

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202192732 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.05.31

(22) Дата подачи заявки
2016.10.21

(51) Int. Cl. C07C 69/593 (2006.01)
C07C 69/38 (2006.01)
C07C 53/21 (2006.01)
C07C 239/14 (2006.01)
C07C 47/14 (2006.01)
C07C 211/29 (2006.01)
C07C 271/22 (2006.01)
C07C 53/126 (2006.01)
C07C 47/02 (2006.01)
C07C 211/27 (2006.01)
C07C 229/14 (2006.01)
C07C 229/08 (2006.01)
C07C 227/14 (2006.01)
C07C 227/30 (2006.01)
C07C 229/20 (2006.01)

(54) МОДУЛЯТОРЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ СЕСТРИНА-GATOR2 И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 62/245,553; 62/336,219

(32) 2015.10.23; 2016.05.13

(33) US

(62) 201890727; 2016.10.21

(71) Заявитель:
НАВИТОР ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,
ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Фетальверо Кристина Мишель,
Нарайян Сридхар, О'Нил Дэвид
Джон, Сайях Эддин, Сенгунта Шомит
(US)

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(57) В настоящем изобретении предложены соединения, содержащие их композиции и способы их применения.

A1

202192732

202192732

A1

МОДУЛЯТОРЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ СЕСТРИНА-GATOR2 И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[0001] Настоящее изобретение относится к соединениям и способам, подходящим для модуляции взаимодействия сестрин-GATOR2, тем самым опосредованно селективно модулирующим активность mTORC1. В изобретении также предложены фармацевтически приемлемые композиции, содержащие соединения согласно настоящему изобретению, и способы применения указанных композиций для лечения различных расстройств.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0002] Протеинкиназа-механистическая мишень комплекса рапамицина 1 (mTORC1) является основным регулятором роста, восприимчивым к различным внешним стимулам, таким как факторы роста, клеточные стрессы и уровни питательных веществ и энергии. При активации mTORC1 фосфорилирует субстраты, усиливающие анаболические процессы, такие как трансляция мРНК и синтез липидов, и сокращает катаболические процессы, такие как аутофагия. Дисрегуляция mTORC1 происходит при большом количестве заболеваний, включая, среди прочих, диабет, эпилепсию, нейродегенерацию, иммунный ответ, подавление роста скелетных мышц и рак (Howell et al., (2013) Biochemical Society transactions 41, 906-912; Kim et al., (2013) Molecules and cells 35, 463-473; Laplante and Sabatini, (2012) Cell 149, 274-293).

[0003] Многие вышерасположенные факторы, включая факторы роста и уровни энергии, подают сигналы mTORC1 через комплекс TSC (комплекс туберкулезного склероза), регулирующий Rheb – малую ГТФазу, которая является основным активатором mTORC1 (Brugarolas et al., (2004) Genes & Development 18, 2893-2904; Garami et al., (2003) Molecular Cell 11, 1457-1466; Inoki et al., (2003) Genes & Development 17, 1829-1834; Long et al., (2005) Current Biology 15, 702-713; Sancak et al., (2008) Science (New York, NY) 320, 1496-1501; Saucedo et al., (2003) Nature cell biology 5, 566-571; Stocker et al., (2003) Nature cell biology 5, 559-565; Tee et al., (2002) Proc Natl Acad Sci U S A 99, 13571-13576). По-видимому, аминокислоты не подают сигналы mTORC1 по оси TSC-Rheb, а вместо этого действуют через гетеродимерные ГТФазы Rag, состоящие из RagA или RagB, связанных с RagC или RagD, соответственно (Hirose et al., (1998) Journal of cell science 111 (Pt 1), 11-21; Kim et al., (2008) Nature cell biology

10, 935-945; Nobukuni et al., (2005) *Proc Natl Acad Sci U S A* 102, 14238-14243; Roccio et al., (2005) *Oncogene* 25, 657-664; Sancak et al., (2008) *Science* (New York, NY) 320, 1496-1501; Schürmann et al., (1995) *The Journal of biological chemistry* 270, 28982-28988; Sekiguchi et al., (2001) *The Journal of biological chemistry* 276, 7246-7257; Smith et al., (2005) *The Journal of biological chemistry* 280, 18717-18727). ГТФазы Rag контролируют внутриклеточную локализацию mTORC1, а аминокислоты способствуют его перемещению на поверхность лизосом, где также находятся ГТФаза Rheb (Buerger et al., (2006) *Biochemical and Biophysical Research Communications* 344, 869-880; Dibble et al., (2012) *Molecular cell* 47, 535-546; Saito et al., (2005) *Journal of Biochemistry* 137, 423-430; Sancak et al., (2008) *Science* (New York, NY) 320, 1496-1501). Было идентифицировано несколько положительных компонентов сигнального пути, расположенных выше ГТФаз. Комплекс Ragulator локализует ГТФазы Rag на поверхности лизосом и вместе с вакуолярной АТФазой способствует замене ГДФ (гуанозиндифосфата) на ГТФ (гуанозинтрифосфат) на RagA/B (Bar-Peled et al., (2012) *Cell* 150, 1196-1208; Sancak et al., (2010) *Cell* 141, 290-303; Zoncu et al., (2011) *Science Signaling* 334, 678-683). Отдельный комплекс FLCN-FNIP (фолликулин – фолликулин-связывающий белок) воздействует на RagC/D и стимулирует гидролиз его ГТФ до ГДФ (Tsun et al., 2013). Когда RagA/B загружен ГТФ, а RagC/D – ГДФ, гетеродимеры связываются и перемещают mTORC1 к поверхности лизосом, где она может взаимодействовать со своим активатором, ГТФазой Rheb.

[0004] В последних исследованиях было установлено, что мультибелковый комплекс GATOR1 (комплекс 1 ГТФ-активирующего белка, направленного на Rag) является одним из основных отрицательных регуляторов сигнального пути чувствительности к аминокислотам, и его потеря приводит к полной потере чувствительности сигналов mTORC1 к аминокислотному голоданию (Bar-Peled et al., (2013) *Science* 340, 1100-1106; Panchaud et al., (2013) *Science Signaling* 6, ra42). GATOR1 состоит из DEPDC5, Nprl2 и Nprl3 и является ГТФаза-активирующим белком (GAP) для RagA/B. Мультибелковый комплекс GATOR2, имеющий пять известных субъединиц (WDR24, WDR59, Mios, Sec13 и Seh1L), является положительным компонентом сигнального пути и расположен выше или параллельно GATOR1, однако до недавнего времени его молекулярная функция была неизвестна (Bar-Peled et al., (2013) *Science* 340, 1100-1106).

[0005] В последнее время были получены дополнительные сведения о сигнальном пути mTORC1 путем идентификации связывания GATOR2 с одним или более

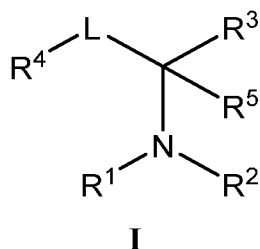
сестринами и демонстрации того, что полученный комплекс сестрин-GATOR2 регулирует внутриклеточную локализацию и активность mTORC1. В частности, присутствие комплексов сестрин-GATOR2 ингибирует сигнальный путь mTORC1 и снижает активность mTORC1 путем предотвращения перемещения mTORC1 к лизосомальной мембране. Взаимодействию GATOR2 с сестринами, и, в частности, сестрином-1 и сестрином-2, противодействуют аминокислоты, в особенности, лейцин и, в меньшей степени, изолейцин, метионин и валин. В присутствии лейцина, GATOR2 не взаимодействует с сестрином-1 или сестрином-2, а mTORC1 способен мигрировать к лизосомальной мембране, где он проявляет активность. Сестрин-1 и сестрин-2 напрямую связывают лейцин и, в меньшей степени, изолейцин и метионин (Chantranupong et al., (2014) Cell Rep.;9(1):1-8). Связывание лейцина сестрином-1 или -2 необходимо для нарушения его взаимодействия с GATOR2 и последующей активации mTORC1. Мутанты сестрина-2, не способные связывать лейцин, не могут сигнализировать mTORC1 о присутствии лейцина, и клетки, лишенные сестрина-2 и его гомологов, приводят к потере чувствительности mTORC1 к отсутствию лейцина (Wolfson et al., (2015) Science pii: ab2674 [электронная публикация до выхода в печать]).

[0006] Сестрины представляют собой три родственных белка (сестрин-1, -2 и -3) с плохо охарактеризованными молекулярными функциями (Buckbinder et al., (1994) Proc Natl Acad Sci U S A 91, 10640-10644; Budanov et al., (2002) Cell 134, 451-460; Peeters et al., (2003) Human genetics 112, 573-580). Сестрин-2 ингибирует передачу сигнала mTORC1, и было предположено, что он активирует AMPK (АМФ-активируемую протеинкиназу), расположенную выше TSC, а также взаимодействует с TSC (Budanov and Karin, (2008) Cell 134, 451-460), однако в более поздних исследованиях было обнаружено ингибирование mTORC1 сестрином-2 в отсутствие AMPK (Peng et al., (2014) Cell 159(1):122-33), что еще больше подчеркивает важную роль, которую комплекс GATOR2 играет в модуляции mTORC1 в ответ на сестрин-2.

[0007] Модуляция комплекса сестрин-GATOR2 представляет собой потенциальную терапевтическую мишень для опосредованной селективной модуляции активности mTORC1.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0008] Было обнаружено, что соединения согласно настоящему изобретению и содержащие их фармацевтические композиции эффективны в качестве модуляторов сестрина-GATOR2. Такие соединения имеют общую формулу I:



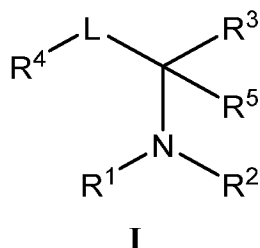
или представляют собой ее фармацевтически приемлемую соль, где каждая переменная является такой, как определено и описано в настоящем документе.

[0009] Соединения согласно настоящему изобретению и содержащие их фармацевтические композиции полезны для лечения различных заболеваний, расстройств или состояний, связанных с mTORC1. Такие заболевания, расстройства или состояния включают диабет, эпилепсию, нейродегенерацию, иммунный ответ, подавление роста скелетных мышц и клеточные пролиферативные расстройства (например, рак), такие как описанные в настоящем документе.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ НЕКОТОРЫХ ВАРИАНТОВ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

1. Общее описание некоторых вариантов осуществления изобретения:

[0010] Соединения согласно настоящему изобретению и содержащие их композиции пригодны в качестве модуляторов сестрина-GATOR2. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложено соединение формулы **I**:



или его фармацевтически приемлемая соль, где:

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

R^2 представляет собой R, $-(CH_2)_n$ -фенил, $-C(O)R$, $-SO_2R$ или $-C(O)N(R)_2$;

n равно 0, 1 или 2;

каждый R независимо представляет собой атом водорода, -CN или необязательно замещенную группу, выбранную из насыщенного или ненасыщенного C_{1-6} алифатического, фенильного, 4-7-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, 5-6-членного моноциклического гетероарильного кольца, имеющего 1-4 гетероатома, или 4-8-

- членного насыщенного или частично насыщенного гетероциклического кольца с 1-2 гетероатомами, независимо выбранными из атома азота, кислорода или серы;
- R^3 представляет собой кольцо А, $-C(O)R$, $-C(O)OR$, $-C(O)N(R)_2$, $-SO_3H$, $-SO_2N(R)_2$, $-S(O)R$, $-S(O)$ кольцо А, $-OR$ или $-B(OR)_2$, где две группы OR на одном и том же атоме бора, взятые вместе с промежуточными атомами, образуют 5-8-членное моноциклическое насыщенное или частично ненасыщенное кольцо, содержащее 0-3 гетероатома, помимо атома бора и двух атомов кислорода, независимо выбранные из атома азота, кислорода или серы, или R^3 и R^4 , взятые вместе, образуют необязательно замещенное 5-6-членное кольцо, содержащее 0-1 гетероатом, выбранный из атома азота, кислорода или серы;
- L представляет собой ковалентную связь или линейную или разветвленную C_{1-6} алкиленовую цепь, необязательно замещенную 1-9 атомами фтора;
- Кольцо А представляет собой необязательно замещенное кольцо, выбранное из фенильного или необязательно замещенного 5-6-членного гетероарильного кольца, имеющего 1-4 гетероатома, независимо выбранных из атома азота, кислорода или серы;
- R^4 представляет собой R, $-CF_3$, $-OR$, $-N(R)_2$, $-Si(R)_3$ или $-SR$, или R^3 и R^4 , взятые вместе, образуют необязательно замещенное 5-6-членное кольцо, содержащее 0-1 гетероатом, выбранный из атома азота, кислорода или серы; и
- R^5 представляет собой H или C_{1-4} алкил.

2. Соединения и определения:

[0011] Соединения согласно настоящему изобретению включают соединения, в общих чертах описанные в настоящем документе, и дополнительно иллюстрируются раскрытыми в настоящем документе классами, подклассами и конкретными соединениями. В настоящем документе применяются следующие определения, если не указано иное. Для целей настоящего изобретения химические элементы определены в соответствии с Периодической системой химических элементов, версия CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75th Ed. Кроме того, общие принципы органической химии описаны в источниках «Organic Chemistry», Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999 и «March's Advanced Organic Chemistry», 5th Ed., Ed.: Smith, M.B. and March, J., John Wiley & Sons, New York: 2001, полное содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

[0012] Термин «алифатический» или «алифатическая группа» при использовании в настоящем документе означает линейную (т. е., неразветвленную) или разветвленную, замещенную или незамещенную углеводородную цепь, полностью насыщенную или содержащую одно или более ненасыщенных звеньев, или моноциклический углеводород или бициклический углеводород, полностью насыщенный или содержащий одно или более ненасыщенных звеньев, но не являющийся ароматическим (также называемый в настоящем документе «карбоциклом», «циклоалифатическим» или «циклоалкилом»), имеющий одну точку присоединения к остальной молекуле. Если не указано иное, алифатические группы содержат 1-6 алифатических атома углерода. В некоторых вариантах осуществления алифатические группы содержат 1-5 алифатических атома углерода. В других вариантах осуществления алифатические группы содержат 1-4 алифатических атома углерода. В других вариантах осуществления алифатические группы содержат 1-3 алифатических атома углерода, и в других вариантах осуществления алифатические группы содержат 1-2 алифатических атома углерода. В некоторых вариантах осуществления «циклоалифатический» (или «карбоцикл» или «циклоалкил») относится к моноциклическому C_3 - C_6 углеводороду, полностью насыщенному или содержащему одно или более ненасыщенных звеньев, но не являющемуся ароматическим, имеющему одну точку присоединения к остальной молекуле. Подходящие алифатические группы включают, но не ограничены перечисленным, линейные или разветвленные, замещенные или незамещенные алкильные, алкенильные, алкинильные группы и их гибриды, такие как (циклоалкил)алкил, (циклоалкенил)алкил или (циклоалкил)алкенил.

[0013] Термин «гетероатом» означает один или более из атома кислорода, серы, азота, фосфора или кремния (включая любую окисленную форму атома азота, серы, фосфора или кремния; кватернизированная форма любого основного атома азота, или замещаемый атом азота гетероциклического кольца, например, N (как в 3,4-дигидро-2H-пирролиле), NH (как в пирролидиниле) или NR^+ (как в N-замещенном пирролидиниле)).

[0014] При использовании в настоящем документе термин "ненасыщенный" означает фрагмент, имеющий одно или более ненасыщенных звеньев.

[0015] При использовании в настоящем документе термин «двухвалентная C_{1-8} (или C_{1-6}) насыщенная или ненасыщенная, линейная или разветвленная углеводородная цепь» относится к двухвалентной алкиленовой, алкениленовой и алкиниленовой цепям, являющимся линейными или разветвленными, как определено в настоящем документе.

[0016] Термин «алкилен» относится к двухвалентной алкильной группе. «Алкиленовая цепь» представляет собой полиметиленовую группу, т. е., $-(CH_2)_n-$, где n представляет собой положительное целое число, предпочтительно от 1 до 6, от 1 до 4, от 1 до 3, от 1 до 2 или от 2 до 3. Замещенная алкиленовая цепь представляет собой полиметиленовую группу, в которой один или более метиленовых атомов водорода заменен заместителем. Подходящие заместители включают описанные ниже для замещенной алифатической группы.

[0017] Термин «алкенилен» относится к двухвалентной алкенильной группе. Замещенная алкениленовая цепь представляет собой полиметиленовую группу, содержащую по меньшей мере одну двойную связь, в которой один или более атомов водорода заменены заместителем. Подходящие заместители включают описанные ниже для замещенной алифатической группы.

[0018] Термин «галоген» означает F, Cl, Br или I.

[0019] Термин «арил», используемый по отдельности или в качестве части более крупного фрагмента, как в «арилалкиле», «арилалкокси» или «арилоксиалкиле», относится к моноциклическим или бициклическим кольцевым системам, имеющим в общей сложности от пяти до четырнадцати членов кольца, где по меньшей мере одно кольцо в системе является ароматическим, и где каждое кольцо в системе содержит от 3 до 7 членов кольца. Термин «арил» может использоваться взаимозаменяемо с термином «арильное кольцо». В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения «арил» относится к ароматической кольцевой системе, включающей, но не ограниченной перечисленным, фенил, бифенил, нафтил, антрацил и тому подобные, которые могут нести один или более заместителей. Также термин «арил» при использовании в настоящем документе включает группу, в которой ароматическое кольцо конденсировано с одним или более неароматическими кольцами, такими как инданил, фталимидил, нафтимидил, фенантридинил или тетрагидронафтил, и тому подобные.

[0020] Термины «гетероарил» и «гетероарил-», используемые по отдельности или в качестве части более крупного фрагмента, например, «гетероарилалкил» или «гетероарилалкокси», относятся к группам, имеющим от 5 до 10 атомов в кольце, предпочтительно, 5, 6 или 9 атомов в кольце; и имеющим 6, 10 или 14 общих π -электронов в кольце; и имеющим, помимо атомов углерода, от одного до пяти гетероатомов. Термин «гетероатом» относится к атому азота, кислорода или серы, и включает любую окисленную форму атому азота или серы и любую

кватернизированную форму основного атома азота. Гетероарильные группы включают, не ограничиваясь перечисленным, тиенил, фуриил, пирролил, имидазолил, пиразолил, триазолил, тетразолил, оксазолил, изоксазолил, оксадиазолил, тиазолил, изотиазолил, тиадиазолил, пиридил, пиридазинил, пиримидинил, пиразинил, индолизинил, пуринил, нафтиридинил и птеридинил. При использовании в настоящем документе термины «гетероарил» и «гетероарил-» также включают группы, в которых гетероароматическое кольцо конденсировано с одним или более арильным, циклоалифатическим или гетероциклическим кольцами, где радикал или точка присоединения находится на гетероароматическом кольце. Неограничивающие примеры включают индолил, изоиндолил, бензотиенил, бензофуриил, дибензофуриил, индазолил, бензимидазолил, бензотиазолил, хинолинил, изохинолинил, циннолинил, фталазинил, хиназолинил, хиноксалинил, 4*H*-хинолизинил, карбазолил, акридинил, феназинил, фенотиазинил, феноксазинил, тетрагидрохинолинил, тетрагидроизохинолинил и пиридо[2,3-*b*]-1,4-оксазин-3(4*H*)-он. Гетероарильная группа может быть моно- или бициклической. Термин «гетероарил» может использоваться взаимозаменяемо с терминами «гетероарильное кольцо», «гетероарильная группа» или «гетероароматический», при этом каждый из этих терминов включает кольца, являющиеся необязательно замещенными. Термин «гетероарилалкил» относится к алкильной группе, замещенной гетероарилом, где алкильная и гетероарильная части независимо являются необязательно замещенными.

[0021] В настоящем документе термины «гетероцикл», «гетероциклил», «гетероциклический радикал» и «гетероциклическое кольцо» используются взаимозаменяемо и относятся к стабильному 5–7-членному моноциклическому или 7–10-членному бициклическому гетероциклическому фрагменту, насыщенному или частично ненасыщенному, и имеющему, помимо атомов углерода, один или более, предпочтительно от одного до четырех, гетероатомов, как определено выше. При употреблении в отношении атома кольца гетероцикла термин «атом азота» включает замещенный атом азота. Например, в насыщенном или частично ненасыщенном кольце, имеющем 0–3 гетероатома, выбранных из атома кислорода, серы или азота, атом азота может представлять собой N (как в 3,4-дигидро-2*H*-пирролиле), NH (как в пирролидиниле) или ⁺NR (как в *N*-замещенном пирролидиниле).

[0022] Гетероциклическое кольцо может быть присоединено к своей боковой группе при любом гетероатоме или атоме углерода, если в результате получается стабильная структура, и любой из атомов кольца может необязательно быть замещен. Примеры

таких насыщенных или частично ненасыщенных гетероциклических радикалов включают, не ограничиваясь перечисленным, тетрагидрофуранил, тетрагидротиофенил, пирролидинил, пиперидинил, пирролинил, тетрагидрохинолинил, тетрагидроизохинолинил, декагидрохинолинил, оксазолидинил, пиперазинил, диоксанил, диоксоланил, диазепинил, оксазепинил, тиазепенил, морфолинил и хинуклидинил. Термины «гетероцикл», «гетероциклил», «гетероциклическое кольцо», «гетероциклическая группа», «гетероциклический фрагмент» и «гетероциклический радикал» в настоящем документе используются взаимозаменяемо и также включают группы, в которых гетероциклическое кольцо конденсировано с одним или более арильным, гетероарильным или циклоалифатическим кольцами, такие как индолинил, 3*H*-индолил, хроманил, фенантридинил или тетрагидрохинолинил. Гетероциклическая группа может быть моно- или бициклической. Термин «гетероциклилаклил» относится к алкильной группе, замещенной гетероциклилом, где алкильная и гетероциклильная части независимо являются необязательно замещенными.

[0023] При использовании в настоящем документе термин «частично ненасыщенный» относится к кольцевому фрагменту, включающему по меньшей мере одну двойную или тройную связь. Подразумевается, что термин «частично ненасыщенный» включает кольца, имеющие несколько центров ненасыщенности, но при этом не включает арильные или гетероарильные фрагменты, как определено в настоящем документе.

[0024] Как описано в настоящем документе, соединения согласно изобретению могут содержать «необязательно замещенные» фрагменты. В общем, термин «замещенный», вне зависимости от того, употребляется ли он после термина «необязательно», означает, что один или более атомов водорода в определяемом фрагменте заменены подходящим заместителем. Если не указано иное, «необязательно замещенная» группа может иметь подходящий заместитель в каждом замещаемом положении группы, и в случае, когда более чем одно положение в любой заданной структуре может быть замещено более чем одним заместителем, выбранным из определенной группы, заместители в каждом положении могут быть одинаковыми или разными. Комбинации заместителей, предусмотренные настоящим изобретением, предпочтительно представляют собой такие, которые приводят к образованию стабильных или химически осуществимых соединений. При использовании в настоящем документе термин «стабильный» относится к соединениям, которые по существу не претерпевают изменений в условиях их получения, определения и, в

некоторых вариантах осуществления, их выделения, очистки и применения для одной или более целей, раскрытых в настоящем документе.

[0025] Подходящие одновалентные заместители замещаемого атома углерода «необязательно замещенной» группы независимо представляют собой атом галогена; $-(CH_2)_{0-4}R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}OR^\circ$; $-O(CH_2)_{0-4}R^\circ$; $-O-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}CH(OR^\circ)_2$; $-(CH_2)_{0-4}SR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}Ph$, который может быть замещен R° ; $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}Ph$, который может быть замещен R° ; $-CH=CHPh$, который может быть замещен R° ; $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}$ -пиридил, который может быть замещен R° ; $-NO_2$; $-CN$; $-N_3$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)_2$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)R^\circ$; $-N(R^\circ)C(S)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)NR^\circ_2$; $-N(R^\circ)C(S)NR^\circ_2$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)OR^\circ$; $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)R^\circ$; $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)NR^\circ_2$; $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)R^\circ$; $-C(S)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)SR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)OSiR^\circ_3$; $-(CH_2)_{0-4}OC(O)R^\circ$; $-OC(O)(CH_2)_{0-4}SR^\circ$; $-SC(S)SR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}SC(O)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)NR^\circ_2$; $-C(S)NR^\circ_2$; $-C(S)SR^\circ$; $-SC(S)SR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}OC(O)NR^\circ_2$; $-C(O)N(OR^\circ)R^\circ$; $-C(O)C(O)R^\circ$; $-C(O)CH_2C(O)R^\circ$; $-C(NOR^\circ)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}SSR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}OS(O)_2R^\circ$; $-S(O)_2NR^\circ_2$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)R^\circ$; $-N(R^\circ)S(O)_2NR^\circ_2$; $-N(R^\circ)S(O)_2R^\circ$; $-N(OR^\circ)R^\circ$; $-C(NH)NR^\circ_2$; $-P(O)_2R^\circ$; $-P(O)R^\circ_2$; $-OP(O)R^\circ_2$; $-OP(O)(OR^\circ)_2$; $-SiR^\circ_3$; $-(C_{1-4}$ линейный или разветвленный алкилен) $O-N(R^\circ)_2$; или $-(C_{1-4}$ линейный или разветвленный алкилен) $C(O)O-N(R^\circ)_2$, где каждый R° может быть замещен, как определено ниже, и независимо представляет собой атом водорода, C_{1-6} алифатическое, $-CH_2Ph$, $-O(CH_2)_{0-1}Ph$, $-CH_2$ -(5-6-членное гетероарильное кольцо) или 5-6-членное насыщенное, частично ненасыщенное или арильное кольцо, содержащее 0-4 гетероатома, независимо выбранных из атома азота, кислорода или серы, или, независимо от данного выше определения, два независимо расположенных R° , взятые вместе с промежуточным(и) атомом(ами), образуют 3-12-членное насыщенное, частично ненасыщенное или арильное моно- или бициклическое кольцо, содержащее 0-4 гетероатома, независимо выбранные из атома азота, кислорода или серы, которые могут быть замещены, как определено ниже.

[0026] Подходящие одновалентные заместители R° (или кольца, образованного двумя независимо расположенными R° , взятыми вместе с промежуточными атомами), независимо представляет собой атом галогена, $-(CH_2)_{0-2}R^\bullet$, $-(галоR^\bullet)$, $-(CH_2)_{0-2}OH$, $-(CH_2)_{0-2}OR^\bullet$, $-(CH_2)_{0-2}CH(OR^\bullet)_2$; $-O(галоR^\bullet)$, $-CN$, $-N_3$, $-(CH_2)_{0-2}C(O)R^\bullet$, $-(CH_2)_{0-2}$

${}^2\text{C}(\text{O})\text{OH}$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{C}(\text{O})\text{OR}^\bullet$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{SR}^\bullet$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{SH}$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{NHR}^\bullet$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{NR}^\bullet_2$, $-\text{NO}_2$, $-\text{SiR}^\bullet_3$, $-\text{OSiR}^\bullet_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{SR}^\bullet$, $-(\text{C}_{1-4}$ линейный или разветвленный алкилен) $\text{C}(\text{O})\text{OR}^\bullet$ или $-\text{SSR}^\bullet$, где каждый $\text{R}^\bullet$ незамещен, или, в случае, если употребляется с приставкой «галоген», замещен одним или более атомами галогена, и независимо выбран из C_{1-4} алифатического, $-\text{CH}_2\text{Ph}$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}\text{Ph}$ или 5–6–членного насыщенного, частично ненасыщенного или арильного кольца, имеющего 0–4 гетероатома, независимо выбранных из атома азота, кислорода или серы. Подходящие двухвалентные заместители при насыщенном атоме углерода R° включают $=\text{O}$ и $=\text{S}$.

[0027] Подходящие двухвалентные заместители при насыщенном атоме углерода «необязательно замещенной» группы включают следующие: $=\text{O}$, $=\text{S}$, $=\text{NNR}^*_2$, $=\text{NNHC}(\text{O})\text{R}^*$, $=\text{NNHC}(\text{O})\text{OR}^*$, $=\text{NNHS}(\text{O})_2\text{R}^*$, $=\text{NR}^*$, $=\text{NOR}^*$, $-\text{O}(\text{C}(\text{R}^*_2))_{2-3}\text{O}-$ или $-\text{S}(\text{C}(\text{R}^*_2))_{2-3}\text{S}-$, где каждый независимо расположенный R^* выбран из атома водорода, C_{1-6} алифатического, которое может быть замещено, как определено ниже, или незамещенного 5–6–членного насыщенного, частично ненасыщенного или арильного кольца, имеющего 0–4 гетероатома, независимо выбранных из атома азота, кислорода или серы. Подходящие двухвалентные заместители, связанные с соседними замещаемыми атомами углерода «необязательно замещенной» группы, включают: $-\text{O}(\text{CR}^*_2)_{2-3}\text{O}-$, где каждый независимо расположенный R^* выбран из водорода, C_{1-6} алифатического, которое может быть замещено, как определено ниже, или незамещенное 5–6–членное насыщенное, частично ненасыщенное или арильное кольцо, содержащее 0–4 гетероатома, независимо выбранные из атома азота, кислорода или серы.

[0028] Подходящие заместители при алифатической группе $\text{R}^\bullet$ включают атом галогена, $-\text{R}^\bullet$, $-(\text{галоR}^\bullet)$, $-\text{OH}$, $-\text{OR}^\bullet$, $-\text{O}(\text{галоR}^\bullet)$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^\bullet$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHR}^\bullet$, $-\text{NR}^\bullet_2$ или $-\text{NO}_2$, где каждый $\text{R}^\bullet$ незамещен, или, в случае, если употребляется с приставкой «галоген», замещен только одним или более атомами галогена, и независимо представляет собой C_{1-4} алифатическое, $-\text{CH}_2\text{Ph}$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}\text{Ph}$ или 5–6–членное насыщенное, частично ненасыщенное или арильное кольцо, содержащее 0–4 гетероатома, независимо выбранные из атома азота, кислорода или серы.

[0029] Подходящие заместители при замещаемом атоме азота «необязательно замещенной» группы включают $-\text{R}^\dagger$, $-\text{NR}^\dagger_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^\dagger$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^\dagger$, $-\text{C}(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{R}^\dagger$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{R}^\dagger$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^\dagger$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^\dagger_2$, $-\text{C}(\text{S})\text{NR}^\dagger_2$, $-\text{C}(\text{NH})\text{NR}^\dagger_2$ или $-\text{N}(\text{R}^\dagger)\text{S}(\text{O})_2\text{R}^\dagger$; где каждый $\text{R}^\dagger$ независимо представляет собой атом водорода, C_{1-6} алифатическое, которое

может быть замещено, как описано ниже, незамещенное $-\text{OPh}$ или незамещенное 5–6–членное насыщенное, частично ненасыщенное или арильное кольцо, содержащее 0–4 гетероатома, независимо выбранных из атома азота, кислорода или серы, или, независимо от данного выше определения, два независимо расположенных $\text{R}^\dagger$, взятые вместе с промежуточным(и) атомом(ами), образуют незамещенное 3–12–членное насыщенное, частично ненасыщенное или арильное моно– или бициклическое кольцо, содержащее 0–4 гетероатома, независимо выбранные из атома азота, кислорода или серы.

[0030] Подходящие заместители при алифатической группе $\text{R}^\dagger$ независимо представляют собой атом галогена, $-\text{R}^\bullet$, $-(\text{галоR}^\bullet)$, $-\text{OH}$, $-\text{OR}^\bullet$, $-\text{O}(\text{галоR}^\bullet)$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^\bullet$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHR}^\bullet$, $-\text{NR}^\bullet_2$ или $-\text{NO}_2$, где каждый $\text{R}^\bullet$ незамещен или, в случае, если употребляется с приставкой «галоген», замещен только одним или более атомами галогена, и независимо представляет собой C_{1-4} алифатическое, $-\text{CH}_2\text{Ph}$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}\text{Ph}$ или 5–6–членное насыщенное, частично ненасыщенное или арильное кольцо, содержащее 0–4 гетероатома, независимо выбранные из атома азота, кислорода или серы.

[0031] При использовании в настоящем документе термин «фармацевтически приемлемая соль» относится к тем солям, которые, с медицинской точки зрения, подходят для применения в контакте с тканями человека и низших животных, не вызывая ненадлежащей токсичности, раздражения, аллергической реакции и тому подобного, и соизмеримы с приемлемым соотношением «польза – риск». Фармацевтически приемлемые соли хорошо известны в данной области техники. Например, S. M. Berge et al. подробно описывают фармацевтически приемлемые соли в источнике J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1–19, включенном в настоящий документ посредством ссылки. Фармацевтически приемлемые соли соединений согласно настоящему изобретению включают полученные с подходящими неорганическими и органическими кислотами и основаниями. Примерами фармацевтически приемлемых, нетоксичных солей присоединения кислоты являются соли аминогруппы, образованные с неорганическими кислотами, такими как соляная кислота, бромоводородная кислота, фосфорная кислота, серная кислота и хлорная кислота, или с органическими кислотами, такими как уксусная кислота, щавелевая кислота, малеиновая кислота, винная кислота, лимонная кислота, янтарная кислота или малоновая кислота, или с помощью других способов, известных в данной области техники, таких как ионный обмен. Другие фармацевтически приемлемые соли включают адипат, альгинат, аскорбат, аспартат,

бензолсульфонат, бензоат, бисульфат, борат, бутират, камфорат, камфорсульфонат, цитрат, циклопентанпропионат, диглюконат, додецилсульфат, этансульфонат, формиат, fumarat, глюкогептонат, глицерофосфат, глюконат, гемисульфат, гептаноат, гексаноат, гидроиодид, 2-гидроксиэтансульфонат, лактобионат, лактат, лаурат, лаурилсульфат, малат, малеат, малонат, метансульфонат, 2-нафталинсульфонат, никотинат, нитрат, олеат, оксалат, пальмитат, памоат, пектинат, персульфат, 3-фенилпропионат, фосфат, пивалат, пропионат, стеарат, сукцинат, сульфат, тартрат, тиоцианат, *пара*-толуолсульфонат, ундеканат, соли валериановой кислоты и тому подобные.

[0032] Соли, полученные с подходящими основаниями, включают соли щелочных металлов, щелочноземельных металлов, аммония и $N^+(C_{1-4}alkyl)_4$. Иллюстративные соли щелочных или щелочноземельных металлов включают натриевые, литиевые, калиевые, кальциевые, магниевые и тому подобные. Другие фармацевтически приемлемые соли включают, в соответствующих случаях, катионы нетоксичного аммония, четвертичного аммония и амина, образованные с такими противоионами, как галогенид, гидроксид, карбоксилат, сульфат, фосфат, нитрат, низший алкилсульфонат и арилсульфонат.

[0033] Если не указано иное, подразумевается, что структуры, приведенные в настоящем документе, также включают все изомерные (например, энантиомерные, диастереомерные и геометрические (или конформационные)) формы структуры; например, R- и S-конфигурации для каждого центра асимметрии, Z- и E-изомеры при двойной связи и Z- и E-конформационные изомеры. Следовательно, в объем настоящего изобретения включены как индивидуальные стереохимические изомеры, так и энантиомерные, диастереомерные и геометрические (или конформационные) смеси соединений согласно настоящему изобретению. Если не указано иное, в объем настоящего изобретения включены все таутомерные формы соединений согласно настоящему изобретению. Кроме того, если не указано иное, также подразумевается, что структуры, приведенные в настоящем документе, включают соединения, различающиеся только наличием одного или более изотопно-обогащенных атомов. Например, в объем настоящего изобретения включены соединения, имеющие приведенные в настоящем документе структуры, включая замену атома водорода атомами дейтерия или трития, или замену атома углерода ^{13}C - или ^{14}C -обогащенным атомом углерода. Такие соединения полезны, например, в качестве средств анализа, в качестве зондов в биологических исследованиях или в качестве терапевтических агентов в соответствии с настоящим изобретением.

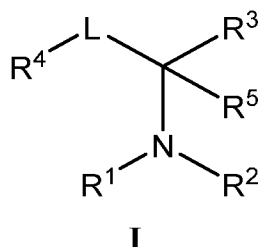
[0034] При использовании в настоящем документе термин «миметик лейцина» определен как соединение, снижающее количество сестрина-2, связанного с GATOR2, по меньшей мере на приблизительно 40% при концентрации 25 мкМ по сравнению с лейцином. В некоторых вариантах осуществления «миметик лейцина» снижает количество сестрина-2, связанного с GATOR2, по меньшей мере на приблизительно 100%, по меньшей мере на приблизительно 150% или по меньшей мере на приблизительно 200%.

[0035] При использовании в настоящем документе термин «антагонист лейцина» определен как соединение, повышающее количество сестрина-2, связанного с GATOR2, по меньшей мере на приблизительно 40% при концентрации 25 мкМ по сравнению с лейцином (представленное как -40% от активности лейцина). В некоторых вариантах осуществления «антагонист лейцина» повышает количество сестрина-2, связанного с GATOR2, по меньшей мере на приблизительно 100%, по меньшей мере на приблизительно 150% или по меньшей мере на приблизительно 200%.

[0036] При использовании в настоящем документе термины «измеримая аффинность» и «измеримо ингибирует» означают измеримое изменение связывания сестрина-2 с GATOR2 между образцом, содержащим соединение согласно настоящему изобретению или содержащую его композицию, и сестрин-2, GATOR2 и лейцин, и эквивалентным образцом, содержащим сестрин-2, GATOR2 и лейцин в отсутствие указанного соединения или содержащей его композиции.

3. Описание иллюстративных вариантов осуществления:

[0037] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложено соединение формулы I:



или его фармацевтически приемлемая соль, где:

R¹ представляет собой H или C₁₋₆ алкил;

R² представляет собой R, -(CH₂)_n-фенил, -C(O)R, -SO₂R или -C(O)N(R)₂;

n равно 0, 1 или 2;

каждый R независимо представляет собой атом водорода, -CN или необязательно замещенную группу, выбранную из насыщенного или ненасыщенного C₁₋₆ алифатического, фенильного, 4-7-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, 5-6-членного моноциклического гетероарильного кольца, имеющего 1-4 гетероатома, или 4-8-членного насыщенного или частично насыщенного гетероциклического кольца с 1-2 гетероатомами, независимо выбранными из атома азота, кислорода или серы;

R³ представляет собой кольцо A, -C(O)R, -C(O)OR, -C(O)N(R)₂, -SO₃H, -SO₂N(R)₂, -S(O)R, -S(O)кольцо A, -OR или -B(OR)₂, где две группы OR на одном и том же атоме бора, взятые вместе с промежуточными атомами, образуют 5-8-членное моноциклическое насыщенное или частично ненасыщенное кольцо, содержащее 0-3 гетероатома, помимо атома бора и двух атомов кислорода, независимо выбранные из атома азота, кислорода или серы, или R³ и R⁴, взятые вместе, образуют необязательно замещенное 5-6-членное кольцо, содержащее 0-1 гетероатом, выбранный из атома азота, кислорода или серы;

L представляет собой ковалентную связь или линейную или разветвленную C₁₋₆ алкиленовую цепь, необязательно замещенную 1-9 атомами фтора;

Кольцо A представляет собой необязательно замещенное кольцо, выбранное из фенильного или необязательно замещенного 5-6-членного гетероарильного кольца, имеющего 1-4 гетероатома, независимо выбранных из атома азота, кислорода или серы;

R⁴ представляет собой R, -CF₃, -OR, -N(R)₂, -Si(R)₃ или -SR, или R³ и R⁴, взятые вместе, образуют необязательно замещенное 5-6-членное кольцо, содержащее 0-1 гетероатом, выбранный из атома азота, кислорода или серы; и

R⁵ представляет собой H или C₁₋₄ алкил.

[0038] В некоторых вариантах осуществления предложенное соединение формулы I отличается от соединений, приведенных в таблице 2 ниже.

[0039] Как в общем определено выше, R¹ представляет собой H или C₁₋₆ алкил. В некоторых вариантах осуществления R¹ представляет собой H. В других вариантах осуществления R¹ представляет собой C₁₋₆ алкил. В некоторых вариантах осуществления R¹ представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R¹ выбран из вариантов, приведенных в таблице 1 ниже. В некоторых вариантах осуществления R¹ выбран из вариантов, приведенных в таблице 2 ниже.

[0040] Как в общем определено выше, R^2 представляет собой R , $-(CH_2)_n$ -фенил, $-C(O)R$, $-SO_2R$ или $-C(O)N(R)_2$. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой R . В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой $-(CH_2)_n$ -фенил. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой $-C(O)R$. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой $-SO_2R$. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой $-C(O)N(R)_2$. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой $-(CH_2)$ -фенил. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой $-C(O)CH_3$. В некоторых вариантах осуществления R^2 выбран из вариантов, приведенных в таблице 1 ниже. В некоторых вариантах осуществления R^2 выбран из вариантов, приведенных в таблице 2 ниже.

[0041] Как в общем определено выше, n равно 0, 1 или 2. В некоторых вариантах осуществления n равно 0. В некоторых вариантах осуществления n равно 1. В некоторых вариантах осуществления n равно 2.

[0042] Как в общем определено выше, R^3 представляет собой кольцо A , $-C(O)R$, $-C(O)OR$, $-C(O)N(R)_2$, $-SO_3H$, $-S(R)_2$, $-S(O)R$, $-S(O)$ кольцо A , $-OR$ или $-B(OR)_2$, где две группы $-OR$ на одном и том же атоме бора, взятые вместе с промежуточными атомами, образуют 5-8-членное моноциклическое насыщенное или частично ненасыщенное кольцо, содержащее 0-3 гетероатома, помимо атома бора и двух атомов кислорода, независимо выбранные из атома азота, кислорода или серы, или R^3 и R^4 , взятые вместе, образуют необязательно замещенное 5-6-членное кольцо, содержащее 0-1 гетероатом, выбранный из атома азота, кислорода или серы.

[0043] В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой $-C(O)OH$. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой $-C(O)N(R)_2$. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой $-SO_3H$. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой $-SO_2N(R)_2$. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой $-B(OR)_2$, где две группы $-OR$ на одном и том же атоме бора, взятые вместе с промежуточными атомами, образуют 5-8-членное моноциклическое насыщенное, частично ненасыщенное или гетероциклическое кольцо, содержащее 0-3 гетероатома, помимо атома бора и двух атомов кислорода, независимо выбранные из атома азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R^3 и R^4 , взятые вместе, образуют необязательно замещенное 5-6-членное кольцо, содержащее 0-1 гетероатом, выбранный из атома азота, кислорода или серы.

[0044] В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой кольцо А. Как в общем определено выше, кольцо А представляет собой необязательно замещенное кольцо, выбранное из фенильного или необязательно замещенного 5-6-членного гетероарильного кольца, имеющего 1-4 гетероатома, независимо выбранных из атома азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления кольцо А представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления кольцо А представляет собой необязательно замещенное 5-членное гетероциклическое кольцо, содержащее 1-4 гетероатома, независимо выбранных из атома азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления кольцо А представляет собой необязательно замещенное 5-членное гетероарильное кольцо, выбранное из имидазолила, изоксазолила, 1*H*-пирролила (например, малеимида), пиразолила, оксазолила, тетразолила, тиазолила и триазолила. В некоторых вариантах осуществления кольцо А представляет собой необязательно замещенное 6-членное гетероарильное кольцо, содержащее 1-2 атома азота. В некоторых вариантах осуществления кольцо А представляет собой необязательно замещенное 6-членное кольцо, выбранное из пиридила и пиримидинила. В некоторых вариантах осуществления кольцо А выбрано из вариантов, приведенных в таблице 1 ниже.

[0045] В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой (пинаколато)бор. В некоторых вариантах осуществления R^3 выбран из вариантов, приведенных в таблице 1 ниже. В некоторых вариантах осуществления R^3 выбран из вариантов, приведенных в таблице 2 ниже.

[0046] Как в общем определено выше, L представляет собой ковалентную связь или линейную или разветвленную C_{1-6} алкиленовую цепь, необязательно замещенную 1-4 атомами фтора. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой линейную или разветвленную C_{1-6} алкиленовую цепь, необязательно замещенную 1-4 атомами фтора. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой метилен. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой *n*-бутиленил. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой этиленил. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой *n*-пропиленил. В некоторых вариантах осуществления L выбран из вариантов, приведенных в таблице 1 ниже. В некоторых вариантах осуществления L выбран из вариантов, приведенных в таблице 2 ниже.

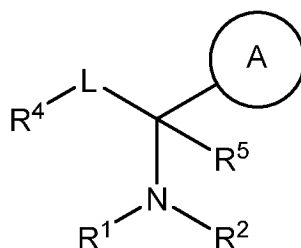
[0047] В некоторых вариантах осуществления L представляет собой разветвленную C_{1-6} алкиленовую цепь, необязательно замещенную 1-4 атомами фтора. В некоторых

вариантах осуществления L представляет собой $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$. В других вариантах осуществления L представляет собой $-\text{C}(\text{CH}_3)(\text{CF}_3)-$.

[0048] Как в общем определено выше, R^4 представляет собой R, $-\text{CF}_3$, $-\text{OR}$, $-\text{N}(\text{R})_2$, $-\text{Si}(\text{R})_3$ или $-\text{SR}$, или R^3 и R^4 , взятые вместе, образуют необязательно замещенное 5-6-членное кольцо, содержащее 0-1 гетероатом, выбранный из атома азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой R. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой $-\text{CF}_3$. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой $-\text{OR}$. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой $-\text{N}(\text{R})_2$. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой $-\text{Si}(\text{R})_3$. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой $-\text{SR}$. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой изопропил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой *трет*-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой циклопропил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой циклобутил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой *втор*-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой метоксил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой метилтиоил. В некоторых вариантах осуществления R^3 и R^4 , взятые вместе, образуют необязательно замещенное 5-6-членное кольцо, содержащее 0-1 гетероатом, выбранный из атома азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R^4 выбран из вариантов, приведенных в таблице 1 ниже. В некоторых вариантах осуществления R^4 выбран из вариантов, приведенных в таблице 2 ниже.

[0049] Как в общем определено выше, R^5 представляет собой H или C_{1-4} алкил. В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой H. В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой C_{1-4} алкил. В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R^5 выбран из вариантов, приведенных в таблице 1 ниже. В некоторых вариантах осуществления R^5 выбран из вариантов, приведенных в таблице 2 ниже.

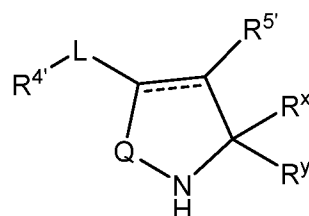
[0050] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложено соединение формулы II:



II

или его фармацевтически приемлемая соль, где каждая переменная является такой, как определено выше и как описано в вариантах осуществления, предложенных в настоящем документе, как по отдельности, так и в комбинации.

[0051] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложено соединение формулы III:



III

или его фармацевтически приемлемая соль, где:

Q представляет собой $-C(R')_2-$ или $-NH-$;

каждый из R^x и R^y представляет собой атом водорода, или R^x и R^y , взятые вместе, образуют $=O$;

----- представляет собой двойную связь или одинарную связь;

каждый R независимо представляет собой атом водорода, $-CN$ или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-6} алифатического, фенильного, 4-7-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, 5-6-членного моноциклического гетероарильного кольца, имеющего 1-4 гетероатома, или 4-8-членного насыщенного или частично насыщенного гетероциклического кольца с 1-2 гетероатомами, независимо выбранными из атома азота, кислорода или серы;

каждый R' независимо представляет собой атом водорода, атом галогена, $-CN$ или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-6} алифатического, фенильного, 4-7-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, 5-6-членного моноциклического гетероарильного кольца, имеющего 1-4 гетероатома, или 4-8-членного насыщенного или частично насыщенного гетероциклического кольца с 1-2 гетероатомами, независимо выбранными из атома азота, кислорода или серы;

L представляет собой ковалентную связь или линейную или разветвленную C_{1-6} алкиленовую цепь, необязательно замещенную 1-9 атомами фтора;

$R^{4'}$ представляет собой R, $-CF_3$, $-OR$, $-N(R)_2$, $-Si(R)_3$ или $-SR$; и

$R^{5'}$ представляет собой H, -OR или C_{1-4} алкил.

[0052] В некоторых вариантах осуществления Q представляет собой -NH-. В некоторых вариантах осуществления Q представляет собой -CH₂-. В некоторых вариантах осуществления Q представляет собой -CHF-.

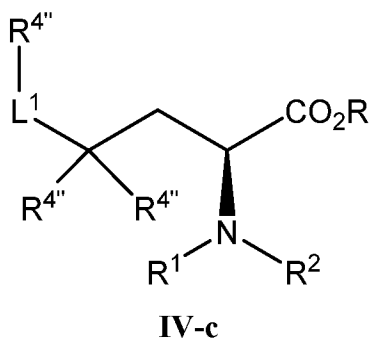
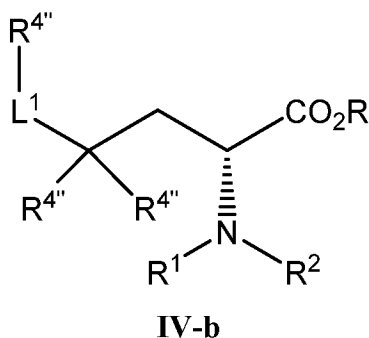
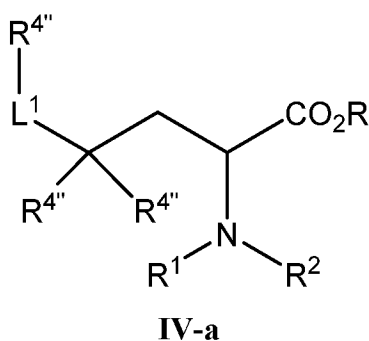
[0053] В некоторых вариантах осуществления L представляет собой -CH₂-.

[0054] В некоторых вариантах осуществления каждый R^x и R^y представляет собой атом водорода. В некоторых вариантах осуществления R^x и R^y , взятые вместе, образуют =O.

[0055] В некоторых вариантах осуществления $R^{5'}$ представляет собой H. В некоторых вариантах осуществления $R^{5'}$ представляет собой -OH.

[0056] В некоторых вариантах осуществления ----- представляет собой одинарную связь. В некоторых вариантах осуществления ===== представляет собой двойную связь.

[0057] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложено соединение формул IV-a, IV-b или IV-c:



или его фармацевтически приемлемая соль, где:

R^1 представляет собой H или C₁₋₆ алкил;

R^2 представляет собой R, $-(CH_2)_n$ -фенил, $-C(O)R$, $-SO_2R$ или $-C(O)N(R)_2$;

каждый $R^{4''}$ независимо представляет собой R, атом галогена или $-CF_3$;

каждый R независимо представляет собой атом водорода, $-CN$ или необязательно замещенную группу, выбранную из насыщенного или ненасыщенного C₁₋₆ алифатического, фенильного, 4-7-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, 5-6-членного моноциклического гетероарильного кольца, имеющего 1-4 гетероатома, или 4-8-членного насыщенного или частично насыщенного гетероциклического кольца с 1-2 гетероатомами, независимо выбранными из атома азота, кислорода или серы; и

L^1 представляет собой ковалентную связь или линейную или разветвленную C₁₋₆ алкиленовую цепь, необязательно замещенную 1-9 атомами фтора.

[0058] В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой H. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой C₁₋₆ алкил.

[0059] В некоторых вариантах осуществления R^1 выбран из вариантов, приведенных в таблице 1 ниже.

[0060] В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой R. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой $-(CH_2)_n$ -фенил. В некоторых вариантах осуществления R^2 is $-C(O)R$.

[0061] В некоторых вариантах осуществления R^2 выбран из вариантов, приведенных в таблице 1 ниже.

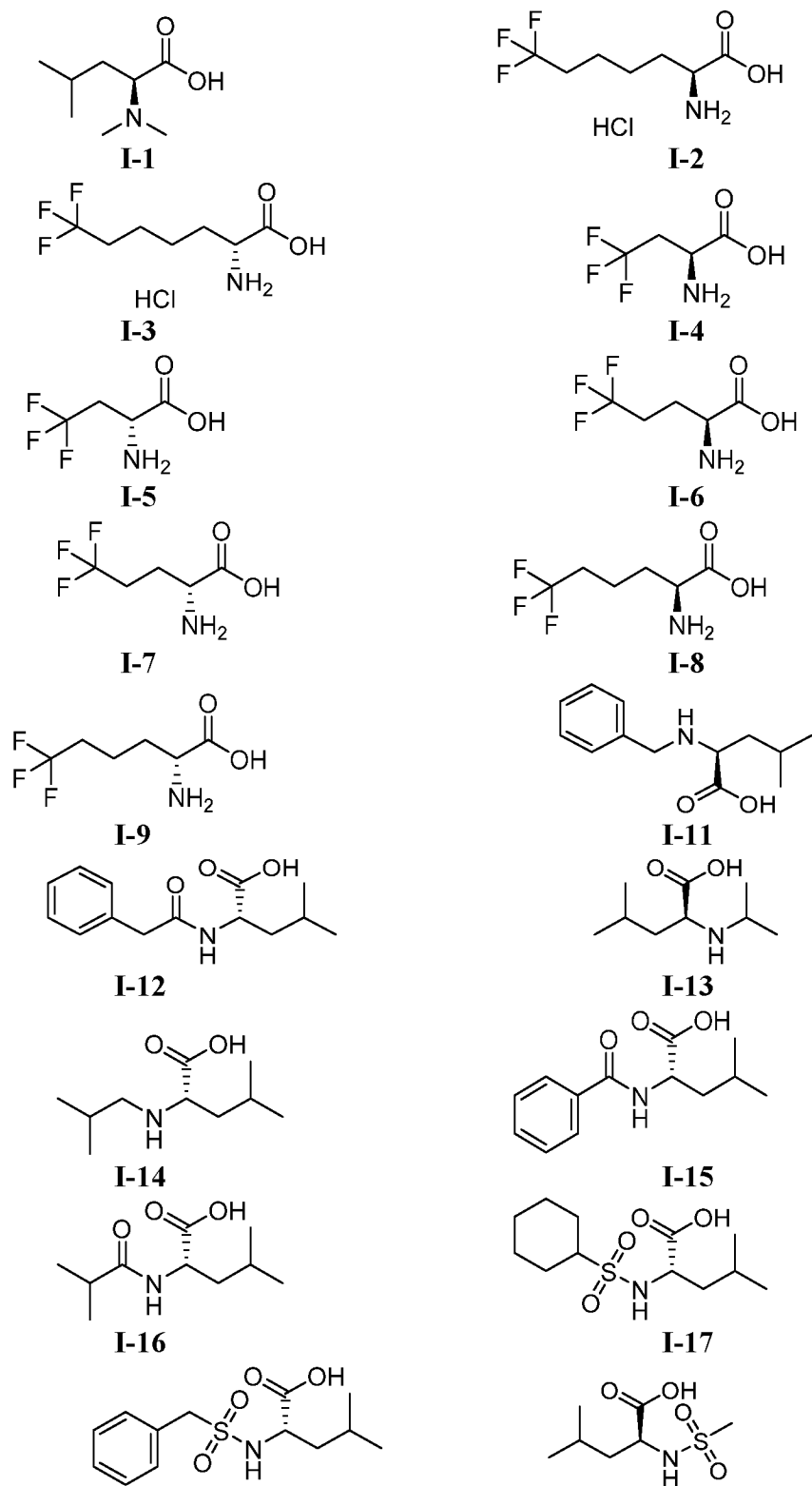
[0062] В некоторых вариантах осуществления каждый $R^{4''}$ независимо представляет собой R, атом галогена или $-CF_3$. В некоторых вариантах осуществления $R^{4''}$ представляет собой R. В некоторых вариантах осуществления $R^{4''}$ представляет собой атом галогена. В некоторых вариантах осуществления $R^{4''}$ представляет собой $-CF_3$. В некоторых вариантах осуществления $R^{4''}$ выбран из вариантов, приведенных в таблице 1 ниже.

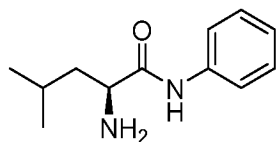
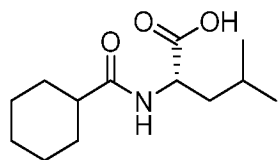
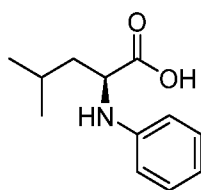
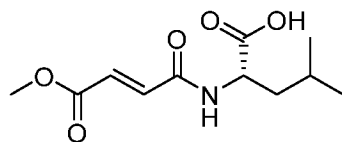
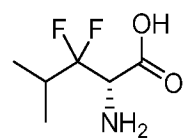
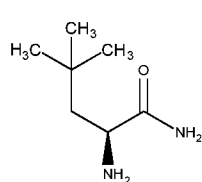
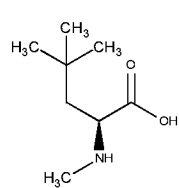
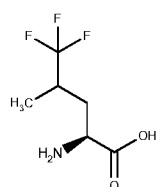
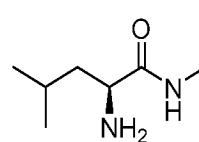
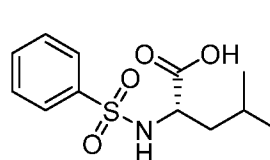
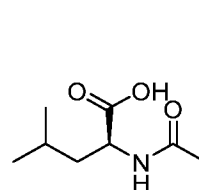
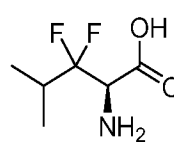
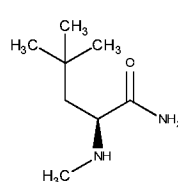
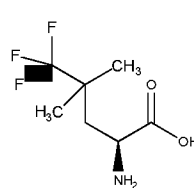
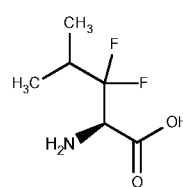
[0063] В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой ковалентную связь или линейную или разветвленную C₁₋₆ алкиленовую цепь, необязательно замещенную 1-9 атомами фтора. В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой линейную или разветвленную C₁₋₆ алкиленовую цепь, необязательно замещенную 1-9

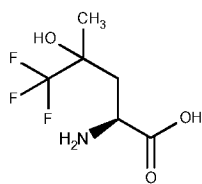
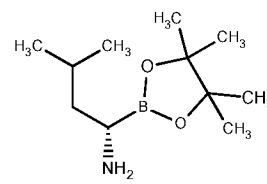
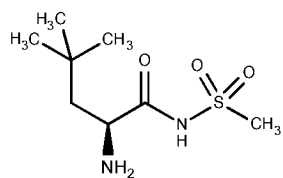
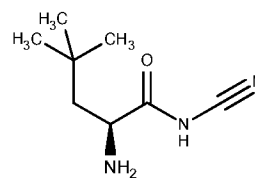
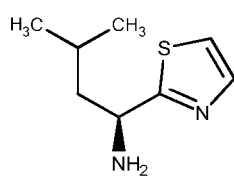
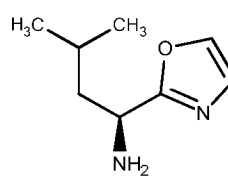
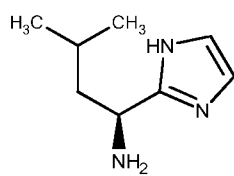
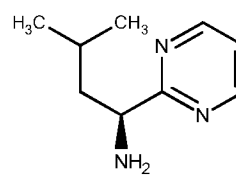
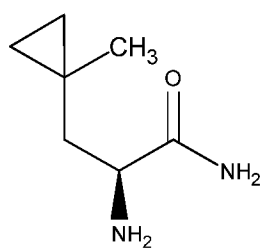
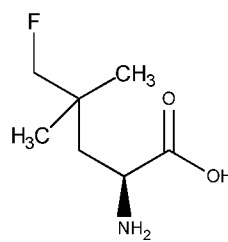
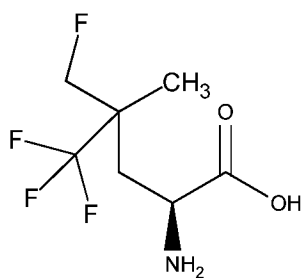
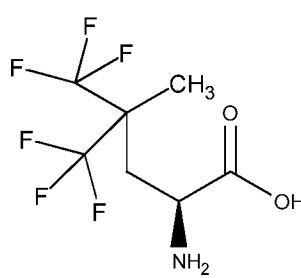
атомами фтора. В некоторых вариантах осуществления L¹ выбран из вариантов, приведенных в таблице 1 ниже.

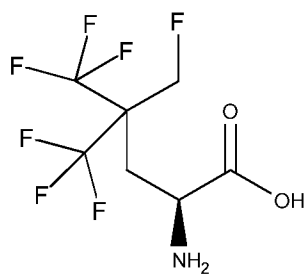
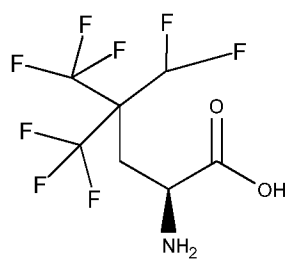
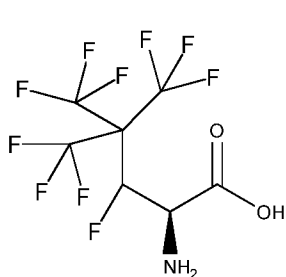
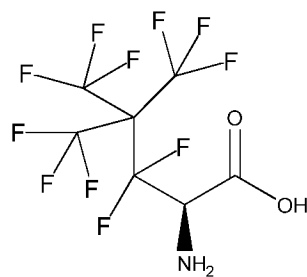
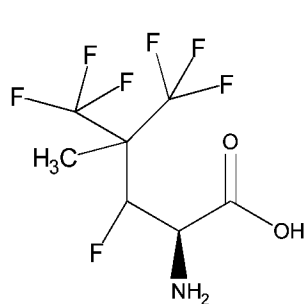
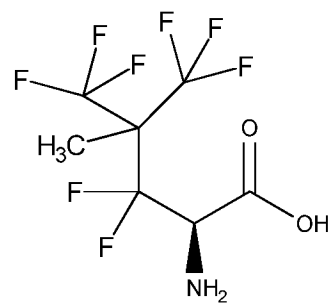
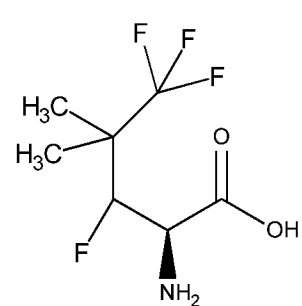
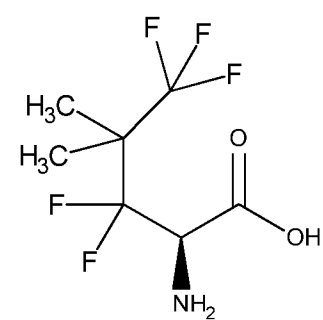
[0064] Иллюстративные соединения согласно настоящему изобретению приведены в **таблице 1** ниже.

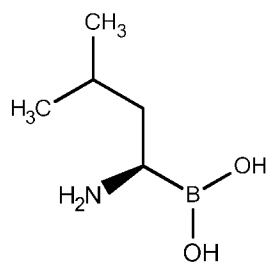
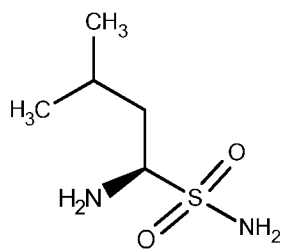
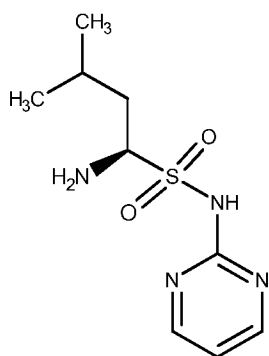
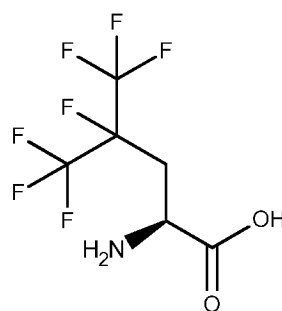
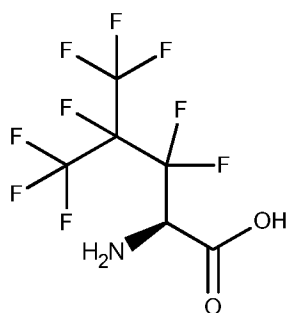
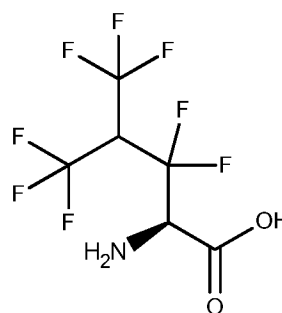
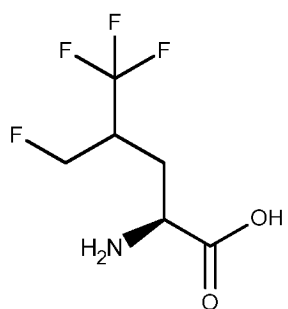
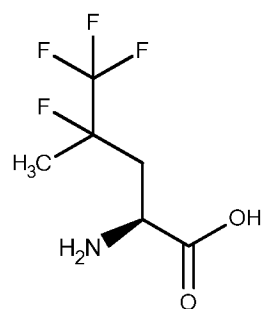
Таблица 1. Иллюстративные соединения

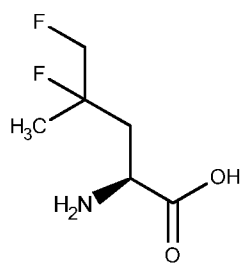
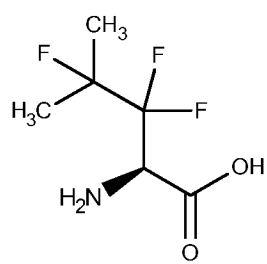
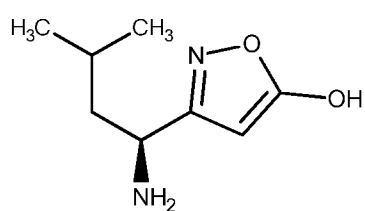
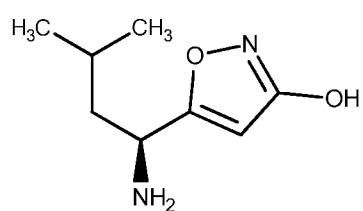
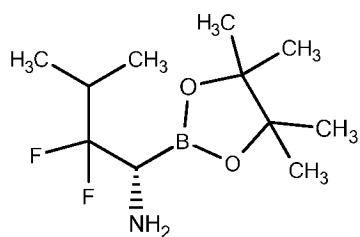
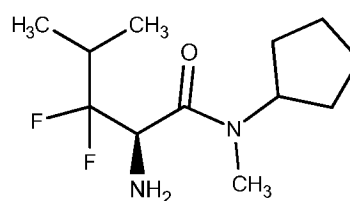
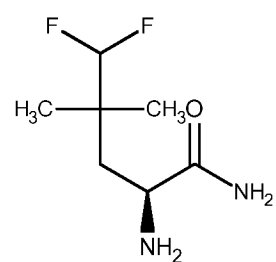
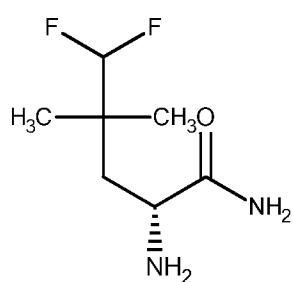


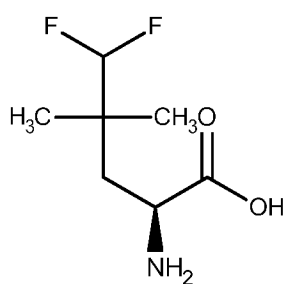
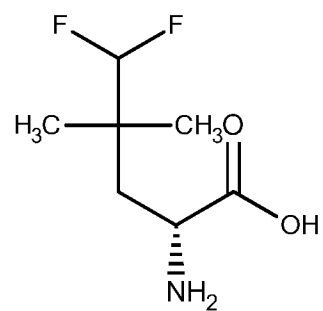
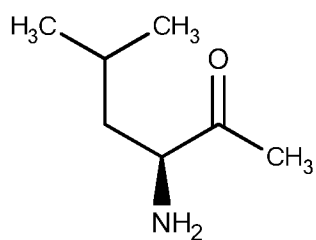
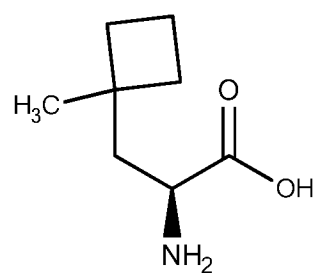
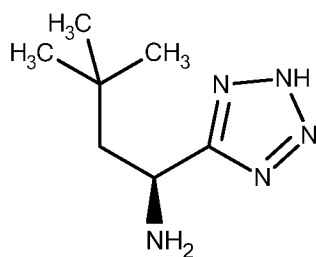
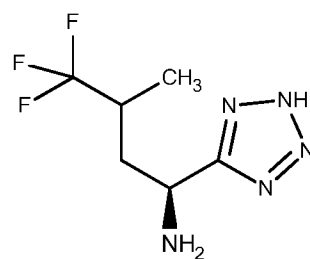
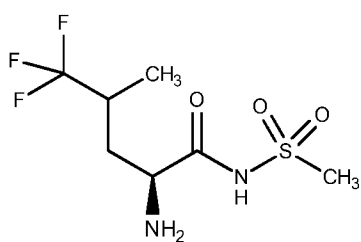
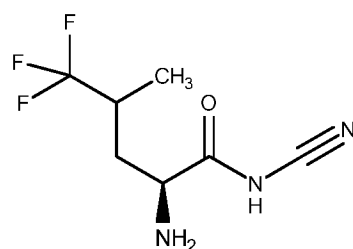
I-18**I-20****I-22****I-26****I-45****I-47****I-48****I-50****I-52****I-19****I-21****I-25****I-36****I-46****I-49****I-51****I-53**

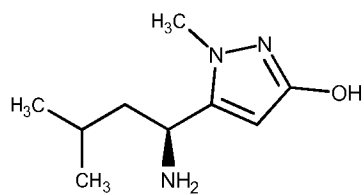
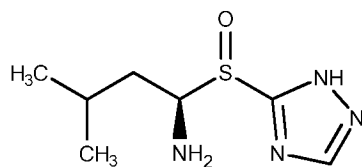
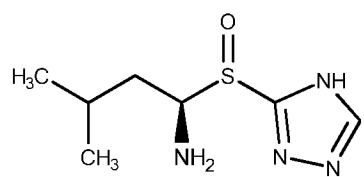
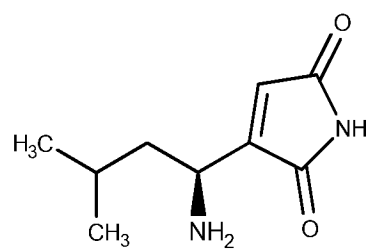
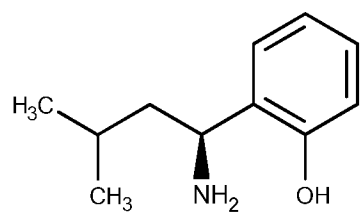
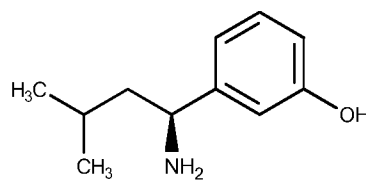
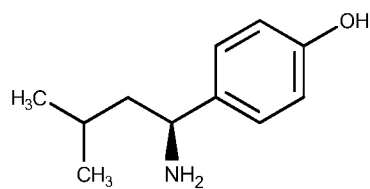
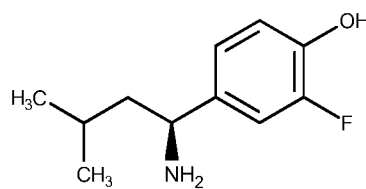
**I-54****I-55****I-56****I-57****I-58****I-59****I-60****I-61****I-62****I-63****I-64****I-65**

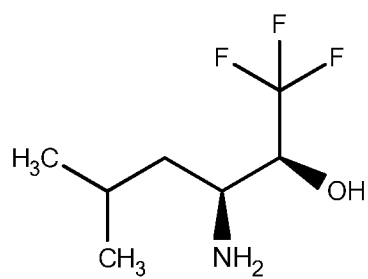
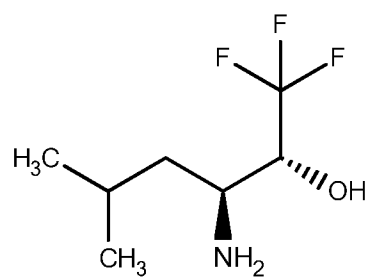
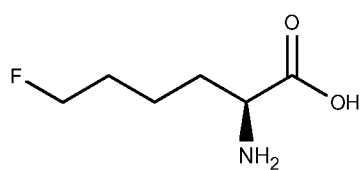
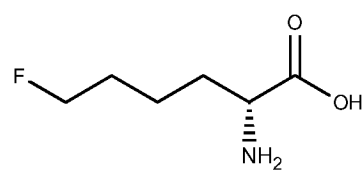
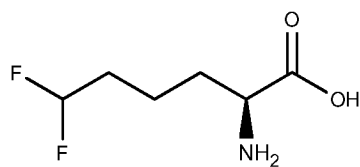
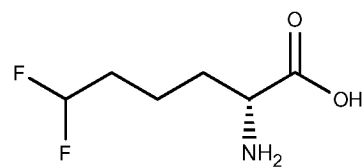
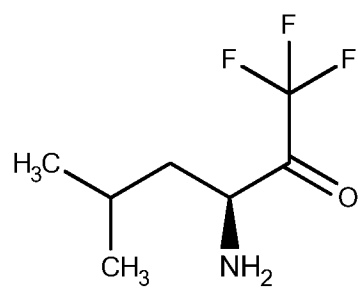
**I-66****I-67****I-68****I-69****I-70****I-71****I-72****I-73**

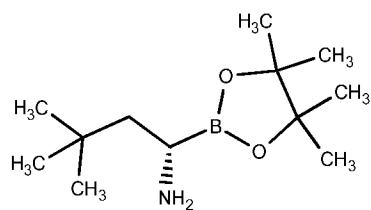
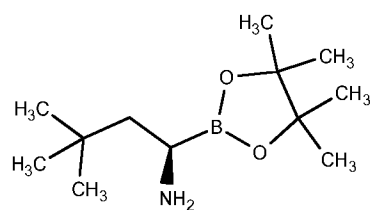
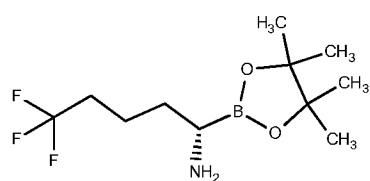
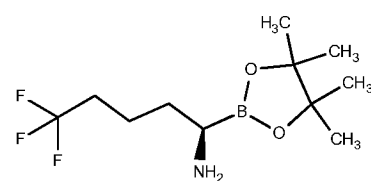
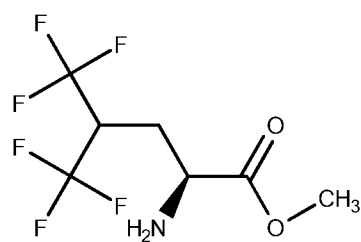
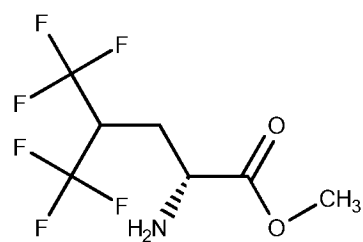
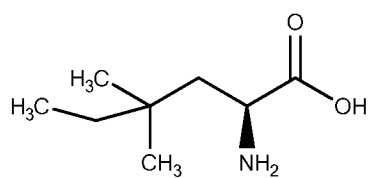
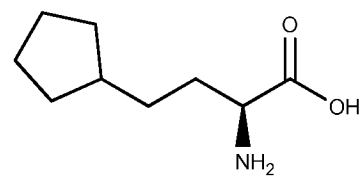
**I-74****I-75****I-76****I-77****I-78****I-79****I-80****I-81**

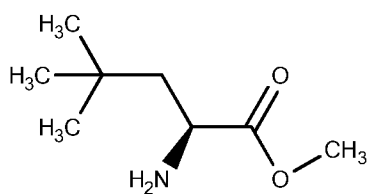
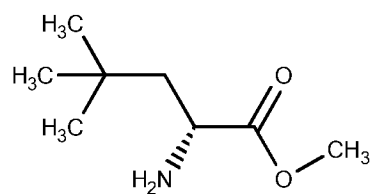
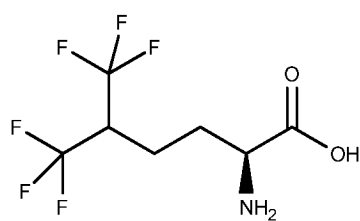
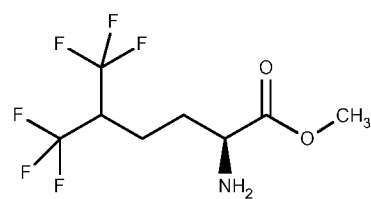
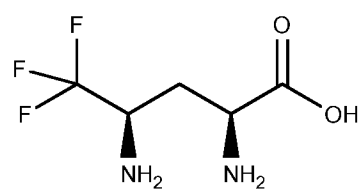
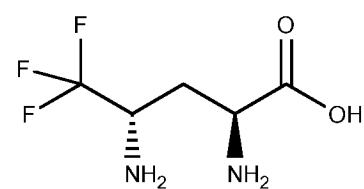
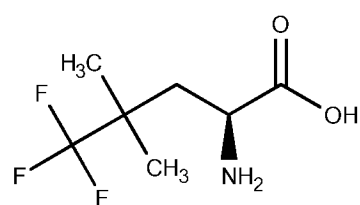
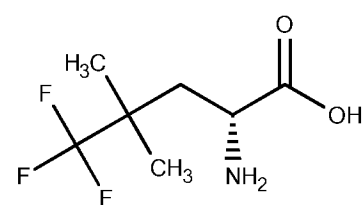
**I-82****I-83****I-84****I-85****I-86****I-87****I-88****I-89**

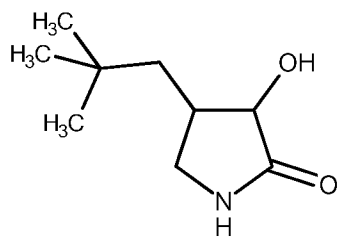
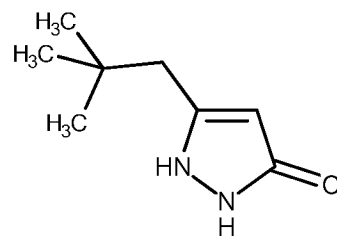
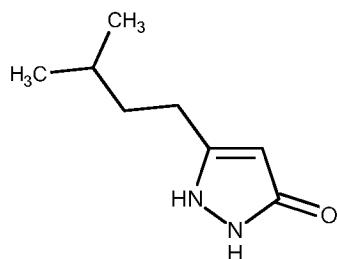
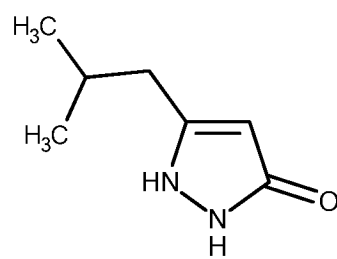
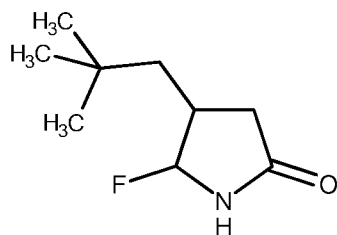
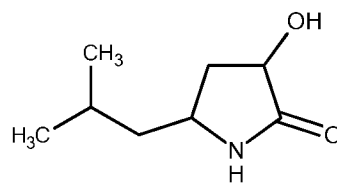
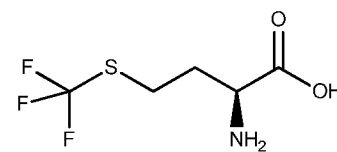
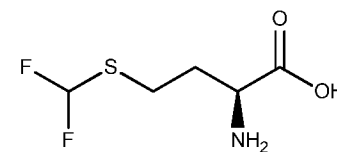
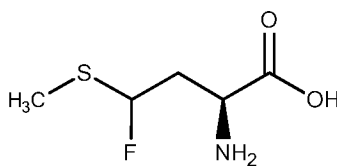
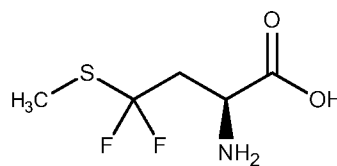
**I-90****I-91****I-92****I-93****I-94****I-95****I-96****I-97**

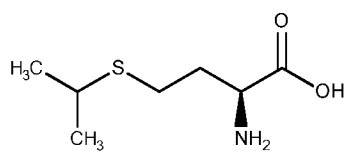
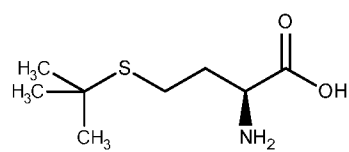
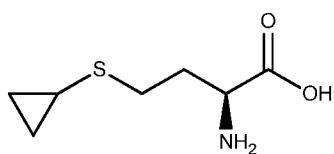
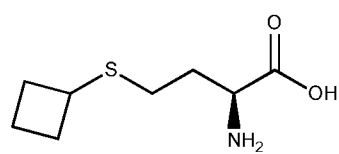
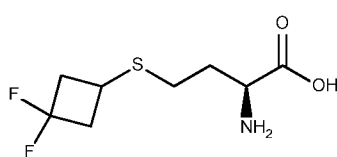
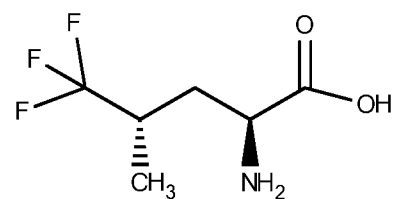
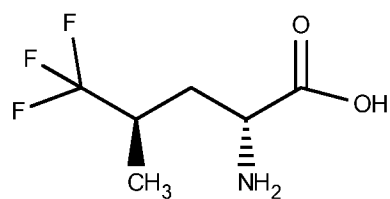
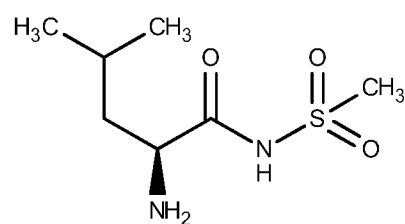
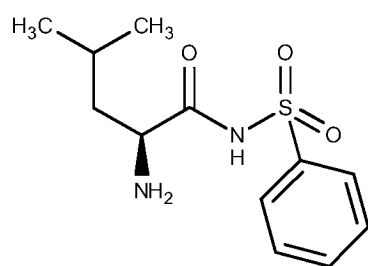
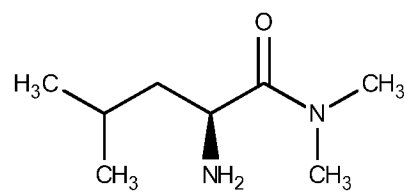
**I-98****I-99****I-100****I-101****I-102****I-103****I-104****I-105**

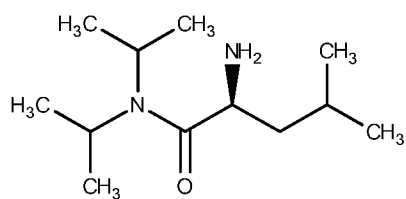
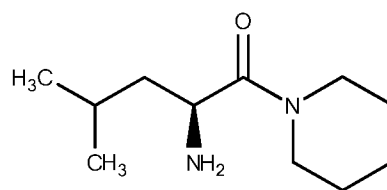
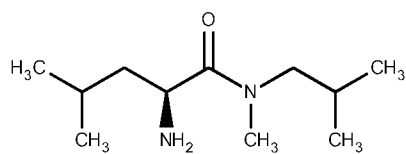
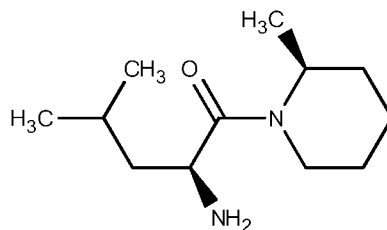
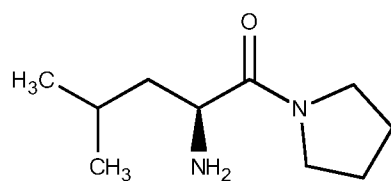
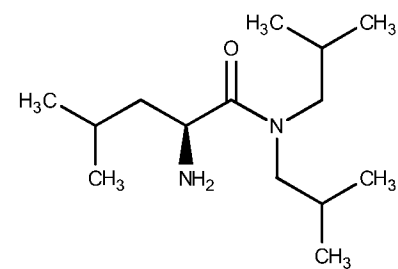
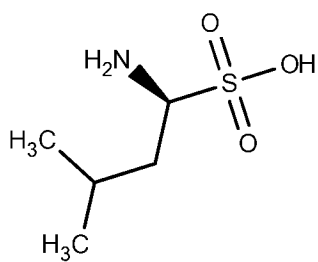
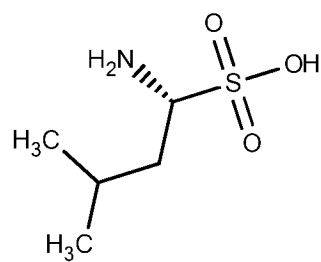
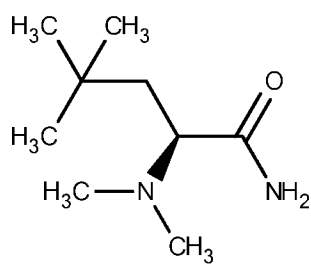
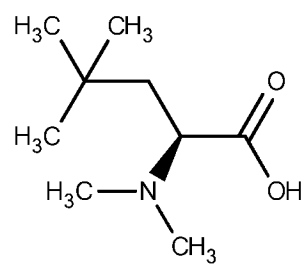
**I-106****I-107****I-108****I-109****I-110****I-111****I-113**

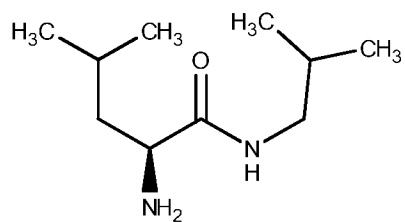
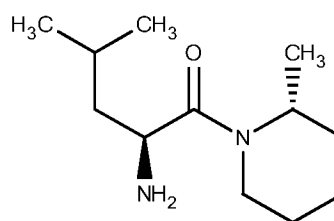
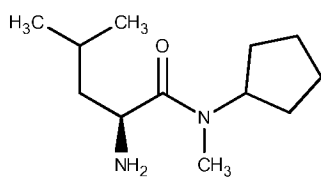
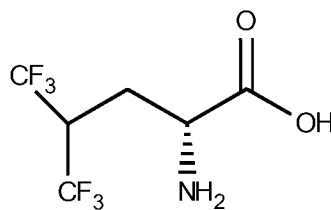
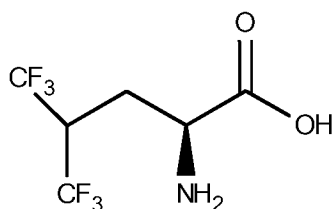
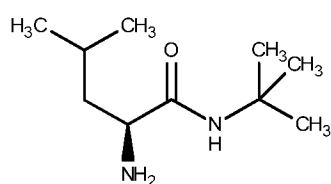
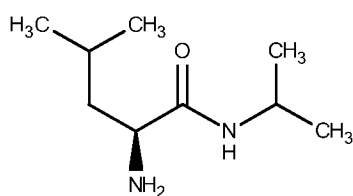
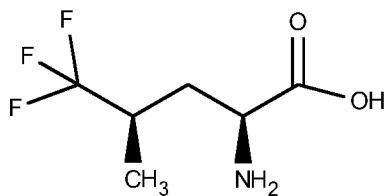
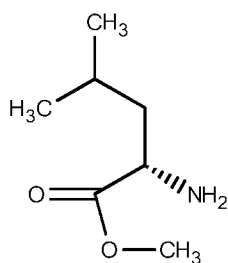
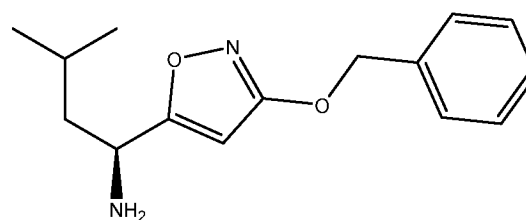
**I-114****I-115****I-116****I-117****I-118****I-119****I-120****I-121**

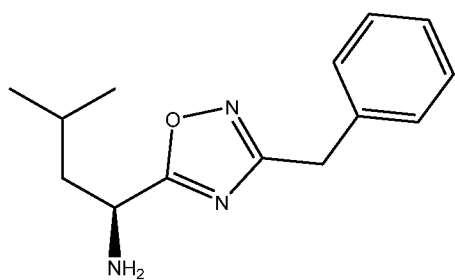
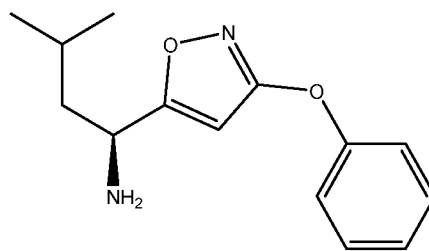
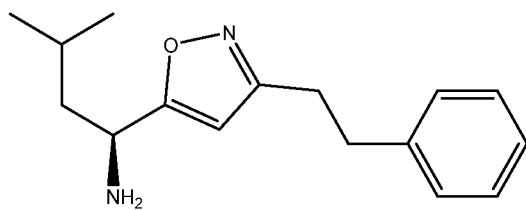
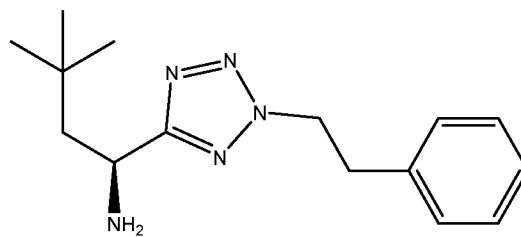
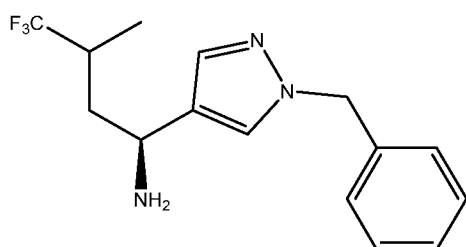
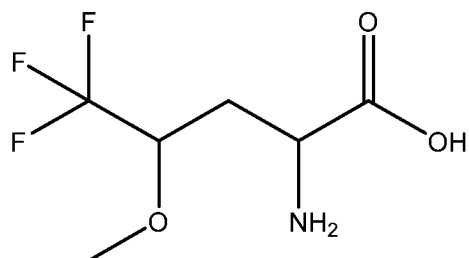
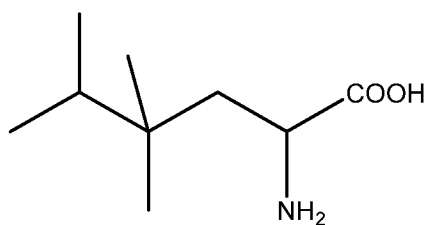
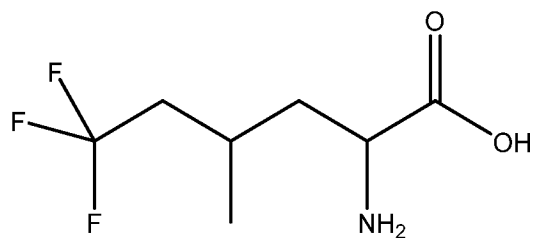
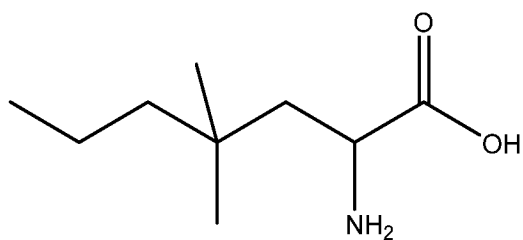
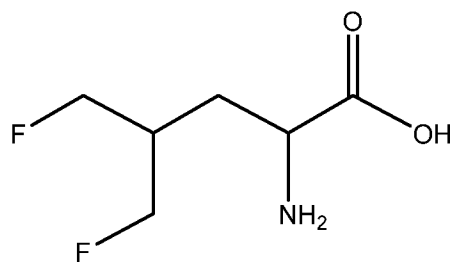
**I-122****I-123****I-124****I-125****I-126****I-127****I-128****I-129**

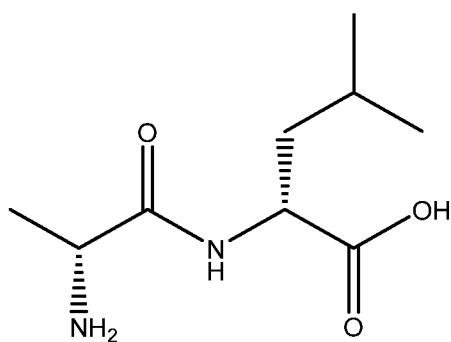
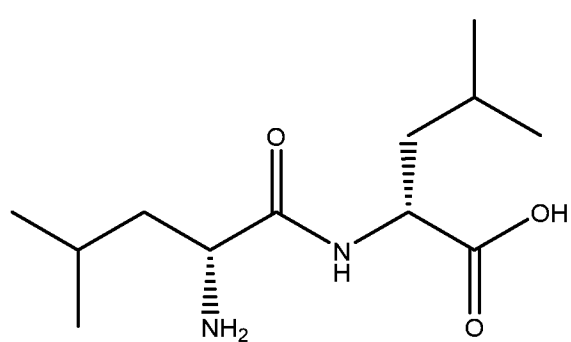
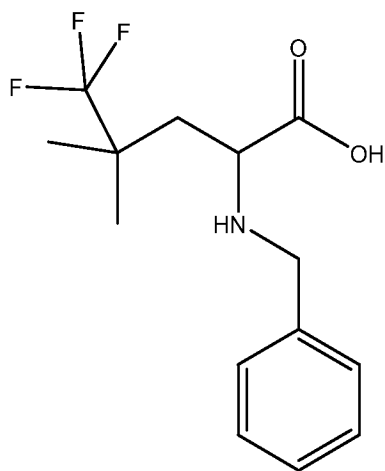
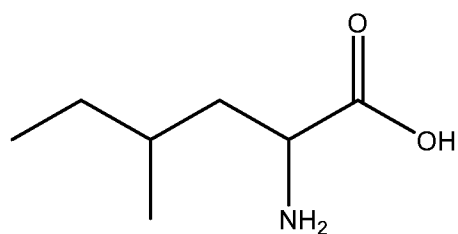
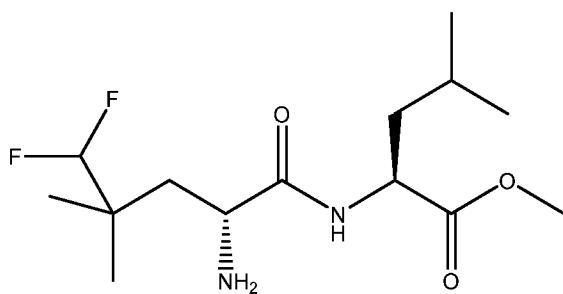
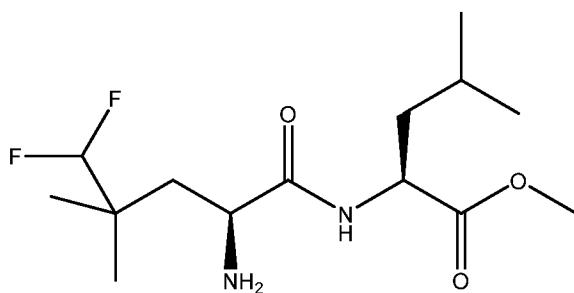
**I-130****I-131****I-132****I-133****I-134****I-135****I-136****I-137****I-138****I-139**

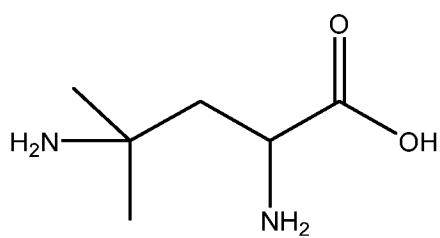
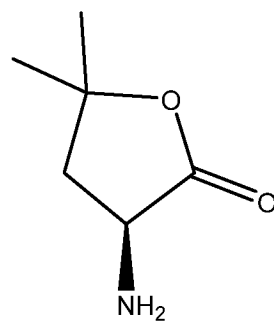
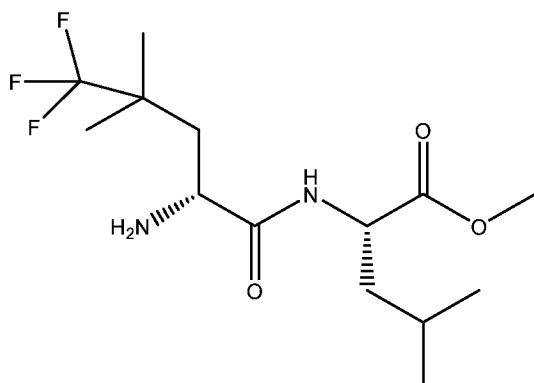
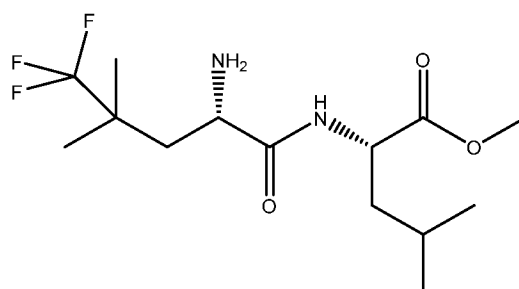
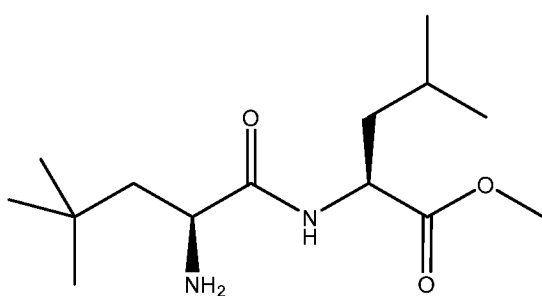
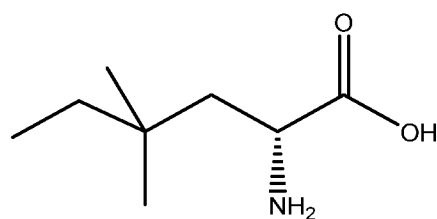
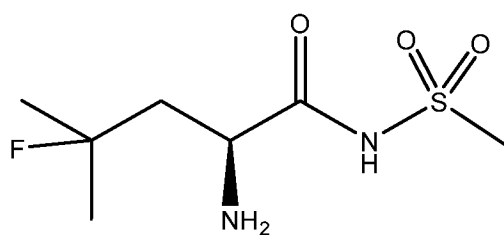
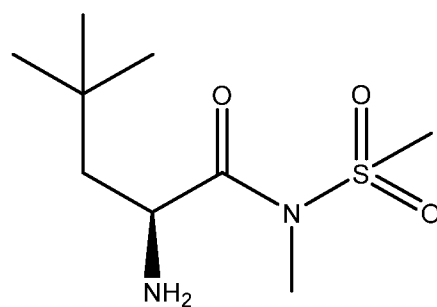
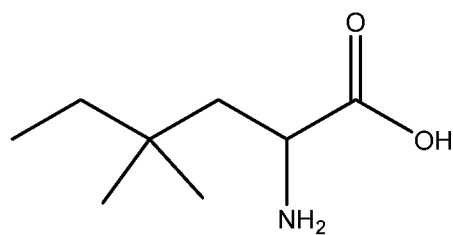
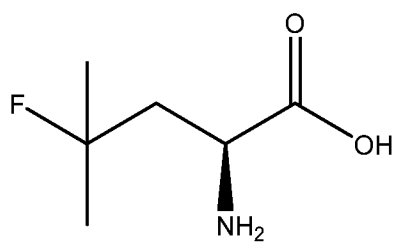
**I-140****I-141****I-142****I-143****I-144****I-145****I-146****I-147****I-148****I-149**

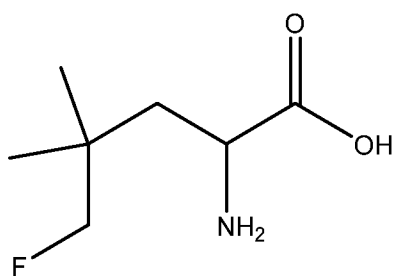
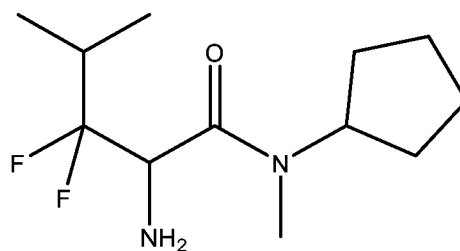
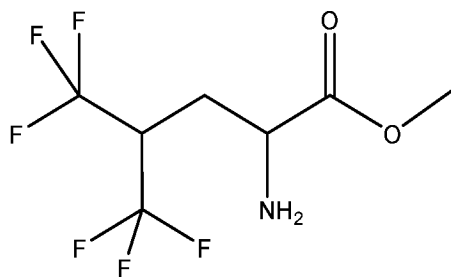
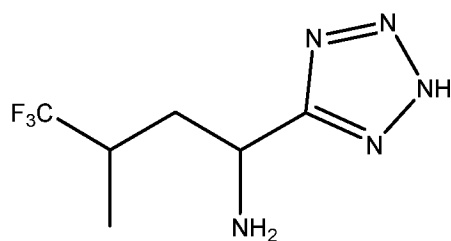
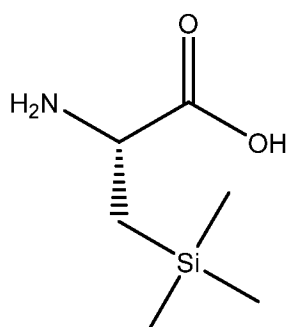
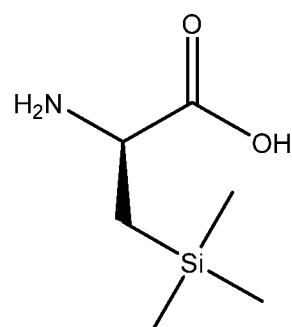
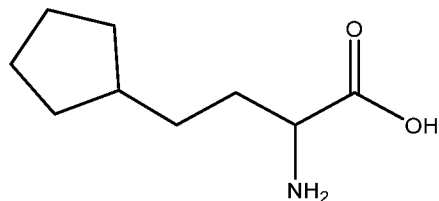
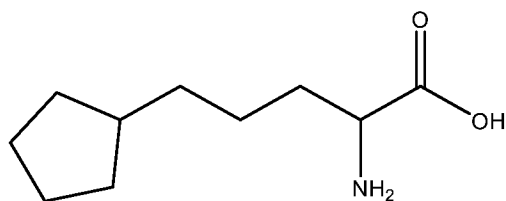
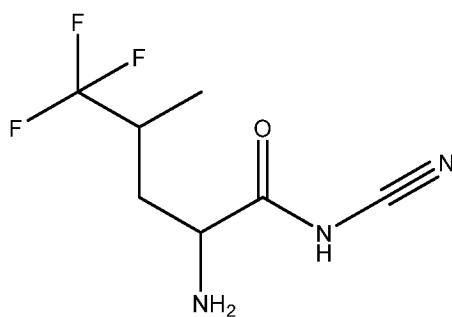
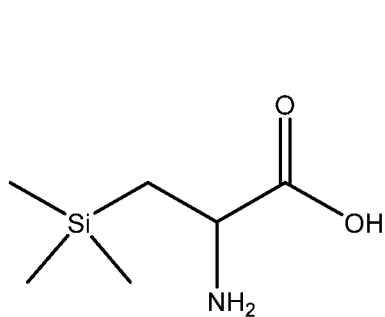
**I-150****I-151****I-152****I-153****I-154****I-155****I-156****I-157****I-158****I-159**

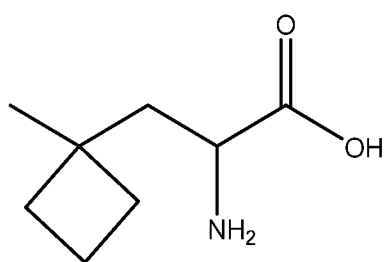
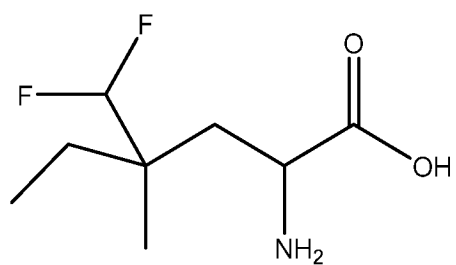
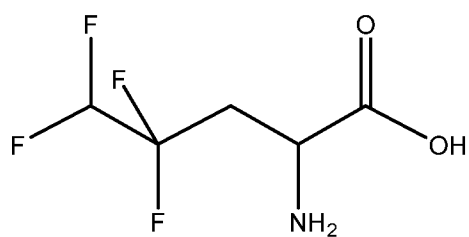
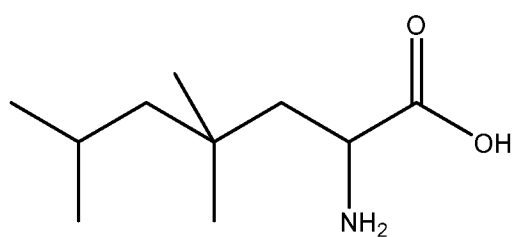
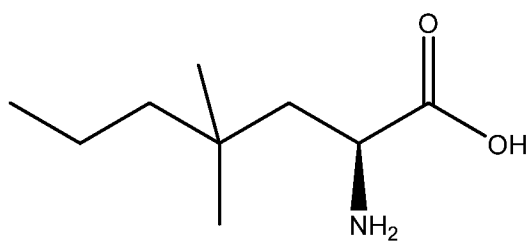
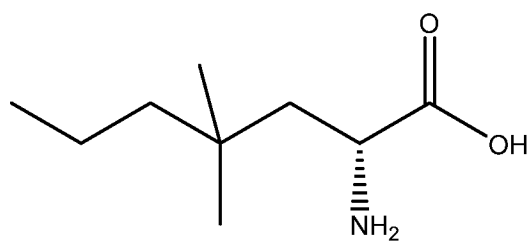
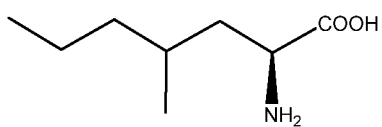
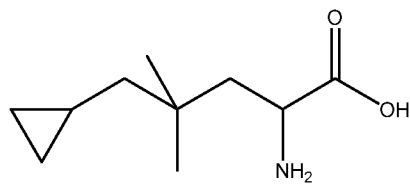
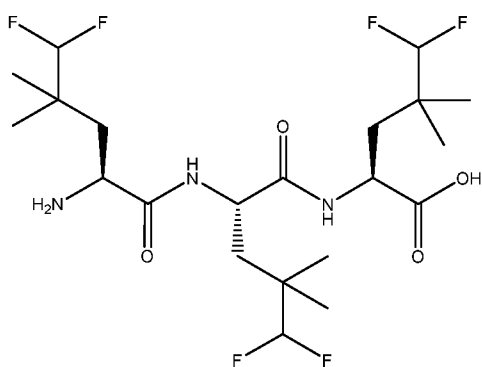
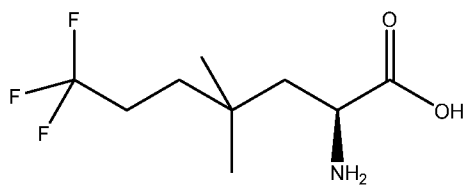
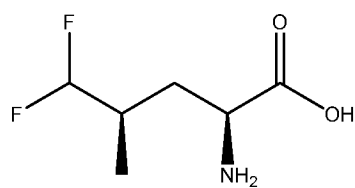
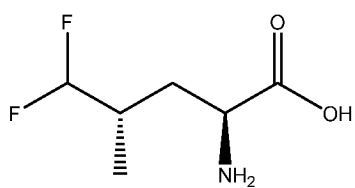
**I-160****I-161****I-162****I-163****I-164****I-165****I-166****I-167****I-168****I-169**

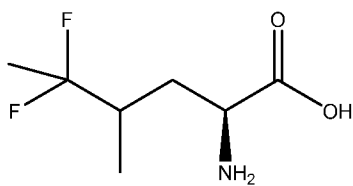
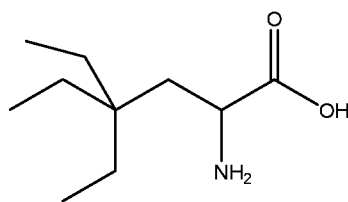
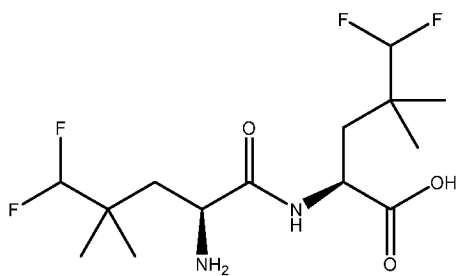
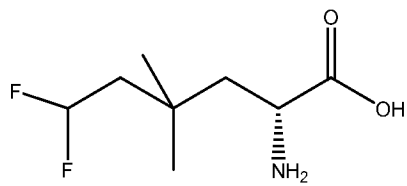
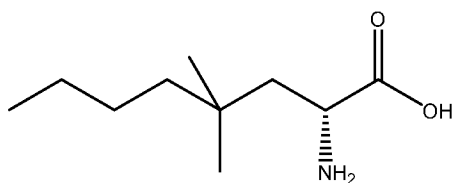
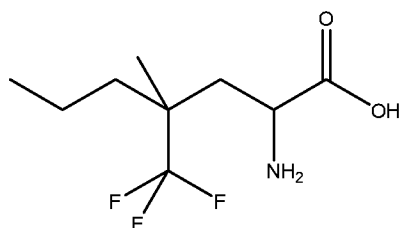
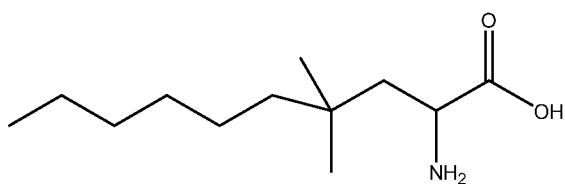
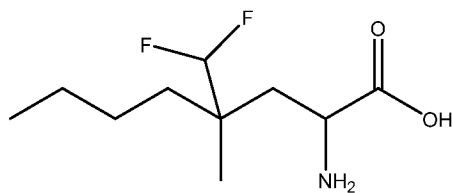
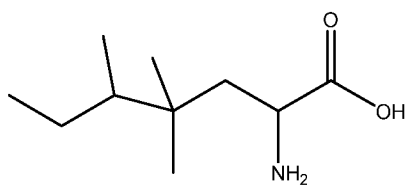
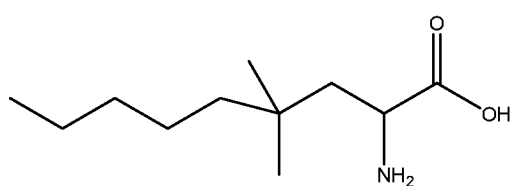
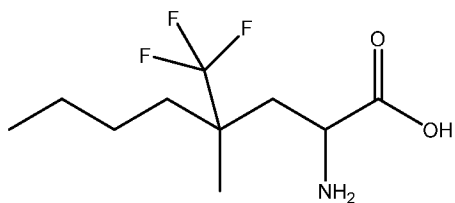
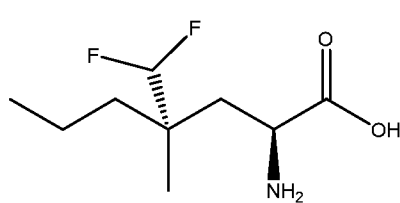
**I-170****I-171****I-172****I-173****I-174****I-175****I-176****I-177****I-178****I-179**

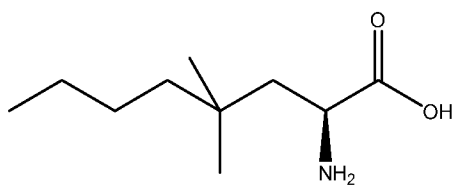
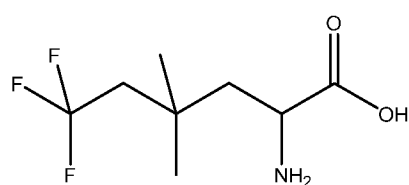
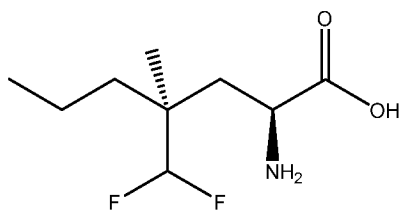
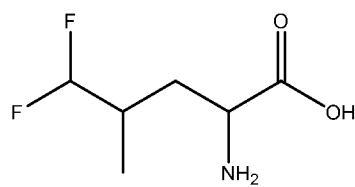
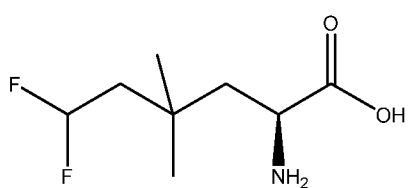
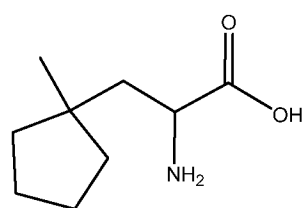
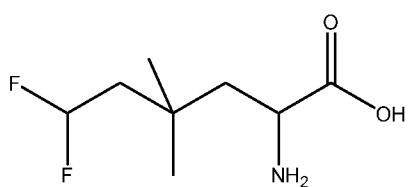
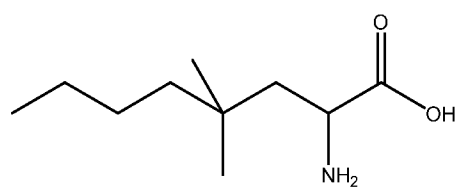
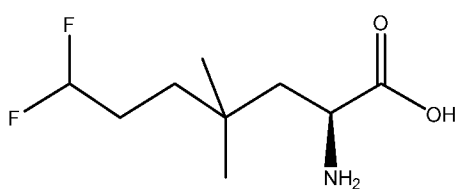
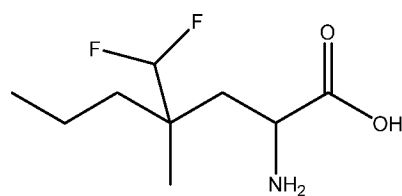
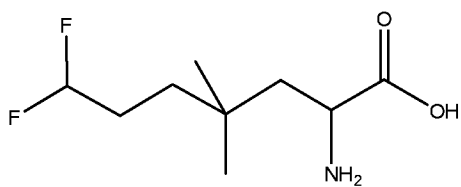
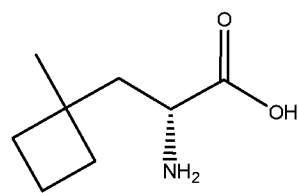
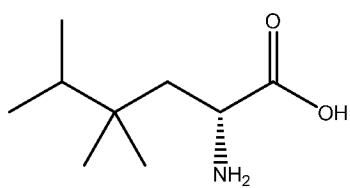
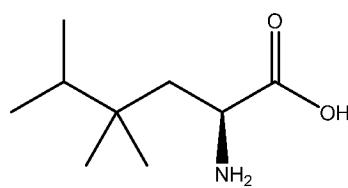
**I-180****I-181****I-182****I-183****I-184****I-185**

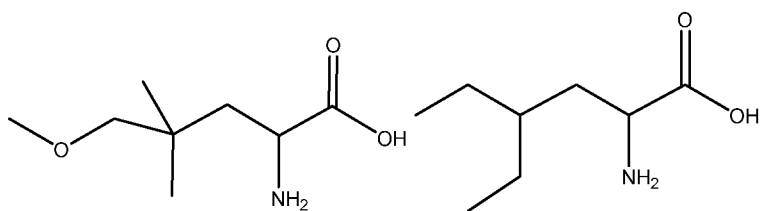
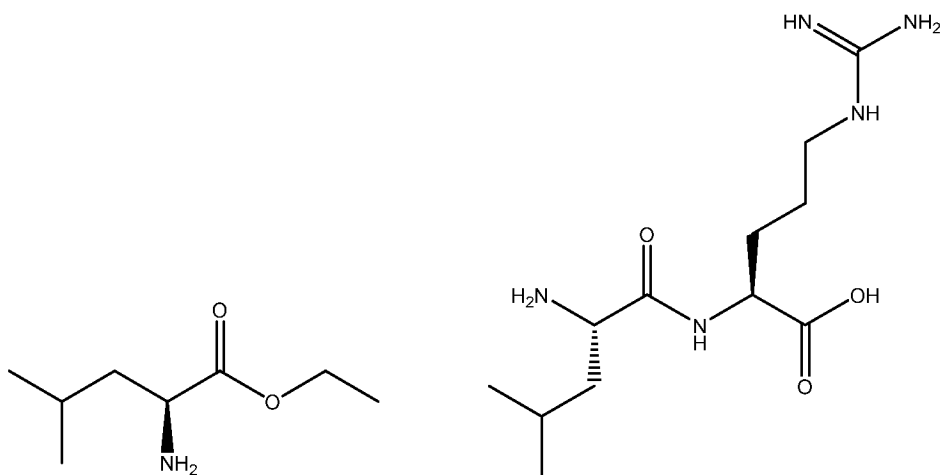
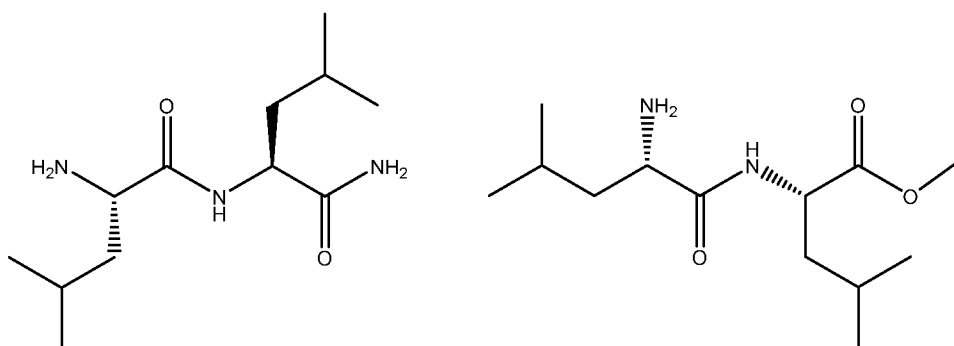
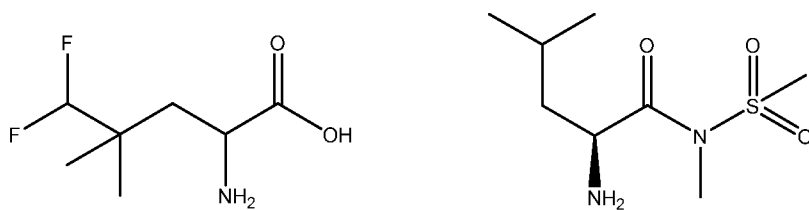
**I-186****I-187****I-188****I-189****I-190****I-191****I-192****I-193**

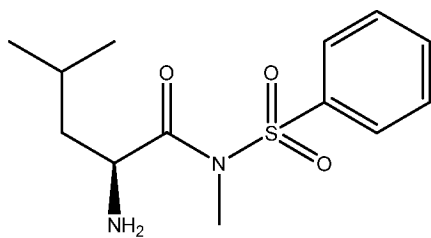
I-194**I-195****I-196****I-197****I-198****I-199****I-200****I-201****I-202****I-203****I-204****I-205**

**I-206****I-207****I-208****I-209****I-210****I-211****I-212****I-213****I-214****I-215**

I-216**I-217****I-218****I-219****I-220****I-221****I-222****I-223****I-224****I-225****I-226****I-227****I-228****I-229**

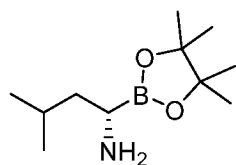
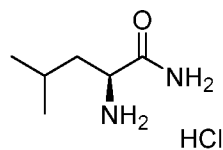
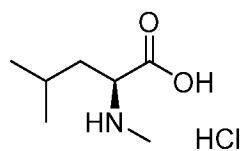
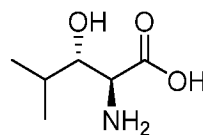
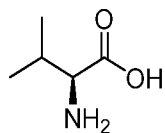
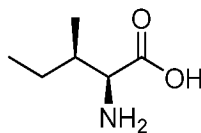
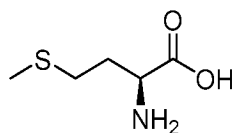
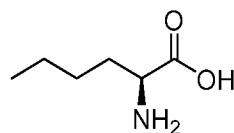
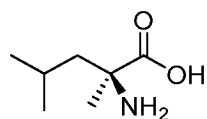
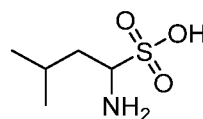
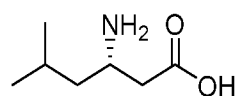
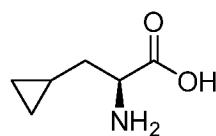
**I-230****I-231****I-232****I-233****I-234****I-235****I-236****I-237****I-238****I-239****I-240****I-241****I-242****I-243**

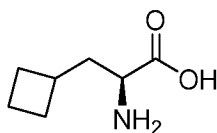
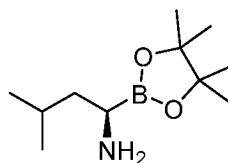
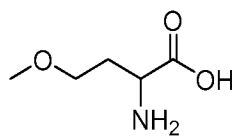
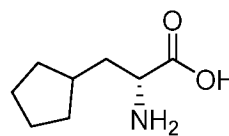
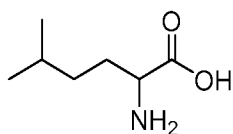
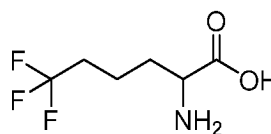
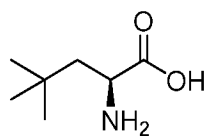
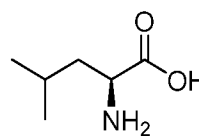
**I-244****I-245****I-246****I-247****I-248****I-249****I-250****I-251****I-252****I-253**

**I-254**

[0065] Иллюстративные соединения согласно настоящему изобретению приведены в таблице 2 ниже.

Таблица 2. Иллюстративные соединения

**I-10****I-23****I-24****I-27****I-28****I-29****I-30****I-31****I-32****I-33****I-34****I-35**

**I-37****I-38****I-39****I-40****I-41****I-42****I-43****I-44**

[0066] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложено соединение, приведенное в **таблице 1** выше, или его фармацевтически приемлемая соль. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложено соединение, приведенное в **таблице 2** выше, или его фармацевтически приемлемая соль.

5. Применения, состав и введение

Фармацевтически приемлемые композиции

[0067] Согласно еще одному варианту осуществления изобретения предложена композиция, содержащая соединение согласно настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемое производное и фармацевтически приемлемый носитель, адъювант или наполнитель. Количество соединения в композициях согласно настоящему изобретению является таким, что эффективно для измеримого ингибирования или активации взаимодействия сестрина и GATOR2 в биологическом образце или в организме пациента. В некоторых вариантах осуществления количество соединения в композициях согласно настоящему изобретению является таким, что эффективно для измеримого ингибирования или активации взаимодействия сестрина и GATOR2 в биологическом образце или в организме пациента. В некоторых вариантах осуществления композиция согласно настоящему изобретению разработана для

введения пациенту, нуждающемуся в такой композиции. В некоторых вариантах осуществления композиция согласно настоящему изобретению разработана для перорального введения пациенту.

[0068] При использовании в настоящем документе термин «пациент» означает животное, предпочтительно млекопитающее, и наиболее предпочтительно человека.

[0069] Термин «фармацевтически приемлемый носитель, адъювант или наполнитель» относится к нетоксичному носителю, адъюванту или наполнителю, не противодействующему фармакологической активности соединения, в смеси с которым он находится. Фармацевтически приемлемые носители, адъюванты или наполнители, которые могут применяться в композициях согласно настоящему изобретению, включают, но не ограничены перечисленным, ионообменные вещества, оксид алюминия, стеарат алюминия, лецитин, сывороточные белки, такие как сывороточный альбумин человека, буферные вещества, такие как фосфаты, глицин, сорбиновая кислота, сорбат калия, смеси неполных глицеридов насыщенных растительных жирных кислот, воду, соли или электролиты, такие как протаминсульфат, гидрофосфат натрия, гидрофосфат калия, хлорид натрия, соли цинка, коллоидный диоксид кремния, трисиликат магния, поливинилпирролидон, вещества на основе целлюлозы, полиэтиленгликоль, карбоксиметилцеллюлозу натрия, полиакрилаты, воски, блок-сополимеры полиэтилена и полиоксипропилена, полиэтиленгликоль и ланолин.

[0070] Композиции согласно настоящему изобретению могут быть введены перорально, парентерально, ингаляцией спрея, местно, ректально, назально, буккально, вагинально или посредством имплантируемого резервуара. При использовании в настоящем документе термин «парентеральный» включает подкожное, внутривенное, внутримышечное, внутрисуставное, внутрисиновиальное, внутригрудинное, интратекальное, внутрипеченочное, внутриочаговое и внутричерепное введение или введение с помощью инфузии. Предпочтительно композиции вводят перорально, внутрибрюшинно или внутривенно. Стерильные инъеклируемые формы композиций согласно настоящему изобретению могут представлять собой водную или масляную суспензию. Эти суспензии могут быть разработаны в соответствии с методиками, известными в данной области техники, с помощью подходящих диспергирующих или смачивающих агентов и суспендирующих агентов. Стерильный инъеклируемый препарат может также представлять собой стерильный инъеклируемый раствор или суспензию в нетоксичном разбавителе или растворителе, приемлемом для парентерального введения, например, раствор в 1,3-бутандиоле. К подходящим для применения наполнителям и

растворителям относится вода, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, в качестве общепринятого растворителя или суспендирующей среды используют стерильные, нелетучие масла.

[0071] С этой целью может быть использовано любое мягкое нелетучее масло, включая синтетические моно- или диглицериды. Для получения инъекционных препаратов полезны жирные кислоты, такие как олеиновая кислота и ее глицеридные производные, а также природные фармацевтически приемлемые масла, такие как оливковое масло или касторовое масло, особенно их полиоксиэтилированные производные. Эти масляные растворы или суспензии могут также содержать длинноцепочечный спирт в качестве разбавителя или диспергирующего агента, такой как карбоксиметилцеллюлоза или аналогичные общепринятые диспергирующие агенты, используемые для приготовления фармацевтически приемлемых лекарственных форм, включая эмульсии и суспензии. Для получения препаратов могут также быть использованы другие общепринятые поверхностно-активные вещества, такие как Твины, Спаны и другие эмульгирующие агенты или усилители биодоступности, общепринятые в производстве фармацевтически приемлемых твердых, жидких или иных лекарственных форм.

[0072] Фармацевтически приемлемые композиции согласно настоящему изобретению могут быть введены перорально в любой лекарственной форме, приемлемой для перорального введения, включая, но не ограничиваясь перечисленным, капсулы, таблетки, водные суспензии или растворы. В случае таблеток для перорального применения общепринятые носители включают лактозу и кукурузный крахмал. Также обычно добавляют скользящие вещества, такие как стерат магния. Разбавители, полезные для перорального введения в форме капсул, включают лактозу и высушенный кукурузный крахмал. Когда для перорального применения необходимы водные суспензии, активный ингредиент смешивают с эмульгирующими и суспендирующими агентами. При необходимости могут также быть добавлены некоторые подсластители, вкусовые добавки или красители.

[0073] В качестве альтернативы, фармацевтически приемлемые композиции согласно настоящему изобретению могут быть введены в форме суппозиториев для ректального введения. Они могут быть получены путем смешивания агента с подходящим не вызывающим раздражения эксципиентом, который является твердым при комнатной температуре но жидким при ректальной температуре, и, следовательно,

будет таять в прямой кишке, высвобождая лекарственное средство. Такие вещества включают масло какао, пчелиный воск и полиэтиленгликоли.

[0074] Фармацевтически приемлемые композиции согласно настоящему изобретению могут также быть введены местно, особенно когда лечение направлено на области или органы, легкодоступные для местного нанесения, включая заболевания глаз, кожи или нижних отделов желудочно-кишечного тракта. Подходящие составы для местного нанесения легко могут быть получены для каждой из этих областей или органов.

[0075] Местное применение в области нижних отделов желудочно-кишечного тракта может быть осуществлено с помощью ректального суппозитория (см. выше), или подходящих растворов для клизмы. Также могут использоваться пластыри для местного трансдермального введения.

[0076] Для местного применения предложенные фармацевтически приемлемые композиции могут быть приготовлены в форме подходящей мази, содержащей активный компонент, суспендированный или растворенный в одном или более носителях. Носители для местного введения соединений согласно настоящему изобретению включают, но не ограничены перечисленным, минеральное масло, вазелиновое масло, белый вазелин, пропиленгликоль, полиоксиэтилен, полиоксипропиленовое соединение, эмульсионный воск и воду. В качестве альтернативы, предложенные фармацевтически приемлемые композиции могут быть приготовлены в форме подходящего раствора или крема, содержащего активные компоненты, суспендированные или растворенные в одном или более фармацевтически приемлемых носителях. Подходящие носители включают, но не ограничены перечисленным, минеральное масло, сорбитан моностеарат, полисорбат 60, воск цетиловых эфиров, цетеариловый спирт, 2-октилдодеканол, бензиловый спирт и воду.

[0077] Для офтальмологического применения предложенные фармацевтически приемлемые композиции могут быть приготовлены в форме микронизированных суспензий в изотоническом стерильном буферном растворе с установленным pH, или, предпочтительно, в форме растворов в стерильном физиологическом растворе с установленным pH, с консервантом, таким как бензалкония хлорид, или без него. В качестве альтернативы, для офтальмологических применений фармацевтически приемлемые композиции могут быть приготовлены в форме мази, такой как вазелиновая.

[0078] Фармацевтически приемлемые композиции согласно настоящему изобретению могут быть введены в виде назального аэрозоля или ингаляцией. Такие композиции получают согласно методикам, хорошо известным в области приготовления фармацевтических композиций, и они могут быть получены в виде растворов в физиологическом растворе с использованием бензилового спирта или других подходящих консервантов, стимуляторов абсорбции для усиления биодоступности, фторуглеродов и/или других общепринятых солюбилизаторов или диспергирующих агентов.

[0079] Наиболее предпочтительно, фармацевтически приемлемые композиции согласно настоящему изобретению разработаны для перорального введения. Такие препараты могут быть введены во время приема пищи или натощак. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемые композиции согласно настоящему изобретению вводят натощак. В других вариантах осуществления фармацевтически приемлемые композиции согласно настоящему изобретению вводят во время приема пищи.

[0080] Количества соединений согласно настоящему изобретению, которые могут быть объединены с веществами-носителями с получением композиции в виде одной лекарственной формы, будут различаться в зависимости от организма, подлежащего лечению, конкретного способа введения. Предпочтительно, предложенные композиции должны быть приготовлены таким образом, чтобы пациенту, получающему такие композиции, могла быть введена дозировка ингибитора от 0,01 до 100 мг/кг массы тела/сут.

[0081] Следует также понимать, что конкретная дозировка и схема лечения для любого конкретного пациента будет зависеть от различных факторов, включая активность конкретного используемого соединения, возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол, питание, время введения, скорость выведения, сочетание лекарственных средств и мнение лечащего врача, и тяжесть конкретного подлежащего лечению заболевания. Количество соединения согласно настоящему изобретению в композиции будет также зависеть от конкретного соединения в композиции.

Применение соединений и фармацевтически приемлемых композиций

[0082] Соединения и композиции, описанные в настоящем документе, в общем пригодны для ингибирования или активации взаимодействия сестрина и GATOR2. В некоторых вариантах осуществления предложенное соединение или содержащая его композиция является активатором взаимодействия сестрина и GATOR2.

[0083] Активность соединения, используемого в настоящем изобретении в качестве ингибитора или активатора взаимодействия сестрина и GATOR2, может быть оценена *in vitro*, *in vivo* или на линии клеток. Исследования *in vitro* включают исследования, в которых определяют ингибирование или активацию взаимодействия сестрина и GATOR2. В альтернативных исследованиях *in vitro* количественно определяют способность ингибитора или активатора уменьшать или увеличивать связывание сестрина с GATOR2. Подробные условия исследования соединения, используемого в настоящем изобретении в качестве ингибитора или активатора взаимодействия сестрина и GATOR2, приведены в примерах ниже.

[0084] При использовании в настоящем документе термины «лечение» «лечить» и «лечащий» относятся к обращению вспять, облегчению, отсрочке начала или замедлению прогрессирования заболевания или расстройства или одного или более его симптомов, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления лечение может осуществляться после развития одного или более симптомов. В других вариантах осуществления лечение может осуществляться в отсутствие симптомов. Например, лечение может осуществляться у восприимчивого индивидуума до проявления симптомов (например, в свете истории симптомов и/или в свете генетических или других факторов предрасположенности). Лечение может также быть продолжено после устранения симптомов, например, чтобы предупредить или отсрочить их рецидив.

[0085] Предложенные соединения являются ингибиторами или активаторами взаимодействия сестрина и GATOR2 и, следовательно, пригодны для лечения одного или более расстройств, связанных с активностью mTORC1. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ лечения расстройства, опосредованного mTORC1, включающий стадию введения пациенту, нуждающемуся в этом, соединения согласно настоящему изобретению или содержащей его фармацевтической композиции.

[0086] При использовании в настоящем документе термины «опосредованные mTORC1» расстройства, заболевания и/или состояния означают любое заболевание или другое неблагоприятное состояние, о котором известно, что mTORC1 играет в нем роль. Соответственно, еще один вариант осуществления настоящего изобретения относится к лечению или снижению тяжести одного или более заболеваний, о которых известно, что mTORC1 играет в них роль.

[0087] Способы, описанные в настоящем документе, включают способы лечения рака у субъекта. В контексте настоящего документа «лечить» означает способствовать улучшению или уменьшать по меньшей мере один симптом или клинический параметр рака. Например, лечение может привести к снижению размера опухоли или скорости ее роста. Лечение не обязательно должно излечивать рак или вызывать ремиссию в 100% случаев у всех субъектов.

[0088] Как описано в настоящем документе, применение агентов, например, ингибирующих нуклеиновых кислот или малых молекул, активирующих взаимодействие сестрина и GATOR2 и тем самым снижающих активность mTORC1, сокращает пролиферацию раковых клеток и тем самым лечит рак у субъектов. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления способы, описанные в настоящем документе, включают введение терапевтически эффективной дозы одного или более агентов, активирующих взаимодействие сестрина и GATOR2 и тем самым опосредованно ингибирующих сигнальный путь mTORC1.

[0089] При использовании в настоящем документе термин «рак» относится к клеткам, способным к автономному росту, т. е., к патологическому состоянию или условию, отличающемуся ростом быстро пролиферирующих клеток. Подразумевается, что термин включает все типы раковых образований или онкогенных процессов, метастатические ткани или злокачественно трансформированные клетки, ткани или органы, вне зависимости от гистопатологического типа или стадии инвазии. При использовании в настоящем документе термин «опухоль» относится к раковым клеткам, например, массе раковых клеток.

[0090] Раковые заболевания, подлежащие лечению или диагностике с помощью способов, описанных в настоящем документе, включают злокачественные новообразования различных систем органов, такие, как поражающие легкое, молочную железу, щитовидную железу, лимфатическую систему, желудочно-кишечный и мочеполовой тракт, а также аденокарциномы, включающие такие злокачественные новообразования, как большинство видов рака толстой кишки, почечно-клеточная карцинома, рак предстательной железы и/или опухоли яичка, немелкоклеточная карцинома легкого, рак тонкой кишки и рак пищевода.

[0091] В некоторых вариантах осуществления способы, описанные в настоящем документе, применяют для лечения или диагностики карциномы у субъекта. Термин «карцинома» общепризнан в данной области техники и относится к злокачественным новообразованиям эпителиальной ткани или эндокринной системы, включая карциномы

органов дыхания, карциномы желудочно-кишечного тракта, карциномы мочеполовой системы, карциномы яичка, карциномы молочной железы, карциномы предстательной железы, карциномы эндокринной системы и меланомы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой карциному почки или меланому. Иллюстративные карциномы включают карциномы, образующиеся из ткани шейки матки, легкого, предстательной железы, молочной железы, головы и шеи, толстой кишки и яичника. Термин также включает карциносаркомы, например, включающие злокачественные опухоли, состоящие из клеток карциномы и саркомы. «Аденокарцинома» относится к карциноме, полученной из железистой ткани или в которой опухолевые клетки образуют распознаваемые железистые структуры.

[0092] Термин «саркома» общепризнан в данной области техники и относится к злокачественным опухолям мезенхимального происхождения.

[0093] В некоторых вариантах осуществления раковые заболевания, подлежащие лечению способами, описанными в настоящем документе, представляют собой раковые заболевания, сопровождающиеся повышенными уровнями mTORC1 или повышенной экспрессией или активностью mTORC1 по сравнению с нормальными тканями или другими раковыми заболеваниями тех же тканей; для определения этих раковых заболеваний могут применяться способы, известные в данной области техники и описанные в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления способы включают получение образца, содержащего раковые клетки, определение активности mTORC1 в образце и применение лечения, как описано в настоящем документе (например, модулятором взаимодействия сестрина и GATOR2). В некоторых вариантах осуществления раковое заболевание представляет собой одно из раковых заболеваний, которые, как показано в настоящем документе, сопровождаются повышенными уровнями активности mTORC1.

[0094] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ лечения одного или более расстройств, заболеваний и/или состояний, где расстройство, заболевание или состояние включает, но не ограничено перечисленным, клеточное пролиферативное расстройство.

Клеточные пролиферативные расстройства

[0095] В настоящем изобретении предложены способы и композиции для диагностики и прогнозирования клеточных пролиферативных расстройств (например, рака), и лечения этих расстройств путем модуляции взаимодействия сестрина и GATOR2, тем самым опосредованно селективно модулирующим активность mTORC1.

Описанные в настоящем документе клеточные пролиферативные расстройства включают, например, рак, ожирение и заболевания, связанные с пролиферацией. Такие расстройства могут быть диагностированы с помощью способов, известных в данной области техники.

Рак

[0096] Раковые заболевания включают, не ограничиваясь перечисленным, лейкозы (например, острый лейкоз, острый лимфоцитарный лейкоз, острый миелоцитарный лейкоз, острый миелобластный лейкоз, острый промиелоцитарный лейкоз, острый миеломоноцитарный лейкоз, острый моноцитарный лейкоз, острый эритролейкоз, хронический лейкоз, хронический миелоцитарный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз), истинную полицитемию, лимфому (например, болезнь Ходжкина или неходжкинскую лимфому), макроглобулинемию Вальденстрема, множественную миелому, болезнь тяжелых цепей и солидные опухоли, такие как саркомы и карциномы (например, фибросаркому, мисосаркому, липосаркому, хондросаркому, остеогенную саркому, хордому, ангиосаркому, эндотелиосаркому, лимфангиосаркому, лимфангиоэндотелиосаркому, синовиому, мезотелиому, опухоль Юинга, лейомиосаркому, рабдомиосаркому, карциному толстой кишки, рак поджелудочной железы, рак молочной железы, рак яичника, рак предстательной железы, плоскоклеточную карциному, базальноклеточную карциному, аденокарциному, карциному потовых желез, карциному сальной железы, папиллярную карциному, папиллярные аденокарциномы, цистаденокарциному, медуллярную карциному, бронхогенную карциному, почечно-клеточную карциному, гепатому, карциному желчного протока, хориокарциному, семиному, эмбриональную карциному, опухоль Вильмса, рак шейки матки, рак матки, рак яичка, карциному легкого, мелкоклеточную карциному легкого, карциному мочевого пузыря, эпителиальную карциному, глиому, астроцитому, медуллобластому, краниофарингеому, эпедимому, пинеалому, гемангиобластому, невриному слухового нерва, олигодендроглиому, шванному, менингиому, меланому, нейробластому и ретинобластому). В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой меланому или рак молочной железы.

Другие пролиферативные заболевания

[0097] Другие пролиферативные заболевания включают, например, ожирение, доброкачественную гиперплазию предстательной железы, псориаз, патологическую кератинизацию, лимфопролиферативные расстройства (например, расстройство, при котором происходит патологическая пролиферация клеток лимфатической системы),

хронический ревматоидный артрит, артериосклероз, рестеноз и диабетическую ретинопатию. Пролиферативные заболевания, включенные в настоящий документ посредством ссылки, включают описанные в патентах США № 5639600 и 7087648.

Другие расстройства

[0098] В некоторых вариантах осуществления способ активации mTORC1 применяют для лечения рибосомопатий (например, анемии Даймонда-Блекфена, 5q-синдрома, синдрома Швахмана-Даймонда, X-сцепленного дискератоза, хрящево-волосную гипоплазию и синдрома Тричера Коллинза). (см. Payne et al., (2012) Blood. Sep 13;120(11):2214-24; Efeyan et al., (2012) Trends Mol Med. Sep; 18(9): 524–533). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ лечения рибосомопатии у пациента, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному пациенту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ лечения рибосомопатии, выбранной из анемии Даймонда-Блекфена, 5q-синдрома, синдрома Швахмана-Даймонда, X-сцепленного дискератоза, хрящево-волосной гипоплазии или синдрома Тричера Коллинза, у пациента, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному пациенту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

[0099] В некоторых вариантах осуществления способ активации активности mTORC1 применяют для лечения когезинопатий (например, синдрома Робертса и синдрома Корнелии де Ланге). (см. Xu et al., (2016) BMC Genomics 17:25). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ лечения когезинопатии (например, синдрома Робертса и синдрома Корнелии де Ланге), у пациента, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному пациенту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

[00100] В некоторых вариантах осуществления способ активации mTORC1 применяют для обращения вспять атрофии мышц или предотвращения атрофии мышц в связи с отсутствием активности, обусловленным образом жизни, отсутствием активности, вызванным ортопедической операцией, иммобилизацией или возрастом субъекта, или заболеванием или состоянием, от которого страдал или страдает субъект. (См. Cuthbertson et al., (2005) FASEB J. Mar;19(3):422-4. Epub 2004 Dec 13; Rennie, (2009) Appl. Physiol. Nutr. Metab. 34: 377–381; Ham et al., (2014) Clin Nutr. Dec;33(6):937-45).

Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ обращения вспять или предотвращения атрофии мышц в связи с отсутствием активности, обусловленным образом жизни, отсутствием активности, вызванным ортопедической операцией, иммобилизацией или возрастом субъекта, или заболеванием или состоянием, от которого страдал или страдает субъект, у пациента, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному пациенту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

[00101] В некоторых вариантах осуществления способ активации mTORC1 применяют для обращения вспять атрофии мышц или предотвращения атрофии мышц в связи с переломом кости, сильным ожогом, повреждением позвоночника, ампутацией, дегенеративным заболеванием, состоянием, при котором для выздоровления субъекта необходим постельный режим, пребыванием в отделении интенсивной терапии или продолжительной госпитализацией. (См. Gordon et al., (2013) *Int J Biochem Cell Biol.* Oct;45(10):2147-57; Léger et al., (2009) *Muscle Nerve.* Jul;40(1):69-78). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ обращения вспять или предотвращения атрофии мышц в связи с переломом кости, сильным ожогом, повреждением позвоночника, ампутацией, дегенеративным заболеванием, состоянием, при котором для выздоровления субъекта необходим постельный режим, пребыванием в отделении интенсивной терапии или продолжительной госпитализацией, у пациента, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному пациенту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

[00102] В некоторых вариантах осуществления способ активации mTORC1 применяют для лечения заболевания, состояния или расстройства, приводящего к атрофии скелетных мышц, такого как саркопения, денервация мышц, мышечная дистрофия, воспалительная миопатия, спинальная мышечная атрофия (СМА), боковой амиотрофический склероз (БАС) или миастения гравис. (См. Kye et al., (2014) *Hum Mol Genet.* Dec 1; 23(23): 6318–6331; Gurpur et al., (2009) *Am J Pathol.* March; 174(3): 999–1008; Chauhan et al., (2013) *Neurosci Res.* Sep-Oct;77(1-2):102-9; Ching et al., (2013) *Hum Mol Genet.* Mar 15;22(6):1167-79). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ лечения заболевания, состояния или расстройства, приводящего к атрофии скелетных мышц, такого как саркопения, денервация мышц, мышечная дистрофия, воспалительная миопатия,

спинальная мышечная атрофия (СМА), боковой амиотрофический склероз (БАС) или миастения гравис, у пациента, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному пациенту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

[00103] В некоторых вариантах осуществления способ активации mTORC1 применяют для предотвращения атрофии мышечной ткани, поддержания или ускорения восстановления после атрофии мышечной ткани у субъекта, проходящего подготовку к, участвующего в или недавно вернувшегося из космического полета, соответственно. (См. Stein et al., (1999) *Am J Physiol.*;276:E1014–21). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ предотвращения атрофии мышечной ткани, поддержания или ускорения восстановления после мышечной ткани у субъекта, проходящего подготовку к, участвующего в или недавно вернувшегося из космического полета, соответственно, у субъекта, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному субъекту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

[00104] В некоторых вариантах осуществления способ активации mTORC1 применяют для поддержания или ускорения восстановления после повышенной мышечной нагрузки и/или утомления у субъекта, проходящего подготовку к, участвующего в или недавно вернувшегося из места вооруженного конфликта или военной подготовки. (См. Pasiakos et al., (2011) *Am J Clin Nutr.* Sep;94(3):809-18). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ поддержания или ускорения восстановления после повышенной мышечной нагрузки и/или утомления у субъекта, проходящего подготовку к, участвующего в или недавно вернувшегося из места вооруженного конфликта или военной подготовки, у субъекта, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному субъекту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

[00105] В некоторых вариантах осуществления способ активации mTORC1 применяют для предотвращения аутофагии у пациента. В некоторых вариантах осуществления указанный пациент имеет или страдает от устойчивого к лечению рака зависящим от индуцирования аутофагии образом. (См. Kim and Guan, (2015) *J Clin Invest.* Jan;125(1):25-32). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ предотвращения аутофагии у пациента, имеющего или страдающего от устойчивого к лечению рака зависящим от индуцирования аутофагии

образом, у пациента, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному пациенту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

[00106] В некоторых вариантах осуществления способ активации mTORC применяют для лечения или предотвращения депрессии. (См. Ignácio et al., (2015) Br J Clin Pharmacol. Nov 27). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ лечения или предотвращения депрессии у пациента, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному пациенту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

[00107] В некоторых вариантах осуществления способ активации mTORC1 применяют для резкого установления антидепрессорной активности. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ резкого установления антидепрессорной активности у пациента, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному пациенту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

[00108] В некоторых вариантах осуществления способ активации mTORC1 применяют для лечения или предотвращения синдрома смены часовых поясов посредством ускоренного циркадного поведенческого вовлечения в суточный ритм в ответ на сдвиг дневного/светового цикла. (См. Cao et al., (2013) Neuron. Aug 21; 79(4):712-24 10.1016). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ лечения или предотвращения синдрома смены часовых поясов посредством ускоренного циркадного поведенческого вовлечения в суточный ритм в ответ на сдвиг дневного/светового цикла у пациента, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному пациенту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

[00109] В некоторых вариантах осуществления способ активации mTORC1 применяют для предотвращения или обращения вспять атрофии сердечной мышцы у субъекта. В некоторых вариантах осуществления указанный субъект имеет или имел заболевание или состояние, выбранное из инфаркта миокарда, застойной сердечной недостаточности, пересадки сердца, восстановления сердечного клапана, атеросклероза, другого основного заболевания кровеносных сосудов и аортокоронарного шунтирования. (См. Song et al., (2010) Am J Physiol Cell Physiol. Dec; 299(6): C1256–

C1266). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ предотвращения или обращения вспять атрофии сердечной мышцы у субъекта, где указанный субъект имеет или имел заболевание или состояние, выбранное из инфаркта миокарда, застойной сердечной недостаточности, пересадки сердца, восстановления сердечного клапана, атеросклероза, другого основного заболевания кровеносных сосудов и аортокоронарного шунтирования, у субъекта, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному субъекту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

[00110] В некоторых вариантах осуществления способ активации mTORC1 применяют для увеличения силы и/или увеличения мышечной массы после физических упражнений. В некоторых вариантах осуществления способ проводят одновременно с физиотерапией, в качестве части полного парентерального питания или функциональной электростимуляции. (См. Nakamura et al., (2012) *Geriatr Gerontol Int.* Jan;12(1):131-9). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ увеличения силы и/или увеличения мышечной массы после физических упражнений. В некоторых вариантах осуществления способ проводят одновременно с физиотерапией, в качестве части полного парентерального питания или функциональной электростимуляции субъекта, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному субъекту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

[00111] В некоторых вариантах осуществления способ активации mTORC1 применяют для снижения потребления пищи. (См. Pedroso et al., (2015) *Nutrients.* May 22;7(5):3914-37). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ снижения потребления пищи у субъекта, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному субъекту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

[00112] В некоторых вариантах осуществления способ активации mTORC1 применяют для лечения ожирения. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ лечения ожирения у субъекта, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному субъекту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

[00113] В некоторых вариантах осуществления способ активации mTORC1 применяют для повышения производительности получения терапевтических рекомбинантных белков в биореакторах. (См. McVey et al., (2016) *Biotechnol Bioeng.* Feb 16. doi: 10.1002/bit.25951). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ повышения производительности получения терапевтических рекомбинантных белков в биореакторах, включающий стадию введения в указанное производство предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

[00114] В некоторых вариантах осуществления способ активации mTORC1 в иммунных клетках применяют для стимуляции и/или поддержания их противоопухолевой активности. Указанный способ включает повышение уровней mTORC1 в иммунных клетках *in vitro* до адоптивного переноса, а также повышение уровней mTORC1 в иммунных клетках при применении совместно с другими стратегиями таргетной иммунотерапии *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления иммунные клетки включают наивные Т-клетки, CD4⁺ или CD8⁺ Т-клетки, Th1-, Th2-, T_{Reg}- и Th17-клетки, дендритные клетки, NK-клетки и макрофаги. (См. Yang et al., (2011) *Nat Immunol.*;12:888–897; O'Brien et al. (2011) *Eur J Immunol.*;41:3361–3370; Delgoffe et al., (2009) *Immunity.* Jun 19;30(6):832-44; Chi, (2012) *Nat Rev Immunol.* Apr 20; 12(5): 325–338; Pollizzi et al., (2015) *J Clin Invest.*;125(5):2090-2108; Ali et al., (2015) *Front Immunol.*; 6: 355; Katholnig et al., (2013) *Biochem Soc Trans.* Aug;41(4):927-33; Wang et al., (2013) *Proc Natl Acad Sci U S A.* Dec 10;110(50):E4894-903; Yang and Chi, (2013) *J Clin Invest.* Dec;123(12):5165-78). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ активации mTORC1 в иммунных клетках применяют для стимуляции и/или поддержания их противоопухолевой активности. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ повышения уровней mTORC1 в иммунных клетках *in vitro* до адоптивного переноса. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ повышения уровней mTORC1 в иммунных клетках при применении совместно с другими стратегиями таргетной иммунотерапии *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления иммунные клетки включают наивные Т-клетки, CD4⁺ или CD8⁺ Т-клетки, Th1-, Th2-, T_{Reg}- и Th17-клетки, дендритные клетки, NK-клетки и макрофаги, включающий стадию добавления к указанным иммунным клеткам предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

[00115] В некоторых вариантах осуществления способ активации mTORC1 в сетчатке глаза применяют для лечения пигментного ретинита и других форм нейродегенеративных заболеваний глаз. (См. Punzo et al., (2009) *Nat Neurosci.* Jan;12(1):44-52). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ лечения пигментного ретинита и других форм нейродегенеративных заболеваний глаз у субъекта, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному субъекту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

[00116] В некоторых вариантах осуществления способ активации mTORC1 применяют для усиления регенерации центральных или периферических аксонов. (См. Namiko et al., (2010) *J Biol Chem.* 285:28034–28043). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ усиления регенерации центральных или периферических аксонов у субъекта, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному субъекту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

[00117] В некоторых вариантах осуществления способ активации mTORC1 применяют для стимуляции ремиелинизации и активности нейронов после травмы или заболеваний, характеризующихся демиелинизацией, таких как рассеянный склероз и болезнь Паркинсона. (См. Tyler et al., (2009) *J Neurosci.* May 13;29(19):6367-78; Norrmén et al., (2014) *Cell Rep.* Oct 23;9(2):646-60; Love (2006). *J Clin Pathol.* Nov; 59(11): 1151–1159). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ стимуляции ремиелинизации и активности нейронов после травмы или заболеваний, характеризующихся демиелинизацией у субъекта, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному субъекту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ лечения рассеянного склероза у субъекта, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному субъекту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ лечения болезни Паркинсона у субъекта, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному субъекту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

[00118] В некоторых вариантах осуществления способ активации mTORC1 применяют для лечения рассеянного склероза. Соответственно, в некоторых вариантах

осуществления настоящего изобретения предложен способ лечения рассеянного склероза или его варианта у субъекта, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному субъекту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ лечения концентрического склероза Бало, болезни Шильдера, острого рассеянного склероза (вариант Марбурга), воспалительной демиелинизирующей полирадикулонейропатии или опухолеподобного рассеянного склероза у субъекта, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному субъекту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

[00119] В некоторых вариантах осуществления способ активации mTORC1 применяют для лечения болезни Девика, острого рассеянного энцефаломиелита, острого геморрагического лейкоэнцефалита, прогрессивной мультифокальной лейкоэнцефалопатии и болезни Ниманна-Пика. (См. Takikita et al., (2004) *J Neuropathol Exp Neurol.* Jun;63(6):660-73). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ лечения болезни Девика, острого рассеянного энцефаломиелита, острого геморрагического лейкоэнцефалита, прогрессивной мультифокальной лейкоэнцефалопатии и болезни Ниманна-Пика у субъекта, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному субъекту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

[00120] В некоторых вариантах осуществления способ активации mTORC1 применяют для лечения или предотвращения форм аутизма. (См. Novarino et al., (2012) *Science* 19 Oct, 338:6105, pp. 394-397). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ лечения или предотвращения формы аутизма у субъекта, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному субъекту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

[00121] В некоторых вариантах осуществления способ активации mTORC1 применяют для лечения нейродегенеративных заболеваний. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ лечения нейродегенеративного заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному субъекту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

[00122] В некоторых вариантах осуществления способ активации mTORC1 применяют для лечения заболеваний, связанных с дисфункцией синапсов. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ лечения заболевания, связанного с дисфункцией синапсов, у субъекта, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному субъекту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

[00123] В некоторых вариантах осуществления способ активации mTORC1 в центральной нервной системе применяют для усиления дендритного роста и синаптогенеза при нейродегенеративных заболеваниях, характеризующихся сокращением дендритных шипиков и потерей синапсов, таких как болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз, инсульт и глаукома. (См. Di Polo et al., (2015) *Neural Regen Res. Apr*; 10(4): 559–561). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ усиления дендритного роста и синаптогенеза при нейродегенеративном заболевании, характеризующемся сокращением дендритных шипиков и потерей синапсов, у субъекта, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному субъекту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ лечения болезни Альцгеймера, бокового амиотрофического склероза, инсульта или глаукомы у субъекта, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному субъекту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

[00124] В некоторых вариантах осуществления способ активации mTORC1 применяют для лечения таких заболеваний, как болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз, шизофрения, синдром Ретта, синдром ломкой X-хромосомы, болезнь Паркинсона, болезнь Гентингтона, инсульт и глаукома. (См. Lin et al., *PLoS ONE* 8(4): e62572, 2013; Lee et al., (2015) *Neuron. Jan* 21; 85(2): 303–315; Bowling et al., (2014) *Sci Signal. Jan* 14; 7(308): ra4). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ лечения такого заболевания, как болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз, шизофрения, синдром Ретта, синдром ломкой X-хромосомы, болезнь Паркинсона, болезнь Гентингтона, инсульт и глаукома, у субъекта, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному субъекту предложенного соединения или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции.

композиции.

[00125] Фармацевтически приемлемые композиции согласно настоящему изобретению могут быть введены людям и другим животным перорально, ректально, парентерально, интрацестернально, интравагинально, внутривентриально, местно (например, в качестве порошков, мазей или капель), буккально, в виде перорального или назального спрея или тому подобного, в зависимости от тяжести инфекции, подлежащей лечению. В некоторых вариантах осуществления соединения согласно настоящему изобретению могут быть введены перорально или парентерально в дозировках, составляющих от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 50 мг/кг, и предпочтительно от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 25 мг/кг массы тела субъекта в сутки, один или более раз в сутки, для достижения необходимого терапевтического действия.

[00126] Жидкие лекарственные формы для перорального введения включают, но не ограничены перечисленным, фармацевтически приемлемые эмульсии, микроэмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. Помимо активных соединений жидкие лекарственные формы могут содержать инертные разбавители, общепринятые в данной области техники, такие как, например, вода или другие растворители, солюбилизаторы и эмульгаторы, такие как этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутандиол, диметилформамид, масла (в частности, хлопковое, земляного ореха, кукурузное, зародышевое, оливковое, касторовое и кунжутное масла), глицерин, тетрагидрофуран, полиэтиленгликоли и сложные эфиры сорбитана и жирных кислот, и их смеси. Помимо инертных разбавителей пероральные композиции могут также включать адъюванты, такие как смачивающие агенты, эмульгаторы и суспендирующие агенты, подсластители, вкусовые добавки и ароматизаторы.

[00127] Инъекционные препараты, например, стерильные водные или масляные суспензии, могут быть приготовлены в соответствии со сведениями, известными из уровня техники, с помощью подходящих диспергирующих или смачивающих агентов и суспендирующих агентов. Стерильный инъекционный препарат может также представлять собой стерильный инъекционный раствор, суспензию или эмульсию в нетоксичном парентерально приемлемом разбавителе или растворителе, например, раствор в 1,3-бутандиоле. К подходящим для применения наполнителям и растворителям относятся вода, раствор Рингера согласно стандарту Фармакопеи США и изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, в качестве общепринятого

растворителя или суспендирующей среды используют стерильные, нелетучие масла. С этой целью может быть использовано любое мягкое нелетучее масло, включая синтетические моно- или диглицериды. Кроме того, для получения инъекционных препаратов форм применяют жирные кислоты, такие как олеиновая кислота.

[00128] Инъекционные препараты могут быть стерилизованы, например, путем фильтрации через фильтр, удерживающий бактерии, или путем добавления стерилизующих веществ в форме стерильных твердых композиций, которые перед применением могут быть растворены или диспергированы в стерильной воде или другой стерильной инъекционной среде.

[00129] Для продления действия соединения согласно настоящему изобретению часто желательно замедлять абсорбцию соединения при подкожном или внутримышечном введении. Этого можно достичь путем применения жидкой суспензии кристаллического или аморфного вещества с плохой растворимостью в воде. В этом случае скорость абсорбции соединения зависит от скорости растворения, которая, в свою очередь, может зависеть от размера кристаллов и кристаллической формы. В качестве альтернативы, отсроченной абсорбции формы соединения, вводимого парентерально, достигают путем растворения или суспендирования соединения в масляном наполнителе. Инъекционные депо-препараты получают путем образования матриц соединения, микроинкапсулированного в биodeградируемые полимеры, такие как полилактид-полигликоolid. В зависимости от соотношения между соединением и полимером и природы конкретного используемого полимера можно контролировать скорость высвобождения соединения. Примеры других биodeградируемых полимеров включают поли(ортоэфир) и поли(ангидриды). Инъекционные депо-препараты также получают путем заключения соединений в липосомы или микроэмульсии, совместимые с тканями организма.

[00130] Композиции для ректального или вагинального введения предпочтительно представляют собой суппозитории, которые могут быть получены путем смешивания соединений согласно настоящему изобретению с подходящими не вызывающими раздражения эксципиентами или носителями, такими как масло какао, полиэтиленгликоль или воск для суппозиториев, которые являются твердыми при температуре окружающей среды, но жидкими при температуре тела и, следовательно, тают в прямой кишке или полости влагалища и высвобождают активное соединение.

[00131] Твердые лекарственные формы для перорального введения включают капсулы, таблетки, пилюли, порошки и гранулы. В таких твердых лекарственных

формах активное соединение смешано с по меньшей мере одним инертным фармацевтически приемлемым эксципиентом или носителем, таким как цитрат натрия или дикальцийфосфат и/или а) наполнителями или сухими разбавителями, такими как крахмалы, лактоза, сахароза, глюкоза, маннит и кремниевая кислота, б) связующими веществами, такими как, например, карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидон, сахароза и камедь, с) увлажнителями, такими как глицерин, d) веществами для улучшения распадаемости, такими как агар-агар, карбонат кальция, картофельный или тапиоковый крахмал, альгиновая кислота, некоторые силикаты и карбонат натрия, е) замедлителями растворения, такими как парафин, f) ускорителями абсорбции, такими как соединения четвертичного аммония, g) смачивающими агентами, такими как, например, цетиловый спирт и глицеринмоностеарат, h) абсорбирующими веществами, такими как каолин и бентонитовая глина, и i) скользящими веществами, такими как тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли, лаурилсульфат натрия и их смеси. В случае капсул, таблеток и пиллюль лекарственная форма может также содержать буферные агенты.

[00132] Твердые композиции схожего типа могут также применяться в качестве наполнителей в мягких и твердых желатиновых капсулах с использованием эксципиентов, таких как лактоза или молочный сахар, а также полиэтиленгликоли с высокой молекулярной массой, и тому подобное. Твердые лекарственные формы таблеток, драже, капсул, пиллюль и гранул могут быть покрыты покрытиями и оболочками, такими как кишечнорастворимые покрытия и другие покрытия, хорошо известные в области приготовления фармацевтических композиций. Они могут необязательно содержать средства, придающие непрозрачность, и также могут иметь состав, позволяющий высвободить только или преимущественно активный(ые) ингредиент(ы), в определенной части кишечника, необязательно с отсрочкой высвобождения. Примеры подходящих для применения композиций для заключения активных веществ, которые могут применяться, включают полимерные вещества и воски. Твердые композиции схожего типа могут также применяться в качестве наполнителей в мягких и твердых желатиновых капсулах с использованием эксципиентов, таких как лактоза или молочный сахар, а также полиэтиленгликоли с высокой молекулярной массой, и тому подобное.

[00133] Активные соединения могут также быть в микроинкапсулированной форме с одним или более эксципиентами, как упомянуто выше. Твердые лекарственные формы таблеток, драже, капсул, пиллюль и гранул могут быть покрыты покрытиями и

оболочками, такими как кишечнорастворимые покрытия и другие покрытия, хорошо известные в области приготовления фармацевтических композиций. В таких твердых лекарственных формах активное соединение может быть смешано с по меньшей мере одним инертным разбавителем, таким как сахароза, лактоза или крахмал. Такие лекарственные формы могут также содержать, согласно обычной практике, дополнительные вещества, отличные от инертных разбавителей, например, скользящие вещества для изготовления таблеток и другие вспомогательные вещества для изготовления таблеток, такие как стеарат магния и микрокристаллическая целлюлоза. В случае капсул, таблеток и пиллюль лекарственные формы могут также содержать буферные агенты. Они могут необязательно содержать средства, придающие непрозрачность, и также могут иметь состав, позволяющий высвобождать только или преимущественно активный(ые) ингредиент(ы), в определенной части кишечника, необязательно с отсрочкой высвобождения. Примеры подходящих для применения композиций для заключения активных веществ, которые могут применяться, включают полимерные вещества и воски.

[00134] Лекарственные формы для местного или трансдермального введения соединения согласно настоящему изобретению включают мази, пасты, кремы, лосьоны, гели, порошки, растворы, спреи, лекарственные формы для ингаляции или пластыри. Активный компонент смешивают в стерильных условиях с фармацевтически приемлемым носителем и любыми необходимыми консервантами или буферными веществами, которые могут потребоваться. Также подразумевается, что в объем изобретения включены офтальмологический препарат, ушные капли и глазные капли. Кроме того, настоящим изобретением предусмотрены пластыри для трансдермального введения, обладающие дополнительным преимуществом обеспечения контролируемой доставки соединения в организм. Такие лекарственные формы могут быть получены путем растворения или диспергирования соединения в подходящей среде. Для повышения поступления соединения через кожу могут также применяться усилители абсорбции. Скорость можно контролировать путем обеспечения мембраны, контролирующей скорость, либо путем диспергирования соединения в полимерной матрице или геле.

[00135] Согласно одному из вариантов осуществления изобретение относится к способу модуляции взаимодействия сестрина и GATOR2, тем самым опосредованно селективно модулирующему активность mTORC1 в биологическом образце, включающему стадию приведения указанного биологического образца в контакт с

соединением согласно настоящему изобретению или композицией, содержащей указанное соединение.

[00136] При использовании в настоящем документе термин «биологический образец» включает, но не ограничен перечисленным, клеточные культуры или их экстракты; биопсийный материал, взятый у млекопитающего, или его экстракты; и кровь, слюну, мочу, кал, сперму, слезы или другие биологические жидкости или их экстракты.

[00137] Еще один вариант осуществления настоящего изобретения относится к способу модуляции взаимодействия сестрина и GATOR2, тем самым опосредованно селективно модулирующему активность mTORC1 у пациента, включающий стадию введения указанному пациенту соединения согласно настоящему изобретению или композиции, содержащей указанное соединение.

[00138] Согласно еще одному варианту осуществления изобретение относится к способу модуляции взаимодействия сестрина и GATOR2, тем самым опосредованно селективно модулирующему активность mTORC1 у пациента, включающий стадию введения указанному пациенту соединения согласно настоящему изобретению или композиции, содержащей указанное соединение. В других вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ лечения расстройства, опосредованного mTORC1, у пациента, нуждающегося в этом, включающий стадию введения указанному пациенту соединения согласно настоящему изобретению или содержащей его фармацевтически приемлемой композиции. Такие расстройства подробно описаны в настоящем документе.

[00139] В зависимости от конкретного состояния или заболевания, подлежащего лечению, в композициях согласно настоящему изобретению могут также присутствовать дополнительные терапевтические агенты, обычно вводимые для лечения этого состояния. При использовании в настоящем документе дополнительные терапевтические агенты, обычно вводимые для лечения конкретного заболевания или состояния, именуются «подходящими для заболевания или состояния, подлежащего лечению».

[00140] Соединения согласно настоящему изобретению может также применяться для обеспечения преимуществ в комбинации с другими антипролиферативными соединениями. Такие антипролиферативные соединения включают, но не ограничены перечисленным, ингибиторы ароматазы; антиэстрогены; ингибиторы топоизомеразы I; ингибиторы топоизомеразы II; соединения, активные в отношении микротрубочек; алкилирующие соединения; ингибиторы гистондеацетилазы; соединения,

индуцирующие процесс дифференцировки клеток; ингибиторы циклооксигеназы; ингибиторы MMP (металлопротеиназ); ингибиторы mTOR; противоопухолевые антиметаболиты; соединения платины; соединения, направленные на/снижающие активность протеинкиназы или липидкиназы, а также антиангиогенные соединения; соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность протеинфосфатазы или липидфосфатазы; агонисты гонадорелина; антиандрогены; ингибиторы метионинаминопептидазы; ингибиторы матриксных металлопротеиназ; бифосфонаты; модификаторы биологических реакций; антипролиферативные антитела; ингибиторы гепараназы; ингибиторы онкогенных изоформ Ras; ингибиторы теломеразы; ингибиторы протеасомы; соединения, применяемые для лечения опухолей системы крови; соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность Flt-3; ингибиторы Hsp90, такие как 17-AAG (17-аллиламиногелданамицин, NSC330507), 17-DMAG (17-диметиламиноэтиламино-17-деметоксигелданамицин, NSC707545), IPI-504, CNF1010, CNF2024, CNF1010 от Conforma Therapeutics; темозоломид (Temodal®); ингибиторы белка веретена деления кинезина, такие как SB715992 или SB743921 от GlaxoSmithKline, или пентамидин/хлорпромазин от CombinatoRx; ингибиторы MEK, такие как ARRY142886 от Array BioPharma, AZD6244 от AstraZeneca, PD181461 от Pfizer и лейковорин. При использовании в настоящем документе термин "ингибитор ароматазы" относится к соединению, ингибирующему продуцирование эстрогенов, например, превращение субстратов андростендиона и тестостерона в эстрон и эстрадиол, соответственно. Термин включает, но не ограничен перечисленным, стероиды, особенно атаместан, экземестан и форместан и, в частности, нестероиды, особенно аминоклутетимид, роглетимид, пиридоглютетимид, трилостан, тестолактон, кетоконазол, ворозол, фадрозол, анастрозол и летрозол. Экземестан представлен на рынке под торговым названием Aromasin™. Форместан представлен на рынке под торговым названием Lentaron™. Фадрозол представлен на рынке под торговым названием Afema™. Анастрозол представлен на рынке под торговым названием Arimidex™. Летрозол представлен на рынке под торговыми названиями Femara™ или Femar™. Аминоклутетимид представлен на рынке под торговым названием Orimeten™. Комбинация согласно изобретению, включающая химиотерапевтическое средство, представляющее собой ингибитор ароматазы, особенно подходит для лечения гормон-рецептор-положительных опухолей, таких как опухоли молочной железы.

[00141] При использовании в настоящем документе термин «антиэстроген» относится к соединению, противодействующему действию эстрогенов на уровне эстрогенового рецептора. Термин включает, но не ограничен перечисленным, тамоксифен, фулвестрант, ралоксифен и ралоксифена гидрохлорид. Тамоксифен представлен на рынке под торговым названием Nolvadex™. Ралоксифена гидрохлорид представлен на рынке под торговым названием Evista™. Фулвестрант может быть введен под торговым названием Faslodex™. Комбинация согласно изобретению, включающая химиотерапевтическое средство, представляющее собой антиэстроген, особенно подходит для лечения эстроген-рецептор-положительных опухолей, таких как опухоли молочной железы.

[00142] При использовании в настоящем документе термин «антиандроген» относится к любому веществу, способному ингибировать биологические действия андрогенных гормонов и включает, но не ограничен перечисленным, бикалутамид (Casodex™). При использовании в настоящем документе термин «агонист гонадорелина» включает, но не ограничен перечисленным, абареликс, гозерелини гозерелина ацетат. Гозерелин может быть введен под торговым названием Zoladex™.

[00143] При использовании в настоящем документе термин «ингибитор топоизомеразы I» включает, но не ограничен перечисленным, топотекан, гиматекан, иринотекан, камптотецин и его аналоги, 9-нитрокамптотецин и высокомолекулярный конъюгат камптотецина PNU-166148. Иринотекан может быть введен, например, в той форме, в которой он представлен на рынке, например, под товарным знаком Camptosar™. Топотекан представлен на рынке под торговым названием Нусамптин™.

[00144] При использовании в настоящем документе термин «ингибитор топоизомеразы II» включает, но не ограничен перечисленным, антрациклины, такие как доксорубицин (включая липосомальный препарат, такой как Caelyx™), даунорубицин, эпирубицин, идарубицин и неморубицин, антрахиноны митоксантрон и лозоксантон, и подофиллотоксины этопозид и тенипозид. Этопозид представлен на рынке под торговым названием Etopophos™. Тенипозид представлен на рынке под торговым названием VM 26-Bristol. Доксорубицин представлен на рынке под торговым названием Acriblastin™ или Adriamycin™. Эпирубицин представлен на рынке под торговым названием Farmorubicin™. Идарубицин представлен на рынке под торговым названием Zavedos™. Митоксантрон представлен на рынке под торговым названием Novantron.

[00145] При использовании в настоящем документе термин «соединение, активное в отношении микротрубочек» относится к соединениям, стабилизирующим

микротрубочки, дестабилизирующим микротрубочки, и ингибиторам полимеризации микротубулина, включающим, но не ограниченным перечисленным, таксаны, такие как паклитаксел и доцетаксел; алкалоиды барвинка, такие как винбластин или винбластина сульфат, винкрестин или винкрестина сульфат, и винорелбин; дискодермолиды; колхицин и эпотилоны и их производные. Паклитаксел представлен на рынке под торговым названием Taxol™. Доцетаксел представлен на рынке под торговым названием Taxotere™. Винбластина сульфат представлен на рынке под торговым названием Vinblastin R.P™. Винкрестина сульфат представлен на рынке под торговым названием Farmistin™.

[00146] При использовании в настоящем документе термин «алкилирующий агент» включает, но не ограничен перечисленным, циклофосфамид, ифосфамид, мелфалан или нитрозомочевину (BCNU или Gliadel). Циклофосфамид представлен на рынке под торговым названием Cyclostin™. Ифосфамид представлен на рынке под торговым названием Holoxan™.

[00147] Термин «ингибиторы гистондеацетилазы» или «ингибиторы HDAC» относится к соединениям, ингибирующим гистондеацетилазу и обладающие антипролиферативной активностью. Это включает, но не ограничено перечисленным, субероиланилидгидроксамовую кислоту (SAHA).

[00148] Термин «противоопухолевый антиметаболит» включает, но не ограничен перечисленным, 5-фторурацил или 5-FU, капецитабин, гемцитабин, соединения, демитилирующие ДНК, такие как 5-азациитидин и децитабин, метотрексат и эдатрексат, и антагонисты фолиевой кислоты, такие как пеметрексед. Капецитабин представлен на рынке под торговым названием Xeloda™. Гемцитабин представлен на рынке под торговым названием Gemzar™.

[00149] При использовании в настоящем документе термин «соединение платины» включает, но не ограничен перечисленным, карбоплатин, цисплатин и оксалиплатин. Карбоплатин может быть введен, например, в той форме, в которой он представлен на рынке, например, под товарным знаком Carboplat™. Оксалиплатин может быть введен, например, в той форме, в которой он представлен на рынке, например, под товарным знаком Eloxatin™.

[00150] При использовании в настоящем документе термин «соединения, направленные на/снижающие активность протеинкиназы или липидкиназы; или активность протеинфосфатазы или липидфосфатазы; или дополнительные антиангиогенные соединения» включает, но не ограничен перечисленным, ингибиторы

протеинтирозинкиназы и/или серин- и/или треонинкиназы, или ингибиторы липидкиназы, такие как а) соединения, направленные, снижающие или ингибирующие активность рецепторов тромбоцитарного фактора роста (PDGFR), такие как соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность PDGFR, особенно соединения, ингибирующие рецептор PDGF, такие как производное N-фенил-2-пиримидинамина, такое как иматиниб, SU101, SU6668 и GFB-111; б) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность рецепторов фактора роста фибробластов (FGFR); в) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность инсулиноподобного фактора роста I (IGF-IR), такие как соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность IGF-IR, особенно соединения, ингибирующие киназную активность рецептора IGF-I, или антитела, направленные на внеклеточный домен рецептора IGF-I или его факторы роста; г) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность рецепторных тирозинкиназ семейства Trk, или ингибиторы эфрина-B4; д) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность рецепторных тирозинкиназ семейства Axl; е) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность рецепторной тирозинкиназы Ret; ж) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность рецепторной тирозинкиназы Kit/SCFR, такие как иматиниб; з) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность рецепторных тирозинкиназ C-kit, являющихся частью семейства PDGFR, такие как соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность рецепторных тирозинкиназ семейства c-Kit, особенно соединения, ингибирующие рецептор c-Kit, такие как иматиниб; и) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность членов семейства c-Abl, продуктов их слитых генов (например, киназу BCR-Abl) и их мутантов, такие как соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность членов семейства c-Abl и продуктов их слитых генов, такие как производное N-фенил-2-пиримидинамина, такое как иматиниб или нилотиниб (AMN107); PD180970; AG957; NSC 680410; PD173955 от ParkeDavis; или дазатиниб (BMS-354825); л) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность членов семейства протеинкиназ C (PKC) и Raf серин-/треонинкиназ, члены семейства MEK, SRC, JAK/pan-JAK, FAK, PDK1, PKB/Akt, Ras/MAPK, PI3K, SYK, TYK2, BTK и TEC, и/или члены семейства циклинзависимых киназ (CDK), включающие производные старуспорина, такие как мидостаурин; примеры дополнительных соединений включают UCN-01, сафингол, BAY 43-9006, бриостатин 1, перифозин;

илмофозин; RO 318220 и RO 320432; GO 6976; Isis 3521; LY333531/LY379196; соединения изохинолинона; FTIs; PD184352 или QAN697 (ингибитор P13K) или AT7519 (ингибитор CDK); k) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность ингибиторов протеинтирозинкиназ, такие как соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность ингибиторов протеинтирозинкиназ, включающие иматиниба мезилат (Gleevec™) или тирфостин такой как тирфостин A23/RG-50810; AG 99; тирфостин AG 213; тирфостин AG 1748; тирфостин AG 490; тирфостин B44; (+) энантиомер тирфостина B44; тирфостин AG 555; AG 494; тирфостин AG 556, AG957 и адафостин (адамантиловый эфир 4-[(2,5-дигидроксифенил)метил]амино}-бензойной кислоты; NSC 680410, адафостин); l) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность рецепторных тирозинкиназ семейства эпидермального фактора роста (EGFR₁ ErbB2, ErbB3, ErbB4 в виде моно- или гетеродимеров) и их мутантов, такие как соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность семейства рецептора эпидермального фактора роста, особенно представляющие собой соединения, белки или антитела, ингибирующие членов семейства рецепторных тирозинкиназ EGF, таких как рецептор EGF, ErbB2, ErbB3 и ErbB4, или связывающиеся с лигандами, относящимися к EGF EGF, CP 358774, ZD 1839, ZM 105180; трастузумаб (Herceptin™), цетуксимаб (Erbix™), Iressa, Tarceva, OSI-774, CI-1033, EKB-569, GW-2016, E1.1, E2.4, E2.5, E6.2, E6.4, E2.11, E6.3 или E7.6.3, и производные 7H-пирроло-[2,3-d]пиримидина; m) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность рецептора c-Met, такие как соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность c-Met, особенно соединения, ингибирующие киназную активность рецептора c-Met, или антитела, направленные на внеклеточный домен c-Met или связывающиеся с HGF, n) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие киназную активность одного или более членов семейства JAK (JAK1/JAK2/JAK3/ТYK2 и/или пан-JAK), включая, но не ограничиваясь перечисленным, PRT-062070, SB-1578, барицитиниб, пакритиниб, момелотиниб, VX-509, AZD-1480, TG-101348, тофацитиниб и руксолитиниб; o) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие киназную активность киназы PI3 (PI3K), включая, но не ограничиваясь перечисленным, ATU-027, SF-1126, DS-7423, PBI-05204, GSK-2126458, ZSTK-474, бупарлисиб, пиктрелисиб, PF-4691502, BYL-719, дактолисиб, XL-147, XL-765 и идедалисиб; и q) соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие передачу сигналов по сигнальным путям белка хеджеhog (Hh) или рецептора smoothened (SMO), включая, но

не ограничиваясь перечисленным циклопамин, висмодегиб, итраконазол, эрисмодегиб и IPI-926, (саридегиб).

[00151] При использовании в настоящем документе термин «ингибитор PI3K» включает, но не ограничен перечисленным, соединения, обладающие ингибирующей активностью в отношении одного или более ферментов семейства фосфатидилинозитол-3-киназы, включая, но не ограничиваясь перечисленным, PI3K α , PI3K γ , PI3K δ , PI3K β , PI3K-C2 α , PI3K-C2 β , PI3K-C2 γ , Vps34, p110- α , p110- β , p110- γ , p110- δ , p85- α , p85- β , p55- γ , p150, p101 и p87. Примеры ингибиторов PI3K, полезных для настоящего изобретения, включают, но не ограничены перечисленным, ATU-027, SF-1126, DS-7423, PBI-05204, GSK-2126458, ZSTK-474, бупарлисиб, пиктрелисиб, PF-4691502, BYL-719, дактолисиб, XL-147, XL-765 и иделалисиб.

[00152] При использовании в настоящем документе термин «ингибитор Bcl-2» включает, но не ограничен перечисленным, соединения, обладающие ингибирующей активностью в отношении белка В-клеточной лимфомы 2 (Bcl-2), включая, но не ограничиваясь перечисленным, ABT-199, ABT-731, ABT-737, апогоссипол, ингибиторы pan-Bcl-2 от Ascenta, куркумин (и его аналоги), двойные ингибиторы Bcl-2/Bcl-xL (Infinity Pharmaceuticals/Novartis Pharmaceuticals), Genasense (G3139), HA14-1 (и его аналоги; см. WO2008118802), навитоклакс (и его аналоги, см. US7390799), NH-1 (Шеньянский фармацевтический университет), обатоклакс (и его аналоги, см. WO2004106328), S-001 (Gloria Pharmaceuticals), соединения серии TW (Мичиганский университет) и венетоклакс. В некоторых вариантах осуществления ингибитор Bcl-2 представляет собой терапевтическое средство с малым размером молекулы. В некоторых вариантах осуществления ингибитор Bcl-2 представляет собой пептидомиметик.

[00153] При использовании в настоящем документе термин «ингибитор BTK» включает, но не ограничен перечисленным, соединения, обладающие ингибирующей активностью в отношении тирозинкиназы Брутона (BTK), включая, но не ограничиваясь перечисленным, AVL-292 и ибрутиниб.

[00154] При использовании в настоящем документе термин «ингибитор SYK» включает, но не ограничен перечисленным, соединения, обладающие ингибирующей активностью в отношении тирозинкиназы селезенки (SYK), включая, но не ограничиваясь перечисленным, PRT-062070, R-343, R-333, Excellair, PRT-062607 и фостаматиниб.

[00155] Дополнительные примеры соединений, ингибирующих ВТК, и состояний, подлежащих лечению такими соединениями в комбинации с соединениями согласно настоящему изобретению, приведены в международных патентных заявках WO2008039218 и WO2011090760, полное содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

[00156] Дополнительные примеры соединений, ингибирующих SYK, и состояний, подлежащих лечению такими соединениями в комбинации с соединениями согласно настоящему изобретению, приведены в международных патентных заявках WO2003063794, WO2005007623, и WO2006078846, полное содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

[00157] Дополнительные примеры соединений, ингибирующих PI3K и состояний, подлежащих лечению такими соединениями в комбинации с соединениями согласно настоящему изобретению, приведены в источниках WO2004019973, WO2004089925, WO2007016176, US8138347, WO2002088112, WO2007084786, WO2007129161, WO2006122806, WO2005113554 и WO2007044729, полное содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

[00158] Дополнительные примеры соединений, ингибирующих JAK, и состояний, подлежащих лечению такими соединениями в комбинации с соединениями согласно настоящему изобретению, приведены в международных патентных заявках WO2009114512, WO2008109943, WO2007053452, WO2000142246 и WO2007070514, полное содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

[00159] Дополнительные антиангиогенные соединения включают соединения, имеющие другой механизм проявления активности, например, не связанный с ингибированием протеинкиназ или липидкиназ, например, талидомид (Thalomid™) и TNP-470.

[00160] Примеры ингибиторов протеасомы, полезных для применения в комбинации с соединениями согласно изобретению, включают, но не ограничены перечисленным, бортезомиб, дисульфирам, эпигаллокатехин-3-галлат (EGCG), салиноспирамид А, карфилзомиб, ONX-0912, CEP-18770, и MLN9708.

[00161] Соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность протеинфосфатазы или липидфосфатазы, представляют собой, например, ингибиторы фосфатазы 1, фосфатазы 2A или CDC25, такие как оадаиковая кислота или ее производное.

[00162] Соединения, индуцирующие процесс дифференцировки клеток, включают, но не ограничены перечисленным, ретиноевую кислоту, α - γ - или δ - токоферол или α - γ - или δ -токотриенол.

[00163] При использовании в настоящем документе, термин «ингибитор циклооксигеназы» включает, но не ограничен перечисленным, ингибиторы Cox-2, 5-алкилзамещенную 2-ариламинофенилуксусную кислоту и ее производные, такие как целекоксиб (Celebrex™), рофекоксиб (Vioxx™), эторикоксиб, вальдекоксиб или 5-алкил-2-ариламинофенилуксусную кислоту, такую как 5-метил-2-(2'-хлор-6'-фторанилино)фенилуксусная кислота, лумиракоксиб.

[00164] При использовании в настоящем документе, термин «бифосфонаты» включает, но не ограничен перечисленным, этридоновую, клодроновую, тилудроновую, памидроновую, алендроновую, ибандроновую, ризедроновую и золедроновую кислоту. Этридоновая кислота представлена на рынке под торговым названием Didronel™. Клодроновая кислота представлена на рынке под торговым названием Bonefos™. Тилудроновая кислота представлена на рынке под торговым названием Skelid™. Памидроновая кислота представлена на рынке под торговым названием Aredia™. Алендроновая кислота представлена на рынке под торговым названием Fosamax™. Ибандроновая кислота представлена на рынке под торговым названием Bondranat™. Ризедроновая кислота представлена на рынке под торговым названием Actonel™. Золедроновая кислота представлена на рынке под торговым названием Zometa™. Термин «ингибиторы mTOR» относится к соединениям, ингибирующим мишень рапамицина млекопитающих (mTOR) и обладающим антипролиферативной активностью, таким как сиролимус (Rapamune®), эверолимус (Certican™), CCI-779 и ABT578.

[00165] При использовании в настоящем документе, термин «ингибитор гепараназы» относится к соединениям, направленным на, снижающим или ингибирующим разложение гепаринсульфата. Термин включает, но не ограничен перечисленным, PI-88. При использовании в настоящем документе термин «модификатор биологических реакций» относится к лимфокину или интерферонам.

[00166] При использовании в настоящем документе термин «ингибитор онкогенных изоформ Ras», таких как H-Ras, K-Ras или N-Ras, относится к соединениям, направленным на, снижающим или ингибирующим активность Ras; например, «ингибитор фарнезил трансферазы», такой как L-744832, DK8G557 или R115777 (Zarnestra™). При использовании в настоящем документе термин «ингибитор

теломеразы» относится к соединениям, направленным на, снижающим или ингибирующим активность теломеразы. Соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность теломеразы в особенности представляют собой соединения, ингибирующие рецептор теломеразы, таким как теломестатин.

[00167] При использовании в настоящем документе термин «ингибитор метионинаминопептидазы» относится к соединениям, направленным на, снижающим или ингибирующим активность метионинаминопептидазы. Соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность метионинаминопептидазы включают, но не ограничены перечисленным, бенгамид или его производное.

[00168] При использовании в настоящем документе, термин «ингибитор протеасомы» относится к соединениям, направленным на, снижающим или ингибирующим активность протеасомы. Соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность протеасомы включают, но не ограничены перечисленным, бортезомиб (Velcade™) и MLN 341.

[00169] При использовании в настоящем документе термин «ингибитор матриксных металлопротеиназ» или (ингибитор «ММР») включает, но не ограничен перечисленным, ингибиторы-пептидомиметики коллагена и ингибиторы-непептидомиметики, производные тетрациклина, например, ингибитор-пептидомиметик гидроксамата батимастат и его аналог, доступный в форме для перорального приема, маримастат (BB-2516), приномастат (AG3340), метастат (NSC 683551) BMS-279251, BAY 12-9566, TAA211, MMI270B или AAI996.

[00170] При использовании в настоящем документе термин «соединения, применяемые для лечения опухолей системы крови» включает, но не ограничен перечисленным, ингибиторы FMS-подобной тирозинкиназы, представляющие собой соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность рецепторов FMS-подобной тирозинкиназы (Flt-3R); интерферон, 1- β -D-арабинофурансилцитозин (ara-c) и бисульфан; и ингибиторы ALK, представляющие собой соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие киназу анапластической лимфомы.

[00171] Соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность рецепторов FMS-подобной тирозинкиназы (Flt-3R) в особенности представляют собой соединения, белки или антитела, ингибирующие членов семейства рецепторной тирозинкиназы Flt-3R, такие как PKC412, мидостаурин, производное стауроспорина, SU11248 и MLN518.

[00172] При использовании в настоящем документе термин «ингибиторы HSP90» включает, но не ограничен перечисленным, соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие собственную активность АТФазы HSP90; разлагающие, направленные на, снижающие или ингибирующие белки-клиенты HSP90 по сигнальному пути убиквитин-протеосомы. Соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие собственную активность АТФазы HSP90 в особенности представляют собой соединения, белки или антитела, ингибирующие активность АТФазы HSP90, такие как 17-аллиламино,17-деметоксигелданамицин (17AAG), производное гелданамицина; другие соединения, родственные гелданамицину; радицикол и ингибиторы HDAC.

[00173] При использовании в настоящем документе термин «антипролиферативные антитела» включает, но не ограничен перечисленным, трастузумаб (Herceptin™), трастузумаб-DM1, эрбитукс, бевацизумаб (Avastin™), ритуксимаб (Rituxan®), PRO64553 (анти-CD40) и антитело 2C4. Под антителами подразумеваются интактные моноклональные антитела, поликлональные антитела, мультиспецифичные антитела, образованные из по меньшей мере 2 интактных антител, и фрагменты антител, имеющие достаточную длину для проявления необходимой биологической активности.

[00174] Для лечения острого миелоидного лейкоза (AML) соединения согласно настоящему изобретению могут применяться в комбинации со стандартными видами терапии лейкоза, особенно в комбинации с видами терапии, применяемыми для лечения AML. В частности, соединения согласно настоящему изобретению могут вводиться в комбинации с, например, ингибиторами фARNЕзил трансферазы и/или другими лекарственными средствами, полезными для лечения AML, такими как даунорубицин, адриамицин, Ага-С, VP-16, тенипозид, митоксантрон, идарубицин, карбоплатин и РКC412.

[00175] Другие соединения для лечения лейкоза включают, например, Ага-С, аналог пиримидина, представляющий собой 2'-альфа-гидрокси рибозное (арабинозидное) производное деоксицитидина. Также включен пуриновый аналог гипоксантина, 6-меркаптопурин (6-MP) и флударабина фосфат. Соединения, направленные на, снижающие или ингибирующие активность деацетилазы гистонов (HDAC), такие как бутират натрия и субероиланилидгидроксамовая кислота (SAHA), ингибируют активность ферментов, известных как деацетилазы гистонов. Конкретные ингибиторы HDAC включают MS275, SAHA, FK228 (ранее – FR901228), трихостатин А и соединения, раскрытые в патентной заявке US 6552065, включая, но не ограничиваясь

перечисленным, N-гидрокси-3-[4-[[[2-(2-метил-1H-индол-3-ил)-этил]-амино]метил]фенил]-2E-2-пропенамид или его фармацевтически приемлемую соль и N-гидрокси-3-[4-[(2-гидроксиэтил){2-(1H-индол-3-ил)этил]-амино]метил]фенил]-2E-2-пропенамид или его фармацевтически приемлемую соль, особенно лактат. Антагонисты рецептора соматостатина при использовании в настоящем документе относятся к соединениям, направленным на, снижающим или ингибирующим рецептор соматостатина, таким как октреотид и SOM230. Тактика повреждения опухолевых клеток относится к таким тактикам лечения, как применение ионизирующего излучения. Термин «ионизирующее излучение», упоминаемый выше и далее по тексту, означает ионизирующее излучение, представляющее собой электромагнитное излучение (такое, как рентгеновское излучение и гамма-излучение) или частицы (такие, как альфа- и бета-частицы). Ионизирующее излучение применяется в, не ограничиваясь перечисленным, радиационной терапии и известно в данной области техники. См. источник Hellman, Principles of Radiation Therapy, Cancer, в Principles and Practice of Oncology, Devita et al., Eds., 4th Edition., Vol. 1, pp. 248-275 (1993).

[00176] Также включены связыватели EDG и ингибиторы рибонуклеотидредуктазы. При использовании в настоящем документе термин «связыватели EDG» относится к классу иммуносупрессантов, модулирующих рециркуляцию лимфоцитов, таких как FTY720. Термин «ингибиторы рибонуклеотидредуктазы» относится к пиримидиновым или пуриновым аналогам нуклеозидов, включающим, но не ограниченным перечисленным, флударабин и/или цитозин-арабинозид (ara-C), 6-тиогуанин, 5-фторурацил, кладрибин, 6-меркаптопурин (особенно в комбинации с ara-C против ALL) и/или пентостатин. Ингибиторы рибонуклеотидредуктазы в особенности представляют собой гидроксимочевину или производные 2-гидрокси-1H-изоиндол-1,3-диона.

[00177] Также, в частности, включены соединения, белки или моноклональные антитела к VEGF (фактор роста эндотелия сосудов), такие как 1-(4-хлоранилино)-4-(4-пиридилметил)фталазин или его фармацевтически приемлемая соль, 1-(4-хлоранилино)-4-(4-пиридилметил)фталазина сулфат; AngiostatinTM; EndostatinTM; амиды антрраниловой кислоты; ZD4190; ZD6474; SU5416; SU6668; бевацизумаб; или антитела к VEGF или антитела к рецептору VEGF, такие как rhuMAb и RHUFab, аптамер VEGF, такой как макугон; ингибиторы FLT-4, ингибиторы FLT-3, антитело VEGFR-2 IgG1, ангиозим (RPI 4610) и бевацизумаб (AvastinTM).

[00178] Фотодинамическая терапия в настоящем документе относится к терапии, в которой для лечения или предотвращения раковых заболеваний применяются

определенные химические вещества, известные как фотосенсибилизирующие соединения. Примеры фотодинамической терапии включают лечение такими соединениями, как Visudyne™ и порфимер натрия.

[00179] Ангиостатические стероиды в настоящем документе относятся к соединениям, блокирующим или ингибирующим ангиогенез, такие как, например, анекортав, триамцинолон, гидрокортизон, 11- α -эпигидрокортизол, кортексогон, 17 α -гидроксипрогестерон, кортикостерон, дезоксикортикостерон, тестостерон, эстрон и дексаметазон.

[00180] Импланты, содержащие кортикостероиды, относятся к соединениям, таким как флуоцинолон и дексаметазон.

[00181] Другие химиотерапевтические соединения включают, но не ограничены перечисленным, растительные алкалоиды, гормональные соединения и антагонисты; модификаторы биологических реакций, предпочтительно лимфокины или интерфероны; антисмысловые олигонуклеотиды или производные олигонуклеотидов; малые РНК, образующие шпильки, или малые интерферирующие РНК; или прочие соединения или соединения с другим или неизвестным механизмом действия.

[00182] Структуры активных соединений с установленными кодовыми номерами, международными непатентованными или торговыми названиями, могут быть взяты из актуального издания стандартного справочника «The Merck Index» или из баз данных, например, Patents International (например, IMS World Publications).

[00183] Соединение согласно настоящему изобретению может также применяться в комбинации с известными терапевтическими способами, например, применением гормонов или излучения. В некоторых вариантах осуществления предложенное соединения применяют в качестве радиосенсибилизирующего вещества, особенно для лечения опухолей, демонстрирующих плохую чувствительность к радиационной терапии.

[00184] Соединение согласно настоящему изобретению может вводиться по отдельности или в комбинации с одним или более терапевтическими соединениями, при этом возможная комбинированная терапия представляет собой фиксированные комбинации или введение соединения согласно изобретению и одного или более других терапевтических соединений, с отсрочкой во времени или независимо друг от друга, или комбинированного введения фиксированных комбинаций и одного или более терапевтических соединений. Соединение согласно настоящему изобретению может, кроме того или дополнительно, вводиться, особенно при терапии опухолей, в

комбинации с химиотерапией, радиационной терапией, иммунотерапией, фототерапией, хирургическим вмешательством или комбинацией перечисленного. В контексте других стратегий лечения также возможны длительное лечение и адъювантная терапия, как описано выше. Другие возможные виды лечения представляют собой терапию для поддержания статуса пациента после регрессии опухоли, или даже хемотрепентивная терапия, например, у подверженных риску пациентов.

[00185] Эти дополнительные агенты могут вводиться отдельно от композиции, содержащей соединение согласно изобретению, в виде части схемы многократного приема. В качестве альтернативы, эти агенты могут быть частью одной лекарственной формы, в виде смеси с соединением согласно настоящему изобретению в составе одной композиции. При введении в виде части схемы многократного приема два активных агента могут вводиться одновременно, последовательно или с каким-либо временным промежутком, как правило, составляющим пять часов.

[00186] При использовании в настоящем документе термин «комбинация» «комбинированный» и родственные термины относятся к одновременному или последовательному введению терапевтических агентов согласно настоящему изобретению. Например, соединение согласно настоящему изобретению может быть введено с другим терапевтическим агентом одновременно или последовательно, в отдельных единичных лекарственных формах или вместе в одной единичной лекарственной форме. Соответственно, в настоящем изобретении предложена единичная лекарственная форма, содержащая соединения согласно настоящему изобретению, дополнительный терапевтический агент и фармацевтически приемлемый носитель, адъювант или наполнитель.

[00187] Количество как соединения согласно изобретению, так и дополнительного терапевтического агента (в композициях, содержащих дополнительный терапевтический агент, как описано выше), которые могут быть смешаны с веществами-носителями с получением одной лекарственной формы, различаются в зависимости от организма, подлежащего лечению, и конкретного способа введения. Предпочтительно композиции согласно настоящему изобретению должны быть разработаны таким образом, чтобы обеспечить введение дозировки соединения согласно изобретению от 0,01 до 100 мг/кг массы тела/сут.

[00188] В этих композициях, содержащих дополнительный терапевтический агент, этот дополнительный терапевтический агент и соединение согласно настоящему изобретению могут действовать синергетически. Следовательно, количество

дополнительного терапевтического агента в таких композициях будет меньше количества, требуемого при монотерапии, в которой применяет только этот один терапевтический агент. В таких композициях может быть введена дозировка от 0,01 до 1000 мкг/кг массы тела/сут дополнительного терапевтического агента.

[00189] Количество дополнительного терапевтического агента, присутствующего в композициях согласно настоящему изобретению, не превышает количество, обычно вводимое в составе композиции, содержащей данный терапевтический агент в качестве единственного активного агента. Предпочтительно количество дополнительного терапевтического агента в композициях согласно настоящему изобретению составляет приблизительно от 50% до 100% от количества, обычно присутствующего в композиции, содержащей данный терапевтический агент в качестве единственного активного агента.

[00190] Соединения согласно настоящему изобретению или содержащие их фармацевтические композиции могут также быть включены в композиции для покрытия имплантируемого медицинского устройства, такого как протезы, искусственные клапаны сердца, сосудистые шунты, стенты и катетеры. Сосудистые стенты, например, применяют для преодоления рестеноза (повторного сужения просвета сосуда после травмы). Однако пациенты, применяющие стенты или другие имплантируемые устройства, подвержены риску образования тромбов или активации тромбоцитов. Эти нежелательные действия можно предотвратить или нивелировать путем предварительного покрытия устройства фармацевтически приемлемой композицией, содержащей ингибитор киназы. Имплантируемые устройства, покрытые соединением согласно настоящему изобретению, представляют собой еще один вариант осуществления настоящего изобретения.

ПРИМЕРЫ

[00191] Как показано в приведенных ниже примерах, в некоторых иллюстративных вариантах осуществления соединения получают согласно следующим общим методикам. Следует понимать, что хотя общие способы показывают синтез конкретных соединений согласно настоящему изобретению, нижеследующие общие и другие способы, известные обычному специалисту в данной области техники, могут применяться ко всем соединениям и подклассам и видам каждого из этих соединений, как описано в настоящем документе.

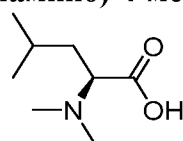
[00192] Список сокращений, используемых в экспериментальной части.

4А МС: молекулярные сита 4Å
 АсОН: уксусная кислота
 АСN: ацетонитрил
 Безв.: безводный
 Водн.: водный
 Вп: бензил
 Вос: *трет*-бутоксикарбонил
 CbzCl: бензилхлорформиат
 Cbz-OSU: N-(бензилоксикарбонилокси)сукцинимид
 Cu(OAc)₂: ацетат меди (II)
 д.: дни
 DAST: диэтиламиносеры трифторид
 DBU: 1,8-дiazобикарбо[5.4.0]ундец-7-ен
 DCE: 1,2-дихлорэтан
 ДХМ: дихлорметан
 DEA: диэтиламин
 DIBAL-H: гидрид диизобутилалюминия
 DIPEA: N,N-диизопропилэтиламин
 DMA: N,N-диметилацетамид
 DMAP: 4-диметиламинопиридин
 ДМФА: N,N-диметилформаид
 ДМСО-диметилсульфоксид
 DPPA: дифенилфосфорилаид
 EDC: 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида гидрохлорид
 ее: энантиомерный избыток
 ЭСИ: ионизация распылением в электрическом поле
 Et₃N: триэтиламин
 Et₂O: диэтиловый эфир
 EtOAc: этилацетат
 EtOH: этанол
 Fmoc: флуоренилметоксикарбонил
 Fmoc-OSu: N-(9-флуоренилметоксикарбонилокси)сукцинимид
 ч: часы
 HATU: 1-[бис(диметиламино)метиле]-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b]пиримидин
 3-оксид гексафторфосфат
 HCOONH₄: формиат аммония
 ВЭЖХ: высокоэффективная жидкостная хроматография
 IBX: 2-иодоксибензойная кислота
 ИПС: изопропиловый спирт
 KOAc: ацетат калия
 М: молярный
 Me: метил
 MeOH: метанол
 мин: минуты
 мл: миллилитры
 mM: миллимолярный
 ммоль: миллимоли
 МТВЕ: трет-бутилметиловый эфир
 NaBH₃CN: цианоборогидрид натрия

Na_2CO_3 : карбонат натрия
 NaHCO_3 : бикарбонат натрия
 NMP: N-метилпирролидин
 ЯМР: ядерный магнитный резонанс
 $^{\circ}\text{C}$: градусы Цельсия
 PBS: натрий-фосфатный буфер
 Pd/C : палладиевая чернь
 $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$: катализатор Перлмана
 PE: петролейный эфир
 PhNH_2 : анилин
 PPh_3 : трифенилфосфин
 отн.: относительный
 комн. темп.: комнатная температура
 насыщ.: насыщенный
 СФХ: сверхкритическая флюидная хроматография
 SOCl_2 : тионилхлорид
 TBAB: тетра-n-бутиламмония бромид
 $t\text{BuOK}$: *трет*-бутоксид калия
 ТЭА: триэтиламин
 Tf: трифторметансульфонат
 TfAA: трифторметансульфоновый ангидрид
 TFA: трифторуксусная кислота
 TIPS: триизопропилсилил
 ТГФ: тетрагидрофуран
 TMSCN: триметилсилилцианид
 $p\text{TSA}$: *пара*-толуолсульфоновая кислота
 TsOH : *p*-толуолсульфоновая кислота

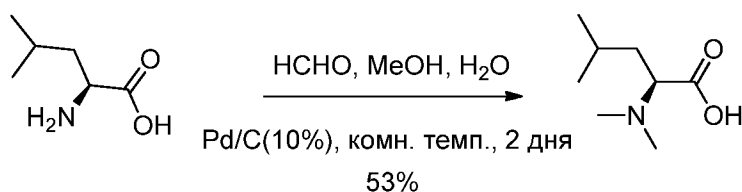
[00193] Получение иллюстративных неограничивающих примеров предложенных соединений описано ниже.

[00194] Пример 1: (*S*)-2-(диметиламино)-4-метилпентановая кислота [I-1].



I-1

Схема синтеза:



Методики и характеристики:

Стадия 1: (*S*)-2-(диметиламино)-4-метилпентановая кислота:

[00195] Формальдегид (38 %, 24,0 г) и Pd/C (10 %, 500 мг) добавляли к раствору (*S*)-2-амино-4-метилпентановой кислоты (2,0 г, 15,24 ммоль), полученный раствор фильтровали (60 мл). Смесь гидрировали при комнатной температуре в течение двух дней и фильтровали для удаления катализатора. Фильтрат концентрировали до сухости и добавляли к остатку EtOH (30 мл). Смесь перемешивали в течение 1 ч и фильтровали. Фильтрат концентрировали с получением (*S*)-2-(диметиламино)-4-метилпентановой кислоты (1,3 г, 8,16 ммоль, 53%) в виде белого порошка. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 160,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H -ЯМР (400 МГц, $\text{MeOD-}d_4$): δ 3,47 (dd, $J = 4,4 \text{ Hz}$, $10,0 \text{ Hz}$, 1H), 2,85 (s, 6H), 1,89-1,74 (m, 2H), 1,62-1,55 (m, 1H), 1,00 (dd, $J = 2,8 \text{ Hz}$, $6,8 \text{ Hz}$, 6H).

[00196] Примеры 2 и 3: (*S*)-2-амино-7,7,7-трифторгептановой кислоты гидрохлорид [I-2] и (*R*)-2-амино-7,7,7-трифторгептановой кислоты гидрохлорид [I-3].

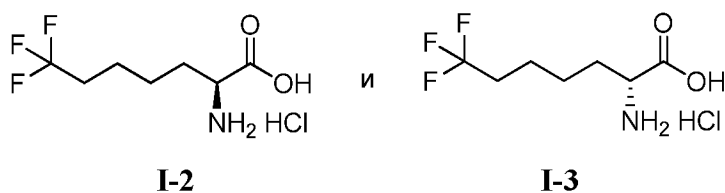
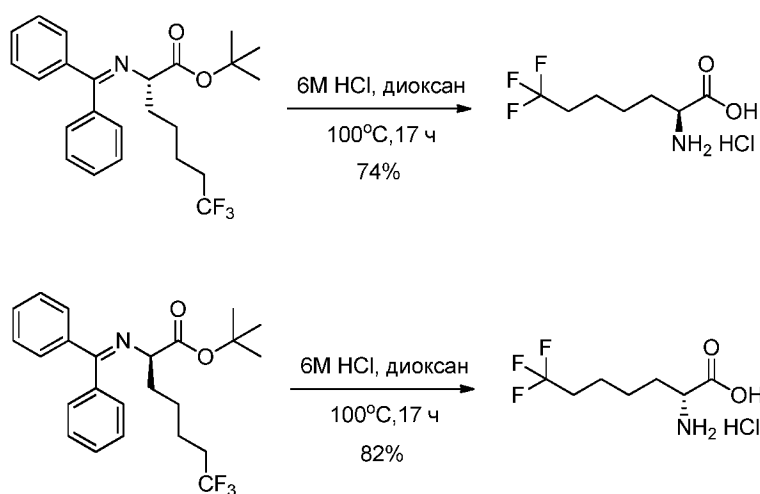
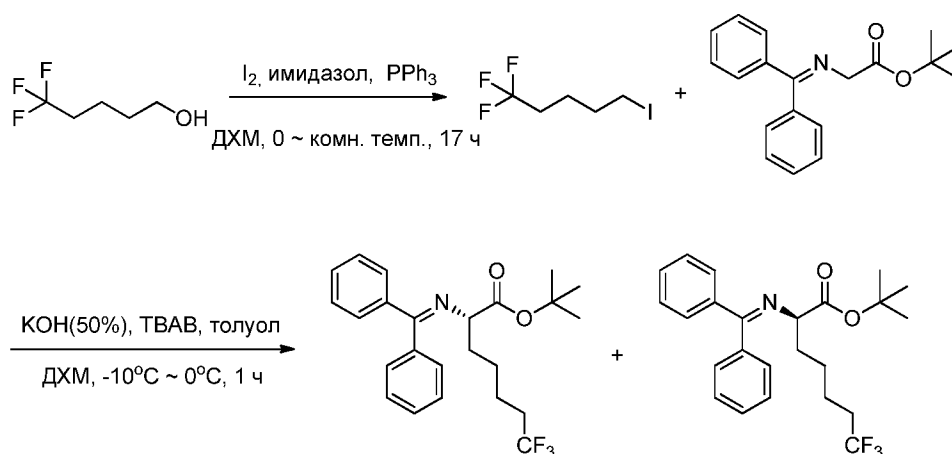


Схема синтеза:



Методики и характеристики:

Стадия 1: 1,1,1-трифтор-5-иодпентан:

[00197] К раствору 5,5,5-трифторпентан-1-ола (2,0 г, 14,0 ммоль), имидазола (1,48 г, 21,7 ммоль) и PPh_3 (5,5 г, 21,0 ммоль) в ДХМ (40 мл) добавляли I_2 (4,45 г, 17,5 ммоль) в ледяной бане. Смесь подогревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. К вышеописанной смеси добавляли Et_2O (50 мл) и затем перемешивали в течение 10 мин. Смесь фильтровали и выпаривали фильтрат при 65°C для удаления растворителя при атмосферном давлении, остаток разбавляли Et_2O (30 мл), смесь фильтровали и использовали фильтрат для проведения следующей стадии.

Стадия 2: (S)-трет-бутил-2-(дифенилметиленамино)-7,7,7-трифторгептаноат и (R)-трет-бутил-2-(дифенилметиленамино)-7,7,7-трифторгептаноат:

[00198] К раствору трет-бутил-2-(дифенилметиленамино)ацетата (2,0 г, 6,78 ммоль) и ТВАВ (109 мг, 0,339 ммоль) в толуоле (35 мл) и ДХМ (15 мл) добавляли КОН (50%, 20 мл) при -10 °С, по прошествии 5 минут к вышеуказанному раствору добавляли 1,1,1-трифтор-5-иодпентан в Et₂O (30 мл) по каплям в течение 5 минут, полученную смесь перемешивали при температуре от -10 °С до 0 °С в течение 1 ч. Раствор разбавляли водой (200 мл) и экстрагировали ЕА (100 мл). Органическую фазу промывали водой (100 мл х 2) и рассолом (100 мл), сушили (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали в вакууме, неочищенный продукт очищали с помощью хроматографии (силикагель, этилацетат/петролейный эфир = 1/10) и затем препаративной хиральной ВЭЖХ [колонок R,R-whelk-ol 4,6* 250 мм 5 мкм; растворитель, MeOH (0,2% метанол-аммиак)] с получением (*S*)-трет-бутил-2-(дифенилметиленамино)-7,7,7-трифторгептаноата (200 мг, 0,48 ммоль, 7,1%) и (*R*)-трет-бутил-2-(дифенилметиленамино)-7,7,7-трифторгептаноата (200 мг, 0,48 ммоль, 7,1%).

[00199] (*S*)-трет-бутил-2-(дифенилметиленамино)-7,7,7-трифторгептаноат (200 мг, 0,48 ммоль, 7,1%). ЭСИ-МС (EI+, m/z): 243,1 [M+H]⁺, ¹H-ЯМР (500 МГц, CDCl₃): δ 8,64 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,43-7,46 (m, 3H), 7,38-7,39 (m, 1H), 7,31-7,34 (m, 2H), 7,15-7,17 (m, 2H), 3,91 (dd, J = 5,5 Hz, 7,5 Hz, 1H), 2,00-2,05 (m, 2H), 1,88-1,92 (m, 2H), 1,31-1,52 (m, 13H).

[00200] (*R*)-трет-бутил-2-(дифенилметиленамино)-7,7,7-трифторгептаноат (200 мг, 0,48 ммоль, 7,1%). ЭСИ-МС (EI+, m/z): 243,1 [M+H]⁺, ¹H-ЯМР (500 МГц, CDCl₃): δ 8,64 (d, J = 7,0 Hz, 2H), 7,43-7,46 (m, 3H), 7,38-7,39 (m, 1H), 7,31-7,34 (m, 2H), 7,15-7,17 (m, 2H), 3,92 (dd, J = 5,5 Hz, 7,5 Hz, 1H), 2,00-2,05 (m, 2H), 1,88-1,92 (m, 2H), 1,31-1,52 (m, 13H).

[00201] Стадия 3: (*S*)-2-амино-7,7,7-трифторгептановой кислоты гидрохлорид [**I-2**]:

[00202] Раствор (*S*)-трет-бутил-2-(дифенилметиленамино)-7,7,7-трифторгептаноата (200 мг, 0,48 ммоль) в 6 М HCl (10 мл) и диоксане (5 мл) нагревали до 100 °С в течение 17 ч. Раствор экстрагировали Et₂O (10 мл х 2), водную фазу концентрировали до сухости с получением (*S*)-2-амино-7,7,7-трифторгептановой кислоты гидрохлорида (**I-2**) в виде белого твердого вещества (82,7 мг, 0,35 ммоль, 74%). ЭСИ-МС (EI+, m/z): 200,1 [M+H]⁺, ¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 3,93 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 2,10-2,15 (m, 2H), 1,83-1,90 (m, 2H), 1,40-1,56 (m, 4H).

[00203] Стадия 4: (*R*)-2-амино-7,7,7-трифторгептановой кислоты гидрохлорид [**I-3**]:

[00204] Раствор (R)-трет-бутил-2-(дифенилметиленамино)-7,7,7-трифторгептаноата (200 мг, 0,48 ммоль) в 6 М HCl (10 мл) и диоксан (5 мл) нагревали до 100 °С в течение 17 ч. Раствор экстрагировали Et₂O (10 мл x 2), водную фазу концентрировали до сухости с получением (R)-2-амино-7,7,7-трифторгептановой кислоты гидрохлорида (**I-3**) в виде белого твердого вещества (91,6 мг, 0,39 ммоль, 82%). ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 200,1 [M+H]⁺, 1H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 3,92 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 2,09 – 2,14 (m, 2H), 1,82 – 1,89 (m, 2H), 1,39 – 1,55 (m, 4H).

[00205] Примеры 4 и 5: (S)-2-амино-4,4,4-трифторбутановая кислота [**I-4**] и (R)-2-амино-4,4,4-трифторбутановая кислота [**I-5**].

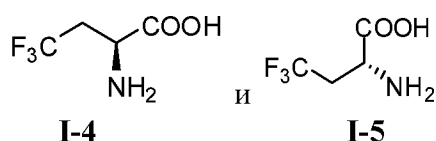
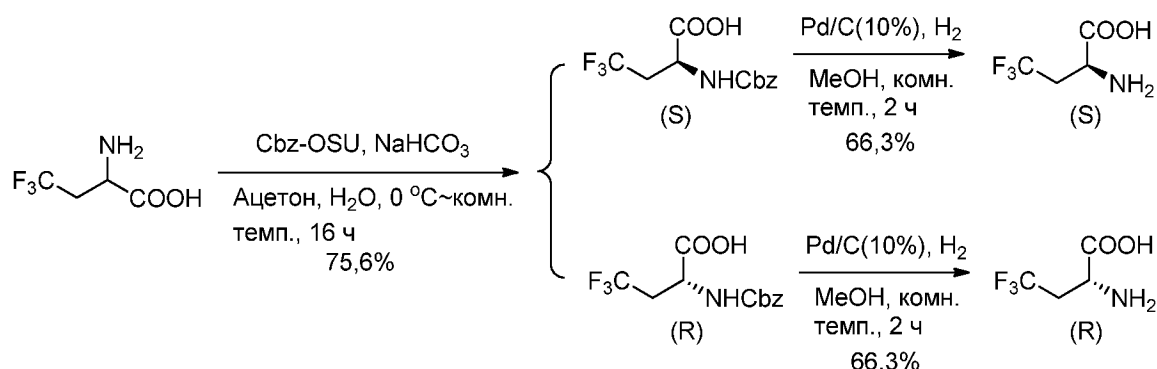


Схема синтеза:



Методики и характеристики:

[00206] Стадия 1: (S)-2-(бензилоксикарбониламино)-4,4,4-трифторбутановая кислота и (R)-2-(бензилоксикарбониламино)-4,4,4-трифторбутановая кислота

[00207] N-(бензилоксикарбонилокси)сукцинимид (1,75 г, 7,01 ммоль) медленно добавляли к раствору 2-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты (1,0 г, 6,36 ммоль) и NaHCO₃ (589 мг, 7,01 ммоль) в ацетоне (60 мл), и фильтровали полученный раствор (60 мл) при 0 °С. Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 16 ч. Реакционную смесь экстрагировали CH₂Cl₂ (2 x 100 мл) и подкисляли водный слой HCl (3 М) приблизительно до pH 4 и затем экстрагировали EtOAc (3 x 150 мл). Органическую фазу сушили над Na₂SO₄ и выпаривали растворитель в вакууме. Полученный неочищенный продукт очищали препаративной хиральной ВЭЖХ (колонка, АУ-Н 4,6*250 мм 5 мкм; растворитель, EtOH) с получением (S)-2-(бензилоксикарбониламино)-4,4,4-

трифторбутановой кислоты (700 мг, 2,40 ммоль, 37,8%) и (*R*)-2-(бензилоксикарбониламино)-4,4,4-трифторбутановой кислоты (700 мг, 2,40 ммоль, 37,8%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 314,0 $[M+Na]^+$.

[00208] (*S*)-2-(бензилоксикарбониламино)-4,4,4-трифторбутановая кислота. 1H -ЯМР (500 МГц, $DMCO-d_6$): δ 13,20 (s, 1H), 7,84 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,40-7,30 (m, 5H), 5,06 (s, 2H), 4,31-4,27 (m, 1H), 2,85-2,58 (m, 2H).

[00209] (*R*)-2-(бензилоксикарбониламино)-4,4,4-трифторбутановая кислота. 1H -ЯМР (500 МГц, $DMCO-d_6$): δ 13,21 (s, 1H), 7,85 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 7,38-7,30 (m, 5H), 5,06 (s, 2H), 4,31-4,27 (m, 1H), 2,83-2,59 (m, 2H).

[00210] Стадия 2: (*S*)-2-амино-4,4,4-трифторбутановая кислота [I-4].

[00211] Смесь (*S*)-2-(бензилоксикарбониламино)-4,4,4-трифторбутановой кислоты (700 мг, 2,40 ммоль) и Pd/C(10%) (200 мг) в MeOH (50 мл) перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч в атмосфере водорода. Смесь фильтровали и промывали фильтровальный осадок MeOH (20 мл). Фильтрат концентрировали с получением (*S*)-2-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты (I-4), (250 мг, 1,59 ммоль, 66,3%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 158,1 $[M+H]^+$, 1H -ЯМР (500 МГц, $DMCO-d_6 + 1$ drop TFA + 1 drop D_2O): δ 4,32 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 3,03-2,82 (m, 2H).

[00212] Стадия 3: (*R*)-2-амино-4,4,4-трифторбутановая кислота [I-5].

[00213] Смесь (*R*)-2-(бензилоксикарбониламино)-4,4,4-трифторбутановой кислоты (700 мг, 2,40 ммоль) и Pd/C(10%) (200 мг) в MeOH (50 мл) перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч в атмосфере водорода. Смесь фильтровали и промывали фильтровальный осадок MeOH (20 мл). Фильтрат концентрировали с получением (*R*)-2-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты (I-5), (250 мг, 1,59 ммоль, 66,3%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 158,1 $[M+H]^+$, 1H -ЯМР (500 МГц, $DMCO-d_6 + 1$ капля TFA + 1 капля D_2O): δ 4,31 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 3,03-2,83 (m, 2H).

[00214] Примеры 6 и 7: (*S*)-2-амино-5,5,5-трифторпентановая кислота [I-6] и (*R*)-2-амино-5,5,5-трифторпентановая кислота [I-7].

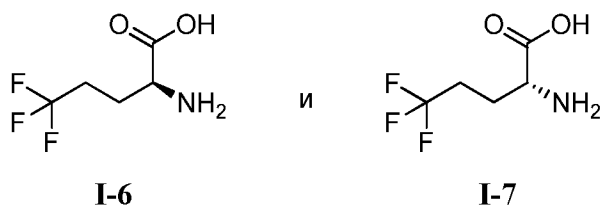
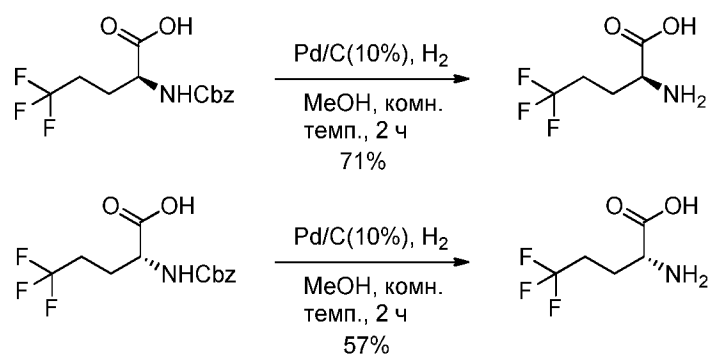
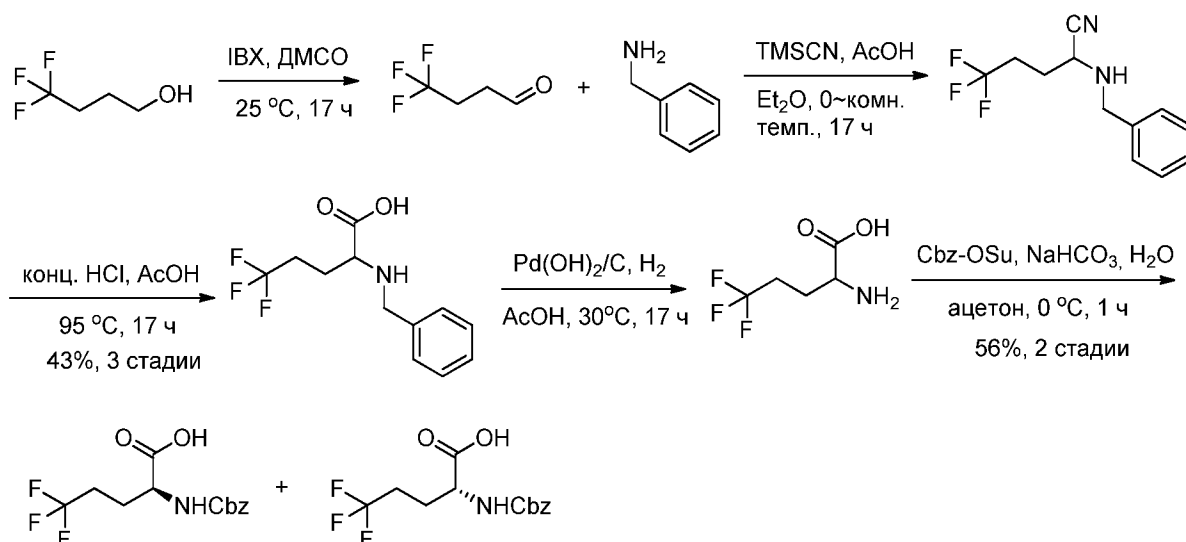


Схема синтеза:



Методики и характеристики:

[00215] Стадия 1: 4,4,4-трифторбутаналь:

[00216] К раствору 4,4,4-трифторбутан-1-ола (4,0 г, 31,3 ммоль) в ДМСО (80 мл) добавляли IBX (13,0 г, 46,9 ммоль) в ледяной бане. Смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь выливали в воду (200 мл) и экстрагировали Et₂O (100 мл x 2), органическую фазу промывали водой (100 мл x 3) и рассолом (100 мл), сушили (Na₂SO₄), и использовали раствор для проведения следующей стадии.

[00217] Стадия 2: 2-(бензиламино)-5,5,5-трифторпентаннитрил:

[00218] К раствору полученного выше 4,4,4-трифторбутанала в Et₂O (200 мл) добавляли бензиламин (4 мл), AcOH (3,0 мл) и затем TMSCN (3,5 мл) в ледяной бане. Смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Раствор разбавляли водой (200 мл) и экстрагировали EtOAc (100 мл), органическую фазу

промывали водой (100 мл x 2) и рассолом (100 мл), сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали в вакууме с получением 2-(бензиламино)-5,5,5-трифторпентаннитрила (6,7 г, неочищенный) в виде коричневого твердого вещества, которое использовали для проведения следующей стадии. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 243,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00219] Стадия 3: 2-(бензиламино)-5,5,5-трифторпентановая кислота:

[00220] Раствор 2-(бензиламино)-5,5,5-трифторпентаннитрила (6,7 г, неочищенный) в конц. HCl (80 мл) и AcOH (30 мл) нагревали до $95\text{ }^\circ\text{C}$ в течение 17 ч. Раствор концентрировали до сухости, разбавляли полученным раствором (100 мл) и ACN (50 мл) и фильтровали, значение pH доводили до 3-4 с помощью насыщ. раствора NaHCO_3 , смесь фильтровали и сушили с получением 2-(бензиламино)-5,5,5-трифторпентановой кислоты (3,5 г, 13,4 ммоль, 43% для 3 стадий) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 262,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00221] Стадия 4: 2-амино-5,5,5-трифторпентановая кислота:

[00222] Смесь 2-(бензиламино)-5,5,5-трифторпентановой кислоты (3,3 г, 12,6 ммоль) и $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (20%, 400 мг) в AcOH (60 мл) перемешивали при $30\text{ }^\circ\text{C}$ в течение 17 ч. Смесь фильтровали, и фильтрат концентрировали до сухости с получением 2-амино-5,5,5-трифторпентановой кислоты (3,0 г, неочищенная) в виде коричневого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 172,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00223] Стадия 5: (S)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифторпентановая кислота и (R)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифторпентановая кислота:

[00224] К раствору 2-амино-5,5,5-трифторпентановой кислоты (3,0 г, неочищенная) в насыщ. растворе NaHCO_3 (100 мл) и ацетоне (100 мл) добавляли Cbz-OSu (3,45 г, 13,9 ммоль) в ледяной бане. По прошествии 2 ч значение pH смеси доводили до 3 с помощью 6 М HCl , экстрагировали ее EtOAc (50 мл x 2), органическую промывали водой (50 мл) и рассолом (100 мл), сушили (Na_2SO_4) и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали с помощью хроматографии (силикагель, этилацетат/петролейный эфир =1/2) и затем препаративной хиральной ВЭЖХ [колонка, АУ-Н 4,6*250 мм 5 мкм; растворитель, MeOH (0,5% NH_4OH)] с получением (S)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифторпентановой кислоты (1,50 г, 4,92 ммоль, 28%, 2 стадии) и (R)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифторпентановой кислоты (1,50 г, 4,92 ммоль, 28%, для 2 стадий) в виде белых твердых веществ.

[00225] (S)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифторпентановая кислота (1,50 г, 4,92 ммоль, 28% для 2 стадий). ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 328,0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $^1\text{H-ЯМР}$ (500

МГц, ДМСО- d_6): δ 12,86 (s, 1H), 7,71 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,31-7,39 (m, 5H), 5,05 (s, 2H), 4,05-4,10 (m, 1H), 2,34-2,41 (m, 1H), 2,21-2,29 (m, 1H), 1,84-1,97 (m, 2H).

[00226] (R)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифторпентановая кислота (1,50 г, 4,92 ммоль, 28%, 2 стадии) ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 328,0 $[M+Na]^+$, 1H -ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6): δ 12,85 (s, 1H), 7,71 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,30-7,39 (m, 5H), 5,05 (s, 2H), 4,05-4,10 (m, 1H), 2,34-2,41 (m, 1H), 2,21-2,29 (m, 1H), 1,84-1,97 (m, 2H).

[00227] Стадия 6: (S)-2-амино-5,5,5-трифторпентановая кислота [I-6]:

[00228] Смесь (S)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифторпентановой кислоты (500 мг, 1,64 ммоль) и Pd/C(10%) (50 мг) в MeOH (20 мл) перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч в атмосфере водорода. Смесь фильтровали и промывали фильтровальный осадок MeOH (20 мл). Фильтрат концентрировали с получением (S)-2-амино-5,5,5-трифторпентановой кислоты (**I-6**), (200 мг, 1,17 ммоль, 71%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 172,1 $[M+H]^+$, 1H -ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6): δ 8,38 (s, 3H), 4,05 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 2,34-2,55 (m, 2H), 1,95-20,9 (m, 2H).

[00229] Стадия 7: (R)-2-амино-5,5,5-трифторпентановая кислота [I-7]:

[00230] Смесь (R)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифторпентановой кислоты (500 мг, 1,64 ммоль) и Pd/C(10%) (50 мг) в MeOH (20 мл) перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч в атмосфере водорода. Смесь фильтровали и промывали фильтровальный осадок MeOH (20 мл). Фильтрат концентрировали с получением (R)-2-амино-5,5,5-трифторпентановой кислоты (**I-7**), (160 мг, 0,94 ммоль, 57%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 172,1 $[M+H]^+$, 1H -ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6): δ 8,38 (s, 3H), 4,05 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 2,34-2,55 (m, 2H), 1,95-20,9 (m, 2H).

[00231] Примеры 8 и 9: (S)-2-амино-6,6,6-трифторгексановая кислота [I-8] и (R)-2-амино-6,6,6-трифторгексановая кислота [I-9].

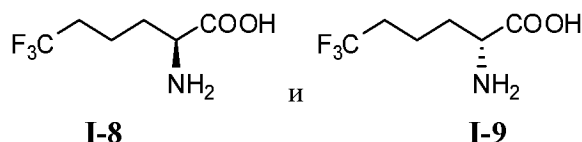
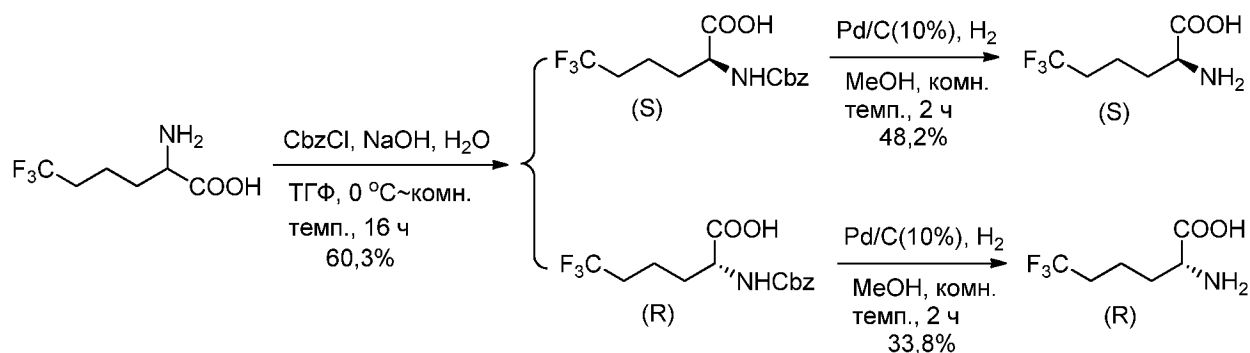


Схема синтеза:



Методика и характеристика:

[00232] Стадия 1: (S)-2-(бензилоксикарбониламино)-6,6,6-трифторгексановая кислота и (R)-2-(бензилоксикарбониламино)-6,6,6-трифторгексановая кислота

[00233] Бензилкарбонохлоридат (554 мг, 3,25 ммоль) медленно добавляли к раствору 2-амино-6,6,6-трифторгексановой кислоты (556 мг, 2,5 ммоль) и 1 М NaOH (25 мл, 25 ммоль) в ТГФ (25 мл) при $0\text{ }^\circ\text{C}$, смесь перемешивали при комн. темп. в течение 16 ч. Реакционную смесь экстрагировали ДХМ (2 x 100 мл), и водный слой подкисляли HCl (3 М) приблизительно до pH 4 и затем экстрагировали EtOAc (3 x 50 мл). Органическую фазу сушили над Na_2SO_4 и выпаривали растворитель в вакууме. Полученный неочищенный продукт очищали с помощью препаративной хиральной ВЭЖХ (колонка: АУ-Н (250*4,6 мм 5 мкм); подвижная фаза: н-гексан (0,1% DEA) : EtOH (0,1% DEA) = 90:10) с получением (S)-2-(бензилоксикарбониламино)-6,6,6-трифторгексановой кислоты (232 мг, 0,73 ммоль, 29%) и (R)-2-(бензилоксикарбониламино)-6,6,6-трифторгексановой кислоты (250 мг, 0,78 ммоль, 31,3%) в виде белых твердых веществ. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 342,0 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$.

[00234] (S)-2-(бензилоксикарбониламино)-6,6,6-трифторгексановая кислота, ^1H -ЯМР (500 МГц, DMCO-d_6): δ 12,68 (s, 1H), 7,66 (d, $J = 7,5\text{ Hz}$, 1H), 7,38-7,32 (m, 5H), 5,04 (s, 2H), 4,00-3,96 (m, 1H), 2,28-2,19 (m, 2H), 1,80-1,51 (m, 4H).

[00235] (R)-2-(бензилоксикарбониламино)-6,6,6-трифторгексановая кислота, ^1H -ЯМР (500 МГц, DMCO-d_6): δ 12,68 (s, 1H), 7,67 (d, $J = 8,5\text{ Hz}$, 1H), 7,38-7,30 (m, 5H), 5,04 (s, 2H), 4,00-3,96 (m, 1H), 2,33-2,15 (m, 2H), 1,82-1,51 (m, 4H).

[00236] Стадия 2: (S)-2-амино-6,6,6-трифторгексановая кислота [I-8].

[00237] Смесь (S)-2-(бензилоксикарбониламино)-6,6,6-трифторгексановой кислоты (200 мг, 0,63 ммоль) и Pd/C (10%) (50 мг) в MeOH (20 мл) перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч в атмосфере водорода. Смесь фильтровали и промывали фильтровальный осадок MeOH (20 мл). Фильтрат концентрировали с получением (S)-2-амино-6,6,6-

трифторгексановой кислоты (**I-8**), (56,2 мг, 0,30 ммоль, 48,2%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 186,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, ^1H -ЯМР (500 МГц, $\text{DMCO}-d_6 + 1 \text{ drop TFA} + 1 \text{ drop D}_2\text{O}$): δ 3,99 (t, $J = 5,5 \text{ Hz}$, 1H), 2,32-2,30 (m, 2H), 1,91-1,83 (m, 2H), 1,70-1,57 (m, 2H).

[00238] Стадия 3: (R)-2-амино-6,6,6-трифторгексановая кислота [I-9].

[00239] Смесь (R)-2-(бензилоксикарбониламино)-6,6,6-трифторгексановой кислоты (250 мг, 0,78 ммоль) и Pd/C (10%) (50 мг) в MeOH (20 мл) перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч в атмосфере водорода. Смесь фильтровали и промывали фильтровальный осадок MeOH (20 мл). Фильтрат концентрировали с получением (R)-2-амино-6,6,6-трифторгексановой кислоты (**I-9**), (48,8 мг, 0,26 ммоль, 33,8%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 186,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H -ЯМР (500 МГц, $\text{DMCO}-d_6 + 1 \text{ drop TFA} + 1 \text{ drop D}_2\text{O}$): δ 3,98 (t, $J = 6,5 \text{ Hz}$, 1H), 3,33-2,28 (m, 2H), 1,93-1,81 (m, 2H), 1,71-1,54 (m, 2H).

[00240] Пример 11: (S)-2-(бензиламино)-4-метилпентановая кислота [I-11].

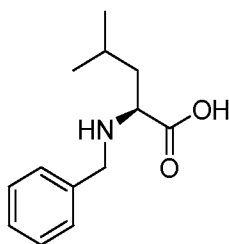
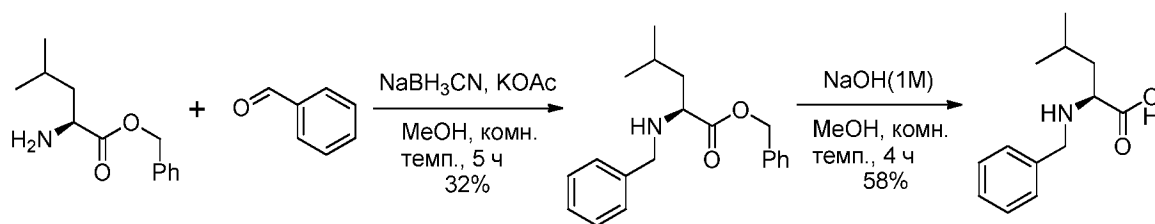


Схема синтеза:



Методики и характеристики:

[00241] Стадия 1: (S)-бензил-2-(бензиламино)-4-метилпентаноат:

[00242] К перемешиваемому раствору пара-толуолсульфоната бензилового эфира L-лейцина (800 мг, 2,0 ммоль) в MeOH (30 мл) добавляли бензальдегид (0,26 г, 2,4 ммоль) и ацетат калия (0,4 г, 4,1 ммоль), и перемешивали смесь в течение 30 мин при комн. темп. Затем добавляли цианоборогидрид натрия (0,2 г, 3,0 ммоль), перемешивали смесь течение еще 5 ч при комн. темп. Смесь тушили добавлением насыщ. раствора NaHCO_3 (50 мл), экстрагировали EtOAc (50 мл x 2), промывали полученным раствором (50 мл) и рассолом (50 мл) и фильтровали. Органическую фазу концентрировали, очищали с

помощью препаративной ВЭЖХ (Boston C18 21*250 мм 10 мкм, подвижная фаза: А: 0,1 % трифторуксусная кислота; В: ацетонитрил) с получением (S)-бензил-2-(бензиламино)-4-метилпентаноата (200 мг, 0,64 ммоль, 32%) в виде бесцветного масла. MS (EI⁺, m/z): 312,3 [M+H]⁺. ¹H-ЯМР (500 МГц, MeOD): δ 7,41~7,49 (m, 10H), 5,34 (dd, J = 12,0 Hz, 45,0 Hz, 2H), 4,23 (q, J = 12,0 Hz, 2H), 4,07~4,09 (m, 3H), 1,68~1,85 (m, 3H), 0,94 (dd, J = 8,5 Hz, 20,5 Hz, 6H).

[00243] Стадия 2: (S)-2-(бензиламино)-4-метилпентановая кислота [I-11]:

[00244] К перемешиваемому раствору (S)-бензил 2-(бензиламино)-4-метилпентаноата (50 мг, 0,16 ммоль) в MeOH (5 мл) добавляли 1 М NaOH (0,5 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 4 ч при комн. темп. Полученный раствор концентрировали и остаток очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (Boston C18 21*250 мм 10 мкм, подвижная фаза: А: 0,1 % трифторуксусная кислота; В: ацетонитрил) с получением (S)-2-(бензиламино)-4-метилпентановой кислоты (I-11), (21 мг, 0,095 ммоль, 58%) в виде белого твердого вещества. MS (EI⁺, m/z): 222,2 [M+H]⁺. ¹H-ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆): δ 9,32 (s, 1H), 7,43~7,50 (m, 5H), 4,17 (dd, J = 13,0 Hz, 44,0 Hz, 2H), 3,82 (t, J = 6,5 Hz, 1H), 1,68~1,76 (m, 3H), 0,85~0,90 (m, 6H).

[00245] Пример 12: (S)-4-метил-2-(2-фенилацетида)пентановая кислота [I-12]:

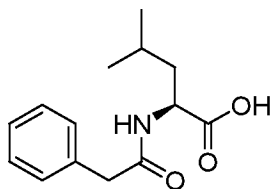
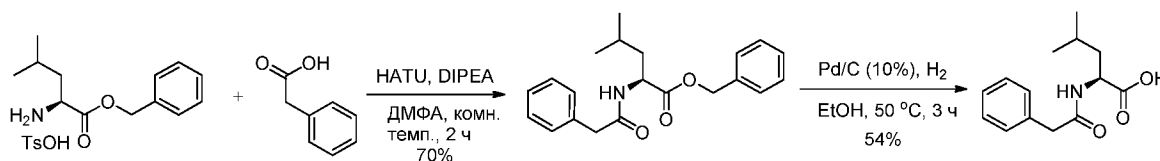


Схема синтеза:



Методики и характеристики:

[00246] Стадия 1: (S)-бензил-4-метил-2-(2-фенилацетида)пентаноат:

[00247] К раствору пара-толуолсульфоната бензильного эфира L-лейцина (500 мг, 1,27 ммоль), 2-фенилуксусной кислоты (260 мг, 1,91 ммоль) и HATU (726 мг, 1,91 ммоль) в ДМФА (10 мл) добавляли DIPEA (410 мг, 3,18 ммоль) и перемешивали раствор в течение 2 ч при комн. темп. Раствор очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (Boston C18 21*250 мм 10 мкм, подвижная фаза: А: 0,1 % трифторуксусная кислота; В: ацетонитрил)

с получением (S)-бензил-4-метил-2-(2-фенилацетида)пентаноата (300 мг, 0,88 ммоль, 70%) в виде белого твердого вещества. MS (EI⁺, m/z): 340,2 [M+H]⁺.

[00248] Стадия 2: (S)-4-метил-2-(2-фенилацетида)пентановая кислота [I-12]:

[00249] К перемешиваемому раствору (S)-бензил-4-метил-2-(2-фенилацетида)пентаноата (250 мг, 0,74 ммоль) в EtOH (10 мл) добавляли каталитическое количество Pd/C (10%, 20 мг). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере водорода в течение 3 ч при 50°C. Полученный раствор фильтровали и концентрировали с получением (S)-4-метил-2-(2-фенилацетида)пентановой кислоты (I-12), (100 мг, 0,40 ммоль, 54%) в виде белого твердого вещества. MS (EI⁺, m/z): 250,2 [M+H]⁺. 1H-ЯМР (500 МГц, MeOD): δ 7,24-7,32 (m, 5H), 4,44 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 3,58 (s, 2H), 1,64-1,68 (m, 3H), 0,96 (d, J = 6,0 Hz, 3H), 0,91 (d, J = 6,0 Hz, 3H).

[00250] Пример 13: (S)-2-(изопропиламино)-4-метилпентановая кислота [I-13]:

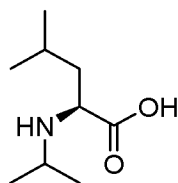
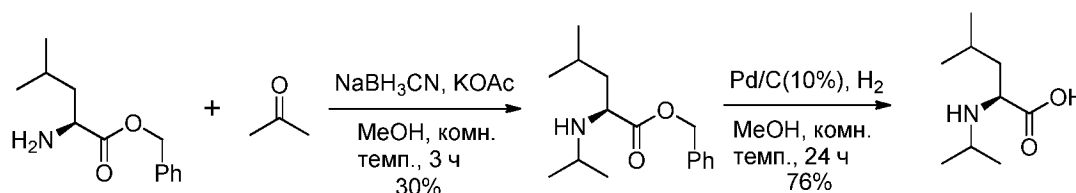


Схема синтеза:



Методики и характеристики:

[00251] Стадия 1: (S)-бензил-2-(изопропиламино)-4-метилпентаноат:

[00252] К перемешиваемому раствору пара-толуолсульфоната бензильного эфира L-лейцина (1,0 г, 2,53 ммоль) в MeOH (30 мл) добавляли ацетон (177 мг, 3,05 ммоль) и ацетат калия (0,5 г, 5,08 ммоль), и перемешивали смесь в течение 30 мин при комн. темп., затем добавляли цианоборогидрид натрия (0,24 г, 3,81 ммоль) и перемешивали смесь в течение еще 3 ч при комн. темп. Смесь тушили добавлением насыщ. раствора NaHCO₃ (50 мл), экстрагировали EtOAc (50 млx2), промывали полученным раствором (50 мл) и рассолом (50 мл) и фильтровали. Органическую фазу концентрировали, очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (Boston C18 21*250 мм 10 мкм, подвижная фаза: А: 0,1 % трифторуксусная кислота; В: ацетонитрил) с получением (S)-бензил 2-(изопропиламино)-4-метилпентаноата (200 мг, 0,76 ммоль, 30%) в виде бесцветного масла. MS (EI⁺, m/z): 264,3 [M+H]⁺, 1H-ЯМР (500 МГц, MeOD): δ 7,22~7,29 (m, 5H),

5,07 (dd, $J = 11,5$ Hz, 17,0 Hz, 2H), 3,33(dd, $J = 6,5$ Hz, 8,5 Hz, 1H), 2,54~2,59 (m, 1H), 1,30~1,48 (m, 3H), 0,72~0,94 (m, 12H).

[00253] Стадия 2: (S)-2-(изопропиламино)-4-метилпентановая кислота [I-13]:

[00254] К перемешиваемому раствору (S)-бензил 2-(изопропиламино)-4-метилпентаноата (200 мг, 0,76 ммоль) в MeOH (10 мл) добавляли каталитическое количество Pd/C (10%, 50 мг). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере водорода в течение 24 ч при комн. темп. Полученный раствор фильтровали и концентрировали фильтрат с получением (S)-2-(изопропиламино)-4-метилпентановой кислоты (I-13), (100 мг, 0,57 ммоль, 76%) в виде белого твердого вещества. MS (EI⁺, m/z): 174,3 [M+H]⁺. ¹H-ЯМР (500 МГц, MeOD): δ 3,56 (dd, $J = 6,0$ Hz, 8,5 Hz, 1H), 3,33~3,40 (m, 1H), 1,75~1,86 (m, 2H), 1,53~1,58 (m, 1H), 1,31~1,36 (m, 6H), 0,96~1,02 (m, 6H), 3,85 (dd, $J = 5,5$ Hz, 8,5 Hz, 1H), 2,87 (q, $J = 6,0$ Hz, 1H), 2,68 (dd, $J = 7,5$ Hz, 12,0 Hz, 1H), 1,92~1,99 (m, 1H), 1,65~1,78 (m, 3H), 0,88~0,96 (m, 12H).

[00255] Пример 14: (S)-2-(изобутиламино)-4-метилпентановая кислота [I-14]:

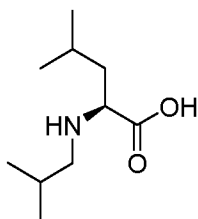
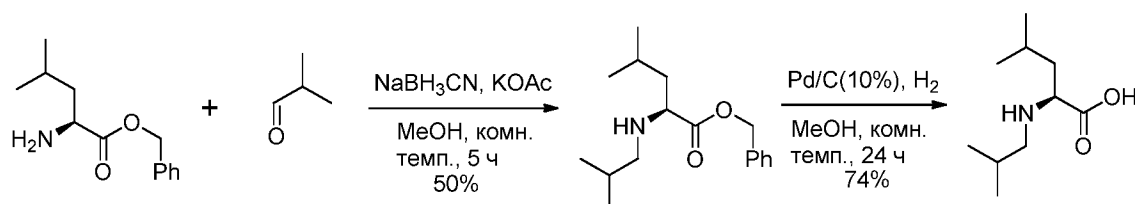


Схема синтеза:



Методики и характеристики:

[00256] Стадия 1: (S)-бензил-2-(изобутиламино)-4-метилпентаноат:

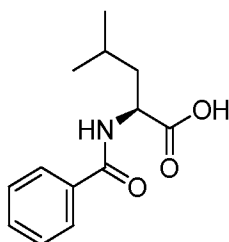
[00257] К перемешиваемому раствору пара-толуолсульфоната бензильного эфира L-лейцина (1,0 г, 2,53 ммоль) в MeOH (30 мл) добавляли изомасляный альдегид (0,22 г, 3,05 ммоль) и ацетат калия (0,5 г, 5,08 ммоль), и смесь перемешивали смесь в течение 30 мин при комн. темп., затем добавляли цианоборогидрид натрия (0,24 г, 3,81 ммоль). Смесь перемешивали в течение еще 5 ч при комн. темп. Смесь тушили добавлением насыщ. раствора NaHCO₃ (50 мл), экстрагировали EtOAc (50 мл x 2), промывали полученным раствором (50 мл) и рассолом (50 мл) и фильтровали. Органическую фазу

концентрировали очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (Boston C18 21*250 мм 10 мкм, подвижная фаза: А: 0,1 % трифторуксусная кислота; В: ацетонитрил) с получением (S)-бензил-2-(изобутиламино)-4-метилпентаноата (300 мг, 1,08 ммоль, 50%) в виде бесцветного масла. MS (EI⁺, m/z): 278,2 [M+H]⁺. ¹H-ЯМР (500 МГц, ДМСО-d₆): δ 9,16 (s, 1H), 9,14 (d, J = 17,5 Hz, 2H), 7,42-7,43 (m, 5H), 5,28 (q, J = 12,0 Hz, 2H), 4,08-4,09 (m, 1H), 2,87-2,89 (m, 1H), 2,65-2,66 (m, 1H), 1,91-1,95 (m, 1H), 1,62~1,71 (m, 3H), 0,88~0,94 (m, 12H).

[00258] Стадия 2: (S)-2-(изобутиламино)-4-метилпентановая кислота [I-14]:

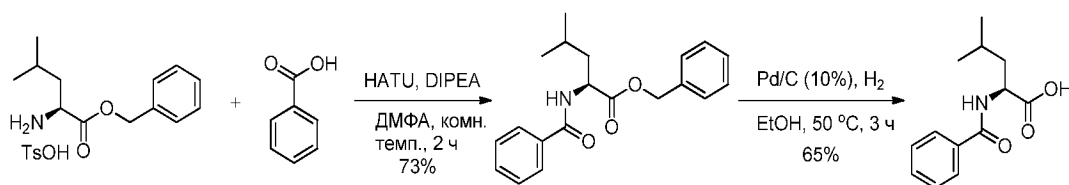
[00259] К перемешиваемому раствору (S)-бензил-2-(изобутиламино)-4-метилпентаноата (300 мг, 1,08 ммоль) в MeOH (10 мл), добавляли каталитическое количество Pd/C (10%, 50 мг). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере водорода в течение 24 ч при комн. темп. Полученный раствор фильтровали и концентрировали фильтрат с получением (S)-2-(изобутиламино)-4-метилпентановой кислоты (I-14), (150 мг, 0,8 ммоль, 74%) в виде белого твердого вещества. MS (EI⁺, m/z): 188,3 [M+H]⁺. ¹H-ЯМР (500 МГц, ДМСО-d₆): δ 8,82 (s, 2H), 3,85 (dd, J = 5,5 Hz, 8,5 Hz, 1H), 2,87 (q, J = 6,0 Hz, 1H), 2,68 (dd, J = 7,5 Hz, 12,0 Hz, 1H), 1,92~1,99 (m, 1H), 1,65~1,78 (m, 3H), 0,88~0,96 (m, 12H).

[00260] Пример 15: (S)-2-бензамидо-4-метилпентановая кислота [I-15]:



I-15

Схема синтеза:



Методики и характеристики:

[00261] Стадия 1: (S)-бензил-2-бензамидо-4-метилпентаноат:

[00262] К раствору пара-толуолсульфоната бензильного эфира L-лейцина (500 мг, 1,27 ммоль), бензойной кислоты (223 мг, 1,91 ммоль) и HATU (726 мг, 1,91 ммоль) в ДМФА

(10 мл) добавляли DIPEA (410 мг, 3,18 ммоль) и перемешивали раствор в течение 2 ч при комн. темп. Раствор очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (Boston C18 21*250 мм 10 мкм, подвижная фаза: А: 0,1 % трифторуксусная кислота; В: ацетонитрил) с получением (S)-бензил-2-бензамидо-4-метилпентаноата (300 мг, 0,92 ммоль, 73%) в виде белого твердого вещества. MS (EI⁺, m/z): 326,2 [M+H]⁺.

[00263] Стадия 2: (S)-2-бензамидо-4-метилпентановая кислота [I-15]:

[00264] К перемешиваемому раствору (S)-бензил-2-бензамидо-4-метилпентаноата (100 мг, 0,46 ммоль) в EtOH (10 мл) добавляли каталитическое количество Pd/C (10%, 20 мг). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере водорода в течение 3 ч при 50 °С. Полученный раствор фильтровали и концентрировали с получением (S)-2-бензамидо-4-метилпентановой кислоты (I-15), (100 мг, 0,42 ммоль, 65%) в виде белого твердого вещества. MS (EI⁺, m/z): 236,2 [M+H]⁺. ¹H-ЯМР (400 МГц, MeOD): δ 7,87 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 7,47-7,57 (m, 3H), 4,69 (dd, J = 4,0 Hz, 11,0 Hz, 1H), 1,75-1,84 (m, 3H), 1,01 (dd, J = 6,5 Hz, 10,5 Hz, 6H).

[00265] Пример 16: (S)-2-изобутирамидо-4-метилпентановая кислота [I-16]:

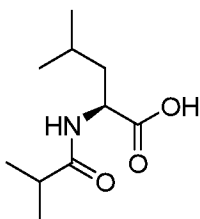
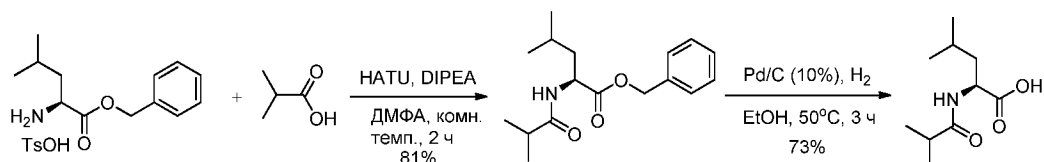


Схема синтеза:



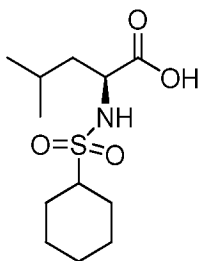
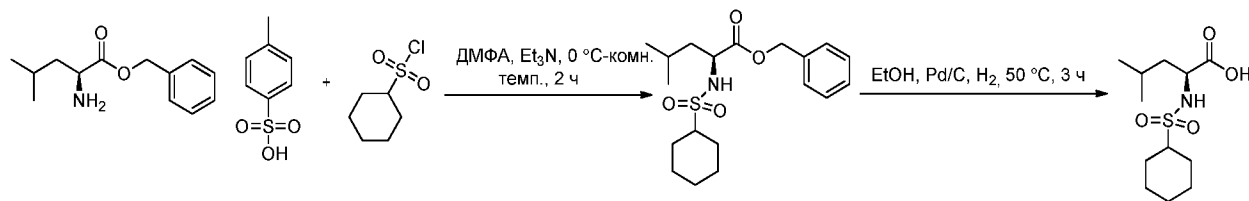
Методики и характеристики:

[00266] Стадия 1: (S)-бензил-2-изобутирамидо-4-метилпентаноат:

[00267] К раствору пара-толуолсульфоната бензильного эфира L-лейцина (500 мг, 1,27 ммоль), изомасляной кислоты (168 мг, 1,91 ммоль) и HATU (726 мг, 1,91 ммоль) в ДМФА (10 мл) добавляли DIPEA (410 мг, 3,18 ммоль) и перемешивали раствор в течение 2 ч при комн. темп. Раствор очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (Boston C18 21*250 мм 10 мкм, подвижная фаза: А: 0,1 % трифторуксусная кислота; В: ацетонитрил) с получением (S)-бензил 2-изобутирамидо-4-метилпентаноата (300 мг, 1,03 ммоль, 81%) в виде белого твердого вещества. MS (EI⁺, m/z): 292,2 [M+H]⁺.

[00268] Стадия 2: (S)-2-изобутирамидо-4-метилпентановая кислота [I-16]:

[00269] К перемешиваемому раствору (S)-бензил-2-(циклогексанкарбоксамидо)-4-метилпентаноата (200 мг, 0,69 ммоль) в EtOH (10 мл) добавляли каталитическое количество Pd/C (10%, 20 мг). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере водорода в течение 3 ч при 50 °С. Полученный раствор фильтровали и концентрировали с получением (S)-2-изобутирамидо-4-метилпентановой кислоты (100 мг, 0,50 ммоль, 73%) в виде белого твердого вещества. MS (EI⁺, m/z): 202,2 [M+H]⁺. ¹H-ЯМР (400 МГц, MeOD): δ 4,43 (t, J = 6,4 Hz, 1H), 2,49-2,56 (m, 1H), 1,60-1,74 (m, 3H), 1,12 (dd, J = 2,4 Hz, 6,8 Hz, 6H), 0,96 (dd, J = 6,4 Hz, 16,0 Hz, 6H).

[00270] Пример 17: (S)-2-(циклогексансульфонамидо)-4-метилпентановая кислота [I-17]:**Схема синтеза:****Методики и характеристики:**

[00271] Стадия 1: (S)-бензил-2-(циклогексансульфонамидо)-4-метилпентаноат:

[00272] К раствору (S)-бензил-2-амино-4-метилпентаноата-4-метилбензолсульфоната (500 мг, 1,27 ммоль) и Et₃N (642,89 мг, 6,35 ммоль) в ДМФА (3 мл), охлаждаемом в водяной бане, добавляли циклогексансульфонилхлорид (278,53 мг, 1,52 ммоль). Смесь перемешивали при 25 °С в течение 2 ч. Раствор разбавляли этилацетатом (10 мл), промывали полученным раствором (10 мл x 3) и рассолом (10 мл) и фильтровали, сушили с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (Boston C18 21*250 мм 10 мкм, подвижная фаза: А: 0,1 % трифторуксусная кислота; В: ацетонитрил) с получением (S)-бензил-2-(циклогексансульфонамидо)-4-метилпентаноата (200 мг, 0,544

ммоль, 98%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 368,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H -ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 7,70 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,38 (t, $J = 6,5$ Hz, 4H), 7,37 – 7,32 (m, 1H), 5,14 (q, $J = 12,5$ Hz, 2H), 3,91 (td, $J = 5,0$ Hz, 9,5 Hz, 1H), 2,69–2,74 (m, 1H), 2,05 (d, $J = 12,5$ Hz, 1H), 1,97 (d, $J = 12,5$ Hz, 1H), 1,74 – 1,67 (m, 2H), 1,57 – 1,51 (m, 2H), 1,50 – 1,44 (m, 1H), 1,36 – 0,99 (m, 5H), 0,87 (dt, $J = 10,5$ Hz, $J = 20,5$ Hz, 6H).

[00273] Стадия 2: (S)-2-(циклогексансульфонамидо)-4-метилпентановая кислота [I-17]:

[00274] К раствору (S)-бензил-2-(циклогексансульфонамидо)-4-метилпентаноата (192 мг, 0,552 ммоль) в EtOH (3 мл), добавляли Pd/C (20 мг, 10%). Реакционную смесь перемешивали при 50 °C в течение 4 ч в атмосфере водорода. Смесь фильтровали и промывали фильтровальный осадок MeOH (10 мл). Фильтрат концентрировали с получением (S)-2-(циклогексансульфонамидо)-4-метилпентановой кислоты (**I-17**), (23,3 мг, 0,084 ммоль, 100%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 300,2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 12,75 (s, 1H), 7,47 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 3,76 (td, $J = 5,0$ Hz, 9,5 Hz, 1H), 2,82 – 2,69 (m, 1H), 2,18 – 1,97 (m, 2H), 1,82 – 1,69 (m, 3H), 1,61 (d, $J = 12,5$ Hz, 1H), 1,54 – 1,40 (m, 2H), 1,39 – 1,07 (m, 5H), 0,95 – 0,80 (m, 6H).

[00275] Пример 18: (S)-4-метил-2-(фенилметилсульфонамидо)пентановая кислота [I-18]:

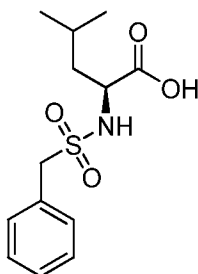
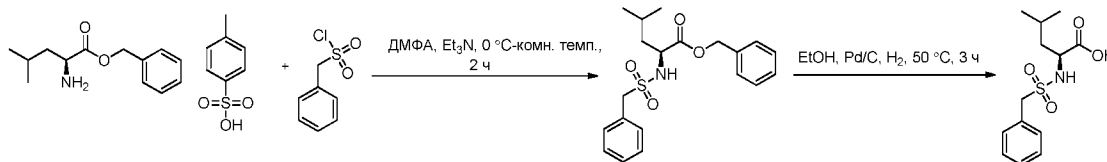


Схема синтеза:



Методики и характеристики:

[00276] Стадия 1: (S)-бензил-4-метил-2-(фенилметилсульфонамидо)пентаноат:

[00277] К раствору (S)-бензил 2-амино-4-метилпентаноата-4-метилбензолсульфоната (500 мг, 1,27 ммоль) и Et_3N (642,89 мг, 6,35 ммоль) в ДМФА (3 мл), охлаждаемому в водяной бане, добавляли фенилметансульфонилхлорид (290,71 мг, 1,52 ммоль). Смесь

перемешивали при 25 °С в течение 2 ч. Раствор разбавляли этилацетатом (10 мл), промывали полученным раствором (10 мл x 3) и рассолом (10 мл) и фильтровали, сушили с помощью бесводного сульфата натрия, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (Boston C18 21*25 0мм 10 мкм, подвижная фаза: А: 0,1 % трифторуксусная кислота; В: ацетонитрил) с получением (S)-бензил-4-метил-2-(фенилметилсульфонамидо)пентаноата (149 мг, 0,396 ммоль, 90%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI+, m/z): 398,0 [M+Na]⁺. ¹H - ЯМР (500 МГц, ДМСО-d₆) δ 7,81 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,52 – 7,18 (m, 9H), 5,15 (s, 2H), 4,28 (dd, J = 13,5 Hz, 44,5 Hz, 2H), 3,87 (dd, J = 8,0 Hz, 15,0 Hz, 1H), 1,57 – 1,15 (m, 4H), 0,82 (dd, J = 4,5 Hz, 6,0 Hz, 6H).

[00278] Стадия 2: (S)-4-метил-2-(фенилметилсульфонамидо)пентановая кислота [I-18]:

[00279] К раствору (S)-бензил-4-метил-2-(фенилметилсульфонамидо)пентаноата (121 мг, 0,322 ммоль) в EtOH (3 мл) добавляли Pd/C (20 мг, 10%). Эту реакционную смесь перемешивали при 50 °С в течение 4 ч в атмосфере водорода. Смесь фильтровали и промывали фильтровальный осадок MeOH (10 мл). Фильтрат концентрировали с получением (S)-4-метил-2-(фенилметилсульфонамидо)пентановой кислоты (I-18), (41,2 мг, 0,144 ммоль, 100%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI+, m/z): 308,0 [M+Na]⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,77 (s, 1H), 7,59 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,47 – 7,25 (m, 5H), 4,30 (dd, J = 13,5 Hz, 37,0 Hz, 2H), 3,75 (dd, J = 7,5 Hz, 15,5 Hz, 1H), 1,65 (dt, J = 6,5 Hz, 13,5 Hz, 1H), 1,45 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 0,85 (dd, J = 1,5 Hz, 6,5 Hz, 6H).

[00280] Пример 19: (S)-4-метил-2-(метилсульфонамидо)пентановая кислота [I-19]:

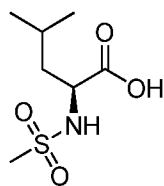
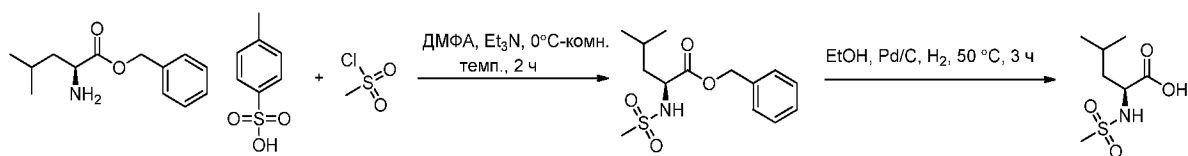


Схема синтеза:



Методики и характеристики:

[00281] Стадия 1: (S)-бензил-4-метил-2-(метилсульфонамидо)пентаноат:

[00282] К раствору (*S*)-бензил-2-амино-4-метилпентаноат-4-метилбензолсульфоната (500 мг, 1,27 ммоль) и Et₃N (642,89 мг, 6,35 ммоль) в ДМФА (3 мл), охлаждаемого в водяной бане, добавляли метансульфонилхлорид (290,71 мг, 1,52 ммоль), смесь перемешивали при 25 °С в течение 2 ч. Раствор разбавляли этилацетатом (10 мл), промывали полученным раствором (10 мл x 3) и рассолом (10 мл) и фильтровали, сушили с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (Boston C18 21*250 мм 10 мкм, подвижная фаза: А: 0,1 % трифторуксусная кислота; В: ацетонитрил) с получением (*S*)-бензил-4-метил-2-(метилсульфонамидо)пентаноата (192 мг, 0,641 ммоль, 98%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (ЕГ⁺, m/z): 323,0 [M+Na]⁺. ¹H - ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 7,79 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,42 – 7,36 (m, 4H), 7,37 – 7,32 (m, 1H), 5,16 (s, 2H), 3,97 (td, *J* = 6,0 Hz, 9,0 Hz, 1H), 2,85 (s, 3H), 1,68 (dq, *J* = 6,5 Hz, 13,0 Hz, 1H), 1,54 – 1,46 (m, 2H), 0,91 – 0,82 (m, 6H).

[00283] Стадия 2: (*S*)-4-метил-2-(метилсульфонамидо)пентановая кислота [I-19]:

[00284] К раствору (*S*)-бензил-4-метил-2-(метилсульфонамидо)пентаноата (149 мг, 0,497 ммоль) в EtOH (3 мл) добавляли Pd/C (20 мг, 10%). Эту реакционную смесь перемешивали при 50 °С в течение 4 ч в атмосфере водорода. Смесь фильтровали и промывали фильтровальный осадок MeOH (10 мл). Фильтрат концентрировали с получением (*S*)-4-метил-2-(метилсульфонамидо)пентановой кислоты (**I-19**), (31,4 мг, 0,150 ммоль, 100%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (ЕГ⁺, m/z): 232,1 [M+Na]⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 12,82 (s, 1H), 7,56 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 3,82 (dd, *J* = 8,0 Hz, 15,5 Hz, 1H), 2,88 (s, 3H), 1,72 (dt, *J* = 6,5 Hz, 13,0 Hz, 1H), 1,48 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H), 0,89 (t, *J* = 7,0 Hz, 6H).

[00285] Пример 20: (*S*)-2-амино-4-метил-N-фенилпентамид [I-20]:

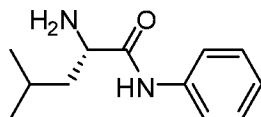
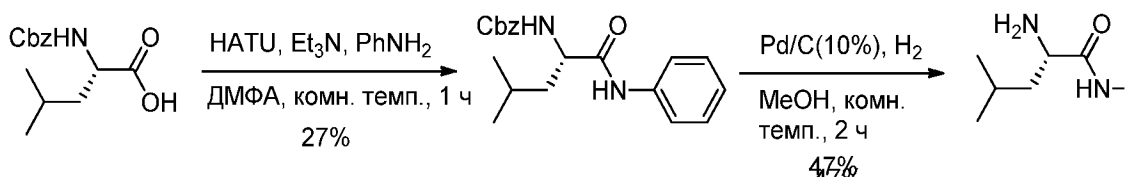


Схема синтеза:



Методики и характеристики:

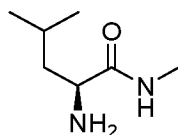
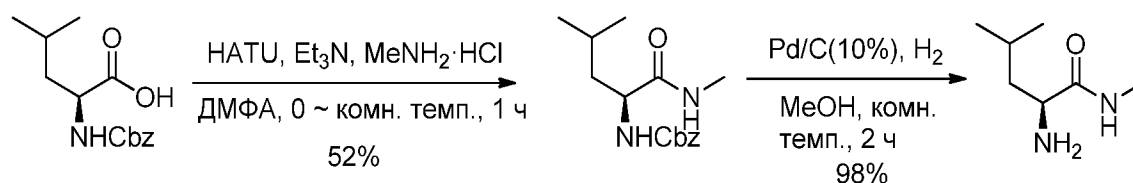
[00286] Стадия 1: (S)-бензил-4-метил-1-оксо-1-(фениламино)пентан-2-илкарбамат:

[00287] К раствору (S)-2-(бензилоксикарбониламино)-4-метилпентановой кислоты (1,0 г, 3,77 ммоль) в ДМФА (20 мл) добавляли анилин (702 мг, 7,55 ммоль), HATU (1,72 г, 4,52 ммоль) и Et₃N (1,14 г, 11,31 ммоль) при комн. темп. По прошествии 2 ч раствор разбавляли EtOAc (80 мл), промывали полученным раствором (80 мл x 3) и рассолом (80 мл) и фильтровали, сушили (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали с помощью хроматографии (силикагель, этилацетат/петролейный эфир=1/3) с получением (S)-бензил-4-метил-1-1-(фениламино)пентан-2-илкарбамата (350 мг, 1,03 ммоль, 27%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 341,1 [M+H]⁺.

[00288] Стадия 2: (S)-2-амино-4-метил-N-фенилпентамид [I-20]:

[00289] Смесь (S)-бензил-4-метил-1-оксо-1-(фениламино)пентанил-2-илкарбамата (350 мг, 1,03 ммоль) и Pd/C(10 %, 50 мг) в MeOH (10 мл) перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч в атмосфере водорода. Смесь фильтровали и промывали фильтровальный осадок MeOH (10 мл). Фильтрат концентрировали с получением (S)-2-амино-4-метил-N-фенилпентамида (I-20), (100 мг, 0,49 ммоль, 47%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 207,2 [M+H]⁺. ¹H-ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆): δ 9,86 (s, 1H), 7,63 (dd, J = 1,0 Hz, 8,5 Hz, 2H), 7,31-7,27 (m, 2H), 7,03 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 3,31 (dd, J = 5,0 Hz, 8,5 Hz, 1H), 1,80-1,71 (m, 1H), 1,50-1,44 (m, 1H), 1,35-1,29 (m, 1H), 0,90 (dd, J = 6,5 Hz, 14,0 Hz, 6H).

[00290] Пример 21: (S)-2-амино-N,4-диметилпентамид [I-21]:

**Схема синтеза:**

Методики и характеристики:

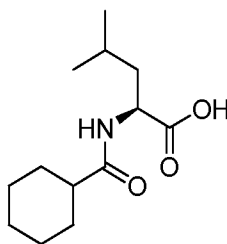
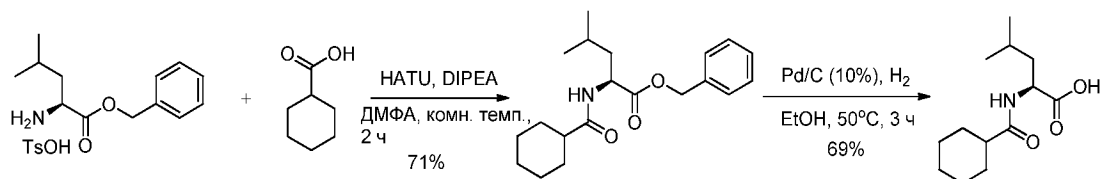
[00291] Стадия 1: (S)-бензил-4-метил-1-(метиламино)-1-оксопентан-2-илкарбамат:

[00292] К раствору (S)-2-(бензилоксикарбониламино)-4-метилпентановой кислоты (1,0 г, 3,77 ммоль) в ДМФА (20 мл) добавляли $\text{MeNH}_2 \cdot \text{HCl}$ (509 мг, 7,54 ммоль), HATU (1,72 г, 4,52 ммоль) и Et₃N (1,14 г, 11,31 ммоль) при 25 °С. По прошествии 2 ч раствор разбавляли EtOAc (80 мл), промывали полученным раствором (80 мл x 3) и рассолом (80 мл) и фильтровали, сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали с помощью хроматографии (силикагель, этилацетат/петролейный эфир = 1/3) с получением (S)-бензил-4-метил-1-(метиламино)-1-оксопентан-2-илкарбамата (550 мг, 1,98 ммоль, 52%) в виде бесцветного масла. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 279,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00293] Стадия 2: (S)-2-амино-N,4-диметилпентамид [I-21]:

[00294] Смесь (S)-бензил-4-метил-1-(метиламино)-1-оксопентан-2-илкарбамата (300 мг, 1,08 ммоль) и Pd/C(10%) (50 мг) в MeOH (10 мл) перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч в атмосфере водорода. Смесь фильтровали и промывали фильтровальный осадок MeOH (10 мл). Фильтрат концентрировали с получением (S)-2-амино-N,4-диметилпентамида (I-21), (152 мг, 1,05 ммоль, 98%) в виде бесцветного масла. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 145,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ¹H-ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6): δ 7,80 (s, 1H), 3,10 (dd, $J = 5,0$ Hz, 9,0 Hz, 1H), 2,57 (dd, $J = 3,0$ Hz, 5,0 Hz, 3H), 1,81 (s, 2H), 1,66-1,69 (m, 1H), 1,34-1,39 (m, 1H), 1,16-1,22 (m, 1H), 0,81-0,87 (m, 6H).

[00295] Пример 22: (S)-4-метил-2-(фениламино)пентановая кислота [I-22]:

**Схема синтеза:**

Методики и характеристики:

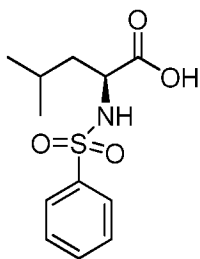
[00296] Стадия 1: (S)-бензил-2-(циклогексанкарбоксамидо)-4-метилпентаноат:

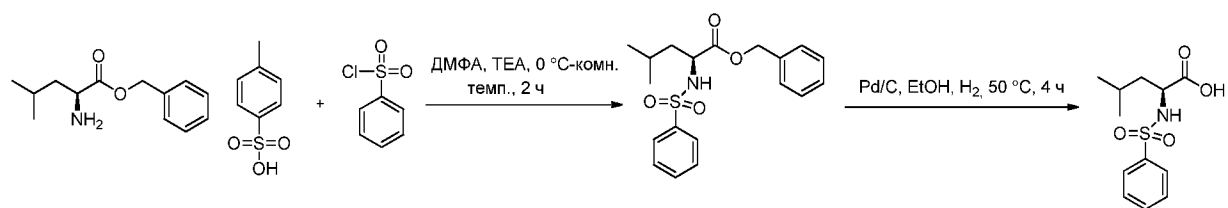
[00297] К раствору пара-толуолсульфоната бензильного эфира L-лейцина (500 мг, 1,27 ммоль), циклогексанкарбоновой кислоты (244 мг, 1,91 ммоль) и HATU (726 мг, 1,91 ммоль) в ДМФА (10 мл) добавляли DIPEA (410 мг, 3,18 ммоль) и перемешивали раствор в течение 2 ч при комн. темп. Раствор очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (Boston C18 21*250 мм 10 мкм, подвижная фаза: А: 0,1 % трифторуксусная кислота; В: ацетонитрил) с получением (S)-бензил-2-(циклогексанкарбоксамидо)-4-метилпентаноата (300 мг, 0,91 ммоль, 71%) в виде белого твердого вещества. MS (EI⁺, m/z): 332,3 [M+H]⁺.

[00298] Стадия 2: (S)-2-(циклогексанкарбоксамидо)-4-метилпентановая кислота [I-22]:

[00299] К перемешиваемому раствору (S)-бензил-2-(циклогексанкарбоксамидо)-4-метилпентаноата (200 мг, 0,60 ммоль) в EtOH (10 мл) добавляли каталитическое количество Pd/C (10%, 20 мг). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере водорода в течение 3 ч при 50 °С. Полученный раствор фильтровали и концентрировали с получением (S)-2-(циклогексанкарбоксамидо)-4-метилпентановой кислоты (**I-22**), (100 мг, 0,41 ммоль, 69%) в виде белого твердого вещества. MS (EI⁺, m/z): 242,3 [M+H]⁺. ¹H-ЯМР (500 МГц, CD₃OD): δ 4,43 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 2,29 (td, J = 8,0 Hz, 11,0 Hz, 1H), 1,74-1,85 (m, 4H), 1,63-1,72 (m, 4H), 1,43-1,49 (m, 2H), 1,26-1,36 (m, 3H), 0,96 (dd, J = 6,0 Hz, 20,5 Hz, 6H).

[00300] Пример 25: (S)-4-метил-2-(фенилсульфонамидо)пентановая кислота [I-25]:

**Схема синтеза:**



Методики и характеристики:

[00301] Стадия 1: (S)-бензил-4-метил-2-(фенилсульфонамидо)пентаноат:

[00302] К раствору (S)-бензил-2-амино-4-метилпентаноат-4-метилбензолсульфоната (300 мг, 0,762 ммоль) и Et₃N (385,73 мг, 3,81 ммоль) в ДМФА (3 мл), охлаждаемом в водяной бане, добавляли бензолсульфонилхлорид (148,12 мг, 0,838 ммоль). Смесь перемешивали при 25 °С в течение 2 ч. Раствор разбавляли этилацетатом (10 мл), промывали полученным раствором (10 мл x 3) и рассолом (10 мл) и фильтровали, сушили с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт (280 мг, чистота: 85%, выход: 74%) непосредственно использовали на следующей стадии. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 384,1 [M+Na]⁺.

[00303] Стадия 2: (S)-4-метил-2-(фенилсульфонамидо)пентановая кислота [I-25]:

[00304] К раствору (S)-бензил-4-метил-2-(фенилсульфонамидо)пентаноата (200 мг, 0,553 ммоль) в EtOH (3 мл), добавляли Pd/C (20 мг, 10%). Эту реакционную смесь перемешивали при 50 °С в течение 4 ч в атмосфере водорода. Смесь фильтровали и промывали фильтровальный осадок MeOH (10 мл). Фильтрат концентрировали с получением (S)-4-метил-2-(фенилсульфонамидо)пентановой кислоты (**I-25**), (63,7 мг, 0,234 ммоль, 100%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 294,0 [M+Na]⁺. ¹H- ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ 12,61 (s, 1H), 8,16 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,79 – 7,73 (m, 2H), 7,62 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H), 7,56 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 3,63 (dd, *J* = 8,5 Hz, 14,5 Hz, 1H), 1,53 (td, *J* = 6,5 Hz, 13,5Hz, 1H), 1,41 – 1,31 (m, 2H), 0,79 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 0,66 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H).

[00305] Пример 26: (S)-4-метил-2-(фениламино)пентановая кислота [I-26]:

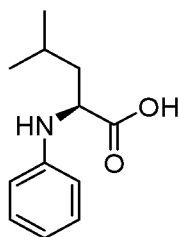
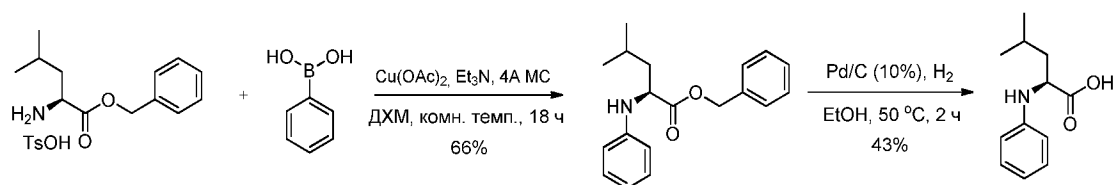


Схема синтеза:



Методики и характеристики:

[00306] Стадия 1: (S)-бензил-4-метил-2-(фениламино)пентаноат:

[00307] К смеси пара-толуолсульфоната бензильного эфира L-лейцина (200 мг, 0,51 ммоль), фенилборной кислоты (186 мг, 1,52 ммоль) и $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ (462 мг, 2,54 ммоль) в ДХМ (10 мл) добавляли 4А МС (1,0 г) и Et_3N (155 мг, 1,52 ммоль) и перемешивали смесь в течение 18 ч при комн. темп. Смесь тушили добавлением полученного раствора, фильтровали (50 мл), экстрагировали EtOAc (50 мл x 2), промывали полученным раствором (50 мл) и рассолом (50 мл) и фильтровали. Органическую фазу концентрировали очищали с помощью хроматографии (силикагель, этилацетат/петролейный эфир=1/20) с получением (S)-бензил-4-метил-2-(фениламино)пентаноата (100 мг, 0,34 ммоль, 66%) в виде бесцветного масла. MS (EI^+ , m/z): 298,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00308] Стадия 2: (S)-4-метил-2-(фениламино)пентановая кислота [I-26]:

[00309] К перемешиваемому раствору (S)-бензил 4-метил-2-(фениламино)пентаноата (100 мг, 0,34 ммоль) в EtOH (10 мл) добавляли каталитическое количество Pd/C (10%, 20 мг). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере водорода в течение 2 ч при 50 °C. Полученный раствор фильтровали и концентрировали с получением (S)-4-метил-2-(фениламино)пентановой кислоты (I-26), (30 мг, 0,15 ммоль, 43%) в виде белого твердого вещества. MS (EI^+ , m/z): 208,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H -ЯМР (400 МГц, CDCl_3): δ 7,23 (t, $J = 8,0$ Hz, 2H), 6,83 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H), 6,66 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 3,99 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 2,87 (q, $J = 6,0$ Hz, 1H), 1,72~1,86 (m, 2H), 1,62~1,68 (m, 1H), 0,85~1,03 (m, 6H).

[00310] Пример 36: (S)-2-ацетида-4-метилпентановая кислота [I-36]:

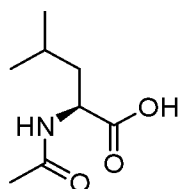
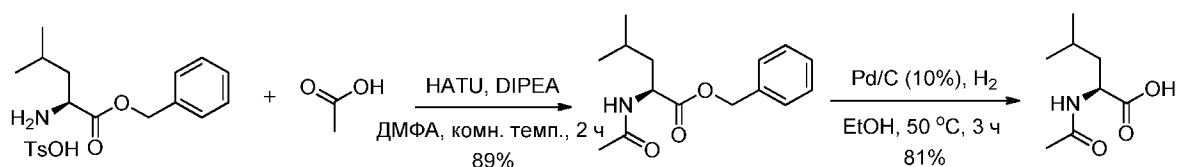


Схема синтеза:



Методики и характеристики:

[00311] Стадия 1: (S)-бензил-2-ацетамидо-4-метилпентаноат:

[00312] К раствору пара-толуолсульфоната бензильного эфира L-лейцина (500 мг, 1,27 ммоль), уксусной кислоты (114 мг, 1,91 ммоль) и HATU (726 мг, 1,91 ммоль) в ДМФА (10 мл) добавляли DIPEA (410 мг, 3,18 ммоль) и перемешивали раствор в течение 2 ч при комн. темп. Раствор очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (Boston C18 21*250 мм 10 мкм, подвижная фаза: А: 0,1 % трифторуксусная кислота; В: ацетонитрил) с получением (S)-бензил-2-ацетамидо-4-метилпентаноата (300 мг, 1,14 ммоль, 89%) в виде белого твердого вещества. MS (EI⁺, m/z): 264,2 [M+H]⁺.

[00313] Стадия 2: (S)-2-ацетамидо-4-метилпентановая кислота [I-36]:

[00314] К перемешиваемому раствору (S)-бензил-2-ацетамидо-4-метилпентаноата (250 мг, 0,74 ммоль) в EtOH (10 мл) добавляли каталитическое количество Pd/C (10%, 20 мг). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере водорода в течение 3 ч при 50 °C. Полученный раствор фильтровали и концентрировали с получением (S)-2-ацетамидо-4-метилпентановой кислоты (I-36), (100 мг, 0,57 ммоль, 81%) в виде белого твердого вещества. MS (EI⁺, m/z): 174,2 [M+H]⁺. ¹H-ЯМР (500 МГц, MeOD): δ 4,43 (dd, J = 6,0 Hz, 9,5 Hz, 1H), 2,00 (s, 3H), 1,61-1,73 (m, 3H), 0,97 (dd, J = 6,0 Hz, 17,5 Hz, 6H).

[00315] Пример 45: (S,E)-2-(4-метокси-4-оксобут-2-енамидо)-4-метилпентановая кислота [I-45]:

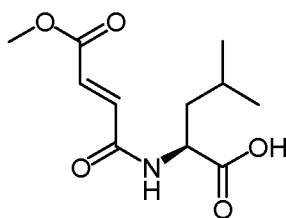
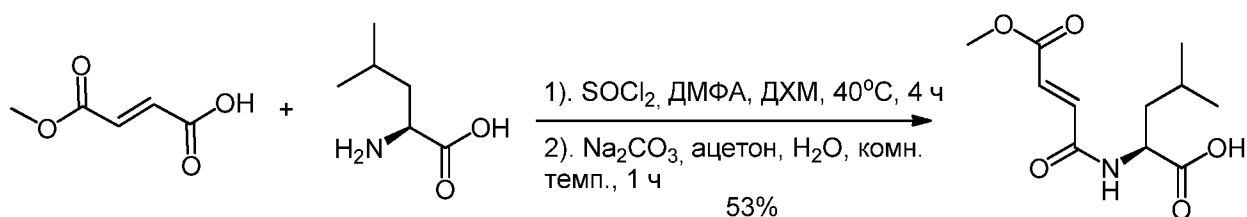


Схема синтеза:



Методики и характеристики:

[00316] Стадия 1: (S,E)-2-(4-метокси-4-оксобут-2-енамидо)-4-метилпентановая кислота [I-45]:

[00317] К раствору (E)-4-метокси-4-оксобут-2-еновой кислоты (1,0 г, 7,69 ммоль) в ДХМ (30 мл) добавляли SOCl_2 (1,83 г, 15,38 ммоль) и затем ДМФА (0,1 мл). Раствор нагревали до 40°C в течение 4 ч. Раствор концентрировали до сухости с получением масла. Масло разбавляли ДХМ (10 мл). К раствору (S)-2-амино-4-метилпентановой кислоты (1,0 г, 7,62 ммоль) в ацетоне (20 мл) добавляли по каплям насыщ. раствор Na_2CO_3 (20 мл), охлажденный в водяной бане. По прошествии 1 ч значение pH раствора довели до 2 с помощью 6 M раствора HCl , экстрагировали EtOAc (40 x 2), промывали полученным раствором (80 мл x 3) и рассолом (80 мл) и фильтровали, сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали с помощью хроматографии (силикагель, $\text{MeOH}/\text{ДХМ}=1/20$) с получением (S,E)-2-(4-метокси-4-оксобут-2-енамидо)-4-метилпентановая кислота (I-45), (1,0 г, 4,11 ммоль, 53%) в виде желтого масла. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 244,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H -ЯМР (400 МГц, CDCl_3): δ 7,32 (d, $J = 15,2$ Hz, 1H), 7,05 (d, $J = 15,2$ Hz, 1H), 6,85-6,89 (m, 2H), 7,30-7,46 (m, 1H), 3,82 (s, 1H), 1,63-1,78 (m, 3H), 0,97 (d, $J = 4,8$ Hz, 6H).

[00318] Примеры 46 и 47: (R)-2-амино-3,3-дифтор-4-метилпентановая кислота [I-46] и (S)-2-амино-3,3-дифтор-4-метилпентановая кислота [I-47]:

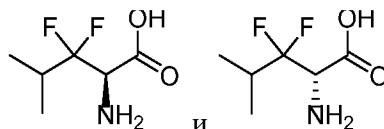
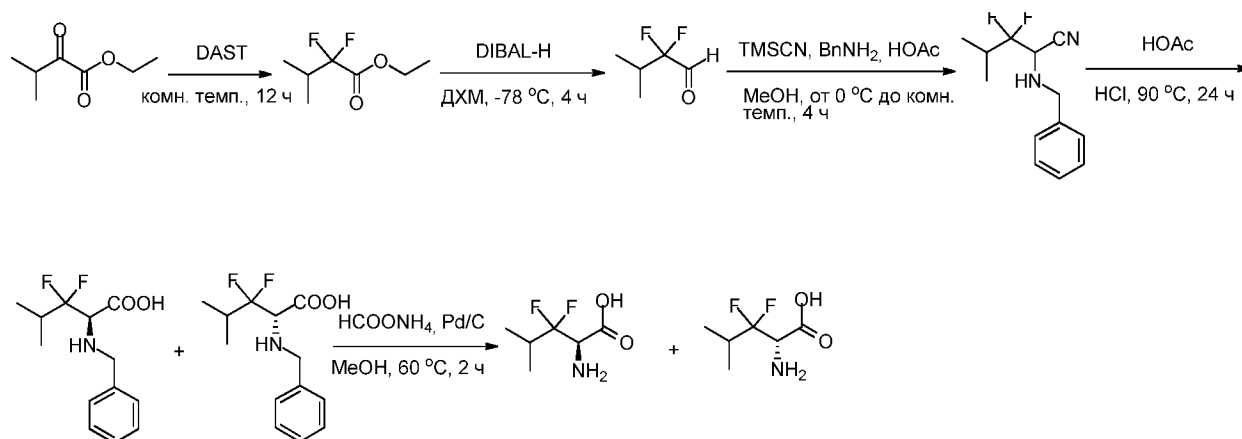


Схема синтеза:



Методики и характеристики:

[00319] Стадия 1: этил-2,2-дифтор-3-метилбутаноат:

[00320] Смесь этил-3-метил-2-оксобутаноата (10 г, 0,069 моль) и DAST (16,8 г, 0,10 моль) перемешивали при комн. темп. в течение 12 ч. После проверки с помощью ТСХ реакционную смесь по каплям медленно добавляли к холодному насыщенному водному раствору бикарбоната натрия. Смесь экстрагировали Et₂O (300 мл × 2) и промывали органические слои рассолом, сушили и концентрировали с получением неочищенного этил-2,2-дифтор-3-метилбутаноата (8,3 г), который непосредственно использовали на следующей стадии.

[00321] Стадия 2: 2,2-дифтор-3-метилбутаналь:

[00322] К раствору неочищенного этил-2,2-дифтор-3-метилбутаноата (8,3 г) в CH₂Cl₂ (200 мл) добавляли по каплям раствор DIBAL-H в гексанах (1,0 М, 69 мл, 69,0 ммоль) при -78 °C в атмосфере аргона и перемешивали смесь в течение 30 мин при -78 °C. После проверки с помощью ТСХ реакционную смесь тушили добавлением насыщенного раствора лимонной кислоты и экстрагировали Et₂O. Экстракт промывали насыщенным раствором лимонной кислоты, рассолом, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали при пониженном давлении с получением масляного альдегида 2,2-дифтор-3-метилбутаналь (4,2 г), который немедленно использовали на следующей стадии без очистки.

[00323] Стадия 3: 2-(бензиламино)-3,3-дифтор-4-метилпентаннитрил:

[00324] Раствор неочищенного 2,2-дифтор-3-метилбутаналь (4,2 г) в 50 мл MeOH охлаждали до 0 °C. По каплям добавляли уксусную кислоту (ледяную, 2,1 мл), поддерживая температуру около 0 °C, с последующим добавлением триметилсилилцианида (4,2 мл) в течение 15 мин. Реакционную смесь нагревали до 25 °C и перемешивали в течение ночи. Холодный полученный раствор фильтровали (200

мл), вносили в реакционную смесь и экстрагировали ее дихлорметаном (2*200 мл). Дихлорметановый слой промывали полученным раствором (2*100 мл), затем рассолом (2*50 мл), и фильтровали. Дихлорметановый слой сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного 2-(бензиламино)-3,3-дифтор-4-метилпентаннитрила (2,8 г), который немедленно использовали на следующей стадии без очистки. ЭСИ-МС (EI+, m/z): 238,2 [M+H]⁺.

[00325] Стадия 4: 2-(бензиламино)-3,3-дифтор-4-метилпентановая кислота:

[00326] Раствор неочищенного 2-(бензиламино)-3,3-дифтор-4-метилпентаннитрила (2,8 г) в 50 мл конц. соляной кислоты и 10 мл НОАс перемешивали при 90 °С в течение 24 ч и концентрировали. Остаток очищали с помощью препаративной ВЭЖХ с получением 2-(бензиламино)-3,3-дифтор-4-метилпентановой кислоты (513 мг) в виде белого твердого вещества. Чистый продукт очищали с помощью хиральной ВЭЖХ с получением (R)-2-(бензиламино)-3,3-дифтор-4-метилпентановой кислоты (80 мг) и (S)-2-(бензиламино)-3,3-дифтор-4-метилпентановой кислоты (63 мг), обе из которых представляли собой белые твердые вещества. ЭСИ-МС (EI+, m/z): 258,2 [M+H]⁺.

[00327] Стадия 5-A: (R)-2-амино-3,3-дифтор-4-метилпентановая кислота [I-46]:

[00328] К раствору (R)-2-(бензиламино)-3,3-дифтор-4-метилпентановой кислоты (80 мг, 0,31 ммоль) в 20 мл of MeOH добавляли HCOONH₄ (98 мг, 1,56 ммоль) и Pd/C (100 мг) при комн. темп. Смесь перемешивали при 60 °С в течение 2 ч. Реакционную смесь фильтровали и концентрировали с получением неочищенного продукта, который очищали с помощью обращенно-фазовой хроматографии на силикагеле с получением (R)-2-амино-3,3-дифтор-4-метилпентановой кислоты (I-46), (23 мг, 44%) в виде белого твердого вещества; ¹H-ЯМР (500 МГц, D₂O): δ 4,27 (dd, J = 24,0, 3,5 Hz, 1 H), 2,55-2,42 (m, 1 H), 1,04 (d, J = 7,0 Hz, 3 H), 0,993 (d, J = 6,5 Hz, 3 H).

[00329] Стадия 5-B: (S)-2-амино-3,3-дифтор-4-метилпентановая кислота [I-47]:

[00330] К раствору (S)-2-(бензиламино)-3,3-дифтор-4-метилпентановой кислоты (63 мг, 0,24 ммоль) в 15 мл of MeOH добавляли HCOONH₄ (77 мг, 1,22 ммоль) и Pd/C (100 мг) при комн. темп. Смесь перемешивали при 60 °С в течение 2 ч. Реакционную смесь фильтровали и концентрировали с получением неочищенного продукта, который очищали с помощью обращенно-фазовой хроматографии на силикагеле с получением (S)-2-амино-3,3-дифтор-4-метилпентановой кислоты (I-47), (14 мг, 34%) в виде белого твердого вещества; ¹H-ЯМР (500 МГц, D₂O): δ 4,27 (dd, J = 24,0, 3,5 Hz, 1 H), 2,55-2,42 (m, 1 H), 1,04 (d, J = 7,0 Hz, 3 H), 0,993 (d, J = 6,5 Hz, 3 H).

[00331] Пример 147: (*S*)-2-амино-4-метил-N-(метилсульфонил)пентамида гидрохлорид [I-147].

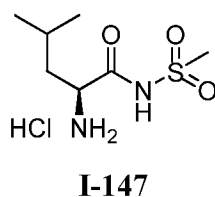
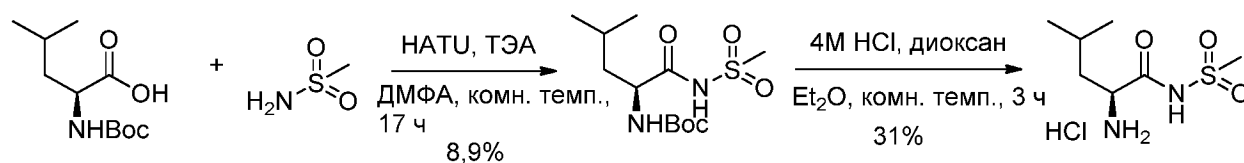


Схема синтеза:



Методики и характеристики:

Стадия 1: (*S*)-трет-бутил-4-метил-1-(метилсульфонамидо)-1-оксопентан-2-илкарбамат:

[00332] К раствору (*S*)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-4-метилпентановой кислоты (1.0 г, 4,32 ммоль), метансульфонамида (452 мг, 4,75 ммоль) и HATU (1,8 г, 4,75 ммоль) в ДМФА (30 мл) добавляли ТЭА (1,3 г, 12,9 ммоль) и перемешивали раствор в течение 17 ч при комн. темп. Раствор очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (Boston C18 21*250 мм 10 мкм, подвижная фаза: А: 0,1 % трифторуксусная кислота; В: ацетонитрил) с получением (*S*)-трет-бутил-4-метил-1-(метилсульфонамидо)-1-оксопентан-2-илкарбамата (130 мг, 0,42 ммоль, 8,9%) в виде белого твердого вещества. MS (EI-, m/z): 307,0 [M-H]⁻.

Стадия 2: (*S*)-2-амино-4-метил-N-(метилсульфонил)пентамида гидрохлорид [I-147]:

[00333] К раствору (*S*)-трет-бутил-4-метил-1-(метилсульфонамидо)-1-оксопентан-2-илкарбамата (130 мг, 0,42 ммоль) в Et₂O (15 мл) добавляли 4 М HCl/диоксан (5 мл) и перемешивали в течение 3 ч при комн. темп. Твердое вещество отфильтровывали с получением (*S*)-2-амино-4-метил-N-(метилсульфонил)пентамида гидрохлорида [I-147] в виде белого твердого вещества (32 мг, 0,13 ммоль, 31%). ЭСИ-МС (EI+, m/z): 209,1 [M+H]⁺, 1H ЯМР (500 МГц, CD₃OD) δ 3,96 (t, *J* = 3,0 Hz, 1H), 3,32 (s, 3H), 1,74-1,79 (m, 3H), 1,02-1,05 (m, 6H).

[00334] Пример 193: (*S*)-2-амино-N,4,4-триметил-N-(метилсульфонил)пентамида гидрохлорид [I-193].

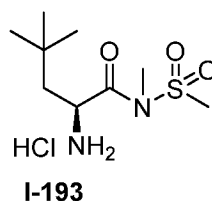
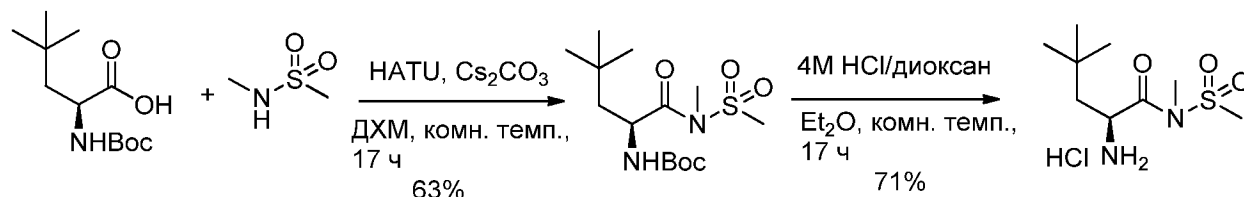


Схема синтеза:



Методики и характеристики:

Стадия 1: (*S*)-трет-бутил-4,4-диметил-1-(N-метилметилсульфонамидо)-1-оксопентан-2-илкарбамат:

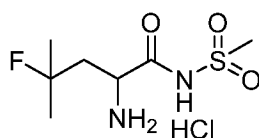
[00335] К раствору (*S*)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-4,4-диметилпентановой кислоты (500 мг, 1,97 ммоль) в ДХМ (60 мл) добавляли HATU (900 мг, 2,36 ммоль) и перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч. Затем к смеси добавляли Cs₂CO₃ (1,92 г, 5,91 ммоль), N-метилметансульфонамид (322 мг, 2,95 ммоль) и перемешивали в течение ночи при комн. темп. Раствор разбавляли водой (200 мл) и экстрагировали ДХМ (100 мл). Органическую фазу промывали водой (100 мл x 2) и рассолом (100 мл), сушили (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали в вакууме, неочищенный продукт очищали с помощью хроматографии (силикагель, этилацетат/петролейный эфир=1/5) с получением (*S*)-трет-бутил-4,4-диметил-1-(N-метилметилсульфонамидо)-1-оксопентан-2-илкарбамата (420 мг, 1,25 ммоль, 63%) в виде желтого масла. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 359,1 [M+Na]⁺.

Стадия 2: (*S*)-2-амино-N,4,4-триметил-N-(метилсульфонил)пентамида гидрохлорид[I-193]:

[00336] К раствору (*S*)-трет-бутил-4,4-диметил-1-(N-метилметилсульфонамидо)-1-оксопентан-2-илкарбамата (420 мг, 1,25 ммоль) в Et₂O (20 мл) добавляли 4 М HCl/диоксан (10 мл) и перемешивали в течение 17 ч при комн. темп. Твердое вещество фильтровали с получением (*S*)-2-амино-N,4,4-триметил-N-(метилсульфонил)пентамида

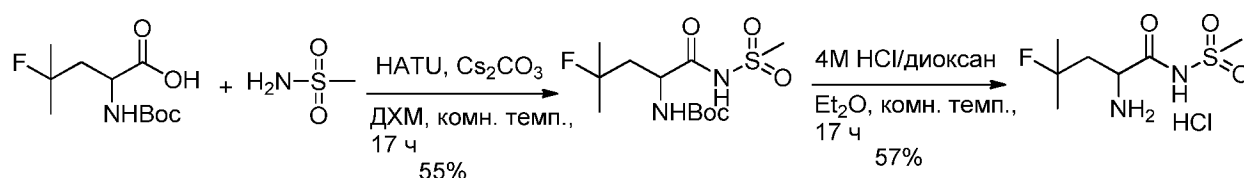
гидрохлорида **[I-193]** в виде белого твердого вещества (250 мг, 0,13 ммоль, 71%). ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 237,1 [M+H]⁺, 1H ЯМР (500 МГц, ДМСО) δ 8,55 (s, 3H), 4,59 (s, 1H), 3,50 (s, 3H), 3,26 (s, 3H), 1,81-1,85 (m, 1H), 1,63-1,67 (m, 1H), 0,95 (s, 9H).

[00337] Пример 192: 2-амино-4-фтор-4-метил-N-(метилсульфонил)пентамида гидрохлорид [I-192].



I-192

Схема синтеза:



Методики и характеристики:

Стадия 1: трет-бутил-4-фтор-4-метил-1-(метилсульфонамидо)-1-оксопентан-2-илкарбамат:

[00338] К раствору трет-бутил-4-фтор-4-метил-1-(метилсульфонамидо)-1-оксопентан-2-илкарбамата (270 мг, 1,08 ммоль) в ДХМ (50 мл) добавляли HATU (451 мг, 1,19 ммоль) и перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч. Затем к смеси добавляли Cs₂CO₃ (1,06 г, 3,24 ммоль), метансульфонамид (206 мг, 2,17 ммоль) и перемешивали в течение ночи при комн. темп. Раствор разбавляли водой (200 мл) и экстрагировали ДХМ (100 мл). Органическую фазу промывали водой (100 мл x 2) и рассолом (100 мл), сушили (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали в вакууме, неочищенный продукт очищали с помощью хроматографии (силикагель, этилацетат/петролейный эфир=1/5) с получением (S)-трет-бутил-4,4-диметил-1-(N-метилметилсульфонамидо)-1-оксопентан-2-илкарбамата (200 мг, 0,6 ммоль, 55%) в виде желтого масла. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 344,1 [M+NH₄]⁺.

Стадия 2: 2-амино-4-фтор-4-метил-N-(метилсульфонил)пентамида гидрохлорид [I-192].

[00339] К раствору (S)-трет-бутил-4,4-диметил-1-(N-метилметилсульфонамидо)-1-оксопентан-2-илкарбамата (200 мг, 0,6 ммоль) в Et₂O (20 мл) добавляли 4 М HCl/диоксан

(10 мл) и перемешивали в течение 17 ч при комн. темп. Твердое вещество фильтровали с получением 2-амино-4-фтор-4-метил-N-(метилсульфонил)пентамида гидрохлорида [I-192] в виде белого твердого вещества (89,8 мг, 0,34 ммоль, 57%). ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 227,1 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО) δ 8,44 (s, 3H), 4,02 (s, 1H), 3,25 (s, 3H), 2,16-2,25 (m, 1H), 2,03-2,10 (m, 1H), 1,43 (s, 3H), 1,38 (s, 3H).

[00340] Пример 190: (S)-метил-2-((S)-2-амино-4,4-диметилпентамидо)-4-метилпентаноата гидрохлорид [I-190].

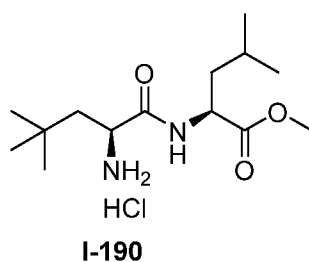
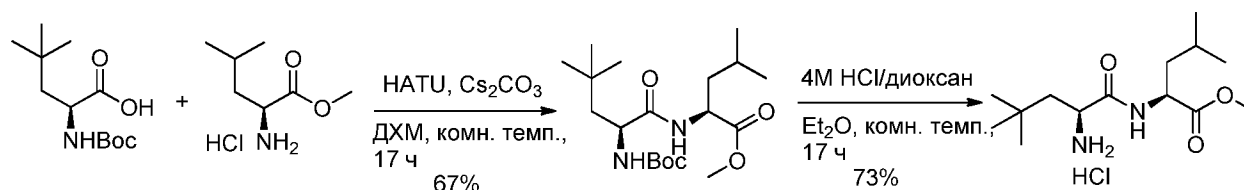


Схема синтеза:



Методики и характеристики:

Стадия 1: (S)-метил-2-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-4,4-диметилпентамидо)-4-метилпентаноат:

[00341] К раствору (S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-4,4-диметилпентановой кислоты (500 мг, 2,0 ммоль) в ДХМ (80 мл) добавляли HATU (900 мг, 2,3 ммоль) и перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч. Затем к смеси добавляли Cs₂CO₃ (1,95 г, 6,0 ммоль), (S)-метил-2-амино-4-метилпентаноата гидрохлорид (555 мг, 3,0 ммоль) и перемешивали в течение ночи при комн. темп. Раствор разбавляли водой (200 мл) и экстрагировали ДХМ (100 мл). Органическую фазу промывали водой (100 мл x 2) и рассолом (100 мл), сушили (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали в вакууме, неочищенный продукт очищали с помощью хроматографии (силикагель, этилацетат/петролейный эфир =1/5) с получением (S)-метил-2-((S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-4,4-диметилпентамидо)-4-метилпентаноата (500 мг, 1,34 ммоль, 67%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 317,2 [M-56]⁺.

Стадия 2: (*S*)-метил-2-((*S*)-2-амино-4,4-диметилпентамидо)-4-метилпентаноата гидрохлорид [I-190].

[00342] К раствору (*S*)-метил-2-((*S*)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-4,4-диметилпентамидо)-4-метилпентаноата (500 мг, 1,34 ммоль) в Et₂O (20 мл) добавляли 4 М HCl/диоксан (10 мл) и перемешивали в течение 17 ч при комн. темп. Твердое вещество фильтровали с получением (*S*)-метил-2-((*S*)-2-амино-4,4-диметилпентамидо)-4-метилпентаноата гидрохлорида **[I-190]** в виде белого твердого вещества (300 мг, 0,97 ммоль, 73%). ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 273,2 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО) δ 9,07-9,09 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 8,42 (s, 3H), 4,29-4,34 (m, 1H), 3,82 (m, 1H), 3,60 (s, 3H), 1,72-1,83 (m, 2H), 1,50-1,62 (m, 3H), 0,86-0,91 (m, 15H).

[00343] Пример 122: (*S*)-метил-2-амино-4,4-диметилпентаноата гидрохлорид [I-122].

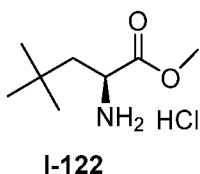
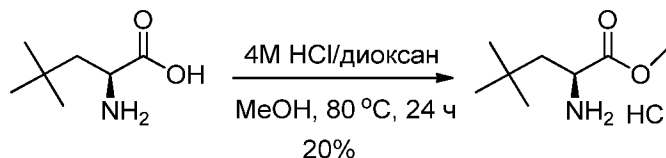


Схема синтеза:

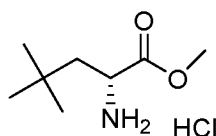


Методики и характеристики:

Стадия 1: (*S*)-метил-2-амино-4,4-диметилпентаноата гидрохлорид [I-122]:

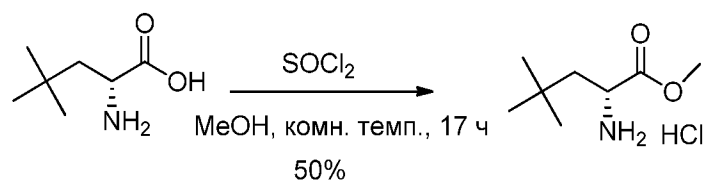
[00344] К раствору (*S*)-2-амино-4,4-диметилпентановой кислоты (100 мг, 0,69 ммоль) в MeOH (10 мл) добавляли 4 М HCl/диоксан (10 мл) и перемешивали при 80 °С в течение 24 ч. Смесь концентрировали и остаток размалывали с Et₂O с получением (*S*)-метил-2-амино-4,4-диметилпентаноата гидрохлорида **[I-122]** в виде белого твердого вещества (23,6 мг, 0,12 ммоль, 20%). ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 160,1 [M+H]⁺. ¹H-ЯМР (500 МГц, CD₃OD): δ 4,02-4,04 (m, 1H), 3,86 (s, 3H), 1,97-2,02 (m, 1H), 1,64-1,68 (m, 1H), 1,03-1,05 (d, 9H).

[00345] Пример 123: (*R*)-метил-2-амино-4,4-диметилпентаноата гидрохлорид [I-123].



I-123

Схема синтеза:

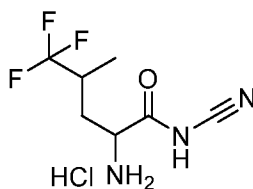


Методики и характеристики:

Стадия 1: (*R*)-метил-2-амино-4,4-диметилпентаноата гидрохлорид [I-123]:

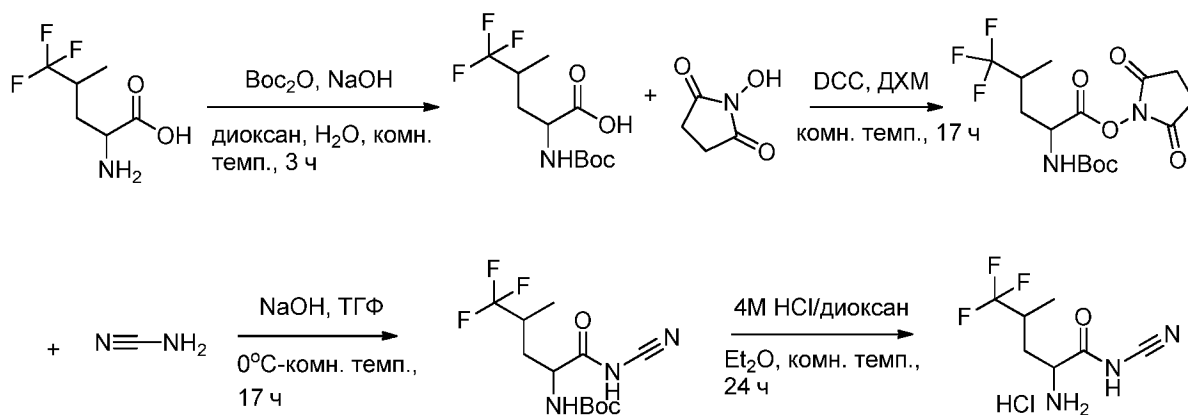
[00346] К смеси (*R*)-2-амино-4,4-диметилпентановой кислоты (50 мг, 0,34 ммоль) в сухом MeOH (10 мл) добавляли SOCl_2 (0,5 мл) и перемешивали при комн. темп. в течение 17 ч. Смесь концентрировали и остаток размалывали с Et_2O с получением (*R*)-метил-2-амино-4,4-диметилпентаноата гидрохлорида [I-123] в виде белого твердого вещества (34,2 мг, 0,17 ммоль, 50%). ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 160,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, ^1H -ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δ 4,02-4,04 (m, 1H), 3,86 (s, 3H), 1,97-2,02 (m, 1H), 1,64-1,68 (m, 1H), 1,03 (s, 9H).

[00347] Пример 205: 2-амино-N-циано-5,5,5-трифтор-4-метилпентамида гидрохлорид [I-205].



I-205

Схема синтеза:



Методики и характеристики:

Стадия 1: 2-(трет-бутоксикарбониламино)-5,5,5-трифтор-4-метилпентановая кислота:

[00348] Смесь 2-амино-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты (250 мг, 1,35 ммоль), Boc_2O (353 мг, 1,62 ммоль), NaOH (80 мг, 2,0 ммоль) растворяли в диоксане (10 мл) и H_2O (2 мл). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 3 ч. Раствор разбавляли водой (200 мл) и экстрагировали ДХМ (50 мл). Органическую фазу промывали водой (20 мл x 2) и рассолом (10 мл), сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали с получением неочищенной 2-(трет-бутоксикарбониламино)-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты (385 мг) в виде бесцветного масла. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 307,9 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Стадия 2: 2,5-диоксопирролидин-1-ил-2-(трет-бутоксикарбониламино)-5,5,5-трифтор-4-метилпентаноат:

[00349] Смесь 2-(трет-бутоксикарбониламино)-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты (385 мг, 1,35 ммоль), 1-гидроксипирролидин-2,5-диона (197 мг, 1,71 ммоль), DCC (353 мг, 1,71 ммоль) растворяли в ДХМ (15 мл). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 17 ч, фильтровали и промывали фильтрат рассолом (20 мл), сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали с получением неочищенного 2,5-диоксопирролидин-1-ил-2-(трет-бутоксикарбониламино)-5,5,5-трифтор-4-метилпентаноата (400 мг) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 282,9 $[\text{M}-100]^+$.

Стадия 3: трет-бутил-1-цианамидо-5,5,5-трифтор-4-метил-1-оксопентан-2-

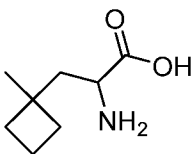
илкарбамат:

[00350] Смесь 2,5-диоксопирролидин-1-ил-2-(трет-бутоксикарбониламино)-5,5,5-трифтор-4-метилпентаноата (300 мг, 0.78 ммоль), цианамида (66 мг, 1,57 ммоль), NaOH (156 мг, 3,9 ммоль) растворяли в ТГФ (16 мл). Смесь перемешивали при 0°C в течение 0,5 ч и при комн. темп. в течение 17 ч. Раствор очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (Boston C18 21*250 мм 10 мкм, подвижная фаза: А: 0,1 % трифторуксусная кислота; В: ацетонитрил) с получением трет-бутил-1-цианамидо-5,5,5-трифтор-4-метил-1-оксопентан-2-илкарбамата (45 мг, 0,14 ммоль) в виде белого твердого вещества. MS (EI⁺, m/z): 310,3 [M+H]⁺.

Стадия 4: 2-амино-N-циано-5,5,5-трифтор-4-метилпентамида гидрохлорид [I-205]:

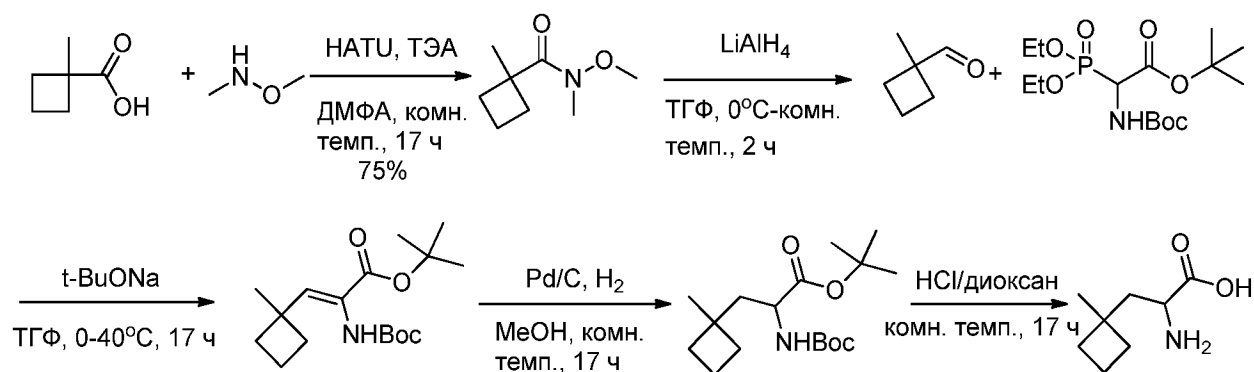
[00351] К раствору трет-бутил-1-цианамидо-5,5,5-трифтор-4-метил-1-оксопентан-2-илкарбамата (45 мг, 0,14 ммоль) в Et₂O (20 мл) добавляли 4 М HCl/диоксан (10 мл) и перемешивали в течение 24 ч при комн. темп. Раствор очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (Boston C18 21*250 мм 10 мкм, подвижная фаза: А: 0,1 % трифторуксусная кислота; В: ацетонитрил) с получением 2-амино-N-циано-5,5,5-трифтор-4-метилпентамида гидрохлорида **[I-205]** (12,3 мг, 0,05 ммоль, 27%) в виде белого твердого вещества. MS (EI⁺, m/z): 210,1 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, CD₃OD) δ 4,06-4,09 (m, 1H), 2,43-2,65 (m, 1H), 1,67-1,85 (m, 2H), 1,18-1,22 (m, 3H).

[00352] Пример 206: 2-амино-3-(1-метилциклобутил)пропановая кислота [I-206].



I-206

Схема синтеза:



Методики и характеристики:

Стадия 1: *N*-метокси-*N*,1-диметилциклобутанкарбоксамид:

[00353] К раствору 1-метилциклобутанкарбоновой кислоты (11,6 г, 0,1 моль), *N,O*-диметилгидроксиламина гидрохлорида (19,5 г, 0,2 моль) и HATU (42 г, 0,11 моль) в ДМФА (300 мл) добавляли ТЭА (30,3 г, 0,3 моль) и перемешивали раствор в течение 17 ч при комн. темп. Раствор разбавляли водой (600 мл) и экстрагировали EtOAc (400 мл x 2). Органическую фазу промывали 1 *N* HCl, насыщ. раствором NaHCO₃ и рассолом (100 мл), сушили (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали в вакууме с получением *N*-метокси-*N*,1-диметилциклобутанкарбоксамида (12,2 г, 0,07 моль, 75%) в виде бесцветного масла. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 158,2 [M+H]⁺.

Стадия 2: 1-метилциклобутанкарбальдегид:

[00354] К раствору *N*-метокси-*N*,1-диметилциклобутанкарбоксамида (2,0 г, 12,7 ммоль) в сухом ТГФ (20 мл) добавляли 1 *M* LiAlH₄ (19 мл, 19 ммоль) по каплям при 0 °C в атмосфере N₂. Смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 ч. Раствор тушили медленным добавлением насыщ. раствора сегнетовой соли и экстрагировали Et₂O (100 мл), органическую фазу промывали водой (100 мл x 2) и рассолом (100 мл), сушили (Na₂SO₄), фильтровали и использовали на следующей стадии.

Стадия 3: (Z)-*трет*-бутил-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-(1-метилциклобутил)акрилат:

[00355] К раствору реагента Виттига (2,15 г, 5,86 ммоль) в сухом ТГФ (80 мл) добавляли *t*-BuONa (844 мг, 8,79 ммоль) при 0 °C и перемешивали в течение 1 ч. Затем добавляли раствор 1-метилциклобутанкарбальдегида и перемешивали при комн. темп. в течение 17 ч. Раствор экстрагировали EtOAc (100 мл x 2). Органическую фазу

промывали рассолом (100 мл), сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали с помощью хроматографии (силикагель, этилацетат/петролейный эфир=1/30) с получением (Z)-трет-бутил-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-(1-метилциклобутил)акрилата (700 мг, 2,2 ммоль) в виде бесцветного масла. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 200,2 [$\text{M}-56*2$] $^+$.

Стадия 4: *трет-бутил-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-(1-метилциклобутил)пропаноат*:

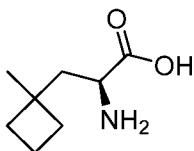
[00356] Смесь (Z)-трет-бутил-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-(1-метилциклобутил)акрилата (700 мг, 2,2 ммоль) и Pd/C (10%, 100 мг) в MeOH (100 мл) перемешивали при 30 °C в течение 17 ч. Смесь фильтровали, и фильтрат концентрировали до сухости с получением *трет-бутил-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-(1-метилциклобутил)пропаноата* (600 мг, неочищенный) в виде бесцветного масла. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 158,2 [$\text{M}-156$] $^+$.

Стадия 5: 2-амино-3-(1-метилциклобутил)пропановая кислота [I-206]:

[00357] К раствору *трет-бутил-2-(трет-бутоксикарбониламино)-3-(1-метилциклобутил)пропаноата* (600 мг, неочищенный) в Et₂O (20 мл) добавляли 4 M HCl/диоксан (10 мл) и перемешивали в течение 17 ч при комн. темп. Раствор концентрировали с получением 2-амино-3-(1-метилциклобутил)пропановой кислоты. MS (EI^+ , m/z): 158,0 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$.

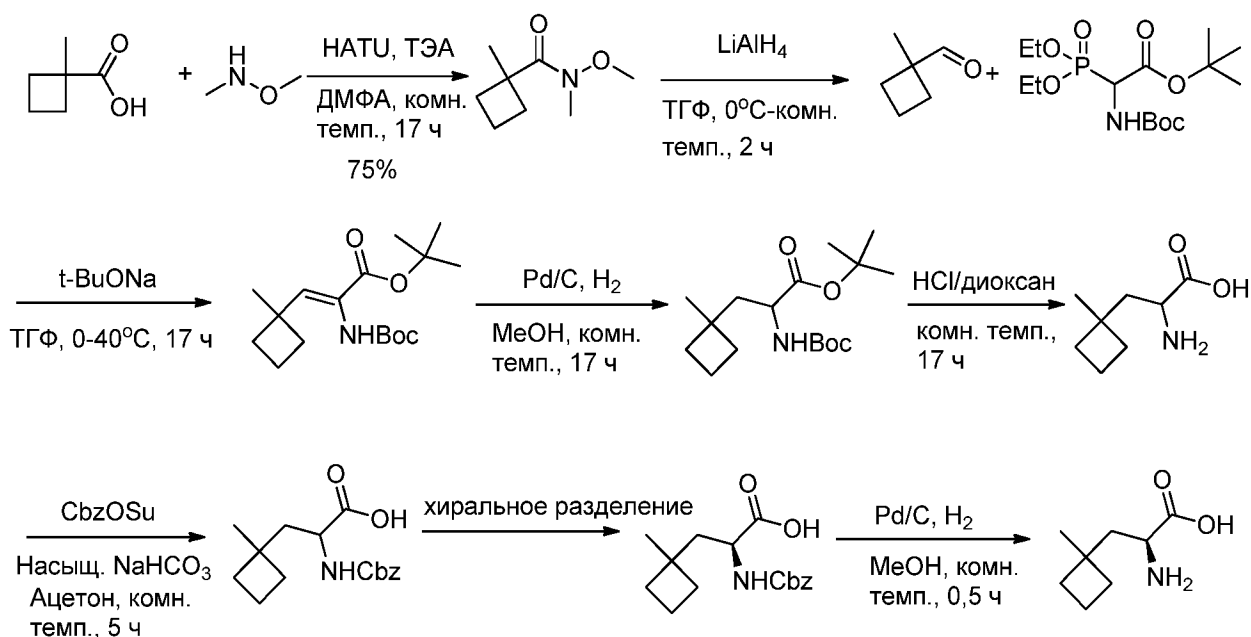
^1H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 3,91 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H), 2,06-2,02 (m, 1H), 1,88-1,64 (m, 7H), 1,15 (s, 3H).

[00358] Примеры 93: S-2-амино-3-(1-метилциклобутил)пропановая кислота [I-93].



I-93

Схема синтеза:



Методики и характеристики:

Методика для 2-амино-3-(1-метилциклобутил)пропановой кислоты была такой же, как в примере 8

Стадия 6: 2-(бензилоксикарбониламино)-3-(1-метилциклобутил)пропановая кислота:

[00359] Смесь 2-амино-3-(1-метилциклобутил)пропановой кислоты (300 мг, неочищенная), CbzOSu (714 мг, 2,8 ммоль) в ацетоне (10 мл) и насыщ. NaHCO₃ (3 мл) перемешивали при комн. темп. в течение 5 ч. Раствор очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (Boston C18 21*250 мм 10 мкм, подвижная фаза: А: 0,1 % трифторуксусная кислота; В: ацетонитрил) с получением 2-(бензилоксикарбониламино)-3-(1-метилциклобутил)пропановой кислоты (160 мг, 0,54 ммоль) в виде белого твердого вещества. MS (EI⁺, m/z): 292,0[M+H]⁺.

Стадия 7: (S)-2-(бензилоксикарбониламино)-3-(1-метилциклобутил)пропановая кислота:

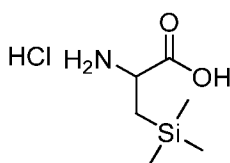
[00360] 2-(бензилоксикарбониламино)-3-(1-метилциклобутил)пропановую кислоту (160 мг, 0,54 ммоль) очищали с помощью хиральной ВЭЖХ с получением (S)-2-(бензилоксикарбониламино)-3-(1-метилциклобутил)пропановой кислоты (50 мг, 0,17 ммоль) в виде белого твердого вещества. MS (EI⁺, m/z): 292,0[M+H]⁺.

Стадия 8: (S)-2-амино-3-(1-метилциклобутил)пропановая кислота [I-93]:

[00361] Смесь (S)-2-(бензилоксикарбониламино)-3-(1-метилциклобутил)пропановой кислоты (50 мг, 0,17 ммоль) и Pd/C (10%, 10 мг) в MeOH (10 мл) перемешивали при комн.

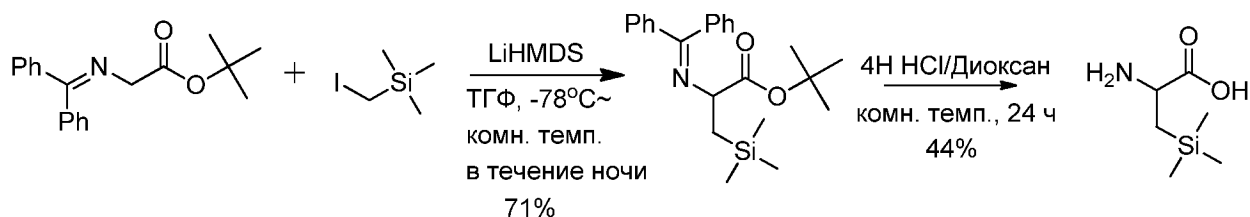
температура в течение 1 ч. Раствор очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (Boston C18 21*250 мм 10 мкм, подвижная фаза: А: 0,1 % трифторуксусная кислота; В: ацетонитрил) с получением (*S*)-2-амино-3-(1-метилциклобутил)пропановой кислоты **[I-93]** (2 мг, 0,01 ммоль) в виде белого твердого вещества. MS (EI⁺, m/z): 292,0[M+H]⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 3,76-3,79 (t, 1H), 1,96-2,00 (m, 1H), 1,61-1,86 (m, 7H), 1,11 (s, 3H).

[00362] Пример 204: 2-амино-3-(триметилсилил)пропановой кислоты гидрохлорид [I-204]



I-204

Схема синтеза:



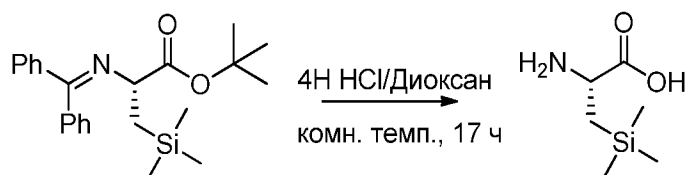
Методики и характеристики:

Стадия 1: трет-бутил-2-(дифенилметиленамино)-3-(триметилсилил)пропаноат:

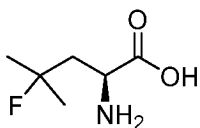
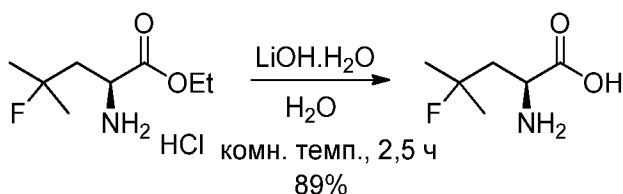
[00363] Раствор трет-бутил-2-(дифенилметиленамино)ацетата (2,5 г, 8,47 ммоль) в ТГФ (20 мл) охлаждали до -78°C, затем по каплям добавляли LiHMDS (8,47 мл, 8,47 ммоль) в атмосфере N₂. Раствор перемешивали при -78°C в течение 1 ч. По каплям добавляли (иодметил)триметилсилан (1,8 г, 8,47 ммоль). Раствор перемешивали при -78°C~комн. темп. в течение ночи. Раствор промывали рассолом (25 мл *2), сушили (Na₂SO₄), концентрировали и очищали с помощью хроматографии (силикагель, этилацетат/петролейный эфир=1/30) с получением трет-бутил-2-(дифенилметиленамино)-3-(триметилсилил)пропаноата (2,3 г, 6,04 ммоль, 71%) в виде желтого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 382,3 [M+H]⁺.

Стадия 2: 2-амино-3-(триметилсилил)пропановой кислоты гидрохлорид [I-204]:

[00364] Раствор трет-бутил-2-(дифенилметиленамино)-3-(триметилсилил)пропаноата (500 мг, 1,31 ммоль) в 4 М HCl/диоксане (6 мл) перемешивали в течение 17 ч при комн.

I-200**Схема синтеза:****Методики и характеристики:****Стадия 1: (R)-2-амино-3-(триметилсилил)пропановой кислоты гидрохлорид [I-200]:**

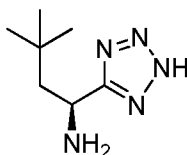
[00368] Раствор (R)-трет-бутил-2-(дифенилметиленамино)-3-(триметилсилил)пропаноата (300 мг, 0,79 ммоль) в 4 М HCl/диоксане (3 мл) перемешивали в течение 17 ч при комн. темп. Добавляли ДХМ (40 мл). Твердое вещество отфильтровывали с получением (R)-2-амино-3-(триметилсилил)пропановой кислоты гидрохлорида **[I-200]** в виде белого твердого вещества (80 мг, 0,41 ммоль, 52 %). ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 162,2 [M+H]⁺. 1H ЯМР (500 МГц, CD₃OD) δ 13,77 (br, 1H), 8,33 (br, 1H), 3,76 (m, 1H), 1,02-1,14 (m, 2H), 0,06 (s, 9H).

[00369] Пример 194: (S)-2-амино-4-фтор-4-метилпентановой кислоты [I-194].**I-194****Схема синтеза:****Методики и характеристики:****Стадия 1: (S)-2-амино-4-фтор-4-метилпентановая кислота [I-194]:**

[00370] Смесь (S)-этил-2-амино-4-фтор-4-метилпентаноата гидрохлорида (65 мг, 0,31 ммоль), LiOH·H₂O (29 мг, 0,69 ммоль) в H₂O (2 мл) перемешивали при комн. темп. в течение 2,5 ч. Затем добавляли 1N HCl для доведения значения pH до 3. Смесь очищали непосредственно с помощью обращенно-фазовой ВЭЖХ (Boston C18 21*250 мм 10 мкм,

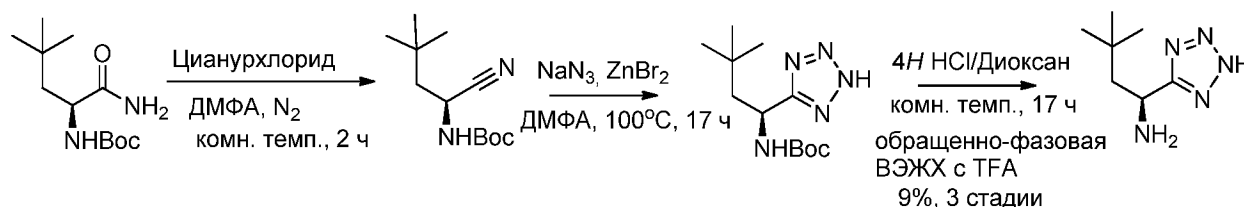
подвижная фаза: А: 0,1 % трифторуксусная кислота; В: ацетонитрил) с получением (S)-2-амино-4-фтор-4-метилпентановой кислоты **[I-194]** (40 мг, 0,27 ммоль, 87 %) в виде белого твердого вещества. MS (EI⁺, m/z): 150,3 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, CD₃OD) δ 8,10 (br, 2H), 3,79 (m, 1H), 2,19-2,26 (m, 1H), 1,97-2,05 (m, 1H), 1,42 (d, J_z=3,5 Hz, 3H), 1,37 (d, J_z=4,0 Hz, 3H).

[00371] Пример 94: (S)-3,3-диметил-1-(2H-тетразол-5-ил)бутан-1-амин [I-94].



I-94

Схема синтеза:



Методики и характеристики:

Стадия 1: (S)-трет-бутил-1-циано-3,3-диметилбутилкарбамат:

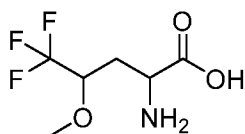
[00372] К раствору (S)-трет-бутил-1-амино-4,4-диметил-1-оксопентан-2-илкарбамата (500 мг, 2,1 ммоль) в ДМФА (10 мл) добавляли цианурхлорид (450 мг, 2,5 ммоль) и перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч. Затем смесь разбавляли рассолом (100 мл), экстрагировали этилацетатом (50 мл), сушили (Na₂SO₄) и концентрировали с получением неочищенного (S)-трет-бутил-1-циано-3,3-диметилбутилкарбамата (500 мг) в виде желтой пасты. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 249,2 [M+Na]⁺.

Стадия 2: (S)-трет-бутил-3,3-диметил-1-(2H-тетразол-5-ил)бутилкарбамат:

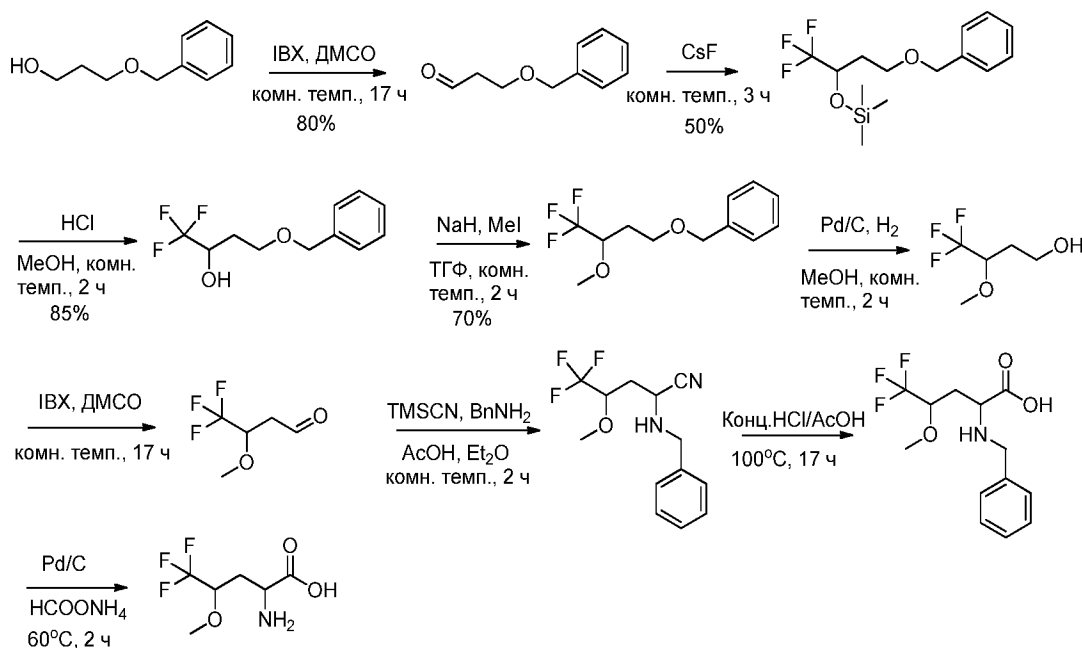
[00373] Смесь (S)-трет-бутил-1-циано-3,3-диметилбутилкарбамата (неочищенного, 500 мг), ZnBr₂ (900 мг, 4,0 ммоль), NaN₃ (260 мг, 4,0 ммоль) в ДМФА (20 мл) перемешивали в течение 17 ч при 100°C. Смесь затем разбавляли рассолом (200 мл), экстрагировали этилацетатом (60 мл), сушили (Na₂SO₄) и концентрировали с получением неочищенного (S)-трет-бутил-3,3-диметил-1-(2H-тетразол-5-ил)бутилкарбамата (400 мг) в виде желтой пасты. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 214,3 [M+H-56]⁺.

Стадия 3: ((S)-3,3-диметил-1-(2H-тетразол-5-ил)бутан-1-амин [I-94]:

[00374] Раствор (S)-трет-бутил-3,3-диметил-1-(2H-тетразол-5-ил)бутилкарбамата (неочищенный, 300 мг) в 4 М HCl/диоксане (3,5 мл) перемешивали в течение 17 ч при комн. темп. Затем раствор концентрировали и очищали непосредственно обращенно-фазовой ВЭЖХ (Boston C18 21*250 мм 10 мкм, подвижная фаза: А: 0,1 % трифторуксусная кислота; В: ацетонитрил) с получением (S)-3,3-диметил-1-(2H-тетразол-5-ил)бутан-1-аминной соли 2,2,2-трифторуксусной кислоты **[I-94]** (30 мг, 0,11 ммоль, 9 % для 3 стадий) в виде белого твердого вещества. MS (EI⁺, m/z): 170,2 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, CD₃OD) δ 8,18 (br, 3H), 4,48 (m, 1H), 2,14 (m, 1H), 1,73 (dd, J_z=3,5, 16,5 Hz 1H), 0,72 (s, 9H).

[00375] Пример 175: Синтез 2-амино-5,5,5-трифтор-4-метоксипентановой кислоты [I-175] :

I-175

Схема синтеза:**Методики и характеристики:**

[00376] Стадия 1: (S)-бензил-4-метил-2-(фенилметилсульфонамидо)пентаноат:

[00377] К раствору 3-(бензилокси)пропан-1-ола (10,0 г, 60,24 ммоль) в ДМСО (100

мл) добавляли IBX (20,2 г, 72,29 ммоль) в ледяной бане. Смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали при этой температуре в течение 17 ч. Реакционную смесь выливали в воду (300 мл) и экстрагировали EA (200 мл x 2), органическую фазу промывали водой (200 мл x 3) и рассолом (100 мл), сушили (Na_2SO_4) и концентрировали раствор, и неочищенный продукт очищали с помощью SGC с получением светло-желтой жидкости. (8,0 г, 81%).

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 9,77 (s, 1H), 7,36-7,26 (m, 5H), 4,53 (s, 2 H), 3,8-3,83 (m, 2H), 2,71-2,68 (m, 2H).

[00378] Стадия 2: (4-(бензилокси)-1,1,1-трифторбутан-2-илокси)триметилсилан:

[00379] К раствору 3-(бензилокси)пропаналя (4,0 г, 24,4 ммоль) в ТГФ (50 мл) добавляли триметил(трифторметил)силан (10,4 г, 73,2 ммоль) при комн. темп. с последующим добавлением CsF (0,37 г, 2,44 ммоль). Полученный раствор перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч. Затем тушили добавлением воды (100 мл) и экстрагировали EA (100 мл x 2), органическую фазу промывали водой (100 мл x 2) и рассолом (100 мл), сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью ISCO biotage с получением (4-(бензилокси)-1,1,1-трифторбутан-2-илокси)триметилсилана в виде бесцветной жидкости. (4,5 г, 60%)

^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 7,38-7,29 (m, 5H), 4,51 (t, $J = 12$ Hz, 2 H), 4,23-4,19 (m, 1H), 3,59-3,57 (m, 2H), 2,04-2,01 (m, 1H), 1,78-1,73 (m, 1H), 0,13 (s, 9H).

[00380] Стадия 3: 4-(бензилокси)-1, 1, 1-трифторбутан-2-ол:

[00381] Раствор 4-(бензилокси)-1,1,1-трифторбутан-2-ола (4,5 г, 14,7 ммоль) в растворе HCl (3 М в MeOH , 50 мл) перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч. Затем концентрировали и очищали с помощью ISCO biotage с получением 4-(бензилокси)-1,1,1-трифторбутан-2-ола (2,75 г, 80%) в виде бесцветной жидкости.

[00382] Стадия 4: ((4, 4, 4-трифтор-3-метоксибутокси)метил)бензол:

[00383] К раствору 4-(бензилокси)-1,1,1-трифторбутан-2-ола (2,75 г, 11,75 ммоль) в ТГФ (100 мл) добавляли $t\text{-BuOK}$ (1,58 г, 14,1 ммоль) при 0°C и перемешивали при этой температуре в течение 30 мин. Затем добавляли MeI (2,17 г, 15,28 ммоль) и перемешивали при комн. темп. в течение еще 1 часа. Реакционную смесь тушили добавлением воды (100 мл) и экстрагировали EA (100 мл x 2), органическую фазу промывали водой (100 мл x 2) и рассолом (100 мл), сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью ISCO biotage с получением ((4,4,4-трифтор-3-метоксибутокси)метил)бензола (2,04 г, 70%) в виде бесцветной жидкости.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 7,38-7,29 (m, 5H), 4,53 (t, J= 12 Hz, 2 H), 3,78-3,74 (m, 1H), 3,66-3,57 (m, 2H), 3,5 (s, 3H), 2,03-1,96 (m, 1H), 1,78-1,57 (m, 1H).

[00384] Стадия 5: 4, 4, 4-трифтор-3-метоксибутан-1-ол:

[00385] Раствор ((4,4,4-трифтор-3-метоксибутокс)метил)бензола (2,04 г, 8,23 ммоль) и Pd/C (0,5 г) в MeOH (30 мл) перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч, затем фильтровали и концентрировали с получением 4,4,4-трифтор-3-метоксибутан-1-ола в виде бесцветной жидкости. Этот неочищенный продукт непосредственно использовали на следующей стадии.

[00386] Стадия 6: 4, 4, 4-трифтор-3-метоксибутаналь:

[00387] К раствору 4,4,4-трифтор-3-метоксибутан-1-ола (1,3 г неочищенного продукта с прошлой стадии) в ДМСО (20 мл) добавляли IBX (2,76 г, 9,88 ммоль) в ледяной бане. Смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали при этой температуре в течение 17 ч. Реакционную смесь выливали в воду (80 мл) и экстрагировали Et₂O (80 мл x 2), органическую фазу промывали водой (80 мл x 3) и рассолом (80 мл), и раствор непосредственно использовали на следующей стадии.

[00388] Стадия 7: 2-(бензиламино)-5, 5, 5-трифтор-4-метоксипентаннитрил:

[00389] К раствору полученного выше 4,4,4-трифтор-3-метоксибутанала в Et₂O (160 мл) добавляли бензиламин (2 мл), AcOH (2,0 мл) и затем TMSCN (3 мл) в ледяной бане. Смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали при этой температуре в течение 17 ч. Раствор разбавляли водой (200 мл) и экстрагировали EA (100 мл), органическую фазу промывали водой (100 мл x 2), и рассолом (100 мл), сушили (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали в вакууме с получением 2-(бензиламино)-5,5,5-трифтор-4-метоксипентаннитрила (2,0 г, неочищенный) в виде густого коричневого масла, которое использовали для проведения следующей стадии. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z):

[00390] Стадия 8: 2-(бензиламино)-5, 5, 5-трифтор-4-метоксипентановая кислота:

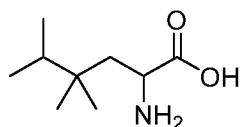
[00391] Раствор 2-(бензиламино)-5,5,5-трифтор-4-метоксипентаннитрила (2,0 г, неочищенный) в конц. HCl (30 мл) и AcOH (10 мл) нагревали до 100 °C в течение 17 ч. Раствор концентрировали до сухости, разбавляли H₂O (100 мл) и ACN (50 мл), доводили значение pH до 3-4 с помощью насыщ. раствора NaHCO₃, смесь фильтровали и сушили с получением 2-(бензиламино)-5,5,5-трифтор-4-метоксипентановой кислоты (0,8 г, 35% для 4 стадий) в виде коричневого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): [M+H]⁺.

[00392] Стадия 9: 2-амино-5, 5, 5-трифтор-4-метоксипентановая кислота [I-175]:

[00393] Раствор 2-(бензиламино)-5,5,5-трифтор-4-метоксипентановой кислоты (300 мг, 1,03 ммоль) и HCOONH_4 (650 мг, 10,3 ммоль) в MeOH (10 мл) перемешивали при 60 °С в течение 2 ч, затем фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно-фазового *biotage* с получением 2-амино-5,5,5-трифтор-4-метоксипентановой кислоты **[I-175]** в виде белого твердого вещества.

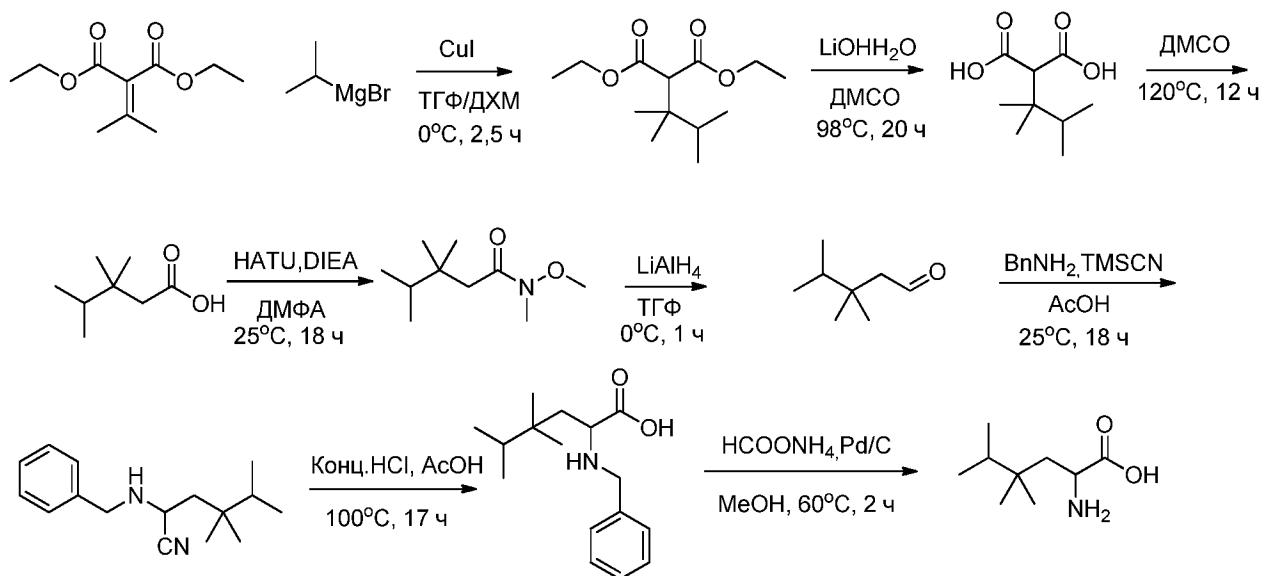
^1H ЯМР (500 МГц, метанол-*d*4) δ 4,23-4,19 (m, 1H), 3,96-3,88 (m, 1H), 3,64-3,6 (m, 3H), 2,29-2,22 (m, 1H), 2,04-1,97 (m, 1H).

[00394] Пример 176: 2-амино-4,4,5-триметилгексановая кислота [I-176]:



I-176

Схема синтеза:



Методики и характеристики:

[00395] Стадия 1: диэтил-2-(2, 3-диметилбутан-2-ил)малонат:

[00396] Раствор диэтил-2-(пропан-2-илиден)малоната (2 г, 10,0 ммоль) в ТГФ (60 мл) охлаждали до 0 °С, затем добавляли иодид меди (I) (2,9 г, 15,0 ммоль). Смесь перемешивали при 0 °С в течение 0,5 ч. Затем по каплям добавляли в вышеуказанную смесь изопропилмагния бромид (1 моль/л, 30,0 мл, 30,0 ммоль) при 0 °С. Смесь перемешивали при 0 °С в течение 2 ч. Смесь тушили добавлением HCl (1 моль/л), экстрагировали EtOAc (60 мл*2). Органическую фазу отделяли, промывали водой (100

мл х 2) и рассолом (130 мл), сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали в вакууме с получением диэтил-2-(2,3-диметилбутан-2-ил)малоната (2,4 г, 10,0 ммоль, 98%) в виде желтого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 245,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00397] Стадия 2: 2-(2, 3-диметилбутан-2-ил)малоновая кислота:

[00398] Смесь диэтил-2-(2,3-диметилбутан-2-ил)малоната ацетамида (2,4 г, 10,0 ммоль) и гидрата гидроксида лития (2,1 г, 50,0 ммоль) в ДМСО (50 мл) и воде (10 мл) нагревали до 98 °С и выдерживали в течение 20 ч. Смесь охлаждали, подкисляли HCl (1 моль/л) и разделяли между EtOAc (30 мл) и водой (30 мл). Органическую фазу отделяли, промывали водой (50 мл х 2) и рассолом (50 мл), сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали в вакууме с получением 2-(2,3-диметилбутан-2-ил)малоновой кислоты (1,8 г, 10,0 ммоль, 95%) в виде желтого масла. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 212,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00399] Стадия 3: 3, 3, 4-триметилпентановая кислота:

[00400] Раствор 2-(2, 3-диметилбутан-2-ил)малоновой кислоты (1,8 г, 10,0 ммоль) в ДМСО (30 мл) нагревали до 120 °С и выдерживали в течение 12 ч. Смесь охлаждали и разделяли между EtOAc (50 мл) и водой (60 мл). Органическую фазу отделяли, промывали водой (60 мл х 2) и рассолом (60 мл), сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали в вакууме с получением 3,3,4-триметилпентановой кислоты (1,4 г, 10,0 ммоль, 95 %) в виде желтого масла. ЭСИ-МС (EI^- , m/z): 143,2 $[\text{M}-\text{H}]^+$.

[00401] Стадия 4: N-метокси-N, 3, 3, 4-тетраметилпентамид:

[00402] К раствору 3,3,4-триметилпентановой кислоты (1,4 г, 10,0 ммоль) в 30 мл ДМФА добавляли N,O-диметилгидроксиламина гидрохлорид (1,2 г, 12,0 ммоль) при 20 °С, с последующим добавлением DIEA (3,8 г, 30,0 ммоль). Затем добавляли NATU (5,8 г, 15,0 ммоль). Смесь нагревали до 25 °С при перемешивании и выдерживали в течение 18 ч. Реакционную смесь тушили добавлением воды, а затем трет-бутилметилового эфира (50 мл*2). Фазы разделяли, органический слой промывали рассолом (80 мл*3), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме с получением N-метокси-N,3,3,4-тетраметилпентамида (1,5 г, 90 %) в виде коричневого масла. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 188,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00403] Стадия 4: 3, 3, 4-триметилпентаналь:

[00404] К раствору N-метокси-N, 3, 3, 4-тетраметилпентамида (1,9 г, 0,01 моль) в 30 мл ТГФ добавляли LiAlH_4 (1 г, 0,03 моль) при 0 °С. Смесь перемешивали при 0 °С в течение 1 ч. Реакционную смесь тушили добавлением воды, а затем трет-бутилметилового эфира (50 мл*2). Фазы разделяли, органический слой промывали рассолом (80 мл*3), сушили над Na_2SO_4 и фильтровали. Фильтрат содержал 3,3,4-

триметилпентаналь (1,3 г, 95%) в виде бесцветного раствора, который непосредственно использовали на следующей стадии.

[00405] Стадия 5: 2-(бензиламино)-4, 4, 5-триметилгексаннитрил:

[00406] К полученному выше раствору 3,3,4-триметилпентаналь в трет-бутилметилом эфире (120 мл) добавляли бензиламин (1,6 мл), AcOH (1,0 мл) и затем TMSCN (1,8 мл) в ледяной бане. Смесь нагревали 25 °C и перемешивали в течение ночи. Раствор разбавляли водой (60 мл) и экстрагировали EtOAc (30 мл), органическую фазу промывали водой (50 мл x 2) и рассолом (50 мл), сушили (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали в вакууме с получением 2-(бензиламино)-4,4,5-триметилгексаннитрила (2 г, неочищенный) в виде коричневого масла, которое использовали для проведения следующей стадии. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 245,4 [M+H]⁺.

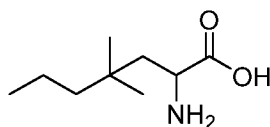
[00407] Стадия 6: 2-(бензиламино)-4, 4, 5-триметилгексановая кислота:

[00408] Раствор 2-(бензиламино)-4,4,5-триметилгексаннитрила (2 г, неочищенный) в конц. HCl (60 мл) и AcOH (10 мл) нагревали до 95 °C в течение 18 ч. Раствор охлаждали до 15 °C, значение pH доводили до 3-4 насыщ. раствором NaHCO₃, смесь фильтровали и сушили с получением 2-(бензиламино)-4,4,5-триметилгексановой кислоты (0,6 г, 2,3 ммоль, 30% для 3 стадий) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 264,4 [M+H]⁺.

[00409] 2-амино-4,4,5-триметилгексановая кислота [I-176]:

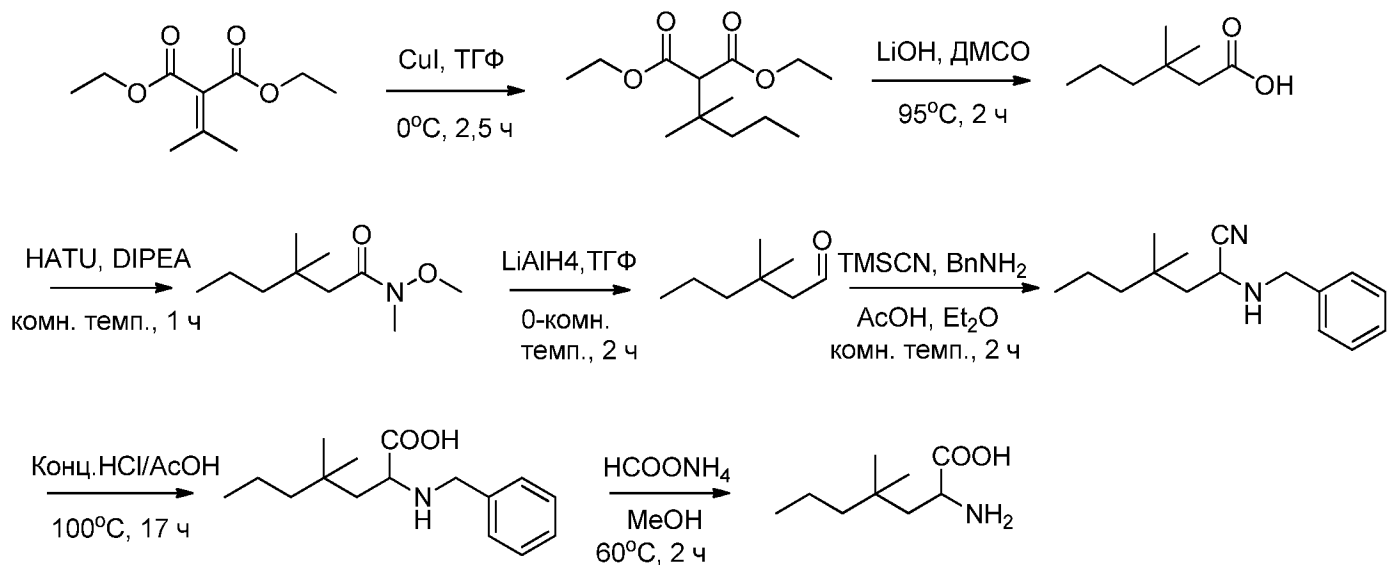
[00410] К раствору 2-(бензиламино)-4,4,5-триметилгексановой кислоты (78 мг, 0,3 ммоль) в 8 мл MeOH добавляли HCOONH₄ (0,13 г, 2,0 ммоль) и Pd/C (30 мг) при комн. темп. Смесь перемешивали при 60 °C в течение 2 ч. Реакционную смесь фильтровали и концентрировали с получением неочищенного продукта, который очищали с помощью обращенно-фазовой хроматографии на силикагеле с получением 2-амино-6,6,6-трифтор-4-метилгексановой кислоты **[I-176]** (40 мг, 90 %) в виде белого твердого вещества; ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 174,3 [M+H]⁺; ¹H ЯМР (500 МГц, MeOD) δ 3,56 (dd, J = 7,2, 4,9 Hz, 1H), 2,12 (dd, J = 14,7, 4,9 Hz, 1H), 1,66 – 1,51 (m, 2H), 0,97 (d, J = 14,9 Hz, 6H), 0,92 (dd, J = 6,8, 3,6 Hz, 6H).

[00411] Пример 178: 2-амино-4,4-диметилгептановая кислота [I-178]



I-178

Схема синтеза:



Методики и характеристики:

[00412] Методика была такой же, как использованная в примере 176

[00413] 2-амино-4,4-диметилгептановая кислота [I-178]: ^1H ЯМР (500 МГц, $\text{MeOD-}d_4$) δ 3,77 (t, $J = 6$ Hz, 1H), 2,09-2,05 (m, 1H), 1,6-1,56 (m, 1H), 1,37-1,26 (m, 4H), 1,01-0,92 (m, 9 H).

[00414] Пример 195: 2-амино-4,4-диметилгексановая кислота [I-195], (*S*)-2-амино-4,4-диметилгексановая кислота [I-120], (*R*)-2-амино-4,4-диметилгексановая кислота [I-191].

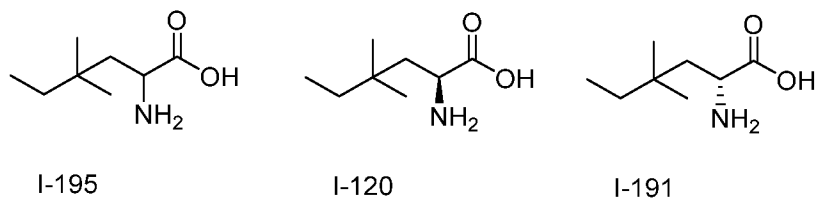
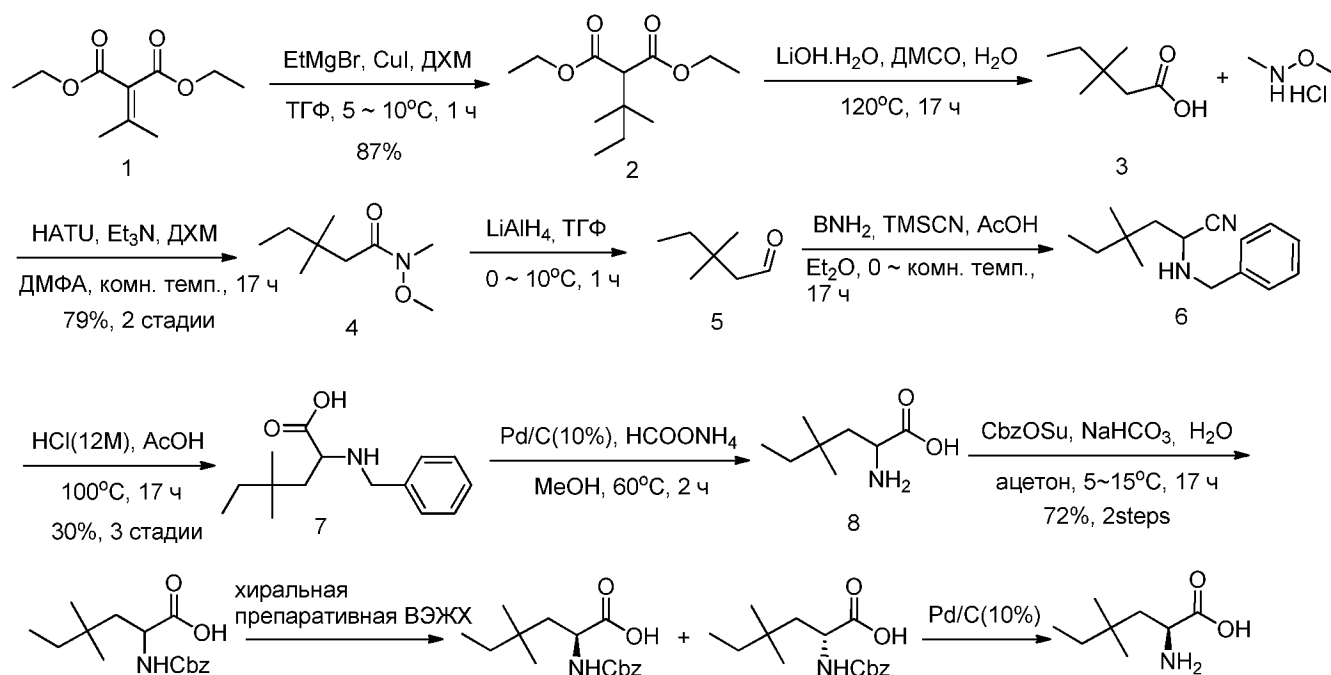


Схема синтеза:



Методики и характеристики:

[00415] Методика была такой же, как использованная в примере 176

[00416] 2-амино-4,4-диметилгептановая кислота [I-195]: ^1H ЯМР (500 МГц, D_2O) δ 3,87 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 1,93 (dd, $J = 15,0$ Hz, $J = 5,5$ Hz, 1H), 1,57 (dd, $J = 15,0$ Hz, $J = 6,5$ Hz, 1H), 1,22-1,26 (m, 2H), 0,86 (d, (dd, $J = 2,0$ Hz, 6H), 0,76 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H).

[00417] (S)-2-амино-4,4-диметилгексановая кислота [I-120]: ^1H ЯМР (500 МГц, $\text{MeOD-}d_4$) δ 3,43 (dd, $J = 7,0$ Hz, $J = 5,0$ Hz, 1H), 1,95 (dd, $J = 15,0$ Hz, $J = 5,0$ Hz, 1H), 1,42 (dd, $J = 15,0$ Hz, $J = 7,0$ Hz, 1H), 1,23-1,28 (m, 2H), 0,87 (d, (dd, $J = 4,5$ Hz, 6H), 0,80 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H).

[00418] (R)-2-амино-4,4-диметилгексановая кислота [I-191]: ^1H ЯМР (500 МГц, $\text{MeOD-}d_4$) δ 3,43 (dd, $J = 7,0$ Hz, $J = 5,0$ Hz, 1H), 1,95 (dd, $J = 15,0$ Hz, $J = 5,0$ Hz, 1H), 1,42 (dd, $J = 15,0$ Hz, $J = 7,0$ Hz, 1H), 1,23-1,28 (m, 2H), 0,87 (d, (dd, $J = 4,5$ Hz, 6H), 0,80 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H).

[00419] Пример 177: 2-амино-6,6,6-трифтор-4-метилгексановая кислота [I-177]:

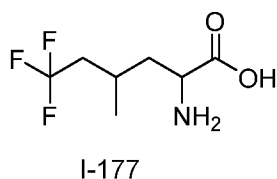
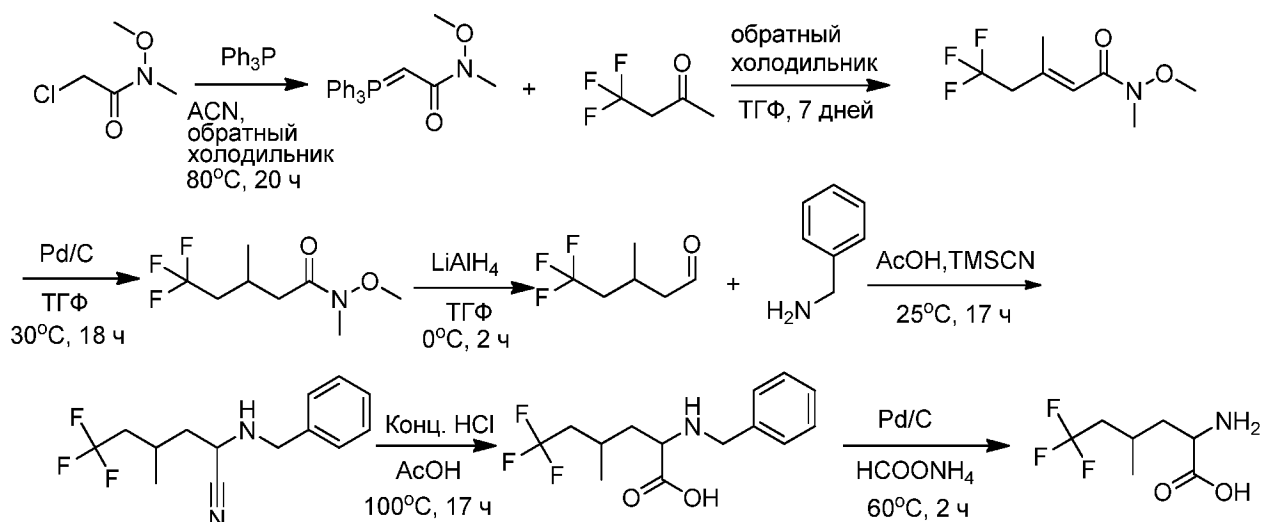


Схема синтеза:



Методики и характеристики:

[00420] Стадия 1: N-метокси-N-метил-2-(трифенил-λ5-фосфанилиден)ацетамид:

[00421] Смесь 2-хлор-N-метокси-N-метилацетамида (13,7 г, 0,1 моль) и трифенилфосфана (26,2 г, 0,1 моль) в ацетонитриле (200 мл) нагревали до 80°C и выдерживали в течение 20 ч. Смесь охлаждали и концентрировали для удаления растворителя при температуре ниже 40°C . Остаток растворяли в дихлорметане (200 мл), а затем в 2 Н КОН (100 мл). Полученную смесь перемешивали при 20°C в течение 1 ч. Фазы разделяли, органический слой промывали рассолом (200 мл*3), сушили над Na_2SO_4 и фильтровали. Фильтрат концентрировали в вакууме с получением N-метокси-N-метил-2-(трифенил-λ5-фосфанилиден)ацетамида (36 г, 0,1 моль, 98%) в виде желтого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 364,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00422] Стадия 2: (E)-5, 5, 5-трифтор-N-метокси-N, 3-диметилпент-2-енамид:

[00423] Смесь N-метокси-N-метил-2-(трифенил-λ5-фосфанилиден)ацетамида (36,3 г, 0,1 моль) и 4,4,4-трифторбутан-2-она (25,2 г, 0,2 моль) в тетрагидрофуране (500 мл) нагревали до 70°C и выдерживали в течение 7 дней. Смесь охлаждали и концентрировали для удаления растворителя при температуре ниже 40°C в вакууме. Остаток очищали элюированием на колонке с силикагелем (200 г, 200 ~ 300 меш, УФ 254 нм) этилацетатом в петролейном эфире от 0 до 35 % с получением (E)-5,5,5-трифтор-N-метокси-N,3-диметилпент-2-енамида (6 г, 0,03 моль, 28%) в виде желтого масла. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 212,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00424] Стадия 3: 5, 5, 5-трифтор-N-метокси-N,3-диметилпентамид:

[00425] Смесь (E)-5,5,5-трифтор-N-метокси-N,3-диметилпент-2-енамида (6 г, 0,03 моль) и Pd/C (10 %, 400 мг) в ТГФ (100 мл) перемешивали при 30°C в течение 18 ч.

Смесь фильтровали и концентрировали фильтрат в вакууме до сухости с получением 5,5,5-трифтор-N-метокси-N,3-диметилпентамида (6 г, 0,03 моль, 98%) в виде желтого масла. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 214,2 [M+H]⁺.

[00426] Стадия 4: 5, 5, 5-трифтор-3-метилпентаналь:

[00427] К раствору 5, 5, 5-трифтор-N-метокси-N, 3-диметилпентамида (6 г, 0,03 моль) в 100 мл ТГФ добавляли LiAlH₄ (1 г, 0,03 моль) при 0 °С. Смесь перемешивали при 0 °С в течение 1 ч. Реакционную смесь тушили добавлением воды, а затем трет-бутилметилового эфира (60 мл*2). Фазы разделяли, органический слой промывали рассолом (80 мл*3), сушили над Na₂SO₄ и фильтровали. Фильтрат содержал 5,5,5-трифтор-3-метилпентаналь (4,5 г, 95%) в виде бесцветного раствора, который непосредственно использовали на следующей стадии.

[00428] Стадия 5: 2-(бензиламино)-6, 6, 6-трифтор-4-метилгексаннитрил:

[00429] К полученному выше раствору 5,5,5-трифтор-3-метилпентанала в трет-бутилметиловом эфире (200 мл) добавляли бензиламин (5 мл), AcOH (4,0 мл) и затем TMSCN (5 мл) в ледяной бане. Смесь нагревали до 20 °С и перемешивали в течение ночи. Раствор разбавляли водой (100 мл) и экстрагировали EtOAc (100 мл), органическую фазу промывали водой (100 мл x 2) и рассолом (100 мл), сушили (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали в вакууме с получением 2-(бензиламино)-6,6,6-трифтор-4-метилгексаннитрила (6 г, неочищенный) в виде коричневого масла, которое использовали для проведения следующей стадии. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 271,3 [M+H]⁺.

[00430] Стадия 6: 2-(бензиламино)-6,6,6-трифтор-4-метилгексановая кислота:

[00431] Раствор 2-(бензиламино)-6,6,6-трифтор-4-метилгексаннитрила (3 г, неочищенный) в конц. HCl (100 мл) и AcOH (20 мл) нагревали до 100 °С в течение 17 ч. Раствор охлаждали до 15 °С, значение pH доводили до 3-4 насыщ. раствором NaHCO₃, смесь фильтровали и сушили с получением 2-(бензиламино)-6,6,6-трифтор-4-метилгексановой кислоты (1 г, 13,4 ммоль, 33% для 3 стадий) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 290,3 [M+H]⁺.

[00432] 2-амино-6, 6, 6-трифтор-4-метилгексановая кислота [I-177]:

[00433] К раствору 2-(бензиламино)-6,6,6-трифтор-4-метилгексановой кислоты (88 мг, 0,31 ммоль) в 8 мл MeOH добавляли HCOONH₄ (0,13 г, 2,0 ммоль) и Pd/C (30 мг) при комн. темп. Смесь перемешивали при 60 °С в течение 2 ч. Реакционную смесь фильтровали и концентрировали с получением неочищенного продукта, который очищали с помощью обращенно-фазовой хроматографии на силикагеле с получением 2-амино-6,6,6-трифтор-4-метилгексановой кислоты **[I-177]** (45 мг, 84 %) в виде белого

твёрдого вещества; ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 200,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, ДМСО) δ 3,15 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H), 2,39 – 2,24 (m, 1H), 2,19 – 1,96 (m, 2H), 1,82 – 1,66 (m, 1H), 1,63 – 1,35 (m, 1H), 0,98 (dd, $J = 16,5, 6,2$ Hz, 3H).

[00434] Пример 179: (*S*)-2-амино-5-фтор-4-(фторметил)пентановая кислота [I-179]

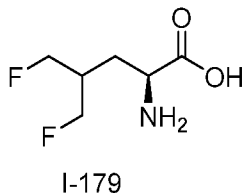
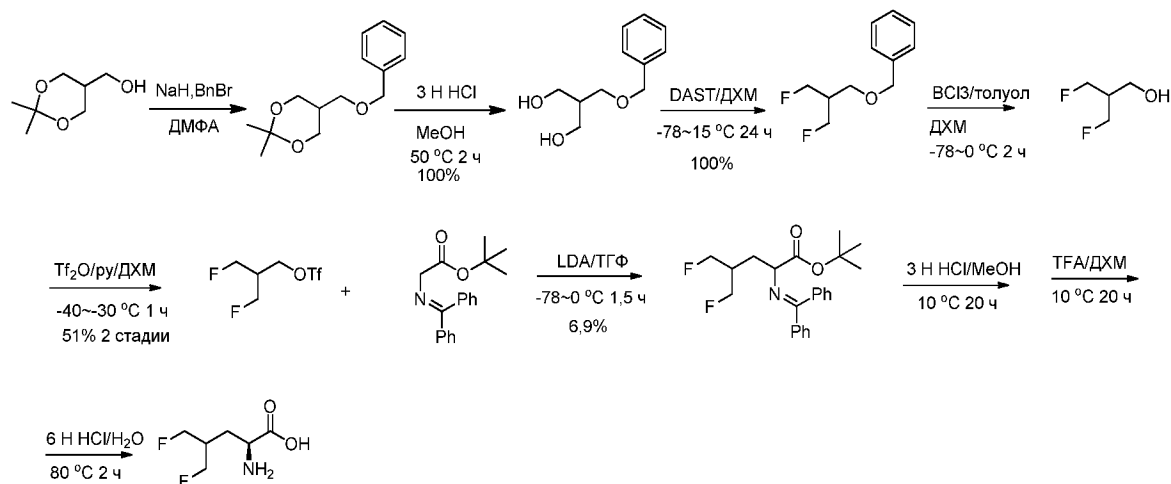


Схема синтеза:



Методики и характеристики:

Стадия 1: 5-(бензилоксиметил)-2,2-диметил-1,3-диоксан:

[00435] К раствору (2,2-диметил-1,3-диоксан-5-ил)метанола (0,29 г, 2,0 ммоль) в ДМФА (10 мл) добавляли NaH (60% в масле, 0,12 г, 3,0 ммоль) при 0 °С. Смесь перемешивали при 0 °С в течение 0,2 ч. Затем добавляли (бромметил)бензол (0,45 г, 2,6 ммоль). Смесь нагревали до 10 °С в течение 3 ч и выдерживали в течение 18 ч. Реакционную смесь тушили добавлением ледяной воды, а затем EtOAc (60 мл). Фазы разделяли, органический слой промывали рассолом (60 мл*3), сушили над Na_2SO_4 и фильтровали. Фильтрат концентрировали и остаток очищали с помощью колонки с силикагелем (20 г, UV 254 нм, элюирование EtOAc в PE от 10 % до 50 %) с получением 5-(бензилоксиметил)-2,2-диметил-1,3-диоксана (1), (0,46 г, 0,2 моль, 95 %) в виде бесцветного масла. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 237,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия 2: 2-(бензилоксиметил)пропан-1,3-диол:

[00436] К раствору 5-(бензилоксиметил)-2,2-диметил-1,3-диоксана (930 мг, 3,94 ммоль) в MeOH (20 мл) добавляли 3Н водный раствор HCl (2 мл). Смесь перемешивали при 50 °С в течение 2 ч. Реакционную смесь концентрировали и разбавляли ДХМ (20 мл), промывали рассолом (15 мл), сушили и выпаривали с получением неочищенного бесцветного масла (780 мг, 100%). ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 197 $[M+H]^+$.

Стадия 3: ((3-фтор-2-(фторметил)пропокси)метил)бензол:

[00437] К предварительно охлажденному раствору 2-(бензилоксиметил)пропан-1,3-диола (780 мг, 3,94 ммоль) в ДХМ (20 мл) по каплям добавляли DAST (1,9 г, 11,8 ммоль) при -78 °С. Смесь перемешивали при 20 °С в течение 24 ч. Реакционную смесь тушили добавлением насыщ. водного раствора $NaHCO_3$ (10 мл) при -78 °С. Фазу ДХМ отделяли и промывали рассолом, сушили с помощью $MgSO_4$, фильтровали через короткую силикагелевую пластинку и затем концентрировали с получением неочищенного бесцветного масла (800 мг, 100%). ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 223 $[M+Na]^+$. 1H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 7,37 – 7,28 (m, 5H), 4,65 – 4,57 (m, 2H), 4,55 – 4,48 (m, 4H), 3,57 (d, $J = 6,2$ Hz, 2H), 2,50 – 2,34 (m, 1H).

Стадия 4: 3-фтор-2-(фторметил)пропан-1-ол:

[00438] К предварительно охлажденному раствору ((3-фтор-2-(фторметил)пропокси)метил)бензола (800 мг, 3,94 ммоль) в ДХМ (20 мл) по каплям добавляли BCl_3 /толуол (1M, 6 мл, 6,0 ммоль) при -78 °С. Смесь перемешивали при -78~0 °С в течение 2 ч. Реакционную смесь тушили добавлением H_2O (0,5 мл) при -78 °С. Фазу ДХМ сушили с помощью $MgSO_4$, фильтровали и использовали раствор (приблизительно 20 мл) непосредственно на следующей стадии.

Стадия 5: 3-фтор-2-(фторметил)пропилтрифторметансульфонат:

[00439] К предварительно охлажденному раствору 3-фтор-2-(фторметил)пропан-1-ола (8 мл раствора со стадии 4, 1,6 ммоль) добавляли py (380 мг, 4,8 ммоль), затем Tf_2O (1,36 г, 4,8 ммоль) по каплям при -40 °С. Смесь перемешивали при -30 °С в течение 1 ч. Реакционную смесь тушили добавлением рассола (20 мл) при -40 °С. Фазу ДХМ отделяли и сушили с помощью $MgSO_4$, фильтровали и затем концентрировали с получением неочищенного масла рыжевато-го цвета (200 мг, 51%), которое непосредственно использовали на следующей стадии.

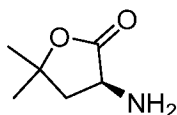
Стадия 6: трет-бутил-2-(дифенилметиленамино)-5-фтор-4-(фторметил)пентаноат:

[00440] К предварительно охлажденному раствору трет-бутил-2-(дифенилметиленамино)ацетата (944 мг, 3,2 ммоль) в ТГФ (20 мл) добавляли LDA (2,5 М в ТГФ/толуоле/гексане, 1,28 мл, 3,2 ммоль) при -78 °С за 25 мин. Смесь перемешивали при этой температуре в течение 10 мин. По каплям добавляли раствор 3-фтор-2-(фторметил)пропилтрифторметансульфоната (200 мг, 0,82 ммоль) в ТГФ (2 мл) при -78 °С. Реакционную смесь помещали прямо над охлаждающей баней и перемешивали в течение еще 1 ч. Реакционную смесь тушили добавлением насыщ. водного раствора NH_4Cl (20 мл), экстрагировали МТВЕ (30 мл*2), промывали H_2O , рассолом (по 50 мл каждого), сушили и концентрировали с получением неочищенного продукта, который дважды очищали с помощью хроматографии (силикагель, PE to 5%EA/PE) с получением целевого продукта (22 мг, 6,9%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 388 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO) δ 7,56 – 7,45 (m, 6H), 7,41 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 7,18 (d, $J = 6,3$ Hz, 2H), 4,50 – 4,17 (m, 4H), 3,91 (dd, $J = 7,7, 5,5$ Hz, 1H), 2,11 – 1,97 (m, 1H), 1,87 (dd, $J = 12,7, 5,5$ Hz, 2H), 1,38 (s, 9H).

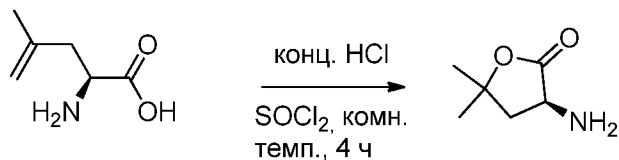
Стадия 7: (S)-2-амино-5-фтор-4-(фторметил)пентановой кислоты гидрохлорид:

[00441] Раствор трет-бутил-2-(дифенилметиленамино)-5-фтор-4-(фторметил)пентаноата (55 мг, 0,14 ммоль) в 3Н HCl/MeOH (2 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 20 ч. Реакционную смесь концентрировали и промывали Et_2O с получением неочищенного твердого вещества, которое растворяли в ДХМ/ TFA (1:1, 2 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 20 ч. Реакционную смесь выпаривали и промывали Et_2O с получением неочищенного твердого вещества, которое растворяли в 6Н HCl (1 мл) и перемешивали при 80 °С в течение 2 ч. Реакционную смесь выпаривали и лиофилизировали с получением неочищенного продукта, который очищали с помощью RP-biotage с использованием 3 mM $\text{HCl}/\text{H}_2\text{O}$, с получением целевого продукта (8,3 мг, 29%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 168 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO) δ 7,85 (bs, 3H), 4,48 (dd, $J = 48,3, 14,2$ Hz, 4H), 3,46 – 3,36 (m, 1H), 2,47 – 2,26 (m, 1H), 1,78 (dt, $J = 14,3, 7,3$ Hz, 1H), 1,63 – 1,53 (m, 1H).

[00442] Пример 187: (S)-3-амино-5,5-диметил-дигидрофуран-2(3H)-он [I-187]:

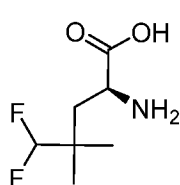


I-187

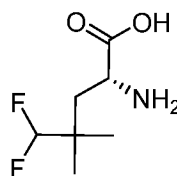
Схема синтеза:**Методики и характеристики:****Стадия 1: (S)-3-амино-5,5-диметил-дигидрофуран-2(3H)-он [I-187]:**

[00443] В круглодонную колбу, содержащую (S)-2-амино-4-метилпент-4-еновую кислоту (100 мг), добавляли конц. HCl (1 мл) и SOCl₂ (0,2 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. Реакционную смесь концентрировали и промывали Et₂O с получением неочищенного твердого вещества, которое очищали с помощью RP-biotage с использованием 0,025% TFA/H₂O/MeCN, с получением целевого продукта (20,2 мг, 11,4%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 130,1 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО) δ 8,80 (bs, 3H), 4,58 (dd, J = 11,2, 9,3 Hz, 1H), 2,53 – 2,48 (m, 1H), 2,13 (t, J = 11,7 Hz, 1H), 1,45 (s, 3H), 1,40 (s, 3H).

[00444] Пример 90: Синтез (S)-2-амино-5,5-дифтор-4,4-диметилпентановой кислоты [I-90]:

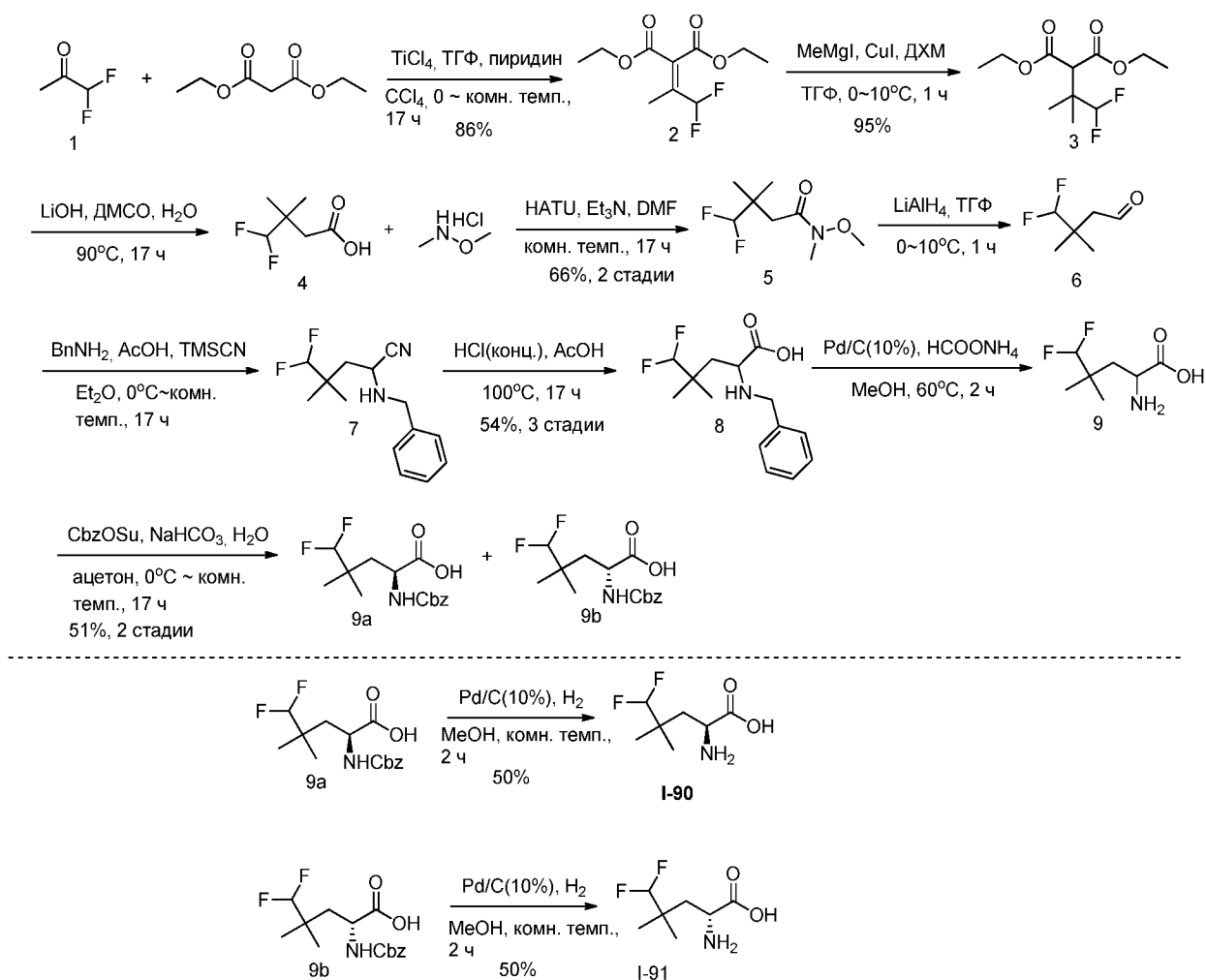


I-90



I-91

Схема синтеза:



Методики и характеристики:

[00445] Стадия 1: диэтил-2-(1,1,1-трифторпропан-2-илиден)малонат:

[00446] TiCl_4 (65,8 мл, 600 ммоль) добавляли в ТГФ (1 л) в ледяной бане по каплям в течение 20 мин, добавляли CCl_4 (30 мл). К смеси добавляли диэтилмалонат (48,0 г, 300 ммоль) и 1,1-дифторпропан-2-он (56,4 г, 600 ммоль). Смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. По каплям добавляли пиридин (200 мл) в течение 20 мин в ледяной бане. Реакционную смесь выливали в воду (2 л), фильтровали и экстрагировали фильтрат EtOAc (500 мл x 2), органическую фазу промывали водой (600 мл), 1 M HCl (600 мл x 2), водой (600 мл), насыщ. NaHCO_3 (600 мл) и рассолом (600 мл), сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали в вакууме и очищали с помощью хроматографии (силикагель, этилацетат/петролейный эфир от 0% до 5%) с получением диэтил-2-(1,1-дифторпропан-2-илиден)малоната (60,9 г, 258 ммоль, 86%) в виде бесцветной жидкости. ЭСИ-МС (Et^+ , m/z): 237,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H -ЯМР (500 МГц, CDCl_3): δ

6,97 (t, $J = 55,5$ Hz, 1H), 4,25-4,33 (m, 4H), 2,03 (s, 3H), 1,29-1,34 (m, 6H).

[00447] Стадия 2: диэтил-2-(1,1-дифтор-2-метилпропан-2-ил)малонат:

[00448] К смеси диэтил-2-(1,1-дифторпропан-2-илиден)малоната (10,0 г, 42,3 ммоль) и CuI (12,1 г, 63,5 ммоль) в ДХМ (100 мл) и ТГФ (25 мл) по каплям добавляли MeMgI (42,3 мл, 130,5 ммоль) при -20 °C за 1 ч. Раствор выливали в ледяную воду (200 мл) и подвергали воздействию насыщ. раствора NH_4Cl (100 мл), смесь перемешивали в течение 30 мин и фильтровали, фильтрат экстрагировали ДХМ (100 мл), органическую фазу промывали водой (100 мл x 2) и рассолом (100 мл), сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали в вакууме с получением диэтил-2-(1,1-дифтор-2-метилпропан-2-ил)малоната (10,1 г, 40,2 ммоль, 95%) в виде коричневой жидкости, которую использовали для проведения следующей стадии. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 253,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H -ЯМР (500 МГц, CDCl_3): δ 6,05 (t, $J = 57,5$ Hz, 1H), 4,17-4,23 (m, 4H), 3,49 (s, 1H), 1,22-1,28 (m, 6H), 1,20 (s, 6H).

[00449] Стадия 3: 4,4-дифтор-3,3-диметилбутановая кислота:

[00450] Смесь диэтил-2-(1,1-дифтор-2-метилпропан-2-ил)малоната (6,1 г, 24,2 ммоль) и $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (5,1 г, 121 ммоль) в ДМСО (50 мл) и H_2O (0,5 мл) нагревали до 90 °C в течение 17 ч. Смесь разбавляли водой (200 мл), экстрагировали ДХМ (100 мл), значение pH водной фазы довели до 3-4 с помощью 6 M раствора HCl, экстрагировали ДХМ (100 мл x 2), сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали в вакууме с получением 4,4-дифтор-3,3-диметилбутановой кислоты (3,6 г, неочищенная) в виде коричневой жидкости. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 151,1 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

[00451] Стадия 4: 4,4-дифтор-N-метокси-N,3,3-триметилбутанамид:

[00452] К раствору 4,4-дифтор-3,3-диметилбутановой кислоты (3,6 г, неочищенная), N,O-диметилгидроксиламина гидрохлорида (4,6 г, 47,4 ммоль) и HATU (10,8 г, 28,4 ммоль) в ДМФА (50 мл) добавляли Et_3N (7,18 г, 71,1 ммоль), затем перемешивали при комн. темп. в течение 17 ч. Смесь фильтровали и фильтрат разбавляли водой (200 мл), экстрагировали Et_2O (100 мл x 2), промывали водой (100 мл), 1 M HCl (100 мл) и рассолом (100 мл), сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали в вакууме с получением 4,4-дифтор-N-метокси-N,3,3-триметилбутанамида (3,1 г, 15,9 ммоль, 66%, 2 стадии) в виде коричневой жидкости. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 196,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H -ЯМР (500 МГц, CDCl_3): δ 5,95 (t, $J = 57,5$ Hz, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,17 (s, 3H), 2,51 (s, 2H), 1,12 (s, 6H).

[00453] Стадия 5: 4,4-дифтор-3,3-диметилбутаналь:

[00454] К раствору 4,4-дифтор-N-метокси-N,3,3-триметилбутанамида (3,1 г, 15,9

ммоль) в ТГФ (80 мл) по каплям добавляли LiAlH_4 (24 мл, 24 ммоль) в ледяной бане. По прошествии 1 ч смесь тушили добавлением раствора лимонной кислоты (100 мл), раствор экстрагировали Et_2O (100 мл x 2), органическую фазу промывали рассолом (100 мл), сушили (Na_2SO_4) и использовали раствор для проведения следующей стадии.

[00455] Стадия 6: 2-(бензиламино)-5,5-дифтор-4,4-диметилпентаннитрил:

[00456] К полученному выше раствору 4,4-дифтор-3,3-диметилбутанала в Et_2O (200 мл) добавляли бензиламин (3 мл), AcOH (3 мл) и затем TMSCN (3 мл) в ледяной бане, раствор перемешивали при 0 ~ комн. темп. в течение 17 ч и затем разбавляли EtOAc (100 мл). Раствор промывали H_2O (100 мл x 2) и затем концентрировали с получением 2-(бензиламино)-5,5-дифтор-4,4-диметилпентаннитрила (3,2 г, неочищенный) в виде коричневой жидкости. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 253,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00457] Стадия 7: 2-(бензиламино)-5,5-дифтор-4,4-диметилпентановая кислота:

[00458] Раствор 2-(бензиламино)-5,5-дифтор-4,4-диметилпентаннитрила (1,8 г, неочищенный) в конц. HCl (50 мл) и AcOH (10 мл) нагревали до 100 °C в течение 64 ч. Смесь концентрировали для удаления растворителя, доводили значение pH до 12 с помощью 1 M раствора NaOH , экстрагировали PE (100 мл), значение pH водной фазы доводили до 5-6 с помощью 6 M HCl . Белое твердое вещество было образовано, отфильтровано, и фильтровальный осадок промывали водой (50 мл), сушили в вакууме с получением 2-(бензиламино)-5,5-дифтор-4,4-диметилпентановой кислоты (1,3 г, 4,80 ммоль, 54%, 3 стадии) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 272,0

[00459] Стадия 8: 2-амино-5,5-дифтор-4,4-диметилпентановая кислота:

[00460] Смесь 2-(бензиламино)-5,5-дифтор-4,4-диметилпентановой кислоты (1,3 г, 4,80 ммоль), HCOONH_4 (1,51 г, 24 ммоль) и Pd/C (10%, 200 мг) в MeOH (50 мл) нагревали до 60 °C в течение 1 ч. Смесь фильтровали и концентрировали фильтрат с получением 2-амино-5,5-дифтор-4,4-диметилпентановой кислоты (1,0 г, неочищенная) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 182,0

[00461] Стадия 9: 2-(бензилоксикарбониламино)-5,5-дифтор-4,4-диметилпентановая кислота

[00462] К раствору 2-амино-5,5-дифтор-4,4-диметилпентановой кислоты (1,0 г, неочищенная) и NaHCO_3 (1,27 г, 14,4 ммоль) в ацетоне (30 мл) и H_2O (30 мл) добавляли CbzOSu (2,39 г, 9,6 ммоль) в ледяной бане. После перемешивания в течение 17 ч значение pH смеси доводили до 3-4 с помощью 1M раствора HCl , и раствор экстрагировали EtOAc (50 мл x 2), промывали рассолом (50 мл), сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали в вакууме, неочищенный продукт очищали с помощью

обращенно-фазовой хроматографии на силикагеле и затем препаративной хиральной ВЭЖХ [колонка, СС4 4,6*250 мм 5 мкм; растворитель, MeOH (0,2% метанол-аммиак)] с получением (*S*)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5-дифтор-4,4-диметилпентановой кислоты (400 мг, 1,27 ммоль, 26%, 2 стадии) и (*R*)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5-дифтор-4,4-диметилпентановой кислоты (380 мг, 1,21 ммоль, 25%, 2 стадии) в виде двух бесцветных масел. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 316,0

[00463] Стадия 10: (*S*)-2-амино-5,5-дифтор-4,4-диметилпентановая кислота:

[00464] Раствор (*S*)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5-дифтор-4,4-диметилпентановой кислоты (400 мг, 1,27 ммоль) и Pd/C (10%, 50 мг) в MeOH (30 мл) перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч в атмосфере водорода, смесь фильтровали и концентрировали в вакууме и очищали с помощью обращенно-фазовой хроматографии на силикагеле с получением (*S*)-2-амино-5,5-дифтор-4,4-диметилпентановой кислоты (115,7 мг, 0,64 ммоль, 50%). ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 182,0 1H -ЯМР (500 МГц, MeOD-*d*4): δ 5,60 (t, J = 56,5 Hz, 1H), 3,97 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 2,07 (dd, J = 15,5 Hz, J = 5,5 Hz, 1H), 1,77 (dd, J = 15,5 Hz, J = 6,5 Hz, 1H), 0,96 (d, J = 9,5 Hz, 6H).

[00465] Пример 88: Синтез (*S*)-2-амино-5,5-дифтор-4,4-диметилпентановая кислота [I-88]:

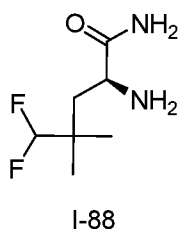
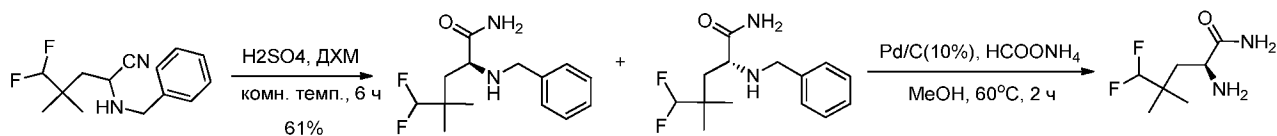


Схема синтеза:



Методики и характеристики:

[00466] Стадия 1: (*S*)-2-(бензиламино)-5,5-дифтор-4,4-диметилпентамид:

[00467] К раствору 2-(бензиламино)-5,5-дифтор-4,4-диметилпентаннитрила (1,2 г, 4,76 ммоль) в ДХМ (20 мл) по каплям добавляли конц. H_2SO_4 (10 мл) в ледяной бане в течение 5 мин, смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 6

ч. Смесь выливали в ледяную воду (100 мл), значение pH раствора довели до 8 ~ 9 добавлением 10% раствора NaOH и затем экстрагировали EtOAc (100 мл x 2), органическую фазу промывали водой (100 мл) и рассолом (100 мл), сушили (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали в вакууме и очищали с помощью хроматографии (MeOH/ДХМ от 0% до 5%) и затем препаративной хиральной ВЭЖХ [колонка, СС4 4,6*250 мм 5 мкм; растворитель, MeOH (0,2% метанол-аммиак)] с получением (*S*)-2-(бензиламино)-5,5-дифтор-4,4-диметилпентамида (400 мг, 1,48 ммоль, 31%) и (*R*)-2-(бензиламино)-5,5-дифтор-4,4-диметилпентамида (380 мг, 1,41 ммоль, 30%) в виде двух бесцветных жидкостей. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 253,0 [M+H]⁺.

[00468] Стадия 2: (*S*)-2-амино-5,5-дифтор-4,4-диметилпентамид:

[00469] Смесь (*S*)-2-(бензиламино)-5,5-дифтор-4,4-диметилпентамида (200 мг, 0,74 ммоль), HCOONH₄ (233 мг, 3,7 ммоль) и Pd/C (10%, 40 мг) в MeOH (15 мл) нагревали до 60 °C в течение 1 ч. Смесь фильтровали, и фильтрат концентрировали и очищали с помощью обращенно-фазовой хроматографии на силикагеле с получением (*S*)-2-амино-5,5-дифтор-4,4-диметилпентамида трифторуксусной кислоты (128 мг, 0,44 ммоль, 59%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 181,0 [M+H]⁺. ¹H-ЯМР (500 МГц, MeOD-*d*4): δ 5,66 (t, *J* = 56,5 Hz, 1H), 3,95 (dd, *J* = 8,0 Hz, *J* = 5,0 Hz, 1H), 2,14 (dd, *J* = 10,0 Hz, *J* = 8,0 Hz, 1H), 1,83 (dd, *J* = 14,5 Hz, *J* = 5,5 Hz, 1H), 1,12 (d, *J* = 15,0 Hz, 6H).

[00470] Пример 185: Синтез (*S*)-метил-2-((*S*)-2-амино-5,5-дифтор-4,4-диметилпентамидо)-4-метилпентаноата [I-185]:

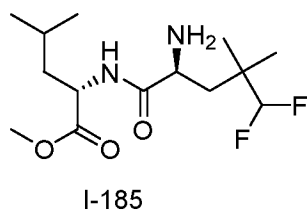
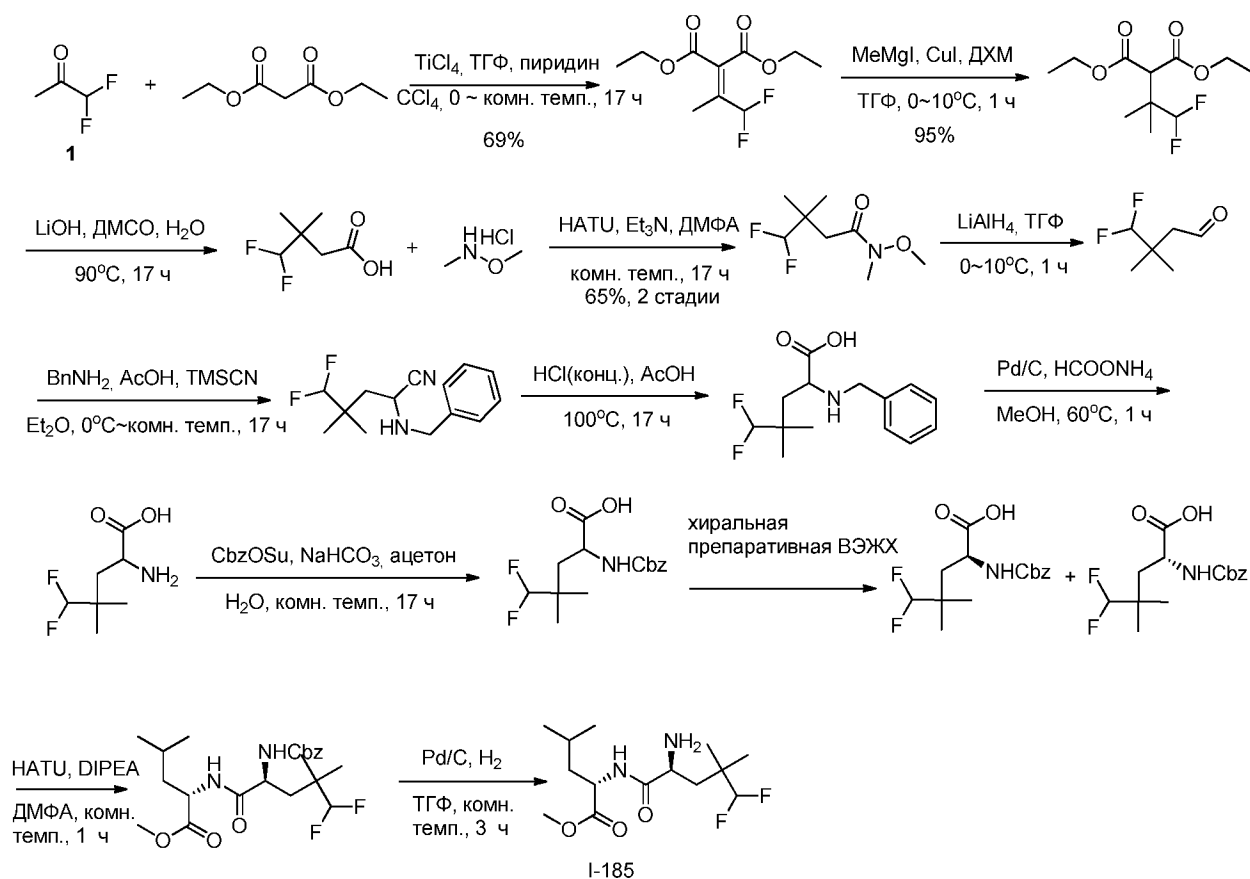


Схема синтеза:



Методики и характеристики:

[00471] Методика для 2-(бензилоксикарбониламино)-5,5-дифтор-4,4-диметилпентановой кислоты была такой же, как в примере 90

[00472] Стадия 1: (S)-метил-2-((S)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5-дифтор-4,4-диметилпентамидо)-4-метилпентаноат:

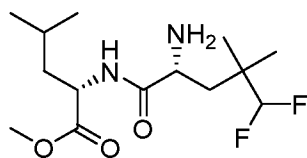
[00473] Раствор (S)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5-дифтор-4,4-диметилпентановой кислоты (150 мг, 0,476 ммоль), HATU (199 мг, 0,524 ммоль), (S)-метил-2-амино-4-метилпентаноата гидрохлорида (104 мг, 0,571 ммоль) и DIPEA (123 мг, 0,952 ммоль) перемешивали при комн. темп. в течение 1 ч, затем тушили добавлением ледяной воды (20 мл), экстрагировали EA (2x30 мл), сушили, фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно-фазовой хроматографии на силикагеле biotage с получением (S)-метил-2-((S)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5-дифтор-4,4-диметилпентамидо)-4-метилпентаноата (95 мг, 45%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 443,0.

[00474] Стадия 2: (S)-метил-2-((S)-2-амино-5,5-дифтор-4,4-диметилпентамидо)-4-метилпентаноат:

[00475] Раствор (S)-метил-2-((S)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5-дифтор-4,4-диметилпентамидо)-4-метилпентаноата (95 мг, 0,215 ммоль) и Pd/C (30 мг) в ТГФ (5 мл) перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч, затем фильтровали, концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно-фазовой хроматографии на силикагеле biotage с получением (S)-метил-2-((S)-2-амино-5,5-дифтор-4,4-диметилпентамидо)-4-метилпентаноата (45 мг, 69%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 309,0

^1H -ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$): 9,11 (d, $J = 7$ Hz, 1H), 8,41 (s, 3H), 5,81 (t, $J = 56,5$ Hz, 1H), 4,34-4,31 (m, 1H), 3,89-3,81 (m, 1H), 3,62 (s, 3H), 1,98-1,93 (m, 1H), 1,76-1,73 (m, 1H), 1,65-1,54 (m, 3H), 0,93-0,81 (m, 12H).

[00476] Пример 184: Синтез (S)-метил-2-((R)-2-амино-5,5-дифтор-4,4-диметилпентамидо)-4-метилпентаноата [I-184]:



I-184

Методика была такой же, как в примере 90, 185.

[00477] (S)-метил-2-((R)-2-амино-5,5-дифтор-4,4-диметилпентамидо)-4-метилпентаноат: ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 309,0

^1H -ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$): 9,18 (d, $J = 7$ Hz, 1H), 8,38 (s, 3H), 5,79 (t, $J = 56,5$ Hz, 1H), 4,37-4,32 (m, 1H), 3,85-3,78 (m, 1H), 3,58 (s, 3H), 1,97-1,92 (m, 1H), 1,77-1,72 (m, 1H), 1,61-1,51 (m, 3H), 0,94-0,82 (m, 12H).

[00478] Пример 145: Синтез (2S,4R)-2-амино-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты, (2R,4S)-2-амино-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты, (2R,4R)-2-амино-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты и (2S,4S)-2-амино-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты: [3d; I-145]; [3c; I-146]; [3a; I-167]; [3b; I-250]

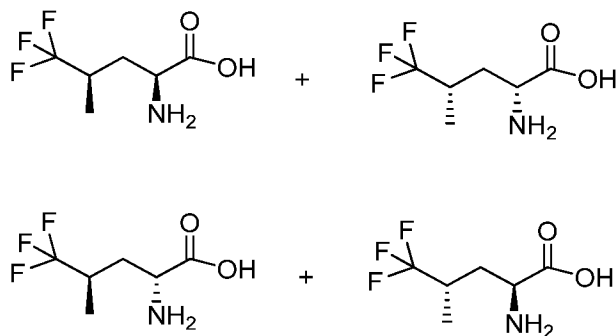
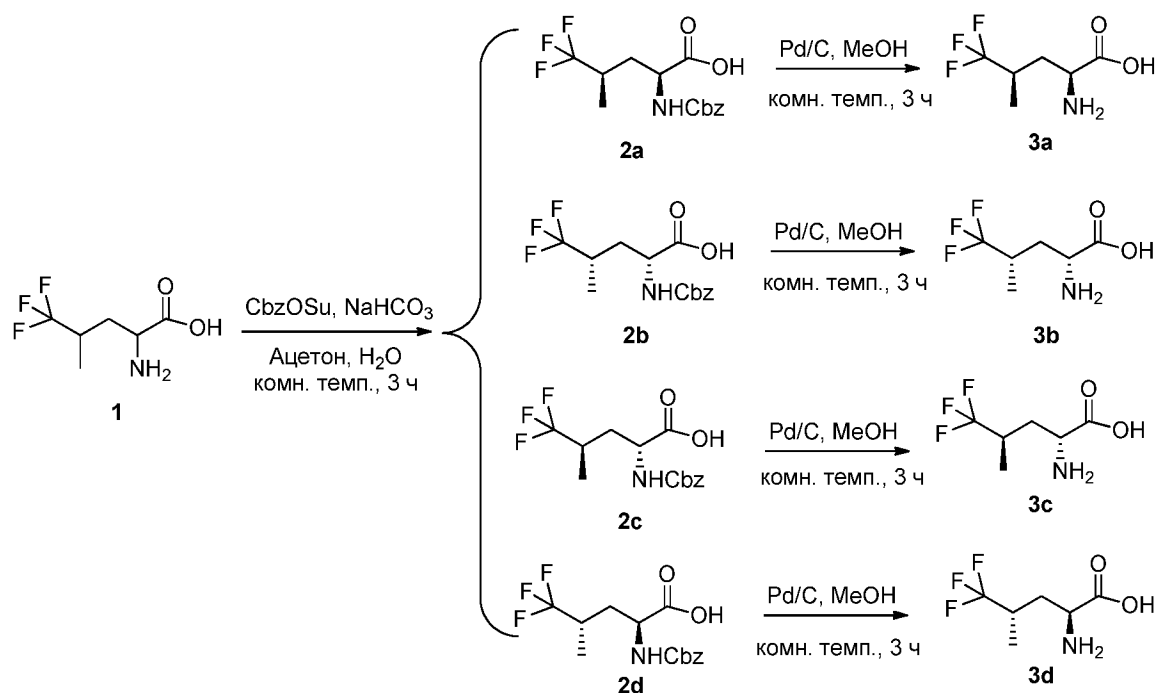


Схема синтеза:



Методики и характеристики:

[00479] Стадия 1: Синтез (2S,4R)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты, (2R,4S)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты, (2R,4R)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты и (2S,4S)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты:

[00480] К раствору 2-амино-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты (600 мг, 3.2 ммоль) в ацетоне (10 мл) и насыще. водном растворе NaHCO₃ (10 мл) добавляли CbzOSu (970 мг, 3,9 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 3 ч. Затем добавляли EtOAc (20 мл) и H₂O (20 мл), водную часть отделяли и затем экстрагировали EtOAc (2*20 мл), экстракты объединяли и промывали рассолом (20 мл), сушили с помощью безводного Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали, остаток очищали с помощью препаративной ВЭЖХ с получением 2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты (750 мг) в виде белого твердого вещества. Неочищенный продукт очищали с помощью хиральной ВЭЖХ с получением четырех изомеров: (2S,4R)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты (150 мг, 15%), (2R,4S)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты (40 мг, 3,9%), (2R,4R)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты (50 мг, 4,9%) и (2S,4S)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты (80 мг, 7,8%), обе из которых представляли собой белые твердые вещества. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 342,0 [M+Na]⁺.

[00481] Стадия 2-А: Синтез (2S,4R)-2-амино-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты:

[00482] Раствор (2S,4R)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты (150 мг, 0,47 ммоль) и Pd/C (75 мг) в MeOH (15 мл) перемешивали при комн. темп. в течение 3 ч. Реакционную смесь фильтровали и концентрировали с получением (2S,4R)-2-амино-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты (51,7 мг, 59%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 186,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H -ЯМР (500 МГц, MeOD): δ 3,64-3,60 (m, 1H), 2,77-2,71 (br, 1H), 2,24-2,18 (m, 1H), 1,76-1,69 (m, 1H), 1,25 (d, $J = 7,0$ Hz, 3 H).

[00483] Стадия 2-В: Синтез (2R,4S)-2-амино-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты:

[00484] Раствор (2R,4S)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты (40 мг, 0,12 ммоль) и Pd/C (20 мг) в MeOH (4 мл) перемешивали при комн. темп. в течение 3 ч. Реакционную смесь фильтровали и концентрировали с получением (2R,4S)-2-амино-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты (13,3 мг, 60%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 186,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H -ЯМР (500 МГц, MeOD): δ 3,51-3,47 (m, 1H), 2,64-2,58 (br, 1H), 2,12-2,06 (m, 1H), 1,63-1,57 (m, 1H), 1,13 (d, $J = 7,0$ Hz, 3 H).

[00485] Стадия 2-С: Синтез (2R,4R)-2-амино-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты:

[00486] Раствор (2R,4R)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифтор-4-метилпентановая кислота (50 мг, 0,16 ммоль) и Pd/C (25 мг) в MeOH (5 мл) перемешивали при комн. темп. в течение 3 ч. Реакционную смесь фильтровали и концентрировали с получением (2R,4R)-2-амино-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты (18,0 мг, 61%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 186,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H -ЯМР (500 МГц, MeOD): δ 3,51-3,47 (m, 1H), 2,46-2,44 (br, 1H), 1,95-1,87 (m, 2H), 1,11 (d, $J = 7,0$ Hz, 3 H).

[00487] Стадия 2-Д: Синтез (2S,4S)-2-амино-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты:

[00488] Раствор (2S,4S)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты (80 мг, 0,25 ммоль) и Pd/C (40 мг) в MeOH (8 мл) перемешивали при комн. темп. в течение 3 ч. Реакционную смесь фильтровали и концентрировали с получением (2S,4S)-2-амино-5,5,5-трифтор-4-метилпентановой кислоты (38,1 мг, 82%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 186,2

$[M+H]^+$. ^1H -ЯМР (500 МГц, MeOD): δ 3,51-3,47 (m, 1H), 2,46-2,44 (br, 1H), 1,95-1,87 (m, 2H), 1,11 (d, $J = 7,0$ Hz, 3 H).

[00489] Пример 128: (S)-2-амино-5,5,5-трифтор-4,4-диметилпентановая кислота (I-128):

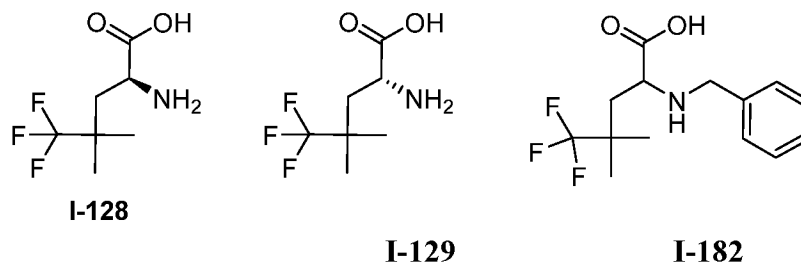
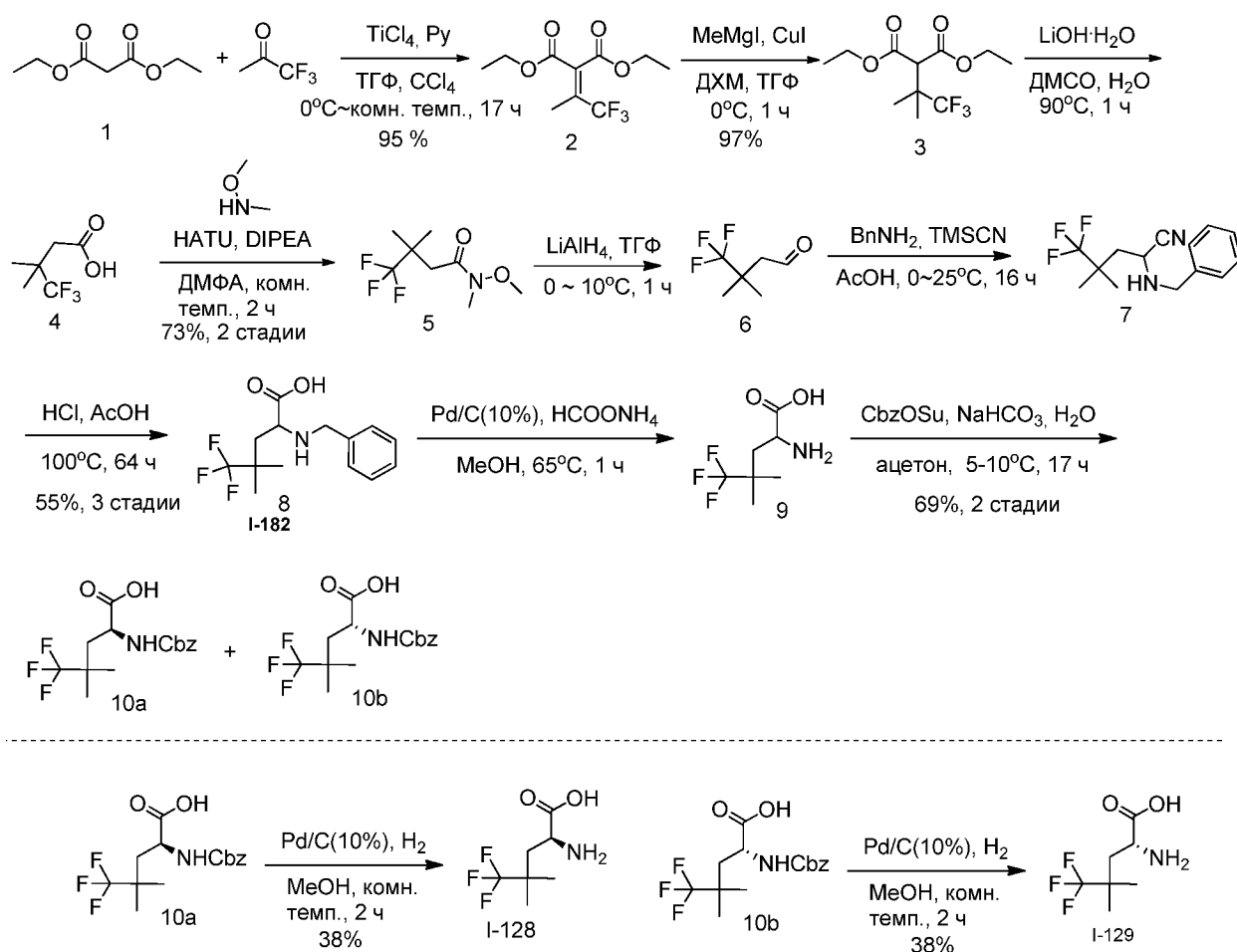


Схема синтеза:

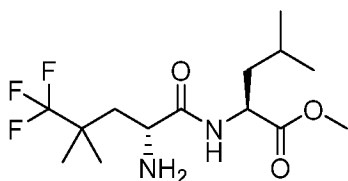


Методики и характеристики:

Методика была такой же, как использованная в примере 187.

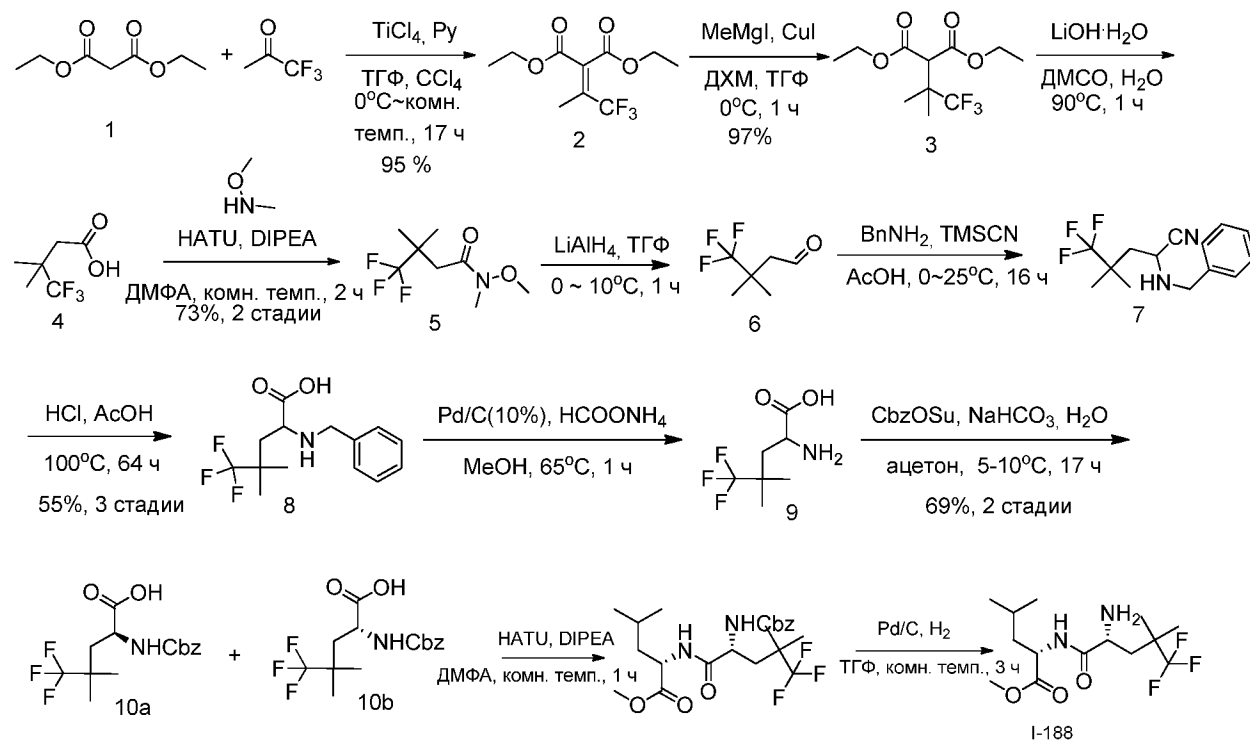
[00490] (S)-2-амино-5,5,5-трифтор-4,4-диметилпентановая кислота: ЭСИ-МС (E^+ , m/z): 200,1 ^1H -ЯМР (500 МГц, D_2O): δ 3,94 (t, $J = 5,5$ Hz, 1H), 2,23 (dd, $J = 15,5$ Hz, $J = 5,5$ Hz, 1H), 1,90 (dd, $J = 15,5$ Hz, $J = 6,0$ Hz, 1H), 1,13 (d, $J = 8,5$ Hz, 6H).

[00491] Пример 188: (S)-метил-2-((R)-2-амино-5,5,5-трифтор-4,4-диметилпентамидо)-4-метилпентаноат [I-188]:



I-188

Схема синтеза:



Методики и характеристики:

[00492] Методика для 2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифтор-4,4-диметилпентановой кислоты была такой же, как в примере 90

[00493] Стадия 1: (S)-метил-2-((R)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифтор-4,4-диметилпентамидо)-4-метилпентаноат:

[00494] Раствор (S)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-дифтор-4,4-диметилпентановой кислоты (150 мг, 0,45 ммоль), HATU (188 мг, 0,495 ммоль), (S)-метил-2-амино-4-метилпентаноата гидрохлорида (123 мг, 0,675 ммоль) и DIPEA (175 мг, 1,35 ммоль) перемешивали при комн. темп. в течение 1 ч, затем тушили добавлением ледяной воды (20 мл), экстрагировали ЕА (2x30 мл), сушили, фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно-фазовой хроматографии на силикагеле biotage с получением (S)-метил-2-((S)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5-дифтор-4,4-диметилпентамидо)-4-метилпентаноата

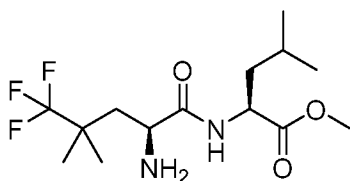
(120 мг, 58%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 461,0

[00495] Стадия 2: (S)-метил-2-((R)-2-амино-5,5,5-трифтор-4,4-диметилпентамидо)-4-метилпентаноат:

[00496] Раствор (S)-метил-2-((S)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-дифтор-4,4-диметилпентамидо)-4-метилпентаноата (120 мг, 0,26 ммоль) и Pd/C (30 мг) в ТГФ (10 мл) перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч, затем фильтровали, концентрировали. Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно-фазовой хроматографии на силикагеле biotage с получением (S)-метил-2-((S)-2-амино-5,5,5-трифтор-4,4-диметилпентамидо)-4-метилпентаноата (49 мг, 57%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 326,0

^1H -ЯМР (500 МГц, $\text{MeOD-}d_4$): 4,47 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H), 3,99-3,97 (m, 1H), 3,77 (s, 3H), 2,33-2,28 (m, 1H), 1,95-1,91 (m, 1H), 1,69-1,68 (m, 3H), 1,24-1,17 (m, 6H), 1,00-0,94 (m, 6H).

[00497] Пример 189: (S)-метил-2-((S)-2-амино-5,5,5-трифтор-4,4-диметилпентамидо)-4-метилпентаноат [I-189]:



I-189

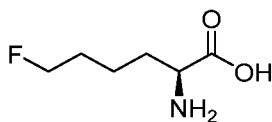
Схема синтеза:

Методика была такой же, как использованная в примере 188.

Методики и характеристики:

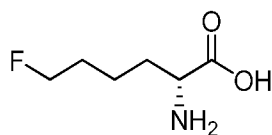
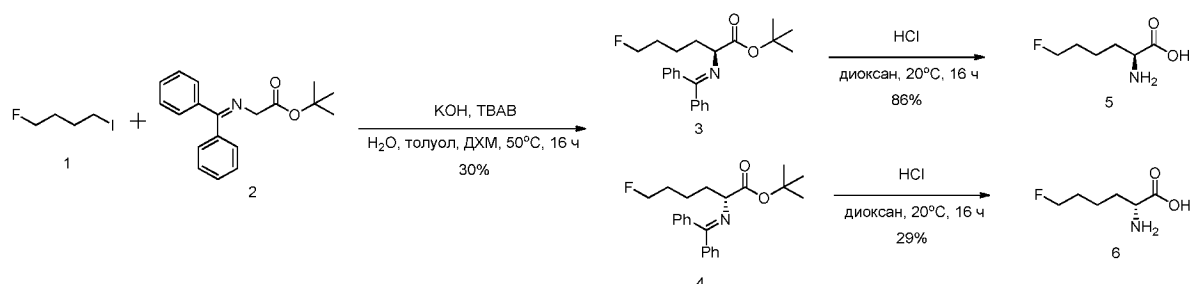
Пример 189: (S)-метил-2-((S)-2-амино-5,5,5-трифтор-4,4-диметилпентамидо)-4-метилпентаноат [I-189]: ^1H -ЯМР (500 МГц, $\text{MeOD-}d_4$): 4,52 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H), 4,02-3,99 (m, 1H), 3,73 (s, 3H), 2,35-2,30 (m, 1H), 1,95-1,91 (m, 1H), 1,78-1,67 (m, 3H), 1,25 (s, 3H), 1,17 (s, 3H), 1,01-0,97 (m, 6H).

[00498] Пример 108: (S)-2-амино-6-фторгексановая кислота [I-108].



I-108

[00499] Пример 109: (R)-2-амино-6-фторгексановая кислота [I-109].

**I-109****Схема синтеза:****Методики и характеристики:****Стадия 1: трет-бутил-2-(дифенилметиленамино)-6-фторгексаноат:**

[00500] Смесь 1-фтор-4-иодбутана (2,0 г, 9,90 ммоль), трет-бутил-2-(дифенилметиленамино)ацетата (2,43 г, 8,25 ммоль), ТВАВ (266 мг, 0,83 ммоль) и КОН (водн. 50%) (10 мл) в ДХМ (10 мл) и толуоле (25 мл) перемешивали в течение 16 ч при 50°C. Раствор очищали с помощью SGC (силикагель, этилацетат/петролейный эфир=1/5) с получением (трет-бутил-2-(дифенилметиленамино)-6-фторгексаноата (0.91 г, 2,47 ммоль, 30%) в виде бесцветного масла. MS (EI⁺, m/z): 370,2 [M+H]⁺.

Стадия 2: (S)-2-амино-6-фторгексановая кислота [I-108]:

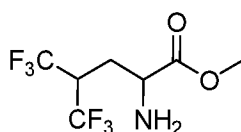
[00501] Раствор (S)-трет-бутил-2-(дифенилметиленамино)-6-фторгексаноата (360 мг, 0,97 ммоль) в диоксане (10 мл) и HCl (водн. 6M) перемешивали в течение 16 ч при комн. темп. Смесь экстрагировали простым эфиром и водой. Водный слой экстрагировали ЕА после доведения значения pH до 3-4. Органический слой концентрировали с получением (S)-2-амино-6-фторгексановой кислоты **[I-108]** в виде белого твердого вещества (125 мг, 0,84 ммоль, 86%). ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 150,3 [M+H]⁺, 1H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 4,469 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 4,351 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 3,950 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 1,904-1,820 (m, 2H), 1,690-1,588 (m, 2H), 1,456-1,388 (m, 2H).

Стадия 2: (R)-2-амино-6-фторгексановая кислота [I-109]:

[00502] Раствор (R)-трет-бутил-2-(дифенилметиленамино)-6-фторгексаноата (300 мг, 0,81 ммоль) в диоксане (10 мл) и HCl (водн. 6M) перемешивали в течение 16 ч при комн.

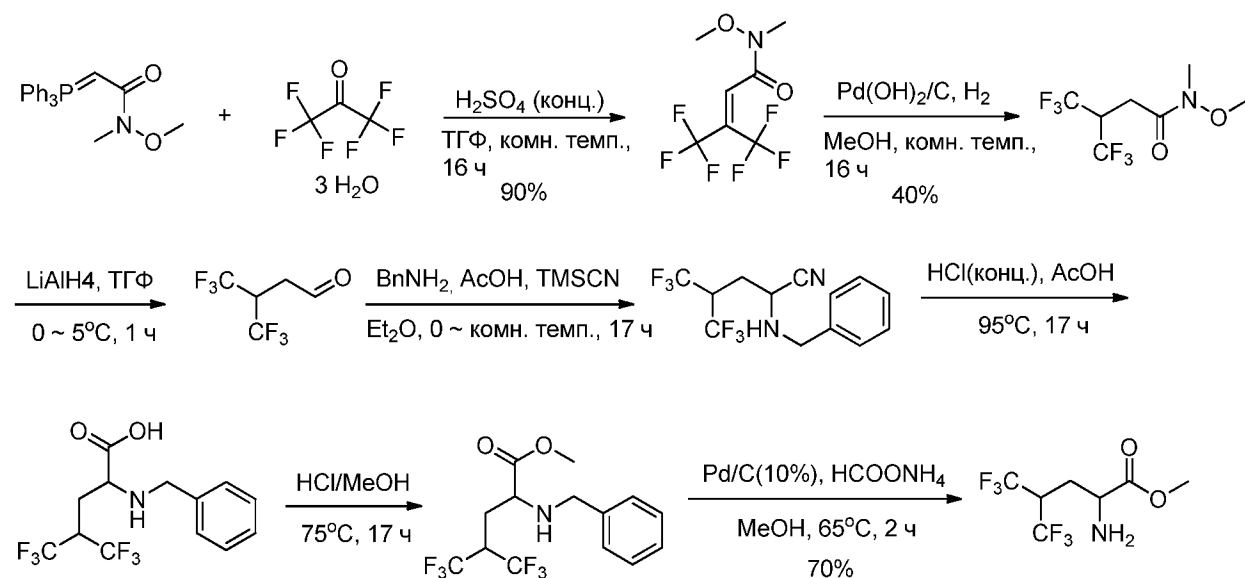
температура. Смесь экстрагировали простым эфиром и водой. Водный слой экстрагировали ЕА после доведения значения рН до 3-4. Органический слой очищали с помощью HPLC с получением (R)-2-амино-6-фторгексановой кислоты **[I-109]** в виде белого твердого вещества (35 мг, 0,23 ммоль, 29%). ЭСИ-МС (EI+, m/z): 150,2 [M+H]⁺, 1H ЯМР (500 МГц, D2O) δ 4,505 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 4,410 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 3,823 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 1,906-1,827 (m, 2H), 1,722-1,639 (m, 2H), 1,485-1,399 (m, 2H).

[00503] Пример 198: метил 2-амино-5,5,5-трифтор-4-(трифторметил)пентаноат (I-198):



I-198

Схема синтеза:



Методики и характеристики:

[00504] Стадия 1: 4,4,4-трифтор-N-метокси-N-метил-3-(трифторметил)бут-2-енамид:

[00505] К перемешиваемому раствору гексафторацетон тригидрата (30 г, 136 ммоль) медленно добавляли H₂SO₄ (100 мл, конц.) по каплям в течение 1 ч, и вводили газообразный гексафторацетон в раствор N-метокси-N-метил-2-(трифенилфосфоранилиден)ацетамида (10 г, 27,5 ммоль) в ТГФ (200 мл). Смесь

перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Затем добавляли петролейный эфир (200 мл) и отфильтровывали белый осадок. Фильтрат концентрировали, остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле (петролейный эфир/этилацетат=5/1~3/1) с получением 4,4,4-трифтор-*N*-метокси-*N*-метил-3-(трифторметил)бут-2-енамида (6,2 г, 24,7 ммоль, 90%) в виде легкого масла. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 252,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H -ЯМР (500 МГц, CDCl_3): δ 7,15 (s, 1H), 3,67 (s, 3H), 3,26 (s, 3H).

[00506] Стадия 2: 4,4,4-трифтор-*N*-метокси-*N*-метил-3-(трифторметил)бутанамид:

[00507] Смесь 4,4,4-трифтор-*N*-метокси-*N*-метил-3-(трифторметил)бут-2-енамида (4,5 г, 17,9 ммоль), $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (620 мг) в MeOH (100 мл) перемешивали при комнатной температуре в атмосфере водорода в течение 16 ч. Затем фильтровали и концентрировали с получением 4,4,4-трифтор-*N*-метокси-*N*-метил-3-(трифторметил)бутанамид (1,8 г, 7,1 ммоль, 40 %) в виде легкого масла. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 254,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00508] Стадия 3: 4,4,4-трифтор-3-(трифторметил)бутаналь:

[00509] К раствору 4,4,4-трифтор-*N*-метокси-*N*-метил-3-(трифторметил)бутанамид (1,8 г, 7,1 ммоль) в ТГФ (50 мл) добавляли по каплям LiAlH_4 (8,5 мл, 8,5 ммоль) в ледяной бане, по прошествии 1 ч смесь тушили добавлением раствора лимонной кислоты (100 мл), раствор экстрагировали Et_2O (100 мл x 2), органическую фазу промывали рассолом (100 мл), сушили (Na_2SO_4) и использовали раствор для проведения следующей стадии.

[00510] Стадия 4: 2-(бензиламино)-5,5,5-трифтор-4-(трифторметил)пентаннитрил:

[00511] К полученному выше раствору 4,4,4-трифтор-3-(трифторметил)бутаналь в Et_2O (200 мл) добавляли бензиламин (2 мл), AcOH (2 мл) и затем TMSCN (2 мл) в ледяной бане, раствор перемешивали при 0 ~ комн. темп. в течение 17 ч и затем разбавляли EtOAc (100 мл). Раствор промывали H_2O (100 мл x 2) и затем концентрировали с получением 2-(бензиламино)-5,5,5-трифтор-4-(трифторметил)пентаннитрила (2,1 г, неочищенный) в виде коричневой жидкости. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 311,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00512] Стадия 5: 2-(бензиламино)-5,5,5-трифтор-4-(трифторметил)пентановая кислота:

[00513] Раствор 2-(бензиламино)-5,5,5-трифтор-4-(трифторметил)пентаннитрила (2,1

г, неочищенный) в конц. HCl (50 мл) и AcOH (10 мл) нагревали до 100 °С в течение 40 ч. Смесь концентрировали для удаления растворителя, доводили значение pH до 12 добавлением 1 М раствора NaOH, экстрагировали PE (100 мл), значение pH водной фазы доводили до 5-6 добавлением 6 М HCl, образовывалось белое твердое вещество, его отфильтровывали и фильтровальный осадок промывали водой (50 мл), сушили в вакууме с получением 2-(бензиламино)-5,5,5-трифтор-4-(трифторметил)пентановой кислоты (1,0 г, 3,0 ммоль, 42%, 3 стадии) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 272,0

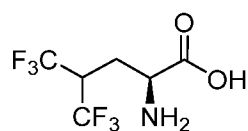
[00514] Стадия 6: метил-2-(бензиламино)-5,5,5-трифтор-4-(трифторметил)пентаноат:

[00515] Раствор 2-(бензиламино)-5,5,5-трифтор-4-(трифторметил)пентановой кислоты (800 мг, 2,4 ммоль) в HCl/MeOH (50 мл, 2М) нагревали до 75 °С в течение 17 ч. Раствор концентрировали и очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (Boston C18 21*250 мм 10 мм, подвижная фаза: А: 0,1 % TFA; В: ACN) с получением метил 2-(бензиламино)-5,5,5-трифтор-4-(трифторметил)пентаноата (120 мг, 0,35 ммоль, 15%) в виде бесцветного масла. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 344,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00516] Стадия 7: метил-2-амино-5,5,5-трифтор-4-(трифторметил)пентаноат трифторуксусная кислота:

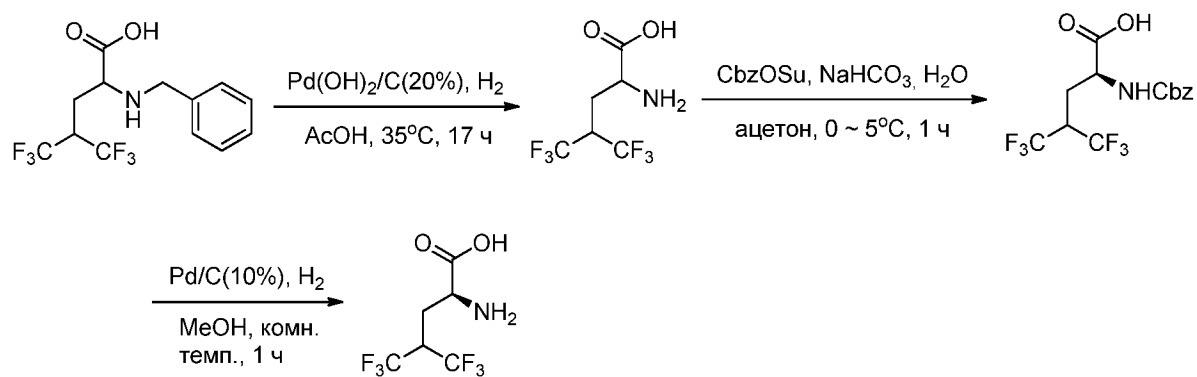
[00517] Смесь метил-2-(бензиламино)-5,5,5-трифтор-4-(трифторметил)пентаноата (100 мг, 0,30 ммоль), HCOONH_4 (92 мг, 1,5 ммоль) и Pd/C (10%, 20 мг) в MeOH (10 мл) нагревали до 65 °С в течение 1 ч. Смесь фильтровали, и фильтрат концентрировали и очищали с помощью обращенно-фазовой хроматографии на силикагеле с получением метил-2-амино-5,5,5-трифтор-4-(трифторметил)пентаноата трифторуксусной кислоты (76 мг, 0,21 ммоль, 70%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 254,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР (500 МГц, $\text{MeOD}-d_4$) δ 4,26 (dd, $J = 7,5 \text{ Hz}$, $J = 6,0 \text{ Hz}$, 1H), 3,91 (m, 4H), 2,49 (dd, $J = 8,5 \text{ Hz}$, $J = 5,0 \text{ Hz}$, 1H), 2,33-2,37 (m, 1H).

[00518] Пример 164: (S)-2-амино-5,5,5-трифтор-4-(трифторметил)пентановая кислота (I-164):



I-164

Схема синтеза:



Методики и характеристики:

[00519] Стадия 1: 2-амино-5,5,5-трифтор-4-(трифторметил)пентановая кислота:

[00520] Раствор 2-(бензиламино)-5,5,5-трифтор-4-(трифторметил)пентановой кислоты (480 мг, 1,46 ммоль) и $\text{Pd(OH)}_2/\text{C}$ (20%, 100 мг) в AcOH (15 мл) перемешивали при 35°C в течение 17 ч в атмосфере водорода. Смесь фильтровали и фильтрат концентрировали в вакууме с получением 2-амино-5,5,5-трифтор-4-(трифторметил)пентановой кислоты (460 мг, неочищенная) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 240,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

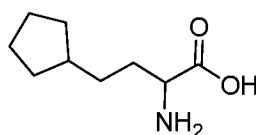
[00521] Стадия 2: (S)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифтор-4-(трифторметил)пентановая кислота:

[00522] К раствору 2-амино-5,5,5-трифтор-4-(трифторметил)пентановой кислоты (460 мг, неочищенная) и NaHCO_3 (368 мг, 4,38 ммоль) в ацетоне (30 мл) и H_2O (30 мл) добавляли CbzOSu (727 мг, 2,92 ммоль) в ледяной бане. По прошествии 17 ч значение pH реакционной смеси довели до 3-4 добавлением 1 M раствора HCl , и раствор экстрагировали EtOAc (50 мл x 2), промывали рассолом (50 мл), сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали в вакууме, неочищенный продукт очищали с помощью обращенно-фазовой хроматографии на силикагеле и затем препаративной хиральной ВЭЖХ [колонка, C_{18} 4,6*250мм 5 мкм; растворитель, MeOH (0,2% метанол-аммиак)] с получением (S)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифтор-4-(трифторметил)пентановой кислоты (27 мг, 0,072 ммоль, 5%, 2 стадии) и (R)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифтор-4-(трифторметил)пентановой кислоты (22 мг, 0,059 ммоль, 4%, 2 стадии) в виде двух бесцветных масел. ЭСИ-МС (E^+ , m/z): 396,0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

[00523] Стадия 3: (S)-2-амино-5,5,5-трифтор-4-(трифторметил)пентановая кислота:

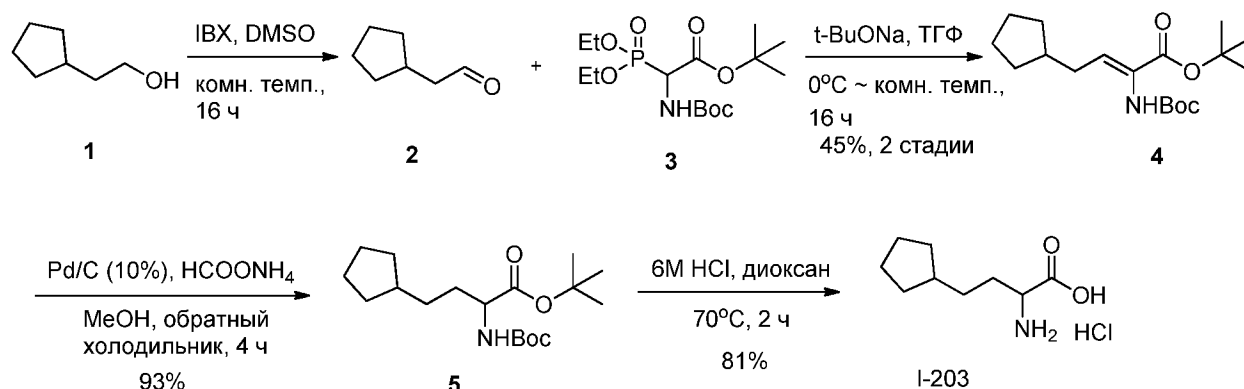
[00524] Смесь (S)-2-(бензилоксикарбониламино)-5,5,5-трифтор-4-(трифторметил)пентановой кислоты (27 мг, 0,072 ммоль) и Pd/C (10%, 5 мг) в MeOH (10 мл) перемешивали при комн. темп. в течение 1 ч. Раствор фильтровали и очищали с помощью обращенно-фазовой хроматографии на силикагеле с получением (S)-2-амино-5,5,5-трифтор-4-(трифторметил)пентановой кислоты **[I-164]** (8,5 мг, 0,036 ммоль, 49%) в виде белого твердого вещества. MS (EI⁺, m/z): 240,2[M+H]⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, D₂O) δ 3,74-3,80 (m, 2H), 2,88-2,31 (m, 1H), 1,91-2,20 (m, 1H).

[00525] Пример 203: 2-амино-4-циклопентилбутановая кислота [I-203]:



I-203

Схема синтеза:



[00526] Методики и характеристики:

[00527] Стадия 1: 2-циклопентилацетальдегид:

[00528] К раствору 3-циклопентилпропан-1-ола (2,0 г, 17,5 ммоль) в ДМСО (40 мл) добавляли IBX (7,35 г, 26,3 ммоль) в ледяной бане. Смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь выливали в воду (200 мл) и экстрагировали Et₂O (100 мл x 2), органическую фазу промывали водой (100 мл x 3) и рассолом (100 мл), сушили (Na₂SO₄), и раствор использовали для проведения следующей стадии.

[00529] Стадия 2: (Z)-трет-бутил-2-(трет-бутоксикарбониламино)-4-циклопентилбут-2-еноат:

[00530] К раствору реагента Виттига (2,5 г, 6,8 ммоль) в ТГФ (50 мл) добавляли NaOt-Bu (785 мг, 8,2 ммоль) в ледяной бане. По прошествии 1 ч добавляли полученный выше раствор 2-циклопентилацетальдегида в Et₂O (200 мл). Смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Раствор разбавляли водой (200 мл) и экстрагировали EA (100 мл x 2), органическую фазу промывали водой (100 мл x 2) и рассолом (100 мл), сушили (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали в вакууме и очищали с помощью хроматографии (силикагель, этилацетат/петролейный эфир =1/20) с получением (Z)-трет-бутил-2-(трет-бутоксикарбониламино)-4-циклопентилбут-2-еноата (1,0 г, 3,1 ммоль, 45%, 2 стадии) в виде бесцветной жидкости. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 326,2 [M+H]⁺.

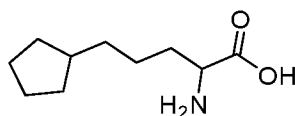
[00531] Стадия 3: *трет*-бутил-2-(трет-бутоксикарбониламино)-4-циклопентилбутаноат:

[00532] Смесь (Z)-трет-бутил-2-(трет-бутоксикарбониламино)-4-циклопентилбут-2-еноата (240 мг, 0,74 ммоль) HCOONH₄ (233 мг, 3,7 ммоль) и Pd/C (10%, 30 мг) в MeOH (15 мл) нагревали до температуры кипения с обратным холодильником в течение 4 ч. Смесь фильтровали и концентрировали, разбавляли Et₂O (50 мл), промывали водой (50 мл) и рассолом (50 мл), сушили (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали в вакууме с получением *трет*-бутил-2-(трет-бутоксикарбониламино)-4-циклопентилбутаноата (224 мг, 0,69 ммоль, 93%) в виде бесцветной жидкости. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 328,2 [M+H]⁺.

[00533] Стадия 4: 2-амино-4-циклопентилбутановая кислота:

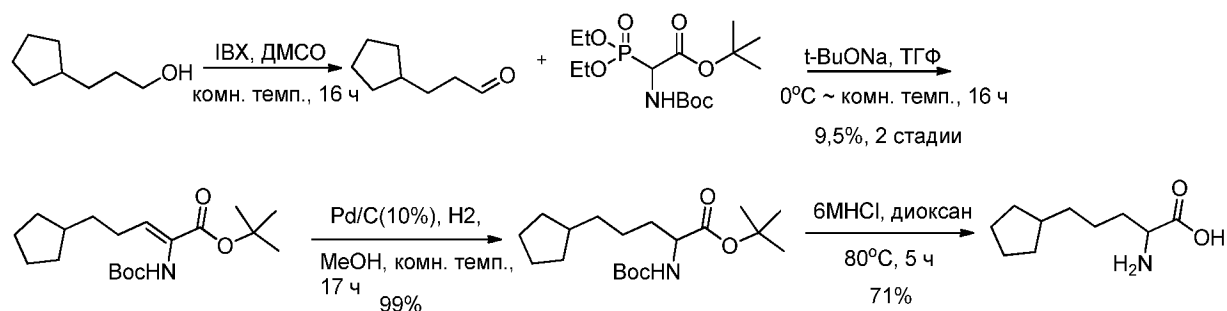
[00534] Раствор *трет*-бутил-2-(трет-бутоксикарбониламино)-4-циклопентилбутаноата (224 мг, 0,69 ммоль) в 6 M HCl (20 мл) и диоксане (10 мл) нагревали до 70 °C в течение 2 ч. Смесь концентрировали в вакууме, разбавляли водой (30 мл), экстрагировали Et₂O (20 мл x 2), и фильтрат концентрировали до сухости с получением 2-амино-4-циклопентилбутановой кислоты (114,9 мг, 0,52 ммоль, 81%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 172,3 [M+H]⁺. ¹H-ЯМР (500 МГц, D₂O): δ 3,91 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 1,82-1,89 (m, 2H), 1,66-1,72 (m, 3H), 1,28-1,52 (m, 6H), 1,00-1,01 (m, 2H).

[00535] Пример 202: 2-амино-5-циклопентилпентановая кислота [I-202]:



I-202

Схема синтеза:



Методики и характеристики:

[00536] Стадия 1: 3-циклопентилпропаналь:

[00537] К раствору 3-циклопентилпропан-1-ола (1,0 г, 7,8 ммоль) в ДМСО (20 мл) добавляли IBX (3,28 г, 11,7 ммоль) в ледяной бане. Смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь выливали в воду (100 мл) и экстрагировали Et₂O (60 мл x 2), органическую фазу промывали водой (100 мл x 3) и рассолом (100 мл), сушили (Na₂SO₄), и раствор использовали для проведения следующей стадии.

[00538] Стадия 2: (E)-трет-бутил-2-(трет-бутоксикарбониламино)-5-циклопентилпент-2-еноат:

[00539] К раствору реагента Виттига (500 мг, 1,36 ммоль) в ТГФ (15 мл) добавляли NaOt-Bu (157 мг, 1,63 ммоль) в ледяной бане. По прошествии 1 ч добавляли полученный выше раствор 3-циклопентилпропанала в Et₂O (100 мл). Смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Раствор разбавляли водой (200 мл) и экстрагировали EtOAc (100 мл), органическую фазу промывали водой (100 мл x 2) и рассолом (100 мл), сушили (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали в вакууме и очищали с помощью хроматографии (силикагель, этилацетат/петролейный эфир = 1/20) с получением (E)-трет-бутил-2-(трет-бутоксикарбониламино)-5-циклопентилпент-2-еноата (250 мг, 0,74 ммоль, 9,5%, 2стадии) в виде бесцветной жидкости. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 340,2 [M+H]⁺.

[00540] Стадия 3: трет-бутил-2-(трет-бутоксикарбониламино)-5-циклопентилпентаноат:

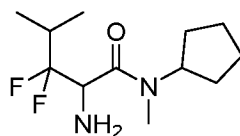
[00541] Смесь 2-(трет-бутоксикарбониламино)-5-циклопентилпент-2-еноата (250 мг, 0,74 ммоль) и Pd/C (10%, 30 мг) в MeOH (15 мл) перемешивали при комн. темп. в течение 17 ч в атмосфере водорода. Смесь фильтровали и концентрировали с получением трет-бутил-2-(трет-бутоксикарбониламино)-5-циклопентилпентаноата (250 мг, 0,73 ммоль,

99%) в виде бесцветной жидкости. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 342,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00542] Стадия 4: 2-амино-5-циклопентилпентановая кислота:

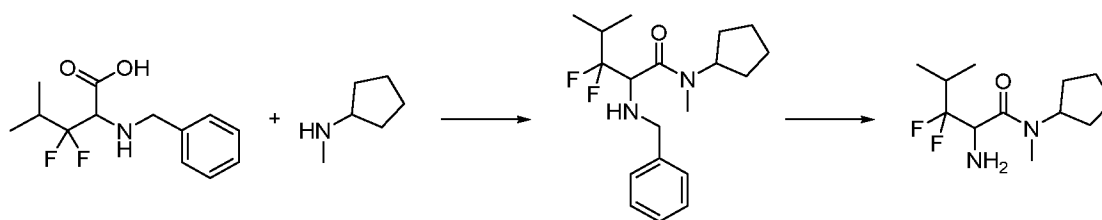
[00543] Раствор 2-(трет-бутоксикарбониламино)-5-циклопентилпентаноата (250 мг, 0,73 ммоль) в 6 M HCl (20 мл) и диоксане (10 мл) нагревали до 80 °С в течение 5 ч. Смесь концентрировали в вакууме, разбавляли водой (30 мл), экстрагировали Et_2O (20 мл x 2), и фильтрат концентрировали до сухости с получением 2-амино-5-циклопентилпентановой кислоты (115 мг, 0,52 ммоль, 71%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 186,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H -ЯМР (400 МГц, D_2O): δ 3,84 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 1,79-1,84 (m, 2H), 1,61-1,67 (m, 3H), 1,25-1,49 (m, 8H), 0,95-0,99 (m, 2H).

[00544] Пример 197: Синтез 2-амино-N-циклопентил-3,3-дифтор-N,4-диметилпентамида [I-197]:



I-197

Схема синтеза:



Методики и характеристики:

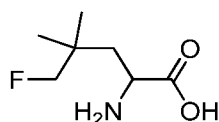
[00545] Стадия 1: 2-(бензиламино)-N-циклопентил-3,3-дифтор-N,4-диметилпентамид:

[00546] Смесь 2-(бензиламино)-3,3-дифтор-4-метилпентановой кислоты (80 мг, 0,31 ммоль), N-метилциклопентанамина (62 мг, 0,62 ммоль), HATU (141 мг, 0,37 ммоль) и Et_3N (94 мг, 0,93) в ДМФА (2 мл) перемешивали при комн. темп. в течение 3 ч. Смесь очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (Boston C18 21*250 мм 10 мкм подвижная фаза: А: 0,1 % TFA; В: ACN) с получением 2-(бензиламино)-N-циклопентил-3,3-дифтор-N,4-диметилпентамида (45 мг, 0,13 ммоль, 43%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 339,0

[00547] Стадия 2: 2-амино-N-циклопентил-3,3-дифтор-N,4-диметилпентамид:

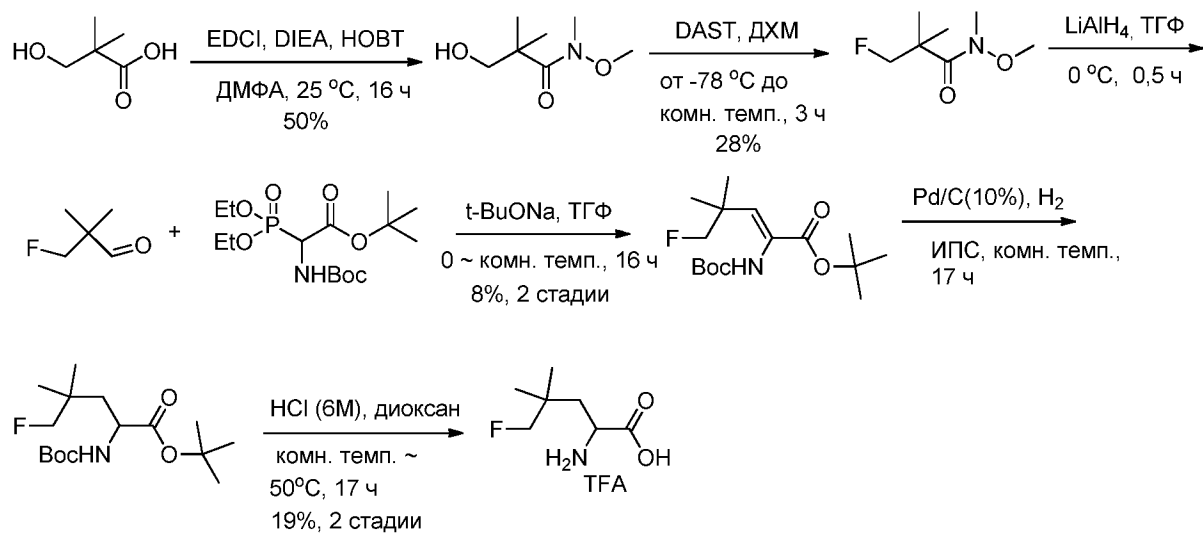
[00548] Смесь 2-(бензиламино)-N-циклопентил-3,3-дифтор-N,4-диметилпентамида (45 мг, 0,13 ммоль), HCOONH_4 (41 мг, 0,65 ммоль) и Pd/C (10%, 10 мг) в MeOH (5 мл) нагревали до 60°C в течение 1 ч. Смесь фильтровали, и фильтрат концентрировали и очищали с помощью обращенно-фазовой хроматографии на силикагеле с получением 2-амино-N-циклопентил-3,3-дифтор-N,4-диметилпентамида (16,3 мг, 0,066 ммоль, 49%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 249,2 1H ЯМР (500 МГц, $\text{MeOD-}d_4$) δ 5,26 (dd, $J = 15,5 \text{ Hz}$, $J = 6,0 \text{ Hz}$, 0,5H), 5,08 (dd, $J = 16,5 \text{ Hz}$, $J = 5,0 \text{ Hz}$, 1H), 4,28-4,31 (m, 0,5H), 2,97 (d, $J = 48,5 \text{ Hz}$, 3H), 2,38 (m, 1H), 1,65-1,99 (m, 8H), 11,16 (dt, $J = 6,5 \text{ Hz}$, $J = 3,0 \text{ Hz}$, 6H).

[00549] Пример 196: 2-амино-5-фтор-4,4-диметилпентановая кислота [I-196].



I-196

Схема синтеза:



Методики и характеристики:

Стадия 1: 3-гидрокси-N-метокси-N,2,2-триметилпропанамид:

[00550] Смесь 3-гидрокси-2,2-диметилпропановой кислоты (10 г, 84,7 ммоль), *N,O*-диметилгидроксиламина гидрохлорида (16,4 г, 101,7 ммоль), EDCI (24,4 г, 127,1 ммоль), HOBT (17,2 г, 127,1 ммоль) и DIPEA (28 мл, 169,5 ммоль) в ДМФА (200 мл)

перемешивали при комн. темп. в течение 16 ч. Реакционную смесь экстрагировали EtOAc (200 мл x 3) и водой (100 мл), объединяли органические слои и промывали их 1 Н HCl (30 мл*2), 1 Н NaHCO₃ (30 мл x 2) и рассолом (50 мл), сушили, концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью хроматографии (силикагель, этилацетат/петролейный эфир=1/2) с получением 3-гидрокси-*N*-метокси-*N*,2,2-триметилпропанамида (6,9 г, 50%) в виде бесцветного масла. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 162,2 [M+H]⁺.

Стадия 2: 3-фтор-*N*-метокси-*N*,2,2-триметилпропанамида:

[00551] К смеси 3-гидрокси-*N*-метокси-*N*,2,2-триметилпропанамида (4,5 г, 27,9 ммоль) в ДХМ (40 мл), охлажденной до -78 °С, по каплям добавляли DAST (7,4 мл, 55,9 ммоль). Затем перемешивали при комн. темп. в течение 1-2 ч, вновь охлаждали до -78 °С, по каплям добавляли DAST (4 мл, 27.9 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение еще 1 ч. Реакционную смесь охлаждали до -78 °С, медленно добавляли насыщ. раствор NH₄Cl (15 мл), добавляли ДХМ (50 мл), отделяли органический слой, промывали насыщ. раствором NH₄Cl (30 мл), рассолом (30 мл x 2), сушили, концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью хроматографии (силикагель, этилацетат/петролейный эфир=1/4) с получением 3-фтор-*N*-метокси-*N*,2,2-триметилпропанамида (1,9 г, 28%) в виде бесцветного масла. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 164,2 [M+H]⁺.

Стадия 3: 3-фтор-2,2-диметилпропаналь:

[00552] К смеси 3-фтор-*N*-метокси-*N*,2,2-триметилпропанамида (1,0 г, 61,3 ммоль) в ТГФ (10 мл), охлажденной до 0 °С, по каплям добавляли LiAlH₄ (6,1 мл, 61,3 ммоль, 1 М в ТГФ). Затем перемешивали при этой температуре в течение 0,5-1 ч. Медленно добавляли насыщ. раствор NH₄Cl (10 мл), экстрагировали Et₂O (20 мл x 3), промывали водой (15 мл x 2) и рассолом (15 мл), сушили и непосредственно использовали на следующей стадии. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): МС не проводили.

Стадия 4: (*Z*)-трет-бутил-2-(трет-бутоксикарбониламино)-5-фтор-4,4-диметилпент-2-еноат:

[00553] Смесь 3-фтор-2,2-диметилпропаналя (приблизительно 630 мг, 6,1 ммоль, раствор Et₂O, полученный на предыдущей стадии), трет-бутил-2-(трет-

бутоксикарбониламино)-2-диэтоксифосфорилацетата (2,25 г, 6,1 ммоль) и *t*-BuONa (1,2 г, 12,3 ммоль) в ТГФ (15 мл) перемешивали при комн. темп. в течение 16 ч. Добавляли насыщ. раствор NH_4Cl (15 мл), экстрагировали ЕА (30 мл x 3), объединяли органические слои, промывали водой (15 мл) и рассолом (15 мл), сушили, концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью хроматографии (силикагель, петролейный эфир и ДХМ) с получением (Z)-трет-бутил-2-(трет-бутоксикарбониламино)-5-фтор-4,4-диметилпент-2-еноата (190 мг, 0,60 ммоль, 8%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 206 $[\text{M}-111]^+$.

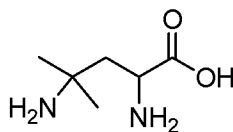
Стадия 5: трет-бутил-2-(трет-бутоксикарбониламино)-5-фтор-4,4-диметилпентаноат:

Смесь (Z)-трет-бутил-2-(трет-бутоксикарбониламино)-5-фтор-4,4-диметилпент-2-еноата (190 мг, 0,60 ммоль) и Pd/C (10%, 30 мг) в ИПС (15 мл) перемешивали при комн. темп. в течение 17 ч в атмосфере водорода. Смесь фильтровали и концентрировали с получением трет-бутил-2-(трет-бутоксикарбониламино)-5-фтор-4,4-диметилпентаноата (200 мг, неочищенный) в виде бесцветной жидкости. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 342,2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Стадия 6: 2-амино-5-фтор-4,4-диметилпентановая кислота трифторуксусная кислота:

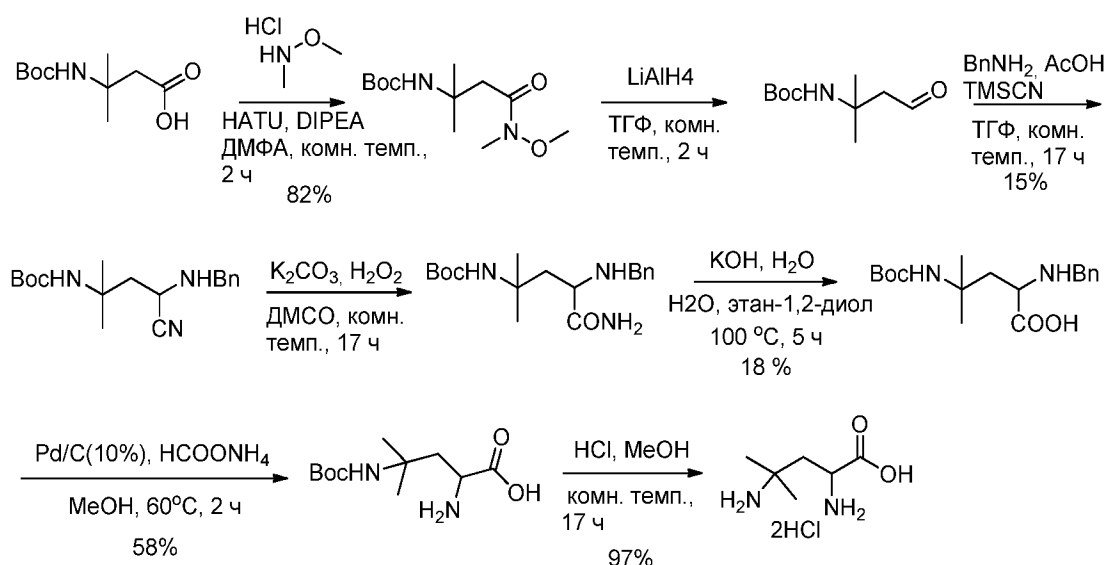
Раствор трет-бутил-2-(трет-бутоксикарбониламино)-5-фтор-4,4-диметилпентаноата (200 мг, неочищенный) в 6 М HCl (20 мл) и диоксане (10 мл) нагревали до 50 °C в течение 17 ч. Смесь концентрировали в вакууме, разбавляли водой (30 мл), экстрагировали Et_2O (20 мл x 2), и фильтрат концентрировали в вакууме и очищали с помощью обращенно-фазовой хроматографии на силикагеле с получением 2-амино-5-циклопентилпентановой кислоты трифторуксусной кислоты (31,7 мг, 0,11 ммоль, 19%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 164,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H -ЯМР (500 МГц, D_2O): δ 4,16 (d, $J = 47,5$ Hz, 1H), 3,97 (t, $J = 5,5$ Hz, 1H), 2,03 (dd, $J = 15,5$ Hz, $J = 5,5$ Hz, 1H), 1,71 (dd, $J = 15,5$ Hz, $J = 6,0$ Hz, 1H), 0,91 (dd, $J = 15,0$ Hz, $J = 2,0$ Hz, 6H).

[00554] **Пример 186: Синтез 2,4-диамино-4-метилпентановая кислота [I-186]:**



I-186

Схема синтеза:



[00555] **Методики и характеристики:**

[00556] **Стадия 1: трет-бутил-4-(метокси(метил)амино)-2-метил-4-оксобутан-2-илкарбамат:**

[00557] К раствору 3-(трет-бутоксикарбониламино)-3-метилбутановой кислоты (1 г, 4,61 ммоль), *N,O*-диметилгидроксиламина гидрохлорида (536 мг, 5,53 ммоль), HATU (2,26 г, 5,99 ммоль) в DMF (15 мл) добавляли DIPEA (1,49 г, 11,53 ммоль). Раствор перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч. Затем смесь разбавляли рассолом (100 мл), экстрагировали EtOAc (50 мл x 2). Затем органические слои объединяли, концентрировали и очищали с помощью хроматографии (силикагель, этилацетат/петролейный эфир = 1/3) с получением трет-бутил-4-(метокси(метил)амино)-2-метил-4-оксобутан-2-илкарбамата (1,0 г, 3,8 ммоль, 82 %) в виде бесцветного масла. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 261,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00558] **Стадия 2: трет-бутил-2-метил-4-оксобутан-2-илкарбамат:**

[00559] Раствор трет-бутил-4-(метокси(метил)амино)-2-метил-4-оксобутан-2-илкарбамат (3,8 г, 14,6 ммоль) в THF (50 мл) добавляли LiAlH_4 (16 мл, 1 *M* в THF) при комн. темп. Раствор перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч, тушили добавлением $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, фильтровали и промывали THF с получением трет-бутил-2-метил-4-оксобутан-2-илкарбамата в виде желтого раствора (приблизительно 14 ммоль в 110 мл THF). MS (EI^+ , m/z): 146,3 $[\text{M}+\text{H}-56]^+$.

[00560] Стадия 3: трет-бутил-4-(бензиламино)-4-циано-2-метилбутан-2-илкарбамат:

[00561] Раствор *трет*-бутил-2-метил-4-оксобутан-2-илкарбамата (неочищенный, приблизительно 14 ммоль в 110 мл ТГФ) добавляли BnNH_2 (2,2 мл) и AcOH (2,2 мл). Раствор перемешивали при комн. темп. в течение 10 мин. Добавляли TMSCN (2,2 мл). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 17 ч. Затем реакционную смесь концентрировали и очищали с помощью хроматографии (силикагель, этилацетат/петролейный эфир = 1/4) с получением трет-бутил-4-(бензиламино)-4-циано-2-метилбутан-2-илкарбамата (670 мг, 2,11 ммоль, 15 %) в виде желтой пасты. MS (EI^+ , m/z): 318,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00562] Стадия 4: трет-бутил-5-амино-4-(бензиламино)-2-метил-5-оксопентан-2-илкарбамат:

[00563] Смесь трет-бутил-4-(бензиламино)-4-циано-2-метилбутан-2-илкарбамата (640 мг, 2,00 ммоль), K_2CO_3 (550 мг, 3,98 ммоль) в ДМСО (16 мл) добавляли 30% H_2O_2 (0,64 мл, 5,67 ммоль) и перемешивали в течение 17 ч при комн. темп. Затем реакционную смесь разбавляли H_2O (200 мл), экстрагировали EtOAc (100 мл x 2). Объединенные органические слои концентрировали с получением 2-(бензиламино)-4-(трет-бутоксикарбониламино)-4-метилпентановой кислоты (неочищенная, 890 мг) в виде желтой пасты. MS (EI^+ , m/z): 336,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00564] Стадия 5: 2-(бензиламино)-4-(трет-бутоксикарбониламино)-4-метилпентановая кислота:

[00565] Смесь *трет*-бутил-5-амино-4-(бензиламино)-2-метил-5-оксопентан-2-илкарбамата (неочищенный, 890 мг, приблизительно 2,0 ммоль), KOH (406 мг, 7,25 ммоль) в этан-1,2-диоле (9 мл) и H_2O (9 мл) перемешивали в течение 5 ч при 100 °C. Затем реакционную смесь разбавляли рассолом (200 мл), экстрагировали ТГФ/ЕА=2:1 (90 мл x 5), объединяли органические слои, концентрировали и очищали с помощью обращенно-фазовой ВЭЖХ (Boston C18 21*250 мм 10 мкм, подвижная фаза: А: 0,1 % трифторуксусная кислота; В: ацетонитрил) с получением 2-(бензиламино)-4-(трет-бутоксикарбониламино)-4-метилпентановой кислоты (120 мг, 0,36 ммоль, 18 %) в виде белого твердого вещества. MS (EI^+ , m/z): 337,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

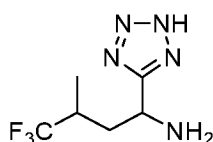
[00566] Стадия 6: 2-амино-4-(трет-бутоксикарбониламино)-4-метилпентановая кислота:

[00567] Смесь 2-(бензиламино)-4-(трет-бутоксикарбониламино)-4-метилпентановой кислоты (140 мг, 0,42 ммоль), HCOONH_4 (132 мг, 2,1 ммоль) и Pd/C (10%, 20 мг) в MeOH (15 мл) нагревали до 60°C в течение 1 ч. Смесь фильтровали, и фильтрат концентрировали и очищали с помощью обращенно-фазовой хроматографии на силикагеле с получением 2-амино-4-(трет-бутоксикарбониламино)-4-метилпентановой кислоты (60 мг, 0,24 ммоль, 58%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 247,2

[00568] Стадия 7: 2,4-диамино-4-метилпентановая кислота:

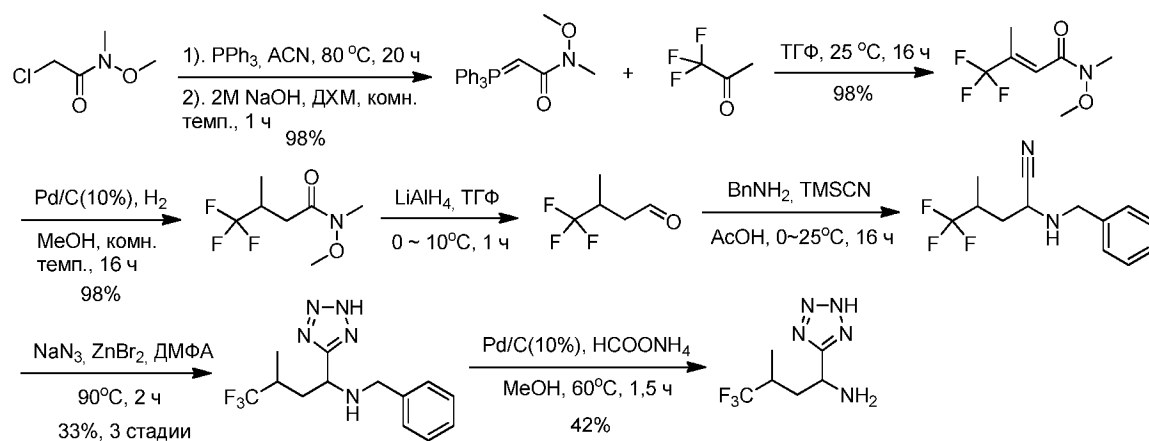
[00569] Раствор 2-амино-4-(трет-бутоксикарбониламино)-4-метилпентановой кислоты (60 мг, 0,24 ммоль) в 6 M HCl (10 мл) и диоксане (0 мл) перемешивали при комн. темп. в течение 17 ч. Раствор концентрировали в вакууме с получением 2,4-диамино-4-метилпентановой кислоты (51,8 мг, 0,236 ммоль, 97%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 147,1 ^1H ЯМР (500 МГц, D_2O) δ 4,04 (dd, $J = 9,5 \text{ Hz}$, $J = 3,5 \text{ Hz}$, 1H), 2,32 (dd, $J = 15,0 \text{ Hz}$, $J = 9,5 \text{ Hz}$, 1H), 1,94 (dd, $J = 15,0 \text{ Hz}$, $J = 3,0 \text{ Hz}$, 1H), 1,38 (dd, $J = 9,5 \text{ Hz}$, $J = 5,0 \text{ Hz}$, 6H).

[00570] Пример 199: Синтез 4,4,4-трифтор-3-метил-1-(2Н-тетразол-5-ил)бутан-1-амин [I-199]:



I-199

Схема синтеза:



Методики и характеристики:

[00571] Стадия 1: *N*-метокси-*N*-метил-2-(трифенил- λ 5-фосфанилиден)ацетамид:

[00572] Смесь 2-хлор-*N*-метокси-*N*-метилацетамида (13,7 г, 0,1 моль) и трифенилфосфана (26,2 г, 0,1 моль) в ацетонитриле (200 мл) нагревали до 80 °С и выдерживали в течение 20 ч. Смесь охлаждали и концентрировали для удаления растворителя при температуре ниже 40 °С. Остаток растворяли в дихлорметане (200 мл), и затем в 2 Н КОН (100 мл). Полученную смесь перемешивали при 20 °С в течение 1 ч. Органический слой промывали рассолом (200 мл x 3), сушили над Na₂SO₄ и фильтровали. Фильтрат концентрировали в вакууме с получением *N*-метокси-*N*-метил-2-(трифенил- λ 5-фосфанилиден)ацетамида (36 г, 0,1 моль, 98%) в виде желтого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 364,4 [M+H]⁺.

[00573] Стадия 2: (*E*)-4,4,4-трифтор-*N*-метокси-*N*,3-диметилбут-2-енамид:

[00574] Смесь *N*-метокси-*N*-метил-2-(трифенил- λ 5-фосфанилиден)ацетамида (36,3 г, 0,1 моль) и 1,1,1-трифторпропан-2-она (22,4 г, 0,2 моль) в тетрагидрофуране (500 мл) нагревали до 20 °С и выдерживали в течение 20 ч. Смесь охлаждали и концентрировали для удаления растворителя при температуре ниже 40 °С в вакууме. Остаток очищали элюированием на колонке с силикагелем (200 г, 200 ~ 300 меш, УФ 254 нм), этилацетатом в петролейном эфире от 0 до 25 % с получением (*E*)-4,4,4-трифтор-*N*-метокси-*N*,3-диметилбут-2-енамида (19,5 г, 0,1 моль, 98%) в виде желтого масла. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 198,2 [M+H]⁺.

[00575] Стадия 3: 4,4,4-трифтор-*N*-метокси-*N*, 3-диметилбутанамид:

[00576] Смесь (*E*)-4, 4, 4-трифтор-*N*-метокси-*N*, 3-диметилбут-2-енамида (2 г, 0,01 моль) и Pd/C (10 %, 200 мг) в ТГФ (50 мл) перемешивали при 26 °С в течение 18 ч. Смесь фильтровали, и фильтрат концентрировали в вакууме до сухости с получением 4,4,4-трифтор-*N*-метокси-*N*,3-диметилбутанамида (2 г, 0,01 моль, 98 %) в виде желтого масла. ЭСИ-МС (EI⁺, m/z): 200,2 [M+H]⁺.

[00577] Стадия 4: 4,4,4-трифтор-3-метилбутаналь:

[00578] К раствору 4,4,4-трифтор-*N*-метокси-*N*,3-диметилбутанамида (2 г, 0,01 моль) в 40 мл ТГФ добавляли LiAlH₄ (0,4 г, 0,01 моль) при 0 °С. Смесь перемешивали при 0 °С

в течение 1 ч. Реакционную смесь тушили водой и затем трет-бутилметиловым эфиром (30 мл x 2). Органический слой промывали рассолом (50 мл x 3), сушили над Na_2SO_4 и фильтровали. Фильтрат концентрировали с получением 4,4,4-трифтор-3-метилбутанала (1,4 г, неочищенный) в виде бесцветного раствора, который непосредственно использовали на следующей стадии.

[00579] Стадия 5: 2-(бензиламино)-5, 5, 5-трифтор-4-метилпентаннитрил:

[00580] К раствору полученного выше 4,4,4-трифтор-3-метилбутанала в трет-бутилметилом эфире (100 мл) добавляли бензиламин (1,5 мл), AcOH (1,0 мл) и затем TMSCN (1,5 мл) в ледяной бане. Смесь нагревали $20\text{ }^\circ\text{C}$ и перемешивали в течение ночи. Раствор разбавляли водой (30 мл) и экстрагировали EtOAc (30 мл). Органическую фазу промывали водой (30 мл x 2) и рассолом (50 мл), сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали в вакууме с получением 2-(бензиламино)-5,5,5-трифтор-4-метилпентаннитрила (2,6 г, неочищенный) в виде коричневого масла, которое использовали для проведения следующей стадии. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 257,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00581] Стадия 6: N-бензил-4,4,4-трифтор-3-метил-1-(2Н-тетразол-5-ил)бутан-1-амин:

[00582] К раствору 2-(бензиламино)-5,5,5-трифтор-4-метилпентаннитрила (0,3 г, неочищенный) в ДМФА (10 мл) добавляли NH_4Cl (0,15 г, 0,003 моль) и NaN_3 (0,21 г, 0,003 моль), нагревали до $95\text{ }^\circ\text{C}$ в течение 18 ч. Раствор охлаждали до $15\text{ }^\circ\text{C}$ и экстрагировали EtOAc (20 мл), органическую фазу промывали водой (20 мл x 2) и рассолом (20 мл), сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали в вакууме с получением N-бензил-4,4,4-трифтор-3-метил-1-(2Н-тетразол-5-ил)бутан-1-амин (0,1 г, 0,5 ммоль, 33% для 3 стадий) в виде белого твердого вещества. ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 300,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

[00583] 4,4,4-трифтор-3-метил-1-(2Н-тетразол-5-ил)бутан-1-амин трифторуксусная кислота:

[00584] К раствору N-бензил-4,4,4-трифтор-3-метил-1-(2Н-тетразол-5-ил)бутан-1-амин (160 мг, 0,54 ммоль) в MeOH (15 мл) добавляли HCOONH_4 (0,17 г, 2,7 ммоль) и Pd/C (30 мг) при комн. темп. Смесь перемешивали при $60\text{ }^\circ\text{C}$ в течение 2 ч. Реакционную смесь фильтровали и концентрировали с получением неочищенного продукта, который очищали с помощью обращенно-фазовой хроматографии на силикагеле с получением 4,4,4-трифтор-3-метил-1-(2Н-тетразол-5-ил)бутан-1-амин трифторуксусной кислоты

(72,8 мг, 0,23 ммоль, 42 %) в виде белого твердого вещества; ЭСИ-МС (EI^+ , m/z): 210,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 4,67-4,93 (m, 1H), 2,31 – 2,41 (m, 1H), 2,00-2,12 (m, 2H), 0,99 (dd, $J = 16,8$, $J = 6,4$ Hz, 6H).

[00585] Пример 210 Вестерн-блоттинг

[00586] В этом скрининговом исследовании измеряли активность исследуемого соединения *in vitro* в отношении комплексов GATOR2/сестрин-2, очищенных иммунопреципитацией FLAG-WDR24, стабильно экспрессируемого из клеток HEK293T. Клетки HEK293T (293Ts) конструировали для стабильной экспрессии FLAG-WDR24, меченого по N-концу, посредством трансдукции с помощью лентивируса. Лентивирусы получали котрансфекцией лентивирусного вектора переноса pLJM60 с плазмидой оболочки ΔVPR и упаковочной плазмидой CMV VSV-G в клетки HEK-293T, используя реагент для трансфекции XTremeGene 9 (Roche Diagnostics). По прошествии 24 ч после трансфекции среду заменяли на среду Игла, модифицированную Дульбекко (DMEM) с добавкой 30% инактивированной фетальной сыворотки. Содержащие вирус супернатанты собирали по прошествии 48 и 72 ч после трансфекции и пропускали через 0,45 мкм фильтр для устранения клеток. Целевые клетки в 6-луночных планшетах для культивирования тканей инфицировали в среде, содержащей 8 мкг/мл полибрена, и проводили инфицирование при вращении в центрифуге при 2200 об/мин в течение 1 ч. По прошествии 24 ч после инфицирования вирус удаляли и выбирали клетки подходящим антибиотиком. Затем клетки выращивали в DMEM с добавками 10% фетальной бычьей сыворотки и антибиотиков.

[00587] Для скрининга соединений-миметиков лейцина 2000000 клеток 293T, экспрессирующих FLAG-WDR24, высевали на планшет для культивирования тканей размером 10 см. По прошествии 72 ч клетки помещали в стандартную среду RPMI, не содержащую аминокислот и имеющую добавки 5 mM глюкозы (-AA RPMI, US Biological Life Sciences) на 1 ч, затем лизировали в лизирующем буфере (40 mM HEPES, 1% Triton, 10 mM β -глицерофосфата натрия, 10 mM пироглутамата натрия, 2,5 mM MgCl_2 и ингибиторы протеазы). Для выделения комплекса FLAG-WDR24/эндогенный-сестрин-2 неочищенный лизат (эквивалентный 2-4 мг общего белка), занимавший объем 1 мл, подвергали иммунопреципитации с помощью 30 мкл смолы для удаления flag (SIGMA) в течение 2 ч при 4°C, дважды промывали в холодном лизирующем буфере с добавкой 0,5 M NaCl и ресуспендировали в 1 мл холодного цитозольного буфера (40 mM HEPES с pH 7,4, 140 mM KCl, 10 mM NaCl, 2,5 mM MgCl_2 , 0,1% TritonX-100). Исследуемые

соединения или контроли (отфильтрованный полученный раствор или лейцин) затем в различных концентрациях добавляли к каждому подвергнутому иммунопреципитации образцу и инкубировали с ротацией при 4°C в течение 60 мин. По прошествии периода инкубации образцы центрифугировали для осаждения комплекса FLAG-WDR24/эндогенный-сестрин-2, связанного со смолой для удаления flag, супернатант полностью удаляли и ресуспендировали смолу в буфере для образцов для проведения SDS-PAGE, и кипятили в течение 5 мин. Затем на образцах проводили SDS-PAGE и вестерн-блоттинг с антителами к FLAG (SIGMA) и к сестрину-2 (Cell Signaling Technology), как описано в источнике L. Chantranupong, et al., Cell Reports 9:1-8 (2014).

[00588] Полученные иммуноблоты сканировали и количественно оценивали интенсивности полос, соответствующих сестрину-2 и FLAG-WDR24, используя систему для визуализации LI-COR®. Для определения количества связанного с GATOR2 сестрина-2 для каждого из условий, интенсивность полосы сестрина-2 нормализовали к интенсивности полосы FLAG-WDR24. Для каждой партии тестируемых соединений также осуществляли отрицательный контроль (полученный раствор фильтровали) и положительный контроль (лейцин, 25 мкМ, SIGMA). Уменьшение эндогенного сестрина-2, связанного с FLAG-WDR24 под воздействием лейцина, нормализовали, чтобы оно представляло 100% активность. Соединения оценивали дважды, количественно определяли активность каждого соединения как процентную долю активности лейцина, и усредняли. В результате повторных попыток в исследовании получили среднеквадратическое отклонение средней активности лейцина по сравнению с водой в 20%; следовательно, исследуемые соединения, сокращавшие количество сестрина-2, связанного с GATOR2, по меньшей мере на 40% в концентрации 25 мкМ при двойном измерении считали, статистически значимыми и расценивали их как миметики лейцина. Некоторые соединения повышали количество сестрина-2, связанного с FLAG-WDR24. Соединения, повышавшие количество сестрина-2, связанного с GATOR2, более чем на 40% (представленные как менее -40% от активности лейцина), расценивали как антагонисты лейцина.

[00589] Пример 211. Способ определения соединений, имитирующих или противодействующих активности лейцина в отношении сестрина-2 и взаимодействия сестрина-2/GATOR2.

[00590] Введение

[00591] Сестрин-1 и сестрин-2 взаимодействуют с GATOR2 через компоненты GATOR2, WDR24 и Seh1L при недостаточных уровнях лейцина. В условиях

достаточного содержания лейцина он непосредственно связывает сестрин-2, вызывая отделение сестрина-2 от GATOR2. Целью следующих способов было идентифицировать соединения, имитирующих действие лейцина в отношении связывания с сестрином-2 и разрушения сестрина-2/GATOR2. Кроме того, в способах идентифицированы соединения, противодействующие связыванию лейцина с сестрином-2 и препятствующие отделению сестрина-2 от GATOR2 в ответ на лейцин.

[00592] Способ 1 (*In vitro* исследование межбелкового взаимодействия (PPI))

[00593] В этом скрининговом исследовании измеряли активность соединения *in vitro* в отношении комплексов GATOR2/сестрин-2, очищенных иммунопреципитацией Flag-WDR24, стабильно экспрессируемого из клеток HEK293T. Клетки HEK293T (293Ts) конструировали для стабильной экспрессии Flag-WDR24, меченого по N-концу, посредством трансдукции с помощью лентивируса. Лентивирусы получали котрансфекцией лентивирусного вектора переноса pLJM60 с плазмидой оболочки ΔVPR и упаковочной плазмидой CMV VSV-G в клетки HEK-293T, используя реагент для трансфекции XTremeGene 9. По прошествии 24 ч после трансфекции среду заменяли на среду Игла, модифицированную Дульбекко (DMEM) с добавкой 30% инактивированной фетальной сыворотки. Содержащие вирус супернатанты собирали по прошествии 48 и 72 ч после трансфекции и пропускали через 0,45 мкм фильтр для устранения клеток. Целевые клетки в 6-луночных планшетах для культивирования тканей инфицировали в среде, содержащей 8 мкг/мл полибрена, и проводили инфицирование при вращении в центрифуге при 2200 об/мин в течение 1 ч. По прошествии 24 ч после инфицирования вирус удаляли и выбирали клетки подходящим антибиотиком. Затем клетки выращивали в DMEM с добавками 10% фетальной бычьей сыворотки и антибиотиков.

[00594] Для скрининга соединений-миметиков лейцина 2000000 клеток 293T, экспрессирующих Flag-WDR24, высевали в планшет для культивирования тканей размером 10 см. По прошествии 72 ч клетки помещали в стандартную среду RPMI, не содержащую аминокислот и имеющую добавки 5 mM глюкозы (-AA RPMI, USBiological Life Sciences) на 1 ч, затем лизировали в лизирующем буфере (40 mM HEPES, 1% Triton, 10 mM бета-глицерофосфата натрия, 10 mM пироглутамата натрия, 2,5 mM MgCl₂ и ингибиторы протеазы). Комплекс Flag-WDR24/эндогенный-сестрин-2 выделяли следующим образом: неочищенный лизат (эквивалентный 2-4 мг общего белка), занимавший объем 1 мл, подвергали иммунопреципитации (IP) с помощью 30 мкл смолы для удаления flag (SIGMA) в течение 2 ч при 4°C, дважды промывали в холодном лизирующем буфере с добавкой 0,5 M NaCl и ресуспендировали в 1 мл холодного

цитозольного буфера (40 mM HEPES с pH 7,4, 140 mM KCl, 10 mM NaCl, 2,5 mM MgCl₂, 0,1% TritonX-100). Затем соединения в заданной концентрации 25 мкМ добавляли к каждому образцу и инкубировали с ротацией при 4°C в течение 30 мин. По прошествии периода инкубации образцы центрифугировали для осаждения комплекса Flag-WDR24/эндогенный-сестрин-2, связанного со смолой для удаления flag, супернатант полностью удаляли и ресуспендировали смолу в буфере для образцов для проведения электрофлореза (SDS-PAGE) в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия, и кипятили в течение 5 мин. Затем на образцах проводили SDS-PAGE и вестерн-блоттинг с антителами к Flag (SIGMA) и к сестрину-2 (Cell Signaling Technology), как описано в источнике L. Chantranupong, et al., Cell Reports 9:1-8 (2014).

[00595] Полученные иммуноблоты сканировали и количественно оценивали интенсивности полос, соответствующих сестрину-2 и Flag-WDR24, используя систему для визуализации LI-COR[®]. Для определения количества связанного с GATOR2 сестрина-2 для каждого из условий интенсивность полосы сестрина-2 нормализовали к интенсивности полосы Flag-WDR24. Для каждой партии тестируемых соединений также осуществляли отрицательный контроль (вода) и положительный контроль (лейцин, 25 мкМ, SIGMA)). Уменьшение эндогенного сестрина-2, связанного с Flag-WDR24, под воздействием лейцина нормализовали, чтобы оно представляло 100% активность. Соединения оценивали дважды, количественно определяли активность каждого соединения как процентную долю активности лейцина, и усредняли. В таблице 3 представлены количественные данные для исследованных соединений. В результате повторных попыток в исследовании получили среднеквадратическое отклонение средней активности лейцина по сравнению с водой в 20%; следовательно, соединения, где оба измеренных образца сокращали количество сестрина-2, связанного с GATOR2, по меньшей мере на 40% в концентрации 25 мкМ, считали статистически значимыми и расценивали их как миметики лейцина. Некоторые соединения повышали количество сестрина-2, связанного с Flag-WDR24 (в таблице 3 представленные как отрицательный процент от активности лейцина). Соединения, продемонстрировавшие менее -40% от активности лейцина, также рассматривали как положительный результат и расценивали их как антагонисты лейцина.

[00596] Способ 2 (Клеточная активация mTORC1)

[00597] Для демонстрации эффективности соединений, определенных как миметики лейцина, в интактных клетках, посредством вестерн-блоттинга измеряли передачу сигнала mTORC1 в ответ на обработку соединением после лейцинового голодания.

После лейцинового голодания добавление экзогенного лейцина активирует mTORC1, при этом передачу сигнала измеряют от 10 до 90 минут после добавления лейцина, как описано в источнике Wang, S., Tsun, Z., et al. Science 347(6218): 188-194 (2015). Следовательно, для исследования того, активируют ли соединения, определенные как миметики лейцина, mTORC1 схожим образом, было разработано похожее исследование. Вкратце, 800000 клеток HEK293T высевали в каждую лунку 6-луночного планшета в DMEM с добавками 10% фетальной бычьей сыворотки и антибиотиков. На следующий день клетки помещали в модифицированную DMEM, не содержащую лейцин (Thermo Scientific), или сыворотку на 1 ч после добавления миметика лейцина (n=3) в заданной концентрации в течение некоторого времени, превышавшего 10 мин. Затем клетки лизировали, обрабатывали для SDS-PAGE и проводили вестерн-блоттинг с антителами против субстратов mTORC1, фосфорилированной киназы S6 (Thr389) и фосфорилированного 4EBP1 (Thr37/46) (Cell Signaling Technology) и контролей для нанесения (бета-актин, Santa Cruz Biotechnology), как описано в источнике Kang, S.A., et al. Science 341(6144): 364-374 (2013). Затем интенсивности полос, соответствующих фосфорилированным субстратам, нормализовали к полосе актина, используя систему для визуализации LI-COR®. Соединения, значительно повышавшие передачу сигнала mTORC1 по сравнению с клетками после лейцинового голодания, не обработанными соединением (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$), считали активными в клетках. В качестве положительного контроля к клеткам после лейцинового голодания на 60 мин добавляли лейцин в концентрации 100 мкМ.

[00598] Способ 3 (Клеточная активация mTORC1)

[00599] Для демонстрации эффективности соединений, определенных как антагонисты лейцина, или для определения того, усиливают ли слабые миметики лейцина активность лейцина в интактных клетках, приведенную выше концентрацию повторяли, но со следующими изменениями: клетки помещали в лейцин без среды DMEM (как описано в способе 3) на 60 мин, затем в соединение (n=3) в течение некоторого времени, равного или превышавшего 60 мин. После обработки соединением клетки стимулировали 30 и 100 мкМ лейцина в течение 60 мин. Передачу сигнала mTORC1 измеряли посредством вестерн-блоттинга, как описано в способе 2. Соединения, сокращавшие уровни нормализованных к актину фосфорилированных субстратов mTORC1 в ответ на обработку лейцином в концентрации 30 мкМ либо 100 мкМ статистически значимым образом (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$), считали активными в клетках. Соединения, повышавшие уровни нормализованных к актину

фосфорилированных субстратов mTORC1 в ответ на обработку лейцином в концентрации 30 либо 100 мкМ статистически значимым образом (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$), считали усилителями лейцина в клетках. В качестве контроля клетки после лейцинового голодания предварительно обрабатывали водой до добавления лейцина. В качестве альтернативы, потенциальных антагонистов лейцина оценивали на клетках HEK293T так же, как описано выше, но в отсутствие лейцинового голодания и стимуляции. Для определения того, была ли базовая передача сигналов mTORC1 ослаблена после обработки соединением в восполненных условиях культивирования, проводили вестерн-блоттинг.

[00600] Способ 4

[00601] Способность соединений модулировать взаимодействие сестрина-2 и GATOR2 в клетках измеряли посредством повторения исследования, описанного в способах 2 и 3, но в клетках HEK293T, сконструированных для стабильной экспрессии Flag-WDR24, засеваемого в чашки для культивирования тканей размером 10 см. Взаимодействие эндогенного сестрина-2 и Flag-WDR24 измеряли на лизате, полученном из клеток после обработки соединением ($n=3$), как описано в способе 1. Вкратце, для измерения количества эндогенного сестрина-2, связанного с Flag-WDR24, после обработки клеток, проводили иммунопреципитацию со смолой для удаления flag, и на полученных образцах проводили SDS-PAGE и вестерн-блоттинг для измерения количеств эндогенного сестрина-2, связанного с Flag-WDR24. Соединения, модулировавшие количество сестрина-2, связанного с GATOR2, статистически значимым образом (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$), рассматривали как положительный результат.

[00602] Способ 5 (Клеточное исследование ALPHALisa)

[00603] Для демонстрации эффективности соединений, определенных как миметики лейцина, в интактных клетках в планшетном формате, посредством ALPHALisa измеряли передачу сигнала mTORC1 в ответ на обработку соединением после лейцинового голодания. Вкратце, 1000000 клеток HEK293T высевали в культуральные колбы T-75 в DMEM с добавкой 10% фетальной бычьей сыворотки. После достижения клетками конfluence их помещали в модифицированную DMEM без лейцина (Thermo Scientific) с 10% диализированной фетальной бычьей сыворотки на 1 ч. Затем клетки трипсинизировали и повторно высевали в 96-луночные черные планшеты с прозрачным дном в количестве 50000 клеток/луночка в DMEM без лейцина с 10% диализированной фетальной бычьей сыворотки. Клеткам давали прикрепиться к

планшету в течение 2 ч, после чего добавляли соединения ($n=4$) в заданной концентрации на определенный период времени, превышавший 1 ч. После достижения этого момента времени клетки лизировали и исследовали с помощью набора p-p70 S6K (Thr389) SureFire Ultra AlphaLISA в соответствии с инструкциями производителя (http://www.perkinelmer.com/CMSResources/Images/44-176283MAN_SureFire_TGR70S_p70_pT389.pdf). Соединения, значительно повышавшие передачу сигналов mTORC1 по сравнению с клетками после лейцинового голодания, не обработанными соединением (t-критерий Стьюдента, $p<0,05$), считали активаторами mTORC1. Соединения, значительно снижавшие передачу сигналов mTORC1 по сравнению с клетками после лейцинового голодания, не обработанными соединением (t-критерий Стьюдента, $p<0,05$), считали ингибиторами в клетках. В качестве положительного контроля к клеткам после лейцинового голодания добавляли лейцин в концентрации 100 мкМ в течение времени, равному времени обработки соединением.

[00604] Способ 6. Протокол измерения температурного сдвига (T_m сдвиг):

[00605] К полноразмерному, кодон-оптимизированному человеческому сестрину-2 по N-концу присоединяли метку His-MBP и клонировали в бактериальный экспрессионный вектор pMAL6H-C5XT. Этот вектор трансформировали в клетки *Escherichia coli* LOBSTR (DE3) (Kerafast). Клетки выращивали при 37 °C до 0,6 OD, затем индуцировали продукцию белка добавлением 0,2 mM IPTG при 18 °C в течение 12–14 ч. Клетки собирали центрифугированием при 6000g, ресуспендировали в лизирующем буфере (50 mM фосфата калия, pH 8,0, 500 mM NaCl, 30 mM имидазола, 1 mM ДТТ (дитиотреитол), 10 мкг/мл бензоназы и 1 mM PMSF (фенилметилсульфонил фторида)) и лизировали обработкой ультразвуком. Лизат очищали центрифугированием при 10000g в течение 20 мин. Белок сестрин-2 выделяли из растворимой фракции с чистотой, близкой к 100%, посредством аффинного захвата His-метки с последующей ионообменной и эксклюзионной хроматографией. Для исследования температурного сдвига белок сестрин-2 разбавляли до 2 мг/мл буфером для разбавления (10 mM трис HCl с pH 7,4, 150 mM NaCl, 1 mM ДТТ, 0,1 mM ЭДТА). Перед проведением исследования температурного сдвига 2 мкл белка сестрина-2 смешивали с 8 мкл красителя ROX (Thermo Fisher), 1 мкл наполнителя или соединения и 14 мкл буфера для разбавления на лунку 96-луночного планшета, и инкубировали на льду в течение 1 ч для обеспечения связывания соединения. Затем проводили исследование температурного сдвига на Agilent MX3005p, оценивая каждое соединение трижды в концентрациях 10 мкМ, 100 мкМ и 1000 мкМ. Инкубирование с лейцином дозозависимым образом сдвигало

температуру плавления сестрина-2 на 2,16 – 11,61 градусов Цельсия. Положительный сдвиг на 2 градуса или более считали статистически значимым на основании % коэффициента вариации повторных измерений температурного сдвига сестрина-2, инкубированного с носителем.

[00606] Способ 7. Непрямой анализ связывания лигандов (ILBA)

[00607] Связывание сестрина-2 с лейцином или другим лигандом измеряли либо в интактных клетках *in vitro* либо с очищенным белком с помощью иммунодетектирования с моноклональным кроличьим антителом к сестрину-2 от Cell Signaling Technology (CST, кат. № 8487). Связывание антитела CST с нативным (не подвергшимся денатурации) сестрином-2 модулировалось связыванием лейцина таким образом, что аффинность антитела снижалась при связывании лейцина. Схожим образом аффинность антитела CST с нативным сестрином-2 снижалась при связывании соединений с нативным белком схожим с лейцином образом. Напротив, соединения, дестабилизировавшие сестрин-2, как измерено в исследовании температурного сдвига, повышали аффинность антитела CST к не подвергшемуся денатурации сестрину-2. В результате было разработано несколько форматов этого непрямого анализа связывания (ILBA), в которых измерялась аффинность антитела CST к сестрину-2 после связывания лейцина или соединения. В одной из версий анализ проводили с неочищенным лизатом, полученным из линии клеток человека после аминокислотного голодания в течение 1 ч (клетки лизировали в 1% Triton, 10 mM бета-глицерофосфата, 10 mM пироглутамата натрия, 40 mM HEPES [pH 7,4], 150 mM NaCl и 2,5 mM MgCl₂). Затем лизат инкубировали с лейцином или другим соединением в течение 1 ч на льду или при комнатной температуре. После инкубирования соединения образцы подвергали иммунопреципитации с антителом CST к сестрину-2 в течение 1,5 ч с последующим 30-минутным инкубированием с белком А, конъюгированным с сефарозой, как описано в источнике L. Chantranupong, et al., Cell Reports 9:1-8 (2014). Антитело-белковый комплекс с конъюгированной сефарозой осаждали центрифугированием, и фильтрат подвергали второму кругу иммунопреципитации с кроличьим поликлональным антителом к сестрину-2 (Protein Tech, #10795-1-AP), чтобы определить, что общие уровни белка сестрина-2 для образцов были равными. На подвергнутых иммунопреципитации образцах проводили SDS-PAGE с последующим вестерн-блоттингом с мышинным моноклональным антителом к сестрину-2 от SIGMA (кат. № WH0083667M3). Связывание лейцина вызывало значительное снижение интенсивности полосы, соответствующей сестрину-2, на 50% или более, на иммуноблотах с образцами,

иммунопреципитированными с антителом против сестрина-2 от CST, но не привело к изменению полосы сестрина-2 на иммуноблоте с образцами, иммунопреципитированными с антителом Protein Tech. В этой версии анализа также измеряли нестабильность сестрина-2, вызываемую инкубацией с соединениями. Анализ проводили таким же образом, но соединения, дестабилизовавшие сестрин-2 (как измерено в исследовании температурного сдвига), приводили к увеличению интенсивности полосы, соответствующей сестрину-2, иммунопреципитированному с помощью антитела CST, на иммуноблоте.

[00608] Этот анализ также проводили в культивируемых клетках человека, сверхэкспрессирующих сестрин-2, к N-концу которого присоединена Flag-метка. В этой версии анализа методика осталась той же, но иммуноблоттинг проводили с мышинным антителом к Flag (#F3165, SIGMA). Снижение аффинности антитела CST при связывании лейцина или γ -метиллейцина не наблюдалось при проведении ILBA с точечной мутантной формой сестрина-2, неспособной связывать лейцин.

[00609] В другой версии анализа культивируемые клетки человека подвергали определенному сочетанию аминокислотного голодания в течение 1 часа с последующей стимуляцией лейцином или соединениями. Спустя один час после стимуляции клетки лизировали и обрабатывали, как описано выше, за исключением стадии связывания лигандов продолжительностью 1 ч.

[00610] Непрямой анализ связывания лигандов также проводили в многолуночном формате, используя технологию ALPHALisa (Perkin Elmer). Для этой версии анализа требовалось биотинилированное антитело к сестрину-2, донорные шарики со стрептавидином (Perkin Elmer) в сочетании с акцепторными шариками для удаления Flag (Perkin Elmer) для обнаружения сверхэкспрессируемого Flag-сестрина-2, или в сочетании с акцепторными шариками с мышиным антителом к сестрину-2 (SIGMA) и антимышиными акцепторными шариками (Perkin Elmer) для обнаружения эндогенного сестрина-2.

[00611] Анализ проводили, как описано выше, но со следующими модификациями: для части анализа, относящейся к связыванию лейцина или соединения, неочищенный лизат, полученный из клеток, временно или стабильно сверхэкспрессирующих человеческий Flag-сестрин-2 после 1 часа аминокислотного голодания, разбавляли до 0,8 мг/мл общего белка в лизирующем буфере и располагали в многолуночном планшете, таком, как 96-луночный планшет. Для обнаружения эндогенного сестрина-2 неочищенный лизат разбавляли до 4 мг/мл общего белка в лизирующем буфере. Лейцин

или соединение добавляли в каждую лунку и инкубировали планшет на льду или при комнатной температуре в течение 1 часа при осторожном встряхивании. В ходе стадии связывания лигандов биотинилированное антитело к сестрину-2 (CST) разбавляли до 5 нМ в буфере для проведения иммуноанализа ALPHAlisa (Perkin Elmer), и 5 нМ мышинового антитела к сестрину-2 (SIGMA) смешивали с 4-х кратным исходным раствором антимышиных акцепторных шариков (40 мкг/мл) для исследования обнаружения эндогенного сестрина-2. Для обнаружения Flag-сестрина-2 готовили 4-х кратный исходный раствор акцепторных шариков для удаления Flag (40 мкг/мл) в буфере для иммуноанализа. После стадии связывания лигандов 5 мкл лизата смешивали с 10 мкл биотинилированного антитела к сестрину-2, 12,5 мкл смеси акцепторных шариков мышинового антитела к сестрину-2/антимышиных или акцепторных шариков для удаления Flag и 10 мкл буфера для иммуноанализа ALPHAlisa, и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч. Наконец, 12,5 мкл донорных шариков со стрептавидином (160 мкг/мл в буфере для иммуноанализа) добавляли еще на час в темноте перед чтением планшета на ридере для планшетов Envision.

[00612] Анализ ALPHAlisa также проводили как описано выше, но с очищенным белком сестрином-2 в конечной концентрации для проведения реакции 3 нг/мл, разбавленным буфером для иммуноанализа.

[00613] Наконец, ALPHAlisa проводили с лизатом клеток, обработанных лейцином или соединением, подвергнутым условиям аминокислотного голодания перед лизисом. Клеточную обработку проводили в многолуночном планшете, и на одну реакцию ALPHAlisa использовали 15 мкл лизата (1 мг/мл общего белка) в сочетании с 10 мкл биотинилированного антитела, 12,5 мкл смеси антитела/акцепторных шариков и 12,5 мкл смеси донорных шариков со стрептавидином.

[00614] Непрямой анализ связывания лигандов также проводили способом, основанным на захвате, таком как «сэндвич»-метод иммуноферментного анализа, как его проводят в данной области техники. В одной из версий анализа ILBA проводили, используя технологию MULTI-ARRAY®, разработанную Meso-Scale Discovery (MSD). Система MSD была основана на обнаружении электрохемилюминесценции связывания антитела с аналитом. ILBA проводили на неочищенном лизате, экспрессирующем эндогенный сестрин-2, или оверэкспрессирующем Flag-сестрин-2, и обработку лейцином проводили либо *in vitro*, либо на клетках перед лизисом. Для *in vitro* ILBA с эндогенным сестрином-2 получали неочищенный лизат (0,8 мг/мл общего белка) и проводили связывание лейцина таким же образом, как описано для ALPHAlisa ILBA.

После завершения связывания лиганда в каждую лунку добавляли биотинилированное антитело к сестрину-2 от CST с получением конечной концентрации 0,25 мкг/мл и инкубировали при осторожном встряхивании в течение 1 ч при 4°C. Захват каждого образца в лунку 96-луночного планшета осуществляли одним из следующих путей: покрытые стрептавидином планшеты MSD или голые планшеты MSD, покрытые мышинным антителом к сестрину-2 от SIGMA. Для захвата требовалось 25 мкл образца на лунку с последующей инкубацией в течение 1 ч при встряхивании при 350 об/мин. После захвата образца лунки трижды промывали Трис соевым буферным раствором с 0,1% Tween (TBS-T). Если образцы захватывались на планшете, покрытом стрептавидином, затем добавляли мышинное моноклональное антитело к сестрину-2 (SIGMA) до конечной концентрации 1 мкг/мл в течение 1 ч при встряхивании при 350 об/мин. Лунки вновь промывали в TBS-T и добавляли антимышиное вторичное антитело SULFO-TAG в конечной концентрации 1 мкг/мл (MSD) на час при встряхивании при 350 об/мин. Наконец, лунки трижды промывали TBS-T и добавляли 2-х кратный буфер для считывания (MSD), и планшет немедленно читали на приборе MSD. Если образцы захватывали на голых планшетах, покрытых мышинным антителом к сестрину-2, после промывки добавляли стрептавидиновое вторичное антитело SULFO-TAG (MSD) в конечной концентрации 1 мкг/мл на 1 ч при встряхивании с последующими промываниями и инкубированием с буфером для считывания перед анализом.

[00615] В другой версии этого анализа неочищенный лизат, сверхэкспрессирующий Flag-сестрин-2, анализировали и захватывали или детектировали с мышинным моноклональным антителом к Flag (SIGMA), используя тот же протокол на основе MSD, как описано выше.

[00616] Во всех исследованиях соединения, снижавшие сигнал, соответствовавший иммунологической реакционной способности сестрина-2 значительным образом, считали миметиками лейцина, в то время как соединения, повышавшие сигнал значительным образом, считали потенциальными антагонистами лейцина.

[00617] В **таблице 3** показана активность выбранных соединений согласно настоящему изобретению. Номера соединений соответствуют номерам соединений в таблицах 1 и 2. Соединения, имеющие активность, обозначенную как «А», обеспечивали % активность относительно лейцина, составлявшую $\geq 40\%$, соединения, имеющие активность, обозначенную как «В», обеспечивали % активность относительно лейцина, составлявшую $\leq -40\%$; соединения, имеющие активность, обозначенную как «С», обеспечивали % активность относительно лейцина, составлявшую от -40 до 40%.

Соединения, имеющие активность, обозначенную как «D», обеспечивали сдвиг относительно контроля ДМСО в 0,5 – 2-кратном размере, соединения, имеющие активность, обозначенную как «E», обеспечивали сдвиг относительно ДМСО в 2,1 – 5-кратном размере, соединения, имеющие активность, обозначенную как «F», обеспечивали сдвиг относительно ДМСО в 5,1 – 10-кратном размере, и соединения, имеющие активность, обозначенную как «G», обеспечивали сдвиг относительно ДМСО в 10,1 – 14-кратном размере, в обозначенных концентрациях.

[00618] Активность для исследования % активности относительно лейцина определяли, используя способ исследования 1. Активность для исследования клеточной активации mTORC1 определяли, используя способ исследования 2.

Таблица 3. Данные исследования для иллюстративных соединений

Номер соединения	Активность лейцина: % активности	Клеточная активация mTORC1	Клеточная активация mTORC1 Концентрация (мкМ)
I-1	B		
I-2	B		
I-3	B		
I-4	C		
I-5	B		
I-6	C		
I-7	B		
I-8	B		
I-9	C	E	100
I-10	C	D	30 и 100
I-11	C		
I-12	C		
I-13	C		
I-14	B		
I-15	C		
I-16	C		
I-17	C		
I-18	C		
I-19	C		
I-20	C		
I-21	C		
I-22	C		

Номер соединения	Активность лейцина: % активности	Клеточная активация mTORC1	Клеточная активация mTORC1 Концентрация (мкМ)
I-23	C	от D до F	100
I-24	A		
I-25	C		
I-26	C		
I-27	A		
I-28	C		
I-29	A		
I-30	A		
I-31	A		
I-32	A		
I-33	C		
I-34	C		
I-35	A		
I-36	B		
I-37	A	от E до F	100
I-38	C		
I-39	C		
I-40	A		
I-41	A		
I-42	A	от D до F	100
I-43	A	от D до E	100
I-44	A	D	100
I-45	B		
I-46	C	D	100
I-47	C	D	100
I-48	C		
I-49	C		
I-50	C		
I-145	A		
I-146	A		
I-147	A		
I-148	A		
I-149	C		
I-150	C		
I-151	C		
I-152	C		
I-153	C		
I-154	C		
I-155	C		

Номер соединения	Активность лейцина: % активности	Клеточная активация mTORC1	Клеточная активация mTORC1 Концентрация (мкМ)
I-156	C		
I-157	от B до C		
I-158	C		
I-159	A		
I-160	C		
I-161	C		
I-162	C		
I-163	A		
I-164	A		
I-165	от A до C		
I-166	C		
I-167	A	от D до F	100
I-168		от D до E	100

[00619] В таблице 4 представлены некоторые соединения согласно настоящему изобретению, проявившие активность в клеточном анализе ALPHALisa (способ 5). Номера соединений соответствуют номерам соединений в таблицах 1 и 2. Соединения, перечисленные в таблице 4, являются активаторами mTORC1 и имеют активность, более чем в 2 раза превышающую активность положительного контроля лейцином.

Таблица 4. Иллюстративные соединения, проявившие активность в клеточном анализе ALPHALisa

Номер соединения
I-44
I-43
I-42
I-167
I-253
I-145
I-252
I-251
I-250
I-88
I-56
I-96
I-206

Номер соединения
I-122
I-90
I-128
I-195
I-194
I-193
I-93
I-249
I-120
I-190
I-189
I-248
I-247
I-246
I-185
I-183
I-179
I-178
I-177
I-176
I-175
I-207
I-245
I-210
I-244
I-243
I-241
I-240
I-239
I-238
I-237
I-236
I-235
I-234
I-233
I-232
I-231
I-230
I-229
I-228

[00620] В **таблице 5** представлены некоторые соединения согласно настоящему изобретению, проявившие активность в исследовании температурного сдвига (способ 6). Номера соединений соответствуют номерам соединений в **таблицах 1 и 2**. Соединения, перечисленные в **таблице 5**, продемонстрировали положительный сдвиг, составивший 2 градуса или более.

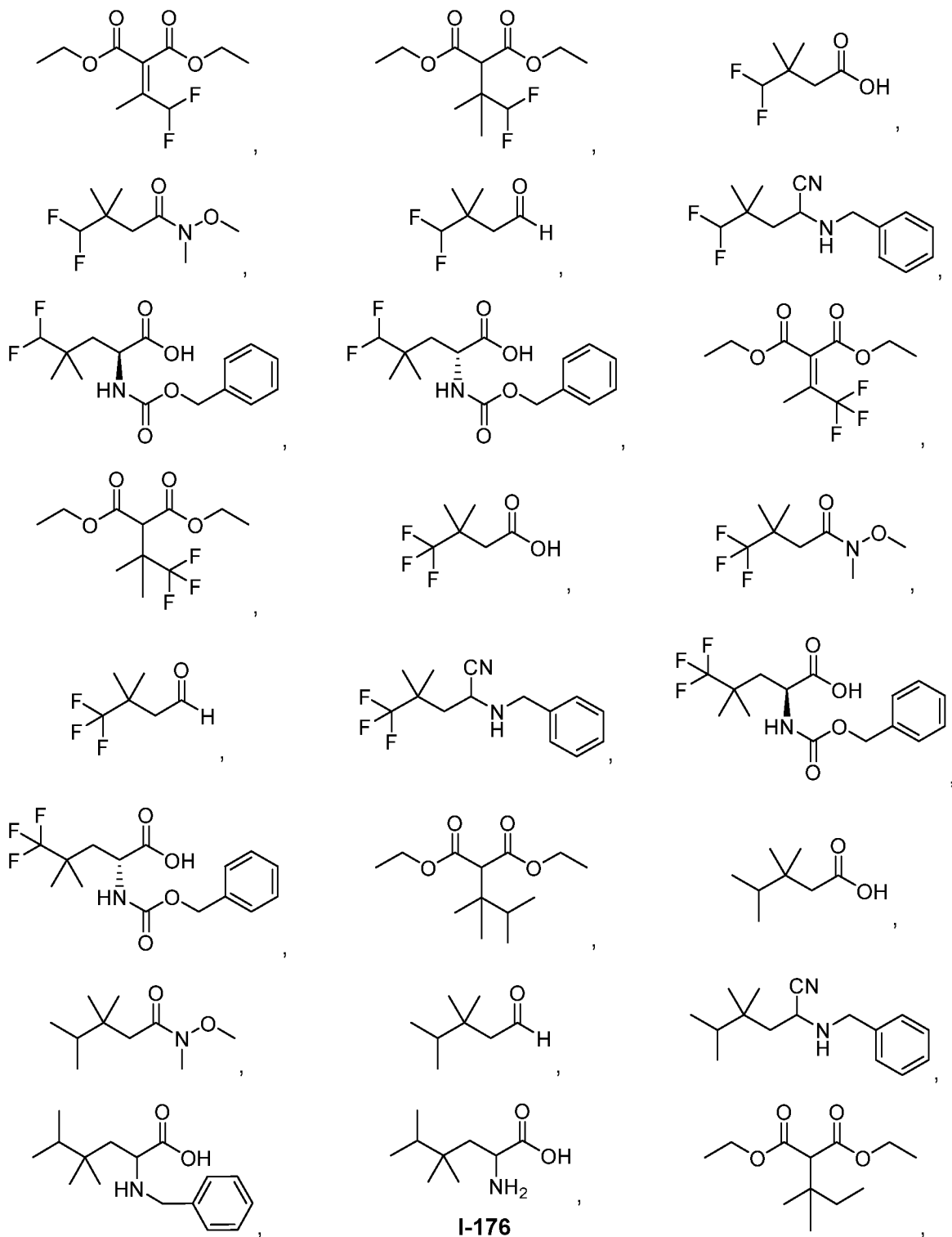
Таблица 5. Иллюстративные соединения, проявившие активность в исследовании температурного сдвига

Номер соединения
I-44
I-43
I-42
I-31
I-27
I-4
I-47
I-167
I-164
I-163
I-254
I-253
I-145
I-252
I-251
I-250
I-206
I-122
I-203
I-90
I-201
I-129
I-128
I-196
I-195
I-194
I-93
I-120
I-191
I-179

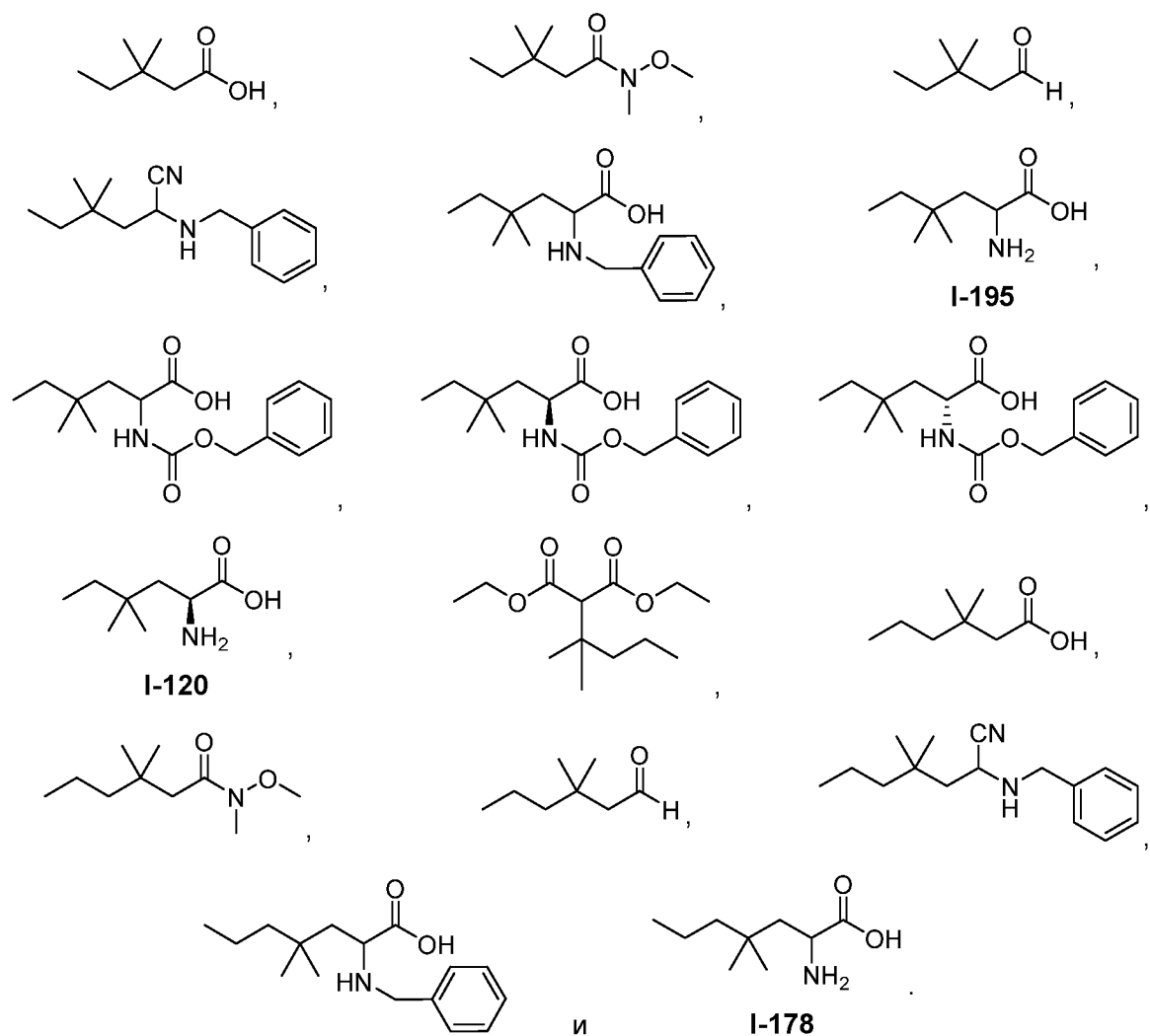
Номер соединения
I-178
I-177
I-176
I-175
I-209
I-208
I-207
I-245
I-210
I-244
I-237
I-235
I-233
I-232
I-231
I-229

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

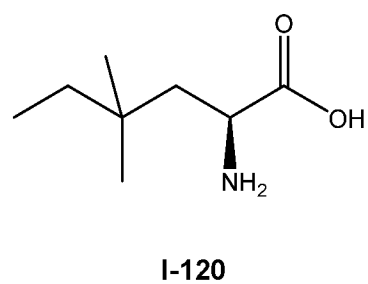
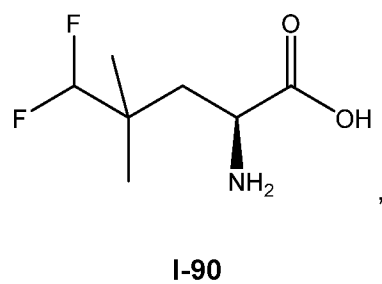
1. Соединение, выбранное из:

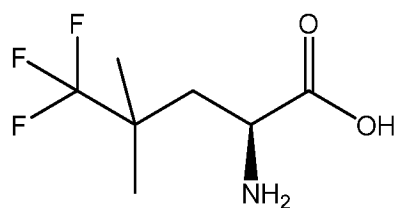


I-176

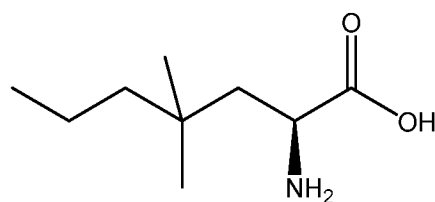


2. Способ получения соединения, выбранного из:

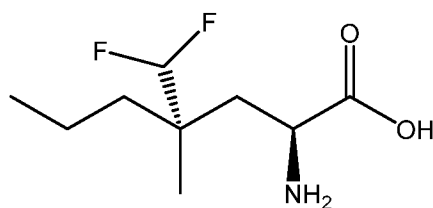




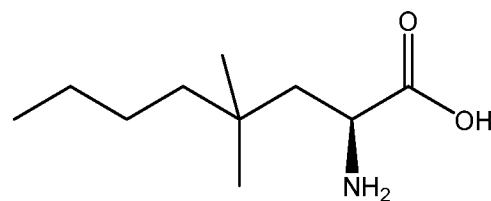
I-128



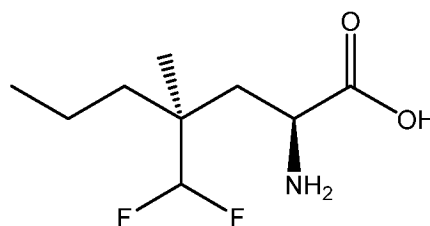
I-210



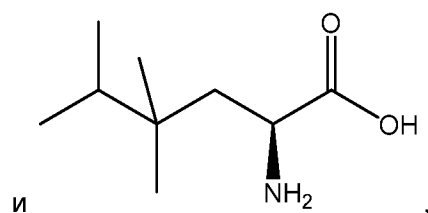
I-229



I-230

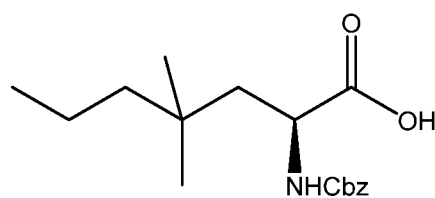
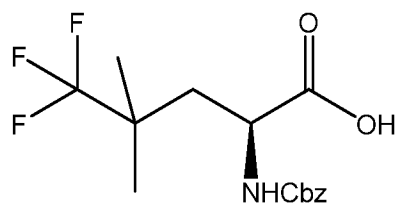
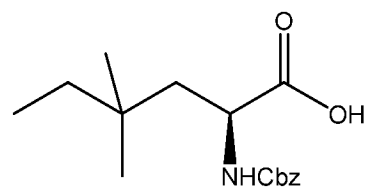
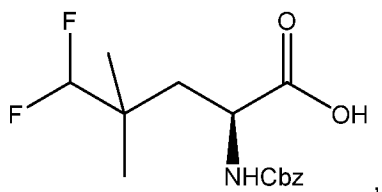


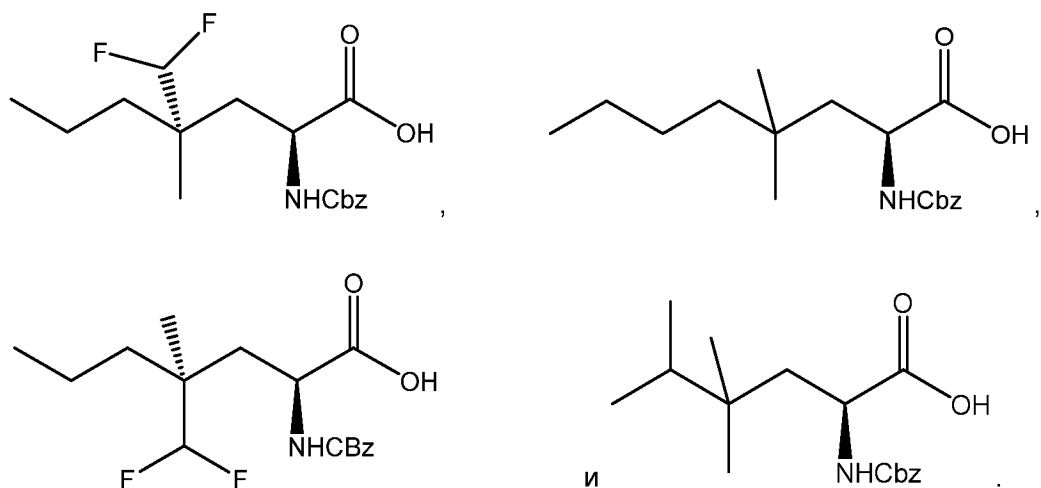
I-232



I-243

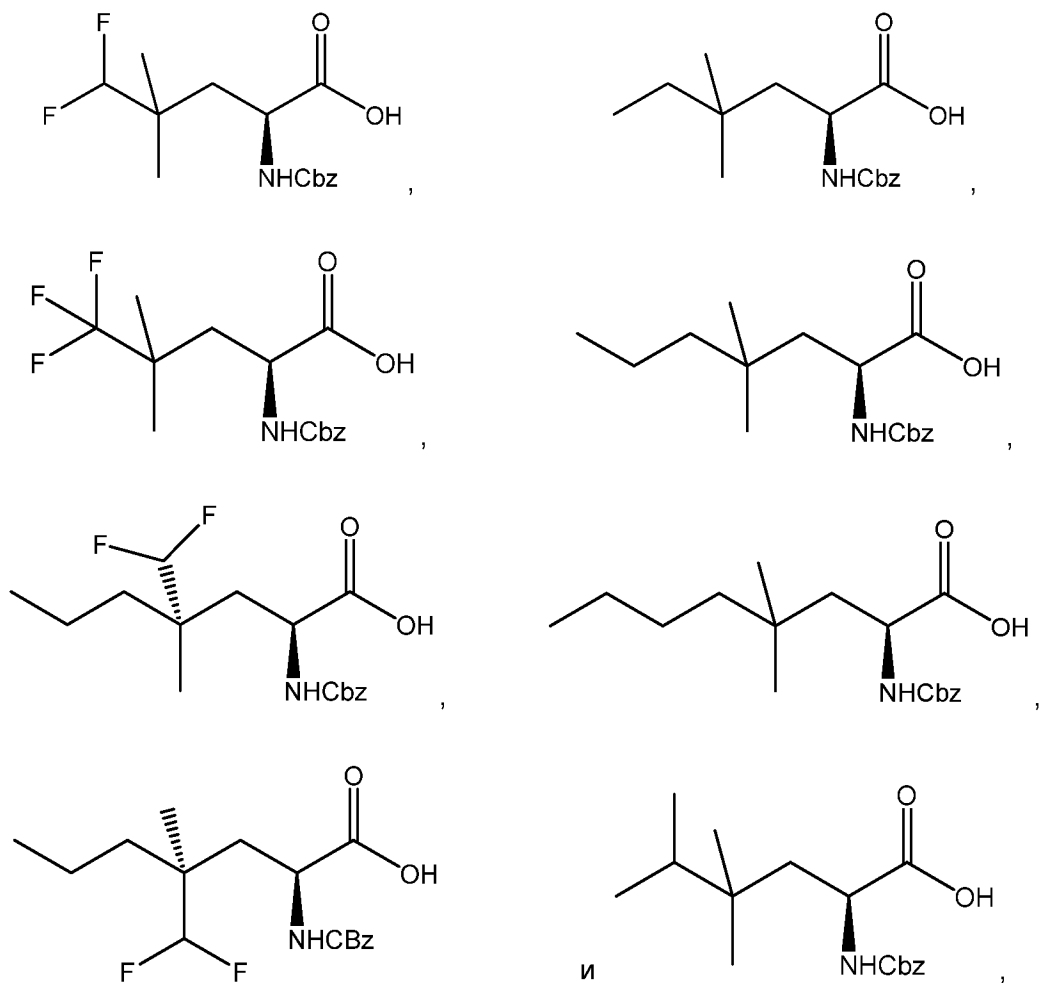
включающий гидрирование соединения, выбранного из:



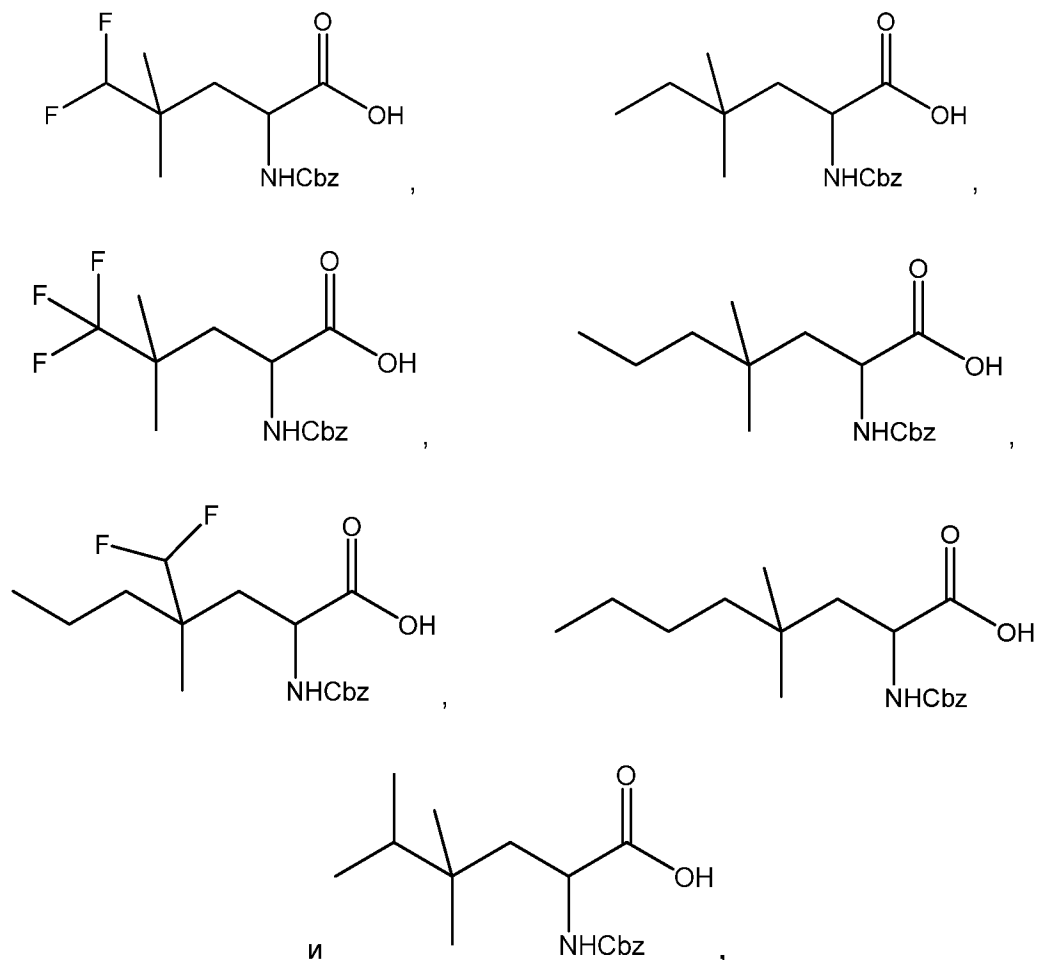


3. Способ по п. 2, отличающийся тем, что указанное гидрирование включает применение палладия на угле и газообразного водорода в метаноле.

4. Способ по п. 2 или 3 для получения соединения, выбранного из:



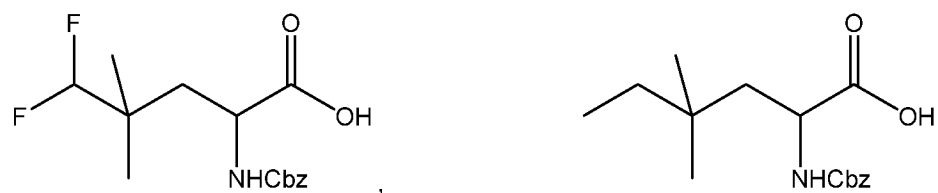
включающий подвержение соединения, выбранного из:

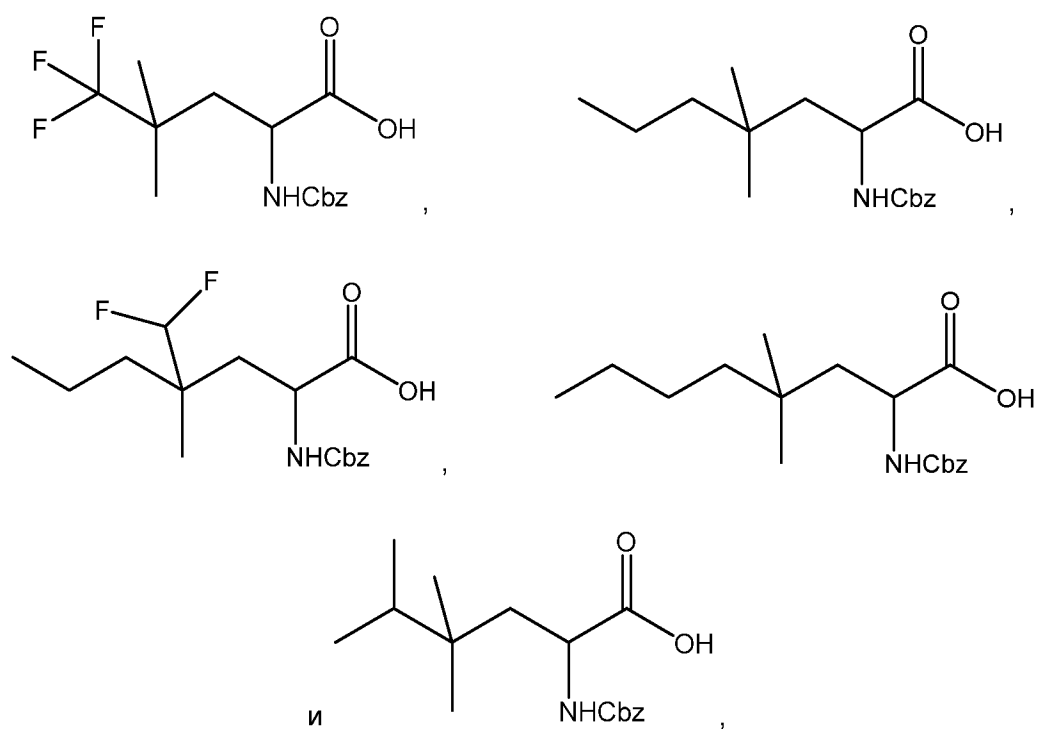


хиральной хроматографии.

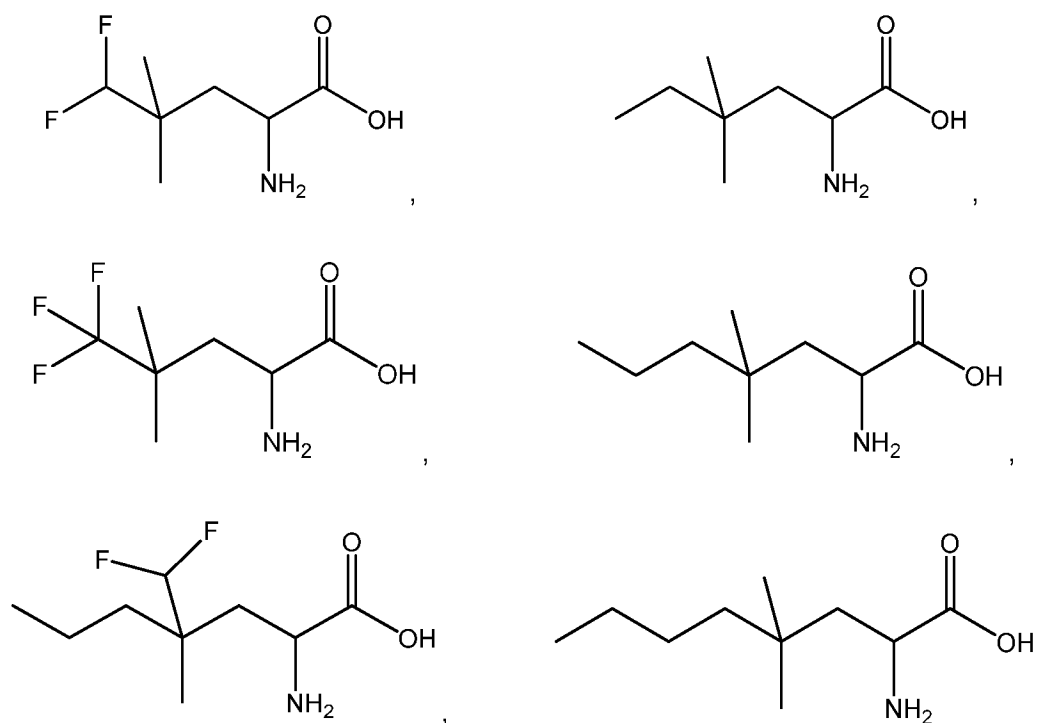
5. Способ по п. 4, отличающийся тем, что указанная хиральная хроматография представляет собой обращенно-фазовую хроматографию на хиральной колонке.

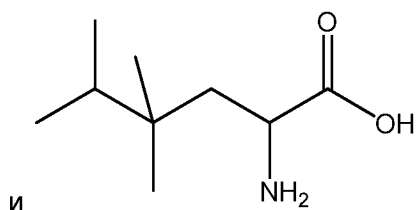
6. Способ по п. 4 или 5 для получения соединения, выбранного из:





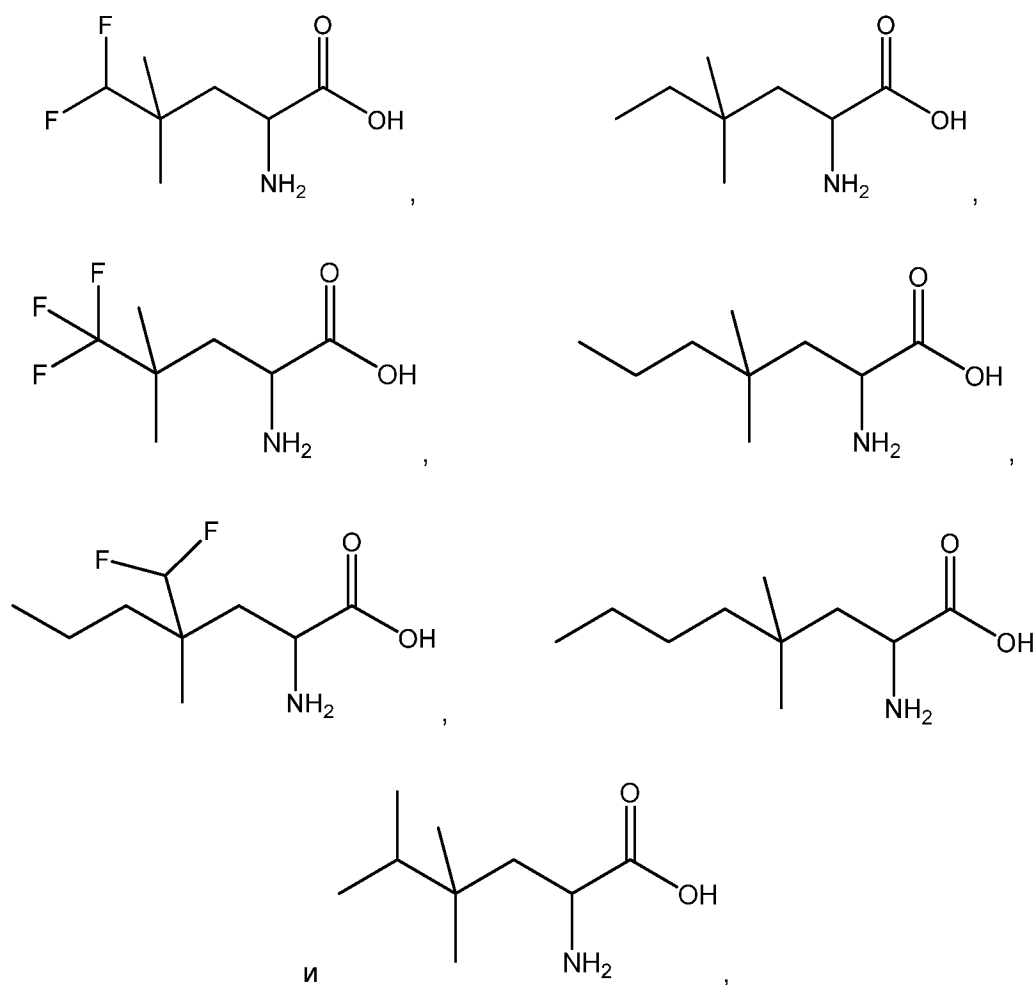
включающий присоединение бензилоксикарбонильной (Cbz) группы к соединению, выбранному из:



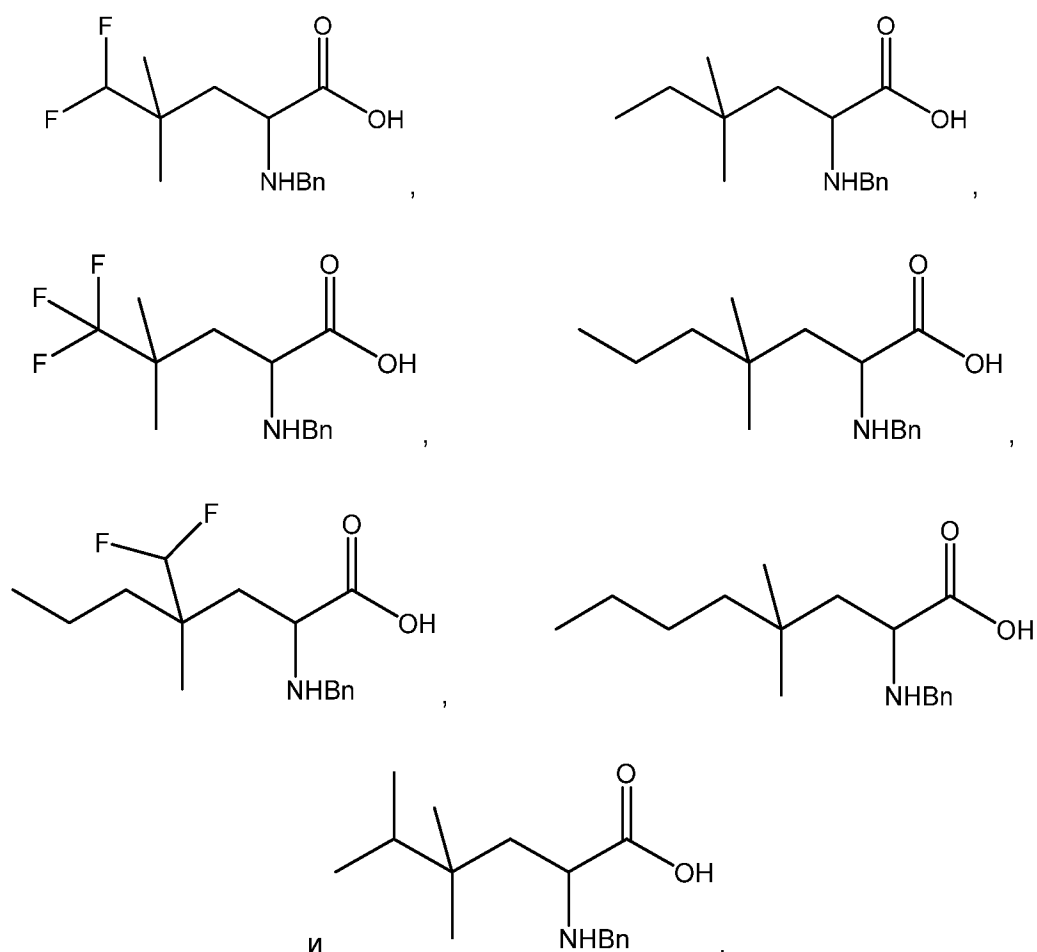


7. Способ по п. 6, отличающийся тем, что присоединение Cbz-группы включает применение бензил-N-сукцинимидилкарбоната (Cbz-OSu) и бикарбоната натрия в водном растворе ацетона.

8. Способ по п. 4 для получения соединения, выбранного из:

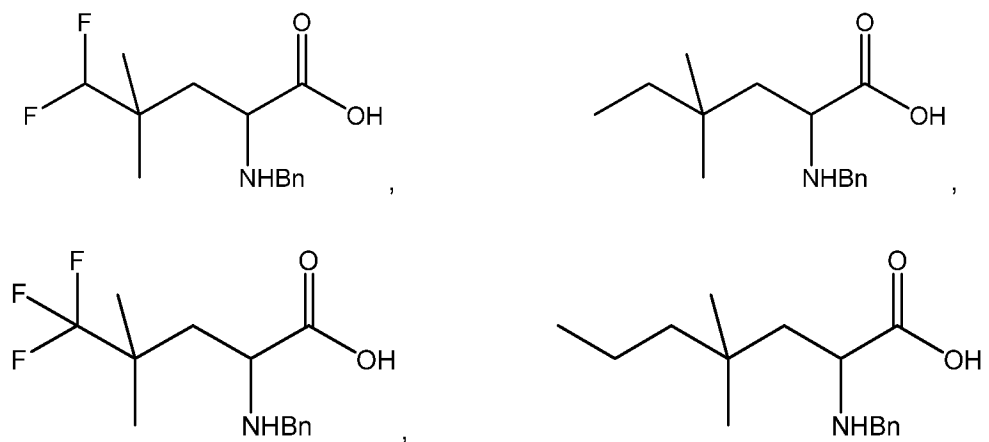


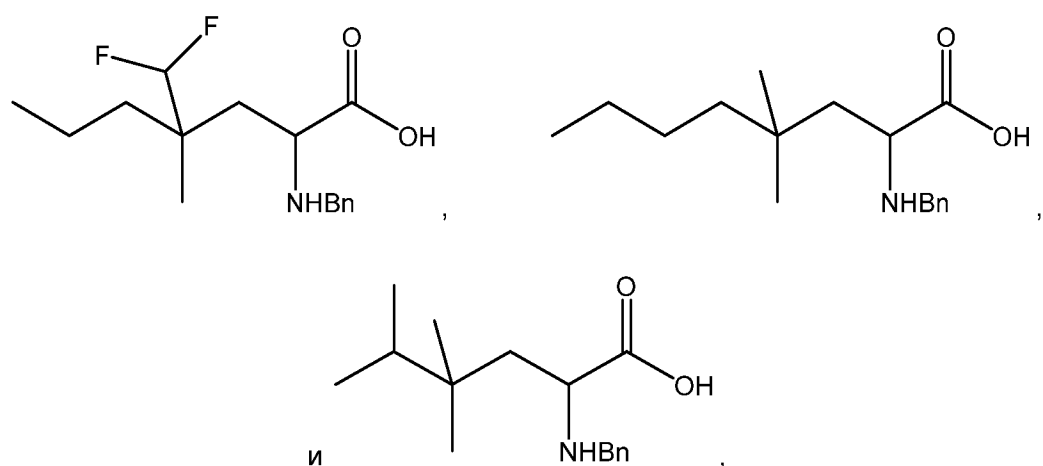
включающий гидрирование соединения, выбранного из:



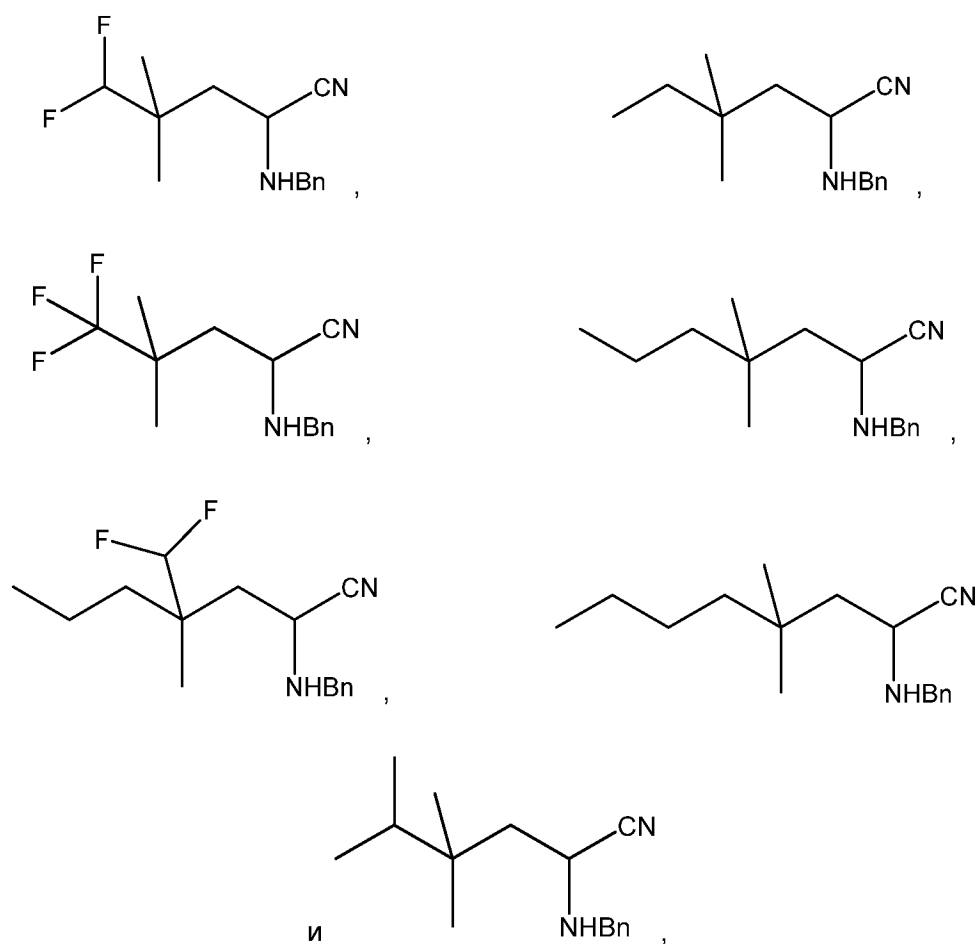
9. Способ по п. 8, отличающийся тем, что указанное гидрирование включает применение палладия на угле и формиата аммония в метаноле.

10. Способ по пп. 8 или 9 для получения соединения, выбранного из:



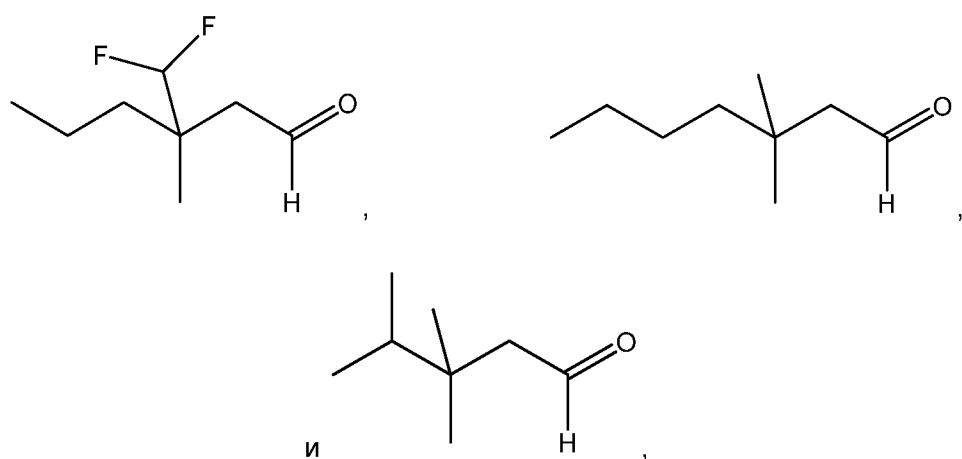


включающий обработку соединения, выбранного из:



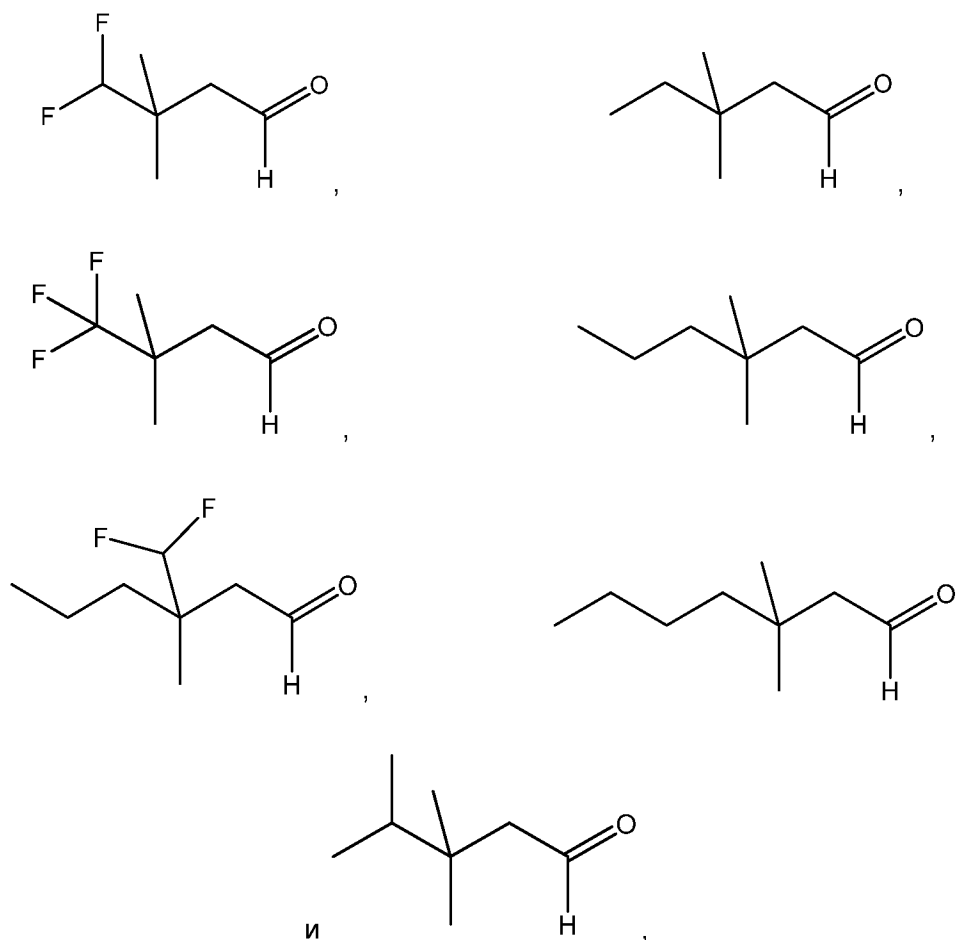
кислотой.

11. Способ по п. 10, отличающийся тем, что указанная кислота представляет собой раствор хлороводорода в уксусной кислоте.

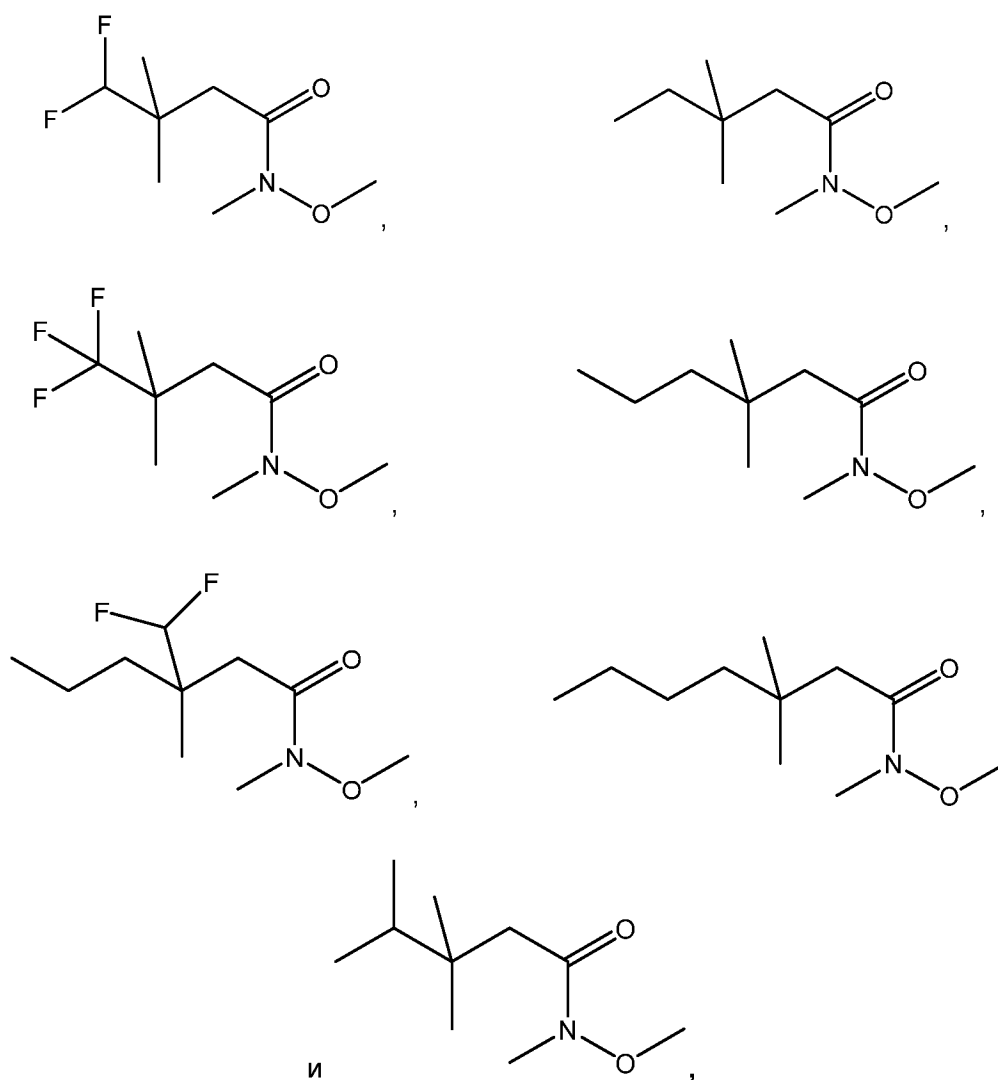


бензиламином, уксусной кислотой и триметилсилилцианидом в диэтиловом эфире.

13. Способ по п. 12 для получения соединения, выбранного из:

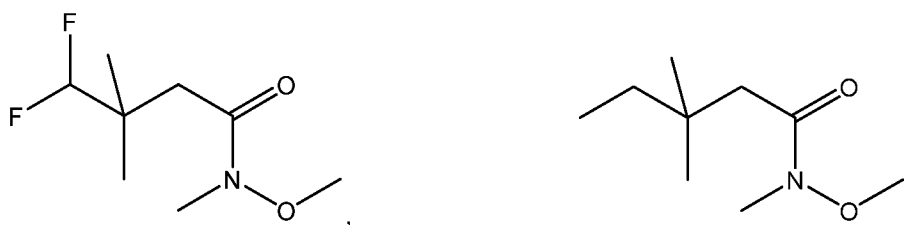


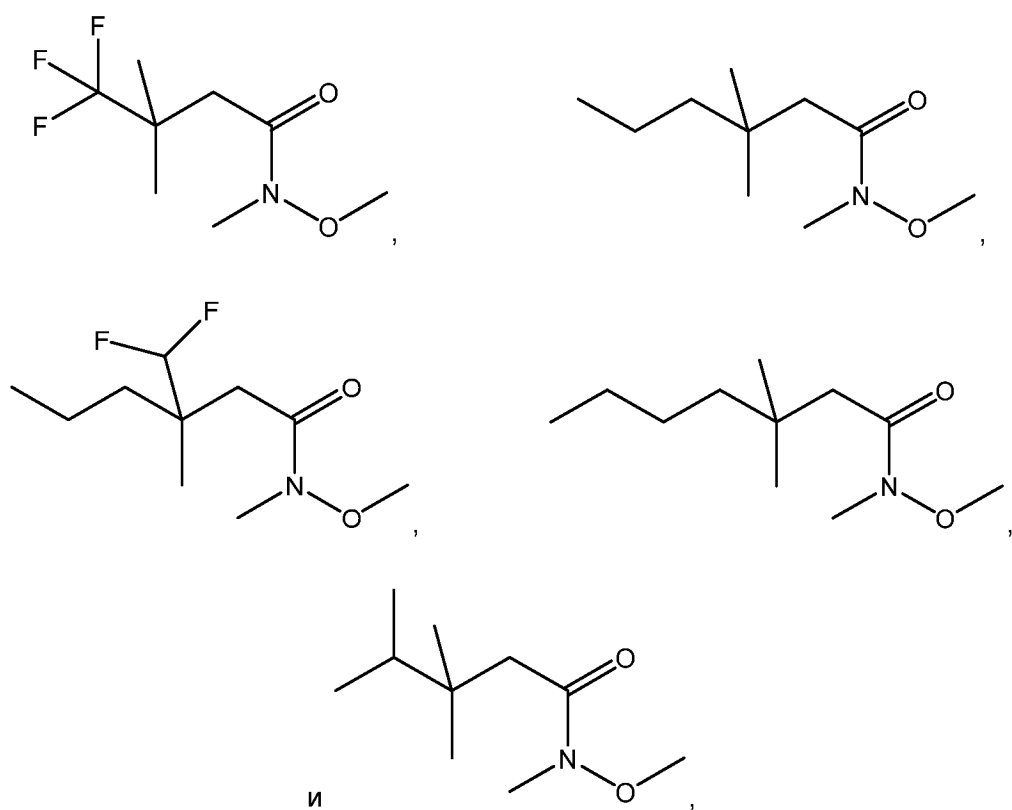
включающий обработку соединения, выбранного из:



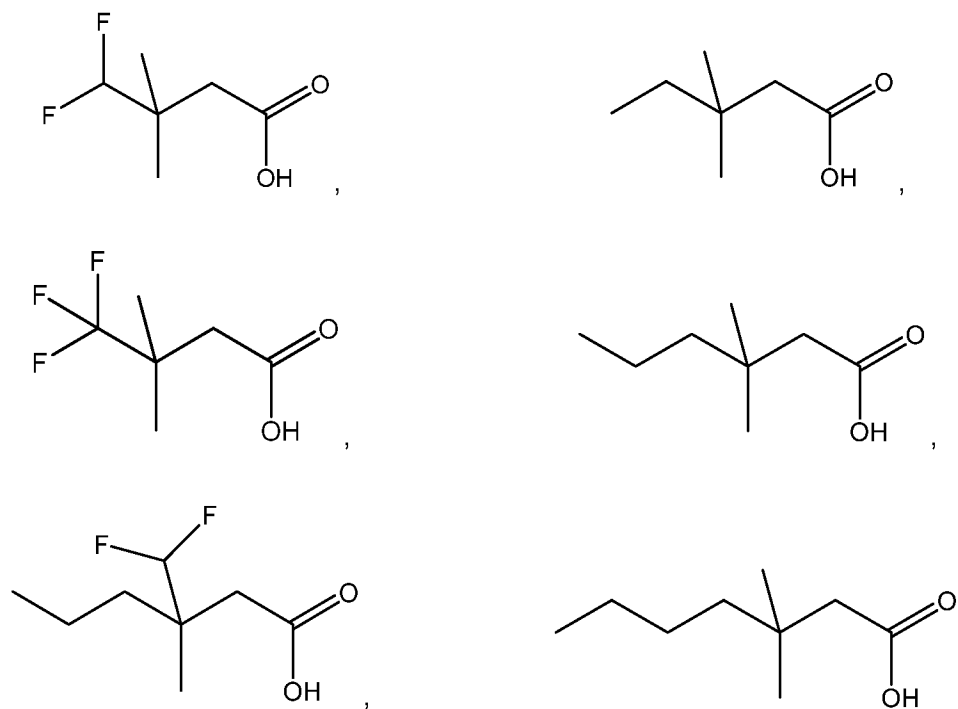
алюмогидридом лития в тетрагидрофуране.

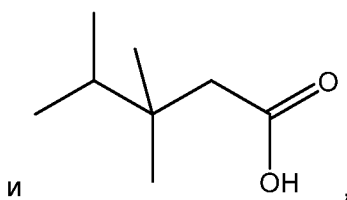
14. Способ по п. 13 для получения соединения, выбранного из:





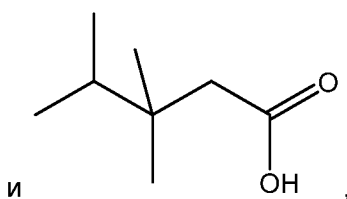
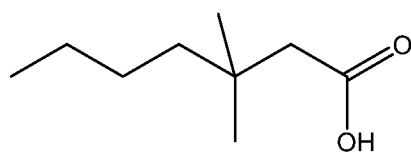
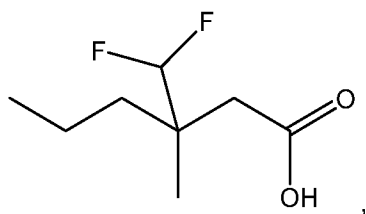
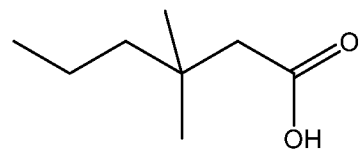
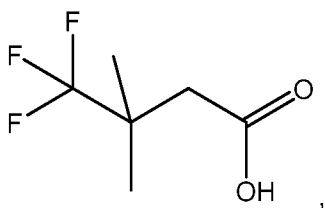
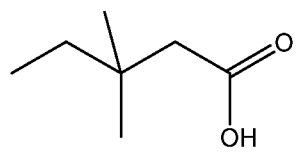
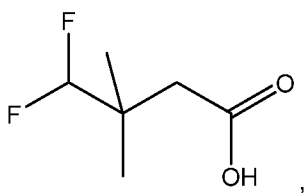
включающий обработку соединения, выбранного из:



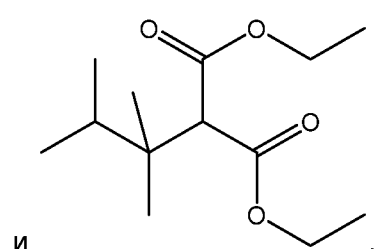
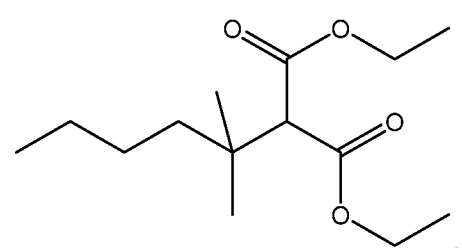
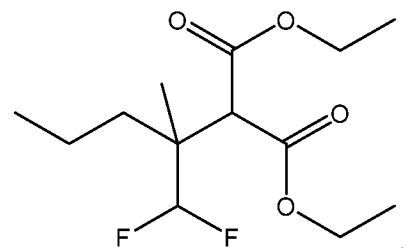
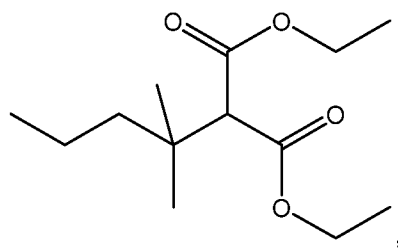
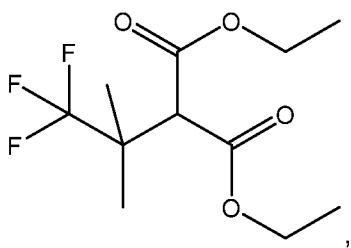
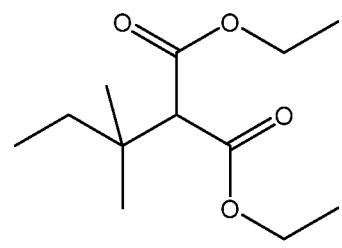
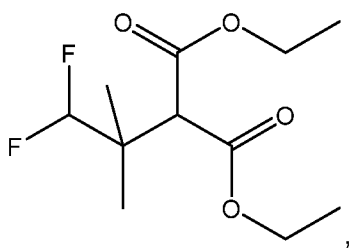


1-[бис(диметиламино)метилден]-1Н-1,2,3-триазоло[4,5-Ь]пиримидин-3-оксид
гексафторфосфатом (HATU), триэтиламинои или диизопропилэтиламинои и N,O-
диметилгидроксиламина гидрохлоридом в N,N-диметилформамиде.

15. Способ по п. 14 для получения соединения, выбранного из:

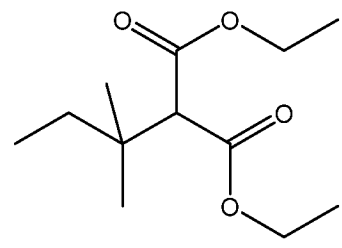
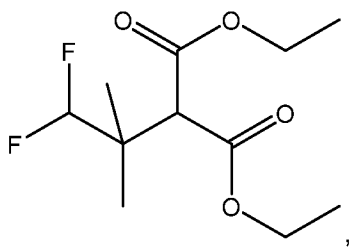


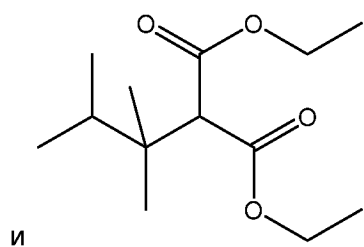
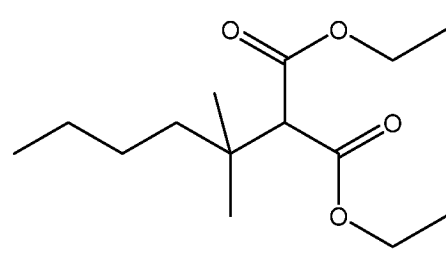
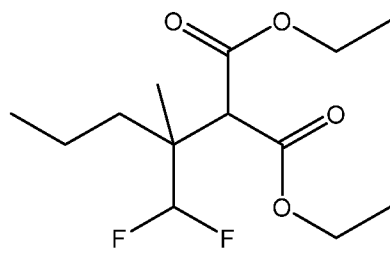
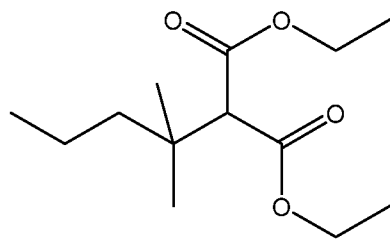
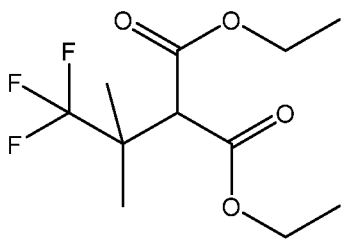
включающий обработку соединения, выбранного из:



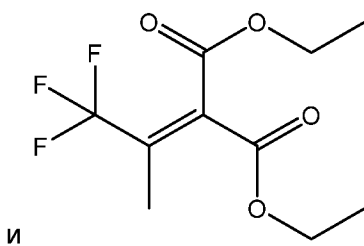
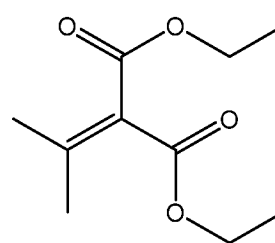
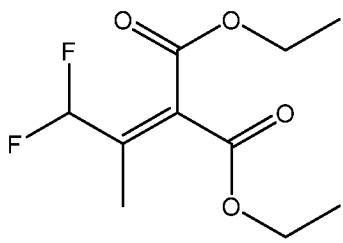
гидроксидом лития в водном растворе диметилсульфоксида.

16. Способ по п. 15 для получения соединения, выбранного из:





включающий обработку соединения, выбранного из:



метилмагнийиодидом, этилмагнийбромидом, н-пропилмагнийбромидом, изопропилмагнийбромидом или н-бутилмагнийбромидом, и йодидом меди в дихлорметане, тетрагидрофуране, или дихлорметане и тетрагидрофуране.

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ
(статья 15(3) ЕАПК и правило 42 Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

202192732

А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:
См. дополнительный лист

Согласно Международной патентной классификации (МПК)

Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:

Просмотренная документация (система классификации и индексы МПК)

C07C 47/02, 47/14, 53/126, 53/21, 69/38, 69/593, 211/27, 211/29, 227/14, 227/30, 229/08, 229/14, 229/20, 239/14, 271/22

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)
Espacenet, ЕАПАТИС, EPOQUE Net, Reaxys, Google

В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
X A	LEHNERT, W. Knoevenagel-kondensationen mit $TiCl_4$ /base-III: Umsetzungen von ketonen und α -halogenketonen mit malonester. Tetrahedron, 1973, Vol. 29, No. 4, p. 635-638, doi: 10.1016/0040-4020(73)85007-0, страница 636, таблица 1, соединение C10H13F3O4	1 2-16
X A	EP 0372816 A1 (THE WELLCOME FOUNDATION LIMITED) 13.06.1990, страница 15, строки 20-32	1 2-16
X A	US 2010/0240663 A1 (ICAGEN, INC.) 23.09.2010, страница 48, пример 7, соединение v	1 2-16
X A	PELA, M. et al. Racemic synthesis and solid phase peptide synthesis application of the chimeric valine/leucine derivative 2-amino-3,3,4-trimethyl-pentanoic acid. Pharmazie, 2014, Vol. 69, No. 7, p. 496-499, doi: 10.1691/ph.2014.3961, страница 497, схема, соединение 2, страница 498, подраздел 3.1.3.	1 2-16
X A	DE 19623142 A1 (HULS AG) 11.12.1997, колонка 5, пример 3	1 2-16
X A	EP 2154139 A1 (ONO PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 17.02.2010, страница 109, строка 55	1 2-16

☒ последующие документы указаны в продолжении

* Особые категории ссылочных документов:

«А» - документ, определяющий общий уровень техники

«D» - документ, приведенный в евразийской заявке

«Е» - более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее

«О» - документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.

"Р" - документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета"

«Т» - более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения

«Х» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности

«У» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории

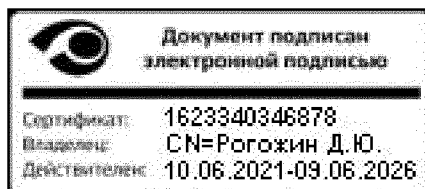
«&» - документ, являющийся патентом-аналогом

«L» - документ, приведенный в других целях

Дата проведения патентного поиска: 25 апреля 2022 (25.04.2022)

Уполномоченное лицо:

Заместитель начальника Управления экспертизы -
начальник отдела формальной экспертизы



Д.Ю. Рогожин

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ
(дополнительный лист)

Номер евразийской заявки:

202192732

КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ (продолжение графы А)

C07C 69/593 (2006.01)
C07C 69/38 (2006.01)
C07C 53/21 (2006.01)
C07C 239/14 (2006.01)
C07C 47/14 (2006.01)
C07C 211/29 (2006.01)
C07C 271/22 (2006.01)
C07C 53/126 (2006.01)
C07C 47/02 (2006.01)
C07C 211/27 (2006.01)
C07C 229/14 (2006.01)
C07C 229/08 (2006.01)
C07C 227/14 (2006.01)
C07C 227/30 (2006.01)
C07C 229/20 (2006.01)

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ
(дополнительный лист)

Номер евразийской заявки:

202192732

ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ (продолжение графы В)

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
X Y	US 2010/0022598 A1 (DAVID CHEN et al.) 28.01.2010, страница 37, параграф [0439]	1 2-16
X Y	US 4775692 A (TORAY INDUSTRIES, INC.) 04.10.1988, колонка 81, референсный пример 37	1 2-16
X Y	US 6329536 B1 (ABBOTT LABORATORIES) 11.12.2001, колонки 9-10, пример 2 (2b)	1 2-16
X A	US 4110368 A (AMERICAN CYANAMID COMPANY) 29.08.1978, колонка 109, пример 998	1 2-16
X	Database PubChem [online]. PubChem CID 12425333, create 2007-02-08. Retrieved from PubChem	1
X	Database PubChem [online]. PubChem CID 12425335, create 2007-02-08. Retrieved from PubChem	1
X	Database PubChem [online]. PubChem CID 71334221, create 2013-05-21. Retrieved from PubChem	1