaissance of H/D Exchange by Jens Atzrodt, Volker Derdau, Thorsten Fey and Jochen Zimmermann, Angew. Chem. Int. Ed. 2007, 7744-7765; The Organic Chemistry of Isotopic Labelling by James R. Hanson, Royal Society of Chemistry, 2011). Изотопно-меченные соединения могут использоваться в различных исследованиях, таких как ЯМР-спектроскопия, эксперименты метаболизма, и/или анализы.

Замещение более тяжелыми изотопами, такими как дейтерий, может обеспечивать определенные терапевтические преимущества в результате большей метаболической стабильности, например, повышения времени полувыведения *in vivo* или снижения необходимых дозировок, и, следовательно, могут быть предпочтительными в определенных обстоятельствах. (A. Kerekes et.al. J. Med. Chem. **2011**, 54, 201-210; R. Xu et.al. J. Label Compd. Radiopharm. **2015**, 58, 308-312).

Термин «соединение», как используется в данном документе, означает все

стереоизомеры, геометрические изомеры, таутомеры и изотопы изображенных структур. Указанный термин также предназначен для обозначения соединений по данному изобретению, независимо от того, как они получены, например, синтетически, посредством биологического процесса (например, метаболизма или ферментативной реакции) или их комбинации.

Все соединения и их фармацевтически приемлемые соли могут находиться вместе с другими веществами, такими как вода и растворители (*например*, гидраты и сольваты), или могут быть выделены. Находясь в твердом состоянии, соединения, описанные в данном документе, и их соли могут встречаться в различных формах и могут, *например*, принимать форму сольватов, включая гидраты. Указанные соединения могут быть в любой твердой форме, такой как полиморф или сольват, поэтому, если не указано иное, ссылки в описании на соединения и их соли следует понимать как охватывающие любую твердую форму соединения.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединения по данному изобретению или их соли являются по существу выделенными. «По существу выделенный» означает, что соединение по меньшей мере частично или по существу отделено от среды, в которой оно было образовано или обнаружено. Частичное разделение может включать, *например*, композицию, обогащенную соединениями по данному изобретению. Существенное разделение может включать композиции, содержащие, по меньшей мере, около 50%, по меньшей мере, около 60%, по меньшей мере, около 70%, по меньшей мере, около 80%, по меньшей мере, около 90%, по меньшей мере, около 95%, по меньшей мере, около 97%, или по меньшей мере, около 99% по массе соединений по данному изобретению или их солей.

Фраза «фармацевтически приемлемый», как используется в данном документе, предназначена для обозначения тех соединений, материалов, композиций и/или дозированных форм, которые в рамках здравого медицинского суждения подходят для применения в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или осложнений, соразмерных с разумным соотношением пользы/риска.

Выражения «температура окружающей среды» и «комнатная температура», как используется в данном документе, понятны в данной области техники и в целом относятся к температуре, *например* температуре реакции, которая примерно равна температуре помещения, в котором проводится реакция, *например*, от около 20 °C до около 30 °C.

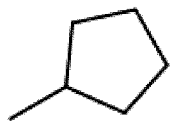
Данное описание также включает фармацевтически приемлемые соли соединений, описанных в данном документе. Термин «фармацевтически приемлемые соли» относится к производным описанных соединений, в которых исходное соединение модифицировано путем преобразования существующего кислотного или основного фрагмента в его солевую форму. Примеры фармацевтически приемлемых солей включают, но не ограничиваются ими, соли минеральных или органических кислот основных остатков, таких как амины; щелочные или органические соли кислотных остатков, таких как

карбоновые кислоты; и тому подобное. Фармацевтически приемлемые соли по данному изобретению включают нетоксичные соли исходного соединения, образованные, *например*, из нетоксичных неорганических или органических кислот. Фармацевтически приемлемые соли по данному изобретению могут быть синтезированы из исходного соединения, которое содержит основной или кислотный фрагмент, обычными химическими способами. Как правило, такие соли могут быть получены взаимодействием форм этих соединений в виде свободной кислоты или основания со стехиометрическим количеством подходящего основания или кислоты в воде или в органическом растворителе или в их смеси; как правило, предпочтительными являются неводные среды, такие как эфир, этилацетат, спирты (*например*, метанол, этанол, изопропанол или бутанол) или ацетонитрил (MeCN). Списки подходящих солей находятся в Remington's Pharmaceutical Sciences, 17^e Изд., (Mack Publishing Company, Easton, 1985), стр. 1418, Berge *и др.*, J. Pharm. Sci., **1977**, 66(1), 1-19 и в Stahl *и др.*, Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, (Wiley, 2002). В некоторых вариантах реализации изобретения соединения, описанные в данном документе, включают N-оксидные формы

Как известно в данной области техники, символ  используют в структурных формулах, чтобы указать связь, которая представляет собой точку присоединения фрагмента, содержащего его, к преобладающей части соединения. В соответствии с аналогичной конвенцией, присоединенные атомы углерода и их присоединенные атомы

водорода могут не быть явно изображены. Таким образом, символ  представляет

собой метильную группу, символ  представляет собой этильную группу,

символ  представляет собой цикlopентильную группу, и так далее.

Ориентация группы заместителя в молекуле или фрагменте представлена конвенцией,

таким образом, что символ  представляет собой связь, в которой группа выступает

из плоскости страницы по направлению к читателю, в то время как символ  представляет собой связь, в которой группа, выступает за плоскость страницы от

читателя, и символ  представляет собой связь, в которой группа имеет неопределенную ориентацию (т. е. соединение является диастереомерным).

Все термины, используемые в данном документе в данном описании, если не

указано иное, следует понимать в их обычном значении, как известно в данной области техники. Например, «C₁₋₄алкил» представляет собой насыщенный алифатический углеводородный одновалентный радикал, содержащий 1-4 атома углерода, такой как метил, этил, *n*-пропил, 1-метилэтил (изопропил), *n*-бутил или *m*-бутил; «C₁₋₄ алкокси» представляет собой C₁₋₄ алкил с концевым кислородом, такой как метокси, этокси, пропокси, бутокси. Все алкильные, алкенильные и алкинильные группы следует понимать как разветвленные или неразветвленные, циклические или нециклические, где это конструктивно возможно и если не указано иное. Другие более конкретные определения расшифровываются следующим образом:

Термин «C_{1-n}-алкил», где *n* представляет собой целое число от 2 до 6, либо отдельно, либо в комбинации с другим радикалом обозначает ациклический, насыщенный, разветвленный или линейный углеводородный радикал, имеющий от 1 до *n* атомов углерода. Например, термин C₁₋₅-алкил охватывает радикалы H₃C-, H₃C-CH₂-, H₃C-CH₂-CH₂-, H₃C-CH(CH₃)-, H₃C-CH₂-CH₂-CH₂-, H₃C-CH₂-CH(CH₃)-, H₃C-CH(CH₃)-CH₂-, H₃C-C(CH₃)₂-, H₃C-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-, H₃C-CH₂-CH₂-CH(CH₃)-, H₃C-CH₂-CH(CH₃)-CH₂-, H₃C-CH(CH₃)-CH₂-CH₂-, H₃C-CH₂-C(CH₃)₂-, H₃C-C(CH₃)₂-CH₂-, H₃C-CH(CH₃)-CH(CH₃)- и H₃C-CH₂-CH(CH₂CH₃)-.

Термин «C_{3-n}-циклоалкил», в котором *n* представляет собой целое число от 4 до 7, либо отдельно, либо в комбинации с другим радикалом обозначает циклический, насыщенный, неразветвленный углеводородный радикал, имеющий от 3 до *n* атомов углерода. Например, термин C₃₋₇-циклоалкил включает циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил и циклогептил.

Термин «гетероатом», как используется в данном документе, следует понимать как атомы, отличные от углерода, такие как O, N, S и P.

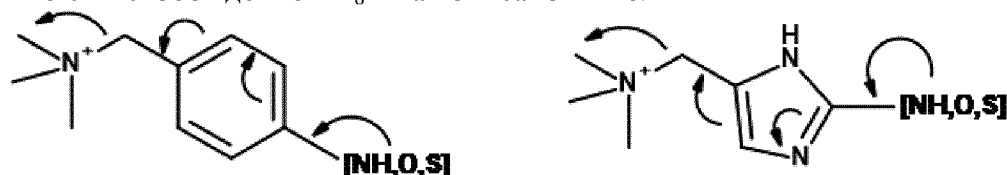
В некоторых вариантах реализации изобретения алкильные группы или углеродные цепи, один или более атомов углерода могут быть необязательно заменены гетероатомами: O, S или N. Следует понимать, что если N не представлен замещенным, то он представляет собой NH, и что гетероатомы могут заменять либо концевые атомы углерода или внутренние атомы углерода в пределах разветвленной или неразветвленной углеродной цепи. Такие группы могут быть замещены, как описано выше в данном документе, такими группами, как оксо, что приводит к определениям, таким как, но не ограничиваясь ими: алкоксикарбонил, ацил, амидо и тиоксо.

В некоторых вариантах реализации изобретения термин «арил», как используется в данном документе, либо отдельно, либо в комбинации с другим радикалом, обозначает карбоциклическую ароматическую моноциклическую группу, содержащую 6 атомов углерода, которая может быть дополнительно конденсирована со второй 5- или 6-членной карбоциклической группой, которая может быть ароматической, насыщенной или ненасыщенной. Арил включает, но не ограничивается ими, фенил, инданил, инденил, нафтил, антраценил, фенантренил, тетрагидронафтил и дигидронафтил.

В некоторых вариантах реализации изобретения термин «гетероарил» (иногда

сокращенно «гетарил») означает ароматическое 5- или 6-членное моноциклическое гетероарильное или ароматическое от 7 до 11-членное гетероарильное бициклическое кольцо, где, по меньшей мере, одно из колец является ароматическим, причем гетероарильное кольцо содержит 1-4 гетероатома, таких как N, O и S. Неограничивающие примеры от 5 до 6-членных моноциклических гетероарильных колец включают фуранил, оксазолил, изоксазолил, оксадиазолил, тиазолил, пиразолил, пирролил, имидазолил, тетразолил, триазолил, тиенил, тиадиазолил, пиридилил, пиримидинил, пиридазинил, пиразинил, триазинил и пуринил. Неограничивающие примеры от 7 до 11-членных бициклических гетероарильных колец включают бензимидазолил, хинолинил, дигидро-2Н-хинолинил, тетрагидрохинолинил, изохинолинил, хиназолинил, индазолил, тиено[2,3-d]пиримидинил, индолил, изоиндолил, бензофуранил, дигидробензофуранил, бензопиранил, бензодиоксолил, бензоксазолил и бензтиазолил.

При использовании в Q, определение термина «арил и гетарил» является таким, как описано выше. Они предпочтительно представляют собой фенил или имидазолил, такие как следующие фрагменты, которые в сочетании с [NH, O, S] химически подвергаются разложению с высвобождением R_8H как описано ниже.



В некоторых вариантах реализации изобретения термин «гетероциклил» означает стабильный 4-8-членный неароматический моноциклический гетероциклический радикал или устойчивый неароматический от 6 до 11-членный конденсированный бициклический, мостиковый бициклический или спироциклический гетероциклический радикал. От 5 до 11-членный гетероцикл состоит из атомов углерода и одного или более, предпочтительно от одного до четырех гетероатомов, выбранных из азота, кислорода и серы. Гетероцикл может являться насыщенным или частично насыщенным. Неограничивающие примеры от 4 до 8-членных моноциклических гетероциклических радикалов включают тетрагидрофуранил, азетидинил, пирролидинил, пиранил, тетрагидропиранил, диоксанил, тиоморфолинил, 1,1-диоксо-1 λ^6 -тиоморфолинил, морфолинил, пиперидинил, пиперазинил и азепинил. Неограничивающие примеры неароматических от 6 до 11-членных конденсированных бициклических радикалов включают октагидроиндолил, октагидробензофуранил и октагидробензотиофенил. Неограничивающие примеры неароматических от 6 до 11-членных мостиковых бициклических радикалов включают 2-азабицикло[2.2.1]гептанил, 3-азабицикло[3.1.0]гексанил и 3-азабицикло[3.2.1]октанил. Неограничивающие примеры неароматических от 6 до 11-членных спироциклических радикалов включают 7-азаспиро[3,3]гептанил, 7-спиро[3,4]октанил и 7-азаспиро[3,4]октанил. Термин «гетероциклил» включает все возможные изомерные формы.

Термин «галоген» и соответствующий термин «гало», как используется в данном

описании, следует понимать как обозначающие бром, хлор, фтор или йод, или соответствующий бромо, хлоро, фторо или иодо. Определения «галогенированный», «частично или полностью галогенированный»; частично или полностью фторированный; «замещенный одним или более атомами галогена», включает, например, моно-, ди- или три гало производные на одном или более атомах углерода. Для алкила, неограничивающие примеры представляют собой $-\text{CH}_2\text{CHF}_2$, $-\text{CF}_3$, и т. п.

Каждый алкил, циклоалкил, гетероцикл, арил или гетероарил, или их аналоги, описанные в данном документе, должны быть поняты как необязательно частично или полностью галогенированные.

Как используется в данном документе, термин «азот» или «N» и «сера» или «S», включает любую окисленную форму азота и серы и кватернизованную форму любого основного азота. Например, для $-\text{S}-\text{C}_{1-6}$ алкильного радикала, если не указано иное, следует понимать его как включающий $-\text{S}(\text{O})-\text{C}_{1-6}$ алкил и также $-\text{S}(\text{O})_2-\text{C}_{1-6}$ алкил, $-\text{S}-\text{R}_a$ может быть представлен как фенил- $\text{S}(\text{O})_m$ - когда R_a представляет собой фенил, и где m равно 0, 1 или 2.

Если специально не указано, в описании и прилагаемой формуле изобретения, данная химическая формула или название охватывает таутомеры и все стерео, оптические и геометрические изомеры (например, энантиомеры, диастереомеры, изомеры E/Z и т. д.) и их рацематы, а также смеси в различных пропорциях отдельных энантиомеров, смеси диастереоизомеров или смеси любых из указанных выше форм, где существуют такие изомеры и энантиомеры, а также соли, в том числе фармацевтически приемлемые соли и сольваты, такие как, например, гидраты, включая сольваты свободного соединения или сольваты соли соединения. В пептидах R_7 , аминокислоты могут быть все в конфигурации L, все в конфигурации D, или смешано в D и L конфигурации.

Соединения по данному изобретению также включают их изотопно меченые формы. Изотопно меченая форма соединения по данному изобретению идентична указанному активному агенту, за исключением факта, что один или более атомов указанного соединения были заменены атомом или атомами, имеющими атомную массу или массовое число, отличные от атомной массы или массового числа указанного атома, которое обычно встречается в природе. Примеры изотопов, которые являются коммерчески доступными и которые могут быть включены в соединение по данному изобретению в соответствии с хорошо установленными методиками, включают изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, фосфора, фтора и хлора, *например*, ^2H (дейтерий или «D»), ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F и ^{36}Cl , соответственно. Соединение по данному изобретению, его пролекарство, или фармацевтически приемлемая соль любого из них, которое содержит один или более из указанных выше изотопов и/или другие изотопы других атомов, предполагается в пределах объема данного изобретения.

Данное изобретение включает фармацевтически приемлемые производные соединений формулы (I). Термин «фармацевтически приемлемое производное» относится к любой фармацевтически приемлемой соли или сложному эфиру, или любому другому

соединению, которое при введении пациенту, способно давать (прямо или косвенно) соединение, используемое в данном изобретении, или его фармакологически активный метаболит или фармакологически активный остаток. Фармакологически активный метаболит следует понимать как означающий любое соединение по данному изобретению, способное метаболизироваться ферментативно или химически. Это включает, например, гидроксильированные или окисленные производные соединений формулы (I).

Как используется в данном документе, термин «фармацевтически приемлемые соли» относится к производным раскрытых соединений, в которых исходное соединение модифицируется путем получения его кислотных или основных солей. Примеры фармацевтически приемлемых солей включают, но не ограничиваются ими, соли минеральных или органических кислот основных остатков, таких как амины; щелочные или органические соли кислотных остатков, таких как карбоновые кислоты; и тому подобное. Например, такие соли включают ацетаты, аскорбаты, бензолсульфонаты, бензоаты, безилаты, гидрокарбонаты, гидротартраты, бромиды/гидробромиды, эдетаты, камсилаты, карбонаты, хлориды/гидрохлориды, цитраты, эдизилаты, этан дисульфаты, эстолаты, эзилаты, фумараты, глюцептаты, глюконаты, глутаматы, гликоляты, гликолиларснилаты, гексилрезорцинаты, гидрабамины, гидроксималеаты, гидроксинафтоаты, иодиды, изотионаты, лактаты, лактобионаты, малаты, малеаты, манделаты, метансульфонаты, метилбромиды, метилнитраты, метилсульфаты, мукаты, напсилаты, нитраты, оксалаты, памоаты, пантотенаты, фенилацетаты, фосфаты/дифосфаты, полигалактуронаты, пропионаты, салицилаты, стеараты, субацетаты, сукцинаты, сульфамиды, сульфаты, таннаты, тартраты, теоклаты, толуолсульфонаты, триэтиодиды, соли аммония, бензатины, хлорпрокаины, холины, диэтанолламины, этилендиамины, меглумины и прокаины. Дополнительно фармацевтически приемлемые соли могут быть образованы с катионами металлов, таких как алюминий, кальций, литий, магний, калий, натрий, цинк и тому подобное. (См., например, *Pharmaceutical Salts*, Birge, S.M. et al., *J. Pharm. Sci.*, (1977), 66, 1-19).

Фармацевтически приемлемые соли по данному изобретению могут быть синтезированы из исходного соединения, которое содержит основной или кислотный фрагмент, обычными химическими способами. В общем случае такие соли можно получать с помощью реакции форм этих соединений в виде свободных кислот или оснований с достаточным количеством соответствующего основания или кислоты в воде или органическом разбавителе, таком как эфир, этилацетат, этанол, изопропанол или ацетонитрил, или их смесь.

Соли других кислот, чем те, которые упомянуты выше, которые, например, могут быть использованы для очистки или выделения соединений по данному изобретению (например, трифторацетатные соли), также включены в часть данного изобретения.

Кроме того, в пределах объема данного изобретения находятся пролекарства соединений формулы (I). Пролекарства включают те соединения, которые при простой

химической трансформации модифицируются для получения соединений по данному изобретению. Простые химические превращения включают гидролиз, окисление и восстановление. В частности, когда пролекарство вводят пациенту, пролекарство может быть преобразовано в соединение, описанное выше, тем самым придавая желаемый фармакологический эффект. Оставляя за собой право ограничения или исключения каких-либо отдельных членов любой такой группы, включая любые поддиапазоны или комбинации поддиапазонов в пределах группы, которые могут быть заявлены в соответствии с диапазоном или любым аналогичным образом, менее, чем полный объем данного изобретения может быть заявлен по какой-либо причине. Кроме того, оставляя за собой право ограничения или исключения каких-либо отдельных заместителей, аналогов, соединений, лигандов, структур или их групп, или любых членов заявленной группы, менее, чем полный объем данного изобретения может быть заявлен по какой-либо причине.

Как используется в описании и прилагаемой формуле изобретения, все формы единственного числа включают множественное число, если в контексте четко не указано иное. Например, описание «терапевтического агента» или «соединения» предназначено для охвата одного или смесей или комбинаций более чем одного терапевтического агента, или соединения, соответственно.

В то время как композиции и способы описаны в терминах «содержащий» и «включающий», различные компоненты или стадии, композиции и способы могут также «состоять по существу из», или «состоять из» различных компонентов или стадий. Например, фармацевтическая композиция, описанная в данном документе, может содержать; в альтернативном варианте, может состоять по существу из; или, в альтернативном варианте, может состоять из; (i) терапевтически эффективное количество соединения или его фармацевтически приемлемой соли, и (ii) фармацевтически приемлемый разбавитель, вспомогательное вещество или носитель.

Синтез

Соединения по данному изобретению, включая их соли, могут быть получены с применением известных методов органического синтеза и могут быть синтезированы в соответствии с любым из многочисленных возможных путей синтеза, таких, как указанные на Схемах ниже.

Реакции для получения соединений по данному изобретению могут быть проведены в подходящих растворителях, которые могут быть легко выбраны специалистом в области органического синтеза. Подходящие растворители могут быть по существу нереакционноспособными по отношению к исходным веществам (реагентам), промежуточным продуктам или продуктам при температурах, при которых проводят реакции, *например*, температурах, которые могут варьироваться от температуры замораживания растворителя до температуры кипения растворителя. Данная реакция может быть осуществлена в одном растворителе или в смеси более чем одного растворителя. В зависимости от конкретной стадии реакции подходящие растворители для

конкретной стадии реакции могут быть выбраны специалистом в данной области техники.

Получение соединений по данному изобретению может включать защиту и снятие защиты с различных химических групп. Необходимость защиты и снятия защиты, а также выбор соответствующих защитных групп, могут быть легко определены специалистом в данной области техники. Химия защитных групп описана, *например*, в Kocienski, Protecting Groups, (Thieme, 2007); Robertson, Protecting Group Chemistry, (Oxford University Press, 2000); Smith et al., March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 6th Ed. (Wiley, 2007); Petursson et al., "Protecting Groups in Carbohydrate Chemistry," J. Chem. Educ., 1997, 74(11), 1297; и Wuts et al., Protective Groups in Organic Synthesis, 4th Ed., (Wiley, 2006).

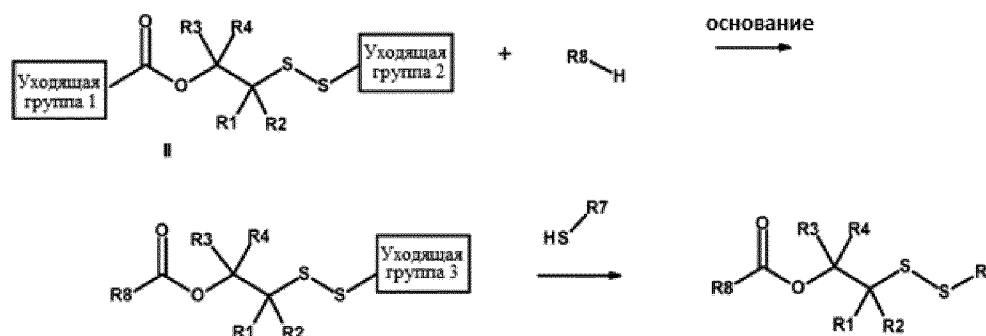
Реакции можно контролировать любым подходящим способом, известным в данной области техники. Например, образование продукта можно контролировать с помощью спектроскопических средств, таких как спектроскопия ядерного магнитного резонанса (*например*, ^1H или ^{13}C), инфракрасная спектроскопия, спектрофотометрия (*например*, УФ в видимом диапазоне), масс-спектрометрия или хроматографические методы, такие как высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) или тонкослойная хроматография (ТСХ).

Нижеследующие схемы обеспечивают общее руководство для получения соединений по данному изобретению. Специалисту в данной области техники понятно, что методы получения, изображенные на Схемат, могут быть модифицированы или оптимизированы с использованием общих знаний органической химии для получения различных соединений по данному изобретению.

Соединения Формулы (I) можно получить, *например*, с использованием способа, представленного на схемах ниже.

Как показано на Схеме 1, промежуточное соединение II, которое имеет на концах ортогональные уходящие группы, может быть подвергнуто взаимодействию с нуклеофильным R^8H соединением с получением промежуточного соединения III. Промежуточное соединение III затем подвергают взаимодействию с пептидом, содержащим тиол (HS-R^7), который участвует в реакции обмена дисульфида, с получением конечного соединения. Подходящие уходящие группы описаны ниже.

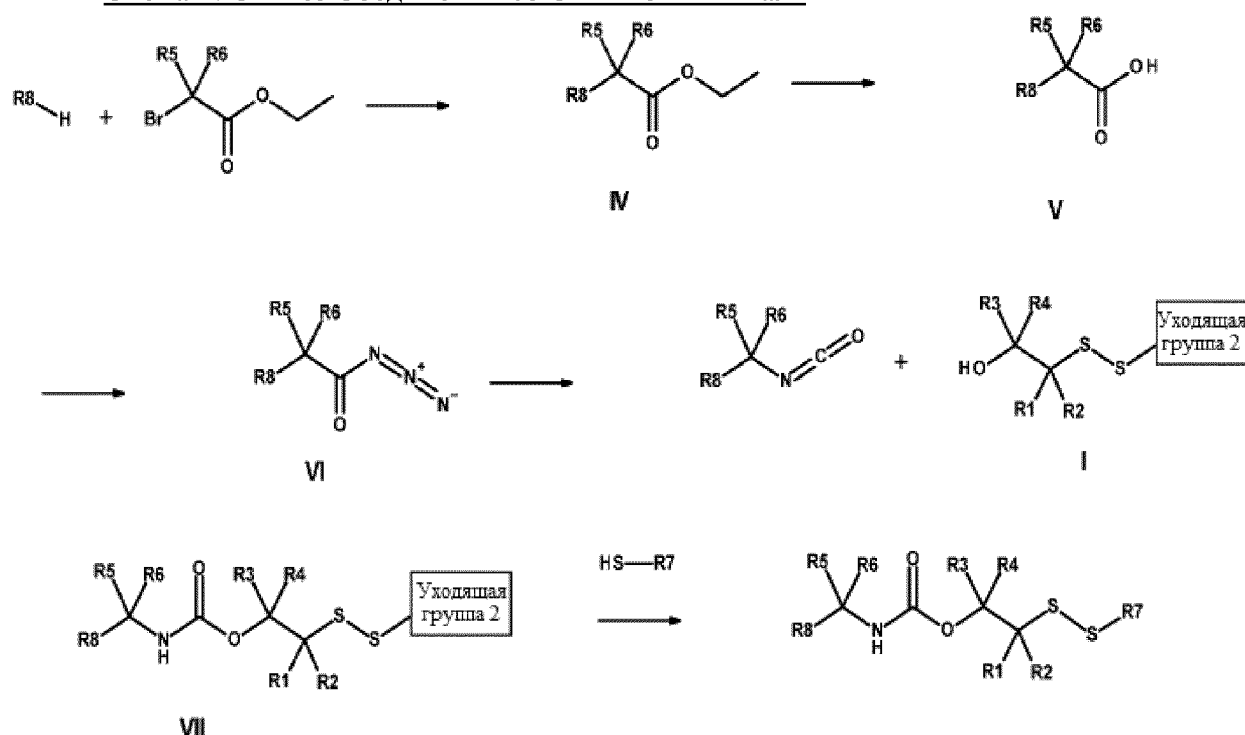
Схема 1: Синтез Соединений со Сшивкой Карбоната и Карбамата



Синтез соединений со сшивкой аминаля показан на Схеме 2. Нуклеофильное R_8H

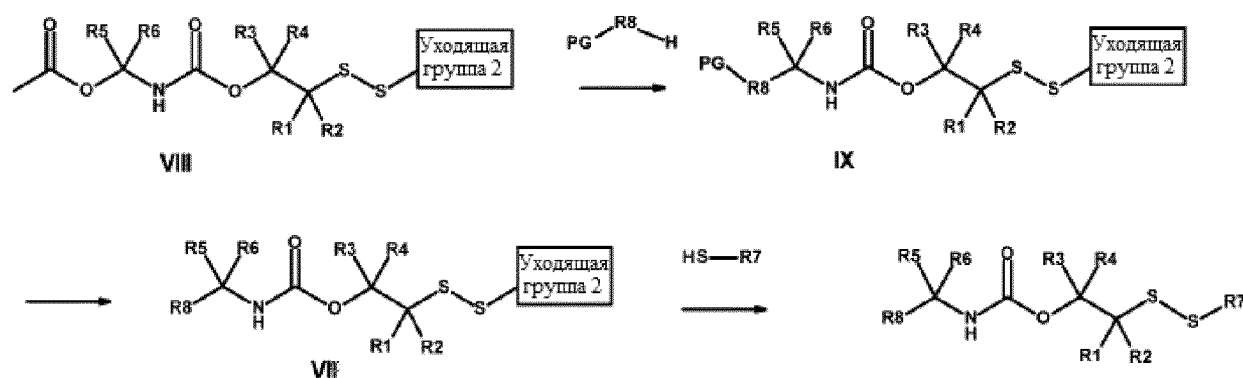
соединение подвергают взаимодействию с производным бромуксусной кислоты с получением промежуточного соединения IV. Данное промежуточное соединение, содержащее сложный эфир, подвергают гидролизу в щелочных условиях с получением промежуточной кислоты V. Полученную кислоту превращают в промежуточный ацил азид и затем подвергают условиям перегруппировки Курциуса. Соответствующий переходный изоцианат связывают с гидроксисодержащим промежуточным соединением I с получением промежуточного соединения VII. Промежуточное соединение VII затем подвергают взаимодействию с пептидом, содержащим тиол (HS-R^7), который участвует в реакции обмена дисульфида, с получением конечного соединения.

Схема 2: Синтез Соединений со Сшивкой Аминаля



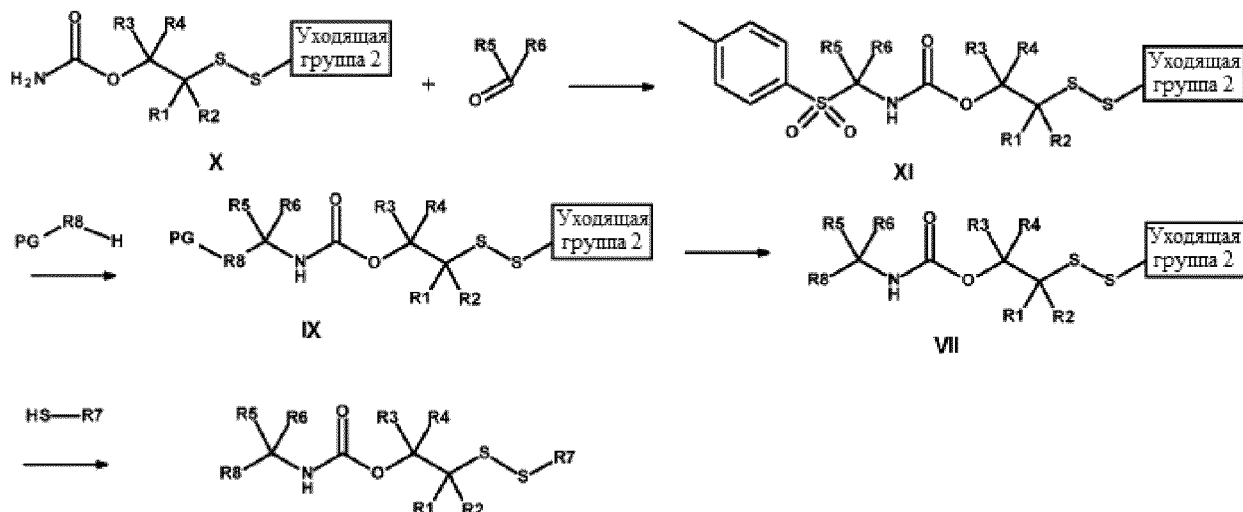
Альтернативный синтез конъюгатов со сшивкой аминаля показан на Схеме 3. Нуклеофильный $\text{R}^8\text{-H}$, который может содержать защитную группу (PG), подвергают взаимодействию с АсО-геми-аминальным карбаматом VIII с предварительно введенной связанной Уходящей Группой 2 с получением промежуточного соединения IX. Данное соединение подвергают условиям для удаления защитной группы и полученное соединение VII подвергают взаимодействию с $\text{R}^7\text{-SH}$ с получением желаемого конъюгата.

Схема 3: Синтез 2 Конъюгатов со Сшивкой Аминаля



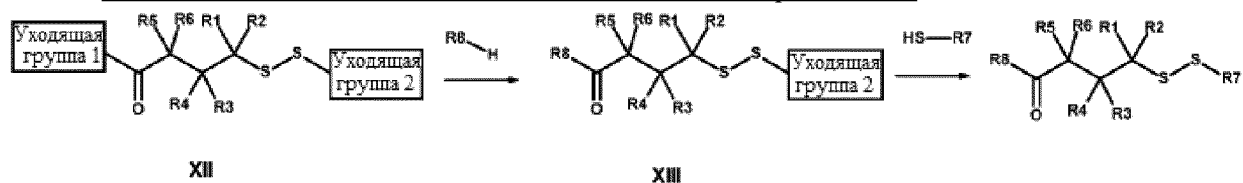
Дополнительный альтернативный синтез конъюгатов со сшивкой аминаля показан на Схеме 4. Первичный карбамат X с предварительно введенной связанной Уходящей Группой 2 подвергают взаимодействию с карбонильным соединением и натрий п-толуолсульфинатом с получением сульфонил карбамата XI. Его дополнительно обрабатывают нуклеофильным R⁸-H с защитной группой (PG) с получением IX. Данное соединение обрабатывают, как описано ранее, с получением желаемого конъюгата.

Схема 4: Синтез 3 Конъюгатов со Сшивкой Аминаля



Пример синтеза конъюгатов со сшивкой тиопропионата показан на Схеме 5. Пропионат дисульфид XII с ранее введенными Уходящими Группами 1 и 2 подвергают селективному взаимодействию с нуклеофильным R⁸-H с получением XIII. Данное соединение дополнительно подвергают взаимодействию с R⁷-SH с получением желаемого конъюгата.

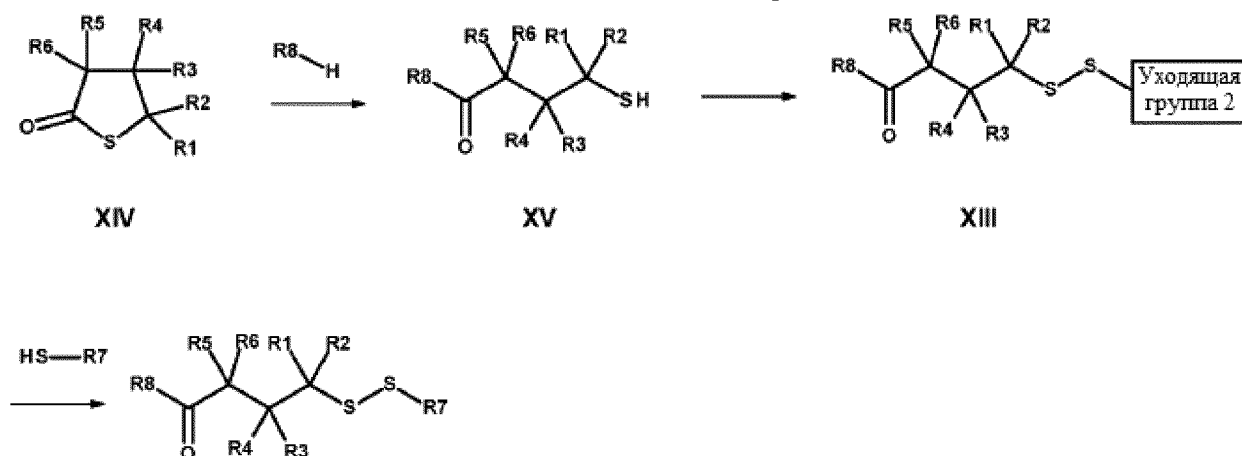
Схема 5: Синтез 1 Конъюгатов со Сшивкой Тиопропионата



Альтернативный синтез конъюгатов со сшивкой тиопропионата показан на Схеме 6. Тионозфир XIV подвергают взаимодействию с нуклеофильным R⁸-H с получением пропионат тиола XV. Данное соединение вступает в реакцию обмена дисульфида с

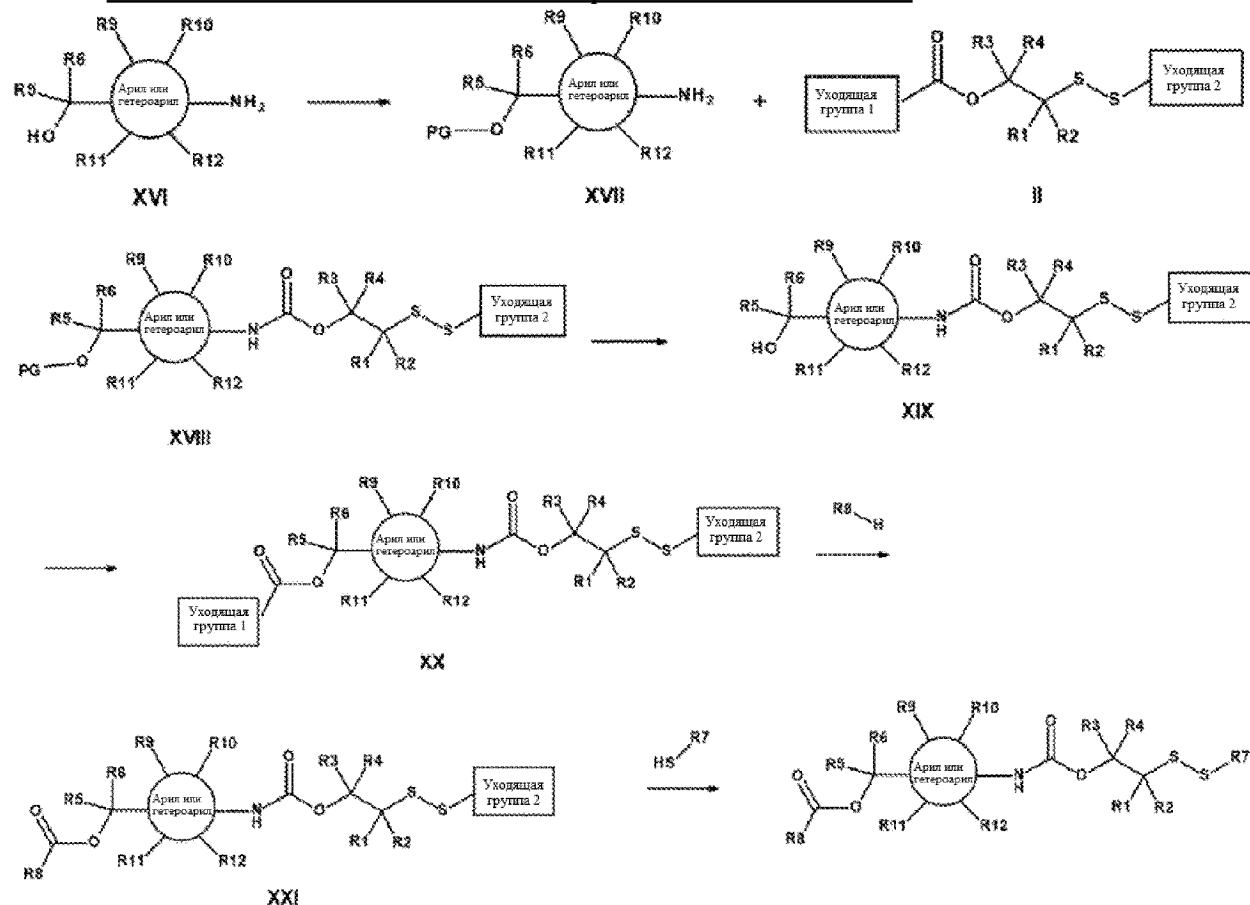
получением XIII. Данное соединение обрабатывают R^7 -SH с получением желаемого конъюгата.

Схема 6: Синтез 2 Конъюгатов со Сшивкой Тиопропионата



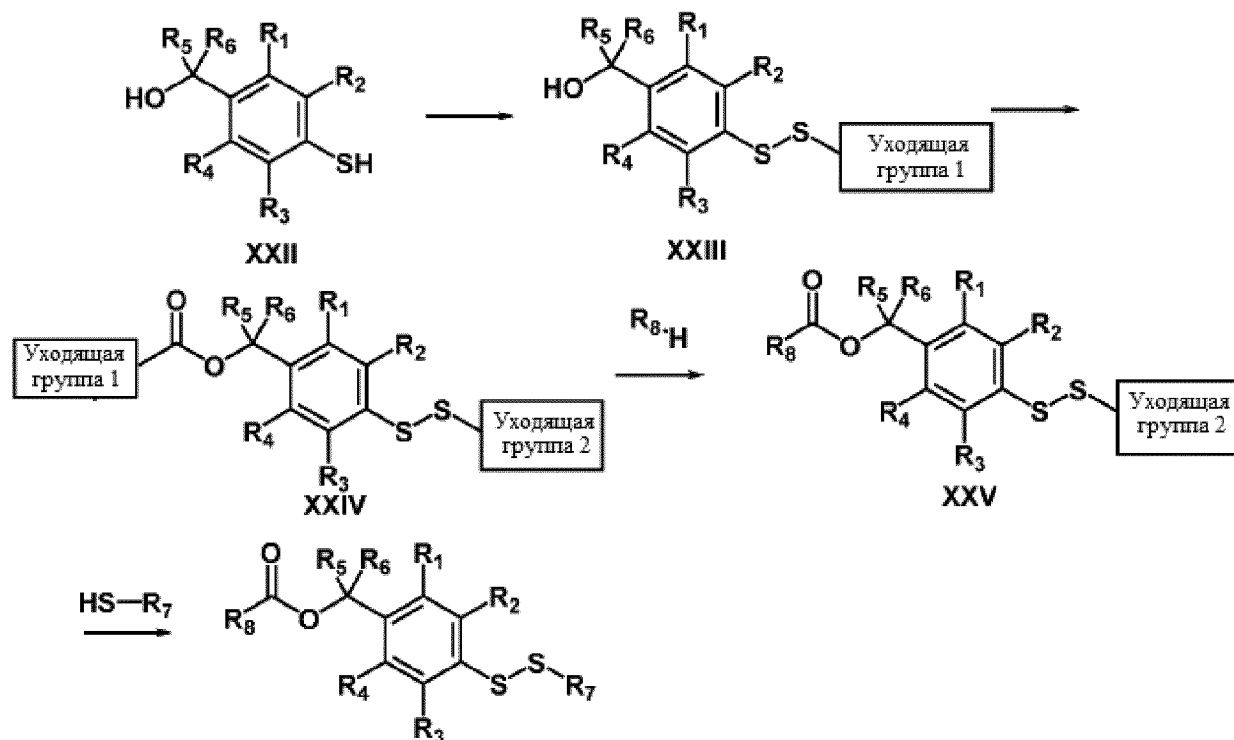
Синтез конъюгатов с пара-бензойной сшивкой показан на Схеме 7. Пара-аминобензиловый спирт XVI селективно защищают на атоме кислорода с получением XVII. Его затем подвергают взаимодействию в положении анилина с II с получением арилкарбамата XVIII. Защитную группу удаляют с получением XIX со свободным OH, который обрабатывают активирующим агентом с получением XX, который содержит ортогональные уходящие группы. Реакция XX с R^8-H с получением XXI с последующим взаимодействием с R^7 -SH обеспечивает требуемый конъюгат.

Схема 7: Синтез 1 Конъюгатов с пара-Бензойной Сшивкой



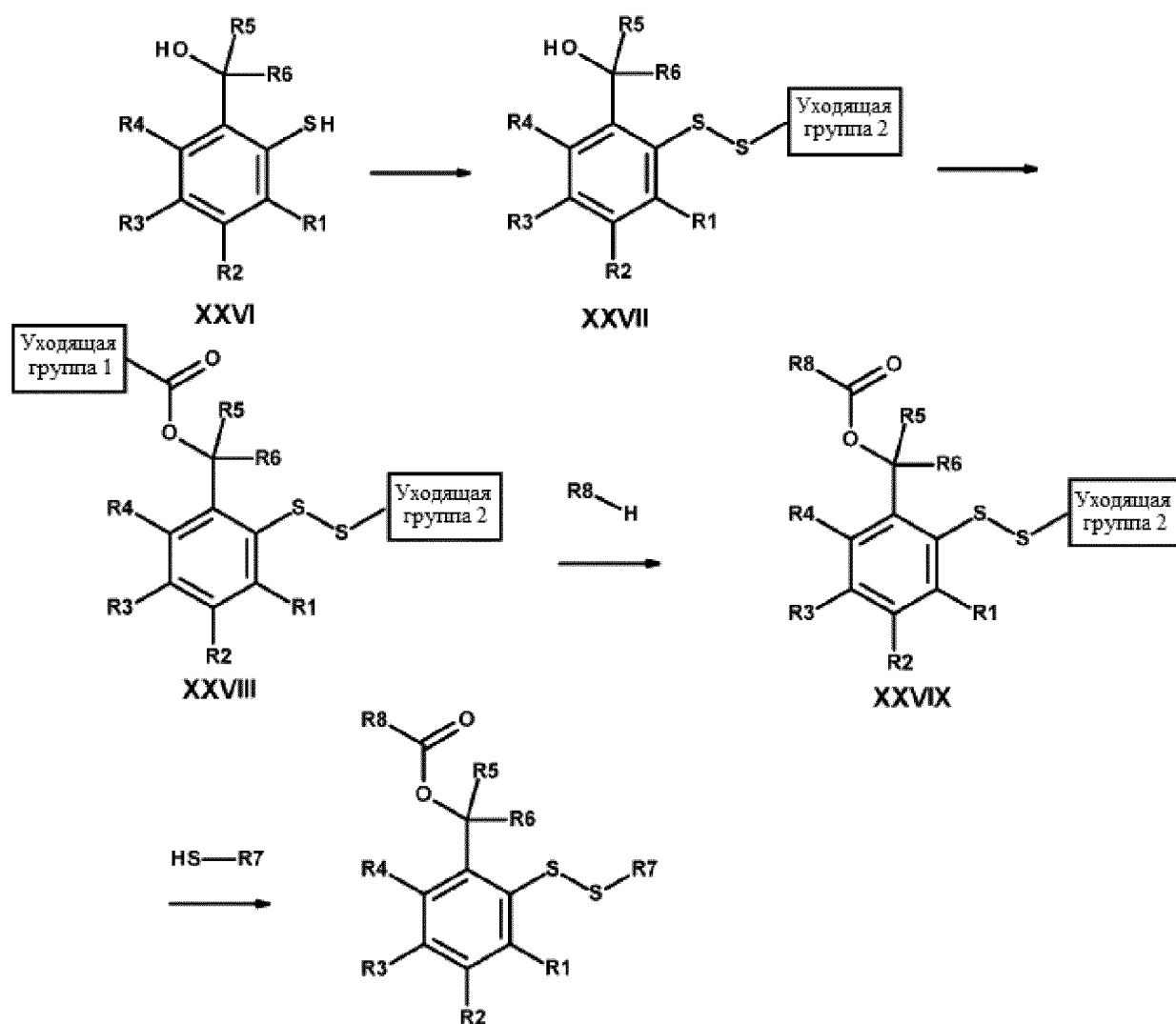
Альтернативный синтез конъюгатов с пара-бензойной сшивкой показан на Схеме 8. 4-меркаптобензиловый спирт XXII подвергают взаимодействию в реакции обмена дисульфида с получением дисульфида 4-меркаптобензилового спирта XXIII, содержащего Уходящую Группу 1. Оставшийся бензиловый спирт обрабатывают с получением активированного соединения XXIV. Его далее подвергают селективному взаимодействию с нуклеофильным R^8-H и полученное XXV с R^7-SH с получением желаемого конъюгата.

Схема 8: Синтез 2 Конъюгатов с пара-Бензойной Сшивкой



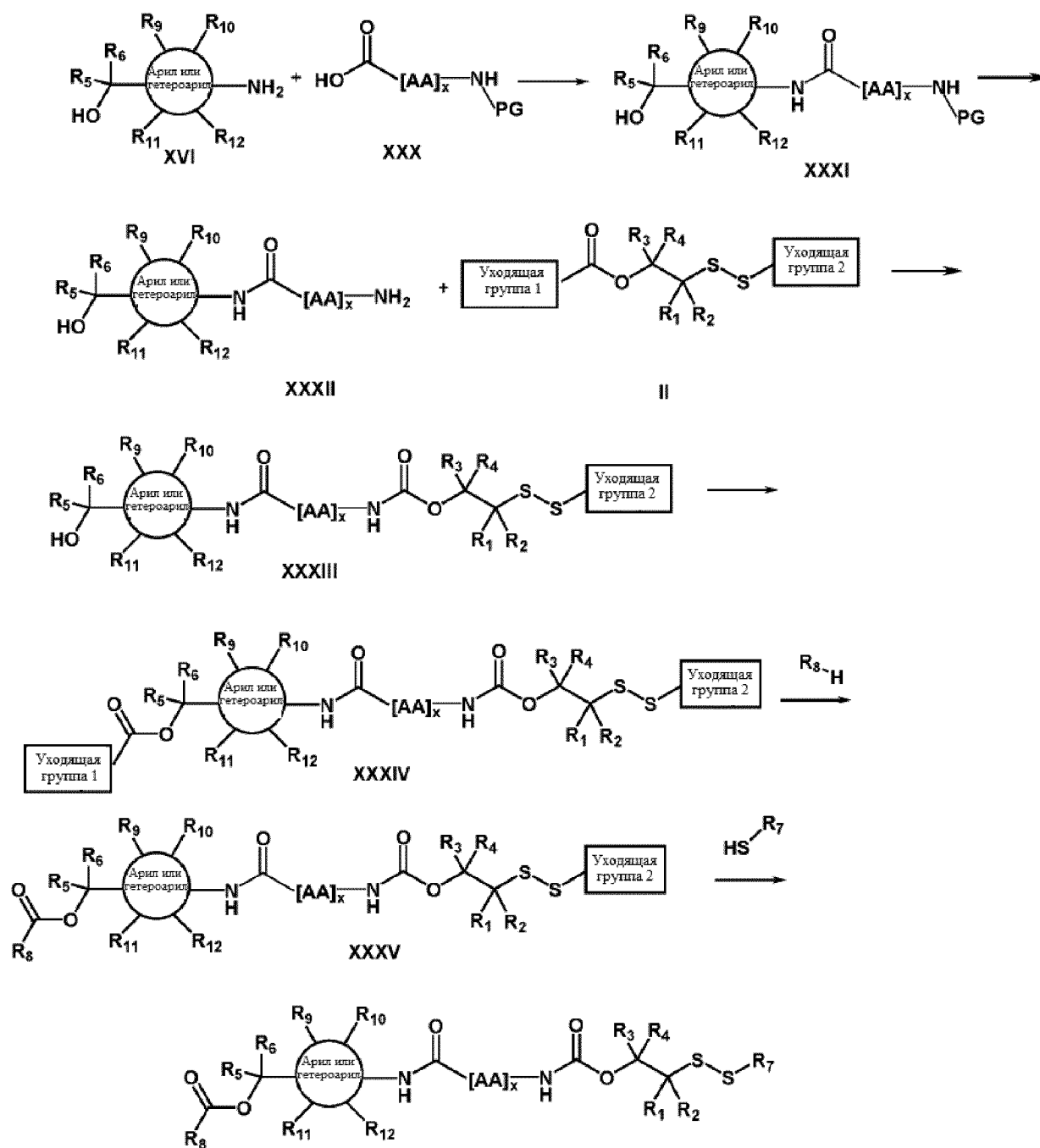
Синтез конъюгатов с орто-бензойной сшивкой показан на Схеме 9. 2-меркаптобензиловый спирт XXVIII подвергают взаимодействию, как описано выше для Схемы 8 с получением желаемого конъюгата.

Схема 9: Синтез Конъюгатов с орто-Бензойной Сшивкой



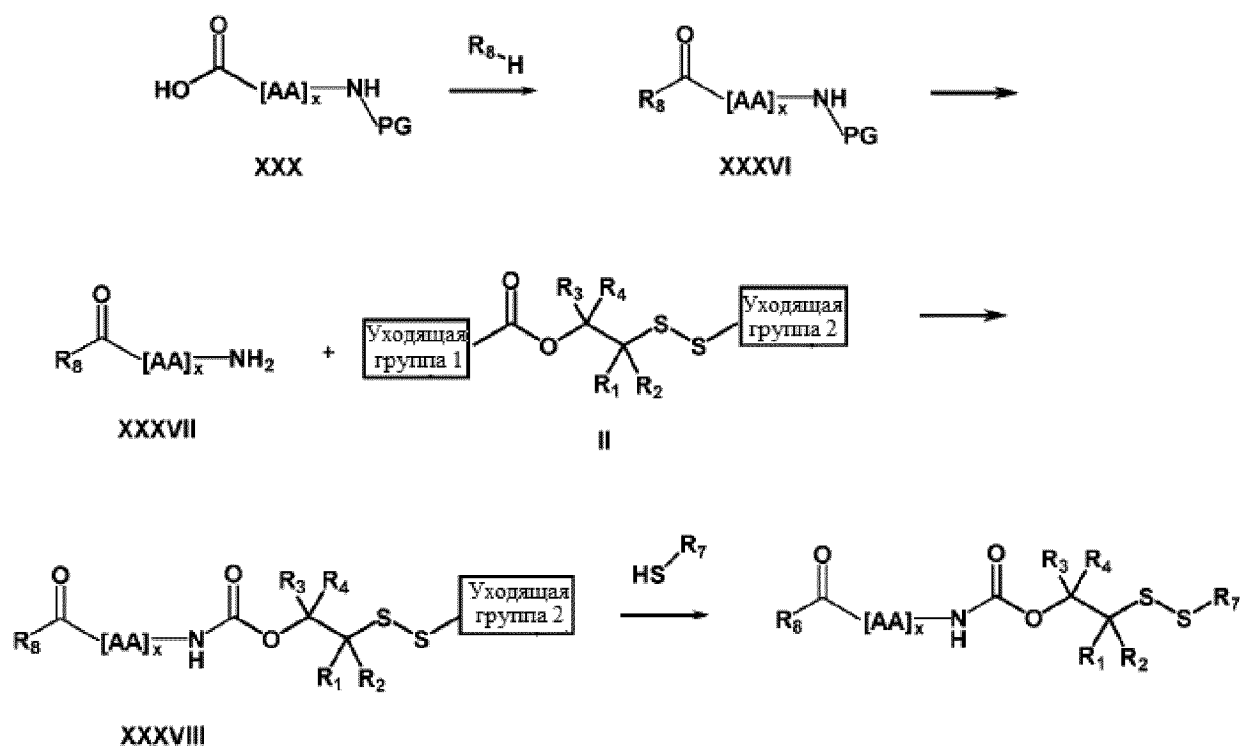
Синтез конъюгатов со сшивкой бензойного карбамата аминокислоты показан на Схеме 10. Пара аминобензиловый/гетеробензиловый спирт XVI, может подвергаться селективному сочетанию с N-защищенной аминокислотой или пептидом XXX с получением XXXI. Защитная группа может быть удалена с получением XXXII, который затем подвергают взаимодействию с II с получением карбамата XXXIII с введенной Уходящей Группой 2. Данный спирт могут подвергать селективному взаимодействию с образованием карбоната XXXIV с введенной Уходящей Группой 1. Уходящая Группа 1 может быть впоследствии замещена на R⁸-H с получением XXXV который подвергают взаимодействию с R⁷-SH с получением желаемого конъюгата аминокислоты со сшивкой бензойного карбамата.

Схема 10: Синтез Конъюгатов со Сшивкой Бензойного Карбамата Аминокислоты



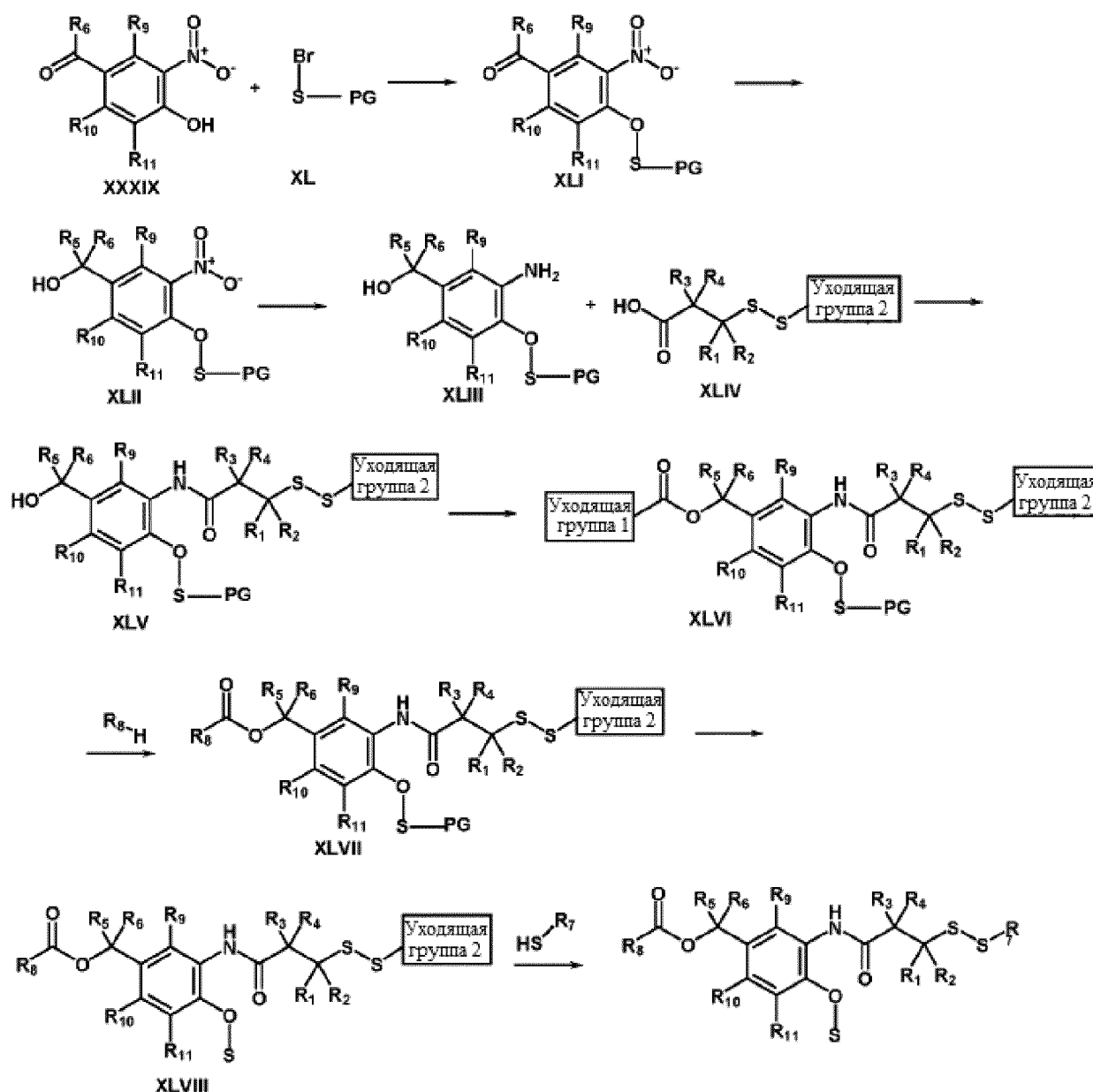
Синтез конъюгатов со сшивкой аминокислоты показан на Схеме 11. N-защищенную аминокислоту или пептид XXX можно подвергнуть сочетанию с R^8-H с получением XXXVI. Защитная группа может быть удалена с получением XXXVII, который затем подвергают взаимодействию с II с замещением Уходящей Группы 1 с получением XXXVIII. Данное промежуточное соединение можно обрабатывать R^7-SH с получением желаемого конъюгата.

Схема 11: Синтез Конъюгатов со Сшивкой Аминокислоты



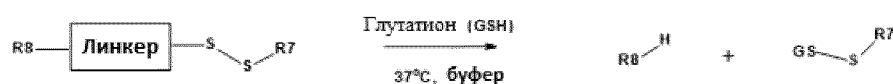
Синтез глюкуронидных конъюгатов со сшивкой бензилового спирта показан на Схеме 12. 2-Нитрофенол XXXIX можно подвергнуть сочетанию с защищенным глюкуронидом XL с получением XLI. Данное промежуточное соединение может быть селективно восстановлено по карбонильной группе с получением спирта XLII, а затем нитрогруппа может быть восстановлена с получением анилина XLIII. Данное промежуточное соединение можно дополнительно подвергнуть сочетанию с производным пропионовой кислоты XLIV с получением амида XLV, который содержит Уходящую Группу 2. XLV затем может быть подвергнуто взаимодействию по спиртовой группе, чтобы ввести Уходящую Группу 2 с получением XLVI. Уходящая Группа 1 может быть селективно замещена на R⁸-H с получением XLVII. Защитные группы на глюкурониде могут быть удалены и XLVIII может быть подвергнут взаимодействию с R⁷-SH с получением конъюгата.

Схема 12: Синтез Глюкуронидных Конъюгатов со Сшивкой Бензилового Спирта



Расщепление конечного соединения для высвобождения R⁸H может быть достигнуто путем обработки соединения избытком глутатиона (GSH) в буфере с инкубацией при 37 °C. Анализ обращенно-фазовой ВЭЖХ в заданное время использовали для отслеживания за ходом расщепления.

Схема 13: Расщепление Пептидных Конъюгатов



Пептиды R⁷ могут быть получены с использованием метода твердофазного синтеза, впервые описанного Меррифилдом в J.A.C.S., Vol. 85, pgs. 2149-2154 (1963), хотя также могут быть использованы другие способы, известные в данной области техники. Способ Меррифилда хорошо изучен и является общим методом получения пептидов. Полезные способы твердофазного синтеза пептидов описаны в нескольких книгах, например, "Principles of Peptide Synthesis" Bodanszky, Springer Verlag 1984. Данный метод синтеза

включает постадийное добавление защищенных аминокислот к растущей пептидной цепи, которая была связана ковалентными связями с частицей твердой смолы. В данной методике реагенты и побочные продукты удаляют фильтрованием, тем самым устраняя необходимость очистки промежуточных продуктов. Общая концепция данного метода зависит от прикрепления первой аминокислоты цепи к твердому полимеру ковалентной связью с последующим добавлением последующих защищенных аминокислот, по одной за раз, постадийно до сборки желаемой последовательности. И, наконец, защищенный пептид удаляют с твердой смолы носителя и защитные группы отщепляют.

Аминокислоты могут быть присоединены к любому подходящему полимеру. Данный полимер должен быть нерастворимым в используемых растворителях, должен иметь устойчивую физическую форму, позволяющую быстрое фильтрование, и должен содержать функциональную группу, с которой первая защищенная аминокислота может быть прочно связана ковалентной связью. Для этой цели пригодны различные полимеры, такие как целлюлоза, поливиниловый спирт, полиметилметакрилат и полистирол.

Способы Применения

Другим аспектом данного изобретения является применение соединений формулы (I) при лечении заболеваний, связанных с ацидозной или гипоксической пораженной тканью, таких как рак, инсульт, инфаркт миокарда или хронические нейродегенеративные заболевания. В некоторых вариантах реализации изобретения рак представляет собой PARP-чувствительный. В некоторых вариантах реализации изобретения рак связан с аномальной экспрессией или активностью ATM. В некоторых вариантах реализации изобретения рак связан с аномальной экспрессией или активностью ATM. В некоторых вариантах реализации изобретения рак связан с аномальной экспрессией или активностью ДНК-ПК. В некоторых вариантах реализации изобретения рак представляет собой рак молочной железы с мутацией гена BRCA. В некоторых вариантах реализации изобретения рак представляет собой рак яичников с мутацией зародышевой линии гена BRCA.

3. В данных методах лечения, терапевтически эффективное количество соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли может быть введено в качестве единственного агента, либо в сочетании с другими формами лечения, такими как ионизирующее излучение или цитотоксические агенты в случае рака. В комбинированной терапии соединение формулы (I) может быть введено до, в то же время или после другого лечебного воздействия, как будет понятно специалистам в данной области техники. Любой способ лечения (единственный агент или комбинация с другими формами терапии) может быть введен как курс лечения с использованием нескольких доз или лечения в течение определенного периода времени. Также в данном документе предложен способ снижения токсичности на костный мозг, связанной с применением ионизирующего излучения или цитотоксического агента, которые включают введение человеку или другому млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения по данному описанию или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с ионизирующим излучением или цитотоксическим агентом. Снижение токсичности на

костный мозг может быть относительным к токсичности на костный мозг, наблюдаемой, когда ионизирующее излучение или цитотоксический агент вводят совместно с R^8H вместо соединения по данному изобретению, имеющего одинаковый R^8 (например, где соединение R^8H соответствует протонированному фрагменту R^8 соединения R^8-Q-R^7 по данному изобретению). В некоторых вариантах реализации изобретения токсичность может быть измерена с помощью Поли-АДФ-рибозилирования в ткани костного мозга. В некоторых вариантах реализации изобретения токсичность может быть измерена по суммарным ядродержащим клеткам костного мозга. В некоторых вариантах реализации изобретения цитотоксический агент может представлять собой любой из перечисленных в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения цитотоксический агент представляет собой темозоломид (TMZ).

Примеры раковых заболеваний, которые поддаются лечению с применением соединений по данному изобретению, включают, но не ограничиваются ими, рак кости, рак поджелудочной железы, рак кожи, рак головы или шеи, кожную или внутриглазную злокачественную меланому, рак матки, рак яичников, рак прямой кишки, рак анальной области, рак желудка, рак яичка, рак матки, карциному маточных труб, карциному эндометрия, рак эндометрия, карциному шейки матки, карциному влагалища, карциному вульвы, болезнь Ходжкина, неходжкинскую лимфому, рак пищевода, рак тонкой кишки, рак эндокринной системы, рак щитовидной железы, рак паращитовидной железы, рак надпочечника, саркому мягких тканей, рак мочеиспускательного канала, рак полового члена, хронические или острые лейкемии, включая острый миелоидный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, солидные опухоли детского возраста, лимфоцитарную лимфому, рак мочевого пузыря, рак почки или мочеиспускательного канала, карциному почечной лоханки, новообразования центральной нервной системы (ЦНС), первичную лимфому ЦНС, ангиогенез опухоли, опухоль позвоночника, глиому ствола головного мозга, аденому гипофиза, саркому Капоши, эпидермоидный рак, плоскоклеточный рак, Т-клеточную лимфому, рак, вызванный окружающей средой, включая рак, вызванный асбестом, и комбинации указанных видов рака.

В некоторых вариантах реализации изобретения злокачественные опухоли, поддающиеся лечению соединениями по данному изобретению, включают меланому (например, метастатическую злокачественную меланому), рак почки (например, светлоклеточный рак почки), рак предстательной железы (например, гормонорефрактерную аденокарциному простаты), рак молочной железы, тройной негативный рак молочной железы, рак толстой кишки и рак легкого). Кроме того, данное описание включает в себя рефрактерные или рецидивирующие злокачественные новообразования, рост которых может быть ингибирован с применением соединений по данному описанию.

В некоторых вариантах реализации изобретения злокачественные опухоли, которые поддаются лечению с применением соединений по данному изобретению,

включают, но не ограничиваются ими, солидные опухоли (*например*, рак предстательной железы, рак толстой кишки, рак пищевода, рак эндометрия, рак яичников, рак матки, рак почки, рак печени, рак поджелудочной железы, рак желудка, рак молочной железы, рак легких, рак головы и шеи, рак щитовидной железы, глиобластома, саркома, рак мочевого пузыря и т. д.), гематологические злокачественные опухоли (*например*, лимфома, лейкоз, такой как острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), DLBCL, мантийноклеточная лимфома, неходжкинская лимфома (в том числе рецидивирующая или рефрактерная НХЛ и рецидивирующая множественная фолликулярная лимфома), лимфоме Ходжкина или комбинации указанных видов рака.

В определенных вариантах реализации изобретения соединение формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль могут быть использованы в комбинации с химиотерапевтическим агентом, целевой терапией рака, иммунотерапией или лучевой терапией. Данные агенты могут быть объединены с данными соединениями в одной лекарственной форме, или данные агенты могут быть введены одновременно или последовательно в виде отдельных лекарственных форм. В некоторых вариантах реализации изобретения химиотерапевтическое средство, целевая терапия рака, иммунотерапия или лучевая терапия является менее токсичной по отношению к пациенту, например, показывая снижение токсичности костного мозга при введении совместно с соединением формулы (I), или его фармацевтически приемлемой солью по сравнению с введением в комбинации с соответствующим свободным соединением ингибитором репарации ДНК (*например*, R^8 -Н) таким, как ингибитор PARP, ATR, ДНК-ПК или ATM как описано в данном документе.

Пригодные химиотерапевтические или другие противораковые агенты включают, например, алкилирующие агенты (включая, без ограничения, азотистые иприты, производные этиленимина, алкилсульфонаты, нитрозомочевины и триазены), такие как урациловый иприт, хлорметин, циклофосфамид (CytosanTM), ифосфамид, мелфалан, хлорамбуцил, пипоброман, триэтилен-меламин, триэтилентиофосфорамин, бусульфан, кармустин, ломустин, стрептозоцин, дакарбазин и темозоломид.

Другие пригодные агенты для применения в комбинации с соединениями по данному изобретению включают: дакарбазин (DTIC), необязательно, вместе с другими химиотерапевтическими препаратами, такими как кармустин (BCNU) и цисплатин; «режим Дартмута», который состоит из DTIC, BCNU, цисплатина и тамоксифена; комбинация цисплатина, винбластина и DTIC; или темозоломид. Соединения по данному изобретению также могут быть объединены с препаратами иммунотерапии, включающими цитокины, такие как интерферон-альфа, интерлейкин 2 и фактор некроза опухоли (ФНО).

Пригодные химиотерапевтические или другие противораковые агенты включают, например, антиметаболиты (включающие, без ограничения, антагонисты фолиевой кислоты, аналоги пиримидина, аналоги пурина и ингибиторы аденозин деаминазы), такие

как метотрексат, 5-фторурацил, флоксуридин, цитарабин, 6-меркаптопурин, 6-тиогуанин, флударабин фосфат, пентостатин и гемцитабин.

Пригодные химиотерапевтические или другие противораковые агенты дополнительно включают, например, некоторые природные продукты и их производные (например, алкалоиды барвинка, противоопухолевые антибиотики, ферменты, лимфокины и эпиподофиллотоксины), такие как винбластин, винкристин, виндезин, блеомицин, дактиномицин, даунорубицин, доксорубицин, эпирубицин, идарубицин, ага-С, паклитаксел (TAXOLTM), митрамицин, дезоксикоформицин, митомицин-С, L-аспарагиназа, интерферон (особенно IFN- α), этопозид и тенипозид.

Другие цитотоксические агенты, которые могут быть введены в комбинации с соединениями по данному изобретению, включают, например, навелбен, СРТ-11, анастрозол, летразол, капецитабин, релоксафин, циклофосфамид, ифосамид и дролоксафин.

Также пригодными являются цитотоксические агенты, такие как, например, эпидофиллотоксин; противоопухолевый фермент; ингибитор топоизомеразы; прокарбазин; митоксантрон; координационные комплексы платины, такие как цисплатин и карбоплатин; модификаторы биологической реакции; ингибиторы роста; антигормональные терапевтические агенты; лейковорин; тегафур; и гемопозитические факторы роста.

Другие противораковые средства включают средства для лечения антителами, такие как трастузумаб (Герцептин), антитела против костимулирующих молекул, такие как CTLA-4, 4-1BB и PD-1 или антитела против цитокинов (IL-10, TGF- α и др.).

Другие противораковые агенты также включают те, которые блокируют миграцию иммунных клеток, такие как антагонисты рецепторов хемокинов, включающие CCR2 и CCR4.

Другие противораковые агенты также включают те, которые усиливают иммунную систему, такие как адъюванты или адаптивный перенос Т-лимфоцитов.

Вакцины против рака, которые могут быть введены в комбинации с соединениями по данному изобретению, включают, например, дендритные клетки, синтетические пептиды, ДНК-вакцины и рекомбинантные вирусы.

Другие пригодные агенты для использования в комбинации с соединениями по данному изобретению включают химиотерапевтические комбинации, такие как дубликаты на основе платины применяемые при раке легких и других солидных опухолях (цисплатин или карбоплатин плюс гемцитабин; цисплатин или карбоплатин плюс доцетаксел; цисплатин или карбоплатин плюс паклитаксел; цисплатин или карбоплатин плюс пеметрексед) или связанные частицы гемцитабин плюс паклитаксел (Abraxane®).

Соединения по данному изобретению могут быть эффективными в комбинации с антигормональными агентами для лечения рака молочной железы и других опухолей. Пригодными примерами являются антиэстрогеновые агенты, включающие, но не ограничиваясь ими, тамоксифен и торемифен, ингибиторы ароматазы, включая, но не

ограничиваясь ими, летрозол, анастрозол и экземестан, аденокортикостероиды (например, преднизон), прогестины (например, мегэстрола ацетат), а также антагонисты рецептора эстрогена (например, фулвестрант). Пригодные антигормональные агенты, применяемые для лечения рака простаты и других видов рака, также могут быть объединены с соединениями по данному изобретению. Они включают антиандрогены, включая, но не ограничиваясь этим, флутамид, бикалутамид и нилутамид, аналоги гормона, высвобождающего лютеинизирующий гормон (LHRH), включающие лейпролид, гозерелин, трипторелин и гистрелин, антагонисты LHRH (например, дегареликс), блокаторы рецепторов андрогена (например, энзалутамид) и агенты, которые ингибируют продуцирование андрогена (например, абиратерон).

Соединения по данному изобретению могут быть объединены или введены последовательно с другими агентами против киназ мембранных рецепторов, особенно для пациентов, у которых развилась первичная или приобретенная устойчивость к таргетированной терапии. Данные терапевтические агенты включают ингибиторы или антитела против EGFR, Her2, VEGFR, c-Met, Ret, IGFR1 или Flt-3 и против киназ слитых белков, связанных с раком, таких как Bcr-Abl и EML4-Alk. Ингибиторы против EGFR включают гефитиниб и эрлотиниб, а также ингибиторы против EGFR/Her2 включают, но не ограничиваются ими, дакомитиниб, афатиниб, лапитиниб и нератиниб. Антитела против EGFR включают, но не ограничиваются ими, цетуксимаб, панитумумаб и нецитумумаб. Ингибиторы c-Met могут быть использованы в комбинации с соединениями по данному изобретению. Они включают онартумзумаб, тивантиниб и INC-280. Агенты против Abl (или Bcr-Abl) включают иматиниб, дазатиниб, нилотиниб и понатиниб, и агенты против Alk (или EML4-ALK) включают кризотиниб.

Ингибиторы ангиогенеза могут быть эффективными на некоторых опухолях в сочетании с соединениями по данному изобретению. Они включают антитела против VEGF или VEGFR или ингибиторы киназ VEGFR. Антитела или другие терапевтические белки против VEGF включают бевацизумаб и афлиберцепт. Ингибиторы VEGFR киназ и другие ингибиторы против ангиогенеза включают, но не ограничиваются ими, сунитиниб, сорафениб, акситиниб, цедираниб, пазопаниб, регорафениб, бриваниб и вандетаниб.

Активация внутриклеточных сигнальных путей часто происходит при раке, и агенты, нацеленные на компоненты данных путей были объединены с агентами, нацеленными на рецептор, для повышения эффективности и снижения сопротивления. Примеры агентов, которые могут быть объединены с соединениями по данному изобретению, включают ингибиторы пути PI3K-Akt-mTOR, ингибиторы пути Raf-MAPK, ингибиторы пути JAK-STAT и ингибиторы белков шаперонов и прогрессии клеточного цикла.

Агенты против PI3-киназы включают, но не ограничиваются ими, пилааралисиб, иделалисиб, бупарлисиб. Ингибиторы mTOR, такие как рапамицин, сиролимус, темсиролимус и эверолимус могут быть объединены с соединениями по данному изобретению. Другие подходящие примеры включают, но не ограничиваются ими,

вемурафениб и дабрафениб (ингибиторы Raf) и траметиниб, селуметиниб и GDC-0973 (ингибиторы MEK). Ингибиторы одной или нескольких JAK (например, руксолитиниб, барицитиниб, тофацитиниб), Hsp90 (например, танеспимицин), циклин-зависимых киназ (например, палбоциклиб), HDAC (например, панобиностат), PARP (например, олапариб) и протеасом (например, бортезомиб, карфилзомиб) также могут быть объединены с соединениями по данному изобретению.

Способы безопасного и эффективного введения большинства из данных химиотерапевтических агентов известны специалистам в данной области техники. Кроме того, их введение описано в стандартной литературе. Так, например, введение многих химиотерапевтических агентов описано в «Physicians' Desk Reference» (PDR, e.g., 1996 edition, Medical Economics Company, Montvale, NJ), описание которой включено в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

Фраза «терапевтически эффективное количество» соединения (терапевтического агента, активного ингредиента, лекарственного средства, и т. д.) относится к количеству соединения, которое должно быть введено субъекту, нуждающемуся в терапии или лечении, которое облегчает симптом, улучшает состояние, или замедляет возникновение болезненных состояний, в соответствии с клинически приемлемыми стандартами для расстройства или состояния, подлежащего лечению. Например, терапевтически эффективное количество может представлять собой количество, для которого был продемонстрирован желаемый терапевтический эффект в анализе *in vitro*, анализе *in vivo* у животного или в клиническом испытании. Терапевтически эффективное количество может варьироваться в зависимости от конкретной лекарственной формы, способа введения, протокола лечения, определенного заболевания или состояния, подлежащего лечению, соотношения польза/риск и т. д., среди многих других факторов.

Указанное терапевтически эффективное количество может быть получено из клинических испытаний, модели на животном или анализа клеточной культуры *in vitro*. Как известно в данной области техники, эффективное количество пригодное для применения на человеке может быть рассчитано из эффективного количества, определенного из модели на животном или анализа клеточной культуры *in vitro*. Например, как сообщается в Reagan-Shaw et al., FASEB J. 2008: 22(3) 659-61, «мкг/мл» (эффективное количество на основе анализов клеточной культуры *in vitro*) = “мг/кг массы тела/день” (эффективное количество для мыши). Кроме того, эффективное количество для человека может быть рассчитано из эффективного количества для мыши, основываясь на том факте, что скорость метаболизма мышей в 6 раз быстрее, чем у людей.

В качестве примера лечения с применением соединения формулы (I) в качестве монотерапии, терапевтически эффективная доза соединения формулы (I), в котором R⁸H является ингибитором PARP, может быть введена пациенту, страдающему от PARP зависимого рака, такому как женщина, страдающая от рака молочной железы с мутацией гена BRCA, рака яичников с мутацией зародышевой линии гена BRCA, или рака фаллопиевых труб, или пациенту, страдающему от первичного перитонеального рака,

плоскоклеточного рака легкого или немелкоклеточного рака легкого, или пациенту, страдающему от инсульта, инфаркта миокарда или долгосрочного нейродегенеративного заболевания. В качестве другого примера, терапевтически эффективная доза соединения формулы (I), где R^8N представляет собой ингибитор репарации ДНК нацеленный на протеинкиназу, мутантную при атаксии-телангиэктазии (ATM), ATM-Rad3-связанную протеинкиназу (ATR) или ядерную серин/треонин протеинкиназу ДНК-ПК, может быть введена пациенту, страдающему от рака, в котором ингибирование одного или нескольких из указанных выше белков было бы терапевтически полезным.

В качестве примера лечения с применением соединения формулы (I) в комбинации с цитотоксическим агентом, терапевтически эффективное количество соединения формулы (I) можно вводить пациенту, страдающему от рака как часть режима лечения также с участием терапевтически эффективного количества ионизирующей радиации или цитотоксического агента. В контексте данного режима лечения термин «терапевтически эффективное» количество должно являться эффективным в комбинированной терапии. Специалистам в области лечения рака будет понятно, как регулировать дозы для достижения оптимального терапевтического эффекта.

Аналогичным образом, соответствующие дозировки соединений по данному изобретению для лечения злокачественных заболеваний или состояний (например, сердечно-сосудистых заболеваний) легко могут быть определены специалистами в области медицины.

Термин «лечение», как используется в данном документе, включает введение соединения или композиции, которая уменьшает частоту, задерживает начало, или уменьшает прогрессирование симптомов заболевания, связанных с ацидозной или гипоксической пораженной тканью, такого как рак, инсульт, инфаркт миокарда или долгосрочное нейродегенеративное заболевание у субъекта, по отношению к субъекту, не получающего данное соединение или композицию. Это может включать регрессию, уменьшение или остановку симптомов, клинических признаков или лежащей в основе патологии состояния таким образом, чтобы улучшить или стабилизировать состояние субъекта (например, регрессию роста опухолей, рака, или уменьшение или ослабление ишемически-реперфузионного повреждения миокарда при инфаркте миокарда, инсульте или подобных сердечно-сосудистых заболеваниях). Термины «ингибирование» или «уменьшение» используются для рака в отношении к способам ингибирования или уменьшения роста опухоли (например, уменьшение размера опухоли) в популяции по сравнению с необработанной контрольной группой.

Все публикации (включая патенты), упомянутые в данном документе, включены в данный документ посредством ссылки с целью описания и раскрытия, например, концепсий и методологий, описанных в таких публикациях, которые могут использоваться в связи с данным описанием. Рассматриваемые в тексте публикации представлены исключительно для их описания до даты подачи данной заявки.

В данном документе описаны несколько типов диапазонов. Когда диапазон любого

типа описан или заявлен, намерение состоит в том, чтобы описать или заявить по отдельности каждое возможное число, которое такой диапазон может охватывать в разумных пределах, в том числе конечные токи диапазона, а также любые поддиапазоны и комбинации поддиапазонов охваченные в нем. Когда диапазон терапевтически эффективных количеств активного ингредиента описан или заявлен, например, намерение состоит в том, чтобы описать или заявить по отдельности каждое возможное число, которое такой диапазон может охватывать в соответствии с описанием в данном документе. Например, при описании, что терапевтически эффективное количество соединения может находиться в диапазоне от около 1 мг/кг до около 50 мг/кг (массы тела субъекта), намерение состоит в том, чтобы перечислить, что терапевтически эффективное количество может быть равно около 1 мг/кг, около 2 мг/кг, около 3 мг/кг, около 4 мг/кг, около 5 мг/кг, около 6 мг/кг, около 7 мг/кг, около 8 мг/кг, около 9 мг/кг, около 10 мг/кг, около 11 мг/кг, около 12 мг/кг, около 13 мг/кг, около 14 мг/кг, около 15 мг/кг, около 16 мг/кг, около 17 мг/кг, около 18 мг/кг, около 19 мг/кг, около 20 мг/кг, около 21 мг/кг, около 22 мг/кг, около 23 мг/кг, около 24 мг/кг, около 25 мг/кг, около 26 мг/кг, около 27 мг/кг, около 28 мг/кг, около 29 мг/кг, около 30 мг/кг, около 31 мг/кг, около 32 мг/кг, около 33 мг/кг, около 34 мг/кг, около 35 мг/кг, около 36 мг/кг, около 37 мг/кг, около 38 мг/кг, около 39 мг/кг, около 40 мг/кг, около 41 мг/кг, около 42 мг/кг, около 43 мг/кг, около 44 мг/кг, около 45 мг/кг, около 46 мг/кг, около 47 мг/кг, около 48 мг/кг, около 49 мг/кг или около 50 мг/кг. Кроме того, терапевтически эффективное количество может находиться в пределах любого поддиапазона, включающего в диапазоне от около 1 мг/кг до около 50 мг/кг (например, данное количество может находиться в диапазоне от около 2 мг/кг до около 10 мг/кг), и это также включает любую комбинацию диапазонов в диапазоне от около 1 мг/кг до 50 мг/кг (например, данное количество может находиться в диапазоне от около 1 мг/кг до около 5 мг/кг или от около 20 мг/кг до около 35 мг/кг). Равным образом, все другие диапазоны, описанные в данном документе, должны интерпретироваться аналогично данному примеру.

Состав, Лекарственные Формы и Введение

Для получения фармацевтических композиций по данному изобретению, соединение формулы (I) или его фармацевтический приемлемую соль объединяют в качестве активного ингредиента в однородную смесь с фармацевтическим носителем в соответствии с обычными способами фармацевтического компаундирования, где носитель может принимать широкое разнообразие форм в зависимости от формы препарата, требуемой для введения, например, перорального или парентерального. При получении композиций пероральной лекарственной формы могут быть применены любые из обычных фармацевтических сред, такие как, например, вода, гликоли, масла, спирты, ароматизаторы, консерванты, красители и тому подобное в случае пероральных жидких препаратов, таких как, например, суспензии, эликсиры и растворы; или носители, такие как крахмалы, сахара, разбавители, гранулирующие агенты, смазывающие вещества, связующие вещества, дезинтегрирующие агенты и тому подобное в случае пероральных

твердых препаратов, таких как, например, порошки, капсулы и таблетки. Из-за легкости их введения таблетки и капсулы представляют собой наиболее предпочтительную пероральную единичную дозированную форму, в случае которых, очевидно, используют твердые фармацевтические носители. При желании, таблетки могут быть покрыты сахаром или покрыты энтérosолубильной оболочкой с помощью стандартных методик. Для парентеральных форм носитель как правило включает стерильную воду, тем не менее, могут быть включены другие ингредиенты, например, для облегчения растворимости или как консервант. Могут быть также приготовлены суспензии для инъекций, в этом случае могут быть использованы соответствующие жидкие носители, суспендирующие агенты и тому подобное. Специалист в данной области фармацевтики и медицины будет способен легко определить подходящую дозировку фармацевтических композиций по данному изобретению для конкретного заболевания или состояния, подлежащего лечению.

ПРИМЕРЫ

Как используется в данном документе, все аббревиатуры, символы и условные обозначения соответствуют

тем, которые используются в современной научной литературе. См., например, Janet S. Dodd, ed., *The ACS Style Guide: A Manual for Authors and Editors*, 2nd Ed., Washington, D.C.: American Chemical Society, 1997. Следующие определения описывают термины и сокращения, используемые в данном документе:

Солевой раствор: насыщенный раствор NaCl в воде

ДХМ: дихлорметан

ТФУ: трифторуксусная кислота

ДИПЭА: диизопропилэтиламин

ДМАА: диметилацетамид

ДМЭ: диметоксиэтан

ДМФА: диметилформамид

ДМСО: Диметилсульфоксид

DTT: дитиотреитол

MSD: Детектор масс-спектрометрии

Et₂O: диэтиловый эфир

EtOAc: этилацетат

EtOH: этиловый спирт

НАТУ: O-(7-азабензотриазол-1-ил)-N, N,N',N'-тетраметилуроний гексафторфосфат

НОВt: 1-гидроксибензотриазол

ОФ: обращенно-фазовый

ВЭЖХ: высокоэффективная жидкостная хроматография

ИПС: изопропанол

ЛАГ: литий алюмогидрид

N-BuLi: н-бутиллитий

ЖХ-МС: жидкостная хроматография-масс-спектрометрия

LDA: литий диизопропилэтиламин
 Me: метил
 MeOH: метанол
 MTBE: метил-трет-бутиловый эфир
 NMP: N-метилпирролидин
 Ph: фенил
 PNPC: пара-нитрофенилхлорформиат
 КТ или кт: комнатная температура
 SFC: сверхкритическая жидкостная хроматография
 TBAI: тетрабутиламмоний иодид
 TBME: трет-бутилметиловый эфир
 tBu: третичный бутил
 ТГФ: тетрагидрофуран
 ТЭА : триэтиламин
 ТМЭДА: тетраметилэтилендиамин
 GSH: Глутатион
 GS: Глутатион связанный на сере
 LiOH: гидроксид лития
 DPPA: дифенилфосфорилазид
 Sn(Bu)₂(Laurate)₂: дибутилового дилаурат
 ФСБ: Фосфатно-солевой буфер
 ACN: ацетонитрил
 AcOH: уксусная кислота
 EEDQ: N-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохиолин
 DMAP: 4-диметиламинопиридин
 EDC: 1-этил-3-(3-диметиламинпропил)карбодиимид

Методы ВЭЖХ

Все методы ВЭЖХ используют обращенно-фазовые условия: H₂O/Ацетонитрил с модификатором ТФУ (0,05%); Скорость потока: 1 мл/мин; Длина волны=217 нм. Параметры колонок описаны ниже:

A: Sunfire C18 150×4,6 мм

B: Ace Equivalence 250×4,6 мм

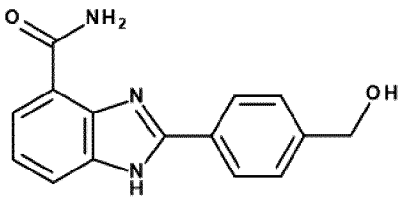
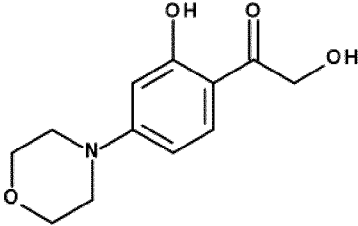
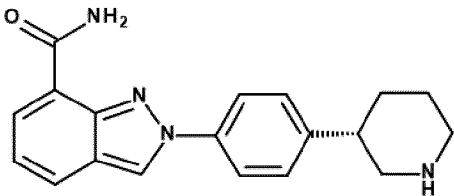
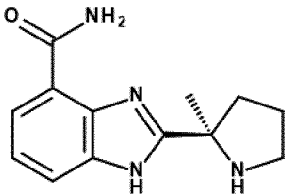
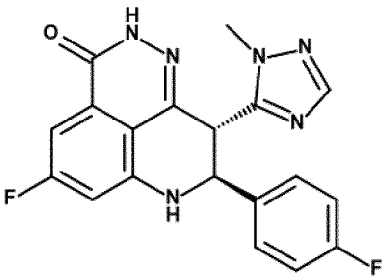
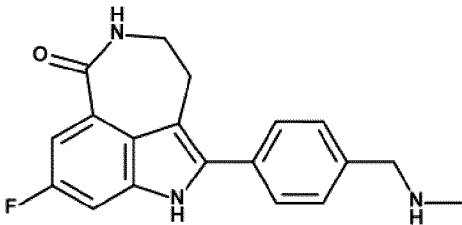
C: Sunfire C18 150×30 мм

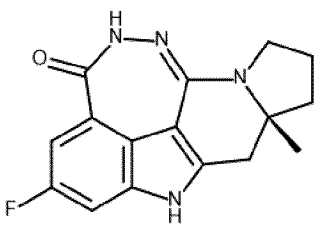
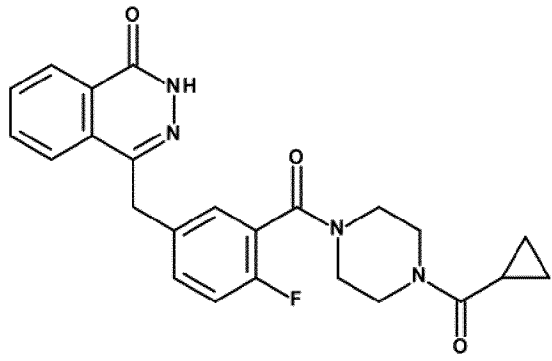
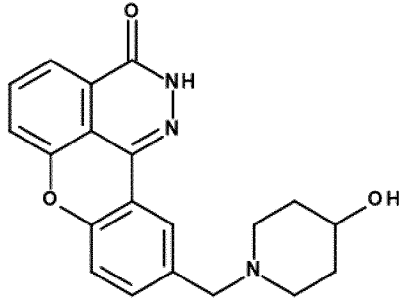
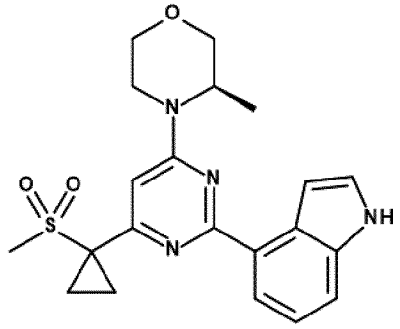
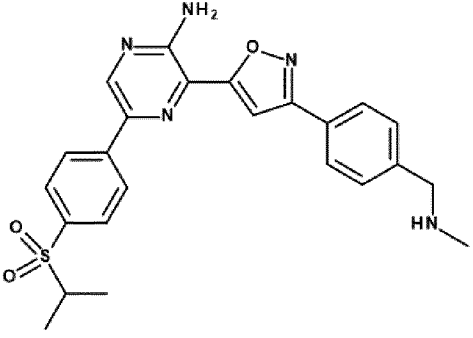
R⁸H Промежуточные соединения

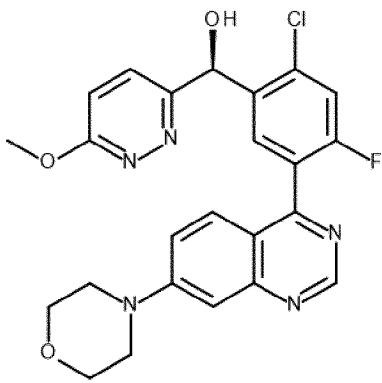
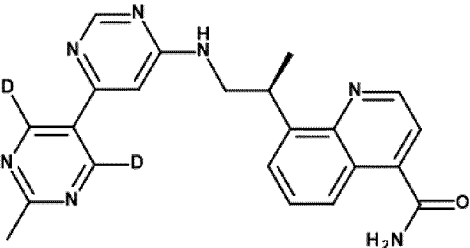
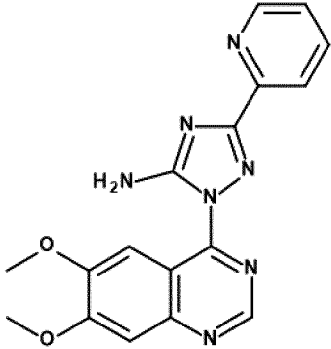
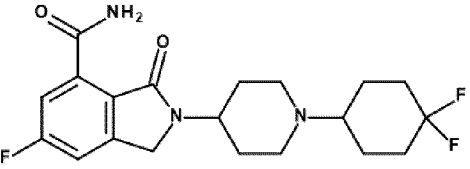
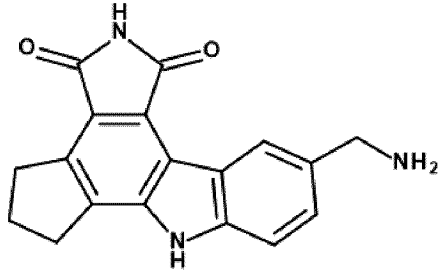
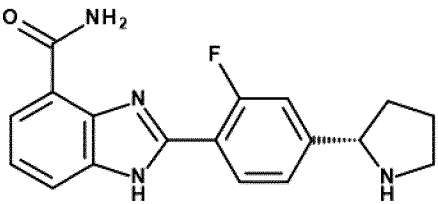
R⁸H группы, используемые в примерах, были приобретены или синтезированы, как указано в Таблице 2.

Таблица 2: R⁸H Промежуточные соединения

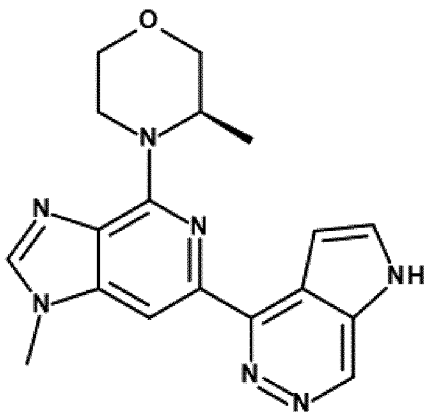
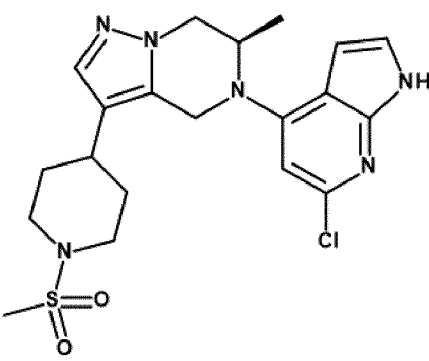
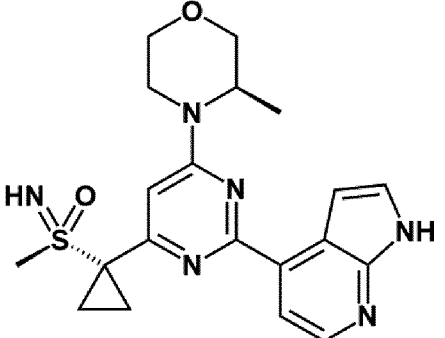
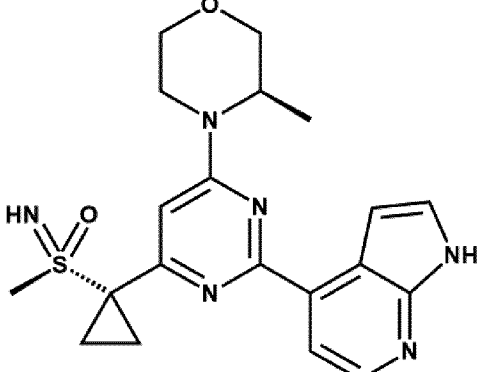
R ⁸ Код	R ⁸ H Структура	Ссылка на синтез или	Класс
--------------------	----------------------------	----------------------	-------

		Поставщик	
R⁸H-1		Синтезированный - Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 14 (2004) 2433-2437; J. Med. Chem. 2000, 43, 4084-4097	PARP
R⁸H-2		Синтезированный - WO0220500A2	ДНК-ПК
R⁸H-3		Astatech 42568	PARP
R⁸H-4		MedKoo 203115	PARP
R⁸H-15		Chemscene CS-0937	PARP
R⁸H-16		Astatech 81136	PARP

R⁸H-17		MentonChem MC7030606	PARP
R⁸H-18		Selleckchem S1060	PARP
R⁸H-19		MedKoo 205150	PARP
R⁸H-20		Advanced Chemblocks 10278	ATR
R⁸H-21		Astatech 42043	ATR

R⁸H-22		Medchem Express HY-10619B	ДНК-ПК
R⁸H-23		Синтезированный - WO2013163190A1	ДНК-ПК
R⁸H-24		Astatech 40964	АТМ
R⁸H-25		MedKoo 407142	PARP
R⁸H-26		MedKoo 406357	PARP
R⁸H-27		MedKoo 406362	PARP

R⁸H-28		Синтезированный WO2012166983A1	PARP
R⁸H-29		Синтезированный J. Med. Chem. 2016, 59, 6281–6292	ATM
R⁸H-30		Синтезированный J. Med. Chem. 2016, 59, 6281–6292	ATM
R⁸H-31		ACS Med. Chem. Lett. 2018, 9, 809–814	ATM
R⁸H-32		J. Med. Chem. 2018, 61, 3823–3841.	ATM

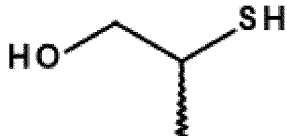
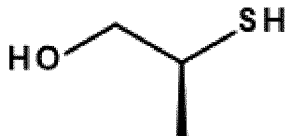
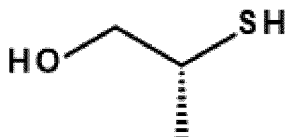
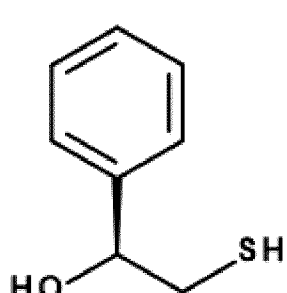
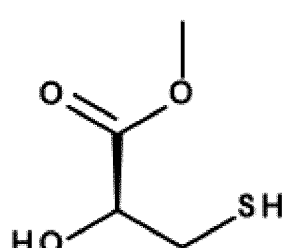
R⁸H-33		Синтезированный ACS Med. Chem. Lett. 2015, 6, 42–46	ATR
R⁸H-34		Синтезированный ACS Med. Chem. Lett. 2015, 6, 37–41	ATR
R⁸H-35		Oncotarget, 6, 42, 44289-44305	ATR
R⁸H-36		Oncotarget, 6, 42, 44289-44305	ATR

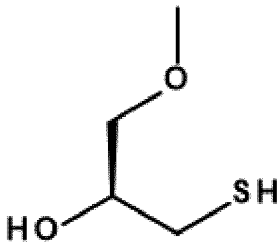
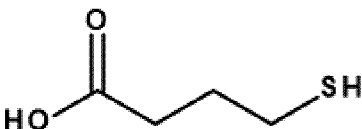
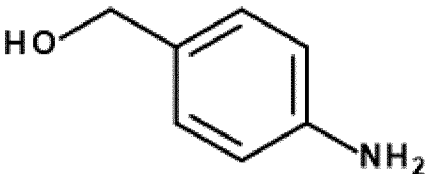
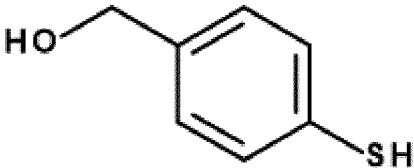
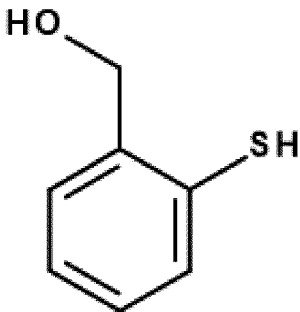
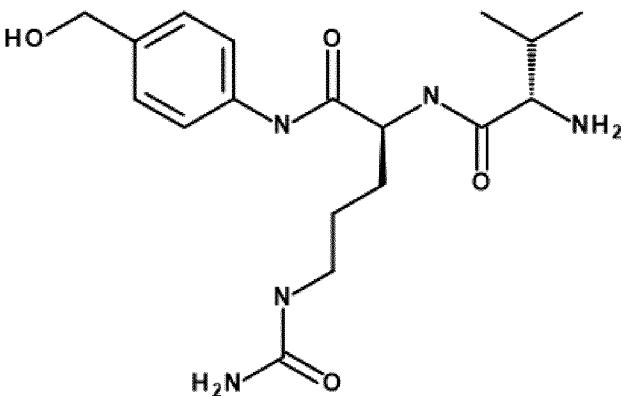
Линкеры

Линкеры, используемые в данном документе, были либо приобретены или синтезированы, как показано ниже в Таблице 3:

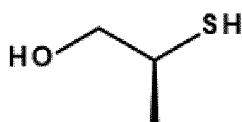
Таблица 3: Коммерчески Доступные Линкеры

Код Линкер а	Формула Линкера	Ссылка на синтез или Поставщик
--------------------	-----------------	-----------------------------------

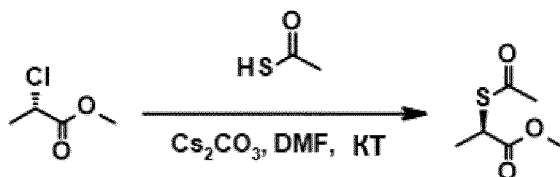
L1		Alfa Aesar A15890
L2		Enamine EN300-9515
L4		Синтезированный - WO2013055987A1
L5		Синтезированный - WO2013055987A1
L3		Enamine EN300-220914
L6		Синтезированный - ACS Med. Chem. Lett. 2016, 7, 988–993
L7		Синтезированный Synlett, 2005, 20 3063
L8		Синтезированный Synlett, 2005, 20 3063

L9		Синтезированный Synlett, 2005, 20 3063
L10		TCI M1206
L11		Aurum GN23710
Линкер XVI-1		Combiblocks OR-0735
Линкер XXII-1		Combiblocks OR-5865
Линкер XXVI-1		Oakwood 001239
Линкер XXXI-1		Aurum DS18383

Линкер L4: (2R)-2-сульфанилпропан-1-ол

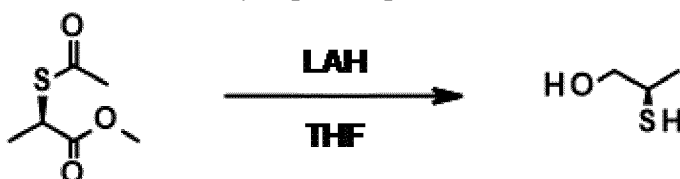


Стадия 1: Метил (2R)-2-ацетилсульфанилпропаноат



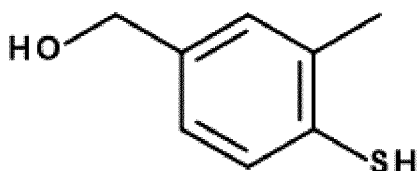
Тиоуксусную кислоту (2,24 г, 29,4 ммоль) и карбонат цезия (7,98 г, 24,5 ммоль) переносили в 40 мл сухого ДМФА. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут перед добавлением метил (2S)-2-хлорпропаноата (3,00 г, 24,5 ммоль). Затем смесь дополнительно перемешивали в течение 3 часов. Добавляли диэтиловый эфир (150 мл) и воду (150 мл) и слои разделяли. Водный слой дополнительно промывали эфиром и объединенные органические слои сушили над Na_2SO_4 . Органический слой упаривали и остаток очищали колоночной хроматографией (SiO_2 , 0-10% EtOAc/гексаны) с получением метил (2R)-2-ацетилсульфанилпропаноата (3,50 г, выход: 88%).

Стадия 2: (2R)-2-сульфанилпропан-1-ол

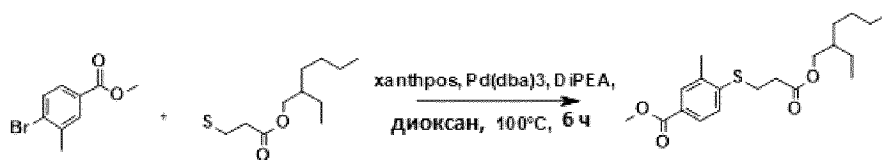


Раствор метил (2R)-2-ацетилсульфанилпропаноата (3,50 г, 21,6 ммоль) в ТГФ (30 мл) добавляли по каплям к суспензии ЛАГ (4,10 г, 108 ммоль) в ТГФ (60 мл) при 0 °С. После того, как добавление было завершено, смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. Реакционную смесь охлаждали до 0 °С, затем реакцию гасили добавлением по каплям 2 Н НСl (~75 мл). После завершения добавления смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Смесь экстрагировали CH_2Cl_2 (5 X 100 мл) и сушили над Na_2SO_4 . Неочищенный (2R)-2-сульфанилпропан-1-ол, 1,60 г, 81% использовали без дополнительной очистки.

Линкер ХХII-2: (3-метил-4-сульфанил-фенил)метанол

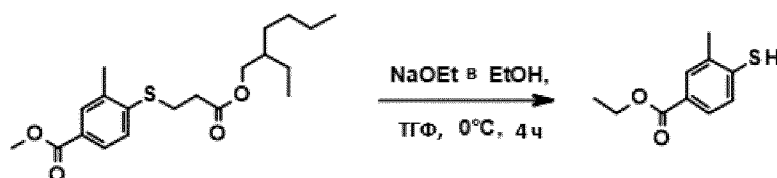


Стадия 1: 4-((3-((2-этилгексил)окси)-3-оксопропил)тио)-3-метилбензоат



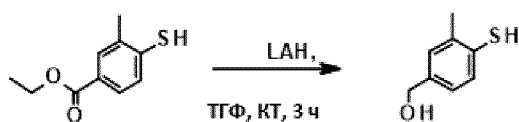
К перемешиваемому раствору метил 4-бром-3-метилбензоата (0,20 г, 0,88 ммоль) и 2-этилгексил 3-меркаптопропаноата (0,21 г, 0,96 ммоль) в 1,4-диоксане (2 мл), добавляли ДИПЭА (0,32 мл, 1,80 ммоль), Xanthphos (0,005 г, 0,009 ммоль). Реакционную смесь продували аргоном в течение 5 минут. Добавляли $\text{Pd}(\text{dba})_3$ (0,008 г, 0,009 ммоль) и реакционную смесь нагревали при 100°C в течение 6 часов. После завершения реакции реакционную смесь гасили водой (10 мл) и экстрагировали этилацетатом (20 мл). Органический слой промывали раствором хлорида натрия (20 мл) и сушили над Na_2SO_4 с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией (SiO_2 , 0-5% этилацетат/гексан) с получением 4-((3-((2-этилгексил)окси)-3-оксопропил)тио)-3-метилбензоата в виде жидкости желтого цвета (0,2 г, выход 62%). МС m/z 367,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия 2: Этил 4-меркапто-3-метилбензоат



Перемешиваемый раствор метил 4-((3-((2-этилгексил)окси)-3-оксопропил)тио)-3-метилбензоата (0,20 г, 0,54 ммоль) в ТГФ (5 мл) охлаждали до 0°C . Добавляли этоксид натрия (35 мас. %, 2 мл) и смесь перемешивали в течение 4 часов при комнатной температуре. После завершения реакции реакционную смесь подкисляли 2 Н HCl (10 мл) и упаривали. Полученный остаток экстрагировали этилацетатом (20 мл). Органический слой промывали водой (20 мл), насыщенным раствором хлорида натрия (20 мл) и сушили над Na_2SO_4 с получением этил 4-меркапто-3-метилбензоата в виде бесцветной жидкости (80 мг, выход 80%). МС m/z 197,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия 3: (3-метил-4-сульфанил-фенил)метанол



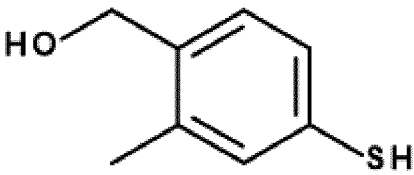
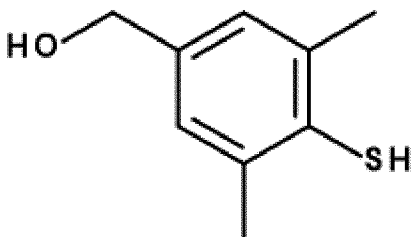
XXII-2

К перемешиваемому раствору этил 4-меркапто-3-метилбензоата (0,60 г, 3,07 ммоль) в ТГФ (20 мл), поддерживаемому при температуре от 0°C медленно добавляли 1 М раствор ЛАГ в ТГФ (7,80 мл, 7,80 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. После завершения реакции реакционную смесь охлаждали до 0°C и гасили водой (20 мл). Температуру поддерживали ниже 20°C во время гашения. После завершения гашения рН довели до 2-3 с помощью 2 Н HCl .

Полученный остаток экстрагировали этилацетатом (20 мл) и органический слой промывали насыщенным раствором хлорида натрия (20 мл). Органическую фазу сушили над Na_2SO_4 с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией (SiO_2 , 0-20% этилацетат/гексан) с получением (3-метил-4-сульфанил-фенил)метанола в виде бесцветной жидкости (0,45 г, выход 90%). МС m/z 153,0 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

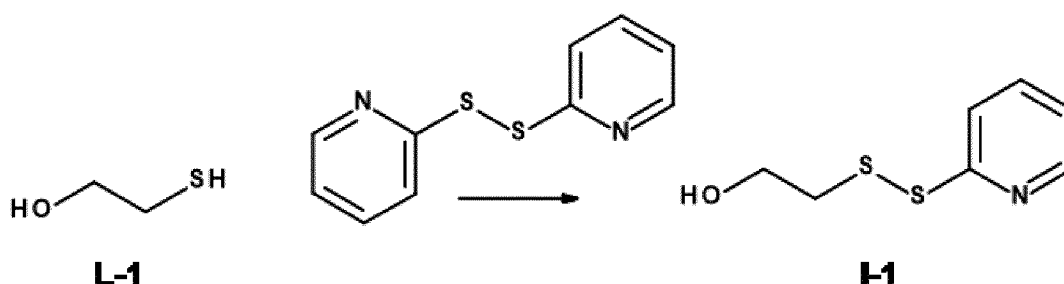
XXII-3 и XXII-4, как показано в Таблице 4 ниже, были синтезированы аналогично Линкеру XXII-2.

Таблица 4: Дополнительные Линкеры

Код Линкера	Формула Линкера	m/z эксп. $[\text{M}-\text{H}]$
XXII-3		153,1
XXII-4		167,0

Промежуточные соединения

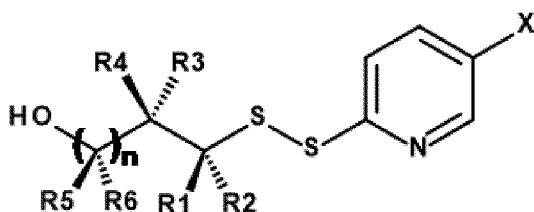
Промежуточное соединение I-1: 2-(2-пиридилдисульфанил)этанол



К 2-(2-пиридилдисульфанил)пиридину (4,693 г, 21,3 ммоль) в 40 мл MeOH дегазированного N_2 по каплям добавляли 2-сульфанилэтанол (0,498 мл, 7,10 ммоль). Смесь перемешивали в течение 2-20 часов в атмосфере N_2 . Смесь упаривали досуха и непосредственно очищали (SiO_2 , 0-5% EtOAc/ CH_2Cl_2) с получением 3 фракций; (F1 смесь Исх. Соед. А и продукта; F2 продукт; F3 смесь 2-тиопиридина и продукта). Неочищенный материал снова очищали (SiO_2 , 0-50% EtOAc/гексаны) с получением 2-(2-пиридилдисульфанил)этанола (1,17 г, выход 88%). МС m/z эксп. 188,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

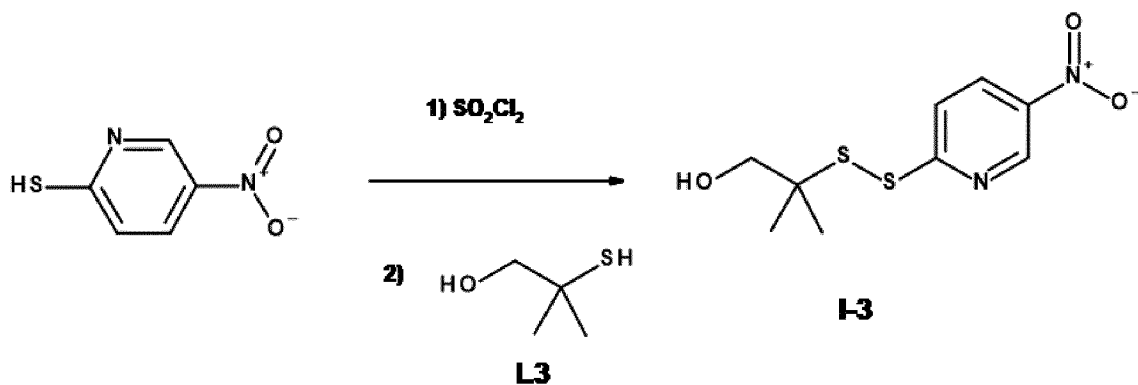
Приведенные ниже промежуточные соединения, показанные в Таблице 5, получали аналогично Промежуточному Соединению I-1.

Таблица 5. Промежуточные соединения



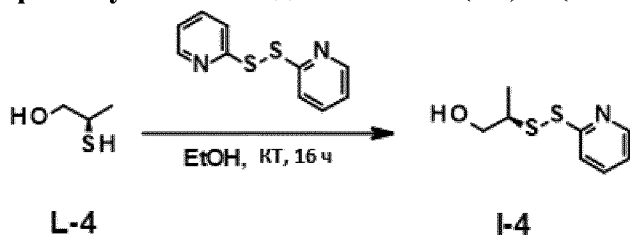
Промежуточное соединение	R ¹ , R ²	R ³ , R ⁴	n	R ⁵ , R ⁶	X	MH ⁺
I-2	Me-H (рац)	H, H	0	---	H	202,1
I-7	H, H	H, Ph	0	---	H	264,1
I-8	H, H	H, CO ₂ Me	0	----	H	246,1
I-9	H, H	H, CH ₂ OMe	0	--	H	232,0
I-10	H, H	H, H	1	H, H	H	367,0

Промежуточное соединение **I-3**: 2-метил-2-[(5-нитро-2-пиридил)дисульфанил]пропан-1-ол



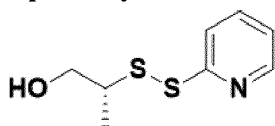
SO₂Cl₂ (0,382 мл, 4,71 ммоль) добавляли по каплям к перемешиваемой суспензии 5-нитропиридин-2-тиола (668 мг, 4,28 ммоль) в сухом ДХМ (15 мл) при температуре 4 °С в атмосфере N₂. Реакционная смесь превращалась из желтой суспензии в желтый раствор и ее оставляли нагреваться до комнатной температуры при перемешивании в течение 2 часов, после чего смесь упаривали с получением желтого твердого вещества. Твердое вещество повторно растворяли в ДХМ (15 мл) и обрабатывали по каплям раствором 2-метил-2-сульфанил-пропан-1-ола (454 мг, 4,28 ммоль) в сухом ДХМ (10 мл) при 4 °С в атмосфере N₂. Реакционную смесь оставили нагреваться до комнатной температуры и перемешивали в течение 20 часов. Реакцию отслеживали посредством ЖХ/МС с настройкой на массу желаемого продукта. К смеси добавляли 50 мл H₂O и разбавленную смесь обрабатывали раствором гидроксида аммония. Реакционную смесь разбавляли 50 мл EtOAc, разделяли и отделяли. Органическую фазу сушили с MgSO₄, фильтровали и упаривали с получением неочищенного продукта. Неочищенную смесь очищали (SiO₂, 0-50% EtOAc/гексаны) с получением 2-метил-2-[(5-нитро-2-пиридил)дисульфанил]пропан-1-ола (721 мг, выход 65%). МС m/z эксп. 261,7 [M+H]⁺.

Промежуточное соединение I-4: (2R)-2-(2-пиридилдисульфанил)пропан-1-ол



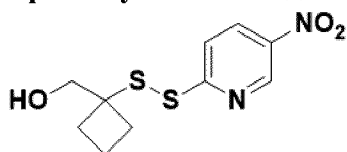
К 2-(2-пиридилдисульфанил)пиридину (5,00 г, 22,7 ммоль) в 40 мл MeOH дегазированного N_2 по каплям добавляли (2R)-2-сульфанилпропан-1-ол (0,75 г, 8,14 ммоль). Смесь перемешивали в течение 2 часов в атмосфере N_2 . Смесь упаривали досуха и непосредственно загружали на флэш-колону SiO_2 и элюировали 0-50% EtOAc/гексаны с получением (2R)-2-(2-пиридилдисульфанил)пропан-1-ола (1,17 г, 71%). МС m/z эксп. 202,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Промежуточное соединение I-5



Промежуточное соединение I-5 получали аналогично промежуточному соединению I-4 из L-5.

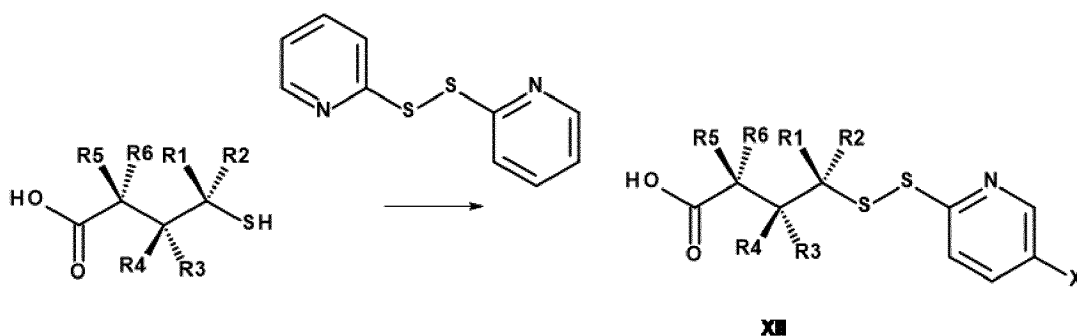
Промежуточное соединение I-6



Промежуточное соединение I-6 получали аналогично Промежуточному соединению I-3 из Линкера L-6.

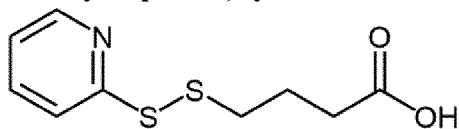
Синтез промежуточных соединений XII

Таблица 6. Промежуточные соединения XII

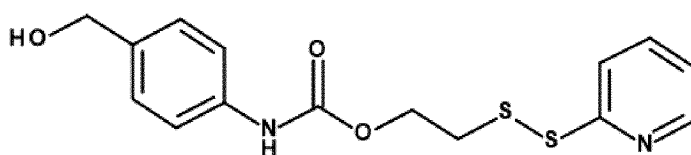
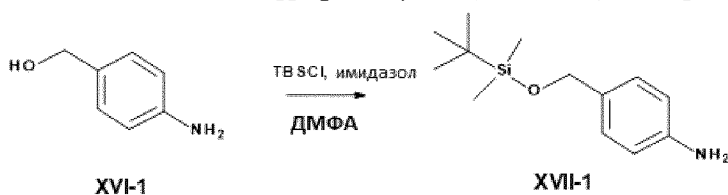


Промежу т. соедин.	R^1, R^2	R^3, R^4	R^5, R^6	X	MH^+
XII-1	H, H	H, H	H, H	H	230,0

Синтез промежуточного соединения XII-1: 4-(2-

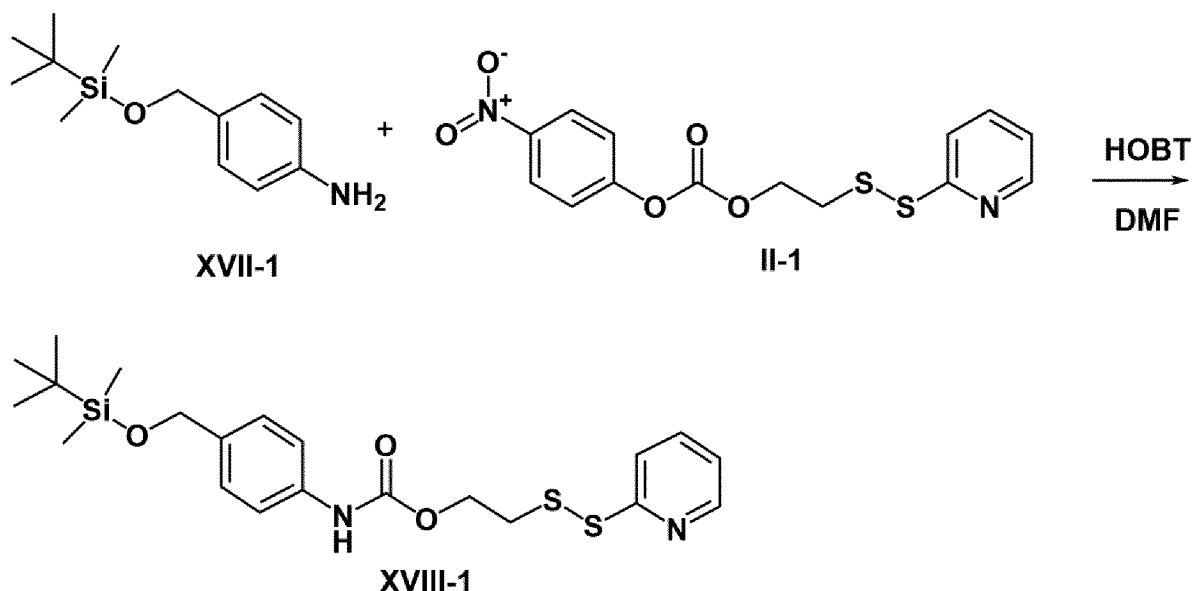
пиридилдисульфанил)бутановая кислота

К 2-(2-пиридилдисульфанил)пиридину (1120 мг, 5,08 ммоль) в 20 мл MeOH дегазированного N₂ по каплям добавляли 4-сульфанилбутановую кислоту (500 мг, 4,16 ммоль). Смесь перемешивали в течение 16 часов в атмосфере N₂. Смесь упаривали досуха и очищали обращенно-фазовой хроматографией (Sunfire C18, 30×150 мм, 5-95% CH₃CN/H₂O, 0,05% ТФУ) с получением 4-(2-пиридилдисульфанил)бутановой кислоты (187 мг, 19,6%). МС m/z эксп. 230,0 [M+H]⁺.

Промежуточное соединение XIX-1: 2-(2-пиридилдисульфанил)этил N-[4-(гидроксиметил)фенил]карбамат**XIX-1***Стадия 1: Синтез 4-[[трет-бутил(диметил)силил]оксиметил]анилина*

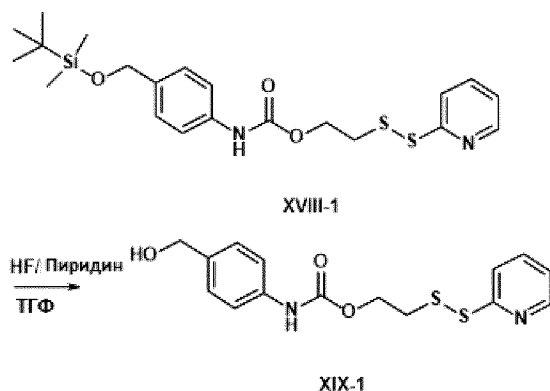
Раствор (4-аминофенил)метанола (5,00 г, 40,6 ммоль) в безводном ДМФА (10 мл) добавляли по каплям в течение 30 минут к перемешиваемому раствору трет-бутил-хлор-диметил-силана (7,34 г, 48,7 ммоль) и имидазола (7,90 мл, 81,2 ммоль) в безводном ДМФА (40 мл). После перемешивания при комнатной температуре в течение 16 часов реакционную смесь выливали в воду (400 мл) и экстрагировали CH₂Cl₂ (3 × 100 мл). Объединенные органические слои промывали водой (2 × 100 мл) и сушили над MgSO₄. После удаления летучих веществ под вакуумом остаток очищали колоночной хроматографией (SiO₂, 0-25% EtOAc/гексаны) с получением 4-[[трет-бутил(диметил)силил]оксиметил]анилина (7,91 мг, 33,3 ммоль, выход: 82,1%).

Стадия 2: Синтез 2-(2-пиридилдисульфанил)этил N-[4-[[трет-бутил(диметил)силил]оксиметил]фенил]карбамата



К (4-нитрофенил) 2-(2-пиридилдисульфанил)этил карбонату (200 мг, 0,57 ммоль) в 2 мл ДМФА добавляли 4-[[трет-бутил(диметил)силил]оксиметил]анилин (202 мг, 0,85 ммоль), 1-гидроксibenзотриазол гидрат (104 мг, 0,68 ммоль) и 200 мг активированных 4 А молекулярных сит. Смесь перемешивали в течение 18 часов. Твердые вещества отфильтровывали и целит промывали 2 мл ДМФА. Фильтрат упаривали досуха и остаток очищали колоночной хроматографией (SiO_2 , 0-50% ЕтоАс/гексаны) с получением 2-(2-пиридилдисульфанил)этил N-[4-[[трет-бутил(диметил)силил]оксиметил]фенил]карбамата (244 мг, 0,54 ммоль, выход: 95,4%).

Стадия 3: 2-(2-пиридилдисульфанил)этил N-[4-(гидроксиметил)фенил]карбамат



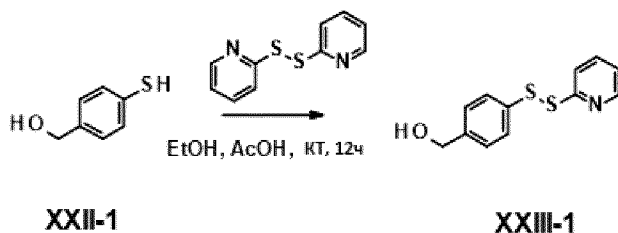
2-(2-пиридилдисульфанил)этил N-[4-[[трет-бутил(диметил)силил]оксиметил]фенил]-карбамат (194 мг, 0,430 ммоль) растворяли в 2 мл ТГФ и охлаждали до 0 °С в атмосфере N_2 . Добавляли HF-пиридин (780 мкл, 8,89 ммоль) и раствор продолжали перемешивать при 0 °С в течение 1 часа. Добавляли воду (3 мл) и реакционную смесь нейтрализовали насыщ. раствором NaHCO_3 и экстрагировали CH_2Cl_2 (3X50 мл). Органический слой упаривали и очищали колоночной хроматографией (SiO_2 , 0-75% ЕтоАс/гексан) с получением 2-(2-пиридилдисульфанил)этил N-[4-(гидроксиметил)фенил]карбамата (99,1 мг, 0,29 ммоль, выход: 68,4%).

Промежуточное

соединение

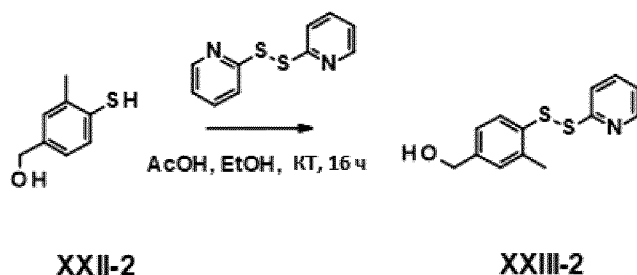
XXIII-1:

[4-(2-

пиридилдисульфанил)фенил]метанол

Перемешиваемый раствор 1,2-ди(пиридин-2-ил)дисульфана (2,68 г, 12,1 ммоль) в смеси растворителей АсОН:этанол (5 мл, 1:10) дегазировали в атмосфере N₂. Затем добавляли по каплям 4-меркаптофенил)метанол (0,74 г, 5,2 ммоль) в смеси растворителей АсОН/этанол (5 мл) в течение 20 минут и перемешивали в течение 12 часов в атмосфере N₂ при комнатной температуре. Реакционную смесь упаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали колоночной хроматографией (SiO₂, 60-70% EtOAc/гексаны) с получением [4-(2-пиридилдисульфанил)фенил]метанола в виде бесцветной жидкости (800 мг, выход 61%).

Промежуточное соединение XXIII-2: [3-метил-4-(2-пиридилдисульфанил)фенил]метанол

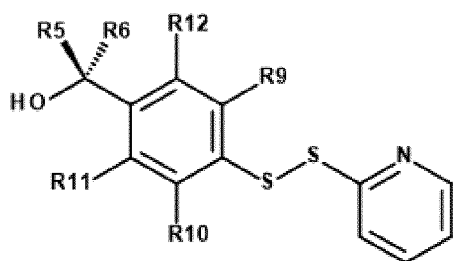


Перемешиваемый раствор 1,2-ди(пиридин-2-ил)дисульфана (1,10 г, 4,90 ммоль), растворенного в уксусной кислоте/этаноле (1:10, 37 мл), продували N₂ в течение 5 минут. К нему по каплям добавляли раствор 4-меркапто-3-метилфенил)метанола (0,51 г, 3,30 ммоль) в уксусной кислоте/этаноле (1:10, 18 мл) в течение 20 минут. Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 16 часов при комнатной температуре. После завершения реакции смесь упаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией (SiO₂, 0-70% градиент EtOAc/гексан) с получением [3-methyl-4-(2-пиридилдисульфанил)фенил]метанола в виде бесцветной жидкости (0,69 г, выход 80%). МС m/z эксп. 264,0 [M+H]⁺.

Промежуточные соединения XXIII-3 и XXIII-4

Промежуточные соединения XXIII-3 и XXIII-4 как показано в Таблице 7, получали аналогично XXIII-2.

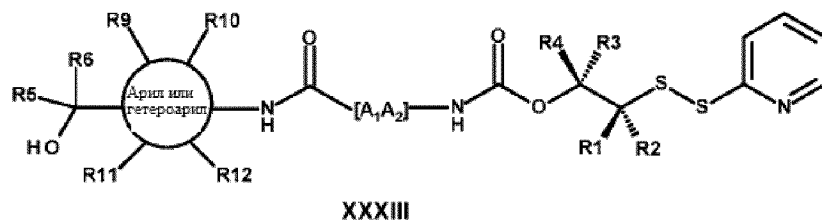
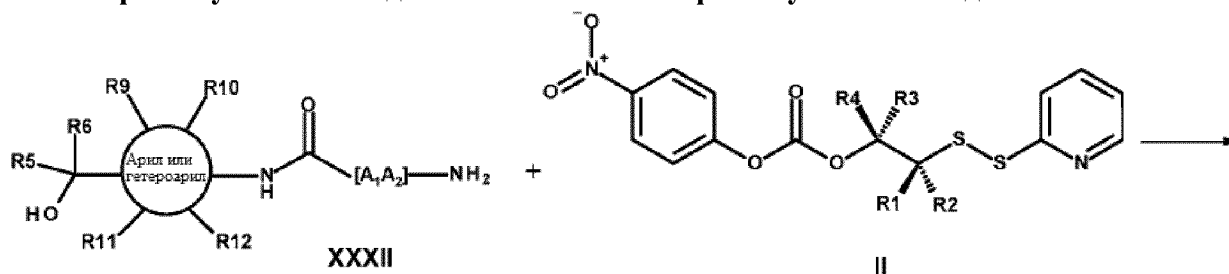
Таблица 7. Промежуточные соединения XXIII



XXIII

Промежуточное соединение	R^5, R^6	$R^9, R^{10}, R^{11}, R^{12}$	MH^+
XXIII-3	H, H	H, H, H, Me	264,2
XXIII-4	H, H	Me, Me, H, H	278,0

Промежуточные соединения XXXIII из Промежуточных соединений XXXII

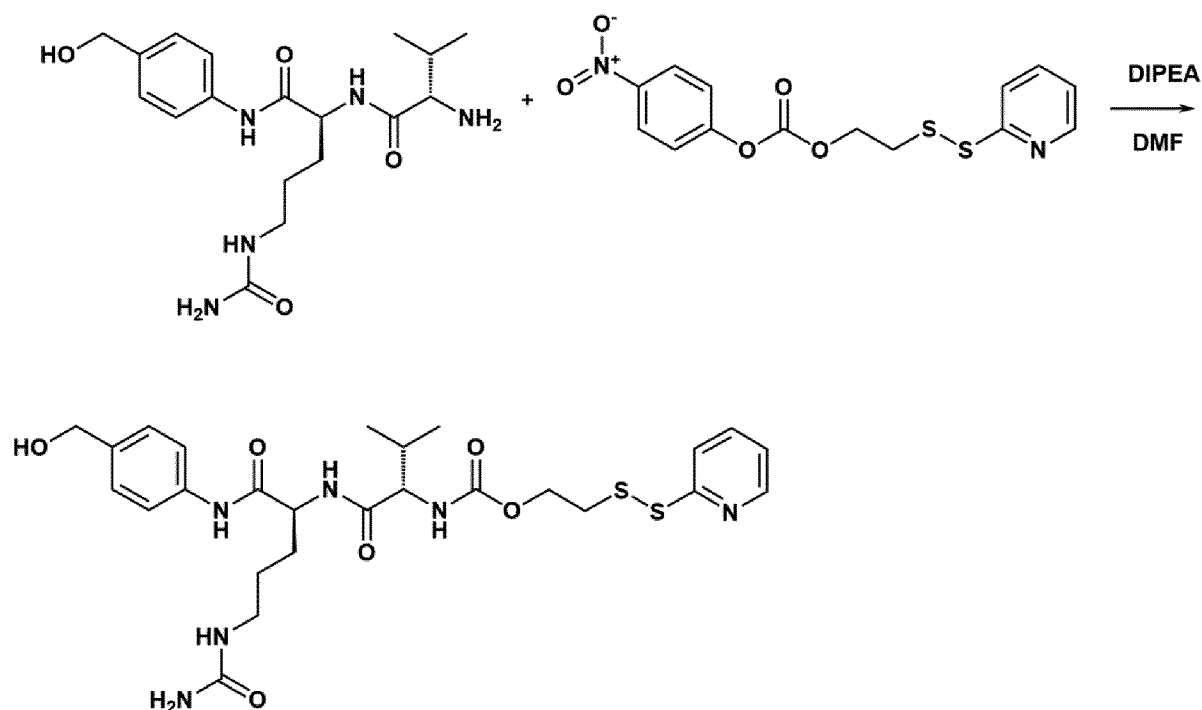


XXXIII

Таблица 8. Промежуточные соединения XXXIII

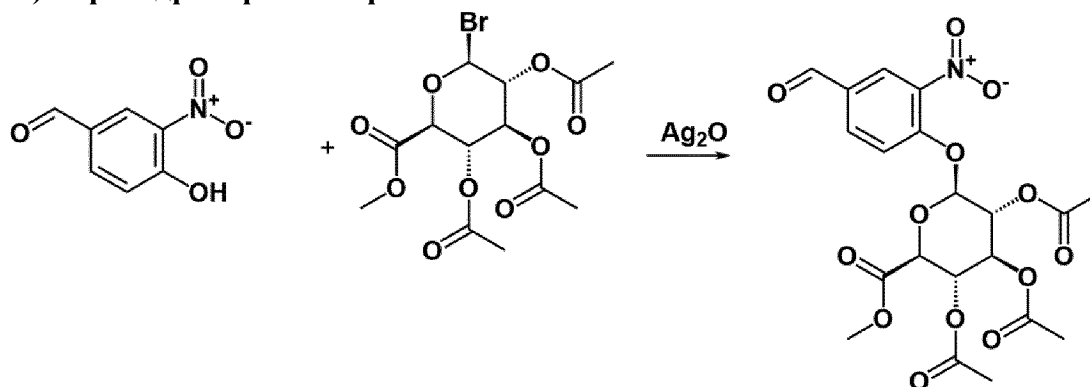
Промежут. соед.	R_1, R_2, R_3, R_4	R_5, R_6	$R_9, R_{10}, R_{11}, R_{12}$	A_1, A_2	MH^+
XXXIII-1	H, H, H, H	H, H	H, H, H, H	Cit, Val	593,2

Синтез промежуточного соединения XXXIII-1: 2-(2-пиридилдисульфанил)этил N-[(1S)-1-[[[(1S)-1-[[4-(гидроксиметил)фенил]карбамоил]-4-уреидо-бутил]карбамоил]-2-метил-пропил]карбамат



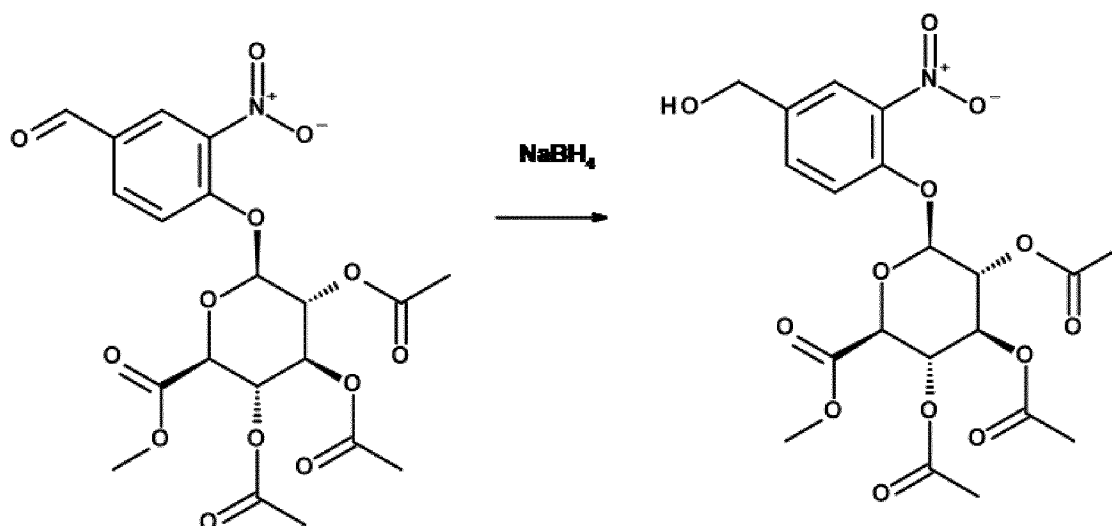
К (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-метил-бутаноил]амино]-N-[4-(гидроксиметил)фенил]-5-уреидо-пентанамиду (100 мг, 0,264 ммоль) в 2 мл сухого ДМФА в атмосфере N_2 добавляли N, N-диизопропилэтиламин (0,122 мл, 0,659 ммоль) и (4-нитрофенил) 2-(2-пиридилдисульфанил)этил карбонат (92,9 мг, 0,264 ммоль). Смесь перемешивали в течение 16 часов в атмосфере N_2 . Смесь упаривали до состояния твердого вещества. Неочищенный остаток очищали на колонке SiO_2 (12 г, 0-10% MeOH/ CH_2Cl_2) с получением 2-(2-пиридилдисульфанил)этил N-[(1S)-1-[[[(1S)-1-[4-(гидроксиметил)фенил]карбамоил]-4-уреидо-бутил]карбамоил]-2-метил-пропил]карбамата (149 мг, 0,251 ммоль, выход: 95,4%). МС m/z эксп. 593,2 $[M+H]^+$.

Синтез XLI-1: Метил (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-триацетокси-6-(4-формил-2-нитро-фенокси)тетрагидропиран-2-карбоксилат



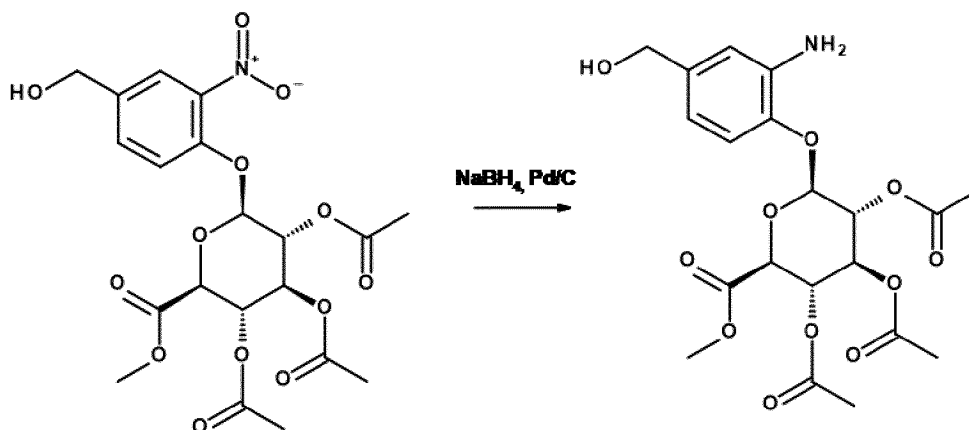
Указанное соединение получали как описано в US 2017/0145044 A1.

Синтез XLII-1: Метил (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-триацетокси-6-[4-(гидроксиметил)-2-нитро-фенокси]тетрагидропиран-2-карбоксилат



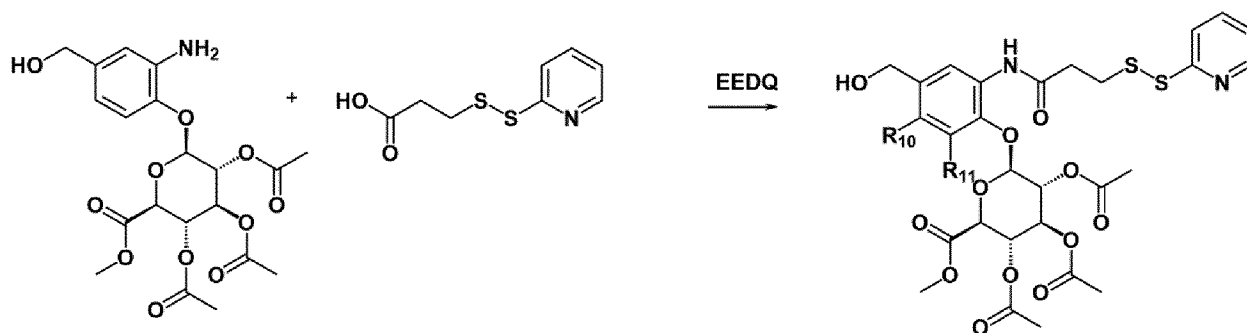
Указанное соединение получали как описано в WO 2011/066418 A1.

Синтез XLIII-1: Метил (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-триацетокси-6-[2-амино-4-(гидроксиметил)фенокси]тетрагидропиран-2-карбоксилат



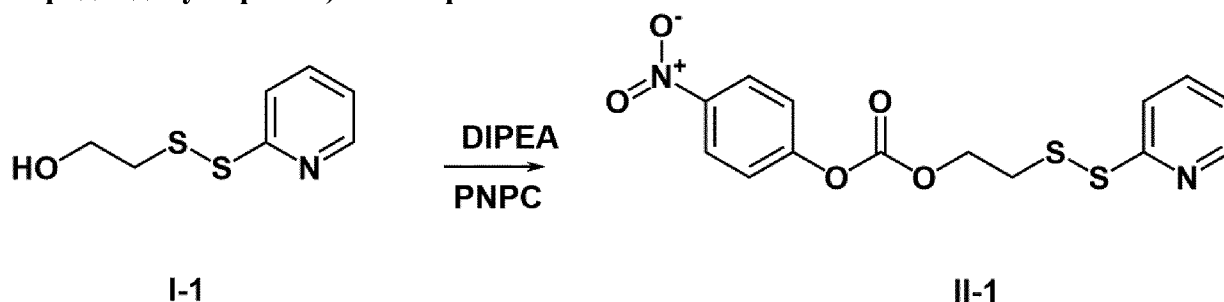
Метил (2S,3S,4S,5R)-3,4,5-триацетокси-6-[4-(гидроксиметил)-2-нитрофенокси]тетрагидропиран-2-карбоксилат (361 мг, 0,74 ммоль) растворяли в MeOH, и к нему добавляли Pd/C (50,0 мг, 0,47 ммоль) с последующим добавлением NaBH₄ (84,4 мг, 2,23 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 минут. ЖХ-МС указывала на образование желаемого продукта. Реакционную смесь фильтровали через целит, а затем гасили насыщ. раствором NH₄Cl. Продукт экстрагировали ДХМ, EtOAc, и органические слои объединяли. Их промывали солевым раствором и упаривали. Неочищенный продукт разделяли пополам и одну часть очищали ОФ ВЭЖХ (20-95% ACN/H₂O) с получением метил (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-триацетокси-6-[2-амино-4-(гидроксиметил)фенокси]тетрагидропиран-2-карбоксилата (180 мг, 0,40 ммоль, выход 53,1%). МС m/z эксп. 456,2 [M+H]⁺.

Синтез XLV-1: Метил (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-триацетокси-6-[3-R10-2-R11-4-(гидроксиметил)-6-[3-(2-пиридилдисульфанил)пропаноиламино]фенокси]тетрагидропиран-2-карбоксилат



EEDQ (130 мг, 0,527 ммоль) добавляли к 3-(2-пиридилдисульфанил)пропановой кислоте (56,7 мг, 0,263 ммоль), растворенной в ДХМ и перемешивали в течение 20 минут под N_2 . Метил (2S,3S,4S,5R)-3,4,5-триацетокси-6-[2-амино-4-(гидроксиметил)фенокси]тетрагидропиран-2-карбоксилат (120 мг, 0,263 ммоль) растворяли в ДХМ, добавляли к данной смеси и перемешивали в течение ночи. ЖХ-МС указывала на образование желаемого продукта. Реакционную смесь упаривали и очищали обращенно-фазовой хроматографией (20-95% ACN/H₂O) с получением метил (2S,3S,4S,5R)-3,4,5-триацетокси-6-[4-(гидроксиметил)-2-[3-(2-пиридилдисульфанил)пропаноиламино]фенокси]тетрагидропиран-2-карбоксилата (63,0 мг, 0,0965 ммоль, выход: 36,6%). МС m/z эксп. 653,2 $[M+H]^+$.

Промежуточное соединение II-1: (4-нитрофенил) 2-(2-пиридилдисульфанил)этил карбонат

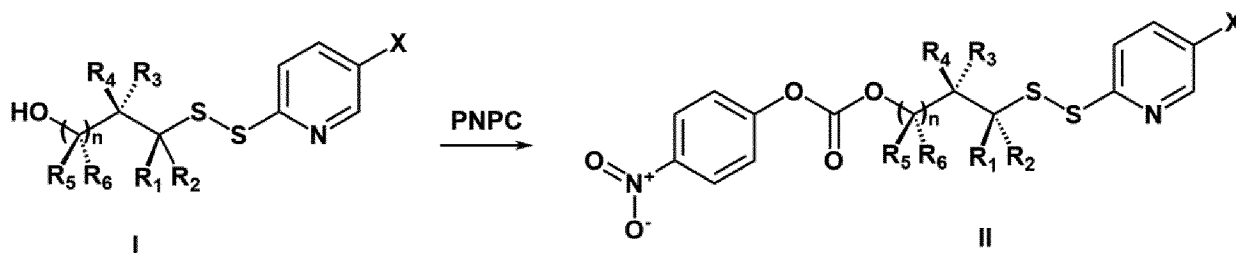


К 2-(2-пиридилдисульфанил)этанолу (517 мг, 2,76 ммоль) в 20 мл CH_2Cl_2 в атмосфере N_2 при 4°C добавляли N, N-диизопропилэтиламин (1,02 мл, 5,52 ммоль) и (4-нитрофенил) карбонхлоридат (834 мг, 4,14 ммоль). Смесь перемешивали в течение 16 часов в атмосфере N_2 . Смесь разбавляли 40 мл EtOAc и гасили 20 мл насыщ. раствора NH_4Cl . Смесь промывали 2×20 мл H_2O и 1×20 мл насыщ. солевого раствора. Неочищенную смесь очищали колонкой SiO_2 с элюентом 0-50% EtOAc/гексаны с получением (4-нитрофенил) 2-(2-пиридилдисульфанил)этил карбоната (482 мг, выход 50%).

Промежуточные соединения II-2, II-3 и II-5

Промежуточные соединения II-2, II-3 и II-5 получали аналогично Промежуточному соединению II-1 с использованием соответствующих промежуточных соединений I-2, I-3 и I-5, как показано ниже:

Таблица 9. Дополнительные Промежуточные соединения



Промежуточное соединение	R ¹ , R ²	R ³ , R ⁴	n	R ⁵ , R ⁶	X	MH ⁺
II-2	Me-H (рац)	H, H	0	---	H	367,1
II-5	H, Me	H, H	0	---	H	367,1
II-3	Me, Me	H, H	0	---	NO ₂	

Промежуточное соединение II-4: (4-нитрофенил) [(2R)-2-(2-пиридилдисульфанил)пропил] карбонат

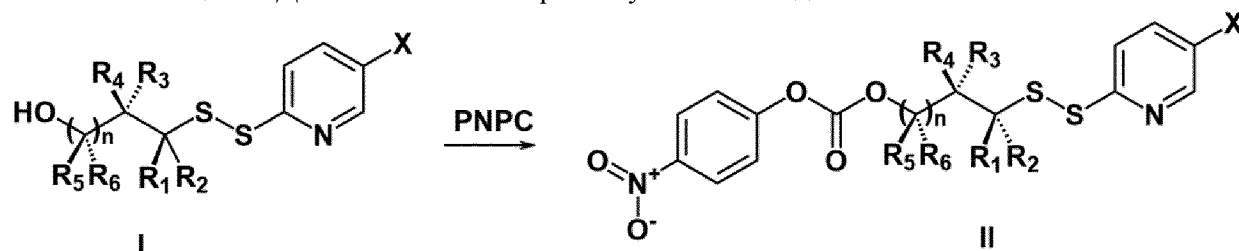


К (2R)-2-(2-пиридилдисульфанил)пропан-1-олу (0,39 г, 1,94 ммоль) в ТГФ в атмосфере N₂ добавляли пиридин (0,16 мл, 1,94 ммоль) и (4-нитрофенил) карбонхлоридат (0,59 г, 2,91 ммоль). Смесь перемешивали в течение 16 часов в атмосфере N₂. Смесь разбавляли EtOAc и гасили 20 мл насыщ. раствора NH₄Cl. Смесь промывали водой и соевым раствором и органический слой упаривали. Неочищенную смесь очищали колоночной хроматографией (SiO₂, 0-50% EtOAc/гексаны) с получением (4-нитрофенил) [(2R)-2-(2-пиридилдисульфанил)пропил] карбоната (0,59 г, выход 83%). МС m/z эксп. 367,1 [M+H]⁺.

Промежуточные соединения II-6 - II-9

Промежуточные соединения II-6, II-7, II-8 и II-9 получали аналогично Промежуточному соединению II-4, как показано ниже в Таблице 10:

Таблица 10. Дополнительные Промежуточные соединения



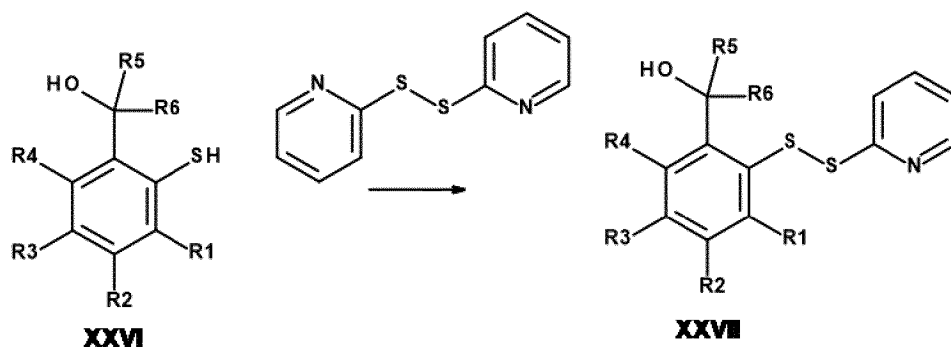
Промежуточно е соединение	R ¹ , R ²	R ³ , R ⁴	n	R ⁵ , R ⁶	X	MH ⁺
II-6	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H, H	0	---	NO ₂	438,0

	(R ¹ и R ² образуют циклобутил)					
II-7	H, H	H, Ph	0	---	H	429,1
II-8	H, H	H, CO ₂ Me	0	---	H	411,0
II-9	H, H	H, CH ₂ OMe	0	---	H	397,1
II-10	H, H	H, H	1	H, H	H	495,1

Синтез промежуточного соединения XXVII-1

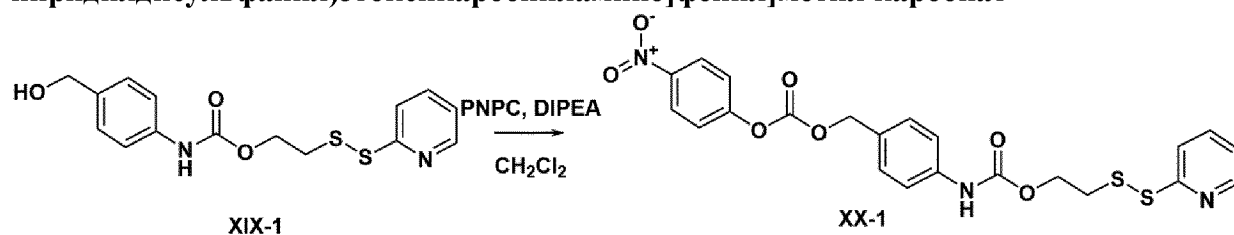
Промежуточное соединение XXVII-1 получали аналогично Промежуточным соединениям XXII.

Таблица 11. Промежуточные соединения XXVII



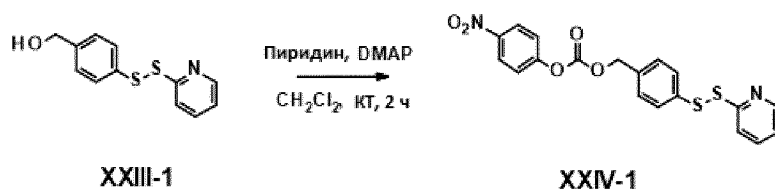
Промежут. соед.	R ¹ , R ² , R ³ , R ⁴	R ⁵ , R ⁶	MH ⁺
XXVII-1	H, H, H, H	H, H	250,1

Промежуточное соединение XX-1: (4-нитрофенил) [4-[2-(2-пиридилдисульфанил)этоксикарбониламино]фенил]метил карбонат



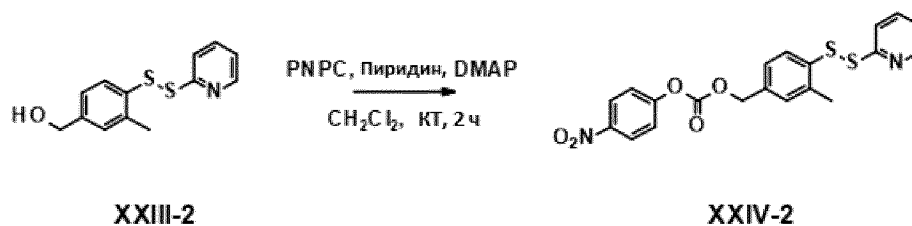
К 2-(2-пиридилдисульфанил)этил N-[4-(гидроксиметил)фенил]карбамату (136 мг, 0,41 ммоль) в 5 мл CH₂Cl₂ в атмосфере N₂ добавляли ДИПЭА (0,15 мл, 0,81 ммоль) и (4-нитрофенил) карбонхлоридат (122 мг, 0,61 ммоль). Смесь перемешивали в течение 16 часов в атмосфере N₂. Смесь разбавляли 20 мл EtOAc и гасили 20 мл насыщ. раствора NH₄Cl. Смесь промывали 2×20 мл H₂O и 1×20 мл насыщ. солевого раствора. Неочищенную смесь очищали колоночной хроматографией (SiO₂, 0-25% EtOAc/гексаны) с получением (4-нитрофенил) [4-[2-(2-пиридилдисульфанил)этоксикарбониламино]фенил]метил карбонат (44,2 мг, 0,09 ммоль, выход: 21,8%).

Промежуточное соединение XXIV-1: (4-нитрофенил) [4-(2-пиридилдисульфанил)фенил]метил карбонат



К перемешиваемому раствору (4-(пиридин-2-илдисульфанил)фенил)метанола (0,40 г, 1,60 ммоль) в CH_2Cl_2 (10 мл) добавляли 4-нитрофенилхлорформат (0,65 г, 3,2 ммоль), пиридин (0,25 мл, 3,20 ммоль), каталитическое количество DMAP (0,005 г) при 0 °С. Смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение 2 часов. Реакционную смесь гасили 1,5 Н раствором HCl . Органический слой отделяли и промывали соевым раствором, сушили над безводным Na_2SO_4 и упаривали. Неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией (SiO_2 , 20-30% EtOAc /гексаны) с получением (4-нитрофенил) [4-(2-пиридилдисульфанил)фенил]метил карбоната в виде бесцветной жидкости (600 мг, выход 91%); МС m/z 415,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$

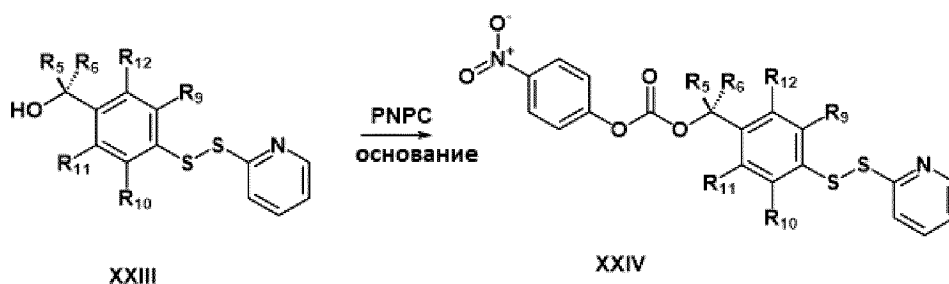
Промежуточное соединение XXIV-2: [3-метил-4-(2-пиридилдисульфанил)фенил]метил (4-нитрофенил) карбонат



К перемешиваемому раствору (3-метил-4-(пиридин-2-илдисульфанил)фенил)метанола (0,69 г, 2,60 ммоль), растворенного в CH_2Cl_2 (10 мл) добавляли 4-нитрофенилхлорформат (1,05 г, 5,2 ммоль), пиридин (0,43 мл, 5,2 ммоль) и каталитическое количество DMAP (0,005 г) при 0 °С. Смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение 2 часов. После завершения реакции реакцию смесь гасили 1,5 Н HCl . Органический слой отделяли, промывали раствором хлорида натрия (10 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 и упаривали. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-хроматографией (SiO_2 , 20-30% EtOAc /гексаны) с получением [3-метил-4-(2-пиридилдисульфанил)фенил]метил (4-нитрофенил) карбоната (700 мг, выход 62%). МС m/z 429,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Следующее Промежуточное соединение получали аналогично Промежуточным соединениям XXIV-1 и XXIV-2, как показано ниже в Таблице 12:

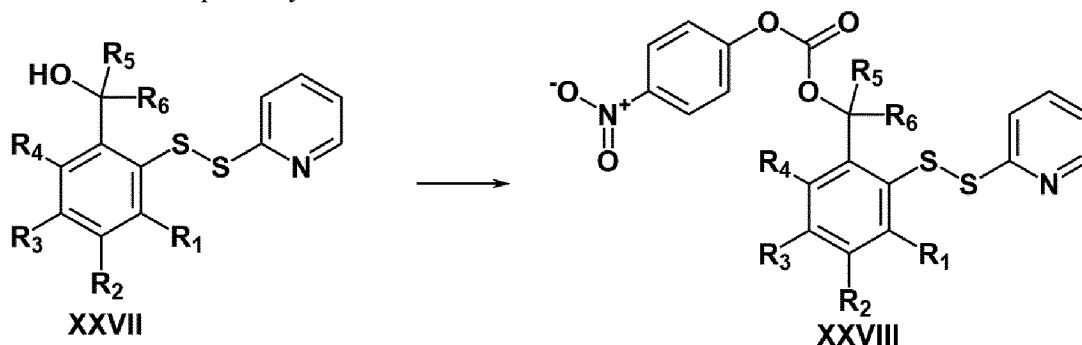
Таблица 12. Дополнительные Промежуточные соединения



Промежуточное соединение	R ⁵ , R ⁶	R ⁹ , R ¹⁰ , R ¹¹ , R ¹²	X	MH ⁺
XXIV-3	H, H	H, H, Me, H	H	429,0
XXIV-4	H, H	Me, Me, H, H	H	443,0

Промежуточные соединения XXVIII

Таблица 13. Промежуточные соединения XXVIII

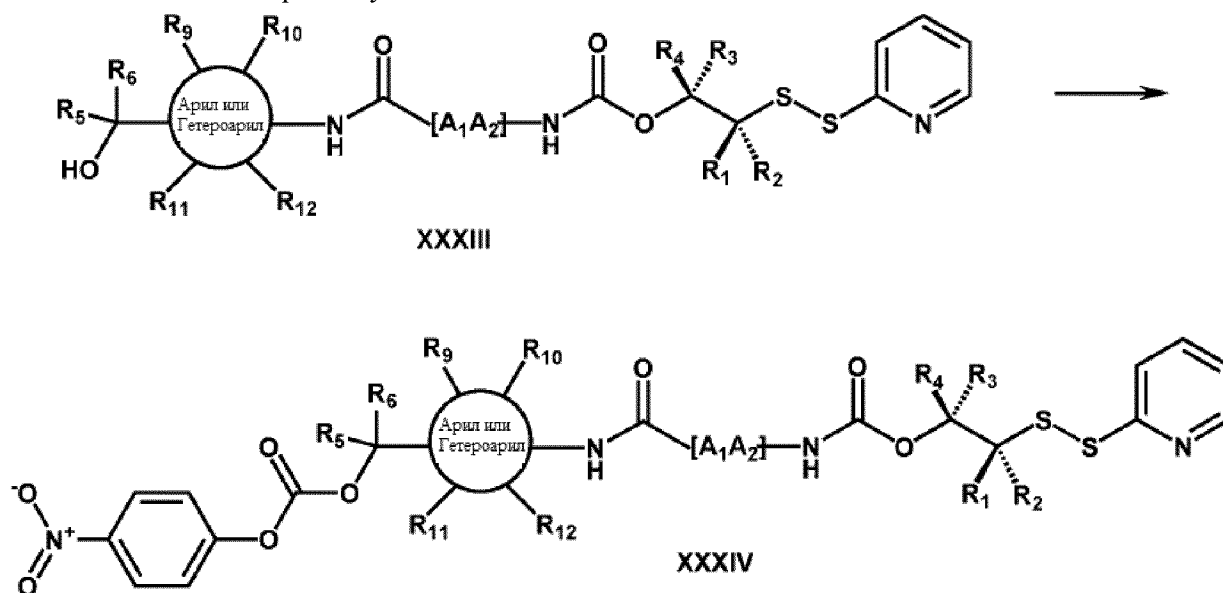


Промежут. соед.	R ¹ , R ² , R ³ , R ⁴	R ⁵ , R ⁶	MH ⁺
XXVIII-1	H, H, H, H	H, H	415,0

Промежуточное соединение XXVIII-1 получали аналогично Промежуточным соединениям XXIV.

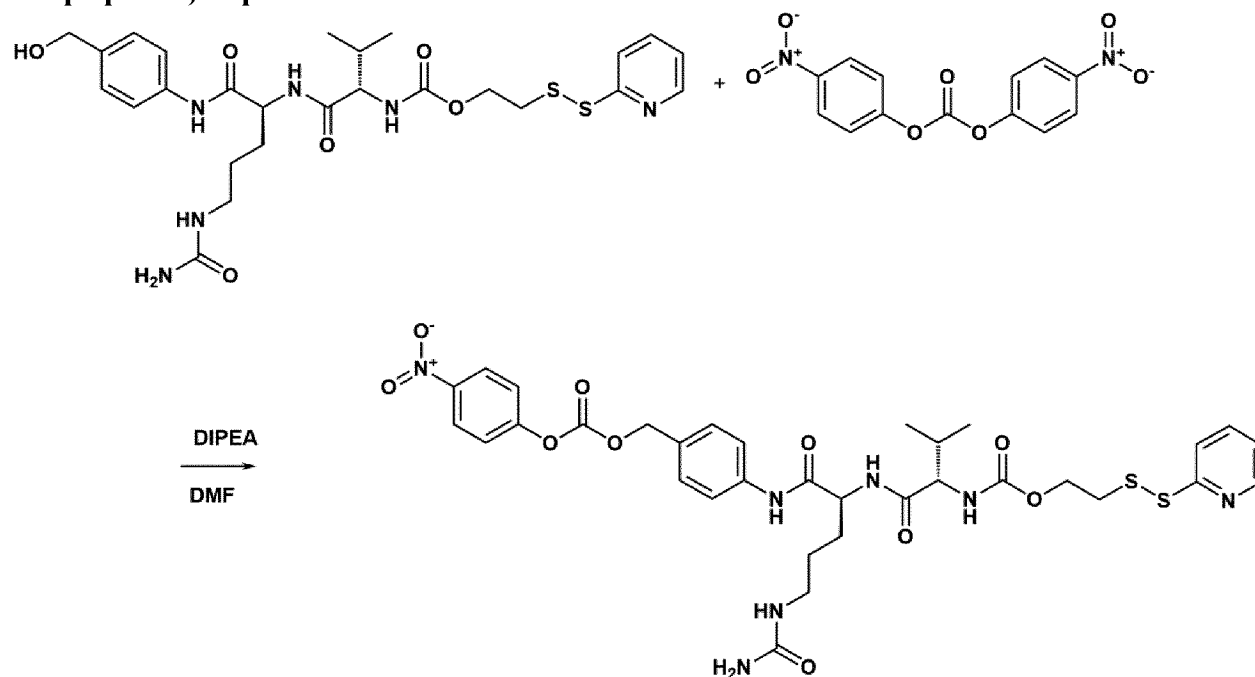
Промежуточные соединения XXXIV

Таблица 14. Промежуточные соединения XXXIV



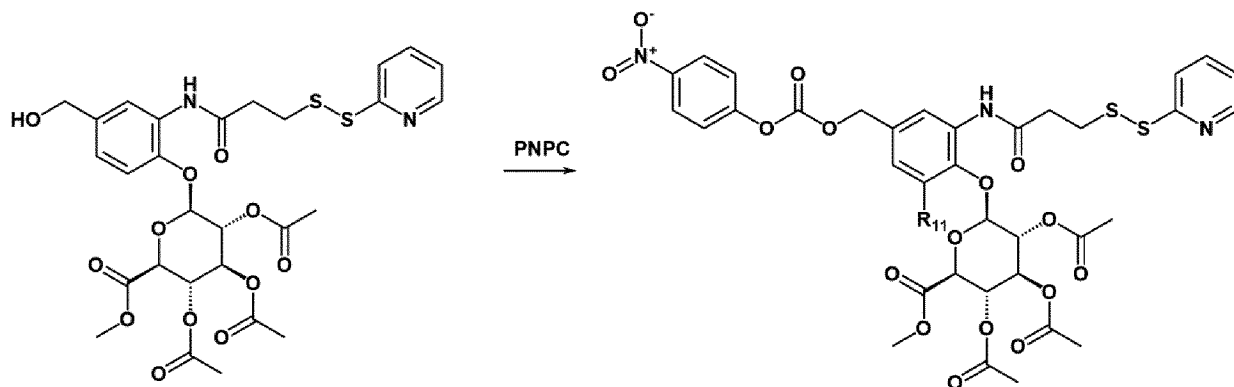
Промежут. соед.	R ¹ , R ² , R ³ , R ⁴	R ⁵ , R ⁶	R ⁹ , R ¹⁰ , R ¹¹ , R ¹²	A ₁ , A ₂	MH ⁺
XXXIV-1	H, H, H, H	H, H	H, H, H, H	Cit, Val	758,2

Синтез XXXIV-1: [4-[[2S)-2-[[2S)-3-метил-2-[2-(2-пиридилдисульфанил)-этоксикарбониламино]бутаноил]амино]-5-уреидо-пентаноил]амино]фенил]метил (4-нитрофенил) карбонат



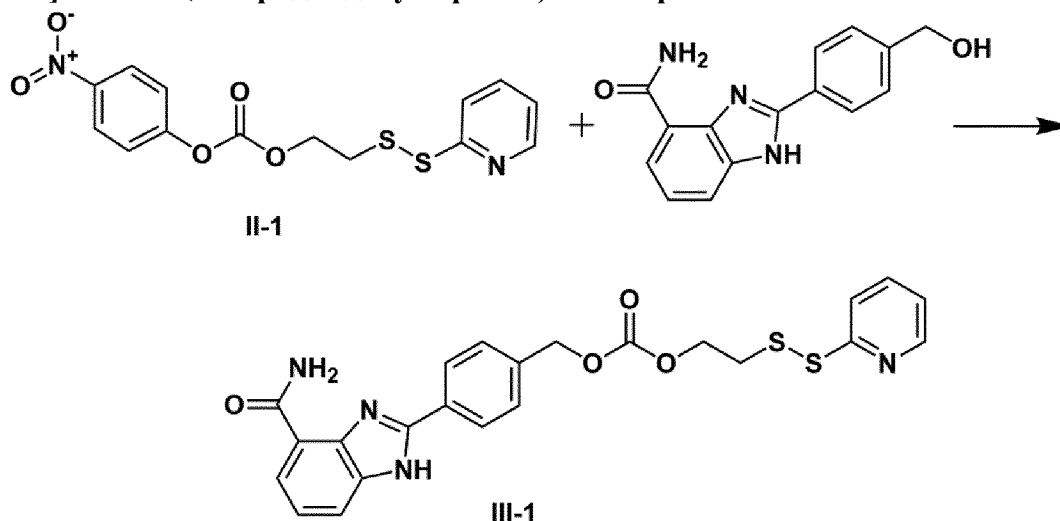
2-(2-пиридилдисульфанил)этил N-[(1S)-1-[[4-(гидроксиметил)фенил]карбамоил]-4-уреидо-бутил]карбамоил]-2-метил-пропил]карбамат (149 мг, 0,251 ммоль) растворяли в 2 мл сухого ДМФА и охлаждали до 4 °С. К нему добавляли бис(4-нитрофенил) карбонат (153 мг, 0,503 ммоль) и N, N-диизопропилэтиламин (0,0928 мл, 0,503 ммоль). Смеси давали нагреться до комнатной температуры в течение 2 часов. Ход реакции контролировали с помощью ЖХ-МС. Смесь упаривали и очищали (25 г SiO₂, 0-10% MeOH/CH₂Cl₂) с получением [4-[[2S)-2-[[2S)-3-метил-2-[2-(2-пиридилдисульфанил)этоксикарбониламино]бутаноил]амино]-5-уреидо-пентаноил]амино]фенил]метил (4-нитрофенил) карбонат (139 мг, выход: 73,1%). МС m/z эксп. 758,2 [M+H]⁺.

Синтез XLVI-1: Метил (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-триацетокси-6-[2-R11-4-[(4-нитрофенокси)карбонилоксиметил]-6-[3-(2-пиридилдисульфанил)пропаноиламино]фенокси]тетрагидропиран-2-карбоксилат



Метил (2S,3S,4S,5R)-3,4,5-триацетокси-6-[4-(гидроксиметил)-2-[3-(2-пиридилдисульфанил)пропаноиламино]фенокси]тетрагидропиран-2-карбоксилат (102 мг, 0,15 ммоль) растворяли в ТГФ и к нему добавляли пиридин (0,02 мл, 0,19 ммоль) с последующим добавлением (4-нитрофенил) карбонхлорида (63,0 мг, 0,313 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере N₂ в течение ночи. ЖХ-МС указывала на завершение реакции. Смесь разбавляли 100 мл EtOAc и гасили 50 мл насыщ. раствора NH₄Cl. Смесь промывали 50 мл насыщ. солевого раствора. Органический слой сушили над Na₂SO₄ и упаривали. Неочищенную смесь очищали колоночной хроматографией (50-100% EtOAc/гексаны) с получением (58,0 мг, 0,07 ммоль, выход: 45,4%). МС m/z эксп. 818,2 [M+H]⁺.

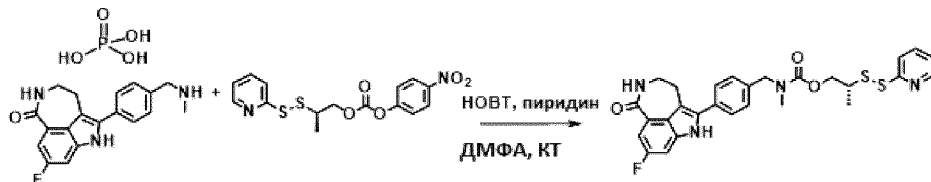
Промежуточное соединение III-1: [4-(4-карбамоил-1H-бензимидазол-2-ил)фенил]метил 2-(2-пиридилдисульфанил)этил карбонат



К 2-[4-(гидроксиметил)фенил]-1H-бензимидазол-4-карбоксамиду (150 мг, 0,561 ммоль) в 4 мл сухого ДМФА в атмосфере N₂ добавляли N, N-диизопропилэтиламин (0,207 мл, 1,12 ммоль), DMAP (68,6 мг, 0,561 ммоль) и (4-нитрофенил) 2-(2-пиридилдисульфанил)этил карбонат (241 мг, 0,684 ммоль). Смесь перемешивали в течение 16 часов и затем разбавляли 50 мл EtOAc и последовательно промывали 1×20 мл насыщ. раствора NH₄Cl, 3×30 мл насыщ. раствора NaHCO₃, 3×30 мл H₂O и 1×20 мл насыщ. солевого раствора. Органическую фазу сушили с MgSO₄, фильтровали и упаривали. Неочищенный остаток очищали (SiO₂, 50-100% EtOAc/гексаны) с получением

[4-(4-карбамоил-1Н-бензимидазол-2-ил)фенил]метил 2-(2-пиридилдисульфанил)этил карбоната (260 мг, выход 97%).

Промежуточное соединение III-4: [(2R)-2-(2-пиридилдисульфанил)пропил] N-[[4-(6-фтор-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0^{4,13}]тридека-1,4,6,8(13)-тетраен-2-ил)фенил]метил]-N-метил-карбамат

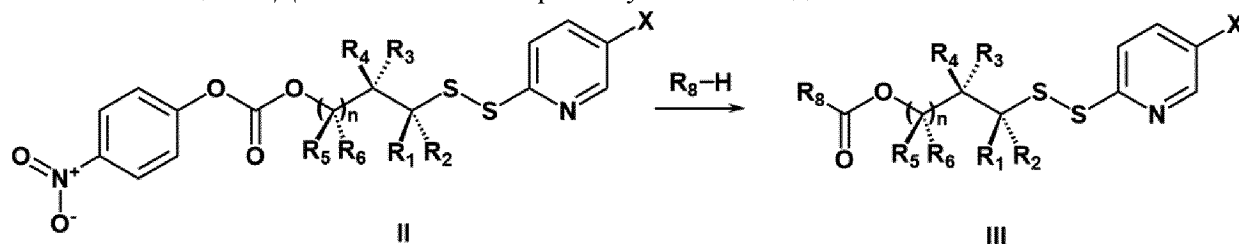


К смеси NOBT (48,0 мг, 0,31 ммоль), пиридина (0,11 мл, 1,31 ммоль), мелко измельченных молекулярных сит 4 Å (250 мг) и 6-фтор-2-[4-(метиламинометил)фенил]-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0^{4,13}]тридека-1,4,6,8(13)-тетраен-9-он фосфата (110 мг, 0,26 ммоль) в 5 мл безводного ДМФА добавляли (4-нитрофенил) [(2R)-2-(2-пиридилдисульфанил)пропил] карбонат [Промежуточное соединение II-4] (105 мг, 0,29 ммоль). После перемешивания в течение 16 часов при комнатной температуре, молекулярные сита отфильтровывали и растворитель удаляли под вакуумом. Остаток затем адсорбировали на SiO₂ и очищали колоночной хроматографией (SiO₂, 0-10% MeOH/CH₂Cl₂) с получением [(2R)-2-(2-пиридилдисульфанил)пропил] N-[[4-(6-фтор-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0^{4,13}]тридека-1,4,6,8(13)-тетраен-2-ил)фенил]метил]-N-метил-карбамата (115 мг, выход 80%) МС m/z 551,1 (M+H)⁺.

Промежуточные соединения III-2, III-3 и III-5 - III-15

Следующие Промежуточные соединения получали аналогично Промежуточным соединениям III-1 и III-4, как показано ниже в Таблице 15:

Таблица 15. Дополнительные Промежуточные соединения

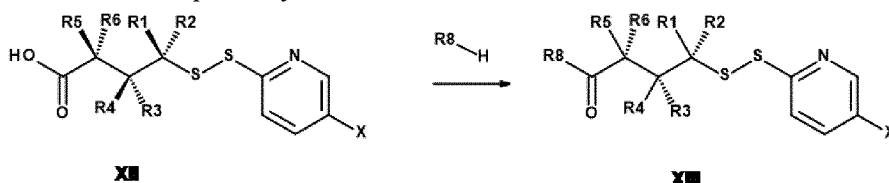


Промежуточное соединение	R ⁸ H	R ¹ , R ²	R ³ , R ⁴	n	R ⁵ , R ⁶	X	MH ⁺
III-2	R ⁸ H-1	Me-H (рац)	H, H		---	H	495,1
III-3	R ⁸ H -1	Me, Me	H, H		---	NO ₂	
III-5	R ⁸ H -1	Me, H	H, H		---	H	496,1
III-6	R ⁸ H -2	H, H	H, H		---	H	451,1
III-7	R ⁸ H -3	H, H	H, H		---	H	534,2
III-8	R ⁸ H -4	H, H	H, H		---	H	458,1

III-9	R ⁸ H -16	H, H	H, H		---	H	536,4
III-10	R ⁸ H -16	H, Me	H, H		---	H	551,1
III-11	R ⁸ H -16	Me, H	H, H		---	H	551,1
III-12	R ⁸ H -16	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	H, H		---	NO ₂	622,2
III-13	R ⁸ H -16	H, H	Ph, H		---	H	613,2
III-14	R ⁸ H -16	H, H	CO ₂ Me. H		---	H	595,2
III-15	R ⁸ H -16	H, H	CH ₂ OMe		---	H	581,2
III-16	R ₈ H-3	H, Me	H, H	0	---	H	548,1
III-17	R ₈ H-3	Me, H	H, H	0	---	H	548,1
III-18	R ₈ H-4	H, Me	H, H	0	---	H	472,1
III-19	R ₈ H-4	Me, H	H, H	0	---	H	472,1
III-20	R ₈ H-16	H, H	H, H	1	H, H	H	495,2

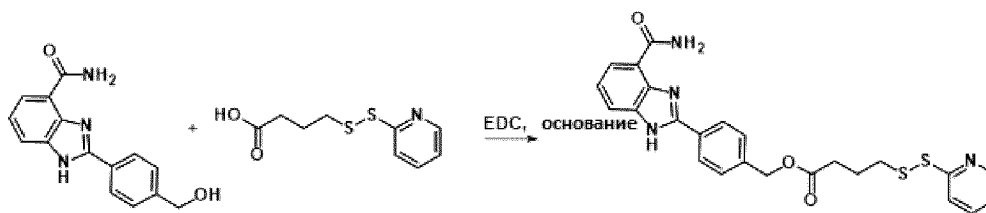
Промежуточные соединения со сложноэфирной сшивкой XIII

Таблица 16. Промежуточные соединения XIII



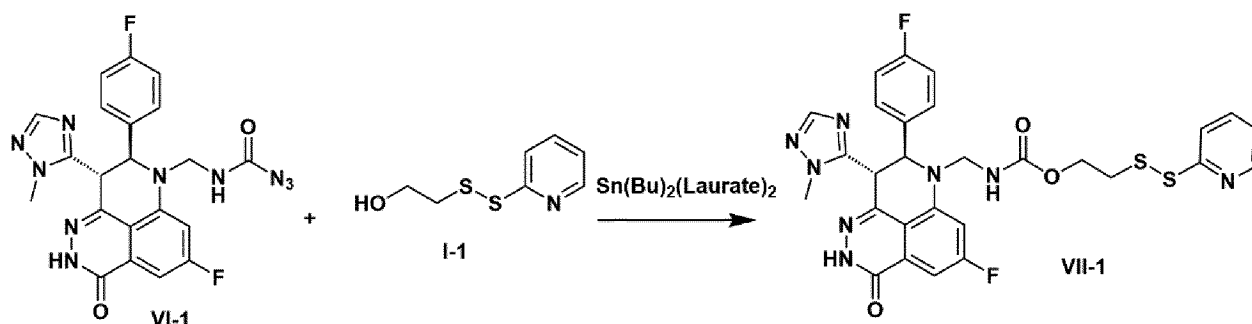
Промежут. соед.	R ⁸	R ¹ , R ²	R ³ , R ⁴	R ⁵ , R ⁶	X	MH ⁺
XIII-1	R ⁸ H-1	H, H	H, H	H, H	H	479,0

Синтез XIII-1: [4-(4-карбамоил-1H-бензимидазол-2-ил)фенил]метил 4-(2-пиридилдисульфанил)бутаноат



К смеси соли ТФУ 4-(2-пиридилдисульфанил)бутановой кислоты (81,2 мг, 0,236 ммоль), EDC HCl (47,8 мг, 0,250 ммоль) и ДИПЭА (0,0986 мл, 0,576 ммоль) в 2 мл ДМФА добавляли 2-[4-(гидроксиметил)фенил]-1H-бензимидазол-4-карбоксамид (51,3 мг, 0,192 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи и контролировали с помощью ЖХ-МС. Смесь упаривали и очищали хроматографией на SiO₂, (0-10% MeOH/CH₂Cl₂) с получением (83,1 мг, 0,17 ммоль, выход: 90,4%) МС m/z эксп. 479,0 [M+H]⁺.

Промежуточное соединение VII-1: 2-(2-пиридилдисульфанил)этил N-[[11S,12R)-7-фтор-11-(4-фторфенил)-12-(2-метил-1,2,4-триазол-3-ил)-4-оксо-2,3,10-триазатрицикло[7.3.1.0^{5,13}]тридека-1,5,7,9(13)-тетраен-10-ил]метил]карбамат

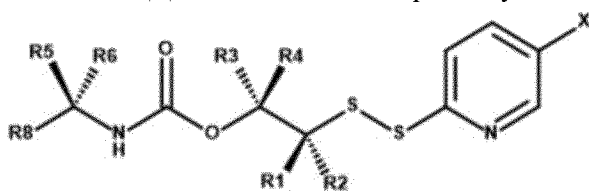


2-[(11S,12R)-7-фтор-11-(4-фторфенил)-12-(2-метил-1,2,4-триазол-3-ил)-4-оксо-2,3,10-триазатрицикло[7.3.1.0.5,13]тридека-1,5,7,9(13)-тетраен-10-ил]ацетил азид, V-1, (170 мг, 0,367 ммоль) растворяли в сухом ДМФА (2 мл) и добавляли 2-(2-пиридилдисульфанил)этанол (137 мг, 0,734 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 65 °С в течение 2 часов. Добавляли каталитический дибутилолово дилаурат (40 мкл) и реакционную смесь перемешивали в течение ночи при температуре 65 °С. Смесь упаривали и очищали колоночной хроматографией (0-10% MeOH/ДХМ) с получением 3 пиков. ЯМР показал, что пик 2 являлся желаемым продуктом. MALDI показал 3 массы, 624 (желаемый продукт), 646 (продукт+23) и 380 (BMN). Выход: 80 мг Промежуточного соединения VII-1: 2-(2-пиридилдисульфанил)этил N-[(11S,12R)-7-фтор-11-(4-фторфенил)-12-(2-метил-1,2,4-триазол-3-ил)-4-оксо-2,3,10-триазатрицикло[7.3.1.0.5,13]тридека-1,5,7,9(13)-тетраен-10-ил]метил]карбамата.

Промежуточные соединения VII-2 - VII-5

Промежуточные соединения VII-2, VII-3 и VII-4 получали с использованием R⁸H-15 и промежуточных соединений II-4, II-5 и II-6, соответственно. Промежуточное соединение VII-5 получали с использованием R⁸H-17 и промежуточного соединения II-1, как показано в Таблице 17.

Таблица 17. Дополнительные Промежуточные соединения

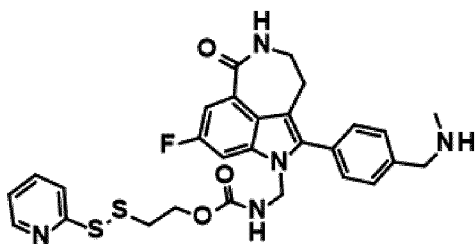


VII

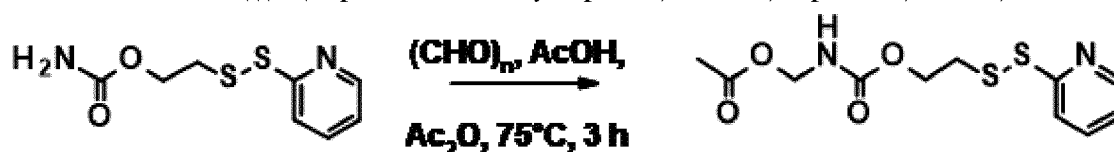
Промежут. соед.	R ⁸ H	R ¹ , R ²	R ³ , R ⁴	R ⁵ , R ⁶	X	MH ⁺
VII-2	R ⁸ H -15	H, Me	H, H	H, H	H	637,2
VII-3	R ⁸ H-15	Me, H	H, H	H, H	H	637,2
VII-4	R ⁸ H -15	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ - (R1 и R2 образуют циклопропил)	H, H	H, H	NO ₂	708,2

VII-5	R ⁸ H-17	H, H	H, H	H, H	H	541,1
-------	---------------------	------	------	------	---	-------

Промежуточное соединение VII-6: 2-(2-пиридилдисульфанил)этил N-[[6-фтор-2-[4-(метиламинометил)фенил]-9-оксо-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0^{4,13}]тридека-1,4,6,8(13)-тетраен-3-ил]метил]карбамат

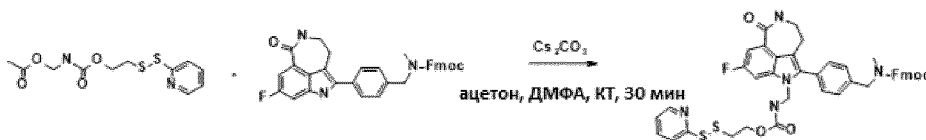


Стадия 1: (((2-(пиридин-2-илдисульфанил)этокси)карбонил)амино)метил ацетат



К перемешиваемому раствору 2-(пиридин-2-илдисульфанил)этил карбамата (0,10 г, 0,43 ммоль) в уксусной кислоте (0,59 мл) добавляли параформальдегид (0,01 г, 0,47 ммоль) и уксусный ангидрид (1,78 мл). Смесь нагревали при 75 °С в течение 3 часов. После завершения реакции реакцию смесь гасили водой (20 мл) и экстрагировали этилацетатом (20 мл x 2). Объединенные органические слои промывали водой (20 мл) и соевым раствором (20 мл). Органическую фазу сушили над безводным Na₂SO₄ и упаривали. Неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией (SiO₂, 40-50% этилацетат/гексаны) с получением (((2-(пиридин-2-илдисульфанил)этокси)карбонил)амино)метил ацетата в виде желтой жидкости (120 мг, выход 70%). МС m/z 303,3 [M+H]⁺.

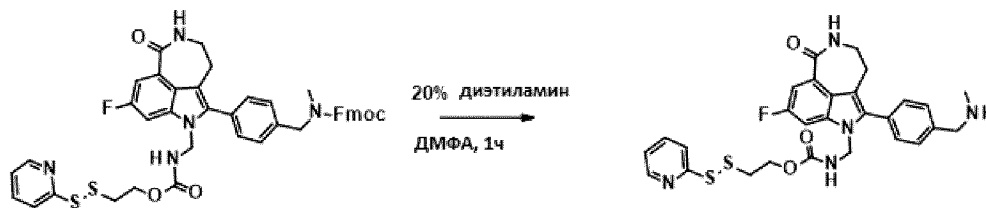
Стадия 2: (9H-флуорен-9-ил)метил (4-(8-фтор-1-оксо-6-(((2-(пиридин-2-илдисульфанил)этокси)карбонил)амино)метил)-2,3,4,6-тетрагидро-1H-азепино[5,4,3-cd]индол-5-ил)бензил)(метил)карбамат



К перемешиваемому раствору (9H-флуорен-9-ил)метил (4-(8-фтор-1-оксо-2,3,4,6-тетрагидро-1H-азепино[5,4,3-cd]индол-5-ил)бензил)(метил)карбамата (0,05 г, 0,09 ммоль) в ацетоне (1,0 мл) добавляли карбонат цезия (0,06 г, 0,18 ммоль) и перемешивали в течение 5 минут при комнатной температуре в атмосфере N₂. Затем добавляли (((2-(пиридин-2-илдисульфанил)этокси)карбонил)амино)метил ацетат (0,03 г, 0,09 ммоль) и ДМФА (0,1 мл) и дополнительно перемешивали в течение 30 минут при комнатной температуре. Реакционную смесь гасили водой (25 мл) и затем экстрагировали 10% смесью MeOH/CH₂Cl₂ (50 мл x 2). Объединенный органический слой сушили над

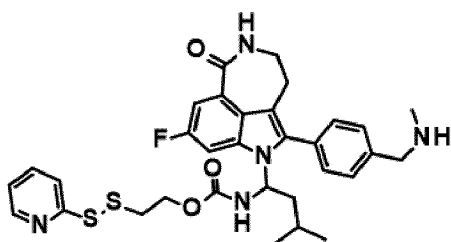
безводным сульфатом натрия и упаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали колоночной флэш-хроматографией с использованием смеси 60-70% EtOAc/гексаны с получением (9H-флуорен-9-ил)метил (4-(8-фтор-1-оксо-6-(((2-(пиридин-2-илдисульфанил)этокси)карбонил)амино)метил)-2,3,4,6-тетрагидро-1H-азепино[5,4,3-cd]индол-5-ил)бензил)(метил)карбамата (12 мг, выход 17%); МС m/z 788,8 (M+H)⁺.

Стадия 3: 2-(2-пиридилдисульфанил)этил N-[[6-фтор-2-[4-(метиламинометил)фенил]-9-оксо-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0⁴,13]тридека-1,4,6,8(13)-тетраен-3-ил]метил]карбамат

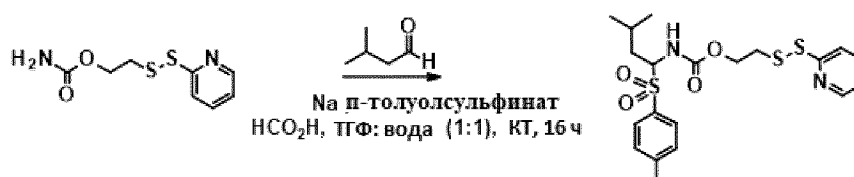


(9H-флуорен-9-ил)метил(4-(8-фтор-1-оксо-6-(((2-(пиридин-2-илдисульфанил)этокси)карбонил)амино)метил)-2,3,4,6-тетрагидро-1H-азепино[5,4,3-cd]индол-5-ил)бензил)(метил)карбамат (0,15 г, 0,19 ммоль) перемешивали с 20% диэтиламина в ДМФА (1,4 мл) в течение 1 часа в атмосфере N₂ при комнатной температуре. Реакционную смесь упаривали досуха и очищали препаративной ВЭЖХ [Колонка: Inertsil ODS 3V (250 мм X 20 мм X 5 мкм); Подвижная фаза-A-0,1% аммиака в H₂O; Подвижная фаза-B-ACN] с получением 2-(2-пиридилдисульфанил)этил N-[[6-фтор-2-[4-(метиламинометил)фенил]-9-оксо-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0⁴,13]тридека-1,4,6,8(13)-тетраен-3-ил]метил]карбамата в виде бесцветного твердого вещества (30 мг, выход 28%). МС m/z 566,4 [M+H]⁺.

Промежуточное соединение VII-7: 2-(2-пиридилдисульфанил)этил N-[1-[6-фтор-2-[4-(метиламинометил)фенил]-9-оксо-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0⁴,13]тридека-1,4,6,8(13)-тетраен-3-ил]-3-метил-бутил]карбамат

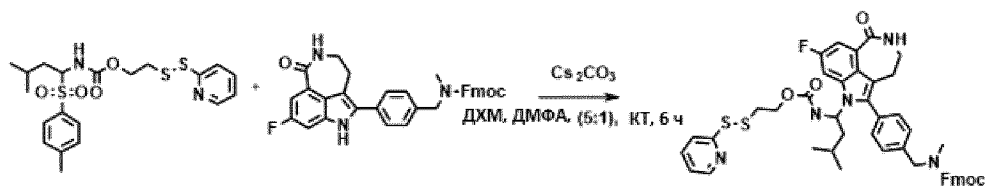


Стадия 1: 2-(2-пиридилдисульфанил)этил (3-метил-1-(фенилсульфонил)бутил)карбамат



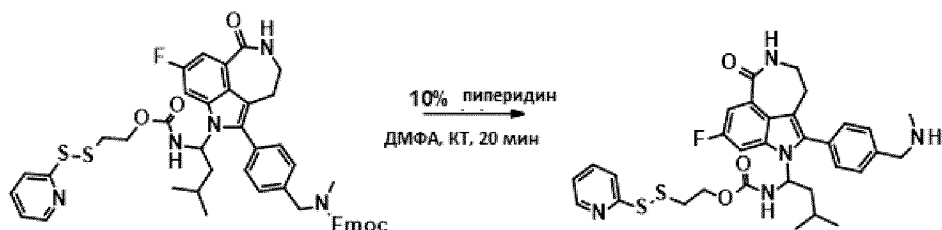
К перемешиваемому раствору 2-(пиридин-2-илдисульфанил)этил карбамата (2,50 г, 0,01 моль) в ТГФ:воде (19 мл, 1:1) добавляли натрий п-толуолсульфинат (1,93 г, 0,01 моль), 3-метилбутаналь (1,26 мл, 0,01 моль), а затем муравьиную кислоту (2,5 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере N_2 в течение 16 часов. Реакционную смесь упаривали досуха и затем очищали колоночной флэш-хроматографией (SiO_2 , 40-70% EtOAc/гексаны) с получением 2-(пиридин-2-илдисульфанил)этил(3-метил-1-(фенилсульфонил)бутил)карбамата (1,7 г, выход 41%). МС m/z 455,1 $[M+H]^+$.

Стадия 2: (9Н-флуорен-9-ил)метил (4-(8-фтор-6-(3-метил-1-(((2-(пиридин-2-илдисульфанил)этоксикарбонил)амино)бутил)-1-оксо-2,3,4,6-тетрагидро-1Н-азетино[5,4,3-сd]индол-5-ил)бензил)(метил)карбамат



К перемешиваемой суспензии (9Н-флуорен-9-ил)метил-(8-фтор-1-оксо-2,3,4,6-тетрагидро-1Н-азепино[5,4,3-сd]индол-5-ил)бензил)(метил)карбамата (0,5 г, 0,92 ммоль) и карбоната цезия (0,89 г, 2,74 ммоль) в CH_2Cl_2 :ДМФА (5:1, 12 мл) порциями добавляли 2-(пиридин-2-илдисульфанил)этил-(3-метил-1-(фенилсульфонил)бутил)карбамат (0,80 г, 1,83 ммоль) в течение 4 часов. Смесь дополнительно перемешивали в течение 2 часов в атмосфере N_2 при комнатной температуре. Ход реакции контролировали с помощью ТСХ. Реакционную смесь разбавляли водой (25 мл) и ДХМ (100 мл). Органический слой отделяли, промывали водой и солевым раствором. Органическую фазу сушили над безводным Na_2SO_4 и упаривали. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-хроматографией (SiO_2 , 90-100% EtOAc/гексаны) с получением (9Н-флуорен-9-ил)метил (4-(8-фтор-6-(3-метил-1-(((2-(пиридин-2-илдисульфанил)этоксикарбонил)амино)бутил)-1-оксо-2,3,4,6-тетрагидро-1Н-азепино[5,4,3-сd]индол-5-ил)бензил)(метил)карбамата (0,35 г, выход 45%). МС m/z 844,1 $[M+H]^+$.

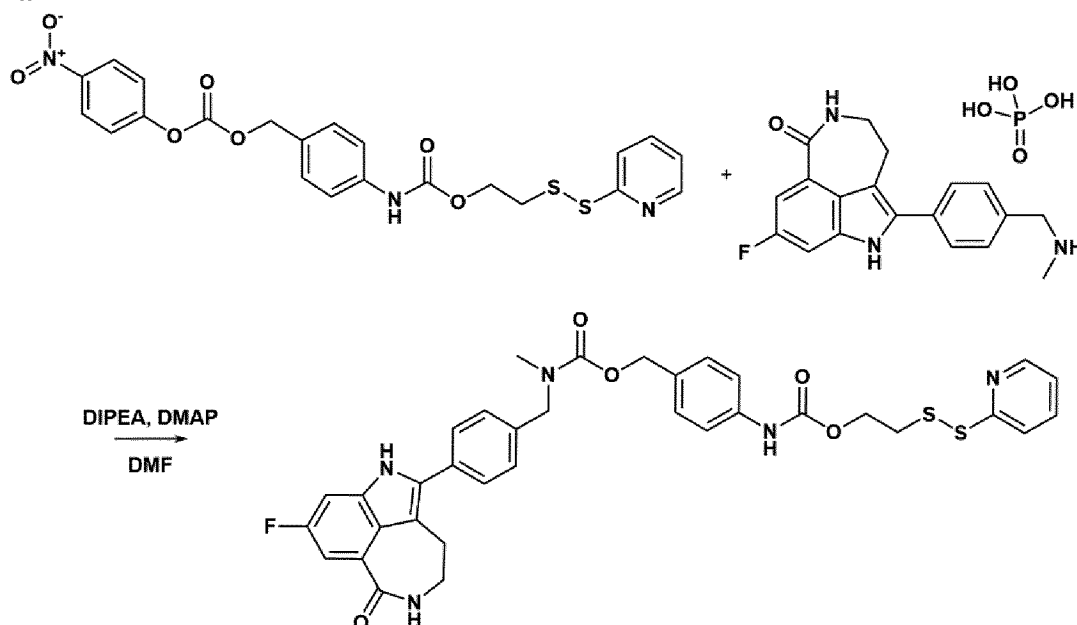
Стадия 3: 2-(2-пиридилдисульфанил)этил N-[1-[6-фтор-2-[4-(метиламинометил)фенил]-9-оксо-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.04,13]тридека-1,4,6,8(13)-тетраен-3-ил]-3-метил-бутил]карбамат



(9Н-флуорен-9-ил)метил (4-(8-фтор-6-(3-метил-1-(((2-(пиридин-2-илдисульфанил)этоксикарбонил)амино)бутил)-1-оксо-2,3,4,6-тетрагидро-1Н-

азепино[5,4,3-cd]индол-5-ил)бензил)(метил) карбамат (0,30 г, 0,355 ммоль) перемешивали с 10% пиперидина в ДМФА (1,4 мл) в течение 20 минут при комнатной температуре в атмосфере N_2 . Реакционную смесь упаривали досуха и растирали с диэтиловым эфиром с получением бесцветного твердого вещества. Полученное твердое вещество дополнительно очищали препаративной ВЭЖХ [Колонка: Inertsil ODS 3V (250 мм X 20 мм X 5 мкм); Подвижная фаза-A-0,1% аммиака в H_2O : Подвижная фаза-B-ACN] с получением 2-(2-пиридилдисульфанил)этил N-[1-[6-фтор-2-[4-(метиламинометил)фенил]-9-оксо-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0^{4,13}]тридека-1,4,6,8(13)-тетраен-3-ил]-3-метил-бутил]карбамата (0,07 г, выход 30%). МС m/z 622,0 $[M+H]^+$.

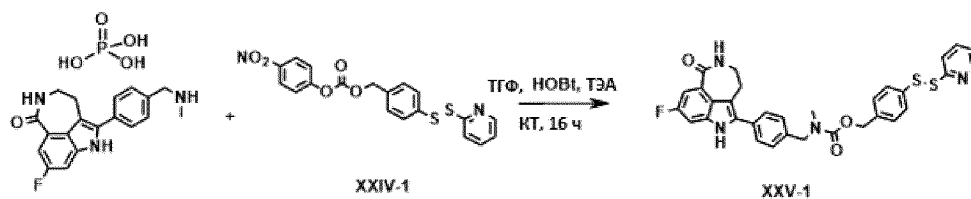
Промежуточное соединение XXI-1: [4-[2-(2-пиридилдисульфанил)этоксикарбониламино]фенил]метил N-[[4-(6-фтор-9-оксо-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0^{4,13}]тридека-1,4(13),5,7-тетраен-2-ил)фенил]метил]-N-метил-карбамат



К 2-[4-(метиламинометил)фенил]-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0^{4,13}]тридека-1,4(13),5,7-тетраен-9-ону; фосфорной кислоте (36,0 мг, 0,09 ммоль) в 2 мл сухого ДМФА в атмосфере N_2 добавляли ДИПЭА (0,03 мл, 0,18 ммоль), DMAP (10,9 мг, 0,09 ммоль) и (4-нитрофенил) [4-[2-(2-пиридилдисульфанил)этоксикарбониламино]фенил]метил карбонат (44,8 мг, 0,09 ммоль). Смесь перемешивали в течение 16 часов. Смесь разбавляли 20 мл EtOAc, промывали 1×20 мл насыщ. раствора NH_4Cl , 2×20 мл насыщ. раствора $NaHCO_3$, 3×30 мл H_2O и 1×20 мл насыщ. солевого раствора. Смесь сушили над $MgSO_4$, фильтровали и упаривали. Неочищенный остаток очищали колоночной хроматографией (SiO_2 , 0-5% $MeOH/CH_2Cl_2$) с получением [4-[2-(2-пиридилдисульфанил)этоксикарбониламино]фенил]метил N-[[4-(6-фтор-9-оксо-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0^{4,13}]тридека-1,4(13),5,7-тетраен-2-ил)фенил]метил]-N-метил-карбамата (44,2 мг, 0,06 ммоль, выход: 75,4%).

Промежуточное соединение XXV-1: [4-(2-пиридилдисульфанил)фенил]метил N-[[4-(6-фтор-9-оксо-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0^{4,13}]тридека-1,4,6,8(13)-тетраен-2-

ил)фенил]метил]-N-метил-карбамат

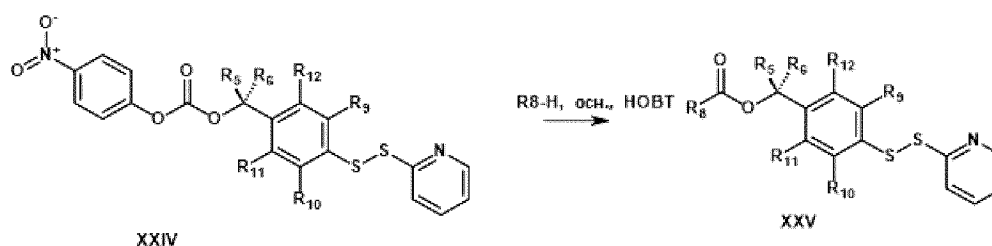


К перемешиваемому раствору 2-[4-(метиламинометил)фенил]-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0^{4,13}]тридека-1,4(13),5,7-тетраен-9-она; фосфорной кислоты (1,00 г, 3,09 ммоль) в ТГФ (20 мл) в атмосфере N₂ добавляли ТЭА (1,40 мл, 3,04 ммоль), НОВт (0,21 г, 1,50 ммоль) и 4-нитрофенил (4-(пиридин-2-илдисульфанил)бензил) карбонат (1,40 г, 3,40 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере N₂ в течение 16 часов. Реакционную смесь упаривали и неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией (SiO₂, 0-5% MeOH/CH₂Cl₂) с получением [4-(2-пиридилдисульфанил)фенил]метил N-[[4-(6-фтор-9-оксо-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0^{4,13}]тридека-1,4,6,8(13)-тетраен-2-ил)фенил]метил]-N-метил-карбамата в виде бесцветного твердого вещества (1,13 г, выход 59%). МС m/z 599,0 [M+H]⁺.

Промежуточные соединения XXV-2 - XXV-5

Промежуточные соединения XXV-2 - XXV-5 получали аналогично Промежуточному соединению XXV-1 с использованием соответствующего R⁸-H соединения и промежуточных соединений XXIV-2 - XXIV-5, как показано ниже в Таблице 18.

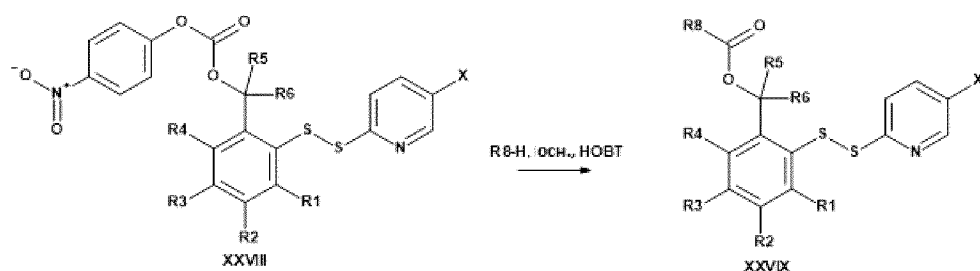
Таблица 18. Дополнительные Промежуточные соединения



Промежут. соед.	R ⁸ H	R ⁵ , R ⁶	R ⁹ , R ¹⁰ , R ¹¹ , R ¹²	X	MH ⁺
XXV-2	R ⁸ H-16	H, H	Me, H, H, H	H	613,2
XXV-3	R ⁸ H-16	H, H	H, H, Me, H	H	613,0
XXV-4	R ⁸ H-16	H, H	Me, Me, H, H	H	627,0
XXV-5	R ⁸ H-3	H, H	H, H, H, H	H	596,2
XXV-6	R ⁸ H-4	H, H	H, H, H, H	H	520,2
XXV-7	R ⁸ H-21	H, H	H, H, H, H	H	739,2

Синтез промежуточных соединений XXVIX из XXVII

Таблица 19. Промежуточные соединения XXVIX

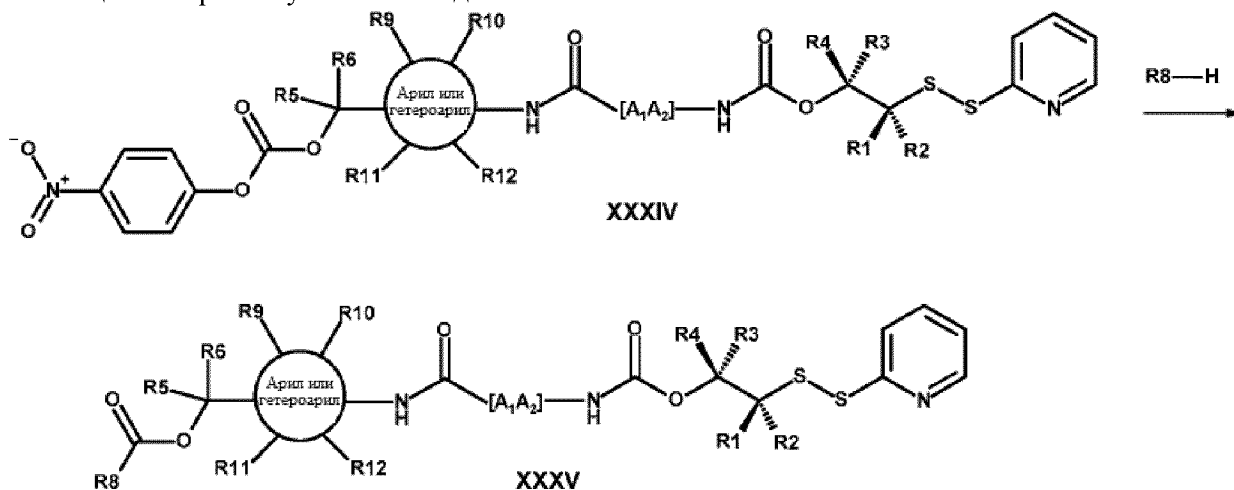


Промежут. соед.	R ⁸	R ¹ , R ²	R ³ , R ⁴	R ⁵ , R ⁶	X	MH+
XXVIX-1	R ₈ H-16	H, H	H, H	H, H	H	599,1

Промежуточное соединение XXVIX-1 получали из Промежуточного соединения XXVIII-1 аналогично Промежуточному соединению XXV-1.

Промежуточные соединения XXXV из XXXIV

Таблица 20. Промежуточные соединения XXXV

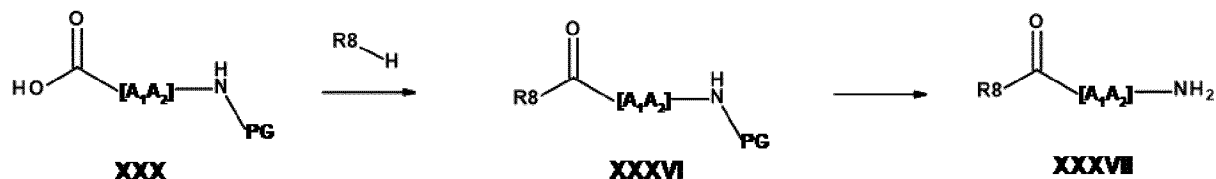


Промежут . соед.	R ⁸	R ¹ , R ² , R ³ , R ⁴	R ⁵ , R ⁶	R ⁹ , R ₁₀ , R ₁₁ , R ₁₂	A ₁ , A ₂	MH+
XXXV-1	R ₈ H-16	H, H, H, H	H, H	H, H, H, H	Cit, Val	942,4

Промежуточное соединение XXXV-1 получали из Промежуточного соединения XXXIV-1 аналогично Промежуточному соединению XXV-1.

Промежуточные соединения XXXVII из XXX

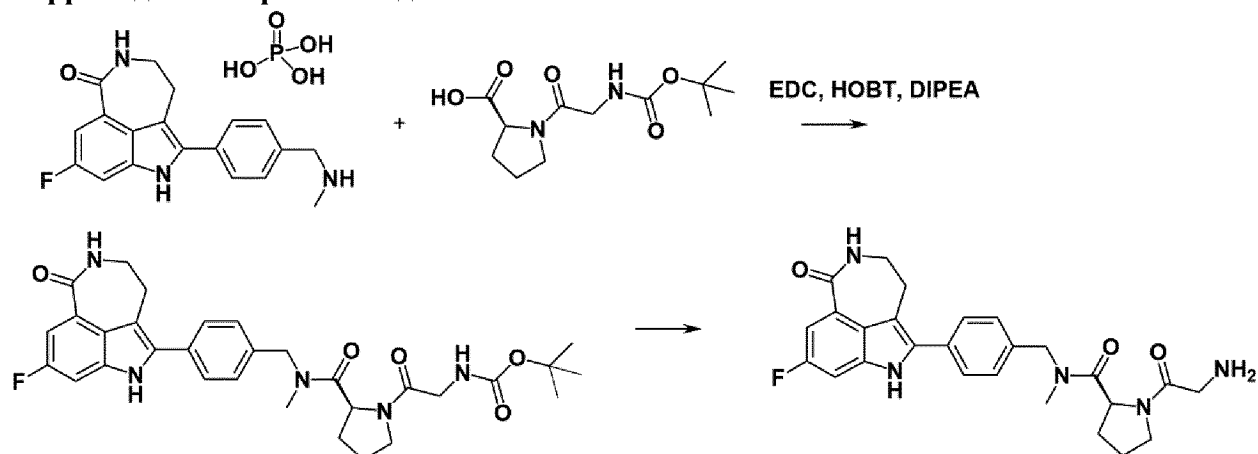
Таблица 21. Промежуточные соединения XXXVII



Промежут.	R ⁸	R ¹ , R ² , R ³ , R ⁴	A ₁ , A ₂	X	MH+
-----------	----------------	---	---------------------------------	---	-----

соед.					
XXXVII-1	R ⁸ H-16	H, H, H, H	Pro, Gly	H	478,2

Синтез XXXVII-1: (2S)-1-(2-аминоацетил)-N-[[4-(6-фтор-9-оксо-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0^{4,13}]тридека-1,4,6,8(13)-тетраен-2-ил)фенил]метил]-N-метил-пирролидин-2-карбоксамид



Стадия 1. Синтез трет-бутил-N-[2-[(2S)-2-[[4-(6-фтор-9-оксо-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0^{4,13}]тридека-1,4,6,8(13)-тетраен-2-ил)фенил]метил-метил-карбамоил]пирролидин-1-ил]-2-оксо-этил]карбамата

1-[2-(трет-бутоксикарбониламино)ацетил]пирролидин-2-карбоновую кислоту (0,16 г, 0,59 ммоль) растворяли в ДМФА и к ней добавляли 1-гидроксибензотриазол гидрат (80,0%, 114 мг, 0,59 ммоль) и EDC HCl (114 мг, 0,59 ммоль). Раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 15 минут перед добавлением 6-фтор-2-[4-(метиламинометил)фенил]-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0^{4,13}]тридека-1,4,6,8(13)-тетраен-9-она; фосфорной кислоты (200 мг, 0,475 ммоль) и N, N-диизопропилэтиламина (0,44 мл, 2,37 ммоль). Раствор затем нагревали при 65 °C в течение ночи. ЖХ-МС указывала на завершение реакции. Реакционную смесь разбавляли EtOAc, промывали нас. раствором NH₄Cl, водой и соевым раствором. Неочищенный [1-[2-(трет-бутоксикарбониламино)ацетил]пирролидин-2-ил]-N-[[4-(6-фтор-9-оксо-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0^{4,13}]тридека-1,4,6,8(13)-тетраен-2-ил)фенил]метил]-N-метил-карбамат (141 мг, 0,24 ммоль, выход: 50,0%) использовали в следующей стадии без дополнительной очистки. МС m/z 478,2 (M+H минус BOC)⁺.

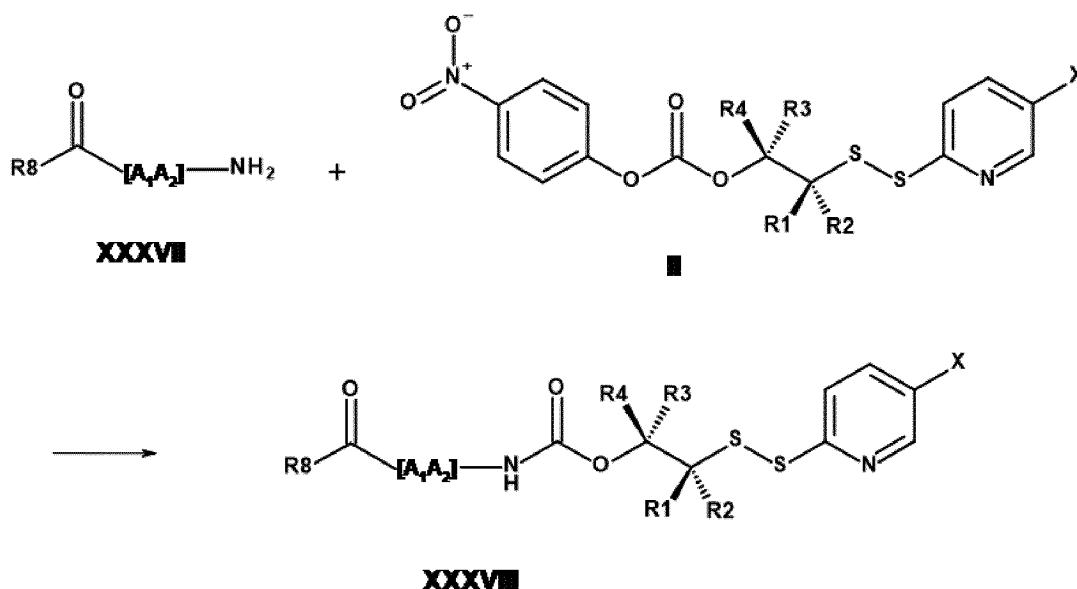
Стадия 2. Синтез (2S)-1-(2-аминоацетил)-N-[[4-(6-фтор-9-оксо-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0^{4,13}]тридека-1,4,6,8(13)-тетраен-2-ил)фенил]метил]-N-метил-пирролидин-2-карбоксамид

Трет-бутил-N-[2-[2-[[4-(6-фтор-9-оксо-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0^{4,13}]тридека-1,4,6,8(13)-тетраен-2-ил)фенил]метил-метил-карбамоил]пирролидин-1-ил]-2-оксо-этил]карбамат (141 мг, 0,24 ммоль) растворяли в ДХМ и добавляли 1 мл HCl (4,00 M, 0,12 мл, 0,48 ммоль) в диоксане. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. ЖХ-МС указывала на завершение реакции. Реакционную

смесь упаривали и очищали обращенно-фазовой хроматографией (20-85% ACN/H₂O) с получением 68 мг 1-(2-аминоацетил)-N-[[4-(6-фтор-9-оксо-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0^{4,13}]тридека-1,4,6,8(13)-тетраен-2-ил)фенил]метил]-N-метил-пирролидин-2-карбоксамида (68,0 мг, 0,142 ммоль, выход: 58,3%). МС m/z 478,2 [M+H]⁺.

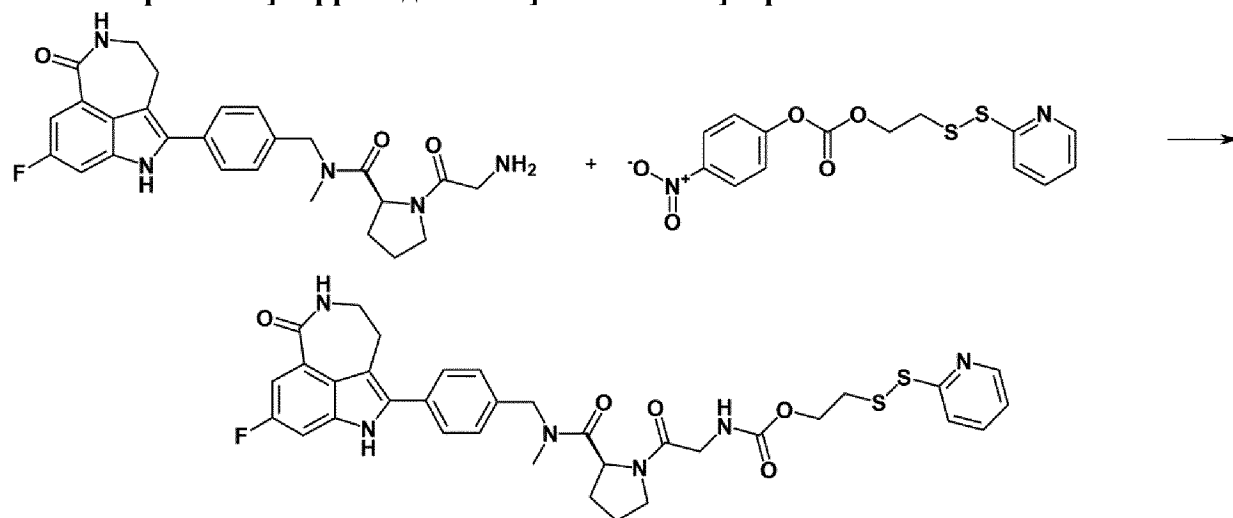
Промежуточные соединения XXXVIII

Таблица 22. Промежуточные соединения XXXVIII



Промежут. соед.	R8	R ₁ , R ₂ , R ₃ , R ₄ ,	A ₁ , A ₂	X	MH+
XXXVIII-1	R ₈ H-16	H, H, H, H	Pro, Gly	H	691,2

Синтез XXXVIII-1: 2-(2-пиридилдисульфанил)этил N-[2-[(2S)-2-[[4-(6-фтор-9-оксо-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0^{4,13}]тридека-1,4,6,8(13)-тетраен-2-ил)фенил]метил-метил-карбамоил]пирролидин-1-ил]-2-оксо-этил]карбамат

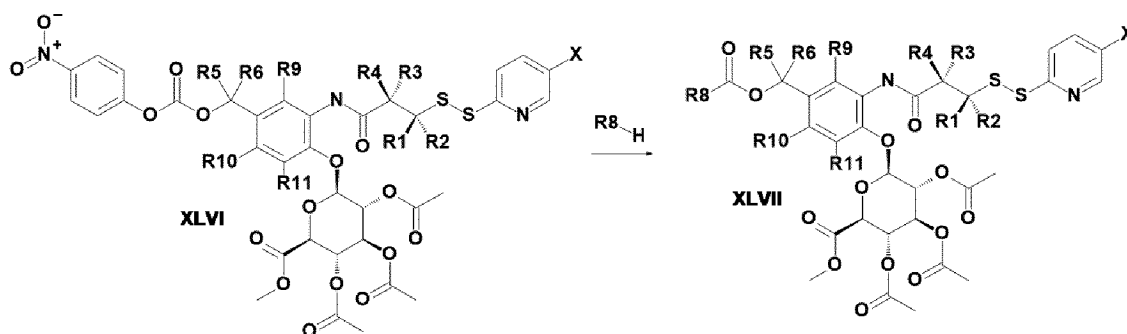


К 1-(2-аминоацетил)-N-[[4-(6-фтор-9-оксо-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0^{4,13}]тридека-1,4,6,8(13)-тетраен-2-ил)фенил]метил]-N-метил-пирролидин-2-карбоксамиду (68,0 мг, 0,142 ммоль) в 2 мл сухого ДМФА добавляли DMAP (17,4 мг, 0,142 ммоль), (4-

нитрофенил) 2-(2-пиридилдисульфанил)этил карбонат (50,2 мг, 0,142 ммоль) и N, N-диизопропилэтиламин (27,6 мг, 0,214 ммоль). Смесь перемешивали в течение 16 часов и затем разбавляли 50 мл EtOAc и промывали 1×20 мл насыщ. раствора NH₄Cl, 3×30 мл H₂O и 1×20 мл насыщ. солевого раствора. Смесь сушили над MgSO₄, фильтровали и упаривали. Неочищенный остаток очищали на колонке SiO₂ (0-3% MeOH/ДХМ) с получением 30 мг 2-(2-пиридилдисульфанил)этил N-[2-[2-[[4-(6-фтор-9-оксо-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0^{4,13}]тридека-1,4,6,8(13)-тетраен-2-ил)фенил]метил-метил-карбамоил]пирролидин-1-ил]-2-оксо-этил]карбамата (30,0 мг, 0,0434 ммоль, выход: 30,5%). МС m/z 691,2 [M+H]⁺.

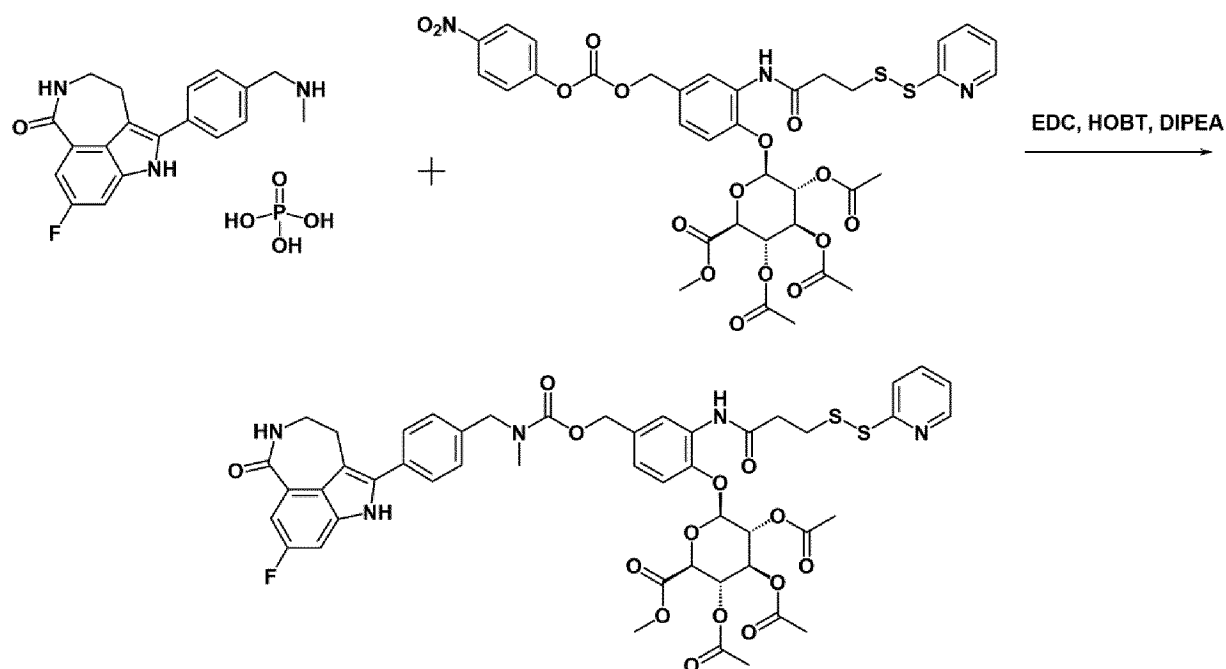
Промежуточные соединения XLVIII из XLVI

Таблица 23. Промежуточные соединения XLVIII



Промежут . соедин.	R8	R ₁ , R ₂ , R ₃ , R ₄ ,	R ₅ , R ₆	R ₉ , R ₁₀ , R ₁₁ , R ₁₂	X	MH ⁺
XLVII-1	R ₈ H-16	H, H, H, H	H, H	H, H, H, H	H	1002,1

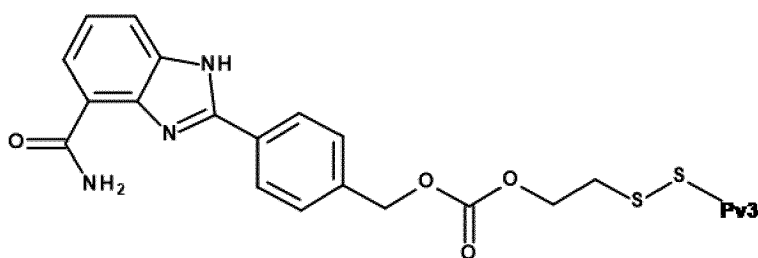
Синтез XLVII-1: Метил (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-триацетокси-6-[3-R10-2-R11-4-[[[4-(6-фтор-9-оксо-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0^{4,13}]тридека-1,4,6,8(13)-тетраен-2-ил)фенил]метил-метил-карбамоил]оксиметил]-6-[3-(2-пиридилдисульфанил)пропаноиламино]фенокси]тетрагидропиран-2-карбоксилат



К смеси 1-гидроксibenзотриазол гидрата (13,0 мг, 0,0851 ммоль), тонко измельченных молекулярных сит 4 Å (100 мг) и 6-фтор-2-[4-(метиламинометил)фенил]-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0(4,13)]тридека-1,4,6,8(13)-тетраен-9-она; фосфорной кислоты (35,9 мг, 0,0851 ммоль) в 2 мл безводного ДМФА добавляли метил (2S,3S,4S,5R)-3,4,5-триацетокси-6-[4-[(4-нитрофенокси)карбонил оксиметил]-2-[3-(2-пиридилдисульфанил)пропаноиламино]фенокси]тетрагидропиран-2-карбоксилат (58,0 мг, 0,0709 ммоль). После перемешивания в течение 16 часов при комнатной температуре, молекулярные сита отфильтровывали и растворитель удаляли под вакуумом. Реакционную смесь разбавляли EtOAc, промывали нас. раствором NH_4Cl , водой и соевым раствором. Органический слой сушили над NaSO_4 и упаривали. Неочищенный остаток очищали колоночной хроматографией (0-3% MeOH/ДХМ) с получением 35 мг метил (2S,3S,4S,5R)-3,4,5-триацетокси-6-[4-[[[4-(6-фтор-9-оксо-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0(4,13)]тридека-1,4,6,8(13)-тетраен-2-ил)фенил]метил-метил-карбамоил]оксиметил]-2-[3-(2-пиридилдисульфанил)пропаноиламино]фенокси]тетрагидропиран-2-карбоксилата (43,0 мг, 0,0429 ммоль, выход: 60,5%) с небольшой неизвестной примесью. МС m/z 1002,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Конъюгированные Соединения

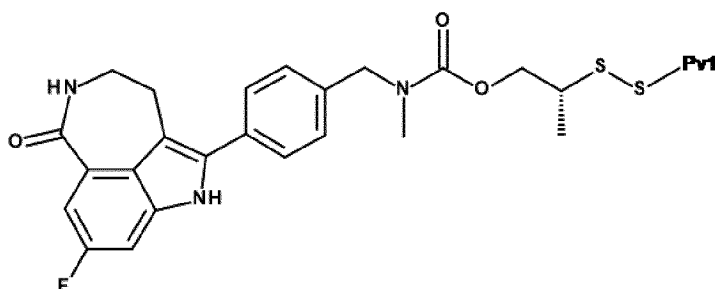
Пример 3



Один 8 мл флакон, содержащий ФСБ, и один 8 мл флакон, содержащий ДМФА,

дегазировали барботированием N_2 в течение 1 часа. В отдельный флакон помещали Вариант Пептида 3 («Pv3» 50,0 мг, $1,31e-5$ моль). Дегазированные 1,0 мл ФСБ и порцию 3,0 мл ДМФА добавляли к [4-(4-карбамоил-1Н-бензимидазол-2-ил)фенил]метил 2-(2-пиридилдисульфанил)этил карбонату (18,9 мг, $3,92e-5$ моль). К смеси добавляли CH_3CO_2H (0,05 мл $0,000873$ моль). Смесь помещали под N_2 и перемешивали при комнатной температуре в течение 16 часов. Смесь контролировали на прогресс ОФ ВЭЖХ до полного расхода исходного пептида и оставшегося пиридил дисульфида (Ace Equivalence $250 \times 4,6$ мм, 50% изократические условия, 25 минут прогона). Неочищенную реакционную смесь очищали препаративной ОФ ВЭЖХ (Sunfire 30×150 мм; CH_3CN/H_2O (0,1% ТФУ) градиент, 16 минут прогона) с получением Примера 3 (28,6 мг, выход 54%).

Пример 18

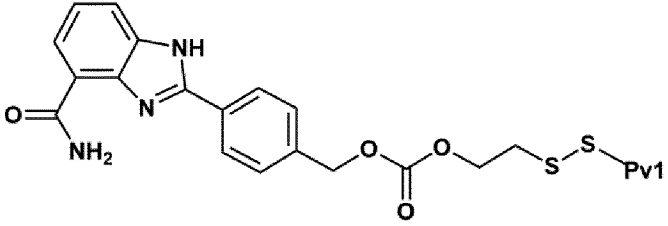
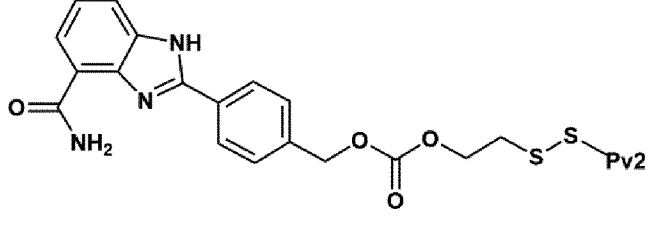
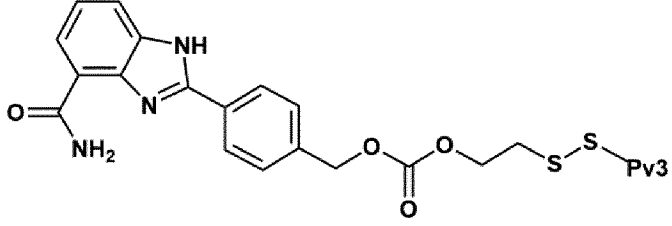
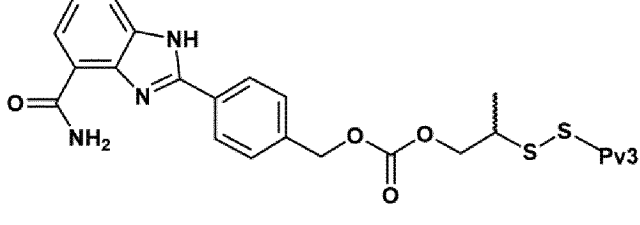
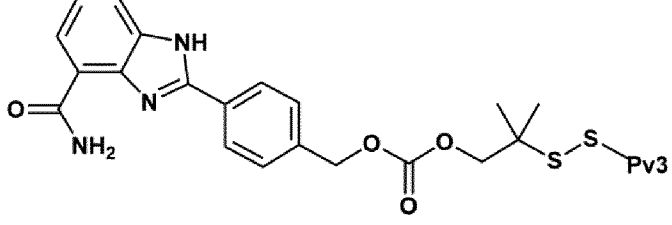
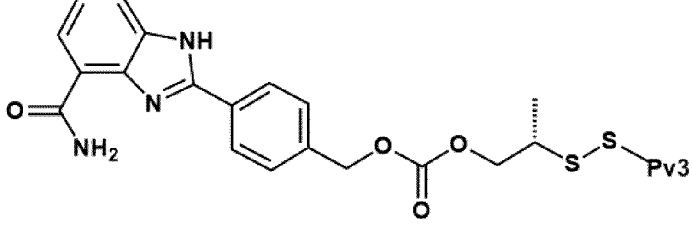


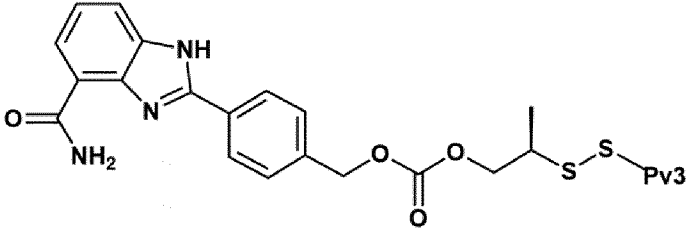
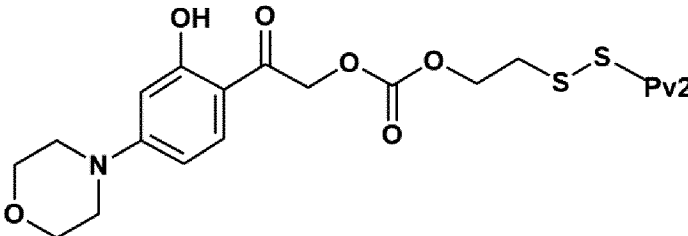
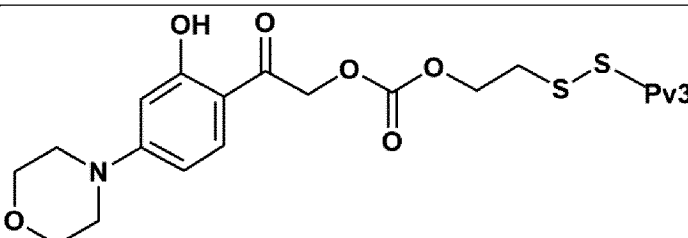
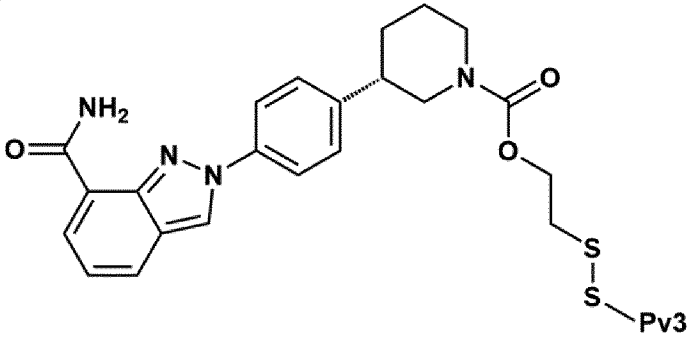
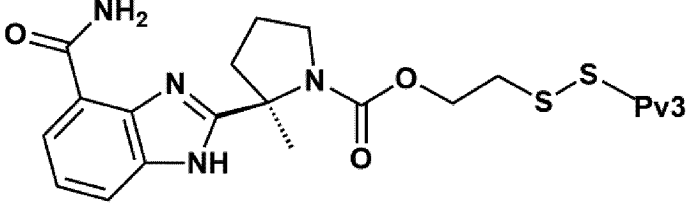
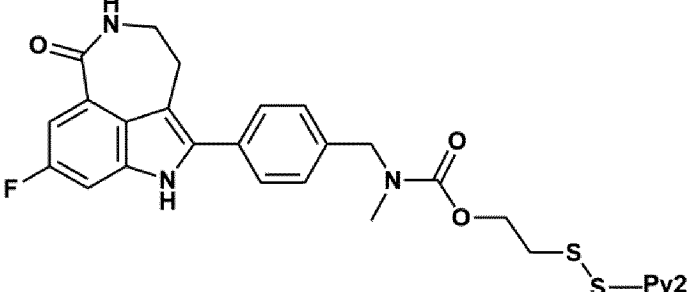
Два отдельных 8 мл флакона, содержащие ФСБ и ДМФА, соответственно, дегазировали барботированием N₂ в течение 1 часа. В отдельный флакон помещали Pv1 (50,0 мг, 0,02 ммоль). В данный флакон добавляли [(2R)-2-(2-пиридилдисульфанил)пропил] N-[[4-(6-фтор-3,10-дiazатрицикло[6.4.1.0^{4,13}]тридека-1,4,6,8(13)-тетраен-2-ил)фенил]метил]-N-метил-карбамат [Промежуточное соединение III-4] (16,2 мг, 0,03 ммоль), 1,33 мл ФСБ и 4 мл ДМФА с последующим добавлением уксусной кислоты (4,2 мкл, 0,08 ммоль). Смесь помещали под N₂ и перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Смесь очищали препаративной ВЭЖХ (40-72% CH₃CN/H₂O, 15 минут) с получением Примера 18 (29,0 мг, 0,008 ммоль, выход 53%).

Следующие соединения получали аналогично Примеру 18 с использованием соответствующих Промежуточных соединений и пептидов.

Таблица 24. Примеры соединений

Пример	Структура	МС А: Maldi-TOF В: m/z=3	Колонка % ACN/H ₂ O Время прогона КТ
--------	-----------	--------------------------------	--

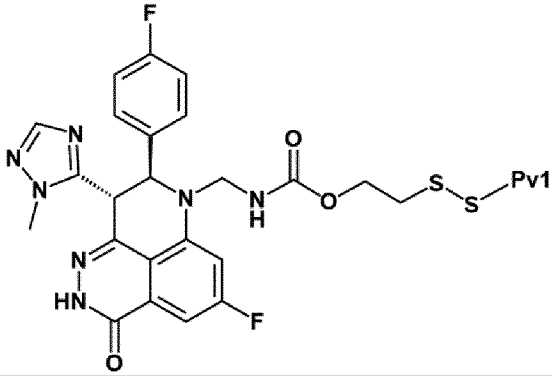
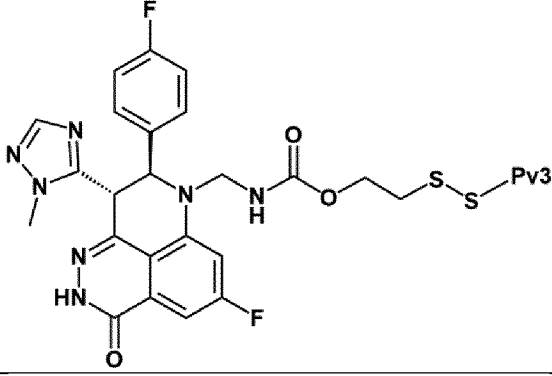
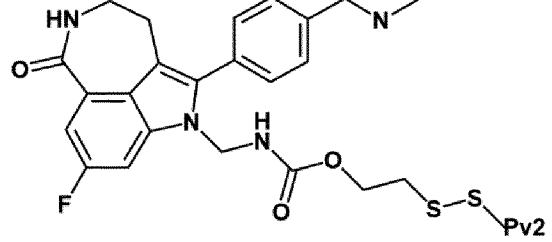
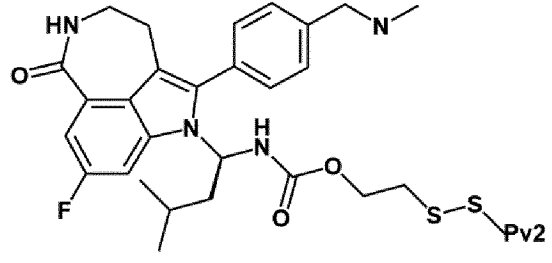
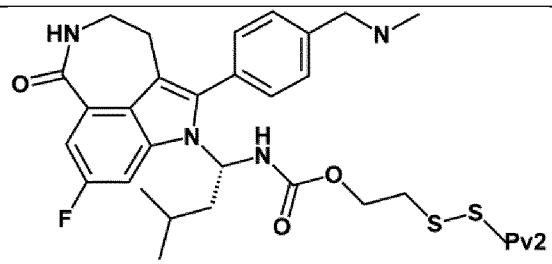
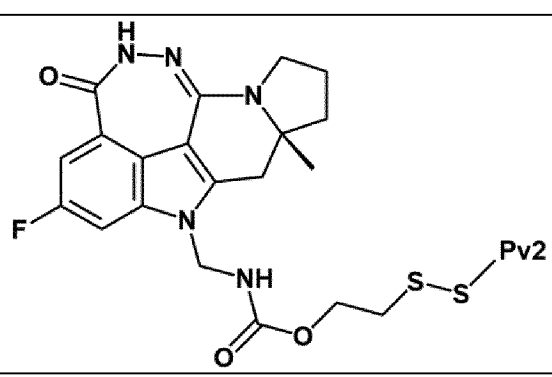
1		A: 3649,5	A 25-75% 10 мин 6,9 мин
2		A: 4381,8	A 25-75% 10 мин 7,7 мин
3		A: 4081,8	B 20-80% 15 мин 15,6 мин
4		A: 4094,2	<u>Диастереом</u> <u>ер 1</u> A 45-55% 10 мин 6,3 мин <u>Диастереом</u> <u>ер 2</u> A 45-55% 10 мин 6,6 мин
5		A: 4107,7	A 30-50% 10 мин 6,6 мин
6		A: 4095,0	A 45-55% 10 мин 6,3 мин

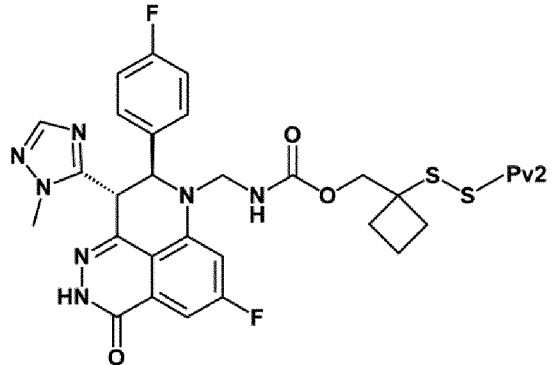
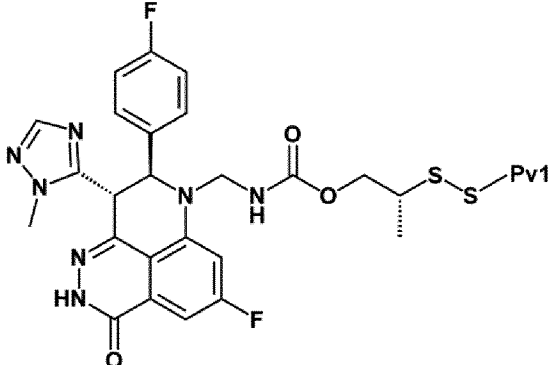
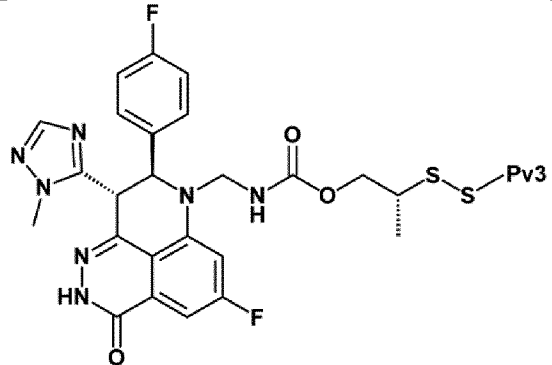
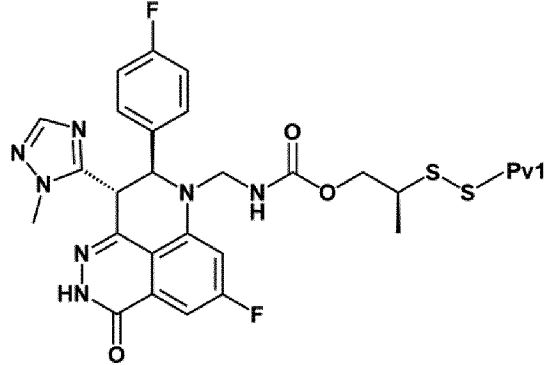
7		A: 4094,7	A 45-55% 10 мин 6,6 мин
8		A: 4350,8	A 50% изо. 10 мин 5,5 мин
9		A: 4049,6	A 25-75% 10 мин 8,5 мин
10		A: 4133,0	A 50% изо 10 мин 6,5 мин
11		A: 4055,3	A 25-75% 10 мин 6,7 мин
15		A: 4436,2	A 10-95% 10 мин 9,1 мин

24		A: 4477,3	C 30-50% 13 мин 6,3 мин
25		A: 4511,8	C 30-50% 11 мин 7,5 мин
26		A: 4493,8	C 48-64% 11 мин 8,0 мин
27		A: 4478,6	C 52-60% 11 мин 8,5 мин
44		A: 3744,3	C 50-85% 13 мин 4,4 мин

45		A: 4145,3	С 25-95% 15 мин 8,5 мин
46		A: 4146,0	С 25-95% 15 мин 8,5 мин
47		A: 4446,5	С 35-95% 12 мин 7,3 мин
48		A: 4446,5	С 35-95% 12 мин 7,3 мин
49		A: 4434,2	С 35-91% 11 мин 7,2 мин

51		A: 4069,7	C 20-65% 10 мин 8,2 мин
52		A: 4070,3	C 20-65% 10 мин 8,2 мин
53		A: 4357,6	C 35-91% 12 мин 7,3 мин
54		A: 4370,6	C 35-70% 11 мин 7,4 мин
55		A: 4369,9	C 35-70% 11 мин 7,4 мин
57		B: 1617,1	C 25-75% 15 мин 11,5 мин
58		B: 1542,1	C 25-75% 15 мин 11,7 мин

16		A: 3790,0	A 40-80% 10 мин 7,1 мин
17		A: 4220,1	A 40-80% 10 мин 6,7 мин
33		A: 4462,8	C 40-58% 9 мин 6,8 мин
34		A: 4520,7	<u>Диастереомер 1</u> C 40-67% 12 мин 9,8 мин
35		A: 4521,4	<u>Диастереомер 2</u> C 40-57% 12 мин 10,2 мин
38		A: 4440,5	C 40-60% 12 мин 8,5 мин

39		A: 4559,6	C 50-80% 15 мин 6,5 мин
40		A: 3804,0	C 40-62% 12 мин 8,6 мин
41		A: 4234,7	C 40-70% 11 мин 6,5 мин
42		A: 3805,3	C 40-62% 12 мин 8,5 мин

Синтез Конечных соединений из Промежуточных соединений XII

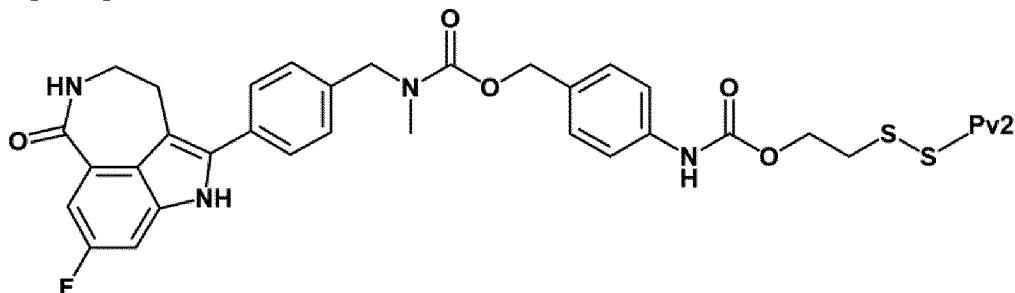
Следующее соединение получали из Промежуточного соединения XII-1.

Таблица 26. Дополнительные Примеры

Пример	Структура	МС А: Maldi-TOF В: m/z=3	Колонка %ACN/H ₂ O Время прогона КТ
--------	-----------	--------------------------------	---

60		B: 1460,8	C 20-65% 2 мин 11,1 мин
----	---	-----------	----------------------------------

Пример 32

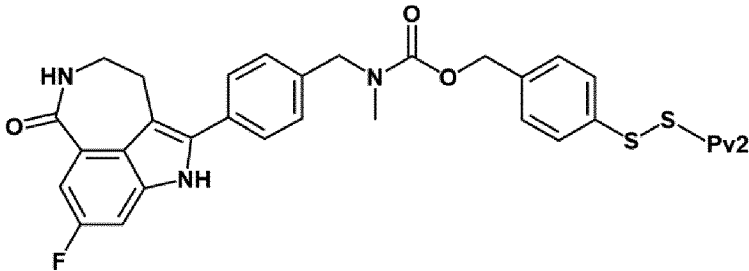
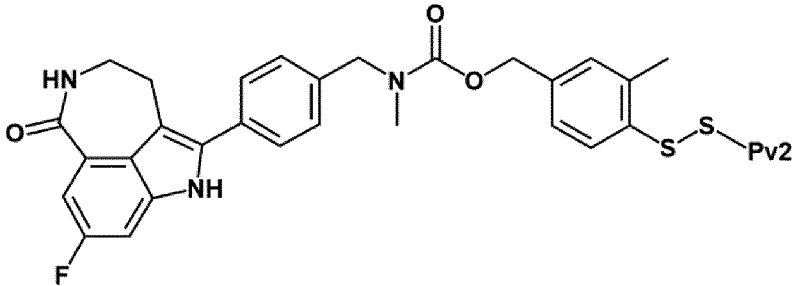


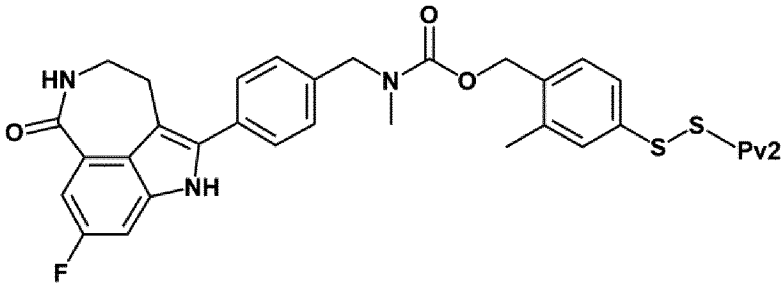
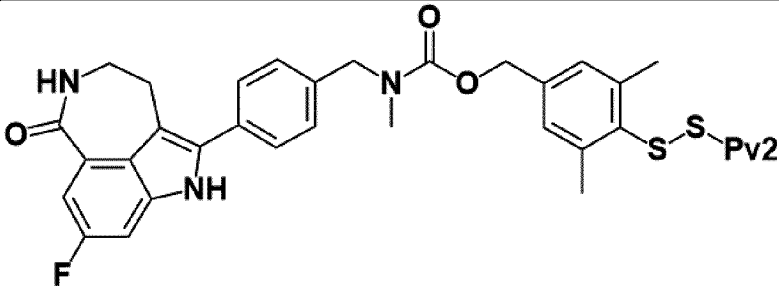
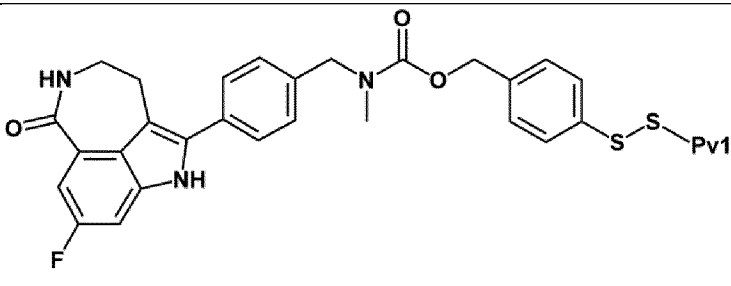
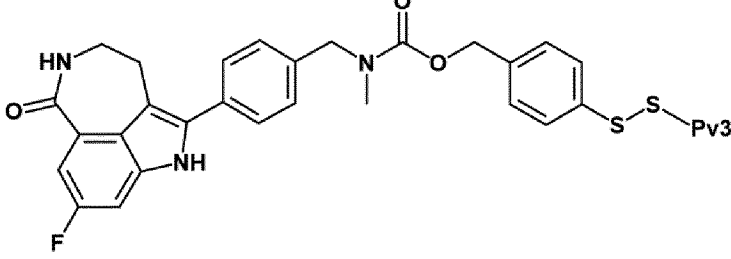
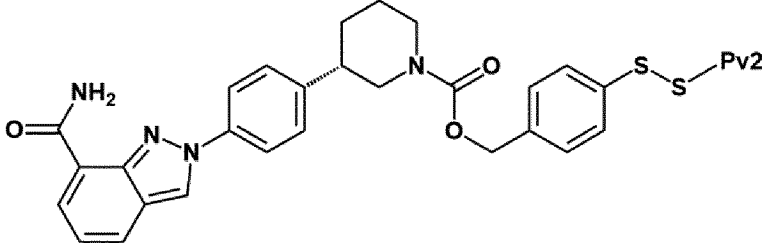
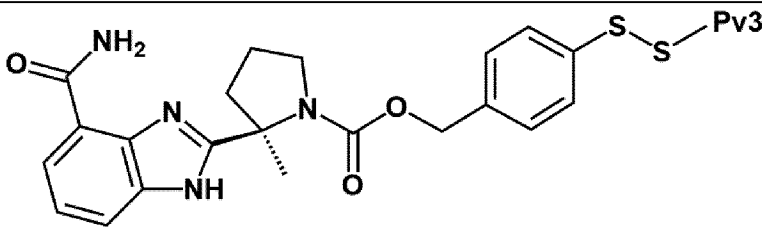
Пример 32 синтезировали из Промежуточного соединения XXI и пептида Pv2. МС (Maldi-TOF) эксп. являлась 4582,9. Соединение очищали с использованием 30-50% ацетонитрила в воде, Условия 3, при элюировании 11 и 8,3 минут.

Синтез соединений из Промежуточных соединений XXV

Следующие соединения получали аналогично Примеру 18 из Промежуточных соединений XXV.

Таблица 27. Примеры соединений

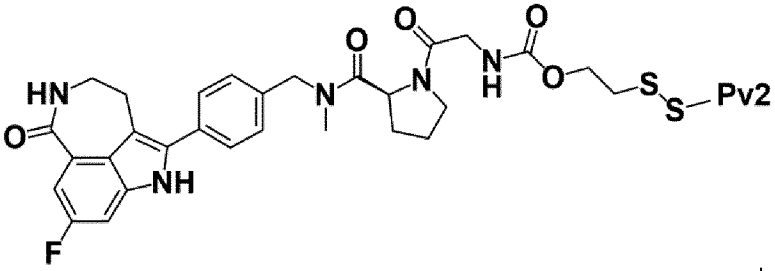
Прим ер	Структура	МС А: Maldi- TOF В: m/z=3	Колон ка %ACN /H ₂ O КТ
28		А: 4497,8	С 50-80% 15 мин 6,5 мин
29		А: 4510,9	С 50- 100% 20 мин 7,4 мин

30		A: 4510,3	C 50- 100% 20 мин 7,3 мин
31		A: 4526,2	C 50- 100% 20 мин 7,0 мин
36		A: 3767,3	C 40-90% 15 мин 7,0
37		A: 4196,8	C 40-90% 15 мин 6,4 мин
50		B: 1397,6	C 20-95% 16 мин 9,5 мин
56		B: 1373,5	C 35-60% 15 мин 9,3 мин

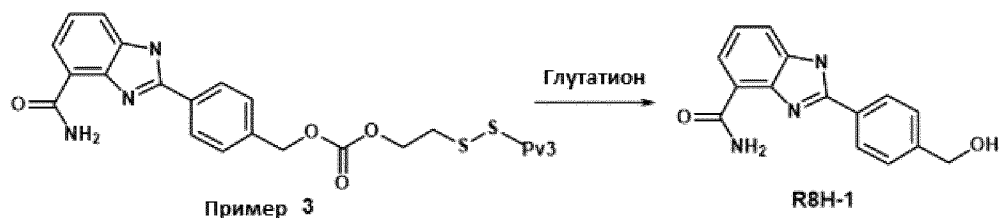
Синтез Конечных соединений из Промежуточных соединений XXV

Следующее соединение получали аналогично Примеру 18 из Промежуточного соединения XXV.

Таблица 28. Примеры соединений

64		В: 1531,8	С
			35-75%
			10 мин
			7,6 мин

Пример А. Расщепление Соединений



К (2S)-2-амино-5-[[[(1R)-2-(карбоксиметиламино)-2-оксо-1-(сульфанилметил)этил]амино]-5-оксо-пентановой кислоте (4,90 мг, 0,0159 ммоль) добавляли 2 мл буфера 1М Трис HCl (pH 7,0) для получения 8 мМ раствора. Аликвоту 1 мл данного раствора добавляли к Примеру 3 (0,400 мг, $9,81 \times 10^{-5}$ ммоль) для получения 100 мкМ раствора. Данную смесь нагревали при 37 °С с временными точками, взятыми с интервалом 15 минут, для измерения целостности конъюгата. Наблюдали стабильную потерю конъюгата при соизмеримом появлении 2-[4-(гидроксиметил)фенил]-1~{H}-бензимидазол-4-карбоксамида. Расщепление было завершено на временной точке 60 минут, наблюдаемой/подтвержденной MSD. Условия ВЭЖХ: ES Industries Sonoma 4,6×50 мм; 5-100% CH₃CN/H₂O (0,1% ТФУ); 5,5 мин прогон; ВУ Конъюгата: 3,71; ВУ Продукта: 2,24.

Другие соединения аналогичным образом расщепляли с получением соответствующих R₈H молекул.

Неочищенный раствор расщепления, содержащий расщепленные соединения по данному изобретению, анализировали, как описано ниже в Примерах В и С с целью оценки количества расщепленного R⁸H. В дополнение к расщепленным соединениям, анализы были выполнены также на нескольких из R⁸ исходных материалах, приведенных в Таблице 2.

Пример В. Ферментативный анализ 1 расщепленных Соединений (PARP)

Анализ проводили с использованием Набора Гомогенного Анализа Ингибирования PARP Trevigen's HT F (#4690-096-K) следующим образом: Очищенный PARP фермент инкубировали в присутствии серийно разведенного ингибитора PARP (например, соединение Примеров, расщепленное в соответствии с Примером А) в двух экземплярах и 1 мкМ NAD в течение тридцати минут при комнатной температуре в черных круглодонных 96-луночных планшетах. Равный объем смеси для промывания добавляли в каждую лунку, и реакционную смесь инкубировали в течение одного часа при комнатной температуре. Реакции останавливали добавлением стоп-раствора и планшеты считывали

на планшетном ридере BioTek Cytation 5 с использованием флуоресценции (544 нм возбуждение и 590 нм излучение) конечной точки. Результаты построены на графике на GraphPad Prism и приведены ниже.

Таблица 31. Гомогенный Анализ Ингибирования PARP HT F Расщепленных Соединений

Проанализированное Соединение	Ферментативный Анализ IC ₅₀ 1 (нМ)
R ⁸ H-1	96,8
Пример 3 (Расщепленный)	104
Пример 6 (Расщепленный)	202
Пример 7 (Расщепленный)	111

Пример С. Ферментативный анализ 2 расщепленных Соединений (PARP)

Анализ проводили с использованием Универсального Набора Хемилюминесцентного Анализа Ингибирования PARP Trevigen's HT (#4676-096-K) следующим образом: Очищенный PARP фермент инкубировали в присутствии серийно разведенного ингибитора PARP (например, соединение Примеров, расщепленное в соответствии с Примером А) в двух экземплярах в течение десяти минут при комнатной температуре в регидратированных 96-луночных планшетах, содержащих связанные гистоны. Равный объем 1х PARP коктейля, содержащего активированную ДНК, добавляли в каждую лунку, и реакционную смесь инкубировали в течение одного часа при комнатной температуре. Лунки дважды промывали 1х ФСБ+0,1% Triton X-100 и дважды ФСБ. Добавляли 50 мкл/лунку разбавленного стрептавидина - HRP и лунки инкубировали в течение одного часа при комнатной температуре. Лунки дважды промывали 1х ФСБ+0,1% Triton X-100 и промывали дважды ФСБ. Жидкость удаляли, добавляли 100 мкл/лунку 1:1 PeroxyGlow A/ PeroxyGlow B и показания хемилюминесценции измеряли на планшетном ридере BioTek Cytation 5 с использованием люминесценции конечной точки волокна. Результаты нанесены на графике на GraphPad Prism и приведены ниже.

Таблица 32. Универсальный Хемилюминесцентный Анализ Ингибирования PARP HT Расщепленных Соединений

Проанализированное Соединение	Ферментативный Анализ IC ₅₀ 2 (нМ)
R ⁸ H -1	6,4
R ⁸ H-3	3,9
R ⁸ H-4	1,3
R ⁸ H-15	1,0
R ⁸ H-16	0,8
R ⁸ H-17	1,0
Пример 1 (Расщепленный)	12,1

Пример 2 (Расщепленный)	9,52
Пример 3 (Расщепленный)	9,15
Пример 6 (Расщепленный)	9,29
Пример 7 (Расщепленный)	6,45
Пример 10 (Расщепленный)	64,9
Пример 11 (Расщепленный)	1,08
Пример 12 (Расщепленный)	0,47
Пример 13 (Расщепленный)	1,0
Пример 14 (Расщепленный)	0,5
Пример 15 (Расщепленный)	6,47
Пример 16 (Расщепленный)	0,61
Пример 17 (Расщепленный)	0,41
Пример 18 (Расщепленный)	1,1
Пример 19 (Расщепленный)	2,2
Пример 20 (Расщепленный)	1,7
Пример 21 (Расщепленный)	2,2
Пример 22 (Расщепленный)	1,8
Пример 23 (Расщепленный)	2,5
Пример 24 (Расщепленный)	7,6
Пример 25 (Расщепленный)	3,4
Пример 26 (Расщепленный)	2,0
Пример 27 (Расщепленный)	3,9
Пример 28 (Расщепленный)	2,4
Пример 29 (Расщепленный)	6,4
Пример 30 (Расщепленный)	2,9
Пример 31 (Расщепленный)	3,3
Пример 32 (Расщепленный)	43,9
Пример 33 (Расщепленный)	2,3
Пример 34 (Расщепленный)	2,5
Пример 35 (Расщепленный)	3,1
Пример 36 (Расщепленный)	2,2
Пример 37 (Расщепленный)	3,1
Пример 38 (Расщепленный)	2,8
Пример 39 (Расщепленный)	3,0

Пример 40 (Расщепленный)	1,1
Пример 41 (Расщепленный)	1,9
Пример 42 (Расщепленный)	1,4
Пример 43 (Расщепленный)	1,4
Пример 44 (Расщепленный)	1,5
Пример 45 (Расщепленный)	3,2
Пример 46 (Расщепленный)	3,7
Пример 47 (Расщепленный)	2,4
Пример 48 (Расщепленный)	2,1
Пример 49 (Расщепленный)	26
Пример 50 (Расщепленный)	2,0
Пример 51 (Расщепленный)	0,9
Пример 52 (Расщепленный)	1,1
Пример 53 (Расщепленный)	1,0
Пример 54 (Расщепленный)	0,6
Пример 55 (Расщепленный)	0,7
Пример 56 (Расщепленный)	0,8

Пример D. Анализ ИФА поли-АДФ-рибозилирования

Двенадцатилуночные тканевые культуральные планшеты высевали клетками HeLa и инкубировали при 37 °С с 5% CO₂ с получением 80% сплошных монослоев клеток на следующий день. Монослои обрабатывали трижды серией разведений либо свободного лекарственного средства, либо конъюгата при желаемом рН в течение 1 часа при 37 °С. Монослои отсасывали и в каждую лунку добавляли по 150 мкл буфера для лизиса RIPA с добавлением ингибиторов протеазы и фосфатазы. Планшеты инкубировали на льду в течение 10 минут, а затем замораживали. После оттаивания, лизаты дополняли Mg и инкубировали с ДНКазой в течение 90 минут при 37 °С. Образцы осветляли центрифугированием при 12,000 g в течение 5 минут при 4°С и очищенный лизат переносили в чистую пробирку и определения белков были выполнены с использованием Анализа Белка ВСА.

Анализ проводили с использованием Анализа Фармакодинамики PARP in vivo II Trevigen's HT (#4520-096-K) следующим образом: в двух экземплярах 25 мкл образцы лизатов загружали на предварительно покрытые/предварительно заблокированные планшеты для ИФА и инкубировали в течение 16 часов при 4 °С в тандеме с серийно разведенными очищенными стандартами PAR. Лунки промывали 4х ФСБТ и инкубировали с 50 мкл/лунку поликлонального детекторного антитела на PAR в разбавителе антител в течение 2 часов при комнатной температуре. Лунки промывали 4х ФСБТ и инкубировали с 50 мкл/лунку козьего анти-кроличьего IgG-HRP конъюгата в

разбавителе антител в течение 1 часа при комнатной температуре. Лунки промывали 4х ФСБТ, инкубировали с 100 мкл/лунку 1:1 PARP PeroxyGlow A и PARP PeroxyGlow B и считывали на BioTek Cytation 5 с использованием люминесценции конечной точки волокна. Результаты были нанесены на график как исходные единицы люминесценции или как PAR (пг/мл), используя значения, рассчитанные по стандартной кривой, и представлены ниже.

Таблица 33. Результаты Анализа поли-АДФ-рибозилирования

Пример	ИФА IC₅₀ Ингибирования PARP (нМ) pH 5,5	ИФА IC₅₀ Ингибирования PARP (нМ) pH 6,2	ИФА IC₅₀ Ингибирования PARP (нМ) pH 7,4	ИФА IC₅₀ Ингибирования PARP (нМ) pH 8,0
1	115			587
2	93, 135			1290, 1400
3	151			616
6	239			456
7	282			542
10	785			3075
11	IC			9102
12	101	159	186	116

Клетки обрабатывали, как описано выше при pH 7,4, и инкубировали в течение 16 часов. Таблица 34. Результаты Анализа поли-АДФ-рибозилирования

Соединение	ИФА IC₅₀ Ингибирования PARP (нМ) pH 7,4 клетки (BRCA-/-) DLD-1, 16 часов	ИФА IC₅₀ Ингибирования PARP (нМ) pH 7,4 клетки SW620, 16 часов
18	2401	
19	2381	
20	2196	2767
21	3545	
22	3877	
23	1425	
28	712	2197
29	1314	
30	497	
31	1140	
32	4995	

34	2092	
35	1580	
36	271	1174
37	439	1386
40	522	
41	459	
42	540	
43	380	
51	4178	
54	1857	
55	2928	
56	103	

Пример Е. Анализ Задержки Роста

Клетки высевали в 96-луночные планшеты с черными стенками и прозрачным дном (Griener), клетки DLD-1 WT при 2500 клеток на лунку, DLD-1 BRCA2-/- при 5000 клеток на лунку, в культуральной среде, содержащей 10% ФБС. Клеткам давали возможность прилипнуть при комнатной температуре в течение 60 минут, прежде чем вернуть в инкубатор 37 °C, 5% CO₂. Через 24 часа среду удаляли и заменяли свежей культуральной средой, содержащей различные концентрации лекарственного средства. Каждая концентрация лекарственного средства была добавлена в трех экземплярах. Контрольные лунки, не обработанные лекарственным средством, содержали только культуральную среду. Клетки возвращали в инкубатор. Через девять часов после добавления лекарственного средства клетки фиксировали 4% параформальдегидом в течение 20 минут и окрашивали Hoechst при 1 мкг/мл. Пластины визуализировали на автоматическом визуализаторе Cytation 5 (BioTek) и клетки подсчитывали с использованием CellProfiler (<http://cellprofiler.org>). Процент задержки роста клеток рассчитывали и данные наносили на график с использованием GraphPad Prism.

Таблица 35. Резюме Анализа Задержки Роста

Пример	IC₅₀ Задержки роста (нМ) pH 7,4, BRCA (-/-) DLD-1, 96 часов
12	162
13	51
14	72
16	84
17	50
39	104
40	64

41	43
42	53
43	46

Приведенные выше результаты показывают, что соединения по данному изобретению расщепляются с освобождением свободного R^8H при подверганию условиям, воспроизводящим внутриклеточные, и демонстрируют ингибирование биологической мишени, которая в данном конкретном анализе представляет собой PARP. На основании данных результатов специалисты в данной области техники легко смогут признать, что соединения по данному изобретению являются пригодными для лечения заболеваний, связанных с ацидозной или гипоксической пораженной тканью и, в частности, для лечения рака с мутацией PARP.

Пример F. Задержка Роста Опухоли In Vivo

Дизайн Исследования (R^8H -15, Пример 12)

Самок бестимусных мышей поставляли на объект в возрасте 6 недель и размещали по 5 в клетку на подстилке Alpha-Dri в одноразовой системе арретирования IVC (Innovive). После периода акклиматизации 5-10 дней клетки DLD-1 BRACA2^{-/-} разбавляли 1:1 в Матригеле, свободном от фенолового красного, и имплантировали подкожно в левый бок каждой мыши при плотности 5×10^6 клеток в 100 мкл. Рост опухоли ксенотрансплантата контролировали, и измерения линейного размера считывали два раза в неделю. Когда ксенотрансплантаты достигали минимального объема 100 мм³, мышам вводили внутривенно (ВВ) дозу носителя, Примера 12 (6,4, 20 или 50 мг/кг), либо пероральную дозу R^8H -15 (0,3 мг/кг) один раз в сутки в течение 8 дней. Всем мышам вводили пероральную дозу 10 мг/кг темозоломида (ТМЗ), приготовленного в 20% глюкозе сразу же после введения дозы. Измерения линейного размера проводили два раза в неделю, чтобы оценить эффект соединения на рост опухоли. Мониторинг роста опухоли продолжали после 8 дней периода дозирования в течение еще 7 недель (период отмывки). Мышей умерщвляли, если потеря массы тела превышала 20%, или если объем опухоли увеличивался до 4х исходного размера. Для оценки выживаемости на основе смерти или исключения из исследования использовали анализ Каплана-Мейера.

Дизайн Исследования (R^8H -16, Пример 18)

Самок бестимусных мышей поставляли на объект в возрасте 6 недель и размещали по 5 в клетку на подстилке Alpha-Dri в одноразовой системе арретирования IVC (Innovive). После периода акклиматизации 5-10 дней клетки DLD-1 BRACA2^{-/-} разбавляли 1:1 в Матригеле, свободном от фенолового красного, и имплантировали подкожно в левый бок каждой мыши при плотности 5×10^6 клеток в 100 мкл. Рост опухоли ксенотрансплантата контролировали, и измерения линейного размера считывали два раза в неделю. Когда ксенотрансплантаты достигали минимального объема 100 мм³, мышам вводили внутривенно (ВВ) дозу носителя, Примера 18 (8,8, 17,7 или 44,2 мг/кг), либо R^8H -16 (1, 2, 5 мг/кг) один раз в сутки в течение 8 дней. Всем мышам вводили

пероральную дозу 10 мг/кг темозоломида (ТМЗ), приготовленного в 20% глюкозе сразу же после введения дозы в течение 5 дней. Измерения линейного размера проводили два раза в неделю, чтобы оценить эффект соединения на рост опухоли. Мониторинг роста опухоли продолжали после 8 дней периода дозирования в течение еще 8 дней (период отмывки). Мышей умерщвляли, если потеря массы тела превышала 20%, или если объем опухоли увеличивался до 4х исходного размера.

Подготовка к Имплантации Клеток DLD-1 BRCA2^{-/-} (R⁸H-15, Пример 12; R⁸H-16, Пример 18)

Матригель оттаивали в течение ночи на льду при 4°C перед подготовкой к имплантации клеток DLD-1 BRCA2^{-/-} и держали на льду во время всех подготовительных стадий. Клетки пассировали от одного до трех дней до начала подготовки к имплантации. Культуральную среду заменяли каждые 2-3 дня по мере необходимости для поддержания жизнеспособности клеток. В день имплантации клетки обрабатывали трипсином, промывали полной средой и осаждали центрифугированием при 1200 об/мин течение 5 минут. Супернатант декантировали и клетки промывали три раза стерильным ФСБ и осаждали центрифугированием. Во время окончательного центрифугирования жизнеспособность определяли вытеснением трипанового синего. Клетки ресуспендировали в стерильном ФСБ при концентрации 5×10^6 клеток/50 мкл. Перед имплантацией клетки смешивали 1:1 с Матригелем для конечной концентрации 5×10^6 клеток/100 мкл. Смесь матригель/клетки выдерживали на льду в конической пробирке перед использованием для имплантации.

Имплантация Клеток DLD-1 BRCA2^{-/-} (R⁸H-15, Пример 12; R⁸H-16, Пример 18)

Матригель/клетки DLD-1 BRCA2^{-/-} (5×10^6 клеток/100 мкл), хранимые на льду в конической пробирке, вносили в стерильные шприцы 1сс, снабженные стерильными иглами 27 калибра. Избыток смеси матригель/клетки вносили обратно в коническую пробирку, доводя объем впрыска до 100 мкл в каждом шприце. Заполненные шприцы держали на льду до момента имплантации чтобы избежать полимеризации матригеля в шприце. Клетки имплантировали подкожно в левый бок каждой мыши и во время развития пальпируемых ксенотрансплантатов измерения линейного размера получали два раза в неделю. Оценку соединения проводили, когда ксенотрансплантаты достигали минимального объема 100 мм³.

Введение Соединения (R⁸H-15, Пример 12)

Внутрибрюшинные дозы 6,4, 20 и 50 мг/кг Примера 12 готовили в 8% ПЭГ400+2% Tween 80 в ФСБ как описано выше, и вводили один раз в сутки в течение 8 дней. Мышам вводили дозы в объеме 12 мл/кг (300 мкл на мышь весом 25 г). Пероральные дозы 0,3 мг/кг R⁸H-15 (BMN673) готовили в 0,5% метилцеллюлозы и вводили один раз в сутки в течение 8 дней в объеме 10 мл/кг (250 мкл на мышь весом 25 г) для сравнения. Сразу после введения соединения всем мышам вводили пероральную дозу 10 мг/кг темозоломида (ТМЗ) в 20% глюкозе.

Введение Соединения (R⁸H-16, Пример 18)

Пример 18 растворяли в 100% диметилсульфоксиде (ДМСО) с получением 0,1 мг/мкл базового раствора. Ежедневно готовили свежие внутрибрюшинные (ВБ) дозы 8,83, 17,66 или 44,15 мг/кг путем разбавления 14, 29 или 72 мкл базового раствора, соответственно, с 1950 мкл носителя, состоящего из 8% ПЭГ400+2% Tween 80 в ФСБ. Дозы перемешивали на вортексе для достижения однородных суспензий и вводили в концентрации 12 мг/мл (300 мкл на мышь весом 25 г) один раз в сутки в течение 8 дней. Каждый день 2,5 мг R⁸H-16 суспендировали в 6 мл носителя, состоящего из 8% ПЭГ400+2% Tween 80 в ФСБ. Суспензию обрабатывали ультразвуком в течение 10 минут для получения гомогенной внутрибрюшинной дозы 5 мг/кг, которую дополнительно разбавляли 1 к 5 и 1 к 2,5 носителем для получения доз 1 и 2 мг/кг, соответственно. Все дозы перемешивали на вортексе и вводили в концентрации 12мг/кг (300 мкл на мышь весом 25 г) один раз в сутки в течение 8 дней. Ежедневно готовили свежие пероральные дозы 50 мг/кг темозоломида (ТМЗ) суспендированием 70 мг соединения в 14 мл носителя 20% глюкозы. Конечные дозы 5 мг/мл обрабатывали ультразвуком в течение 15 минут до получения однородной суспензии. Мышам перорально вводили ТМЗ при 10 мл/кг (250 мкл на мышь весом 25 г) один раз в сутки в течение 5 дней сразу же после введения Примера 18 или R⁸H-16.

Рост Опухоли

Рост опухоли контролировали, и измерения линейного размера считывали два раза в неделю в течение 8 дней периода дозирования, чтобы оценить эффективность соединения против скорости роста опухоли. Измерения роста продолжали еще в течение 7 недель после прекращения дозирования. Мышей исключали из исследования, когда объем опухоли превышал 4х исходного размера.

Статистический анализ

Для теста для значимых различий между группами использовали дисперсионный анализ (ANOVA). По полученным результатам для определения существенных различий между средними значениями использовали анализ критерия множественного сравнения Бонферони. Весь статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения Graph Pad Prism 7.03. Для оценки выживаемости на основе смерти или исключения из исследования при потере массы тела, превышающей 20% от исходной массы тела, использовали анализ Каплана-Мейера.

На Фиг. 1 проиллюстрирована задержка роста опухоли R⁸H-15 и Примера 12 у BRCA^{-/-} Мышей.

На Фиг. 2 проиллюстрировано выживание R⁸H-15 и Примера 12 у BRCA^{-/-} Мышей.

На Фиг. 3 проиллюстрирована задержка роста опухоли R⁸H-16 и Примера 18 у BRCA^{-/-} Мышей.

Пример G. Поли-АДФ-рибозилирование в Опухоли

Дизайн Исследования (R⁸H-16, Пример 18)

Самок бестимусных мышей поставляли на объект в возрасте 6 недель и размещали по 5 в клетку на подстилке Alpha-Dri в одноразовой системе арретирования IVC

(Innovive). Клетки DLD-1 BRCA2^{-/-} человека разбавляли 1:1 в Матригеле, свободном от фенолового красного, и имплантировали подкожно в левый бок каждой мыши при плотности 5×10^6 клеток в 100 мкл. Измерения линейного размера получали два раза в неделю и лечение начинали, когда ксенотрансплантаты достигали минимального объема 250 мм³. Внутривентрикулярные (ВВ) дозы Примера 18 (8,83, 17,66 или 44,15 мг/кг) или R⁸H-16 (2 или 10 мг/кг) вводили один раз в сутки в течение 9 дней в носителе 8% ПЭГ400+2% Tween 80. Мышам также вводили пероральную дозу в 20% глюкозе. Восьмую дозу вводили в вечернее время за около 12 часов до девятой дозы. Образцы сыворотки и ткани собирали через 2 часа после введения девятой дозы. Эффект соединения против Поли-АДФ-рибозилирования определяли в опухоли и костном мозге.

Введение Соединения (R⁸H-16, Пример 18)

Пример 18 растворяли в 100% диметилсульфоксиде (ДМСО) с получением 0,1 мг/мкл базового раствора. Ежедневно готовили свежие внутривентрикулярные (ВВ) дозы 8,8, 17,7 или 44,2 мг/кг путем разбавления 13, 26 или 66 мкл базового раствора, соответственно, с 1800 мкл носителя, состоящего из 8% ПЭГ400+2% Tween 80 в ФСБ. Дозы перемешивали на вортексе для достижения однородных суспензий. Ежедневно готовили свежие внутривентрикулярные (ВВ) дозы 10 мг/кг R⁸H-16 суспендированием 5 мг R⁸H-16 в 6 мл носителя, состоящего из 8% ПЭГ400+2% Tween 80 в ФСБ. Дозы перемешивали на вортексе для достижения однородных суспензий. ВВ дозы 2 мг/кг получали путем разбавления дозы 10 мг/кг 1:5 с носителем. Внутривентрикулярные (ВВ) дозы Примера 18 или R⁸H-16 вводили один раз в сутки в течение 9 дней в объеме 12 мл/кг (300 мкл на мышь весом 25 г).

Сбор Тканей (R⁸H-16, Пример 18)

После сбора крови мышей умерщвляли путем цервикальной дислокации под анестезией. Опухоли ксенотрансплантата удаляли, взвешивали и скальпелем нарезали на более мелкие куски. Случайные образцы по 100 мг опухоли собирали в крио-пробирки, замораживали в жидком азоте и хранили при -80 °С до обработки. Измерения Поли-АДФ-рибозилирования проводили в гомогенатах опухоли.

Поли-АДФ-рибозилирование в Гомогенатах Опухолей (R⁸H-16, Пример 18)

Замороженные образцы опухоли гомогенизировали в буфере RIPA, содержащем ингибиторы протеазы и фосфатазы (1 мг/мл) и 300 μ л аликвоты доводили до конечной концентрации ЛСН 1%. Образцы нагревали при 100 °С в течение 5 минут, охлаждали на леду и осветляли центрифугированием при 14000 g в течение 5 минут. Образцы опухоли разбавляли в соотношении 1:10 в буфере RIPA/HALT для количественного определения белка с использованием набора для анализа белков Pierce Rapid Gold BCA. Пробы разводили до 200 μ г/мл (10 μ г/лунку) в буфере для образцов и 50 μ л аликвоты (10 μ г/лунку) наносили на предварительно покрытые/предварительно заблокированные планшеты ИФА. После 16-часовой инкубации при 4 °С образцы промывали 4х ФСБТ (1 л ФСБ+1 мл Tween 20) и инкубировали с 50 мкл PAR детекторного антитела в течение 2 часов при комнатной температуре. Образцы промывали 4х ФСБТ и инкубировали с 50 мкл

козьего анти-кроличьего IgG-HRP конъюгата в течение 1 часа при комнатной температуре. После окончательной промывки 4х ФСБТ, к каждому образцу добавляли 100 мкл PeroxyGlowTM и люминесценцию определяли на BioTek Cytation 5 используя люминесценцию конечной точки волокна и определение площади планшета.

На Фиг. 4 проиллюстрирован эффект 9-дневного внутрибрюшинного введения Примера 18 и R⁸H-16 на поли-АДФ-рибозилирование опухоли в мышью DLD-1 BRCA2^{-/-} модели ксенотрансплантата.

Пример Н. Селективность на Костный мозг

Дизайн Исследования (R⁸H-15, Пример 12)

Самок бестимусных мышей поставляли на объект в возрасте 6 недель и размещали по 5 в клетку на подстилке Alpha-Dri в одноразовой системе арретирования IVC (Innovive). После периода акклиматизации 5-10 дней клетки опухоли DLD-1 BRCA2^{-/-} разбавляли 1:1 в Матригеле, свободном от фенолового красного, и имплантировали подкожно в левый бок каждой мыши при плотности 5×10^6 клеток в 100 мкл. Рост опухоли контролировали, и измерения линейного размера считывали два раза в неделю. Когда опухоли достигали минимального объема 100 мм³, мышам вводили пероральную дозу 50 мг/кг темозоломида (ТМЗ) отдельно или в комбинации либо с пероральной дозой 0,3 мг/кг R⁸H-15 либо с внутривенной дозой 10 мг/кг Примера 12, один раз в сутки в течение 2 дней. На 3 день сытых мышей умерщвляли путем цервикальной дислокации под анестезией и опухоли удаляли, взвешивали и замораживали в жидком азоте. Бедренные кости удаляли и костный мозг экстрадировали с ФСБ в 50 мл конические пробирки для выделения клеток костного мозга путем центрифугирования. Миелотоксичность оценивали путем подсчета клеток костного мозга и путем ингибирования Поли-АДФ-рибозилирования, определенного по данным ИФА. Эффективность соединения против жизнеспособности опухолевых клеток определяли с помощью ИФА анализа Поли-АДФ-рибозилирования.

Дизайн Исследования (R⁸H-16, Пример 18)

Самок бестимусных мышей поставляли на объект в возрасте 6 недель и размещали по 5 в клетку на подстилке Alpha-Dri в одноразовой системе арретирования IVC (Innovive). Клетки DLD-1 BRCA2^{-/-} человека разбавляли 1:1 в Матригеле, свободном от фенолового красного, и имплантировали подкожно в левый бок каждой мыши при плотности 5×10^6 клеток в 100 мкл. Измерения линейного размера получали два раза в неделю и лечение начинали, когда ксенотрансплантаты достигали минимального объема 250 мм³. Внутрибрюшинные (ВБ) дозы Примера 18 (8,83, 17,66 или 44,15 мг/кг) или R⁸H-16 (2 или 10 мг/кг) вводили один раз в сутки в течение 9 дней в носителе 8% ПЭГ400+2% Tween 80. Мышам также вводили пероральную дозу в 20% глюкозе. Восьмую дозу вводили в вечернее время за около 12 часов до девятой дозы. Образцы сыворотки и ткани собирали через 2 часа после введения девятой дозы. Эффект соединения против Поли-АДФ-рибозилирования определяли в костном мозге.

Введение Соединения (R⁸H-15, Пример 12)

5 мг Примера 12 растворяли в 50 мкл 100% диметилсульфоксида (ДМСО) с получением 0,1 мг/мкл базового раствора. Конечную внутривенную дозу 10 мг/кг готовили путем разбавления 25 мкл базового раствора с 2475 мкл стерильного ФСБ. Дозу осторожно перемешивали с получением прозрачного раствора дозирования 1 мг/мл для инъекций. Дозы вводили один раз в сутки в течение 2 дней путем инъекции в хвостовую вену при 10 мл/кг (200 мкл на мышь весом 20 г). Мышам вводили дозы в комбинации с пероральной дозой 50 г/кг темозоломида. Пероральную дозу 3 мг/кг R^8H -15 получали путем суспендирования 1,5 мг соединения в 5 мл носителя 10% диметилацетамида (DMAc) + 6% солютола+84% ФСБ. Суспензию дополнительно разбавляли в носителе 1:10. Конечную дозу 0,3 мг/кг обрабатывали ультразвуком в течение 15 минут до получения гомогенной суспензии 0,3 мг/мл. Мышам перорально вводили дозы 10 мл/кг (200 мкл на мышь весом 20 г) один раз в сутки в течение 2 дней в сочетании с пероральной дозой 50 мг/кг темозоломида.

Введение Соединения (R^8H -16, Пример 18)

Введение соединения проводили как описано в разделе *Введение Соединения (R^8H -16, Пример 18)* Примера F.

Сбор Костного Мозга (R^8H -15, Пример 12)

После сбора опухоли бедренные кости удаляли и костный мозг экстрадировали в 50 мл конические пробирки путем промывки кости RPMI+2% фетальной бычьей сыворотки (ФБС) иглой 23-го калибра, установленной на шприц 5сс. Костный мозг осторожно гомогенизировали пипеткой и фильтровали через нейлоновый сетчатый фильтр 100 мкм. Клетки костного мозга осаждали центрифугированием при 1200 об/мин в течение 5 минут при 4 °C. Клетки промывали 5 мл ФСЭ (ФСБ+0,2% бычьего сывороточного альбумина+2 mM ЭДТА) и повторно осаждали центрифугированием, как описано выше. Клетки повторно суспендировали в 3 мл 1X буфера для лизиса RBC и инкубировали при комнатной температуре в течение 2-5 минут. Добавляли ФСЭ до конечного объема 25 мл и клетки осаждали центрифугированием. Клетки повторно суспендировали в 5 мл ФСЭ, пропускали через нейлоновый сетчатый фильтр 40 мкм и собирали центрифугированием. Клетки повторно суспендировали в 1 мл ФСЭ. Концентрацию и жизнеспособность клеток определяли вытеснением трипанового синего на счетчике клеток TC-20 (BioRad) перед подготовкой к анализу Поли-АДФ-рибозилирования. После подсчета клеток 1,5 мл клеток костного мозга осаждали центрифугированием при 1200 об/мин (300 оцу) в течение 5 минут при 4 °C. Супернатант собирали и хранили при -80°C для возможного анализа концентрации лекарственного средства. Оставшиеся 2,5 мл клеток осаждали центрифугированием при 1200 об/мин (300 оцу) в течение 5 минут при 4 °C. Осажденные клетки лизировали в буфере RPA, содержащем ингибиторы протеазы и фосфатазы (100 мкл буфера на 10^6 клеток) и хранили при -20°C для измерения Поли-АДФ-рибозилирования в клетках костного мозга, определяемого с помощью ИФА анализа Поли-АДФ-рибозилирования.

Поли-АДФ-рибозилирование в клетках Костного Мозга (R^8H -15, Пример 12)

Клетки костного мозга, выделенные из бедренных костей на 3-й день, лизировали в буфере RIPA, содержащем ингибиторы протеазы/фосфатазы. Гомогенизированные образцы доводили до концентрации ЛСН 1%, нагревали при 100 °С в течение 5 минут, охлаждали на льду и осветляли центрифугированием при 12000 g в течение 5 минут при 4 °С. Анализ Поли-АДФ-рибозилирования проводили с использованием Анализа Фармакодинамики *in vivo* II НТ PARP от Trevigen. Кратко, 10 мкг образцов в двух экземплярах загружали на предварительно покрытые/предварительно заблокированные планшеты для ИФА в объемах 50 мкл в буфере для образцов и инкубировали в течение 16 часов при 4 °С в тандеме с серийно разведенными очищенными стандартами PAR. Лунки промывали 4х ФСБТ и инкубировали с 50 мкл/лунку поликлонального детекторного антитела на PAR в разбавителе антител в течение 2 часов при комнатной температуре. Лунки промывали 4х ФСБТ и инкубировали с 50 мкл/лунку козьего анти-кроличьего IgG-HRP конъюгата в разбавителе антител в течение 1 часа при комнатной температуре. Лунки промывали 4х ФСБТ, инкубировали с 100 мкл/лунку 1:1 PARP PeroxyGlow A и PARP PeroxyGlow B и считывали на BioTek Cytation 5 с использованием люминесценции конечной точки волокна. Данные были нанесены на график как PAR (пг/мл), используя значения, рассчитанные по стандартной кривой.

Сбор Костного Мозга (R^8H -16, Пример 18)

После сбора опухоли бедренные кости удаляли и костный мозг экстрадировали в 50 мл конические пробирки путем промывки кости ФСБ+2% фетальной бычьей сыворотки (ФБС) иглой 23-го калибра, установленной на шприц 5сс. Костный мозг осторожно гомогенизировали пипеткой и фильтровали через нейлоновый сетчатый фильтр 100 мкм и клетки осаждали центрифугированием при 1200 об/мин в течение 5 минут при 4 °С. Эритроциты лизировали 3 мл буфера для лизиса в течение 2 минут при комнатной температуре. Добавляли ФСБ до конечного объема 25 мл и клетки повторно осаждали центрифугированием как описано выше. Осадки клеток суспендировали в 5 мл ФСБ, и количество клеток оценивали вытеснением трипанового синего на счетчике клеток TC-20 (BioRad). Выборку $2,5 \times 10^6$ клеток из каждого образца собирали в пробирки для микроцентрифуги для измерения Поли-АДФ-рибозилирования.

Поли-АДФ-рибозилирование в клетках Костного Мозга (R^8H -16, Пример 18)

Клетки костного мозга ($2,5 \times 10^6$ клеток в осадке) лизировали в 500 μ л буфера RIPA/HALT и инкубировали на льду в течение 15 минут с периодическим встряхиванием. Клеточные лизаты доводили до конечной концентрации ЛСН 1%, нагревали при 100 °С в течение 5 минут и гасили на льду. Клеточный дебрис удаляли центрифугированием при 14000 g в течение 5 минут при 4 °С и осажденные клетки ресуспендировали в буфере при концентрации 250000 клеток/50 мкл. Образцы клеток костного мозга загружали на предварительно покрытые/предварительно заблокированные планшеты ИФА и инкубировали в течение 16 часов при 4 °С. Образцы промывали 4х ФСБТ (1 л ФСБ+1 мл Tween 20) и инкубировали с 50 мкл PAR детекторного антитела в течение 2 часов при комнатной температуре. Образцы промывали 4х ФСБТ и инкубировали с 50 мкл козьего

анти-кроличьего IgG-HRP конъюгата в течение 1 часа при комнатной температуре. После окончательной промывки 4х ФСБТ, к каждому образцу добавляли 100 мкл PeroxyGlowTM и люминесценцию определяли на BioTek Cytation 5 используя люминесценцию конечной точки волокна и определение площади планшета.

Статистический анализ

Для теста для значимых различий между группами использовали дисперсионный анализ (ANOVA). По полученным результатам для определения существенных различий между средними значениями использовали анализ критерия множественного сравнения Бонферони. Весь статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения Graph Pad Prism 7.03.

На Фиг. 5 проиллюстрировано поли-АДФ-рибозилирование в клетках костного мозга после внутривенного введения Примера 12 или перорального введения R⁸H-15 в комбинации с пероральным введением темозоломида (TMZ) безтимусным мышам.

На Фиг. 6 проиллюстрировано поли-АДФ-рибозилирование в клетках костного мозга после внутрибрюшинного введения Примера 18 или R⁸H-16 безтимусным мышам.

Различные модификации изобретения, в дополнение к описанным в данном документе, будут очевидны специалистам в данной области техники из вышеуказанного описания. Также подразумевается, что такие модификации входят в объем прилагаемой формулы изобретения. Каждая ссылка, включая без ограничения все патенты, патентные заявки и публикации, приведенная в данной заявке, включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

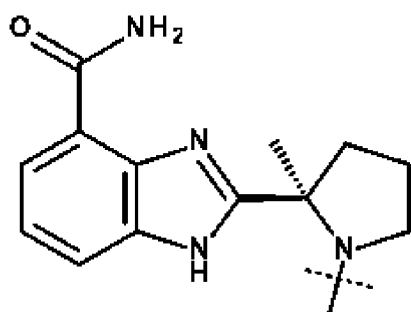
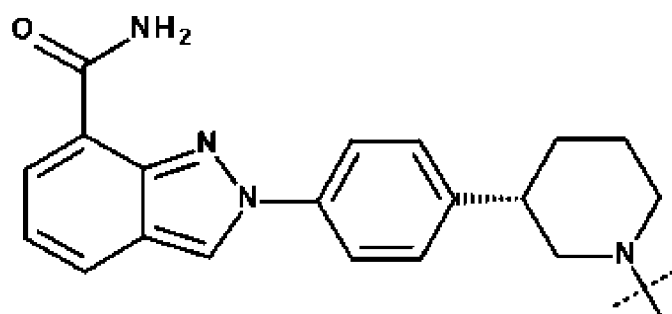
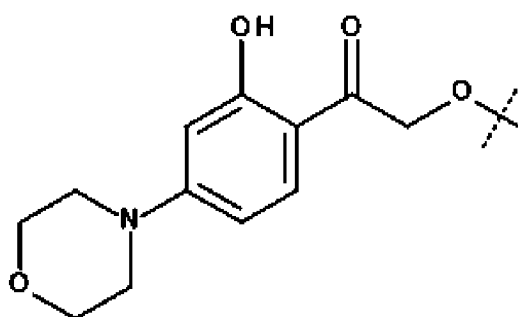
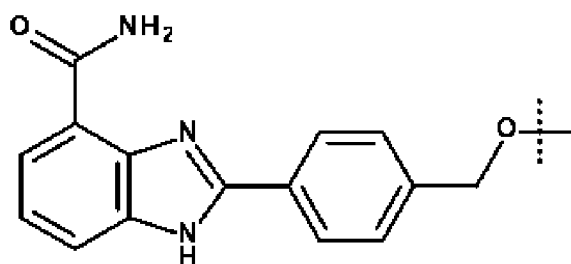
1. Соединение Формулы (I)

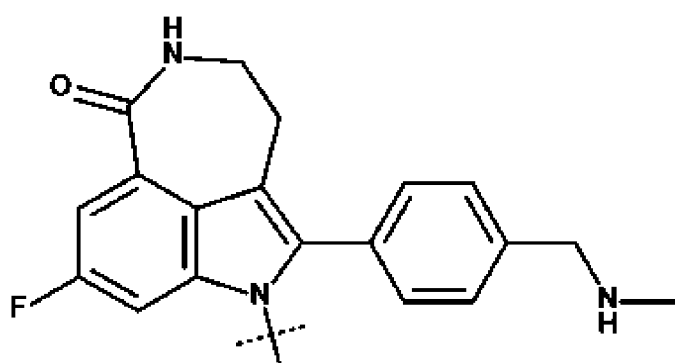
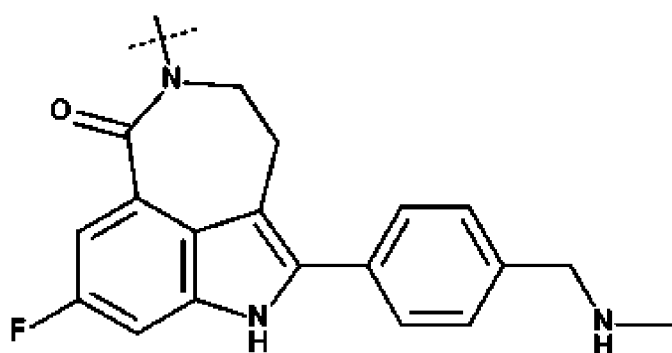
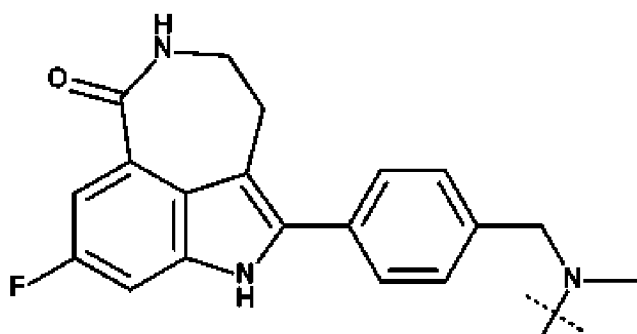
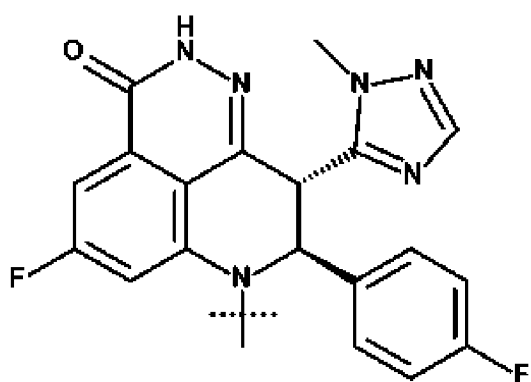


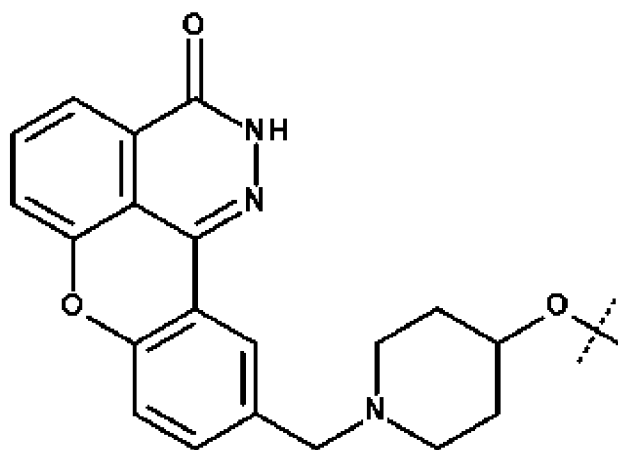
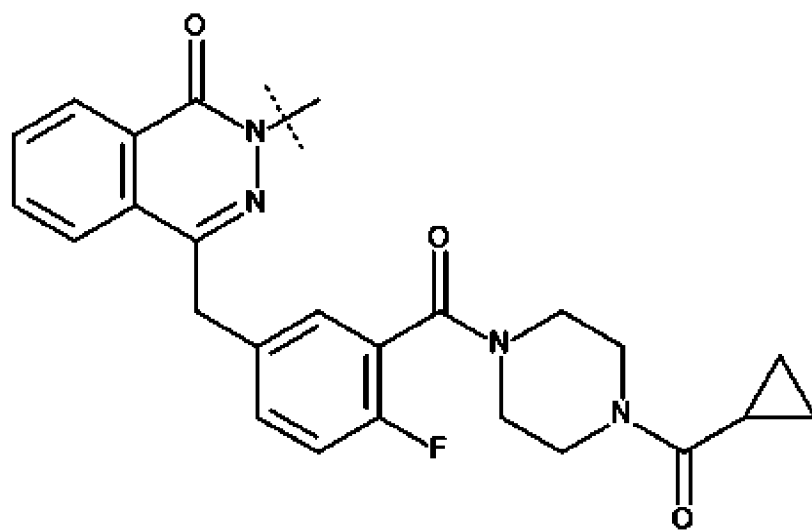
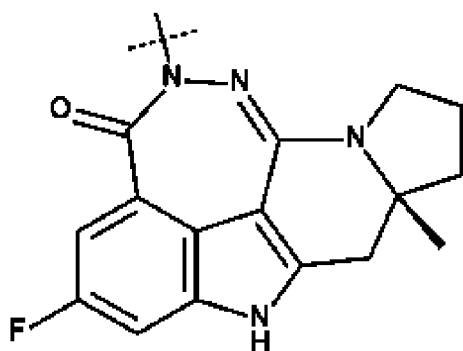
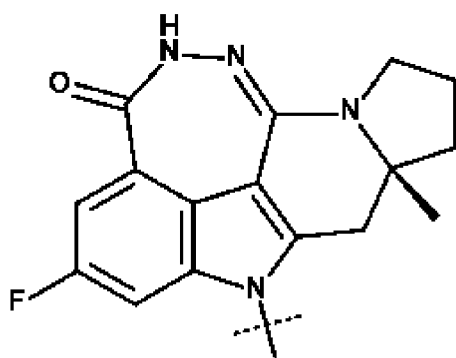
или его фармацевтически приемлемая соль, где:

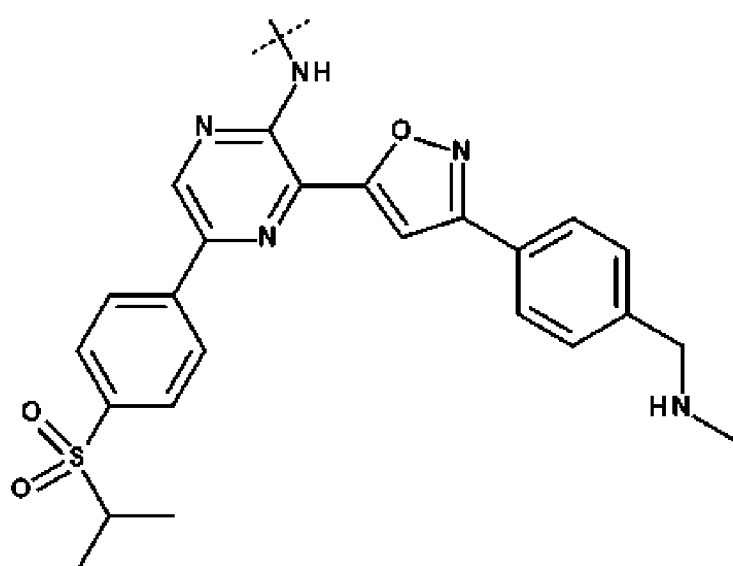
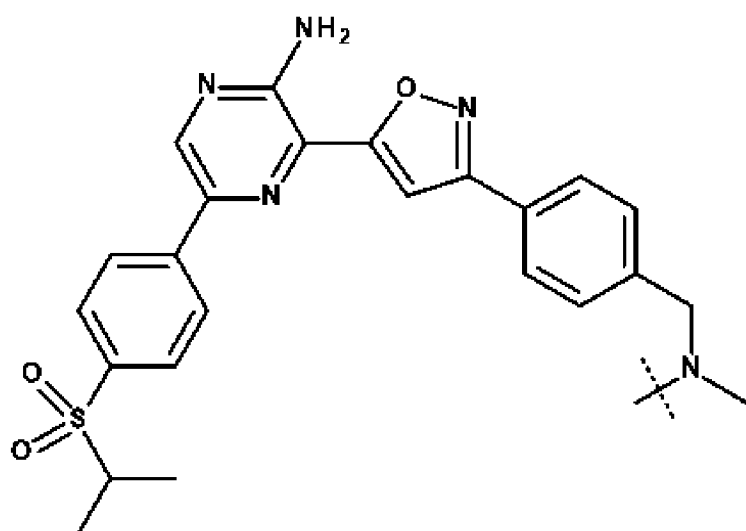
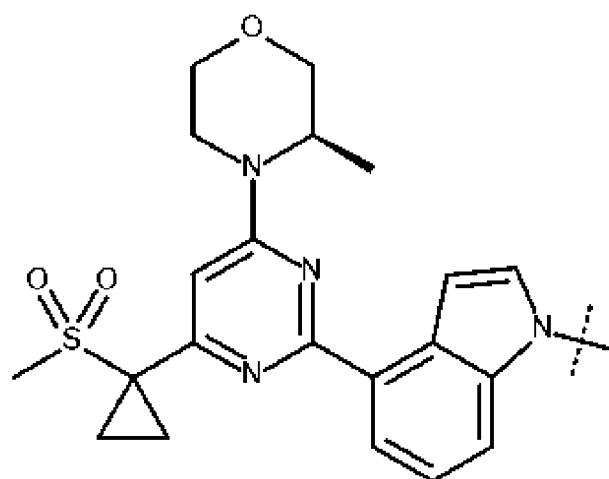
R^7 представляет собой пептид;

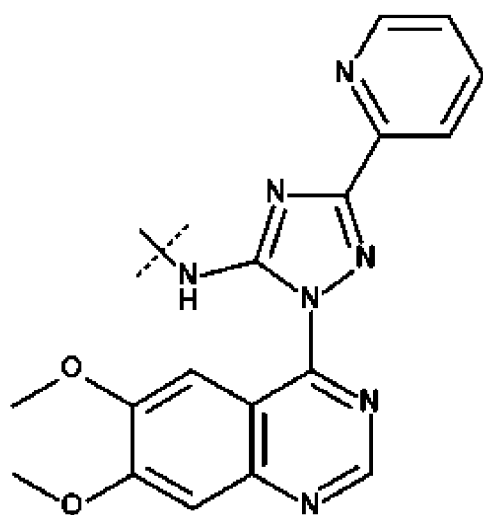
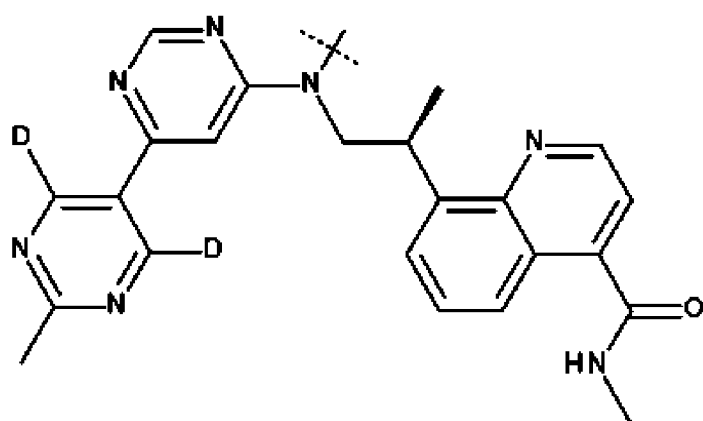
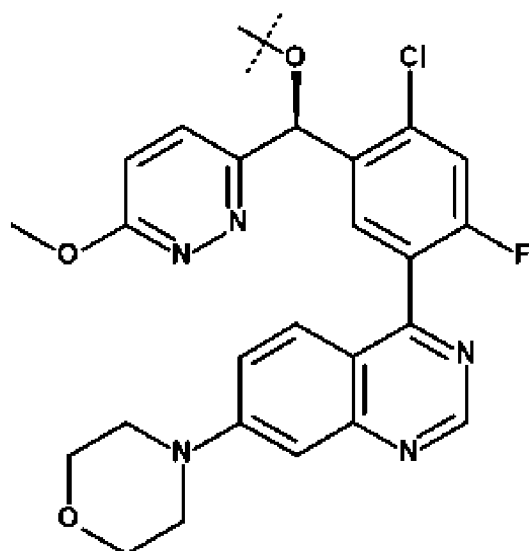
R^8 выбран из группы, состоящей из

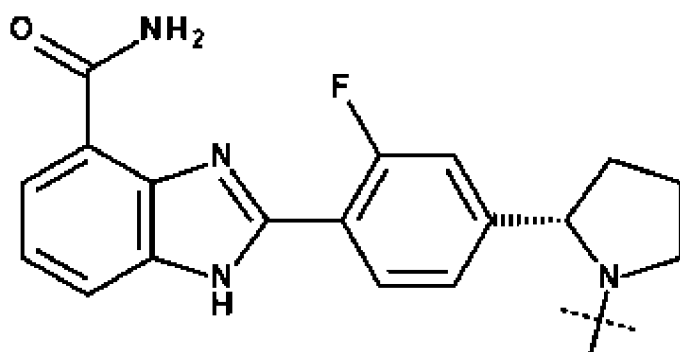
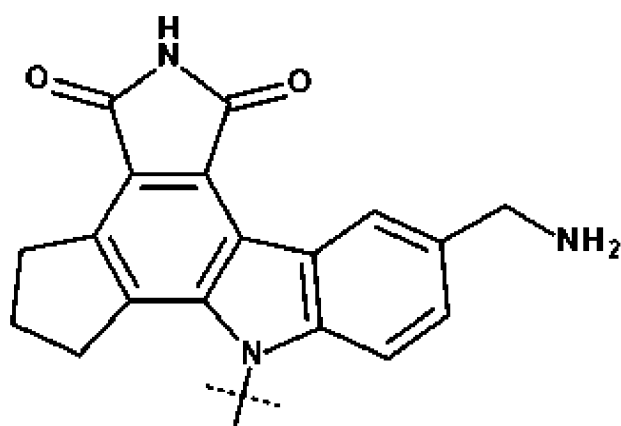
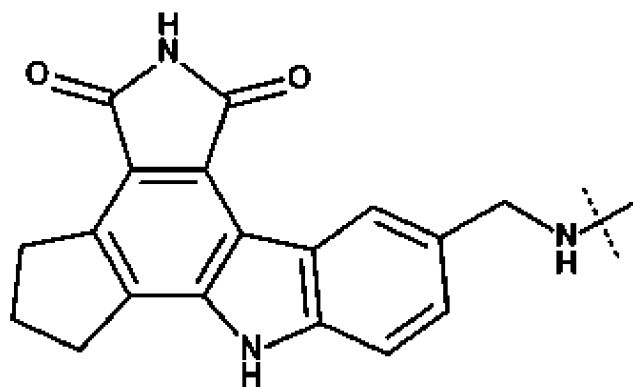
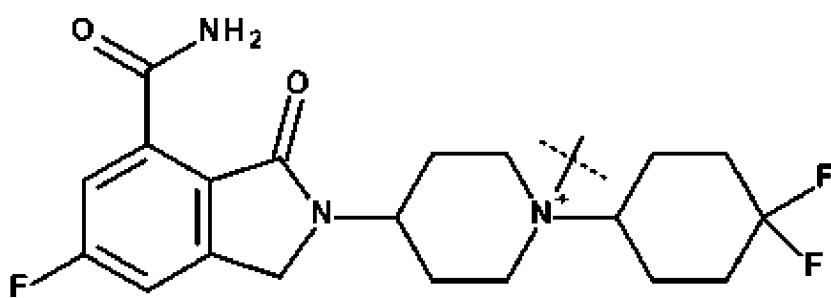


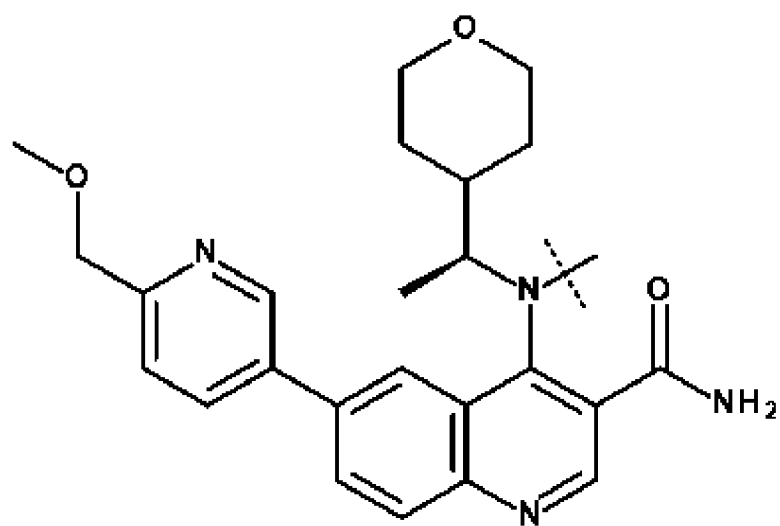
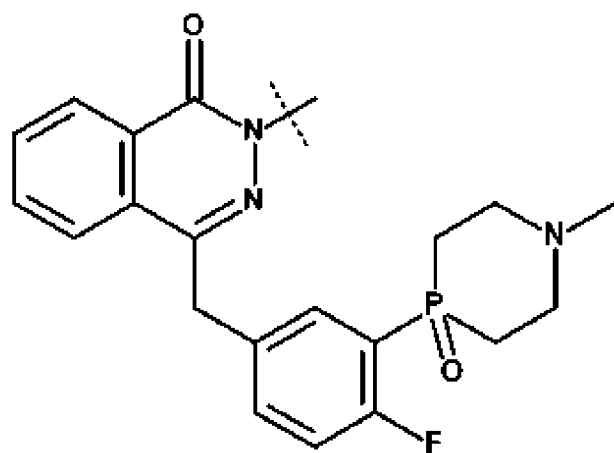
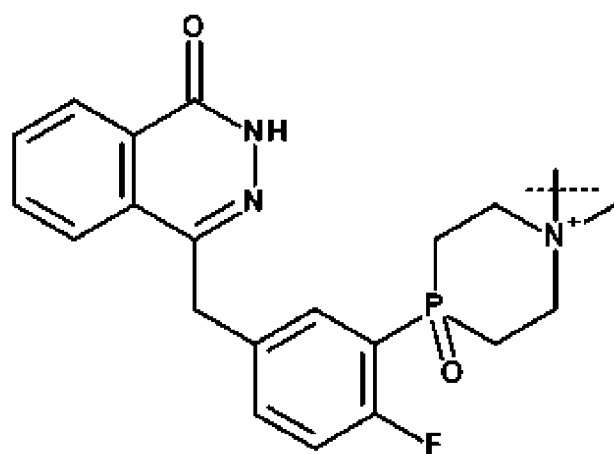


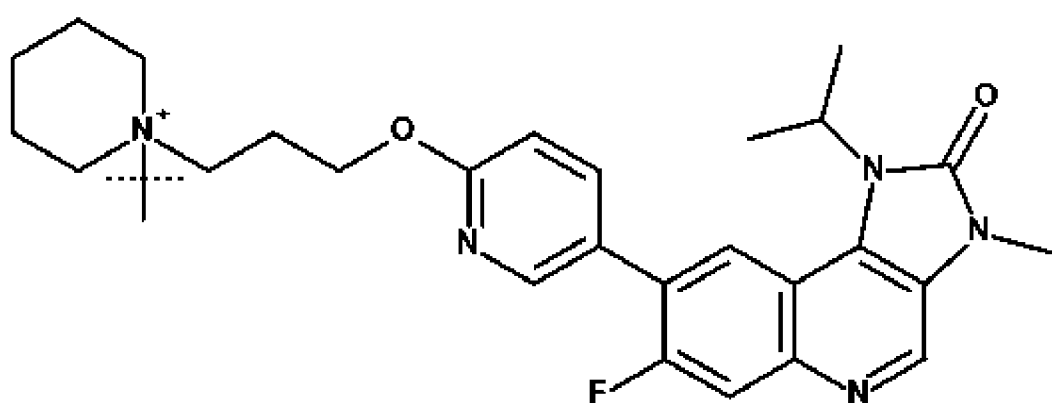
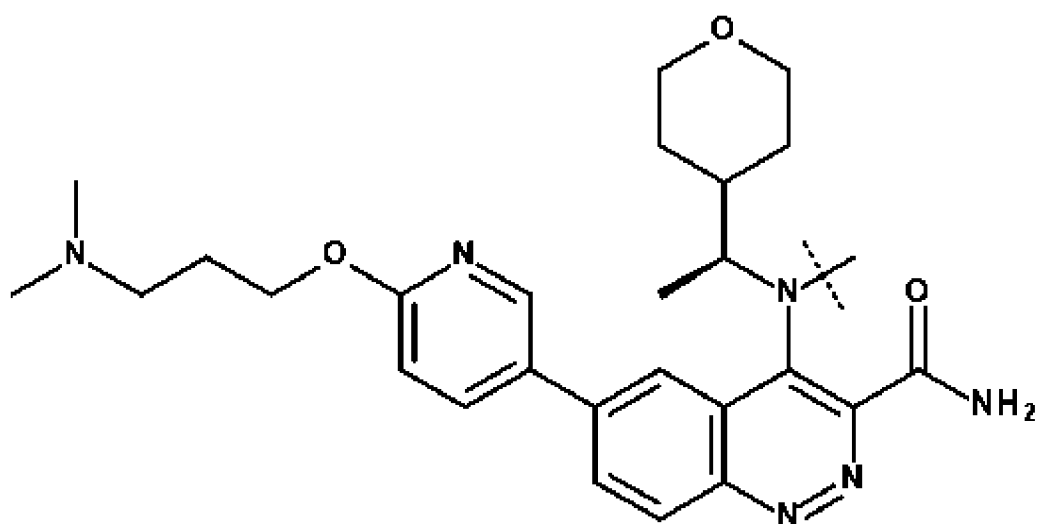
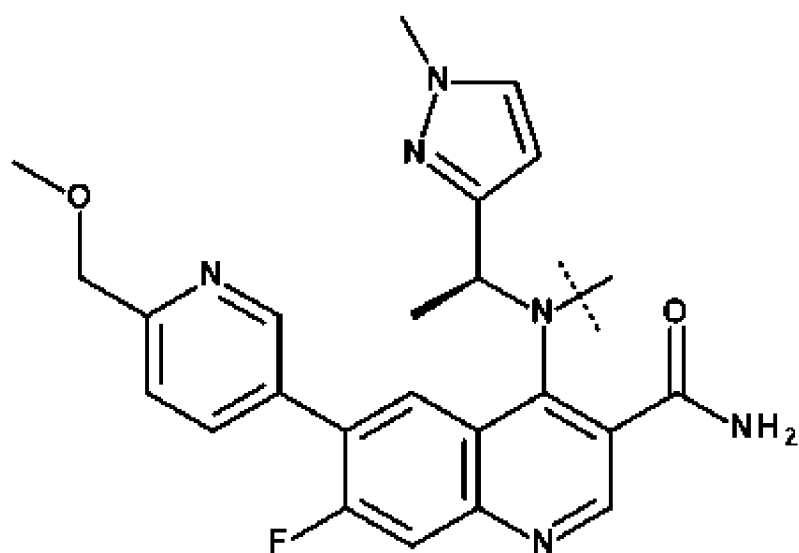


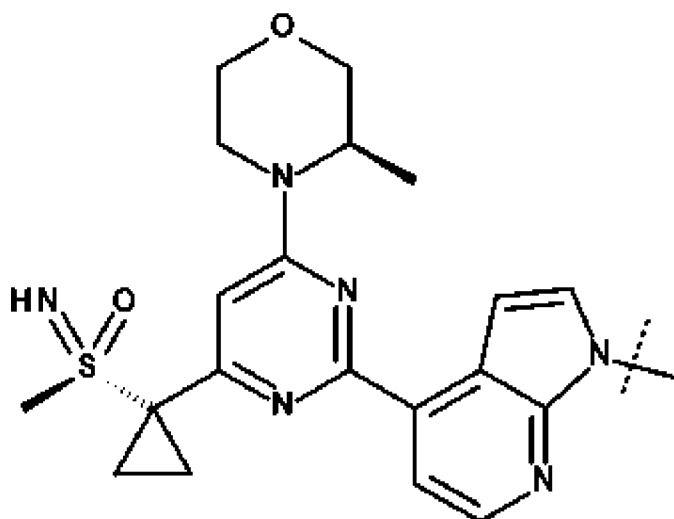
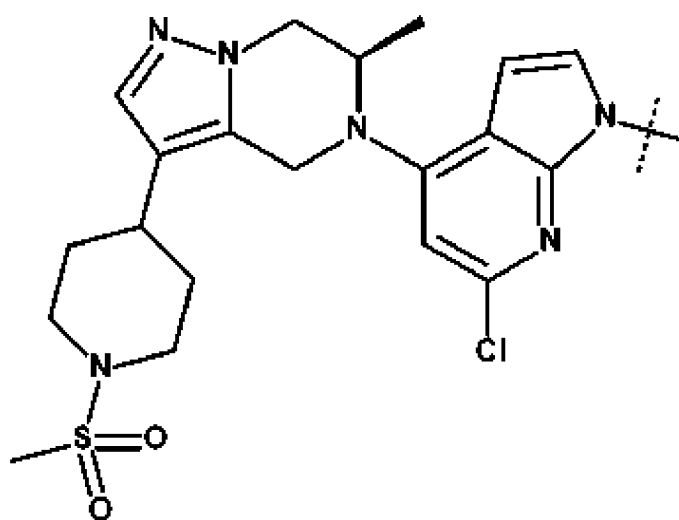
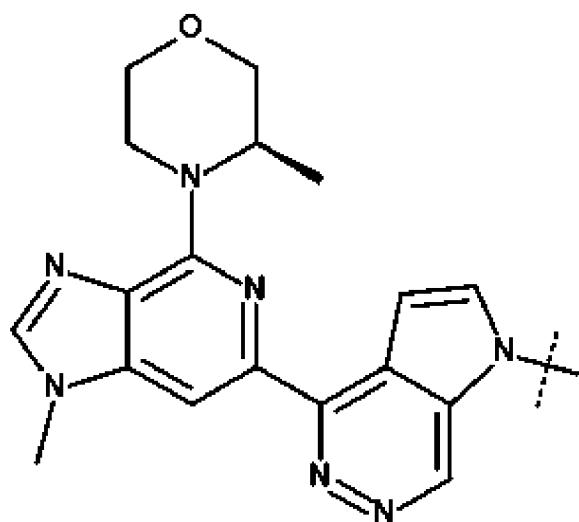


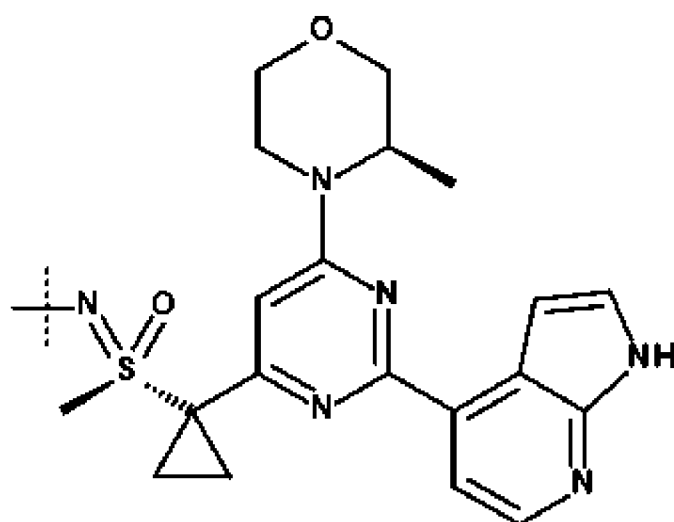






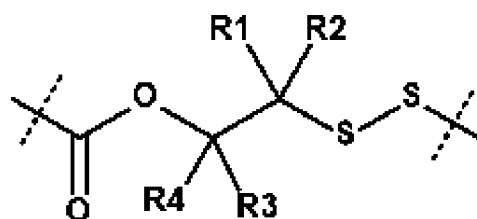




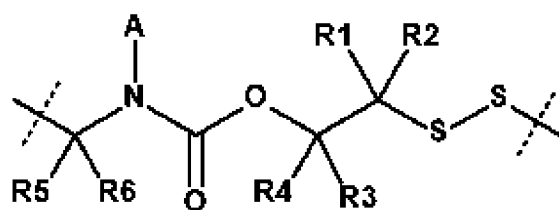


;

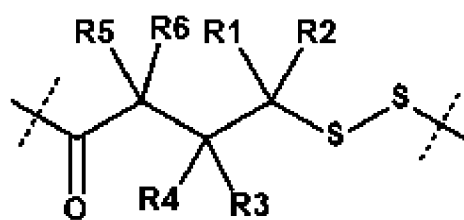
Q выбран из группы, состоящей из



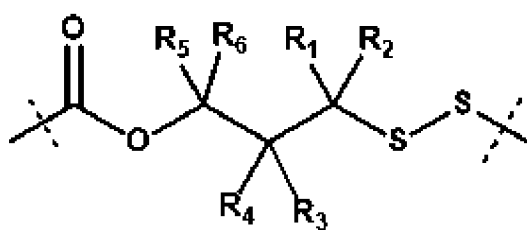
,



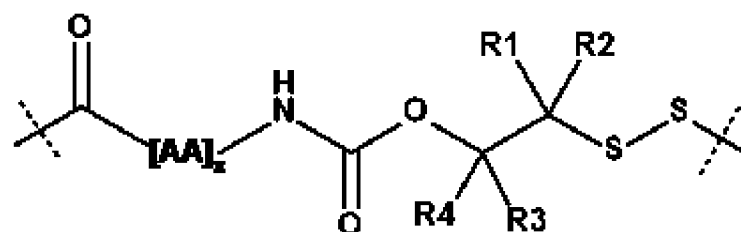
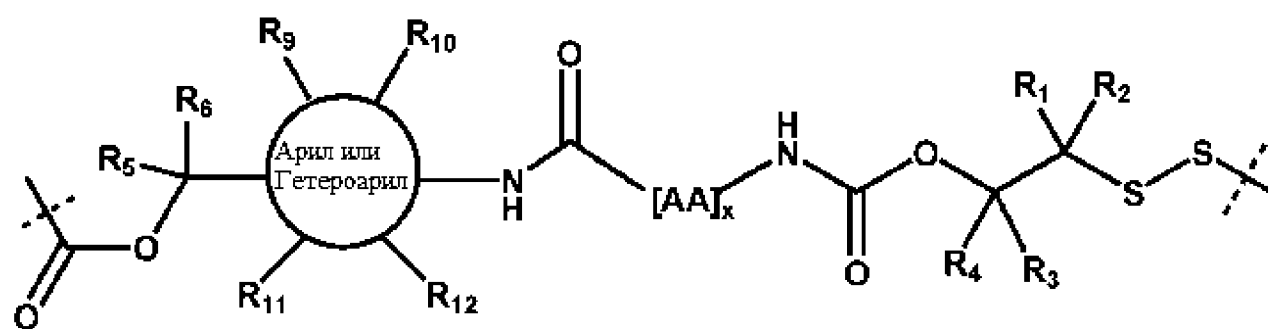
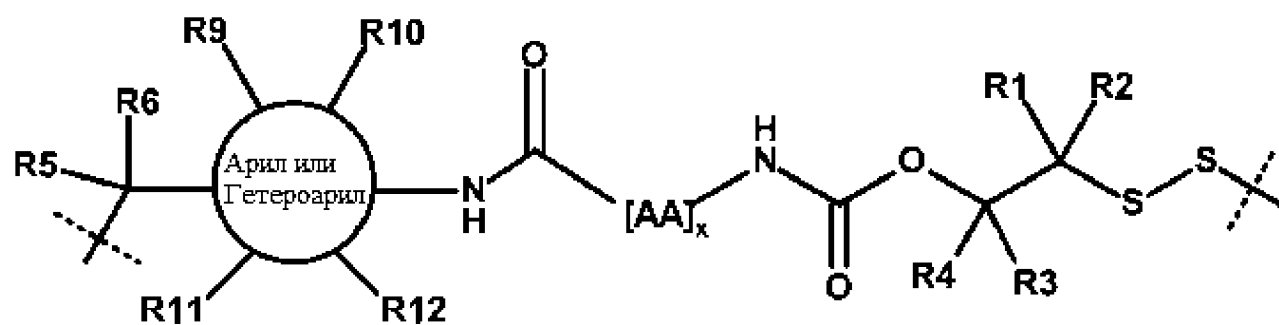
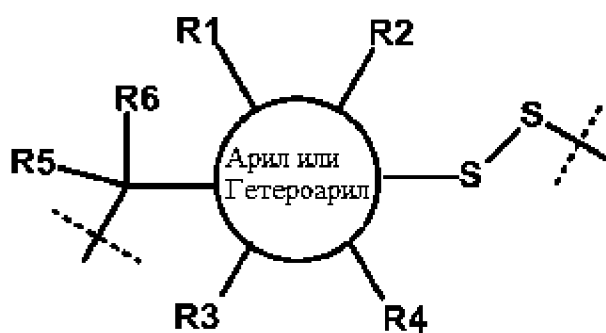
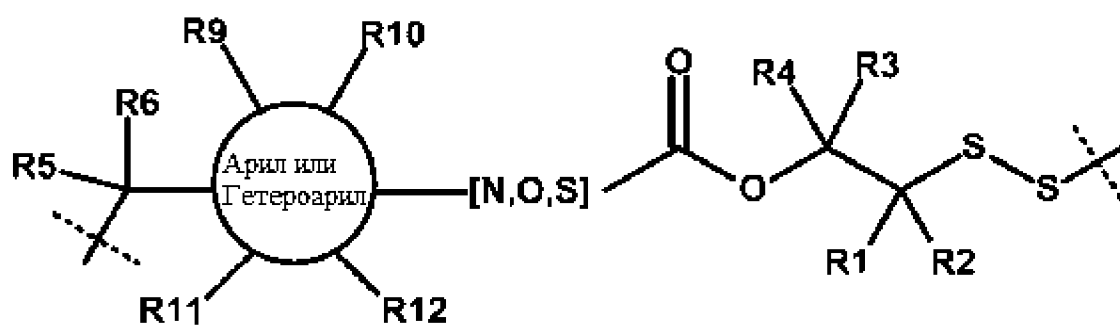
,

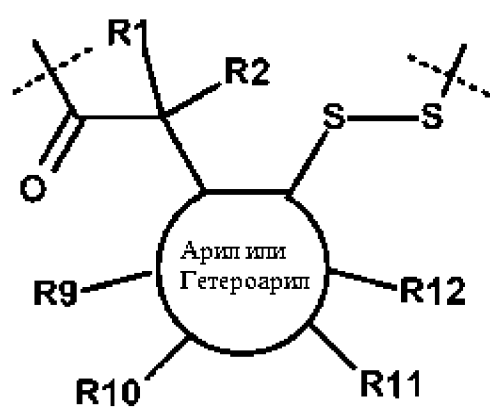
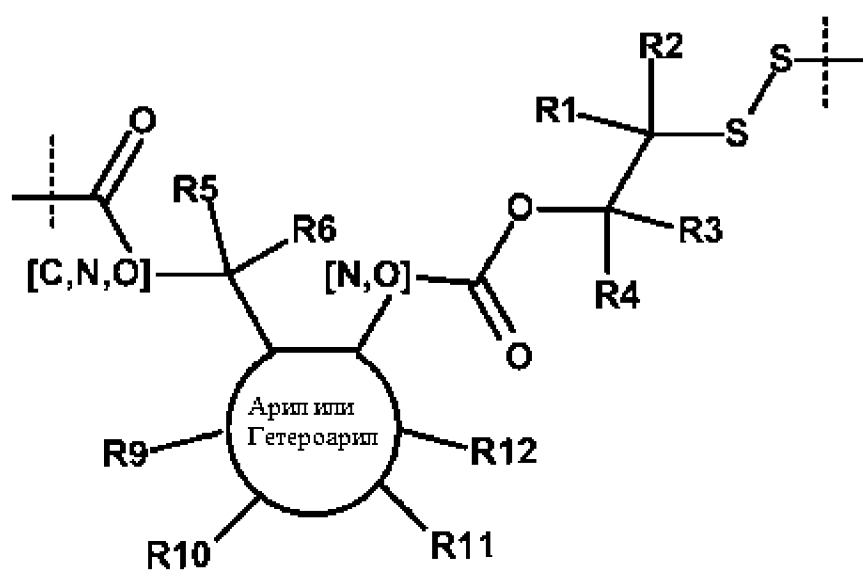
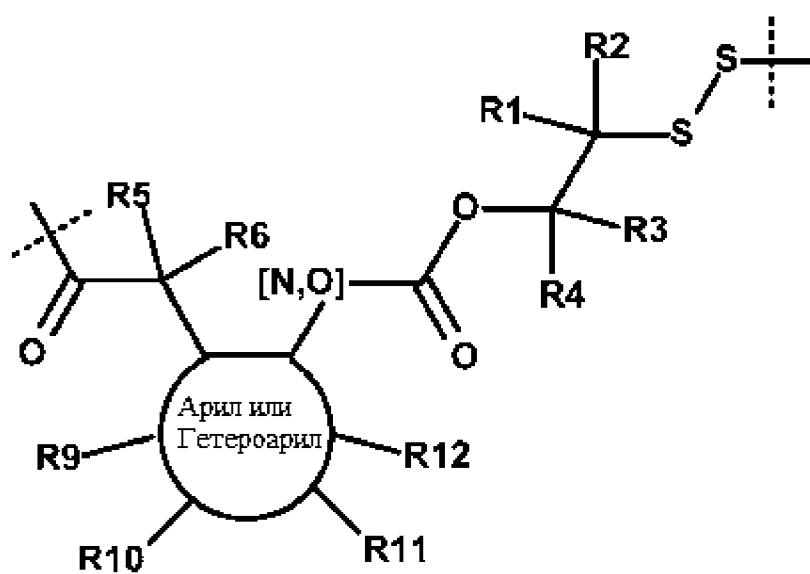


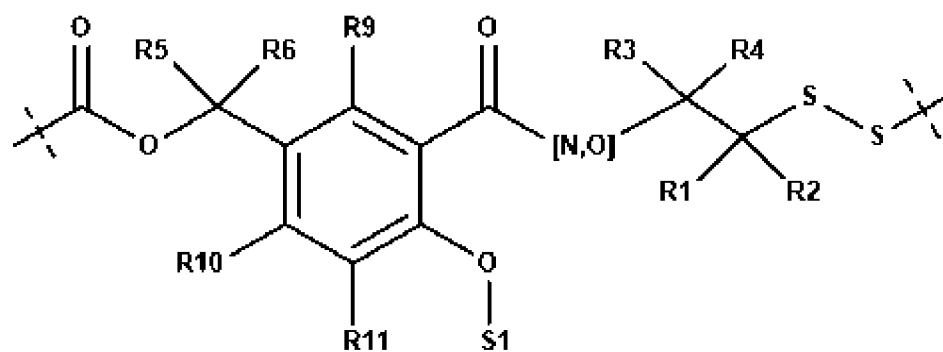
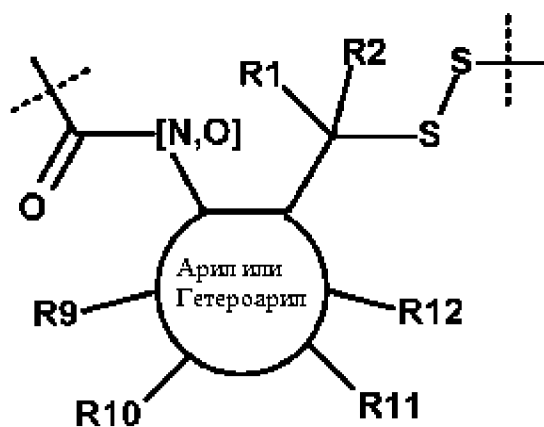
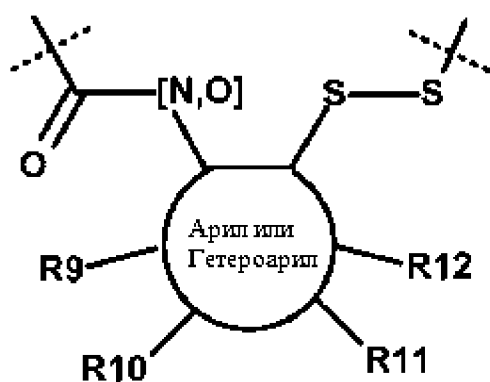
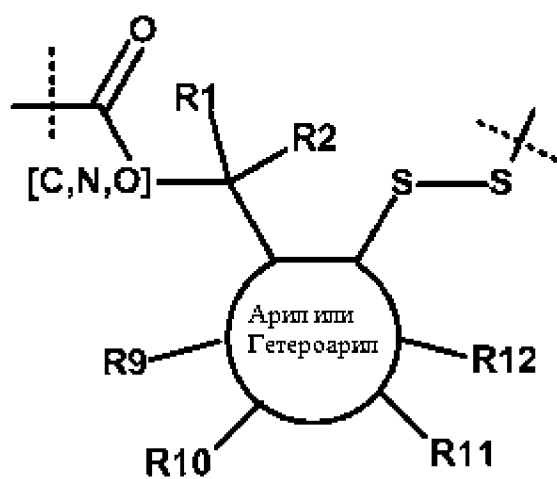
,

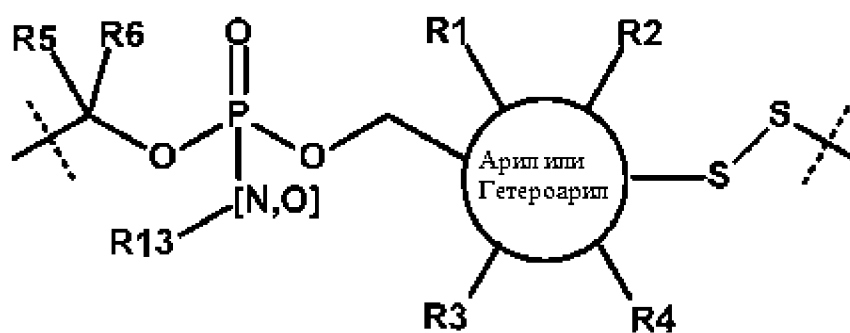
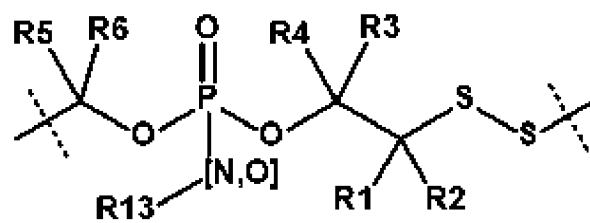
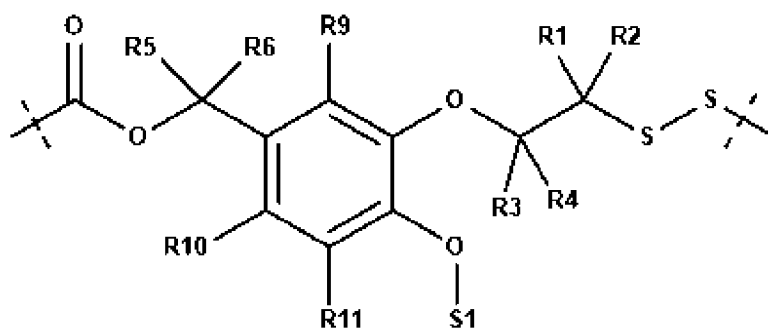
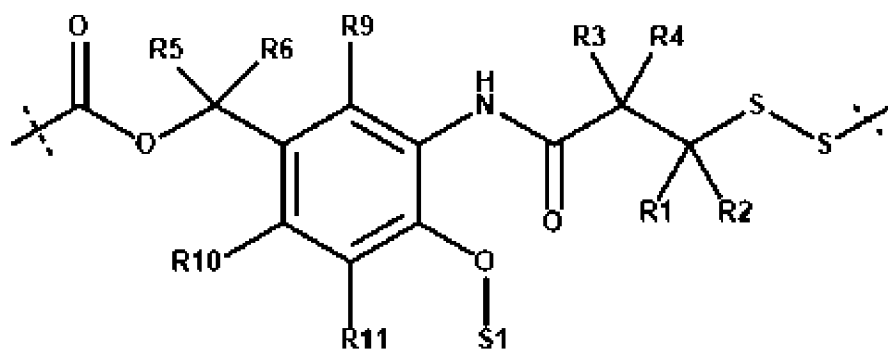
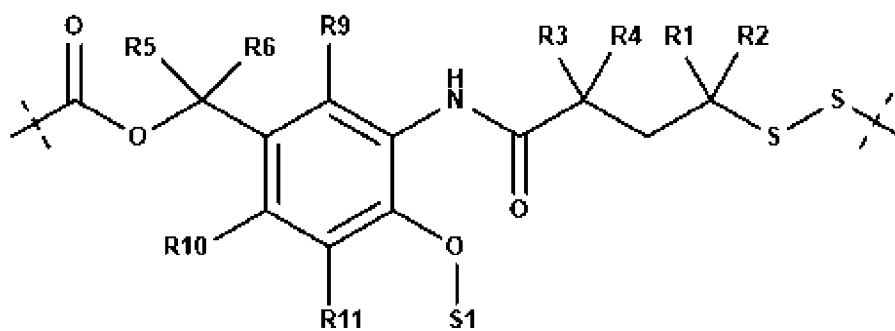


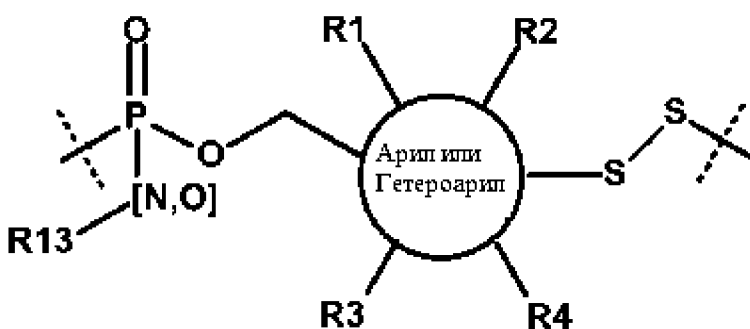
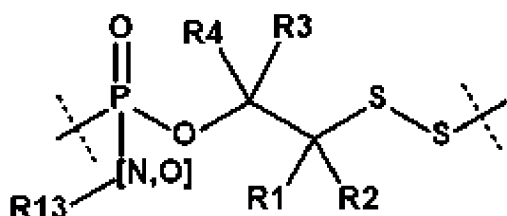
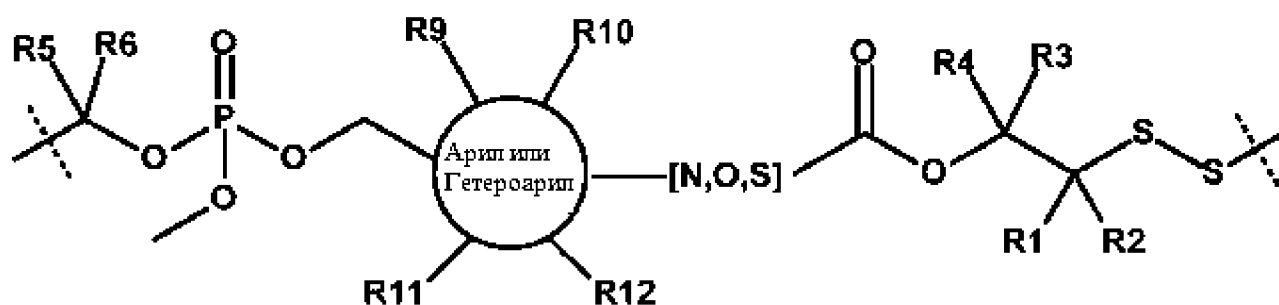
,



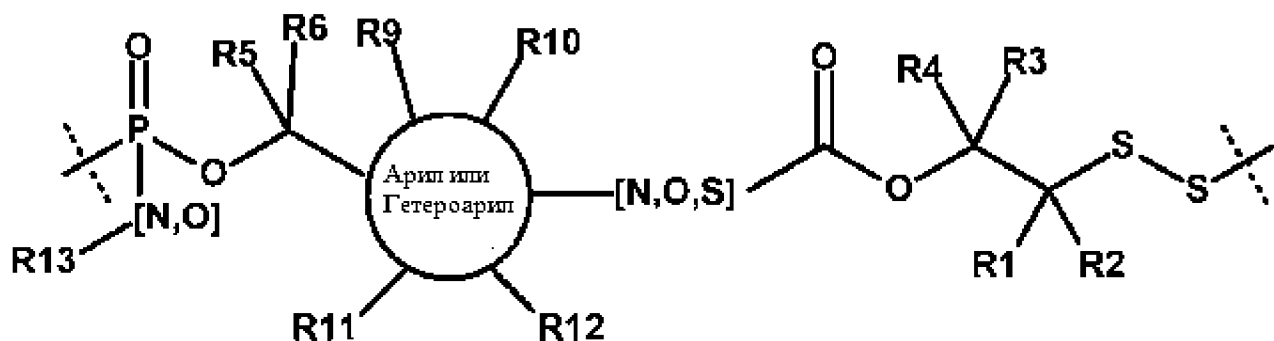








и



$R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R^6, R^9, R^{10}, R^{11}$ и R^{12} каждый независимо выбран из H, C_{1-4} алкила, C_{1-4} алкенила, C_{6-10} арила, 5-10 членного гетероарила, галогена, CN, NO_2 , OR^{al} , SR^{al} , $C(O)R^{bl}$, $C(O)NR^{cl}R^{dl}$, $C(O)OR^{al}$, $OC(O)R^{bl}$, $OC(O)NR^{cl}R^{dl}$, $NR^{cl}R^{dl}$, $NR^{cl}C(O)R^{bl}$, $NR^{cl}C(O)OR^{al}$ и $NR^{cl}C(O)NR^{cl}R^{dl}$, где указанный C_{1-4} алкил, C_{1-4} алкенил, C_{6-10} арил, и 5-10 членный гетероарил, каждый необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из галогена, CN, NO_2 , OR^{al} , SR^{al} , $C(O)R^{bl}$, $C(O)NR^{cl}R^{dl}$, $C(O)OR^{al}$, $OC(O)R^{bl}$, $OC(O)NR^{cl}R^{dl}$, $NR^{cl}R^{dl}$, $NR^{cl}C(O)R^{bl}$, $NR^{cl}C(O)OR^{al}$ и $NR^{cl}C(O)NR^{cl}R^{dl}$;

или R^1 и R^2 вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют C_{3-7} циклоалкильную группу необязательно замещенную 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из галогена, CN, NO_2 , OR^{al} , SR^{al} , $C(O)R^{bl}$, $C(O)NR^{cl}R^{dl}$,

$C(O)OR^{a1}$, $OC(O)R^{b1}$, $OC(O)NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}C(O)R^{b1}$, $NR^{c1}C(O)OR^{a1}$ и $NR^{c1}C(O)NR^{c1}R^{d1}$;

или R^1 и R^3 вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют C_{3-7} циклоалкильную группу необязательно замещенную 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из галогена, CN, NO_2 , OR^{a1} , SR^{a1} , $C(O)R^{b1}$, $C(O)NR^{c1}R^{d1}$, $C(O)OR^{a1}$, $OC(O)R^{b1}$, $OC(O)NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}C(O)R^{b1}$, $NR^{c1}C(O)OR^{a1}$ и $NR^{c1}C(O)NR^{c1}R^{d1}$;

или R^3 и R^4 вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют C_{3-7} циклоалкильную группу необязательно замещенную 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из галогена, CN, NO_2 , OR^{a1} , SR^{a1} , $C(O)R^{b1}$, $C(O)NR^{c1}R^{d1}$, $C(O)OR^{a1}$, $OC(O)R^{b1}$, $OC(O)NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}C(O)R^{b1}$, $NR^{c1}C(O)OR^{a1}$ и $NR^{c1}C(O)NR^{c1}R^{d1}$;

или R^5 и R^6 вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют C_{3-7} циклоалкильную группу необязательно замещенную 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из галогена, CN, NO_2 , OR^{a1} , SR^{a1} , $C(O)R^{b1}$, $C(O)NR^{c1}R^{d1}$, $C(O)OR^{a1}$, $OC(O)R^{b1}$, $OC(O)NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}R^{d1}$, $NR^{c1}C(O)R^{b1}$, $NR^{c1}C(O)OR^{a1}$ и $NR^{c1}C(O)NR^{c1}R^{d1}$;

R^{13} представляет собой H или C_{1-6} алкил;

A представляет собой H или C_{1-4} алкил;



представляет собой C_{6-10} арил или 5-10 членный гетероарил; где указанный 5-10 членный гетероарил имеет, по меньшей мере, один образующий кольцо атом углерода и 1, 2, 3, или 4 образующих кольцо гетероатомов, независимо выбранных из N, O и S;

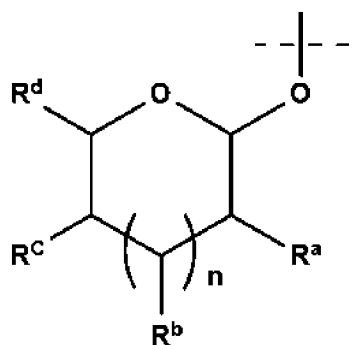
[N, O, S] представляет собой NH, O или S;

[N, O] представляет собой NH или O;

[C, N, O] представляет собой $CR^X R^Y$, NH или O;

каждый R^X и R^Y независимо выбраны из H и C_{1-4} алкила;

$[AA]_x$ представляет собой пептид, который может быть расщеплен действием ферментов;



S1 представляет собой

;

каждый R^a , R^b , R^c и R^d независимо выбран из H, C_{1-4} алкила, OR^{a2} , CO_2R^{a2} и $OC(=O)R^{a2}$, где указанный C_{1-4} алкил необязательно замещен OR^{a2} , CO_2R^{a2} и $OC(=O)R^{a2}$;

R^{a1} , R^{b1} , R^{c1} и R^{d1} каждый независимо выбран из H, C_{1-6} алкила, C_{2-6} алкенила, C_{2-6} алкинила, C_{1-6} галогеналкила, OH, CN, NO_2 и CO_2CH_3 ; где указанный C_{1-6} алкил и C_{2-6} алкенил каждый необязательно замещен OH, CN, NO_2 или CO_2CH_3 ;

R^{a2} представляет собой H или C_{1-4} алкил; и

n равно 0 или 1.

2. Соединение по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^7 представляет собой пептид, способный селективно доставлять R^8Q - через клеточную мембрану, имеющую ацидозную или гипоксическую мантию, имеющую pH менее чем около 6,0.

3. Соединение по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^7 представляет собой пептид, содержащий по меньшей мере одну из следующих последовательностей:

ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (SEQ ID NO: 1; Pv1);

AEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLVDADECG (SEQ ID NO: 2; Pv2);

ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (SEQ ID NO: 3; Pv3);

Ac-AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLVDADEGKCG (SEQ ID NO: 4; Pv4); и

AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLVDADEGTC (SEQ ID No. 5; Pv5);

и где R^7 присоединен к Q через цистеиновый остаток R^7 .

4. Соединение по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^7 представляет собой пептид, содержащий по меньшей мере одну из следующих последовательностей:

ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (SEQ ID NO: 1; Pv1),

AEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLVDADECG (SEQ ID NO: 2; Pv2), и

ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (SEQ ID NO: 3; Pv3),

и где R^7 присоединен к Q через цистеиновый остаток R^7 .

5. Соединение по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^7 представляет собой пептид, содержащий последовательность: ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (SEQ ID NO: 1; Pv1).

6. Соединение по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^7 представляет собой пептид, содержащий последовательность: AEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLVDADECG (SEQ ID NO: 2; Pv2).

7. Соединение по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^7 представляет собой пептид, содержащий последовательность: ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (SEQ ID NO: 3; Pv3).

8. Соединение по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^7 представляет собой пептид, содержащий последовательность: Ac-AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLALLVDADEGKCG (SEQ ID NO: 4; Pv4).

9. Соединение по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^7 представляет собой пептид, содержащий последовательность:

AAEQNPYIYWARYADWLFTTPLLALLVDADGTC (SEQ ID No. 5; Pv5).

10. Соединение по любому из пп. 1-9 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^1 и R^2 каждый независимо выбран из H и метила, и R^3 , R^4 , R^5 и R^6 каждый представляет собой H.

11. Соединение по любому из пп. 1-9 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^1 и R^2 каждый независимо выбран из H и метила.

12. Соединение по любому из пунктов 1-9 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^1 и R^2 каждый представляет собой H.

13. Соединение по любому из пунктов 1-9 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^3 и R^4 каждый представляет собой H.

14. Соединение по любому из пунктов 1-9 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^5 и R^6 каждый представляет собой H.

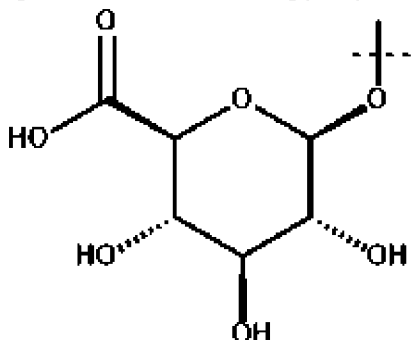
15. Соединение по любому из пп. 1-14 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^9 , R^{10} , R^{11} и R^{12} каждый независимо выбран из H и метила.

16. Соединение по любому из пп. 1-15 или его фармацевтически приемлемая соль, где указанный фермент, способный расщеплять $[AA]_x$, представляет собой Катепсин В, MMPXX, DPPIV, гликопротеин, пептидазу или каспазу.

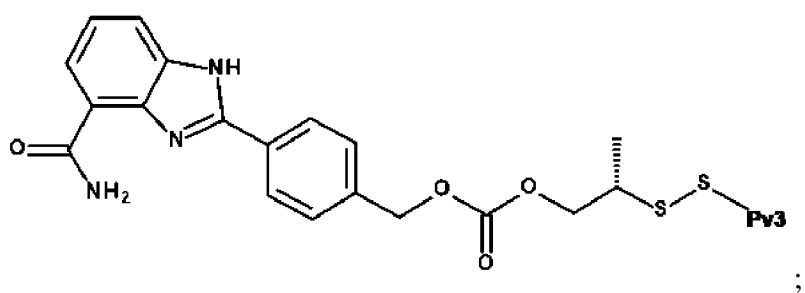
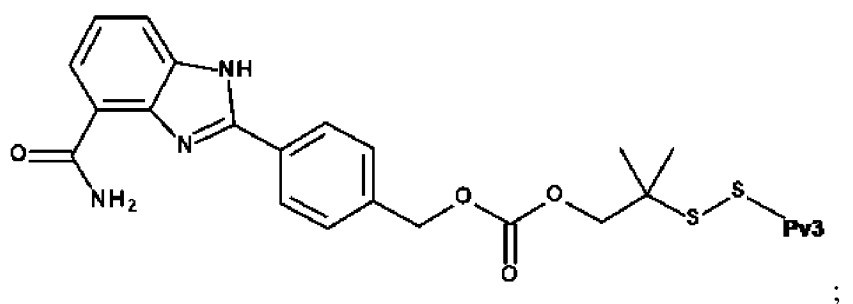
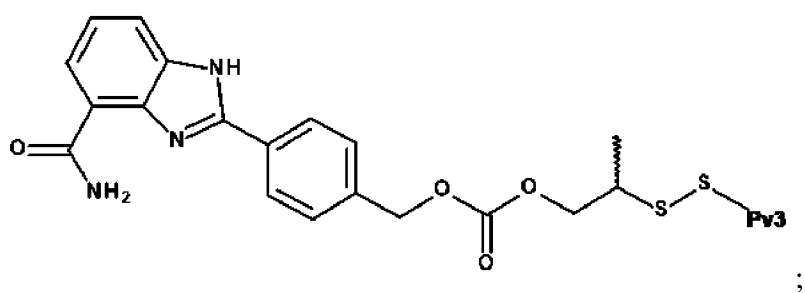
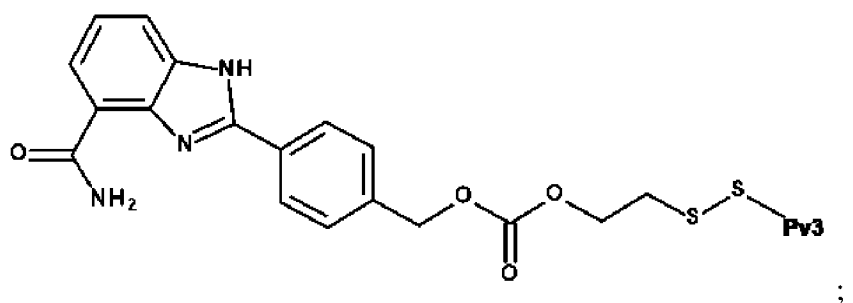
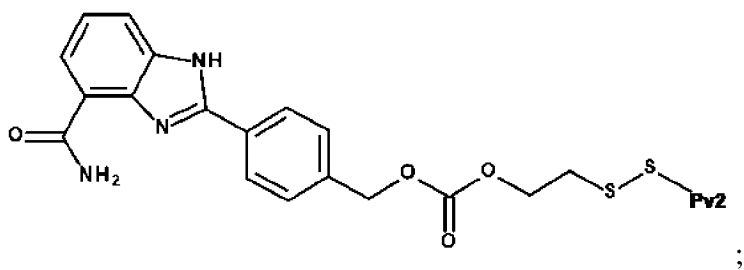
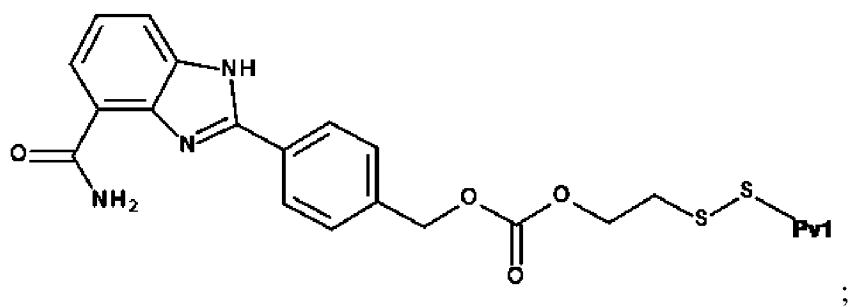
17. Соединение по любому из пп. 1-15 или его фармацевтически приемлемая соль, где $[AA]_x$ представляет собой пептид, имеющий от двух до десяти аминокислотных остатков.

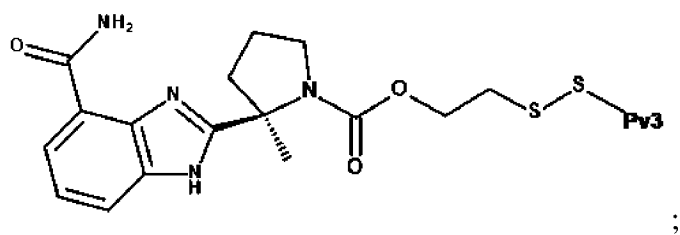
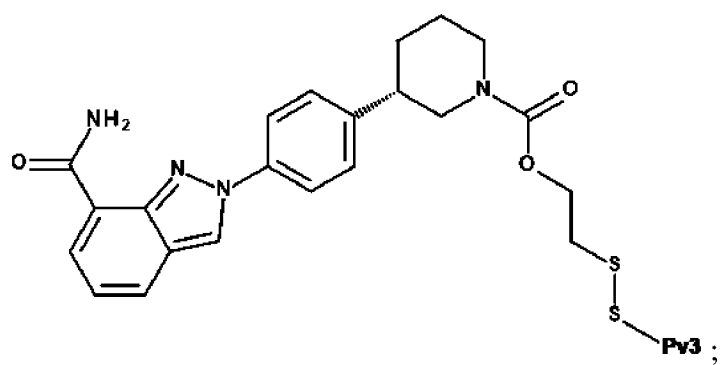
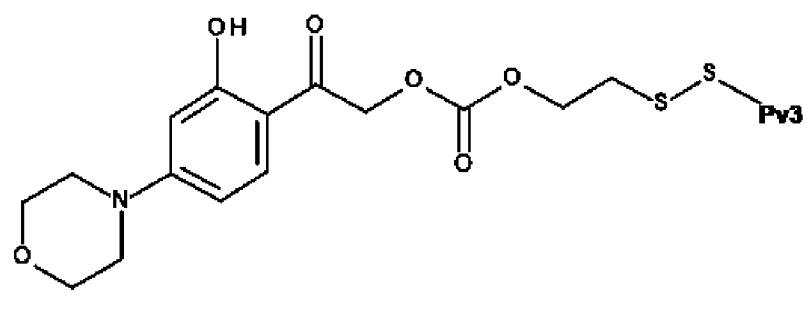
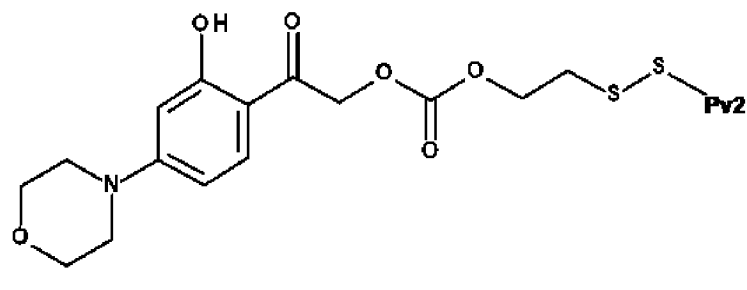
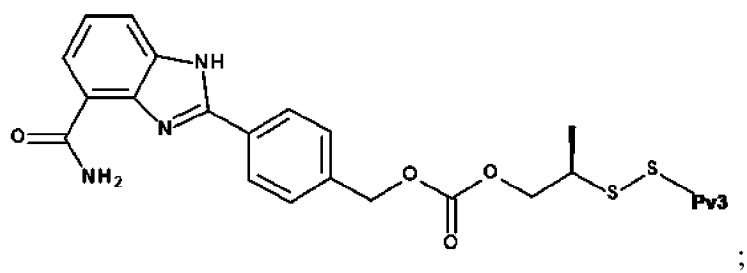
18. Соединение по любому из пп. 1-15 или его фармацевтически приемлемая соль, где $[AA]_x$ представляет собой -Pro_Gly-, -Val_Cit-, -Gly_Pro_Leu_Gly_Leu_Ala_Gly_Asp_Asp-, -Gly_Pro_GLeu_Gly_Val_Arg_Gly или -Ser_Ser_Lys_Leu_Gly-.

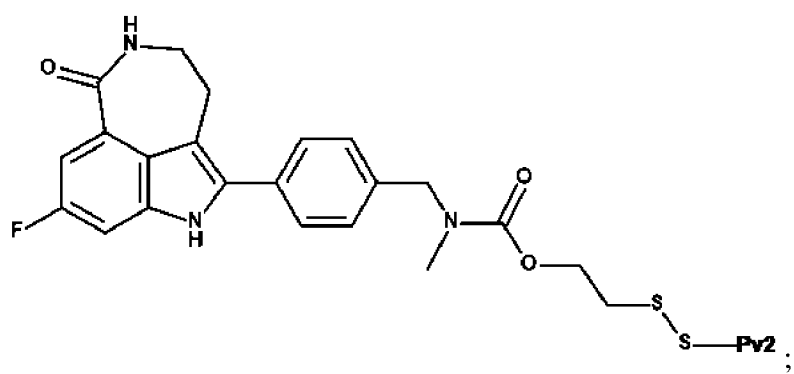
19. Соединение по любому из пп. 1-18 или его фармацевтически приемлемая соль, где S1 представляет собой группу, имеющую следующую структуру:

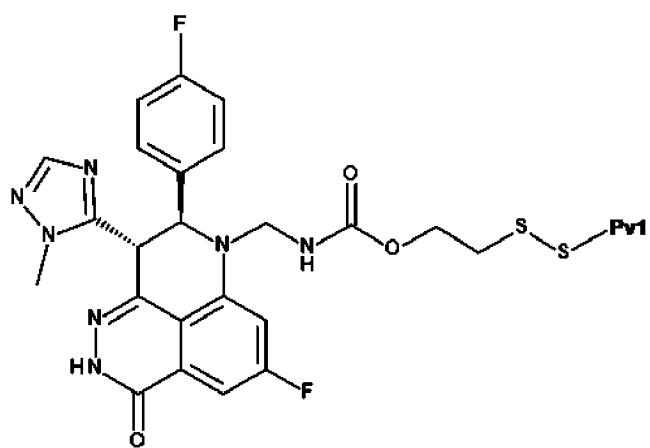


20. Соединение по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль, выбранное из:

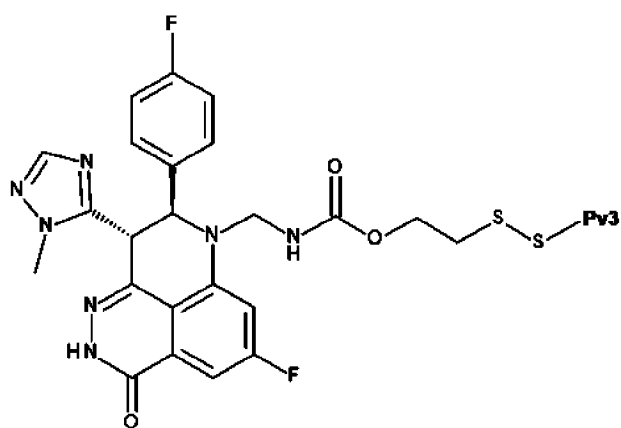




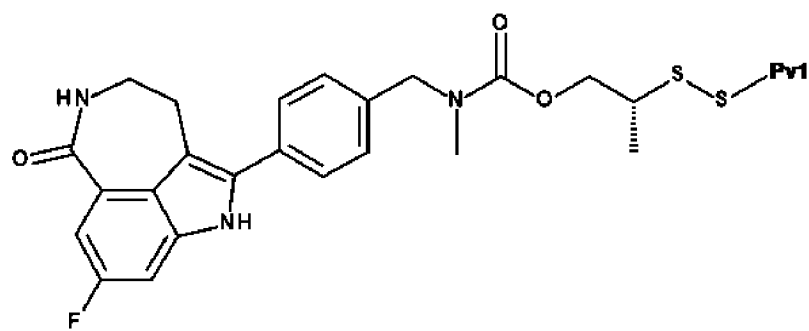




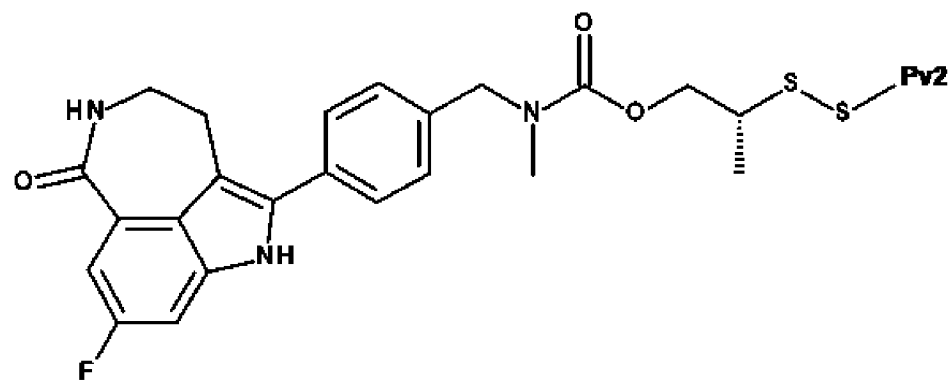
;



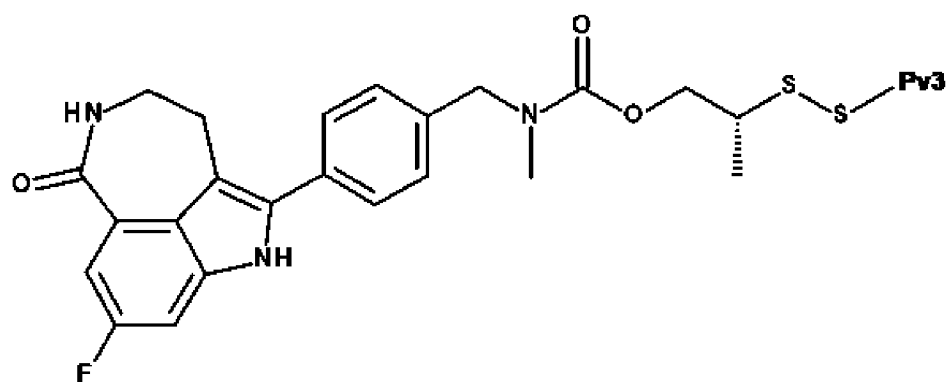
;



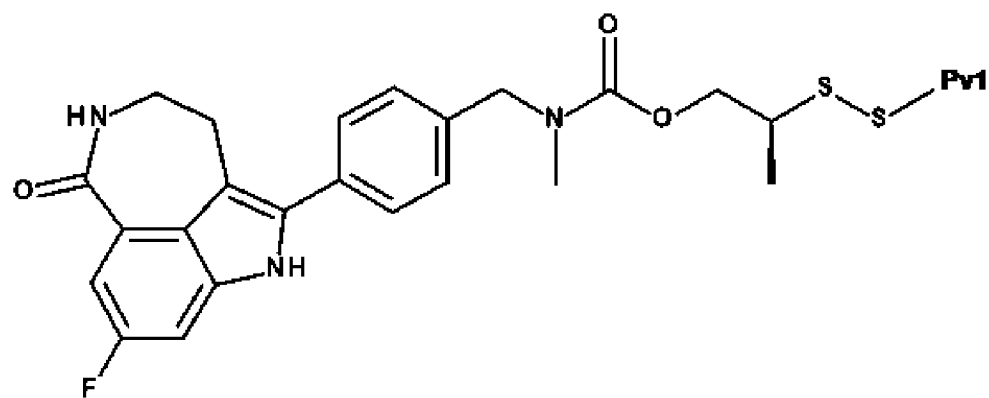
;



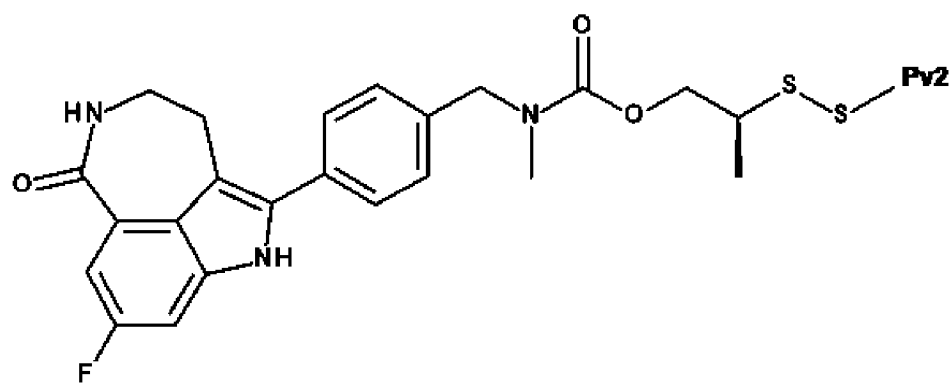
;



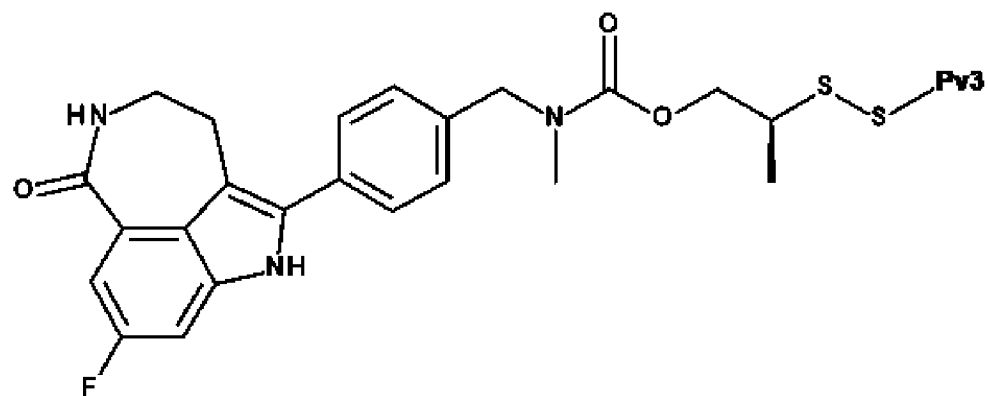
;



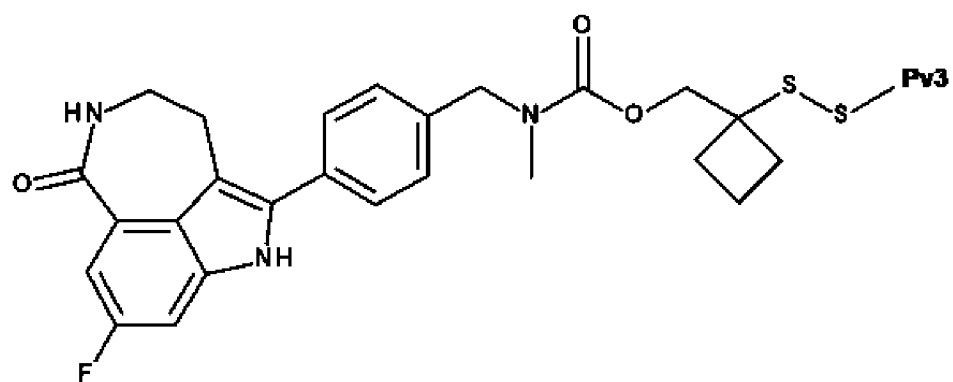
;



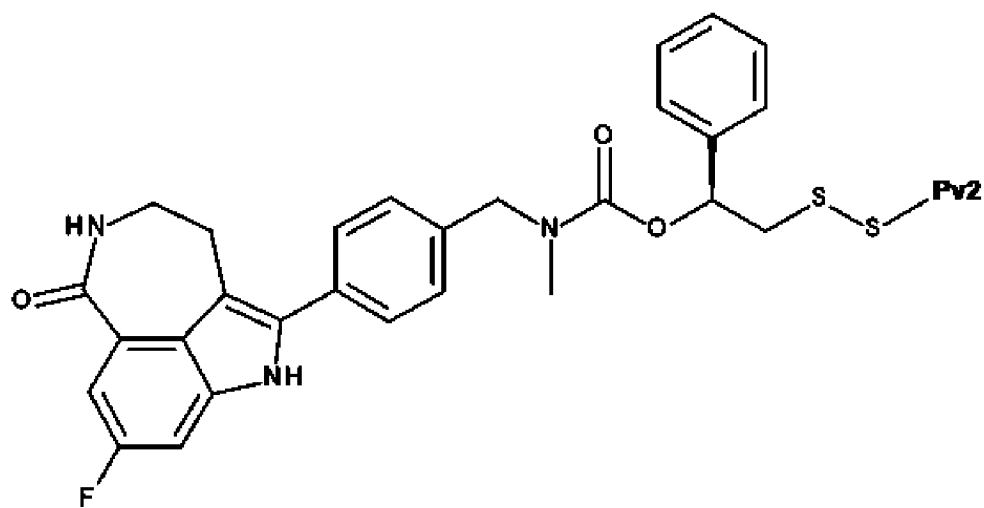
;



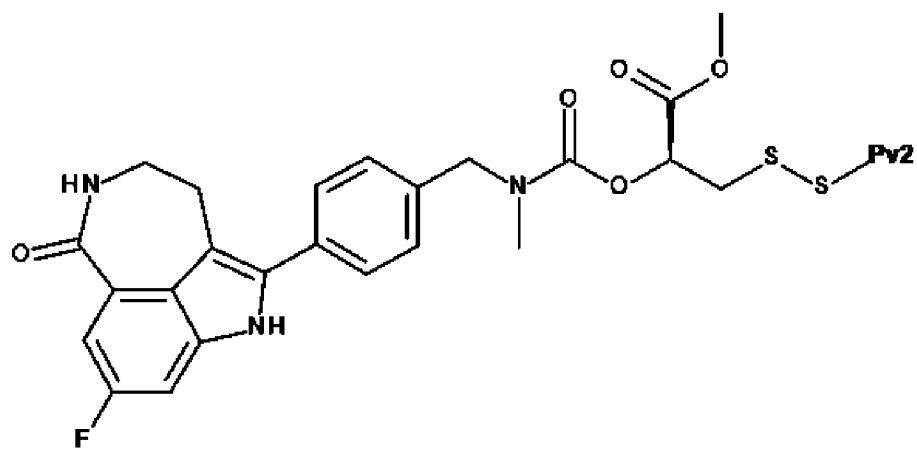
;



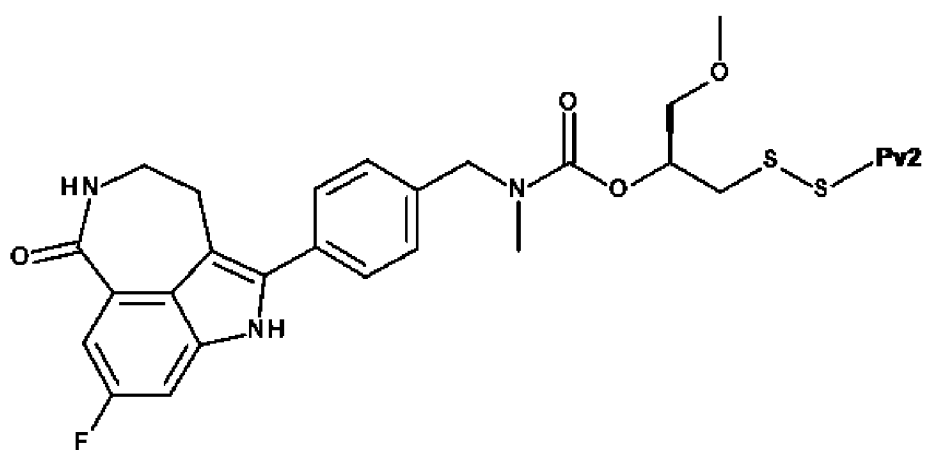
;



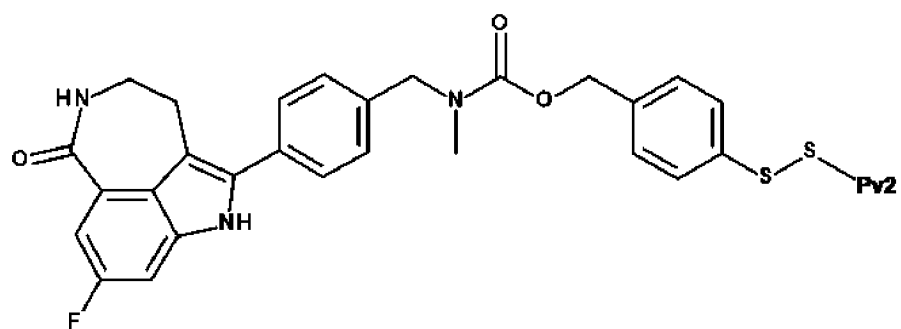
;



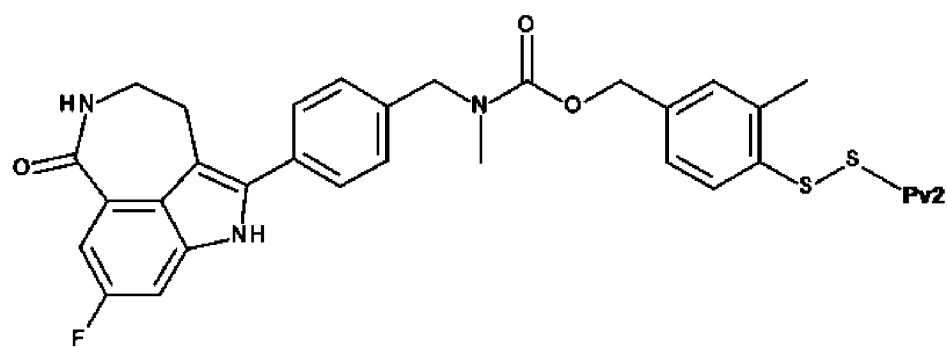
;



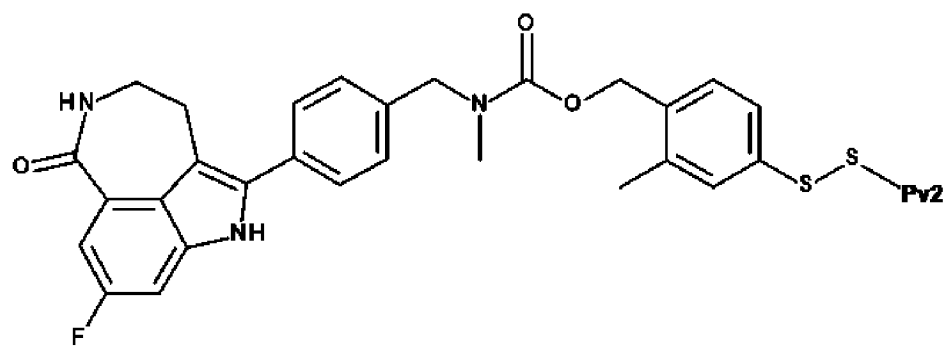
;



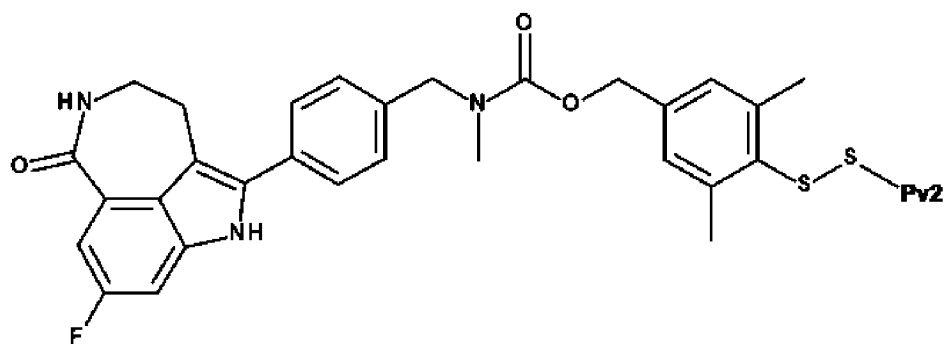
;



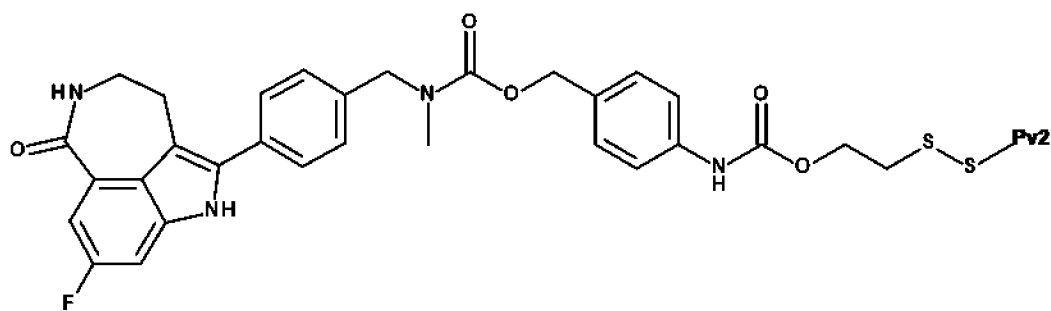
;



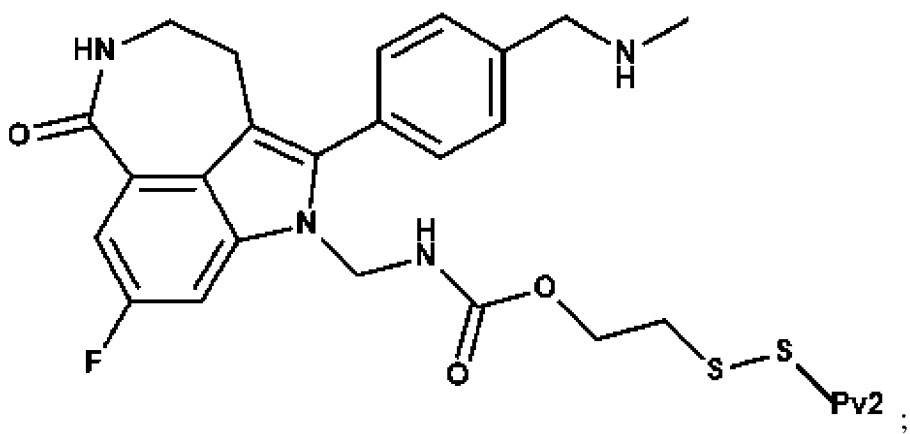
;



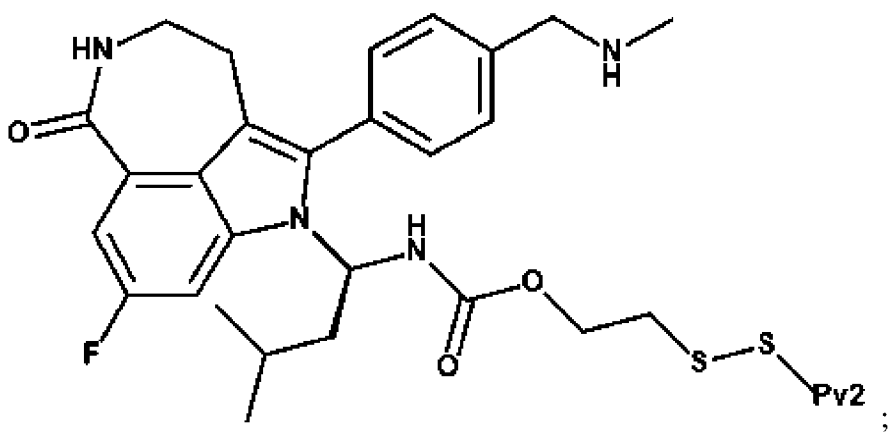
;



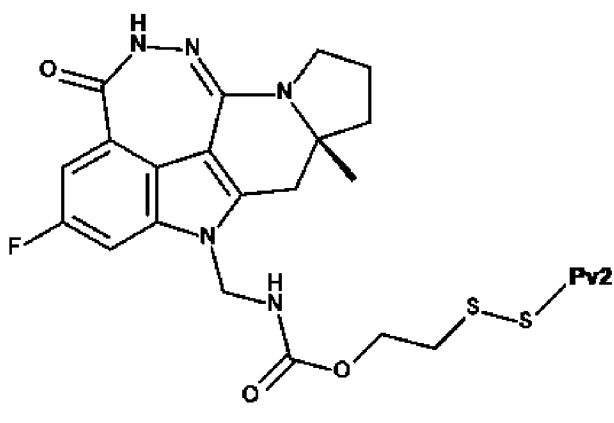
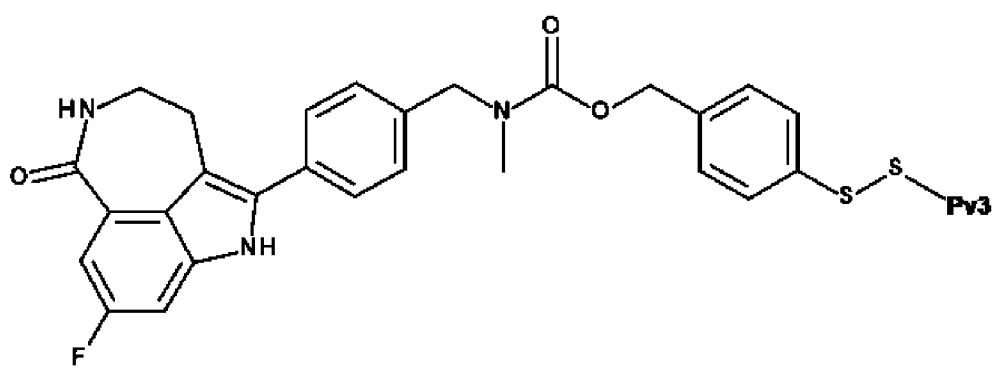
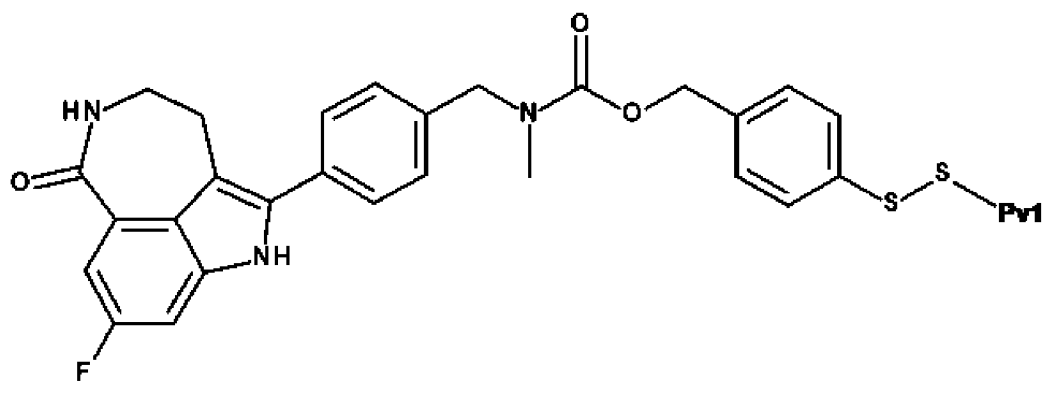
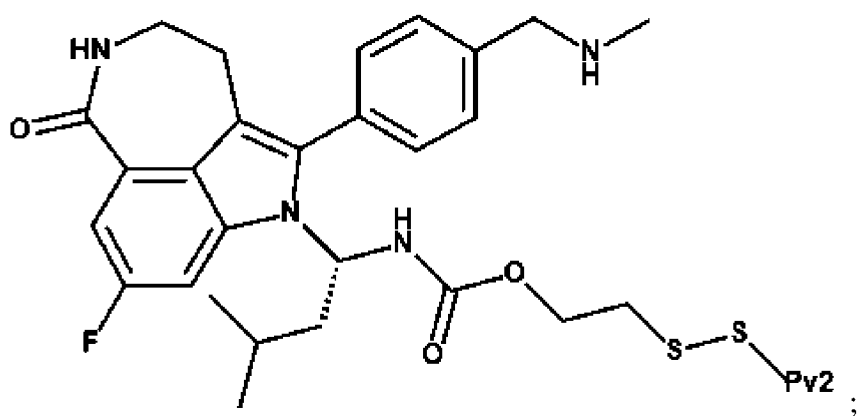
;

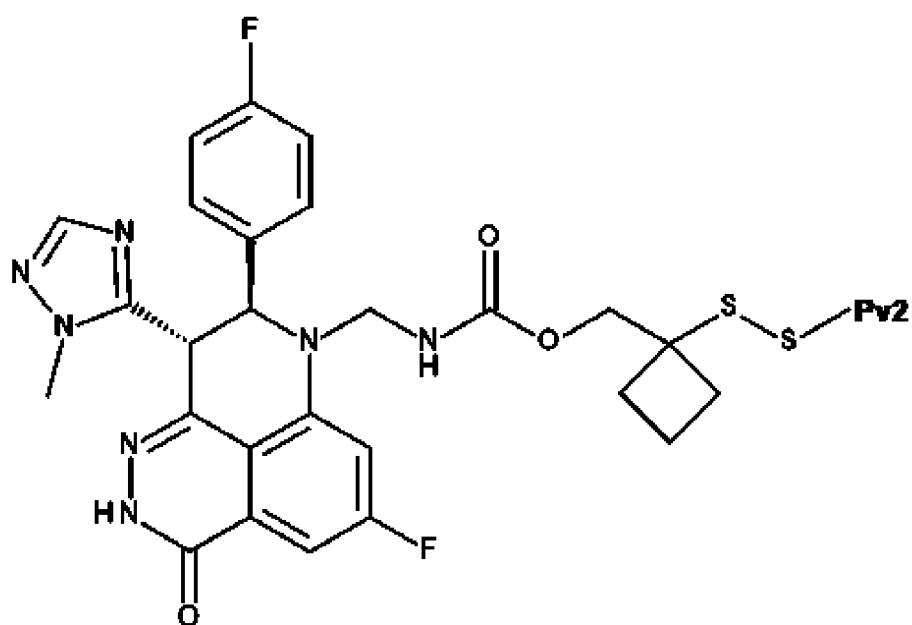


;

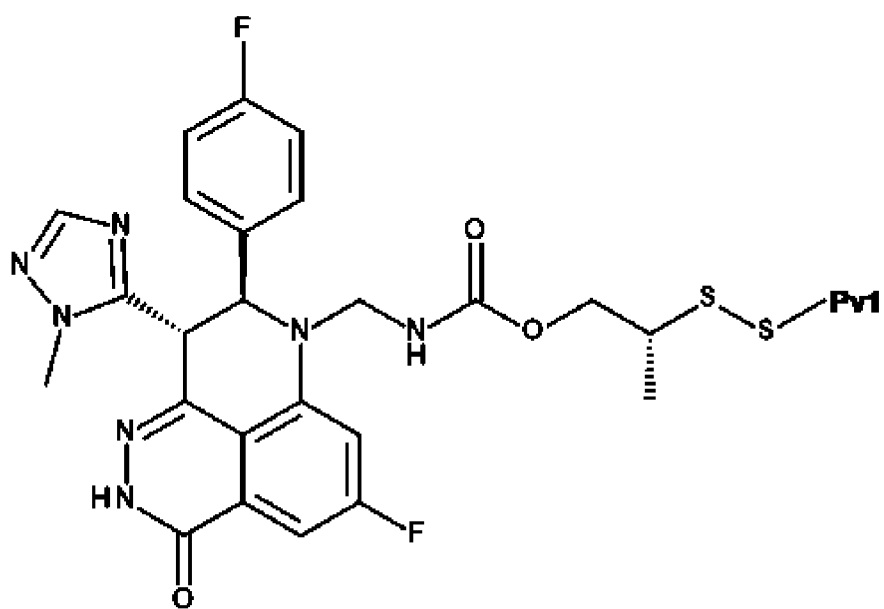


;

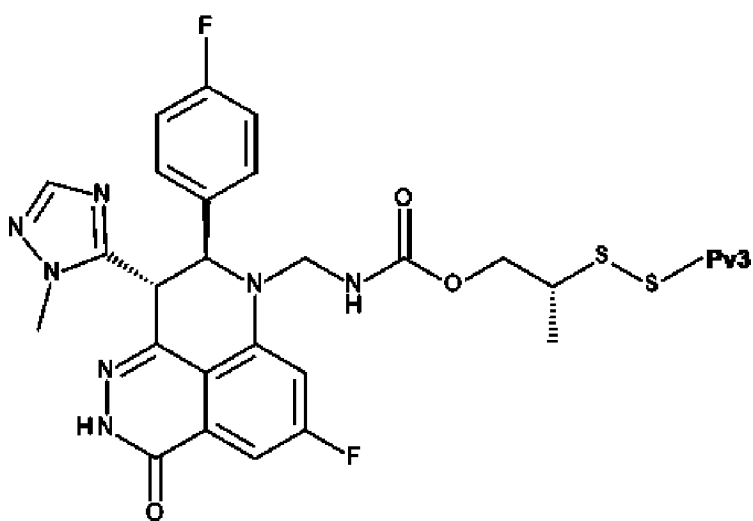




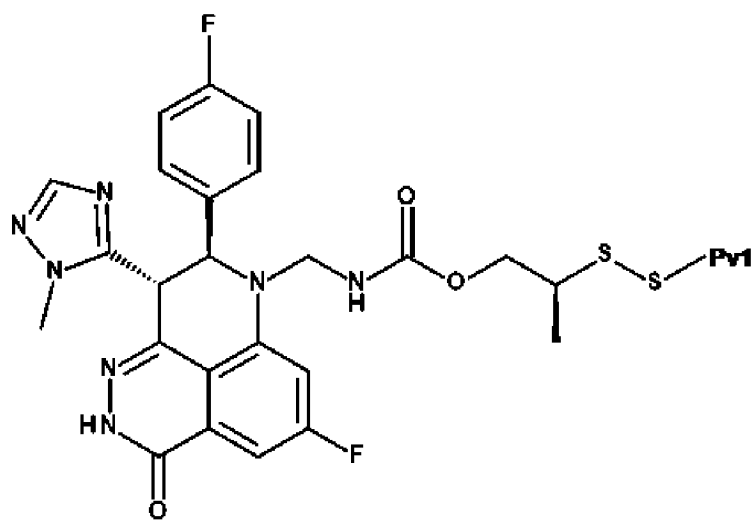
;



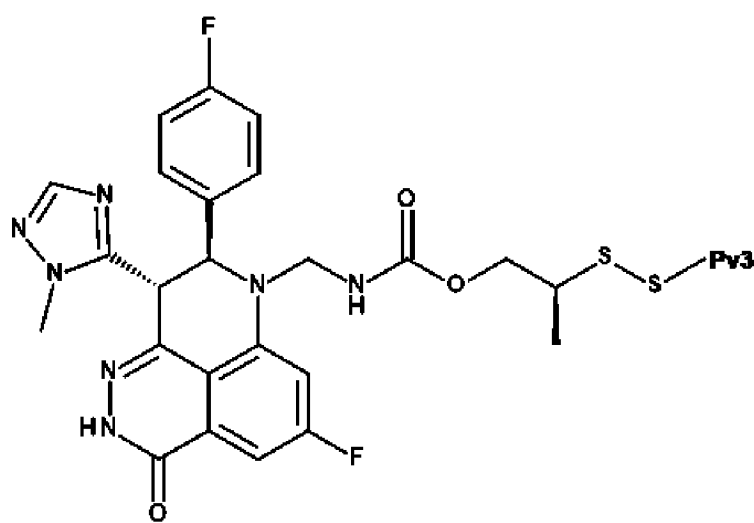
;



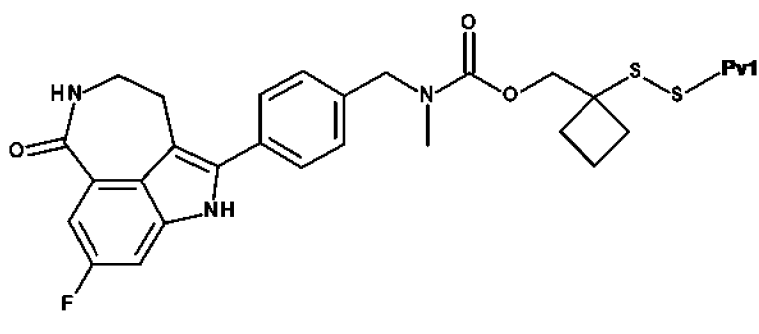
;



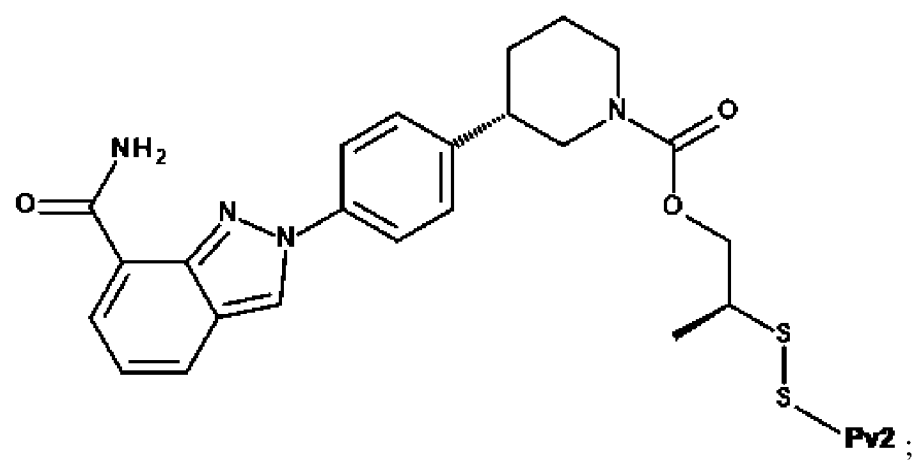
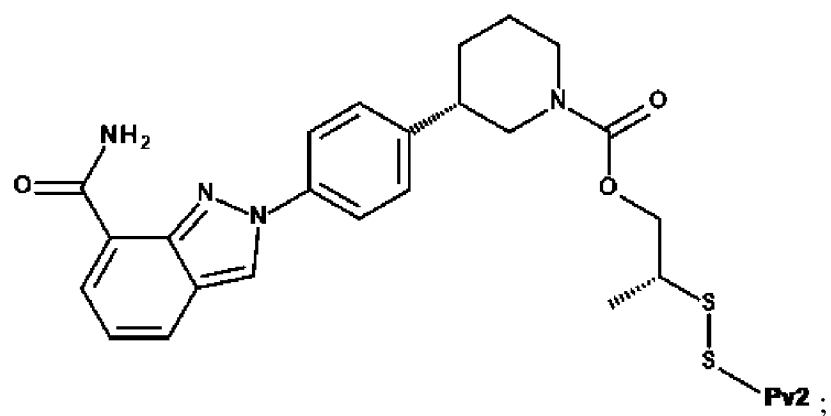
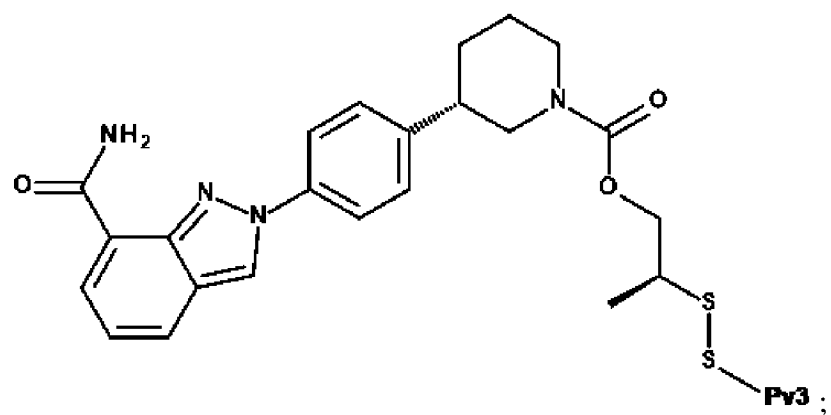
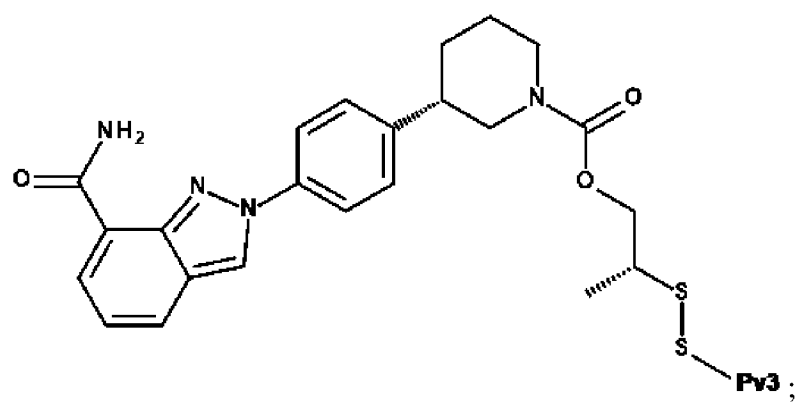
;

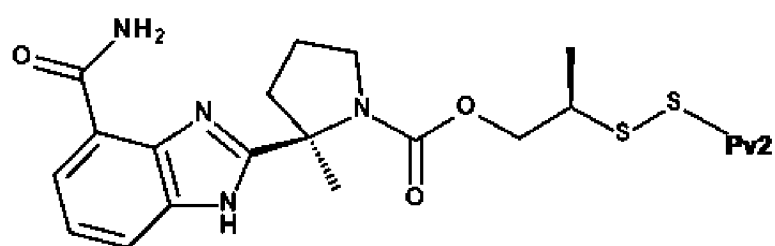
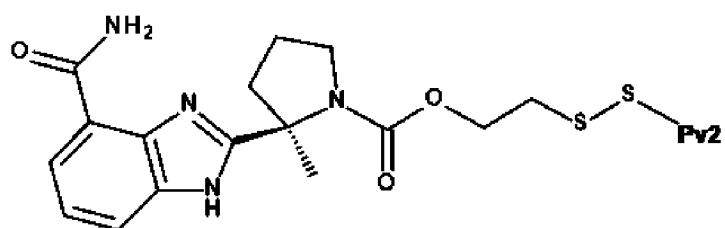
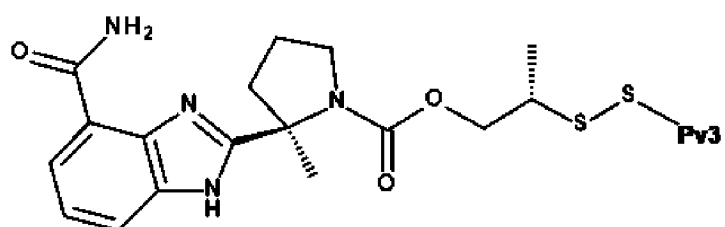
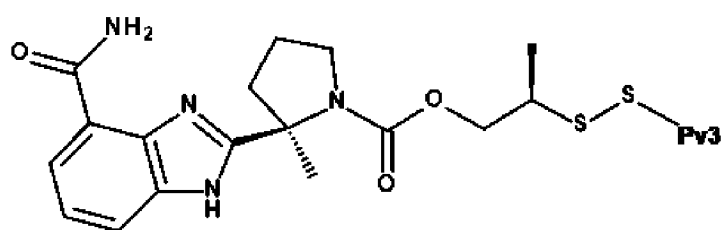
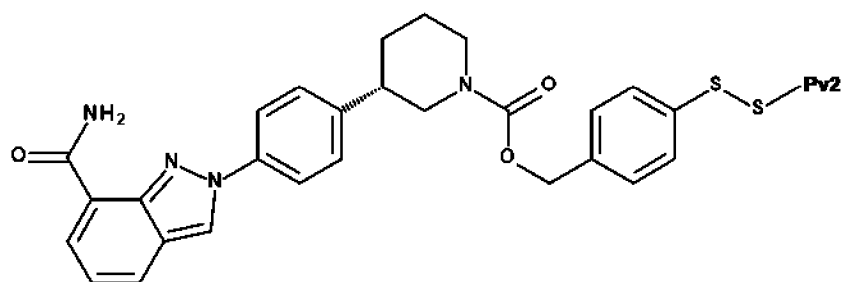


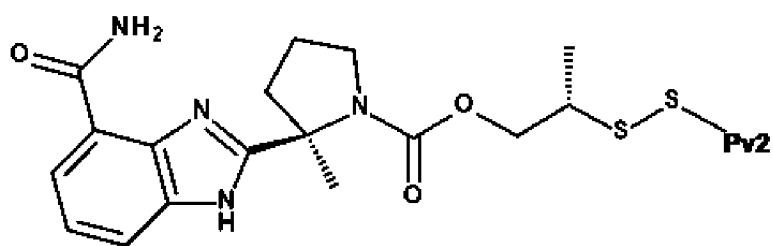
;



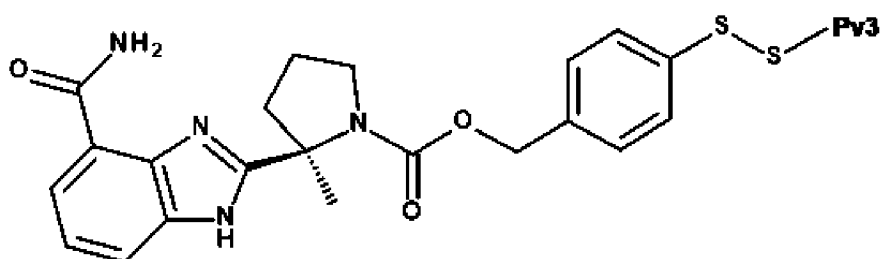
;



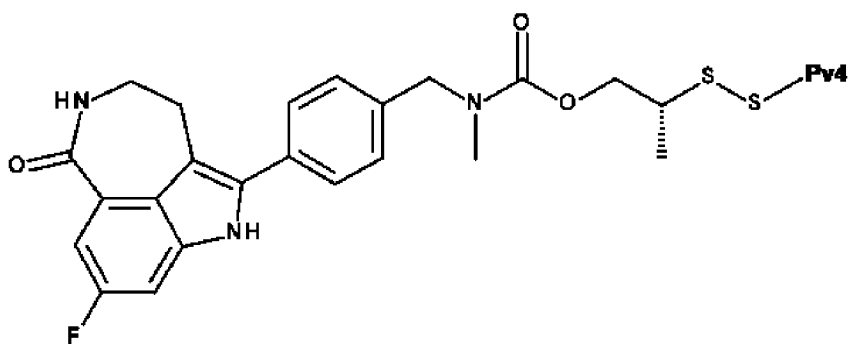




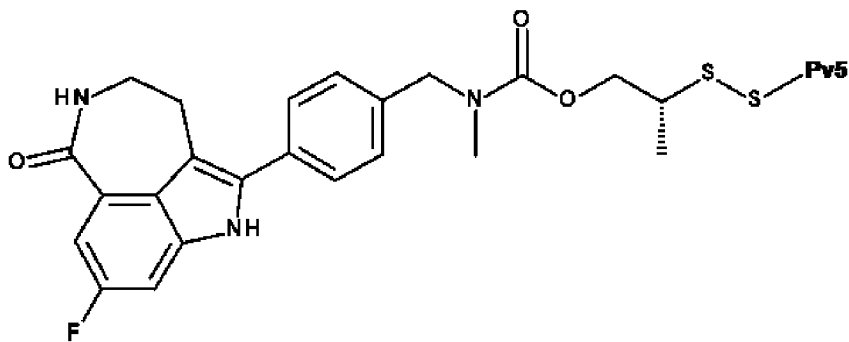
;



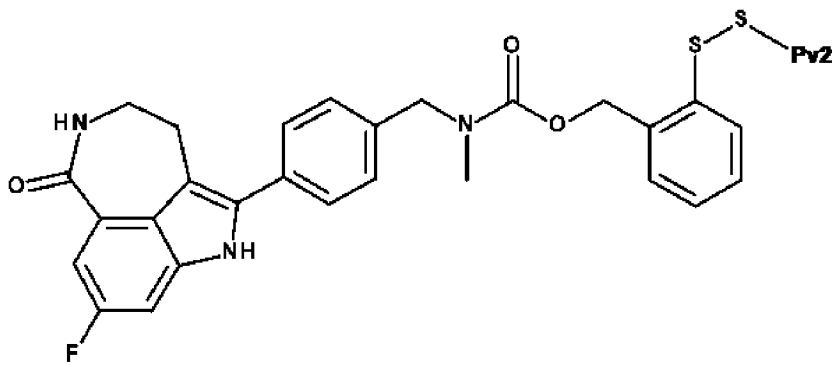
;



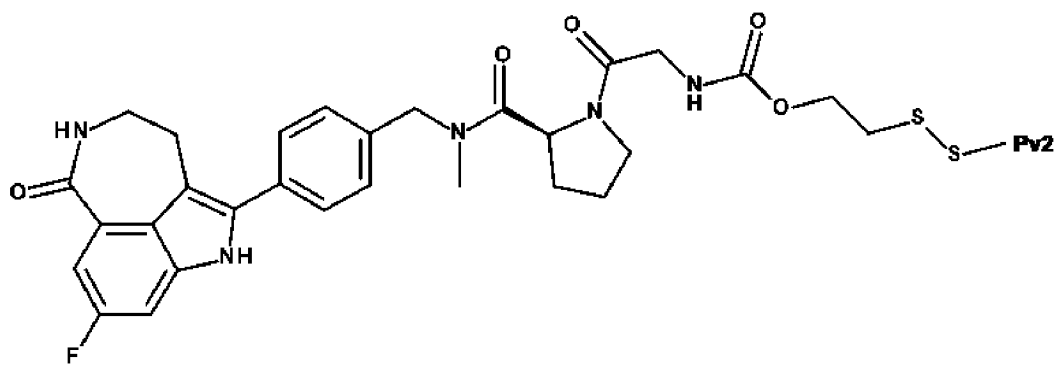
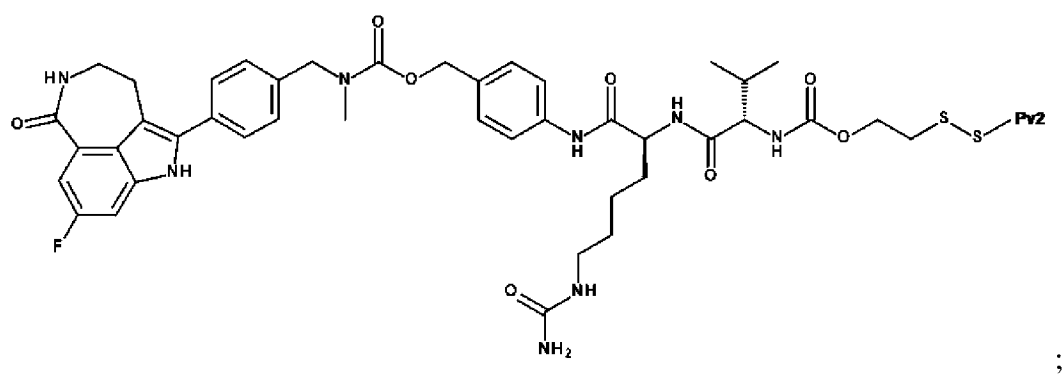
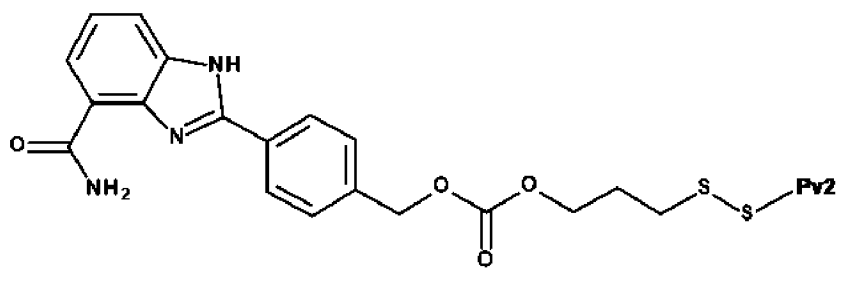
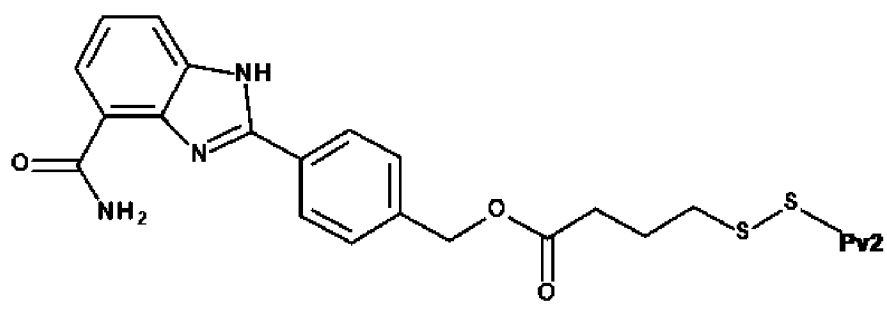
;



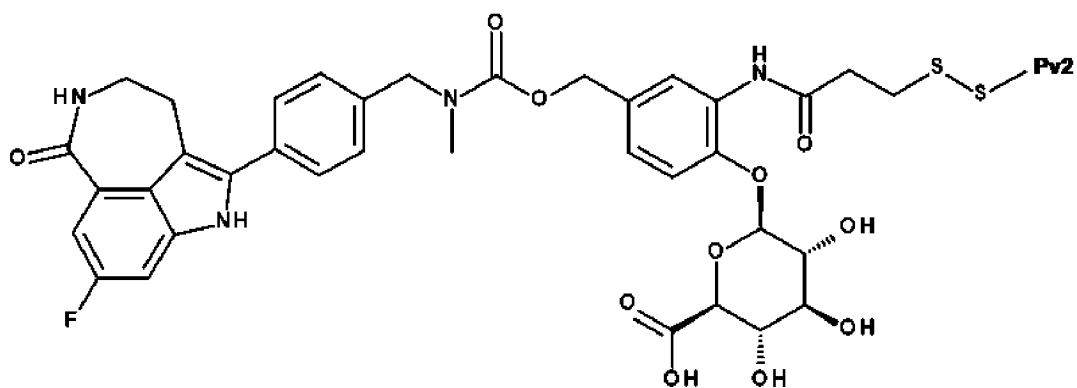
;



;



; и



21. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп. 1-20 или его фармацевтически приемлемую соль.

22. Способ лечения заболевания или состояния с участием ацидозной или гипоксической больной ткани у пораженного человека или другого млекопитающего, нуждающегося в таком лечении, который включает введение пораженному человеку или другому млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп. 1-20 или его фармацевтически приемлемой соли.

23. Способ по п. 22, отличающийся тем, что указанное заболевание или состояние выбрано из рака, инсульта, инфаркта миокарда и долгосрочного нейродегенеративного заболевания.

24. Способ по п. 23, отличающийся тем, что указанное заболевание или состояние представляет собой рак.

25. Способ по п. 24, отличающийся тем, что указанный рак является PARP-чувствительным.

26. Способ по п. 24, отличающийся тем, что указанный рак связан с аномальной экспрессией или активностью ATM.

27. Способ по п. 24, отличающийся тем, что указанный рак связан с аномальной экспрессией или активностью ДНК-ПК.

28. Способ по п. 24, отличающийся тем, что указанный рак представляет собой рак молочной железы с мутацией гена BRCA.

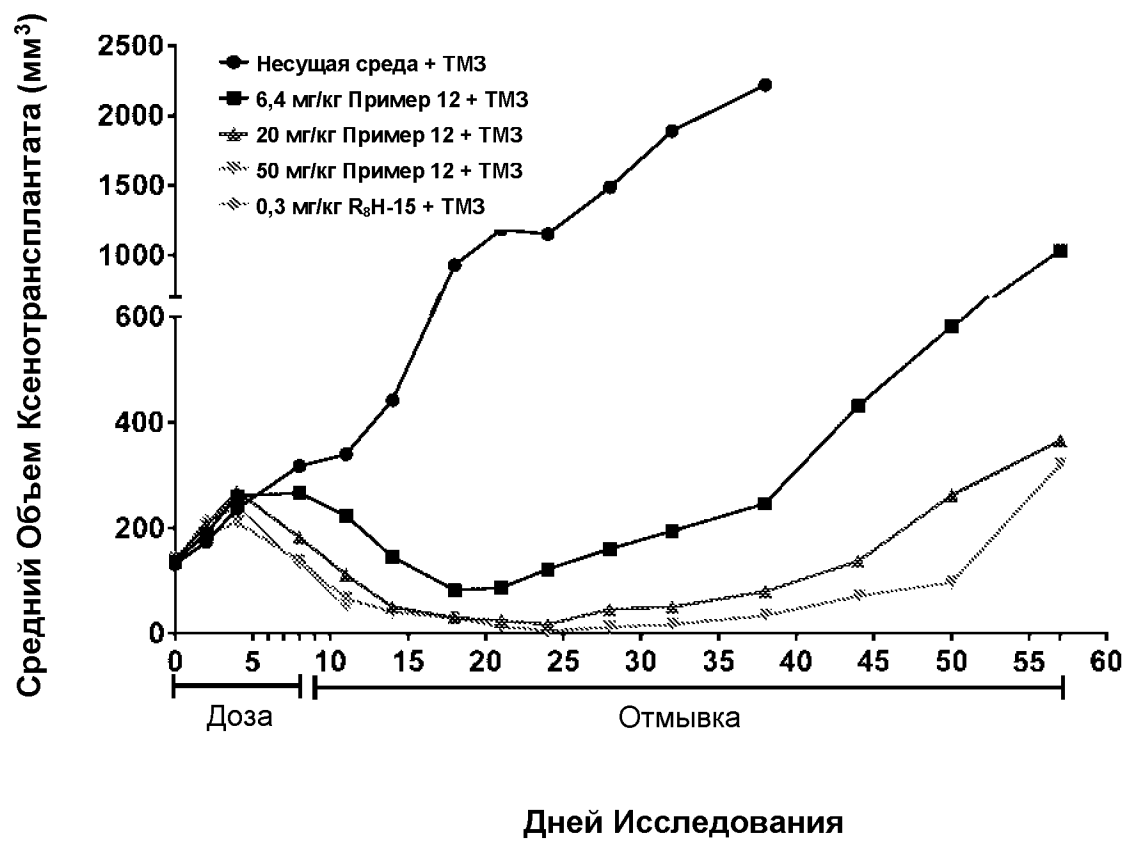
29. Способ по п. 24, отличающийся тем, что указанный рак представляет собой рак яичников с мутацией зародышевой линии гена BRCA.

30. Способ по п. 23, дополнительно включающий введение терапевтически эффективного количества ионизирующей радиации или цитотоксического агента указанному пораженному человеку или другому млекопитающему.

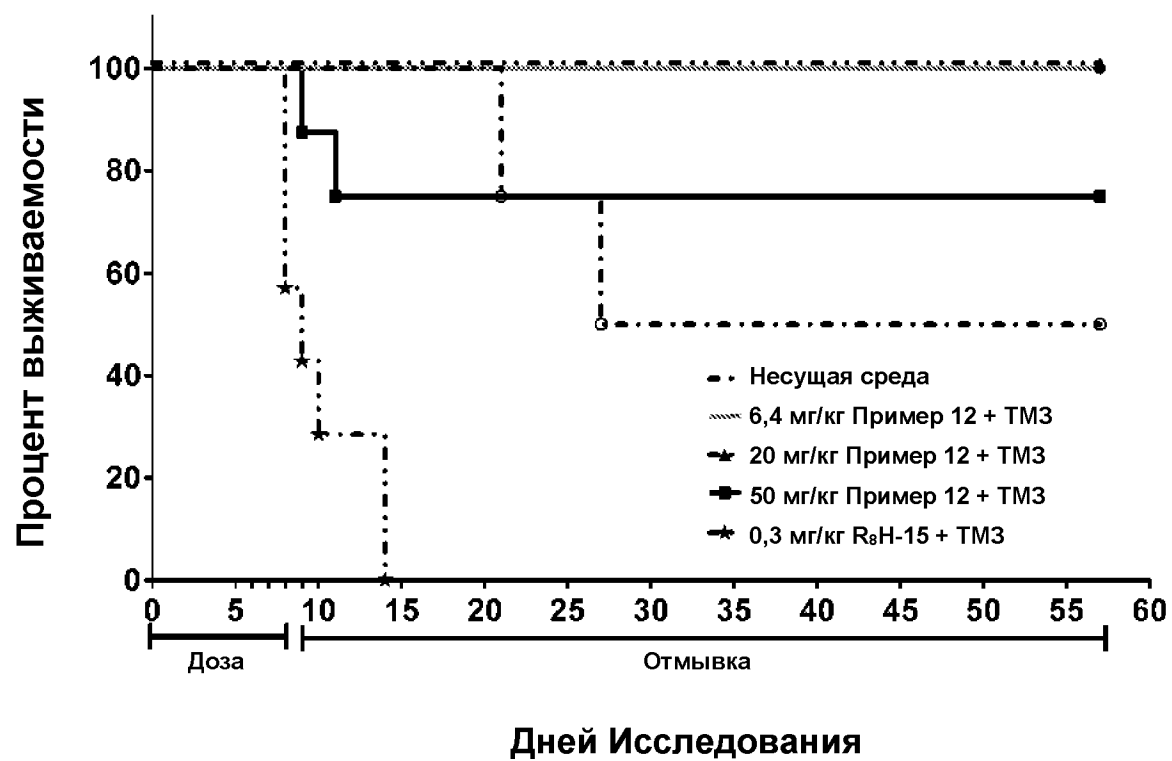
31. Способ снижения токсичности на костный мозг, связанной с применением ионизирующего излучения или цитотоксического агента, включающий введение человеку или другому млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп. 1-20 или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с ионизирующим излучением или цитотоксическим агентом.

По доверенности

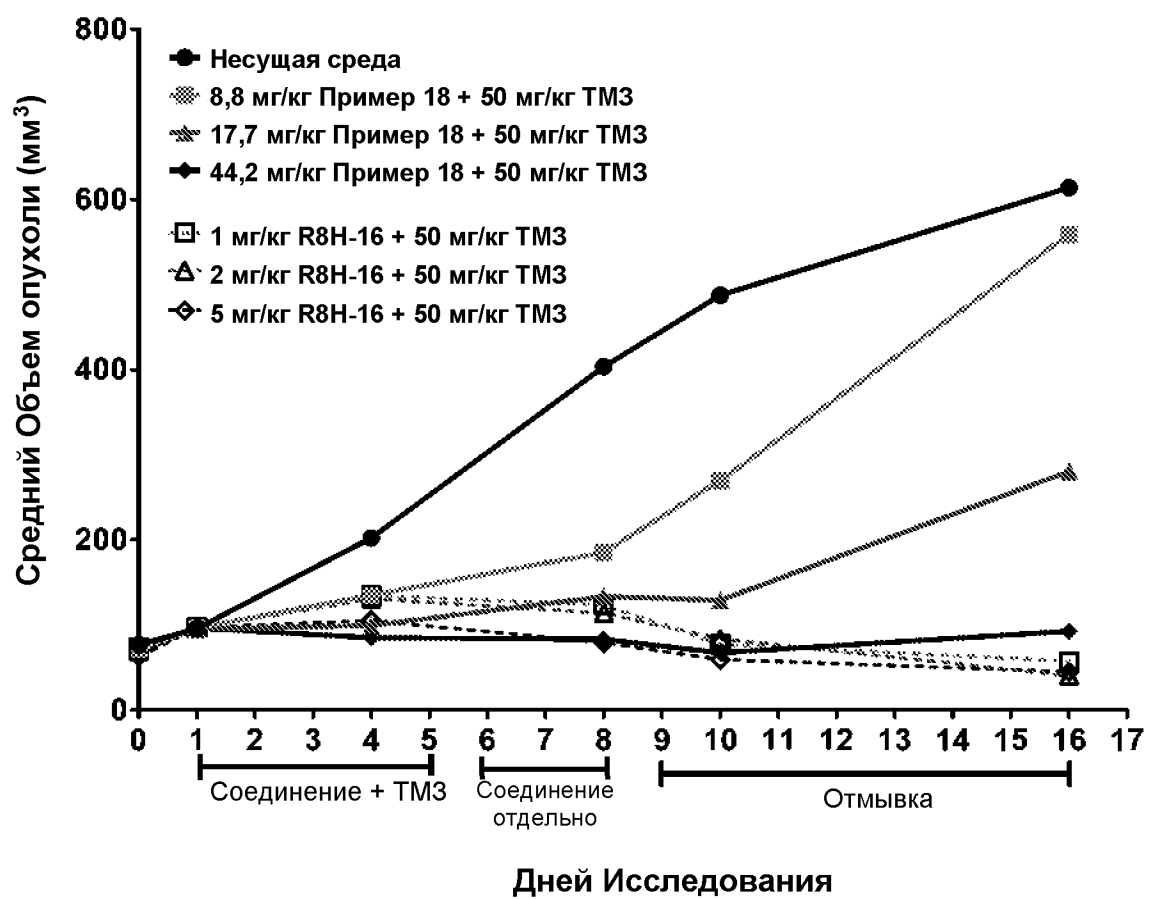
ФИГ. 1



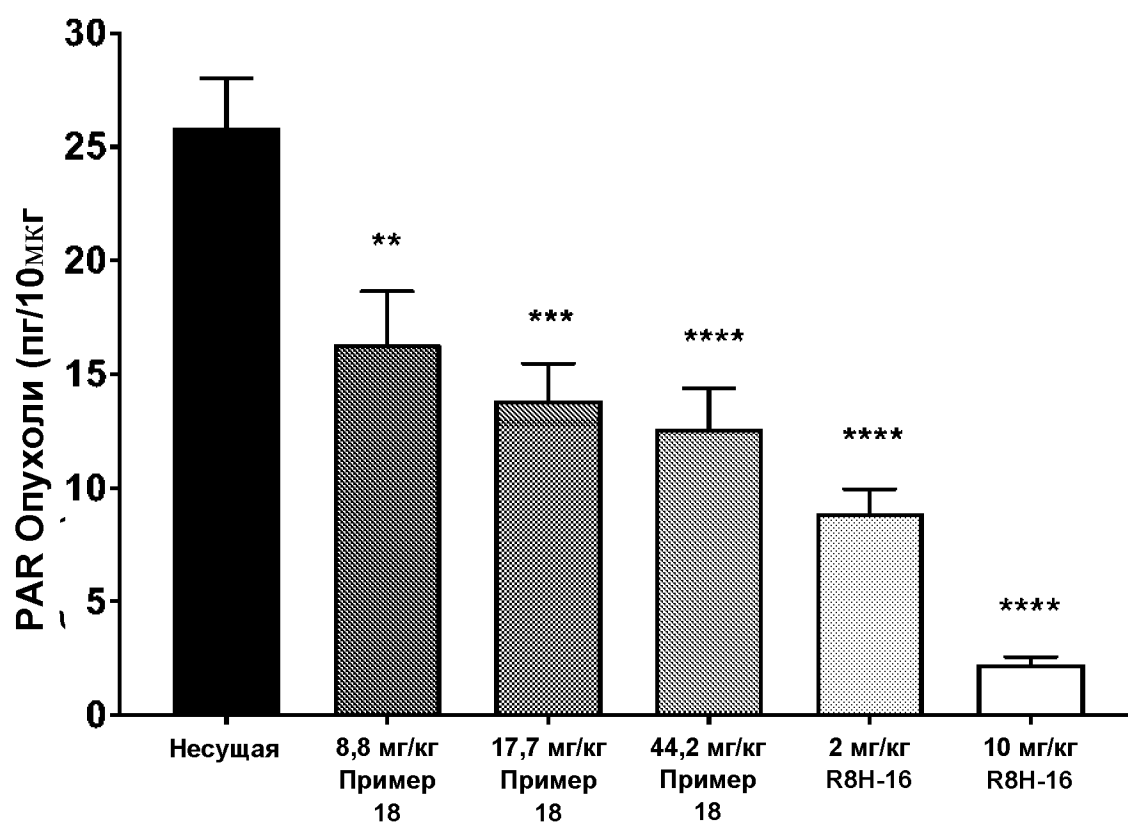
ФИГ. 2



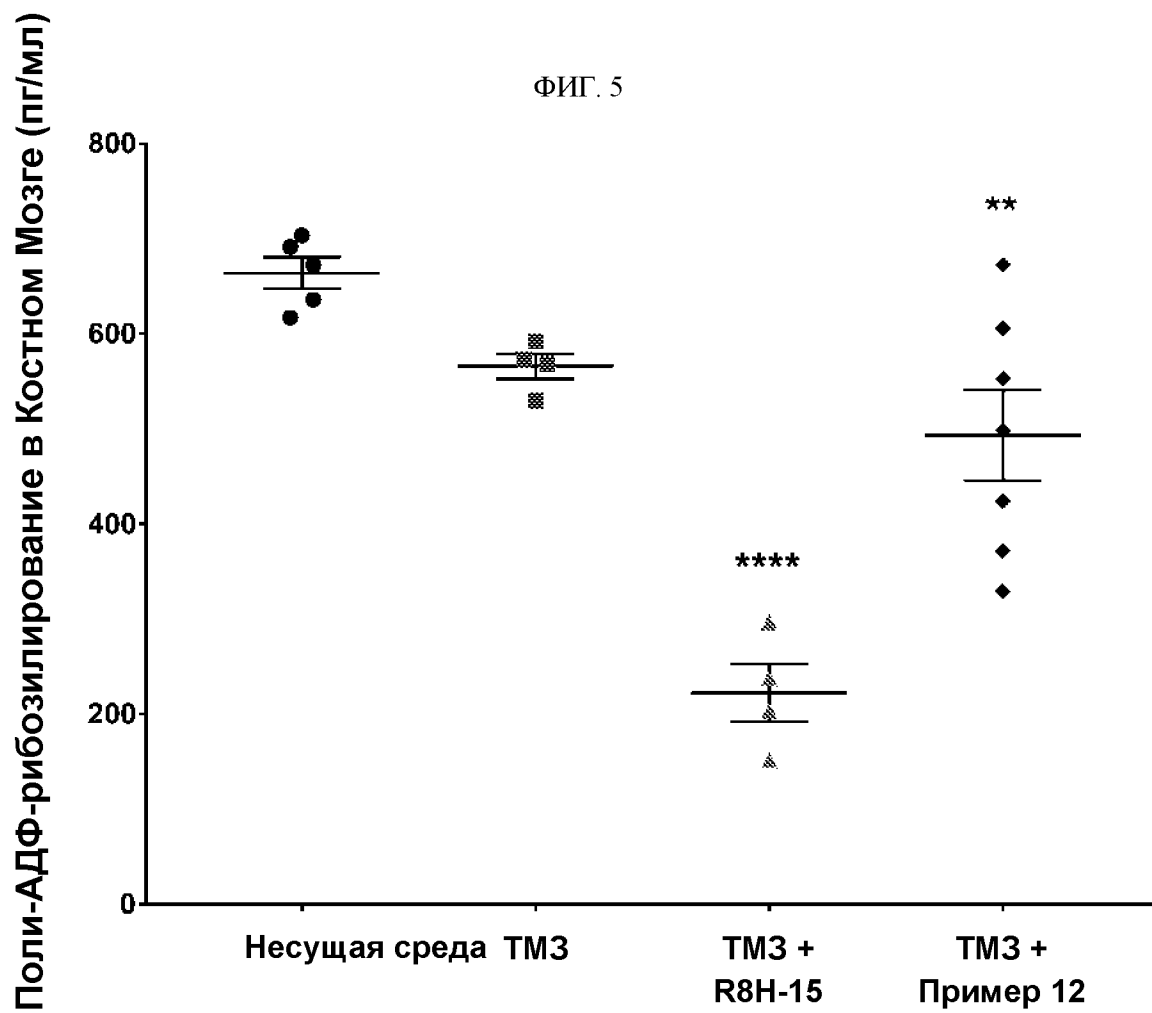
ФИГ. 3



ФИГ. 4



ФИГ. 5



ФИГ. 6

