(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202291092 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.08.23

(22) Дата подачи заявки
2020.10.09

(51) Int. Cl. ***A61K 35/407*** (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
C07D 475/04 (2006.01)
C07K 14/705 (2006.01)
C07K 14/725 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)

(54) НАПРАВЛЕННЫЕ БИФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ДЕСТРУКТОРЫ

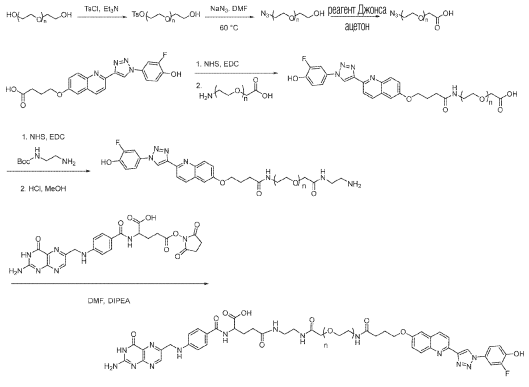
(31) **62/913,665; 62/913,668; 62/913,683**
(32) **2019.10.10**
(33) **US**
(86) **PCT/US2020/055078**
(87) **WO 2021/072269 2021.04.15**

(71) Заявитель:
ЙЕЙЛ ЮНИВЕРСИТИ (US)

(72) Изобретатель:
Шпигель Дэвид, Каяньелло Дэвид, Свартцель Джейк (US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) В одном аспекте настоящее изобретение относится к бифункциональным соединениям, которые могут быть использованы для стимуляции и/или увеличения деградации определенных циркулирующих белков. В другом аспекте настоящее изобретение относится к бифункциональным соединениям, которые могут быть использованы для стимуляции и/или увеличения деградации определенных аутоантител. В конкретных вариантах осуществления для лечения или контролирования заболевания и/или нарушения необходима деградация, удаление или уменьшение концентрации циркулирующего белка или аутоантитела у субъекта. Таким образом, в конкретных вариантах осуществления введение соединения по изобретению субъекту приводит к удалению или уменьшению концентрации циркулирующего белка или аутоантитела, за счет этого обеспечивая лечение, облегчение или предотвращение заболевания и/или нарушения. В конкретных вариантах осуществления циркулирующий белок представляет собой TNF.



202291092 A1

202291092 A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-574239EA/032

НАПРАВЛЕННЫЕ БИФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ДЕСТРУКТОРЫ

ЗАЯВЛЕНИЕ ОТНОСИТЕЛЬНО ИССЛЕДОВАНИЙ ИЛИ РАЗРАБОТОК, ФИНАНСИРУЕМЫХ ИЗ ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТА

Настоящее изобретение было создано при поддержке правительства в рамках гранта GM067543, предоставленного Национальным институтом здоровья США, в рамках гранта W81XWH-13-1-0062, предоставленного Командованием медицинских исследований и материалов армии США. Правительство имеет определенные права на изобретение.

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

В соответствии с § 119(e) раздела 35 Кодекса США (35 U.S.C.) по настоящей заявка испрашивается приоритет на основании предварительных патентных заявок США № 62/913665, поданной 10 октября 2019 г., № 62/913668, поданной 10 октября 2019 г., и № 62/913683, поданной 10 октября 2019 г., все из которых включены в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме.

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В число механизмов, регулирующих транспорт молекул в клетку, входит опосредуемый рецепторами эндоцитоз. В данном процессе рецептор на поверхности клетки связывает специфический лиганд (или молекулу, содержащую такой специфический лиганд), который находится вне клетки - этот лиганд может представлять собой малую молекулу, метаболит, гормон, белок или даже вирус. Процесс связывания запускает процесс выгибания плазматической мембраны внутрь (инвагинация), с образованием везикулы, содержащей комплекс рецептор-лиганд. Везикула становится эндосомой и впоследствии сливается с лизосомами, и рецептор деградирует вместе со связанным с ним грузом лиганда, или рецептор возвращается на поверхность клетки для дальнейшего сбора циркулирующего лиганда.

Одним из таких рецепторов является асиалогликопротеиновый рецептор (ASGPR). Этот рецептор представляет собой лектин С-типа, и его основная биологическая роль заключается в связывании, интернализации и последующем выведении из циркуляции гликопротеинов, содержащих терминальные остатки галактозы или N-ацетилгалактозамина (асиалогликопротеинов). ASGPR выводят целевые гликопротеины из циркуляции путем эндоцитоза и последующей деградации в лизосомах. ASGPR в высокой степени экспрессируются на поверхности гепатоцитов, клеток нескольких клеточных линий карциномы человека и раковых клеток печени, а также слабо экспрессируются железистыми клетками желчного пузыря и желудка. Известно, что эти рецепторы участвуют в выведении из циркуляции антител подтипов IgG и других изотипов, удалении апоптотических клеток, клиренсе липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) и остатков хиломикронов, а также утилизации клеточного фибронектина.

Фактор некроза опухоли (TNF, также известный как фактор некроза опухоли альфа

или TNFα) представляет собой клеточный сигнальный белок (цитокин), участвующий в реакции системного воспаления в острой фазе. Он продуцируется в основном активированными макрофагами, но может продуцироваться и клетками других типов, такими как CD4+ лимфоциты, NK-клетки, нейтрофилы, тучные клетки, эозинофилы и нейроны. Основная роль TNF заключается в регуляции иммунных клеток. TNF является эндогенным пирогеном и может вызывать лихорадку, апоптотическую гибель клеток, кахексию и воспаление, а также ингибировать образование опухолей и вирусную репликацию, и отвечать на сепсис через IL1- и IL6-продуцирующие клетки. Нарушение регуляции продуцирования TNF играет определенную роль в заболеваниях, таких как, но без ограничения, болезнь Альцгеймера, рак, глубокая депрессия, псориаз и воспалительные заболевания кишечника (IBD).

Аутоантитело представляет собой антитело, которое продуцируется иммунной системой и реагирует с одним или более собственными белками субъекта. Иногда иммунная система перестает признавать «собственными» одну или более нормальных составляющих организма, что приводит к продуцированию патологических (или связанных с заболеванием) аутоантител. Эти аутоантитела атакуют собственные здоровые клетки, ткани или органы организма, вызывая воспаление и повреждение. Многие аутоиммунные заболевания, такие как красная волчанка, вызываются такими аутоантителами.

Патологические аутоантитела могут быть направлены на конкретный орган или носить системный характер. Аутоантитела способствуют развитию и персистенции многих заболеваний, таких как синдром Гийена-Барре, рассеянный склероз, миастения, атипичный гемолитико-уремический синдром (HUS), катастрофический антифосфолипидный синдром (CAPS), системная красная волчанка (SLE), хроническая воспалительная демиелинизирующая полирадикулонейропатия (CIDP), детские аутоиммунные нейропсихические нарушения, связанные со стрептококковыми инфекциями, и хорея Сиденхема.

Было показано, что удаление аутоантител, связанных с заболеванием, ослабляет симптомы и приводит к улучшению клинических исходов. В настоящее время стратегии снижения титра антител включают: плазмаферез, при котором плазму пациента отделяют экстракорпорально от цельной крови путем центрифугирования/фильтрования и заменяют плазмой здоровых доноров или альбумином; и внутривенное введение иммуноглобулина (IVIG), при котором антитела собирают из человеческой плазмы донора и вводят пациенту внутривенно. Эти подходы имеют свои ограничения и недостатки. Проблемы, связанные с плазмаферезом, включают высокую стоимость, неудобства и значительные риски для здоровья, а также осложнения (такие как инсульт, гипотония, инфекция и гипокальциемия). IVIG также имеет ряд недостатков, включая стоимость, длительное время реакции и побочные эффекты (такие как аллергия).

В данной области существует потребность в новых соединениях и способах, которые позволяют ингибировать, удалять и/или разрушать TNF для лечения, облегчения

и/или предотвращения определенных заболеваний и/или нарушений у субъекта. В данной области существует потребность в новых соединениях и способах, которые позволяют ингибировать, удалять и/или разрушать определенные внеклеточные белки для лечения, облегчения и/или предотвращения определенных заболеваний и/или нарушений у субъекта. В данной области существует потребность в новых соединениях и способах, позволяющих ингибировать, удалять и/или разрушать определенные аутоантитела, которые опосредуют заболевание и/или нарушение у субъекта. Настоящее изобретение отвечает этим потребностям.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Изобретение относится к соединению формулы (I), или его соли, геометрическому изомеру, стереоизомеру или сольвату:

$[\text{белок-связывающий фрагмент}]_{k'}$-$[CON]_h$-$[\text{линкер}]_i$-$[CON]_{h'}$-$[CRBM]_{j'}$ (I),

где белок-связывающий фрагмент, CON, линкер, CRBM, k', h, i, h' и j' имеют определения, приведенные в другом разделе настоящего документа.

Изобретение также относится к соединению формулы (II), или его соли, геометрическому изомеру, стереоизомеру или сольвату:

$[\text{TNF-связывающий фрагмент}]_{k'}$-$[CON]_h$-$[\text{линкер}]_i$-$[CON]_{h'}$-$[CRBM]_{j'}$ (II),

где TNF-связывающий фрагмент, CON, линкер, CRBM, k', h, i, h' и j' имеют определения, приведенные в другом разделе настоящего документа.

Изобретение также относится к соединению формулы (III), или его соли, геометрическому изомеру, стереоизомеру или сольвату:

$[AATM]_{k'}$-$[CON]_h$-$[\text{линкер}]_i$-$[CON]_{h'}$-$[CRBM]_{j'}$ (III),

где AATM, CON, линкер, CRBM, k', h, i, h' и j' имеют определения, приведенные в другом разделе настоящего документа.

Настоящее изобретение также относится к фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно соединение, описанное в настоящем документе, и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент.

Настоящее изобретение также относится к способу лечения заболевания или нарушения у субъекта, включающему введение терапевтически эффективного количества по меньшей мере одного соединения, описанного в настоящем документе.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

В целом, чертежи иллюстрируют в качестве примера, но не ограничения, различные варианты осуществления настоящего изобретения.

Используемый в настоящем документе термин «REAG» относится к любому реагенту, включающему -CON, -линкер, -CON-линкер, -линкер-CON, -CON-линкер-CON, -CRBM, -CON-CRBM, -линкер-CRBM, -CON-линкер-CRBM, -линкер-CON-CRBM и/или -CON-линкер-CON-CRBM. В конкретных вариантах осуществления REAG реагирует с группой TNF-связывающего фрагмента, с включением TNF-связывающего фрагмента в соединение по изобретению или его фрагмент, его производное или его промежуточное

соединение. В конкретных вариантах осуществления REAG реагирует с группой белок-связывающего фрагмента, с включением белок-связывающего фрагмента в соединение по изобретению или его фрагмент, его производное или его промежуточное соединение. В конкретных вариантах осуществления REAG реагирует с группой AATM, с включением AATM в соединение по изобретению или его фрагмент, его производное или его промежуточное соединение. В конкретных вариантах осуществления символ ~~ указывает на неограничивающие положения, к которым REAG и/или белок-связывающий фрагмент и/или AATM могут быть ковалентно присоединены.

ФИГ. 1 иллюстрирует неограничивающий вариант получения соединения по изобретению, содержащего рецептор фолиевой кислоты-связывающий фрагмент.

ФИГ. 2 иллюстрирует неограничивающий вариант получения соединения по изобретению, содержащего маннозный рецептор-связывающий фрагмент.

ФИГ. 3 иллюстрирует неограничивающий вариант получения соединения по изобретению, содержащего маннозный рецептор-связывающий фрагмент.

ФИГ. 4 иллюстрирует неограничивающий вариант получения соединения по изобретению, содержащего маннозный рецептор-связывающий фрагмент.

ФИГ. 5 иллюстрирует неограничивающий вариант получения соединения по изобретению, содержащего маннозный рецептор-связывающий фрагмент.

ФИГ. 6 иллюстрирует неограничивающий вариант получения соединения по изобретению, содержащего маннозный рецептор-связывающий фрагмент.

ФИГ. 7 иллюстрирует неограничивающий вариант получения соединения по изобретению, содержащего маннозный рецептор-связывающий фрагмент.

ФИГ. 8 иллюстрирует неограничивающий вариант получения соединения по изобретению, содержащего маннозный рецептор-связывающий фрагмент.

ФИГ. 9 иллюстрирует неограничивающий вариант получения полимерного соединения, содержащего манноза-6-фосфатный рецептор-связывающие фрагменты.

ФИГ. 10 иллюстрирует неограничивающие примеры групп R^1 и/или R^3 в ASGPRBM.

ФИГ. 11 иллюстрирует неограничивающие примеры групп R^2 в ASGPRBM.

ФИГ. 12 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза соединения по изобретению.

ФИГ. 13 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза TNF-связывающего фрагмента по изобретению и его связывания с REAG для получения соединения по изобретению.

ФИГ. 14 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза соединения по изобретению.

ФИГ. 15 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза соединения по изобретению.

ФИГ. 16 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза соединения по

изобретению.

ФИГ. 17 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза соединения по изобретению.

ФИГ. 18 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза TNF-связывающего фрагмента по изобретению и его связывания с REAG для получения соединения по изобретению.

ФИГ. 19 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза промежуточного соединения, полезного для получения конкретных соединений по изобретению, таких как, но без ограничения, формула (2a).

ФИГ. 20 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза TNF-связывающего фрагмента по изобретению и его связывания с REAG для получения соединения по изобретению.

ФИГ. 21 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза TNF-связывающего фрагмента по изобретению и его связывания с REAG для получения соединения по изобретению.

ФИГ. 22 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза TNF-связывающего фрагмента по изобретению и его связывания с REAG для получения соединения по изобретению.

ФИГ. 23 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза TNF-связывающего фрагмента по изобретению и его связывания с REAG для получения соединения по изобретению.

ФИГ. 24A-24B иллюстрируют неограничивающие варианты синтеза группы ASGPRBM.

ФИГ. 25A-25D иллюстрируют неограничивающие варианты синтеза конкретных групп ASGPRBM. В примере раскрыта неограничивающая защитная группа Cbz, однако синтез может быть выполнен с использованием любой другой подходящей защитной группы, известной специалистам в данной области. Защита защитной группы(групп) в каждом промежуточном соединении и/или конечном продукте может быть снята соответствующим образом.

ФИГ. 26A-26L иллюстрируют неограничивающие варианты синтеза конкретных групп ASGPRBM. В примере раскрыта неограничивающая защитная группа Cbz, однако синтез может быть выполнен с использованием любой другой подходящей защитной группы, известной специалистам в данной области. Защита защитной группы(групп) в каждом промежуточном соединении и/или конечном продукте может быть снята соответствующим образом.

ФИГ. 27A-27O иллюстрируют неограничивающие варианты синтеза конкретных групп ASGPRBM. В примере раскрыта неограничивающая защитная группа Cbz, однако синтез может быть выполнен с использованием любой другой подходящей защитной группы, известной специалистам в данной области. Защита защитной группы(групп) в каждом промежуточном соединении и/или конечном продукте может быть снята

соответствующим образом.

ФИГ. 28A-28B иллюстрируют неограничивающий вариант соединения по изобретению, содержащего PCSK9-связывающий фрагмент, и его получение.

ФИГ. 29 иллюстрирует неограничивающий вариант соединения по изобретению, содержащего PCSK9-связывающий фрагмент, и его получение.

ФИГ. 30 иллюстрирует неограничивающий вариант соединения по изобретению, содержащего PCSK9-связывающий фрагмент, и его получение.

ФИГ. 31 иллюстрирует неограничивающий вариант соединения по изобретению, содержащего PCSK9-связывающий фрагмент, и его получение.

ФИГ. 32 иллюстрирует неограничивающий вариант соединения по изобретению, содержащего VEGF-связывающий фрагмент, и его получение.

ФИГ. 33 иллюстрирует неограничивающий вариант соединения по изобретению, содержащего VEGF-связывающий фрагмент, и его получение.

ФИГ. 34 иллюстрирует неограничивающий вариант соединения по изобретению, содержащего TGF-бета-связывающий фрагмент, и его получение.

ФИГ. 35 иллюстрирует неограничивающий вариант соединения по изобретению, содержащего TGF-бета-связывающий фрагмент, и его получение.

ФИГ. 36 иллюстрирует неограничивающий вариант соединения по изобретению, содержащего TSP-1-связывающий фрагмент, и его получение.

ФИГ. 37A-38B иллюстрируют неограничивающие варианты соединения по изобретению, содержащего растворимый uPAR-связывающий фрагмент, и его получение.

ФИГ. 38A-38B иллюстрируют неограничивающие варианты соединения по изобретению, содержащего PSMA-связывающий фрагмент, и его получение.

ФИГ. 39A-39B иллюстрируют неограничивающие варианты соединения по изобретению, содержащего IL-2-связывающий фрагмент, и его получение.

ФИГ. 40A-40B иллюстрируют неограничивающие варианты соединения по изобретению, содержащего GP120-связывающий фрагмент, и его получение.

ФИГ. 41 иллюстрирует неограничивающий вариант соединения по изобретению, содержащего GP120-связывающий фрагмент, и его получение.

ФИГ. 42 иллюстрирует неограничивающий вариант получения соединения по изобретению, содержащего MIF-связывающий фрагмент.

ФИГ. 43 иллюстрирует неограничивающий вариант получения соединения по изобретению, содержащего MIF-связывающий фрагмент.

ФИГ. 44 иллюстрирует неограничивающий вариант получения соединения по изобретению, содержащего MIF-связывающий фрагмент.

ФИГ. 45 иллюстрирует неограничивающий вариант получения соединения по изобретению, содержащего MIF-связывающий фрагмент.

ФИГ. 46 иллюстрирует неограничивающий вариант получения соединения по изобретению, содержащего MIF-связывающий фрагмент.

ФИГ. 47 иллюстрирует неограничивающий вариант получения соединения по

изобретению, содержащего MIF-связывающий фрагмент.

ФИГ. 48 иллюстрирует неограничивающий вариант получения соединения по изобретению, содержащего MIF-связывающий фрагмент.

ФИГ. 49 иллюстрирует неограничивающий вариант получения соединения по изобретению, содержащего MIF-связывающий фрагмент.

ФИГ. 50 иллюстрирует неограничивающий вариант получения соединения по изобретению, содержащего MIF-связывающий фрагмент.

ФИГ. 51A-51B иллюстрируют неограничивающие лиганды PCSK9 и их иллюстративный синтез.

ФИГ. 52A-52B иллюстрируют неограничивающие лиганды PCSK9 и их иллюстративный синтез.

ФИГ. 53A-53B иллюстрируют неограничивающие лиганды PCSK9 и их иллюстративный синтез.

ФИГ. 54 иллюстрирует неограничивающие лиганды PCSK9 и их иллюстративный синтез.

ФИГ. 55A-55N иллюстрируют неограничивающие варианты синтеза конкретных групп ASGPRBM и/или соединений по изобретению с использованием MIF-связывающего фрагмента в качестве неограничивающего белок-связывающего фрагмента. Защита любой защитной группы(групп) в каждом промежуточном соединении и/или конечном продукте может быть снята соответствующим образом.

ФИГ. 56A-56O иллюстрируют неограничивающие варианты синтеза конкретных групп ASGPRBM и/или соединений по изобретению с использованием MIF-связывающего фрагмента в качестве неограничивающего белок-связывающего фрагмента. Защита любой защитной группы(групп) в каждом промежуточном соединении и/или конечном продукте может быть снята соответствующим образом.

ФИГ. 57A-57M иллюстрируют неограничивающие варианты синтеза TNF-связывающего фрагмента по изобретению и его связывания с REAG для получения соединения по изобретению, такого как, но без ограничения, формула (2b).

ФИГ. 58 иллюстрирует конкретные соединения формулы (2b), где R представляет собой R^{3b} в неограничивающем варианте осуществления.

ФИГ. 59 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза промежуточного соединения, которое может быть использовано для получения соединения формулы (2b).

ФИГ. 60 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза промежуточного соединения, которое может быть использовано для получения соединения формулы (2b).

ФИГ. 61 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза промежуточного соединения, которое может быть использовано для получения соединения формулы (2b).

ФИГ. 62 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза промежуточного соединения, которое может быть использовано для получения соединения формулы (2b).

ФИГ. 63 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза промежуточного соединения, которое может быть использовано для получения соединения формулы (2b).

ФИГ. 64 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза промежуточного соединения, которое может быть использовано для получения соединения формулы (2b).

ФИГ. 65 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза промежуточного соединения, которое может быть использовано для получения соединения формулы (2b).

ФИГ. 66 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза промежуточного соединения, которое может быть использовано для получения соединения формулы (2b).

ФИГ. 67 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза промежуточного соединения, которое может быть использовано для получения соединения формулы (2b).

ФИГ. 68 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза промежуточного соединения, которое может быть использовано для получения соединения формулы (2b).

ФИГ. 69 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза промежуточного соединения, которое может быть использовано для получения соединения формулы (2b).

ФИГ. 70A-70C иллюстрируют неограничивающие варианты синтеза конкретных промежуточных соединений, которые могут быть использованы для получения соединения формулы (2b) (с предоставлением R^3) или формулы (2c) (с предоставлением R^2).

ФИГ. 71 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза конкретного соединения по изобретению, такого как, но без ограничения, формула (2c).

ФИГ. 72 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза промежуточного соединения, которое может быть использовано для получения соединения формулы (2c).

ФИГ. 73 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза промежуточного соединения, которое может быть использовано для получения соединения формулы (2c).

ФИГ. 74 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза соединения формулы (2c).

ФИГ. 75 иллюстрирует структуру GalNAc-NH_2.

ФИГ. 76 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза индол-GN_3, бифункциональной молекулы, которая направлена на деградацию IgG/IgE/IgM человека.

ФИГ. 77 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза AMD-GN_3, бифункциональной молекулы, которая направлена на избирательную деградацию IgG человека.

ФИГ. 78 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза FcIII-GN_3, бифункциональной молекулы, которая направлена на избирательную деградацию IgG человека.

ФИГ. 79A-79B иллюстрируют in vivo данные, которые свидетельствуют о расщеплении анти-DNP IgG в мышиной сыворотке, опосредуемом DNP-GN_3. ФИГ. 79A: эксперимент на мышах, показывающий, что бифункциональная молекула DNP-GN_3 может индуцировать деградацию инъецированных анти-DNP IgG антител в мышиной сыворотке, в то время как молекула отрицательного контроля или контрольный растворитель не проявляют такой эффект. Фиолетовая стрелка: мышам вводили инъекцией анти-DNP IgG антитела в/б; зеленые стрелки: мышам вводили в/б инъекцией PBS (растворитель), DNP-

$(OH)_3$ (отрицательный контроль) или DNP-GN_3. ФИГ. 79B: Структура DNP-GN_3.

ФИГ. 80-84 иллюстрируют неограничивающие варианты синтеза конкретных бифункциональных соединений по изобретению.

ФИГ. 85 иллюстрирует синтез DNP-OH3.

ФИГ. 86A-86C иллюстрируют посредническую роль DNP-GN3 в образовании тройного комплекса. ФИГ. 86A: DNP-GN3 опосредует образование тройного комплекса между гепатоцитами и анти-DNP антителом. ФИГ. 86B: опосредованное DNP-GN3 образование тройного комплекса ингибируется конкурирующими связывающими фрагментами для либо ASGPR, либо анти-DNP антитела. ФИГ. 86C: образование тройного комплекса, опосредованное DNP-GN3, ингибируется описанными ASGPR-связывающими белками асиалофетуином и асиалоросомукоидом.

ФИГ. 87A-87B показывают, что эндоцитоз анти-DNP антитела зависит от концентраций как анти-DNP антитела, так и DNP-GN3. ФИГ. 87A: эндоцитоз анти-DNP антитела через шесть часов. ФИГ. 87B: эндоцитоз анти-DNP антитела через двенадцать часов.

ФИГ. 88 показывают, что эндоцитоз, опосредуемый DNP-GN3, уменьшается за счет конкурирующих связывающих фрагментов для либо ASGPR, либо анти-DNP антитела. Контроли показаны серым цветом, соединения, ожидаемо ингибирующие предложенный механизм действия DNP-GN3, показаны синим цветом, и ожидаемо не ингибирующие соединения показаны красным цветом. Данные представлены в виде средних значений ± SD для 9 реплик в четырех экспериментах. Статистические различия определяли при помощи критерия Краскела-Уоллиса с апостериорными сравнениями между каждой группой ингибиторов и не ингибиторов (*P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001, ****P<0,0001, «н/з» P>0,9999).

ФИГ. 89 показывает, что ингибиторы клатрин-зависимого эндоцитоза уменьшают опосредованное DNP-GN3 поглощение анти-DNP антитела. Данные представлены в виде средних значений ± SD для 9 реплик в четырех экспериментах. Статистический анализ проводили, как описано для ФИГ. 88.

ФИГ. 90 показывает, что накопление обусловленной анти-DNP антителом флуоресценции в клетках зависит от присутствия анти-DNP антитела и DNP-GN3.

ФИГ. 91A-91B показывают, что эндоцитированное анти-DNP антитело перемещается в лизосомы через 12 часов. ФИГ. 91A: эндоцитированное анти-DNP антитело не локализуется совместно с маркером ранних эндосом EEA1. ФИГ. 91B: эндоцитированное анти-DNP антитело локализуется совместно с белком поздних эндосом и лизосом LAMP2 в клетках.

ФИГ. 92A-92B иллюстрируют исследования по накоплению происходящих из анти-DNP антитела белковых фрагментов. ФИГ. 92A: происходящие из анти-DNP антитела белковые фрагменты накапливаются в клеточных лизатах с течением времени. ФИГ. 92B: в клеточных супернатантах не накапливаются фрагменты анти-DNP антитела с течением времени.

ФИГ. 93A-93C показывают, что DNP-GN3 и DNP-OH3 не токсичны для мышей при всех тестируемых концентрациях. ФИГ. 93A: масса тела мышей после введения DNP-GN3 или DNP-OH3. Статистические различия анализировали при помощи T-критерия Стьюдента. ФИГ. 93B: уровни аспартат-трансаминазы (AST) у экспериментальных мышей. Пунктирные линии показывают нормальный диапазон. ФИГ. 93C: уровни аланин-трансаминазы (ALT) у экспериментальных мышей. Пунктирные линии показывают нормальный диапазон.

ФИГ. 94 показывает, что сывороточные уровни анти-DNP антитела снижаются быстрее после повторного введения DNP-GN3. Сывороточные уровни антитела измеряли с использованием анализа ELISA. Каждая экспериментальная группа включала три мыши. Статистические различия в экспериментах, включающих in vivo истощение анти-DNP антитела, оценивали путем повторных измерений с использованием двустороннего ANOVA с критерием Тьюки для апостериорного сравнения простых эффектов между каждой из групп введения и группой с PBS.

ФИГ. 95 показывает, что значительные снижения сывороточных уровней анти-DNP антитела наблюдаются после введения DNP-GN3, но не DNP-OH3. Каждая экспериментальная группа включала по меньшей мере пять мышей.

ФИГ. 96 показывает, что одна доза DNP-GN3 приводит к снижению сывороточных уровней анти-DNP антитела. Каждая экспериментальная группа включала по меньшей мере восемь мышей. Статистические различия оценивали путем повторных измерений с использованием двустороннего ANOVA с критерием Тьюки для апостериорного сравнения простых эффектов между каждой из групп введения и группой с PBS.

ФИГ. 97 показывает, что введение DNP-GN3 ускоряет истощение поликлонального анти-DNP антитела в сыворотке. Получавшая PBS группа включала две мыши, при этом группа введения DNP-GN3 включала три мыши.

ФИГ. 98 показывает, что связь анти-DNP антитела с клетками HepG2 зависит от концентрации DNP-AF3. Планки погрешностей представляют SD для трех биологических реплик.

ФИГ. 99 показывает, что опосредуемая DNP-AF3 связь антитела с клетками HepG2 ингибируется возрастающими концентрациями связывающего анти-DNP антитело контрольного DNP-OH3. Планки погрешностей представляют стандартное отклонение для трех биологических реплик.

ФИГ. 100 показывает, что что опосредуемая DNP-AF3 связь анти-DNP антитела с клетками HepG2 ингибируется возрастающими концентрациями связывающего ASGPR контрольного мономерного сахара AF. Планки погрешностей представляют стандартное отклонение для трех биологических реплик.

ФИГ. 101 показывает, что что опосредуемая DNP-AF3 связь анти-DNP антитела с клетками HepG2 ингибируется возрастающими концентрациями связывающего ASGPR белка ASOR, но не ORM. Планки погрешностей представляют стандартное отклонение для трех биологических реплик.

ФИГ. 102 показывает, что что опосредуемая DNP-AF3 связь анти-DNP антитела с клетками HepG2 не ингибируется возрастающими концентрациями связывающего ASGPR белка ASF или белка фетуина. Точки данных представляют один эксперимент методом проточной цитометрии при каждой концентрации. Данные представлены в виде средней интенсивности флуоресценции клеточной популяции, поскольку внутренние контроли для 100% и 0% образования тройного комплекса не были включены в данный анализ.

ФИГ. 103A-103C показывают, что опосредуемый DNP-AF3 эндоцитоз анти-DNP антитела зависит от концентрации как анти-DNP антитела, так и DNP-AF3. Каждая точка данных представляет отдельный биологический эксперимент. ФИГ. 103A: опосредуемый DNP-AF3 эндоцитоз анти-DNP антитела через шесть часов. ФИГ. 103B: опосредуемый DNP-AF3 эндоцитоз анти-DNP антитела через двенадцать часов. ФИГ. 103C: опосредуемый DNP-AF3 эндоцитоз анти-DNP антитела через 24 часа.

ФИГ. 104 показывает, что внутриклеточная флуоресценция, возникающая вследствие опосредуемого DNP-AF3 эндоцитоза анти-DNP антитела, увеличивается с течением времени. Анти-DNP антитело присутствовало в концентрации 100 нМ. Каждая точка данных представляет отдельный биологический эксперимент.

ФИГ. 105 показывает, что опосредуемый DNP-AF3 эндоцитоз антитела клетками HepG2 ингибируется конкурирующими связывающими фрагментами как ASGPR, так и анти-DNP антитела. Антитело присутствовало в концентрации 100 нМ, и DNP-AF3 присутствовал в концентрации 40 нМ. Планки погрешностей представляют стандартное отклонение для трех биологических реплик. Статистическую значимость анализировали с использованием одностороннего ANOVA, проводя множественные сравнения с контролем без добавок. P-значения были следующими: ASOR p=0,0040 (**); ORM p=0,8879 (н/з); ASF p=0,0032 (**); фетуин p=0,7709 (н/з); DNP-OH3 p=0,0073 (**); GalNAc p=0,0054 (**); AF p=0,0069 (**).

ФИГ. 106 показывает, что опосредуемый DNP-AF3 эндоцитоз антитела клетками HepG2 ингибируется ингибиторами клатрин-опосредуемого эндоцитоза и ингибиторами общего эндоцитоза. Антитело присутствовало в концентрации 100 нМ, и DNP-AF3 присутствовал в концентрации 40 нМ. Каждая точка данных представляет отдельный биологический эксперимент. Черные столбики представляют контрольные условия, красные соответствуют метаболическим ядам, зеленые представляют ингибиторы фагоцитоза и макропиноцитоза, синие представляют ингибиторы кавеолин-зависимого эндоцитоза, и серые представляют ингибиторы клатрин-зависимого эндоцитоза. Статистическую значимость анализировали с использованием одностороннего ANOVA, проводя множественные сравнения с контролем без добавок. P-значения были следующими: NaN_3/DOG p=0,0001 (****); CytD p=0,0710 (н/з); EIPA p=0,9994 (н/з); амилорид p=0,4812 (н/з); нистатин p=0,9997 (н/з); индометацин p=0,6682 (н/з); генистеин p=0,8406 (н/з); NH4Cl p=0,0001 (****); монензин p=0,0001 (****); примаквин p=0,0001 (****); хлорохин p=0,0001 (****); бафиломицин p=0,0001 (****).

ФИГ.107 показывает, что эндоцитированное анти-DNP антитело накапливается в

точках внутри клеток HepG2 с течением времени. Антитело присутствовало в концентрации 100 нМ, и DNP-AF3 присутствовал в концентрации 40 нМ. Количество и темный цвет точек увеличиваются с течением времени.

ФИГ. 108 показывает, что как DNP-AF3, так и анти-DNP антитело, необходимы для наблюдения флуорофор-содержащих точек в клетках HepG2. В отсутствие либо DNP-AF3, либо анти-DNP антитела, точки не наблюдаются.

ФИГ. 109 показывает, что флуоресцентный сигнал, обусловленный эндоцитированным анти-DNP антителом, не локализируется совместно с белком ранних эндосом EEA1.

ФИГ. 110 показывает, что флуоресцентный сигнал, обусловленный эндоцитированным анти-DNP антителом, локализируется совместно с белком поздних эндосом и лизосом LAMP2.

ФИГ. 111 иллюстрирует прямую флуоресцентную визуализацию белковых фрагментов анти-DNP антитела в образцах, собранных из супернатантов клеточных культур. Анти-DNP антитело присутствовало в концентрации 100 нМ, и DNP-AF3 присутствовал в концентрации 40 нМ.

ФИГ. 112 иллюстрирует прямую флуоресцентную визуализацию анти-DNP антитела в образцах, собранных из лизатов клеточных культур. Низкое накопление анти-DNP антитела в клеточных лизатах наблюдали в образцах, не обработанных DNP-AF3. Напротив, обработанные DNP-AF3 клетки демонстрировали зависимое от времени увеличение обусловленного анти-DNP антителом сигнала Alexa 488.

ФИГ. 113 иллюстрирует логометрическую визуализацию интенсивности флуоресценции, обусловленной фрагментами анти-DNP антитела. Денситометрию проводили с использованием анализа изображений в фотошопе.

ФИГ. 114 показывает, что интенсивность флуоресценции, обусловленной белками с разной молекулярной массой, в клеточных лизатах изменяется с течением времени. Планки погрешностей представляют SD для трех биологических реплик.

ФИГ. 115 показывает логометрическое представление накопления низкомолекулярных модифицированных Alexa 488 белковых фрагментов в клеточных лизатах. Через 12 часов полоса на уровне 25 кДа становится ярче, чем полоса на уровне 50 кДа. Планки погрешностей представляют SD для трех биологических реплик.

ФИГ. 116 иллюстрирует эффект разных ингибиторов протеаз на деградацию эндоцитированного анти-DNP антитела. Более низкий коэффициент означает большую деградацию, в то время как более высокий коэффициент означает меньшую деградацию. Точки данных представляют отдельную биологическую реплику.

ФИГ. 117 иллюстрирует эффект ингибиторов протеаз на деградацию эндоцитированного анти-DNP антитела в клетках HepG2. Более низкий коэффициент означает большую деградацию. Планки погрешностей представляют SD для трех биологических реплик.

ФИГ. 118 иллюстрирует эффект выбранных ингибиторов протеаз на деградацию

эндоцитированного анти-DNP антитела в клетках HepG2. Более низкий коэффициент означает большую деградацию. Планки погрешностей представляют SD для трех биологических реплик. Статистическую значимость анализировали с использованием одностороннего ANOVA, проводя множественные сравнения с контролем без ингибитора протеаз. P-значения были следующими: лейпептин p=0,0504 (н/з); E64 p=0,0461 (*); пепстатин p=0,9419 (н/з); антипаин p=0,0252 (*); ALLN 100 p=0,0418 (*); ALLN 10 p=0,0267 (*).

ФИГ. 119A-119B иллюстрируют синтез бифункциональной молекулы MIF-GN3.

ФИГ. 120 иллюстрирует синтез ингибитора MIF 3w.

ФИГ. 121 иллюстрирует синтез MIF-связывающей бифункциональной молекулы MIF-PEG2-GN3.

ФИГ. 122 иллюстрирует синтез MIF-связывающей бифункциональной молекулы MIF-PEG4-GN3.

ФИГ. 123 иллюстрирует синтез MIF-связывающей бифункциональной молекулы MIF-NVS-PEG3.

ФИГ. 124 иллюстрирует синтез MIF-связывающей бифункциональной молекулы MIF-AF1.

ФИГ. 125 иллюстрирует синтез MIF-связывающей бифункциональной молекулы MIF-AF2.

ФИГ. 126 иллюстрирует синтез MIF-связывающей бифункциональной молекулы MIF-AF3.

ФИГ. 127 представляет структуры малых молекул, проанализированных на ингибирование ферментативной активности мышиного MIF.

ФИГ. 128A-128B иллюстрируют исследования по истощению MIF в супернатанте клеточной культуры. ФИГ. 128A: бифункциональные MIF-связывающие молекулы опосредуют истощение huMIF в супернатанте клеточной культуры. ФИГ. 128B: ингибитор MIF 3w не опосредует истощение MIF в супернатанте клеточной культуры.

ФИГ. 129 показывает, что бифункциональные MIF-связывающие молекулы с оптимизированными ASGPR-связывающими мотивами истощает MIF в супернатанте клеточной культуры. Планки погрешностей представляют стандартное отклонение для девяти биологических реплик. Белок MIF человека присутствовал в концентрации 100 нМ.

ФИГ. 130 показывает, что MIF-GN3 опосредует эндоцитоз флуоресцентно меченого белка MIF человека. Каждая точка данных представляет среднее из трех биологических реплик. Планки погрешностей представляют стандартное отклонение.

ФИГ. 131 показывает, что MIF-GN3 опосредует поглощение флуоресцентно меченого белка MIF в широком диапазоне концентраций целевого белка. Каждое значение представляет одну биологическую реплику.

ФИГ. 132 показывает, что опосредуемый MIF-GN3 эндоцитоз MIF клетками HepG2 ингибируется ингибиторами клатрин-опосредуемого эндоцитоза. Антитело присутствовало в концентрации 100 нМ, и MIF-GN3 присутствовал в концентрации 200

нМ. Каждая точка данных представляет отдельный биологический эксперимент. Черные столбики представляют контрольные условия, красные соответствуют метаболическим ядам, зеленые представляют ингибиторы фагоцитоза и макропиноцитоза, синие представляют ингибиторы кавеолин-зависимого эндоцитоза, и серые представляют ингибиторы клатрин-зависимого эндоцитоза. Значения представляют среднее для трех биологических реплик. Планки погрешностей представляют стандартное отклонение. Статистические различия определяли при помощи критерия Краскела-Уоллиса с апостериорными сравнениями между каждой группой ингибиторов и не ингибиторов (*P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001, ****P<0,0001, «н/з» P>0,9999).

ФИГ. 133 показывает, что клетки, обработанные MIF-GN3 и экзогенным MIF, накапливают точечно MIF в клетках. Сигнал MIF демонстрирует сильную совместную локализацию с LAMP2, но не с EEA1. MIF присутствовал в концентрации 100 нМ, и MIF-GN3 присутствовал в концентрации 200 нМ.

ФИГ. 134 показывает, что клетки, обработанные MIF-GN3, демонстрируют более быстрое выведение MIF человека из системы циркуляции у мышей через четыре часа после введения. Каждая точка данные представляет среднее значение и SD для трех мышей в каждой группе. Анализ с применением Т-критерия Стьюдента данных для временной точки четыре часа не показал существенной разницы (p=0,1525).

ФИГ. 135 показывает, что клетки, обработанные MIF-GN3, демонстрируют более быстрое выведение MIF человека из системы циркуляции у мышей. Каждая точка данных представляет среднее для двух (MIF в/б, группа PBS) или трех образцов сыворотки (все остальные группы).

ФИГ. 136 показывает, что у мышей, которым вводили MIF-GN3, наблюдалось быстрое выведение MIF человека из системы циркуляции в ранних временных точках. Каждая точка данных представляет среднее значение для концентрации MIF в сыворотке, собранной от четырех или пяти мышей. Статистически достоверные различия оценивали путем повторных измерений с использованием двустороннего ANOVA с критерием Тьюки для апостериорного сравнения простых эффектов между каждой из групп введения и группой с PBS.

ФИГ. 137 показывает, что у мышей, которым вводили MIF-GN3, не возрастали сывороточные уровни мышиного MIF. Каждая точка данных представляет среднее значение для 10 образцов сыворотки, и планки погрешностей представляют SD. Животные получали одну дозу MIF-GN3 непосредственно после временной точки ноль часов.

ФИГ. 138 показывает, что введение MIF-GN3 и анти-MIF антитела замедляет рост клеток PC3 рака предстательной железы человека у мышей. Каждая группа состояла из пяти мышей (за исключением группы с DNP-GN3, в которой было четыре мыши).

ФИГ. 139 показывает, что введение MIF-GN3 и анти-MIF антитела приводит к снижению уровней циркулирующего белка MIF человека у мышей, которым вводили клетки PC3 рака предстательной железы человека. Каждая группа состояла из пяти мышей

(за исключением группы с DNP-GN3, в которой было четыре мыши).

ФИГ. 140 показывает, что введение MIF-GN3 и анти-MIF антитела увеличивает выживаемость мышей, которым вводили инъекцией клетки PC3 рака предстательной железы человека. Каждая группа состояла из пяти мышей (за исключением группы с DNP-GN3, в которой было четыре мыши).

ФИГ. 141 иллюстрирует синтез бифункциональной молекулы FcIII-BCN-GN3.

ФИГ. 142 показывает, что FcIII-GN3 опосредует эндоцитоз IgG человека в широком диапазоне концентраций. Флуоресценцию популяции клеток, обработанных IgG человека, но не соединением, вычитали из показателей для этих образцов с целью учета клеточной аутофлуоресценции и не опосредованного малыми молекулами эндоцитоза. Каждая точка данных представляет среднее из трех биологических реплик. Планки погрешностей представляют стандартное отклонение.

ФИГ. 143 показывает, что FcIII-BCN-GN3 опосредует эндоцитоз IgG с течением времени и в диапазоне концентраций. Каждая точка данных представляет одну биологическую реплику.

ФИГ. 144 показывает, что внутриклеточная флуоресценция, обусловленная IgG человека, возрастает в присутствии FcIII-GN3. IgG присутствовал в концентрации 100 нМ; FcIII-GN3 присутствовал в концентрации 200 нМ.

ФИГ. 145 показывает, что FcIII-GN3 опосредует лизосомный трафик IgG человека. IgG присутствовал в концентрации 100 нМ; FcIII-GN3 присутствовал в концентрации 200 нМ. Синий канал представляет окрашивание ядер красителем Хехст.

ФИГ. 146A-146B представляют фрагменты бифункциональной молекулы, которая связывает TNF. ФИГ. 146A: TNF-связывающий фрагмент. ФИГ. 146B: синтез фрагмента - $[CON]_h$-[линкер]$_i$-$[CON]_{h'}$-$[CRBM]_{j'}$ молекулы формулы (II).

ФИГ. 147A-147B иллюстрируют характеристики TNF-связывающего фрагмента на ФИГ. 159A. ФИГ. 147A: масс-спектр TNF-связывающего фрагмента. ФИГ. 147B: очистка методом ВЭЖХ TNF-связывающего фрагмента.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В одном аспекте настоящее изобретение относится к бифункциональным соединениям, которые могут быть использованы для стимуляции и/или увеличения деградации внеклеточного белка (или «белка», который в неограничивающем примере может представлять собой циркулирующий белок и/или белок клеточной поверхности, который может быть прикреплен или погружен в клеточную мембрану) у субъекта. В конкретных вариантах осуществления для лечения или контролирования заболевания и/или нарушения, предусмотренного по изобретению, необходима деградация, удаление и/или уменьшение концентрации внеклеточного белка у субъекта. Таким образом, в конкретных вариантах осуществления введение соединения по изобретению субъекту приводит к удалению внеклеточного белка и/или уменьшению концентрации циркулирующего внеклеточного белка, обеспечивая, таким образом, лечение, облегчение и/или предотвращение заболевания и/или нарушения у субъекта. В некоторых вариантах

осуществления внеклеточный белок включает TNF. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный белок представляет собой TNF.

В конкретных вариантах осуществления соединение по изобретению содержит группу, которая связывает внеклеточный белок. В других вариантах осуществления соединение по изобретению также содержит другую группу (такую как, но без ограничения, малая молекула), которая связывает клеточный рецептор, в результате чего связывание приводит к эндоцитозу соединения (и/или комплекса внеклеточный белок-соединение). Рецептор-связывающий фрагмент и внеклеточный белок-связывающий фрагмент могут быть связаны линкером, таким как полиэтиленгликоль (PEG), любым другим линкером, описанным в настоящем документе, с регулируемой длиной, или другим линкером, описанным в настоящем документе, содержащим одну или более соединительных молекул, которые называют в настоящем документе «CON». После эндоцитоза комплекса внеклеточный белок-соединение внеклеточный белок в конечном итоге деградирует, и соединение может быть деградировано или выведено из клетки для рециклинга. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный белок представляет собой TNF, и соединение по изобретению представляет собой TNF-связывающий фрагмент.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к бифункциональным соединениям, которые могут быть использованы для стимуляции и/или увеличения деградации определенных интересующих аутоантител. В конкретных вариантах осуществления аутоантитело опосредует заболевание и/или нарушение у субъекта, и для лечения или контролирования заболевания и/или нарушения требуется деградация, удаление или уменьшение концентрации аутоантитела у субъекта. Таким образом, в конкретных вариантах осуществления введение соединения по изобретению субъекту приводит к удалению аутоантитела и/или уменьшению концентрации циркулирующего аутоантитела, таким образом, обеспечивая лечение, облегчение или предотвращение заболевания и/или нарушения у субъекта.

В конкретных вариантах осуществления соединение по изобретению содержит другую группу (такую как, но без ограничения, малая молекула), которая связывает клеточный рецептор, в результате чего связывание приводит к эндоцитозу соединения (и/или комплекса внеклеточный белок-соединение). Кроме того, в конкретных вариантах осуществления соединение по изобретению содержит аутоантитело-направленный фрагмент (AATM), такой как, но без ограничения, лиганд аутоантитела, такой как, но без ограничения, малая молекула, пептид и/или аптамер нуклеиновой кислоты, который может связывать интересующее аутоантитело. Рецептор-связывающий фрагмент и AATM могут быть связаны линкером, таким как полиэтиленгликоль (PEG), любым другим линкером, описанным в настоящем документе, с регулируемой длиной, или другим линкером, описанным в настоящем документе, содержащим одну или более соединительных молекул, которые называют в настоящем документе «CON». После эндоцитоза комплекса аутоантитело-соединение аутоантитело в конечном итоге

деградирует, и соединение может быть деградировано или выведено из клетки для рециклинга.

Без связи с конкретной теорией, бифункциональные соединения по изобретению, которые могут быть использованы для стимуляции и/или увеличения деградации конкретных интересующих аутоантител, имеют определенные преимущества перед существующими способами элиминации аутоантител из организма субъекта. AATM придает специфичность бифункциональным соединениям. С использованием AATM можно обеспечивать нацеливание на конкретные популяции аутоантител. Как показано в другом разделе настоящего документа, соединение по изобретению, при использовании анти-DNP IgG в качестве модельного аутоантитела, успешно индуцирует деградацию анти-DNP IgG, инъецированного мышам.

Настоящее изобретение относится к молекулярному подходу для достижения целей, аналогичных целям плазмафереза, при заболеваниях, вызываемых аутоантителами. В отличие от плазмафереза, настоящая технология может быть легко применена различными медицинскими работниками (не только теми, кто специализируется в области трансфузионной медицины). Поскольку настоящий подход основан на малых молекулах, полученных методами синтеза, настоящее изобретение позволяет обходить необходимость в дорогостоящем оборудовании, материалах и сложной производственной практике. В сравнении с плазмаферезом и IVIG настоящий подход является более экономичным, безопасным и доступным для пациентов.

Кроме того, настоящее изобретение позволяет применять пути введения, которые являются менее инвазивными и более безопасными в сравнении с экстракорпоральными процедурами, которые могут вызывать дополнительные осложнения. Описанные в настоящем документе соединения являются модульными и универсальными. Направляющие фрагменты на любом конце линкера (CRBM и AATM) могут быть модифицированы для связывания различных интересующих аутоантител с высокой специфичностью. Кроме того, определенная композиция настоящих соединений позволяет применять более простые и стабильные методы производства - что снижает изменчивость от партии к партии. Тот факт, что AATM предсказуемо связывает аутоантитело, позволяет прогнозировать результаты лечения, взаимодействия между лекарственными средствами и возможные побочные эффекты.

В конкретных вариантах осуществления рецептор представляет собой асиалогликопротеиновый рецептор (ASGPR) гепатоцитов. В данном случае связывающий фрагмент в настоящем документе называют ASGPR-связывающим фрагментом, или ASGPRBM. Изобретение не ограничено рецептором, а предусматривает использование и другого рецептора, описанного в настоящем документе, или любого другого эндоцитируемого рецептора, известного в данной области.

Кроме того, изобретение не ограничено деградацией, происходящей в гепатоцитах. Скорее, по изобретению предусмотрено, что не печеночные клетки в организме имеют определенные связанные с деградацией рецепторы, и эти рецепторы должны входить в

объем настоящего изобретения.

В одном аспекте соединения по изобретению связывают внеклеточный белок и/или аутоантитело и приводят к их удалению из системы циркуляции в организме (и из организма) через печень. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный белок представляет собой внеклеточный TNF. Таким образом, соединения по изобретению используют собственные механизмы организма для деградации белков и/или аутоантител. Без связи с конкретной теорией, соединения по изобретению связывают определенные рецепторы, расположенные на определенных клетках, таких как, но без ограничения, гепатоциты, например, но без ограничения, ASGPR. Такое связывание запускает деградацию белковых мишеней посредством эндолизосомного протеолиза. За счет данного механизма происходит снижение уровней циркулирующего целевого внеклеточного белка и/или внеклеточного аутоантитела. В некоторых вариантах осуществления целевой внеклеточный белок представляет собой TNF. В результате, симптомы соответствующего заболевания ослабевают и/или устраняются у субъекта, которому вводят настоящие соединения.

ASPGR имеет функцию выведения десиалированных гликопротеинов с экспонированными невосстанавливаемой D-галактозой (Gal) или N-ацетилгалактозамином (GalNac) в качестве концевых групп. ASGPR экспрессируется на уровне примерно 500000 на гепатоцит и имеет минимальное присутствие в других частях тела. Интернализация целевых гликопротеинов за счет ASGPR имеет половинное время протекания процесса, составляющее примерно 3 мин. Заявленные в настоящем документе бифункциональные соединения избирательно связывают внеклеточный белок за счет внеклеточный белок-связывающего фрагмента соединения, образуя, таким образом, белковый комплекс. Когда этот белковый комплекс достигает печени, асиалогликопротеиновый рецептор-связывающий фрагмент (ASGPRBM) молекулы запускает конечный лизосомный путь в гепатоцитах через ASGPR. Связанный с эндосомой ASPGR высвобождает внеклеточный белковый лиганд при pH 5,4, и происходит элиминация лиганда из системы циркуляции при помощи гепатоцитов. Однако ASPGR остается доступным для рециклинга; он избегает лизосомной деградации и отпочковывается в возвращаемые в оборот эндосомы. Действительно, он может быть повторно использован до примерно 200 раз со скоростью рециркуляции примерно 15-20 минут, в зависимости от линии клеток. ASPGR не имеет конкретных ограничений в отношении размера лиганда, чаще всего диаметр достигает примерно 70 нм. Для сравнения, пентамер IgM имеет примерно 20 нм в диаметре и, таким образом, соответствует требованиям ASPGR для размера лиганда.

Содержание международных патентных заявок №PCT/US2019/026260, поданной 8 апреля 2019 г. (и опубликованной как WO 2019/199634 17 октября 2019 г.) и № PCT/US2019/026239, поданной 8 апреля 2019 г. (и опубликованной как WO 2019/199621 17 октября 2019 г.), включены в настоящий документ в полном объеме посредством ссылки.

В соответствии с настоящим изобретением могут быть использованы общепринятые методы химического синтеза и фармацевтического составления препаратов, а также методы фармакологии, молекулярной биологии, микробиологии и рекомбинантных ДНК, находящиеся в пределах компетенции специалиста в данной области. Такие методы хорошо известны и, кроме того, подробно описаны в литературе.

Далее будут описаны более подробно конкретные варианты осуществления изобретения, примеры которого частично проиллюстрированы в сопроводительных чертежах. Хотя раскрытое изобретение будет описано в сочетании с перечисленными пунктами формулы изобретения, следует пронимать, что иллюстративные варианты осуществления изобретения не должны ограничивать объем формулы изобретения раскрытыми объектами изобретения.

Во всем данном документе значения, выраженные в формате диапазона, должны толковаться гибко, чтобы включать не только числовые значения, явно указанные в качестве границ диапазона, но также включать все отдельные числовые значения или поддиапазоны, включенные в этот диапазон, как если бы каждое числовое значение и поддиапазон были явно указаны. Например, диапазон «от примерно 0,1% до примерно 5%» или «от примерно 0,1% до 5%» следует интерпретировать как включающий не только от примерно 0,1% до примерно 5%, но также и отдельные значения (например, 1%, 2%, 3% и 4%) и поддиапазоны (например, 0,1% - 0,5%, 1,1% - 2,2%, 3,3% - 4,4%) в указанном диапазоне. Выражение «от примерно X до Y» имеет такое же значение, как «от примерно X до примерно Y», если нет иных указаний. Аналогично, выражение «примерно X, Y или примерно Z» имеет такое же значение, как «примерно X, примерно Y или примерно Z», если нет иных указаний.

В способах, описанных в настоящем документе, действия можно выполнять в любом порядке, за исключением случаев, когда явно указана временная или операционная последовательность. Кроме того, указанные действия можно выполнять одновременно, если специально не указано, что их следует выполнять раздельно. Например, заявленное действие по выполнению X и заявленное действие по выполнению Y можно осуществлять одновременно в рамках одной операции, и полученный в результате способ будет попадать в буквальный объем заявленного способа.

Определения

Используемый в настоящем документе термин «примерно» может допускать определенную степень вариабельности значения или диапазона, например, в пределах 10%, в пределах 5% или в пределах 1% от заявленного значения или от заявленного предела диапазона, и включает точное заявленное значение или диапазон.

В данном документе термины в единственном числе используют для обозначения одного или более из них, если из контекста явно не следует иное. Термин «или» используют для обозначения неисключительного «или», если нет иных указаний. Выражение «по меньшей мере один из A и B» или «по меньшей мере один из A или B» имеет такое же значение, как «A, B или A и B». Кроме того, следует понимать, что

фразеология или терминология, используемая в настоящем документе, если не определено иное, служит исключительно для целей описания и не является ограничением. Любое использование заголовков разделов предназначено для облегчения чтения документа и не должно толковаться как ограничивающее; информация, относящаяся к заголовку раздела, может встречаться внутри или вне этого конкретного раздела. Все публикации, патенты и патентные документы, упомянутые в настоящем документе, включены в настоящий документ в полном объеме, как если бы они были отдельно включены посредством ссылки.

Термин «аномальные» при использовании в контексте организмов, тканей, клеток или их компонентов, относится к таким организмам, тканям, клеткам или их компонентам, которые отличаются по меньшей мере одной наблюдаемой или обнаруживаемой характеристикой (например, возрастом, воздействием, временем суток и так далее) от тех организмов, тканей, клеток или их компонентов, которые проявляют «нормальную» (ожидаемую) соответствующую характеристику. Характеристики, которые являются нормальными или ожидаемыми для одной клетки или типа ткани, могут быть аномальными для другой клетки или типа ткани.

Используемый в настоящем документе термин «ацил» означает группу, содержащую карбонильный фрагмент, где группа связана через карбонильный атом углерода. Карбонильный атом углерода связан с водородом, образуя «формильную» группу, или связан с другим атомом углерода, который может быть частью алкила, арила, аралкила, циклоалкила, циклоалкилалкила, гетероциклила, гетероциклилалкила, гетероарила, гетероарилалкила или тому подобного. Ацильная группа может содержать от 0 до примерно 12, от 0 до примерно 20 или от 0 до примерно 40 дополнительных атомов углерода, связанных с карбонильной группой. Ацильная группа может включать двойные или тройные связи в значении, указанном в настоящем документе. Акрилоильная группа представляет собой пример ацильной группы. Ацильная группа может также содержать гетероатомы в значении, указанном в настоящем документе. Никотиноильная группа (пиридил-3-карбонил) представляет собой пример ацильной группы в значении, указанном в настоящем документе. Другие примеры включают ацетильную, бензоильную, фенилацетильную, пиридилацетильную, циннамоильную и акрилоильную группы, и тому подобное. Когда группа, содержащая атом углерода, который связан с карбонильным атомом углерода, содержит галоген, группу называют «галоацильной» группой. Примером является трифторацетильная группа.

Используемый в настоящем документе термин «алкил» означает неразветвленные и разветвленные алкильные группы, а также циклоалкильные группы, имеющие от 1 до 40 атомов углерода, от 1 до примерно 20 атомов углерода, от 1 до 12 атомов углерода или, в некоторых вариантах осуществления, от 1 до 8 атомов углерода. Примеры неразветвленных алкильных групп включают группы, содержащие от 1 до 8 атомов углерода, такие как метильная, этильная, н-пропильная, н-бутильная, н-пентильная, н-гексильная, н-гептильная и н-октильная группы. Примеры разветвленных алкильных

групп включают, но без ограничения, изопропильную, изобутильную, втор-бутильную, трет-бутильную, неопентильную, изопентильную и 2,2-диметилпропильную группы. Используемый в настоящем документе термин «алкил» охватывает н-алкильную, изоалкильную и антеизоалкильную группы, а также и другие формы алкила с разветвленной цепью. Репрезентативные замещенные алкильные группы могут быть замещены один или более раз любой из групп, перечисленных в настоящем документе, например, амино, гидроксильной, циано, карбоксильной, нитро, тио, алкокси и галогеногруппой.

Используемый в настоящем документе термин «алкенил» означает имеющие неразветвленную и разветвленную цепь, а также циклические, алкильные группы в значении, указанном в настоящем документе, за исключением того, что по меньшей мере одна двойная связь существует между двумя атомами углерода. Таким образом, алкенильные группы имеют от 2 до 40 атомов углерода или от 2 до примерно 20 атомов углерода, или от 2 до 12 атомов углерода, или, в некоторых вариантах осуществления, от 2 до 8 атомов углерода. Примеры включают, но без ограничения, винил, $-CH=C=CCH_2$, $-CH=CH(CH_3)$, $-CH=C(CH_3)_2$, $-C(CH_3)=CH_2$, $-C(CH_3)=CH(CH_3)$, $-C(CH_2CH_3)=CH_2$, циклогексенил, циклопентенил, циклогексадиенил, бутадиенил, пентадиенил и гексадиенил в числе прочих.

Используемый в настоящем документе термин «алкокси» означает атом кислорода, связанный с алкильной группой, включая циклоалкильную группу, в значении, указанном в настоящем документе. Примеры линейных алкоксигрупп включают, но не ограничиваются ими, метокси, этокси, пропокси, бутокси, пентилокси, гексилокси и тому подобное. Примеры разветвленных алкокси включают, но не ограничиваются ими, изопропокси, втор-бутокси, трет-бутокси, изопентилокси, изогексилокси и тому подобное. Примеры циклических алкокси включают, но не ограничиваются ими, циклопропилокси, циклобутилокси, циклопентилокси, циклогексилокси и тому подобное. Алкоксигруппа может содержать от примерно 1 до примерно 12, от примерно 1 до примерно 20 или от примерно 1 до примерно 40 атомов углерода, связанных с атомом кислорода, и может также включать двойные или тройные связи, и может также содержать гетероатомы. Например, аллилоксигруппа или метоксиэтоксигруппа также представляет собой алкоксигруппу в значении, указанном в настоящем документе, как и метилендиоксигруппа, в контексте, где два соседних атома структуры замещены.

Используемый в настоящем документе термин «алкинил» означает алкильные группы с неразветвленной и разветвленной цепью, за исключением того, что по меньшей мере одна тройная связь существует между двумя атомами углерода. Таким образом, алкинильные группы имеют от 2 до 40 атомов углерода, от 2 до примерно 20 атомов углерода или от 2 до 12 атомов углерода, или, в некоторых вариантах осуществления, от 2 до 8 атомов углерода. Примеры включают, но без ограничения, $-C\equiv CH$, $-C\equiv C(CH_3)$, $-C\equiv C(CH_2CH_3)$, $-CH_2C\equiv CH$, $-CH_2C\equiv C(CH_3)$ и $-CH_2C\equiv C(CH_2CH_3)$ в числе прочих.

Используемый в настоящем документе термин «амин» означает первичные,

вторичные и третичные амины, имеющие, например, формулу N(группа)$_3$, где каждая группа может независимо представлять собой H или не H, например, алкил, арил и тому подобное. Амины включают, но не ограничиваются ими, R-NH$_2$, например, алкиламины, ариламины, алкилариламины; R$_2$NH, где каждый R независимо выбран, например, диалкиламины, диариламины, аралкиламины, гетероциклиламины и тому подобное; и R$_3$N, где каждый R независимо выбран, например, триалкиламины, диалкилариламины, алкилдиариламины, триариламины и тому подобное. В настоящем документе термин «амин» также охватывает ионы аммония.

Термин «вариант аминокислотной последовательности» означает полипептиды, имеющие аминокислотные последовательности, которые в некоторой степени отличаются от полипептида с природной последовательностью. Обычно, варианты аминокислотной последовательности обладают по меньшей мере примерно 70% гомологией, по меньшей мере примерно 80% гомологией, по меньшей мере примерно 90% гомологией или по меньшей мере примерно 95% гомологией с природным полипептидом. Варианты аминокислотной последовательности имеют замены, делеции и/или вставки в некоторых положениях в аминокислотной последовательности природного полипептида.

Используемый в настоящем документе термин «аминогруппа» означает заместитель в форме -NH$_2$, -NHR, -NR$_2$, -NR$_3^+$, где каждый R независимо выбран, и протонированные формы каждого из них, за исключением -NR$_3^+$, который не может быть протонирован. Соответственно, любое соединение, замещенное аминогруппой, можно рассматривать как амин. «Аминогруппа» в значении, указанном в настоящем документе, может быть первичной, вторичной, третичной или четвертичной аминогруппой. «Алкиламино» группа включает моноалкиламино-, диалкиламино- и триалкиламиногруппу.

Используемый в настоящем документе термин «аминоалкил» означает амин, связанный с алкильной группой в значении, указанном в настоящем документе. Аминогруппа может появляться в любом подходящем положении в алкильной цепи, например, на конце алкильной цепи или в любом месте внутри алкильной цепи.

Используемый в настоящем документе термин «аралкил» означает алкильные группы в значении, указанном в настоящем документе, в которых водородная или углеродная связь алкильной группы заменена связью с арильной группой в значении, указанном в настоящем документе. Репрезентативные аралкильные группы включают бензильные и фенилэтильные группы, а также конденсированные (циклоалкиларил)алкильные группы, такие как 4-этилинданил. Аралкенильные группы представляют собой алкенильные группы в значении, указанном в настоящем документе, в которых водородная или углеродная связь алкильной группы заменена связью с арильной группой в значении, указанном в настоящем документе.

Используемый в настоящем документе термин «арил» означает циклические ароматические углеводородные группы, которые не содержат гетероатомы в кольце. Таким образом, арильные группы включают, но без ограничения, фенильную,

азуленильную, гепталенильную, бифенильную, индаценильную, флуоренильную, фенантренильную, трифениленильную, пиренильную, нафтаценильную, хризенильную, бифениленильную, антраценильную и нафтильную группы. В некоторых вариантах осуществления арильные группы содержат от примерно 6 до примерно 14 атомов углерода в кольцевых фрагментах групп. Арильные группы могут быть незамещенными или замещенными в значении, указанном в настоящем документе. Репрезентативные замещенные арильные группы могут быть монозамещенными или замещенными более одного раза, например, но без ограничения, фенильная группа, замещенная в любом одном или более из положений 2, 3, 4, 5 или 6 фенильного кольца, или нафтильная группа, замещенная в любом одном или более из ее положений 2-8.

Используемый в настоящем документе термин «антитело» означает молекулу иммуноглобулина, которая специфически связывает антиген. Антитела могут представлять собой интактные иммуноглобулины, полученные из природных источников или из рекомбинантных источников, и могут представлять собой иммунореактивные фрагменты интактных иммуноглобулинов. Антитела, как правило, представляют собой тетрамеры молекул иммуноглобулинов. Антитела по настоящему изобретению могут существовать в различных формах, включая, например, поликлональные антитела, моноклональные антитела, Fv, Fab и $F(ab)_2$, а также одноцепочечные антитела и гуманизированные антитела (Harlow et al., 1999, B: Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY; Harlow et al., 1989, B: Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, New York; Houston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; Bird et al., 1988, Science 242:423-426).

Термин «фрагмент антитела» означает часть интактного антитела и означает определяющие антигенную специфичность вариабельные области интактного антитела. Примеры фрагментов антител включают, но без ограничения, Fab, Fab', $F(ab')_2$ и Fv-фрагменты, линейные антитела, scFv антитела, однодоменные антитела, такие как sdAb (либо VL, либо VH), например, антитела верблюдовых (Riechmann, 1999, J. Immunol. Meth. 231:25-38), домены VHH верблюдовых, состоящие из либо VL, либо VH, домена, которые обладают достаточной аффинностью для нацеливания, а также мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител, например, двухвалентный фрагмент, содержащий два Fab-фрагмента, связанные дисульфидным мостом в шарнирной области, а также выделенную определяющую комплементарность область (CDR) или другие эпитоп-связывающие фрагменты антитела. Антигенсвязывающий фрагмент также может быть включен в однодоменные антитела, максителa, минителa, нанотела, интратела, диатела, триатела, тетратела, v-NAR и бис-scFv (смотри, например, Hollinger & Hudson, 2005, Nature Biotech. 23:1126-1136). Антигенсвязывающие фрагменты также могут быть привиты на полипептидные каркасы, такие как фибронектин III типа (Fn3) (патент США № 6703199, в котором описаны минителa на основе полипептида фибронектина). Фрагмент антитела также включает человеческое антитело или гуманизированное антитело, или фрагмент человеческого

антитела или гуманизированного антитела.

Используемый в настоящем документе термин «антиген», или «Аг», означает молекулу, которая вызывает иммунный ответ. Этот иммунный ответ может включать или продуцирование антител, или активацию специфических иммунологически компетентных клеток, либо и то, и другое. Квалифицированный специалист понимает, что любая макромолекула, включая практически все белки или пептиды, может служить в качестве антигена. Более того, антигены могут быть получены из рекомбинантной или геномной ДНК. Квалифицированный специалист понимает, что любая ДНК, которая содержит нуклеотидную последовательность или частичную нуклеотидную последовательность, кодирующую белок, вызывающий иммунный ответ, таким образом, кодирует «антиген», определение которого дано в настоящем документе. Кроме того, специалист в данной области понимает, что антиген не обязательно должен быть закодирован исключительно полноразмерной нуклеотидной последовательностью гена. Очевидно, что настоящее изобретение включает, но без ограничения, применение частичных нуклеотидных последовательностей более чем одного гена, и что эти нуклеотидные последовательности сгруппированы в разных сочетаниях для индукции желаемого иммунного ответа. Кроме того, квалифицированный специалист понимает, что антиген совсем не обязательно должен быть закодирован «геном». Очевидно, что антиген может быть получен путем синтеза или может быть получен из биологического образца. Такой биологический образец может включать, но не ограничивается ими, образец ткани, образец опухоли, клетку или биологическую жидкость.

Используемый в настоящем документе термин «аптамер» означает малую молекулу, которая может специфически связываться с другой молекулой. Аптамеры, как правило, представляют собой полинуклеотидные или пептидные молекулы. Полинуклеотидный аптамер представляет собой молекулу ДНК или РНК, как правило, содержащую несколько цепей нуклеиновых кислот, которые принимают высокоспецифичные трехмерные конформации, спроектированные для обеспечения соответствующей аффинности связывания и специфичности в отношении конкретных целевых молекул, таких как пептиды, белки, лекарственные средства, витамины, в числе прочих органических и неорганических молекул. Такие полинуклеотидные аптамеры могут быть выбраны из огромной популяции случайных последовательностей с помощью систематической эволюции лигандов путем экспоненциального обогащения. Пептидный аптамер, как правило, представляет собой петлю из примерно 10-20 аминокислот, присоединенную к белковому каркасу, которая связывает конкретные лиганды. Пептидные аптамеры могут быть идентифицированы и выделены из комбинаторных библиотек с использованием, например, дрожжевой двухгибридной системы.

Используемый в настоящем документе термин «асиалогликопротеиновый рецептор-связывающий фрагмент», или «ASGPRBM», означает группу, которая способна связывать по меньшей мере один асиалогликопротеиновый рецептор гепатоцитов на поверхности клеток, таких как, но без ограничения, гепатоциты. После того, как

ASGPRBM и любой дополнительный фрагмент, с которым он связан, связывает рецептор на поверхности гепатоцита, молекула, включающая ASGPRBM, захватывается гепатоцитом по механизму фагоцитоза, где молекула по меньшей мере частично деградирует за счет лизосомной деградации.

Используемый в настоящем документе термин «C_{6-10}-C_{6-10} биарил» означает C_{6-10} арильный фрагмент, ковалентно связанный одинарной связью с другим C_{6-10} арильным фрагментом. C_{6-10} арильный фрагмент может представлять собой любую из подходящих арильных групп, описанных в настоящем документе. Неограничивающий пример C_{6-10}-C_{6-10} биарила включает бифенил и бинафтил.

Используемый в настоящем документе термин «кодирующая последовательность» означает последовательность нуклеиновой кислоты или ее комплемент, или ее часть, которая может быть транскрибирована и/или транслирована, с получением мРНК и/или полипептида или его фрагмента. Кодирующие последовательности включают экзоны в геномной ДНК или незрелые первичные РНК-транскрипты, которые соединяются биохимическим механизмом клетки для создания зрелой формы мРНК. Антисмысловая цепь представляет собой комплемент такой нуклеиновой кислоты, и кодирующая последовательность может быть выведена из нее. Напротив, используемый в настоящем документе термин «некодирующая последовательность» означает последовательность нуклеиновой кислоты или ее комплемент, или ее часть, которая не транслируется в аминокислотную последовательность in vivo, или где тРНК не взаимодействует для размещения или попытки размещения аминокислоты. Некодирующие последовательности включают последовательности интронов в геномной ДНК или незрелые первичные РНК-транскрипты и ассоциированные с генами последовательности, такие как промоторы, энхансеры, сайленсеры и тому подобное.

В настоящем документе термины «комплементарные» или «комплементарность» используют применительно к полинуклеотидам (то есть, последовательностям нуклеотидов), связанным по правилам спаривания оснований. Например, последовательность «A-G-T» является комплементарной последовательности «T-C-A». Комплементарность может быть «частичной», при которой лишь некоторые из оснований нуклеиновых кислот спариваются в соответствии с правилами спаривания оснований. Или между нуклеиновыми кислотами может иметь место «полная» или «абсолютная» комплементарность. Степень комплементарности между цепями нуклеиновой кислоты оказывает значительное влияние на эффективность и силу гибридизации между цепями нуклеиновой кислоты. Это особенно важно в реакциях амплификации, а также в методах обнаружения, которые зависят от связывания между нуклеиновыми кислотами.

Используемый в настоящем документе термин «композиция», или «фармацевтическая композиция», означает смесь по меньшей мере одного соединения, описанного в настоящем документе, с фармацевтически приемлемым носителем. Фармацевтическая композиция облегчает введение соединения пациенту или субъекту. Различные методы введения соединения существуют в данной области, включая, но без

ограничения, внутривенное, пероральное, аэрозольное, парентеральное, офтальмическое, легочное и местное введение.

Используемые в настоящем документе термины «консервативная вариация» или «консервативная замена» означают замену аминокислотного остатка другим, биологически аналогичным остатком. Консервативные вариации или замены вряд ли изменят форму пептидной цепи. Примеры консервативных вариаций, или замен, включают замену одного гидрофобного остатка, такого как изолейцин, валин, лейцин или метионин, на другой, или замену одного полярного остатка на другой, например, замену аргинина на лизин, глутаминовой на аспарагиновую кислоту или глутамина на аспарагин.

Используемый в настоящем документе термин «циклоалкил» означает циклические алкильные группы, такие как, но без ограничения, циклопропильная, циклобутильная, циклопентильная, циклогексильная, циклогептильная и циклооктильная группы. В некоторых вариантах осуществления циклоалкильная группа может иметь от 3 до примерно 8-12 членов кольца, в то время как в других вариантах осуществления число атомов углерода кольца находится в диапазоне от 3 до 4, 5, 6 или 7. Циклоалкильные группы также включают полициклические циклоалкильные группы, такие как, но без ограничения, норборнильная, адамантильная, борнильная, камфенильная, изокамфенильная и каренильная группы, а также конденсированные кольца, такие как, но без ограничения, декалинил и тому подобное. Циклоалкильные группы также включают кольца, замещенные алкильными группами с неразветвленной и разветвленной цепью в значении, указанном в настоящем документе. Репрезентативные замещенные циклоалкильные группы могут быть монозамещенными или замещенными более одного раза, например, но без ограничения, 2,2-, 2,3-, 2,4- 2,5- или 2,6-дизамещенные циклогексильные группы, или моно-, ди- или тризамещенные норборнильные или циклогептильные группы, которые могут быть замещены, например, амино, гидрокси, циано, карбокси, нитро, тио, алкокси и галогеногруппами. Термин «циклоалкенил», отдельно или в сочетании, обозначает циклическую алкенильную группу.

«Заболевание» представляет собой состояние здоровья животного, когда животное не может поддерживать гомеостаз, и при этом, если заболевание не ослабевает, то здоровье животного продолжает ухудшаться.

Напротив, «нарушение» у животного представляет собой состояние здоровья, при котором животное способно поддерживать гомеостаз, но при этом состояние здоровья животного менее благоприятное, чем было бы при отсутствии нарушения. В отсутствие лечения нарушение не обязательно приведет к дальнейшему ухудшению состояния здоровья животного.

Заболевание или нарушение «облегчается», если степень тяжести симптома заболевания или нарушения, частота, с которой симптом проявляется у пациента, либо и то, и другое, уменьшается.

Используемые в настоящем документе термины «эффективное количество», «фармацевтически эффективное количество» и «терапевтически эффективное

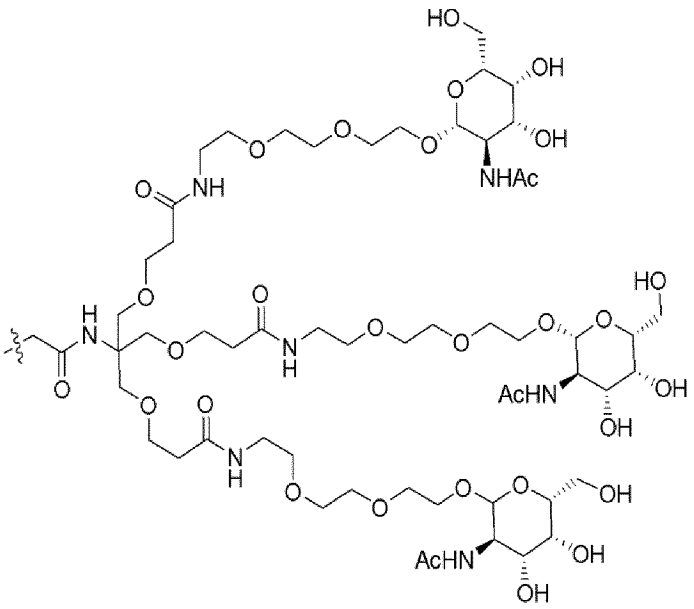
количество» означают количество средства, нетоксичное, но достаточное для обеспечения желаемого биологического результата. Таким результатом может быть уменьшение и/или ослабление признаков, симптомов или причин заболевания, или любое другое желаемое изменение биологической системы. Подходящее терапевтическое количество в каждом отдельном случае может быть определено специалистом в данной области с помощью обычного экспериментирования.

Используемый в настоящем документе термин «эффективность» означает максимальный эффект (E_{max}), достигаемый в ходе анализа.

Термин «кодирование» относится к свойству определенных последовательностей нуклеотидов в полинуклеотиде, таком как ген, кДНК или мРНК, служить матрицами для синтеза других полимеров и макромолекул в биологических процессах, которые имеют либо определенную последовательность нуклеотидов (то есть, рРНК, тРНК и мРНК), либо определенную последовательность аминокислот, и вытекающие из этого биологические свойства. Так, ген кодирует белок, если транскрипция и трансляция мРНК, соответствующей этому гену, приводит к образованию белка в клетке или другой биологической системе. Как кодирующая цепь, нуклеотидная последовательность которой идентична последовательности мРНК и обычно представлена в списках последовательностей, так и некодирующая цепь, используемая в качестве матрицы для транскрипции гена или кДНК, могут считаться кодирующими белок или другой продукт этого гена или кДНК.

Используемый в настоящем документе термин «фрагмент» применительно к нуклеиновой кислоте означает подпоследовательность большей по размеру нуклеиновой кислоты. «Фрагмент» нуклеиновой кислоты может иметь длину по меньшей мере примерно 15 нуклеотидов; например, по меньшей мере от примерно 50 нуклеотидов до примерно 100 нуклеотидов; по меньшей мере от примерно 100 до примерно 500 нуклеотидов, по меньшей мере от примерно 500 до примерно 1000 нуклеотидов, по меньшей мере от примерно 1000 нуклеотидов до примерно 1500 нуклеотидов, от примерно 1500 нуклеотидов до примерно 2500 нуклеотидов или примерно 2500 нуклеотидов (и любое целое значение между ними). Используемый в настоящем документе термин «фрагмент» применительно к белку или пептиду означает подпоследовательность большего по размеру белка или пептида. «Фрагмент» белка или пептида может иметь длину по меньшей мере примерно 20 аминокислот; например, длину по меньшей мере примерно 50 аминокислот; длину по меньшей мере примерно 100 аминокислот; длину по меньшей мере примерно 200 аминокислот; длину по меньшей мере примерно 300 аминокислот или длину по меньшей мере примерно 400 аминокислот (и любое целое значение между ними).

Используемый в настоящем документе термин «GN3» означает группу



Используемые в настоящем документе термины «гало», «галоген» или «галогеногруппа», сами по себе или в виде части другого заместителя, означают, если нет иных указаний, атом фтора, хлора, брома или йода.

Используемый в настоящем документе термин «галоалкильная» группа охватывает моногалоалкильные группы, полигалоалкильные группы, где все атомы галогена могут быть одинаковыми или разными, а также пергалоалкильные группы, где все атомы водорода заменены атомами галогена, такого как фтор. Примеры галоалкила включают трифторметил, 1,1-дихлорэтил, 1,2-дихлорэтил, 1,3-дибром-3,3-дифторпропил, перфторбутил и тому подобное.

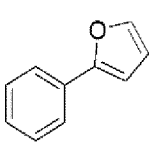
Используемый в настоящем документе термин «гетероарил» означает ароматические кольцевые соединения, содержащие 5 или более членов кольца, из которых один, или более, представляет собой гетероатом, такой как, но без ограничения, N, O и S; например, гетероарильные кольца могут иметь от 5 до примерно 8-12 членов кольца. Гетероарильная группа является разновидностью гетероциклильной группы, обладающей ароматической электронной структурой. Гетероарильная группа, называемая C_2-гетероарилом, может представлять собой 5-членное кольцо с двумя атомами углерода и тремя гетероатомами, 6-членное кольцо с двумя атомами углерода и четырьмя гетероатомами, и так далее. Аналогично, C_4-гетероарил может представлять собой 5-членное кольцо с одним гетероатомом, 6-членное кольцо с двумя гетероатомами, и так далее. Число атомов углерода плюс число гетероатомов в сумме равны общему числу атомов кольца. Гетероарильные группы включают, но без ограничения, такие группы, как пирролил, пиразолил, триазолил, тетразолил, оксазолил, изоксазолил, тиазолил, пиридинил, тиофенил, бензотиофенил, бензофуранил, индолил, азаиндолил, индазолил, бензимидазолил, азабензимидазолил, бензоксазолил, бензотиазолил, бензотиадиазолил, имидазопиридинил, изоксазолопиридинил, тианафталенил, пуринил, ксантинил, аденинил, гуанинил, хинолинил, изохинолинил, тетрагидрохинолинил, хиноксалинил и

хиназолинил. Гетероарильные группы могут быть незамещенными, или могут быть замещены группами, описанными в настоящем документе. Репрезентативные замещенные гетероарильные группы могут быть замещены один или более раз такими группами, как группы, перечисленные в настоящем документе.

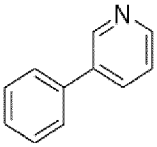
Дополнительные примеры арильных и гетероарильных групп включают, но не ограничиваются ими, фенил, бифенил, инденил, нафтил (1-нафтил, 2-нафтил), N-гидрокситетразолил, N-гидрокситриазолил, N-гидроксиимидазолил, антраценил (1-антраценил, 2-антраценил, 3-антраценил), тиофенил (2-тиенил, 3-тиенил), фурил (2-фурил, 3-фурил), индолил, оксадиазолил, изоксазолил, хиназолинил, флуоренил, ксантенил, изоинданил, бензгидрил, акридинил, тиазолил, пирролил (2-пирролил), пиразолил (3-пиразолил), имидазолил (1-имидазолил, 2-имидазолил, 4-имидазолил, 5-имидазолил), триазолил (1,2,3-триазол-1-ил, 1,2,3-триазол-2-ил, 1,2,3-триазол-4-ил, 1,2,4-триазол-3-ил), оксазолил (2-оксазолил, 4-оксазолил, 5-оксазолил), тиазолил (2-тиазолил, 4-тиазолил, 5-тиазолил), пиридил (2-пиридил, 3-пиридил, 4-пиридил), пиримидинил (2-пиримидинил, 4-пиримидинил, 5-пиримидинил, 6-пиримидинил), пиразинил, пиридазинил (3-пиридазинил, 4-пиридазинил, 5-пиридазинил), хинолил (2-хинолил, 3-хинолил, 4-хинолил, 5-хинолил, 6-хинолил, 7-хинолил, 8-хинолил), изохинолил (1-изохинолил, 3-изохинолил, 4-изохинолил, 5-изохинолил, 6-изохинолил, 7-изохинолил, 8-изохинолил), бензо[b]фуранил (2-бензо[b]фуранил, 3-бензо[b]фуранил, 4-бензо[b]фуранил, 5-бензо[b]фуранил, 6-бензо[b]фуранил, 7-бензо[b]фуранил), 2,3-дигидробензо[b]фуранил (2-(2,3-дигидробензо[b]фуранил), 3-(2,3-дигидробензо[b]фуранил), 4-(2,3-дигидробензо[b]фуранил), 5-(2,3-дигидробензо[b]фуранил), 6-(2,3-дигидробензо[b]фуранил), 7-(2,3-дигидробензо[b]фуранил), бензо[b]тиофенил (2-бензо[b]тиофенил, 3-бензо[b]тиофенил, 4-бензо[b]тиофенил, 5-бензо[b]тиофенил, 6-бензо[b]тиофенил, 7-бензо[b]тиофенил), 2,3-дигидробензо[b]тиофенил, (2-(2,3-дигидробензо[b]тиофенил), 3-(2,3-дигидробензо[b]тиофенил), 4-(2,3-дигидробензо[b]тиофенил), 5-(2,3-дигидробензо[b]тиофенил), 6-(2,3-дигидробензо[b]тиофенил), 7-(2,3-дигидробензо[b]тиофенил), индолил (1-индолил, 2-индолил, 3-индолил, 4-индолил, 5-индолил, 6-индолил, 7-индолил), индазол (1-индазолил, 3-индазолил, 4-индазолил, 5-индазолил, 6-индазолил, 7-индазолил), бензимидазолил (1-бензимидазолил, 2-бензимидазолил, 4-бензимидазолил, 5-бензимидазолил, 6-бензимидазолил, 7-бензимидазолил, 8-бензимидазолил), бензоксазолил (1-бензоксазолил, 2-бензоксазолил), бензотиазолил (1-бензотиазолил, 2-бензотиазолил, 4-бензотиазолил, 5-бензотиазолил, 6-бензотиазолил, 7-бензотиазолил), карбазолил (1-карбазолил, 2-карбазолил, 3-карбазолил, 4-карбазолил), 5H-дибенз[b, f]азепин(5H-дибенз[b, f]азепин-1-ил, 5H-дибенз[b, f]азепин-2-ил, 5H-дибенз[b, f]азепин-3-ил, 5H-дибенз[b, f]азепин-4-ил, 5H-дибенз[b, f]азепин-5-ил), 10,11-дигидро-5H-дибенз[b, f]азепин(10,11-дигидро-5H-дибенз[b, f]азепин-1-ил, 10,11-дигидро-5H-дибенз[b, f]азепин-2-ил, 10,11-дигидро-5H-дибенз[b, f]азепин-3-ил, 10,11-дигидро-5H-дибенз[b, f]азепин-4-ил, 10,11-дигидро-5H-дибенз[b, f]азепин-5-ил) и тому подобное.

Используемый в настоящем документе термин «гетероарилалкил» означает алкильные группы в значении, указанном в настоящем документе, в которых водородная или углеродная связь алкильной группы заменена связью с гетероарильной группой в значении, указанном в настоящем документе.

Используемый в настоящем документе термин «C_{6-10}-5-6-членный гетеробиарил» означает C_{6-10} арильный фрагмент, ковалентно связанный одинарной связью с 5- или 6-членным гетероарильным фрагментом. C_{6-10} арильный фрагмент и 5-6-членный гетероарильный фрагмент могут представлять собой любую из подходящих арильных и гетероарильных групп, описанных в настоящем документе. Неограничивающие примеры C_{6-10}-5-6-членного гетеробиарила включают:



и



.

Когда C_{6-10}-5-6-членный гетеробиарил указан в качестве заместителя (например, в качестве группы «R»), C_{6-10}-5-6-членный гетеробиарил связан с остальной частью молекулы через фрагмент C_{6-10}.

Используемый в настоящем документе термин «5-6-членный-C_{6-10} гетеробиарил» представляет собой то же самое, что и C_{6-10}-5-6-членный гетеробиарил, за исключением того, что, когда 5-6-членный-C_{6-10} гетеробиарил указан в качестве заместителя (например, в качестве группы «R»), 5-6-членный-C_{6-10} гетеробиарил связан с остальной частью молекулы через 5-6-членный гетероарильный фрагмент.

Используемый в настоящем документе термин «гетероциклил» означает ароматические и неароматические кольцевые соединения, содержащие три или более членов кольца, из которых один, или более, представляет собой гетероатом, такой как, но без ограничения, N, O и S. Таким образом, гетероциклил может представлять собой циклогетероалкил или гетероарил, или, в случае полициклического соединения, любое их сочетание. В некоторых вариантах осуществления гетероциклильные группы имеют от 3 до примерно 20 членов кольца, в то время как другие такие группы имеют от 3 до примерно 15 членов кольца. Гетероциклильная группа, называемая C_2-гетероциклил, может представлять собой 5-членное кольцо с двумя атомами углерода и тремя гетероатомами, 6-членное кольцо с двумя атомами углерода и четырьмя гетероатомами, и так далее. Аналогично, C_4-гетероциклил может представлять собой 5-членное кольцо с одним гетероатомом, 6-членное кольцо с двумя гетероатомами и так далее. Число атомов углерода плюс число гетероатомов в сумме равны общему числу атомов кольца. Гетероциклильное кольцо также может иметь одну или более двойных связей. Гетероарильное кольцо представляет собой вариант осуществления гетероциклильной группы. Термин «гетероциклильная группа» охватывает конденсированные кольцевые соединения, включая те, которые содержат конденсированные ароматические и неароматические группы. Например, как диоксоланильное кольцо, так и

бенздиоксоланильная кольцевая система (метилендиоксифенильная кольцевая система), являются гетероциклильными группами в значении, указанном в настоящем документе. Термин также охватывает полициклические кольцевые системы, содержащие гетероатом, такие как, но без ограничения, хинуклидил. Гетероциклильные группы могут быть незамещенными, или могут быть замещены, как описано в настоящем документе. Гетероциклильные группы включают, но без ограничения, пирролидинил, пиперидинил, пиперазинил, морфолинил, пирролил, пиразолил, триазолил, тетразолил, оксазолил, изоксазолил, тиазолил, пиридинил, тиофенил, бензотиофенил, бензофуранил, дигидробензофуранил, индолил, дигидроиндолил, азаиндолил, индазолил, бензимидазолил, азабензимидазолил, бензоксазолил, бензотиазолил, бензотиадиазолил, имидазопиридинил, изоксазолопиридинил, тианафталенил, пуринил, ксантинил, аденинил, гуанинил, хинолинил, изохинолинил, тетрагидрохинолинил, хиноксалинил и хиназолинил. Репрезентативные замещенные гетероциклильные группы могут быть монозамещенными или замещенными более одного раза, например, но без ограничения, пиперидинил или хинолинил, которые являются 2-, 3-, 4-, 5- или 6-замещенными, или дизамещенными группами, такими, как описанные в настоящем документе.

Используемый в настоящем документе термин «гетероциклилалкил» означает алкильные группы в значении, указанном в настоящем документе, в которых водородная или углеродная связь алкильной группы в значении, указанном в настоящем документе, заменена связью с гетероциклильной группой в значении, указанном в настоящем документе. Репрезентативные гетероциклилалкильные группы включают, но без ограничения, фуран-2-илметил, фуран-3-илметил, пиридин-3-илметил, тетрагидрофуран-2-илэтил и индол-2-илпропил.

Используемое в настоящем документе выражение «независимо выбранные из» относится к указанным группам, которые являются одинаковыми, разными, или их смесью, если из контекста явно не следует иное. Таким образом, в соответствии с данным определением, выражение «X^1, X^2 и X^3, независимо выбранные из инертных газов» будет включать вариант, в котором, например, все из X^1, X^2 и X^3 являются одинаковыми, где все из X^1, X^2 и X^3 являются разными, где X^1 и X^2 являются одинаковыми, но X^3 отличается, а также другие аналогичные комбинации.

Используемый в настоящем документе термин «иммуноглобулин», или «Ig», относится к классу белков, которые действуют в качестве антител. Антитела, экспрессируемые B-клетками, иногда называют BCR (B-клеточным рецептором) или антигенным рецептором. Пять членов, входящих в этот класс белков, представляют собой IgA, IgG, IgM, IgD и IgE. IgA представляет собой основное антитело, присутствующее в выделениях организма, таких как слюна, слезы, грудное молоко, желудочно-кишечный секрет и слизь, выделяемая дыхательными и мочеполовыми путями. IgG является наиболее распространенным циркулирующим антителом. IgM представляет собой основной иммуноглобулин, продуцируемый при первичном иммунном ответе у большинства субъектов. Он является наиболее эффективным иммуноглобулином при

агглютинации, фиксации комплемента и других реакциях антител, он важен для защиты от бактерий и вирусов. IgD представляет собой иммуноглобулин, который не обладает известной функцией антител, но может служить рецептором антигена. IgE представляет собой иммуноглобулин, который опосредует гиперчувствительность немедленного типа, вызывая высвобождение медиаторов из тучных клеток и базофилов при воздействии аллергена.

«Выделенный» означает измененный или извлеченный из естественного состояния. Например, нуклеиновая кислота или полипептид, естественным образом присутствующие в живом животном, не являются «выделенными», но та же нуклеиновая кислота или полипептид, частично или полностью отделенные от сопутствующих им материалов в их естественном состоянии, являются «выделенными». Выделенная нуклеиновая кислота или белок могут существовать в существенно очищенной форме или могут существовать в неестественной для них среде, такой как, например, клетка-хозяин.

Используемый в настоящем документе термин «модулирование» означает опосредование поддающегося обнаружению увеличения или уменьшения активности и/или уровня мРНК, полипептида или ответа у субъекта в сравнении с активностью и/или уровнем мРНК, полипептида или ответа у субъекта в отсутствие лечения или соединения, и/или в сравнении с активностью и/или уровнем мРНК, полипептида или ответа у идентичного, но не получавшего лечения субъекта. Этот термин охватывает активацию, ингибирование и/или иное воздействие на естественный сигнал или ответ, за счет чего опосредуется благоприятный терапевтический ответ у субъекта, предпочтительно человека.

Используемый в настоящем документе термин «одновалентный» относится к заместителю, который связывается одинарной связью с замещенной молекулой. Когда заместитель одновалентен, например, F или Cl, он связан с атомом, который он замещает, одинарной связью.

Используемый в настоящем документе термин «органическая группа» относится к любой углеродсодержащей функциональной группе. Примеры могут включать кислородсодержащую группу, такую как алкоксигруппа, арилоксигруппа, аралкилоксигруппа, оксо(карбонильная) группа; карбоксильную группу, включая карбоновую кислоту, карбоксилат и сложный эфир карбоксилата; серосодержащую группу, например, алкил- или арилсульфидную группу; и другие содержащие гетероатом группы. Неограничивающие примеры органических групп включают OR, OOR, $OC(O)N(R)_2$, CN, CF_3, OCF_3, R, C(O), метилендиокси, этилендиокси, $N(R)_2$, SR, SOR, SO_2R, $SO_2N(R)_2$, SO_3R, C(O)R, C(O)C(O)R, $C(O)CH_2C(O)R$, C(S)R, C(O)OR, OC(O)R, $C(O)N(R)_2$, $OC(O)N(R)_2$, $C(S)N(R)_2$, $(CH_2)_{0-2}N(R)C(O)R$, $(CH_2)_{0-2}N(R)N(R)_2$, N(R)N(R)C(O)R, N(R)N(R)C(O)OR, $N(R)N(R)CON(R)_2$, $N(R)SO_2R$, $N(R)SO_2N(R)_2$, N(R)C(O)OR, N(R)C(O)R, N(R)C(S)R, $N(R)C(O)N(R)_2$, $N(R)C(S)N(R)_2$, N(COR)COR, N(OR)R, $C(=NH)N(R)_2$, C(O)N(OR)R, C(=NOR)R, а также замещенный или незамещенный (C_1-C_{100})гидрокарбил, где R может представлять собой водород (в примерах, которые

содержат другие атомы углерода) или углеродный фрагмент, при этом углеродный фрагмент может быть замещенным или незамещенным.

В настоящем документе термины «пациент», «субъект» или «индивидуум» используются взаимозаменяемо и относятся к любому животному, или его клеткам, in vitro или in situ, к которому могут быть применены способы, описанные в настоящем документе. В неограничивающем варианте осуществления пациент, субъект или индивидуум является человеком.

Используемый в настоящем документе термин «фармацевтически приемлемый» относится к материалу, такому как носитель или разбавитель, который не препятствует биологической активности или свойствам соединения и является относительно нетоксичным, то есть, материал может быть введен индивидууму без вызывания нежелательных биологических эффектов или неблагоприятного взаимодействия с любым из компонентов композиции, в которой он содержится.

Используемый в настоящем документе термин «фармацевтически приемлемая соль» означает соль вводимых соединений, полученную из фармацевтически приемлемых нетоксичных кислот или оснований, включая неорганические кислоты или основания, органические кислоты или основания, их сольваты, гидраты или клатраты.

Подходящие фармацевтически приемлемые кислотно-аддитивные соли могут быть получены из неорганической или органической кислоты. Примеры неорганических кислот включают хлористоводородную, бромистоводородную, иодистоводородную, азотную, угольную, серную (включая сульфат и гидросульфат) и фосфорную кислоты (включая гидрофосфат и дигидрофосфат). Соответствующие органические кислоты могут быть выбраны из алифатических, циклоалифатических, ароматических, аралифатических, гетероциклических, карбоновых и сульфоновых классов органических кислот, примеры которых включают муравьиную, уксусную, пропионовую, янтарную, гликолевую, глюконовую, молочную, яблочную, винную, лимонную, аскорбиновую, глюкуроновую, малеиновую, малоновую, сахариновую, фумаровую, пировиноградную, аспаргиновую, глутаминовую, бензойную, антраниловую, 4-гидроксибензойную, фенилуксусную, манделиновую, эмбоновую (памовую), метансульфоновую, этансульфоновую, бензенсульфоновую, пантотеновую, трифторметансульфоновую, 2-гидроксиэтансульфоновую, п-толуолсульфоновую, сульфаниловую, циклогексиламиносульфоновую, стеариновую, альгиновую, β-гидроксибутировую, салициловую, галактаровую и галактуроновую кислоты.

Подходящие фармацевтически приемлемые основно-аддитивные соли соединений, описанных в настоящем документе, включают, например, соли аммония, металлические соли, включая соли щелочных металлов, щелочноземельных металлов и переходных металлов, такие как, например, соли кальция, магния, калия, натрия и цинка. Фармацевтически приемлемые основно-аддитивные соли также включают органические соли, полученные из основных аминов, таких как, например, N, N'-дибензилэтилендиамин, хлорпрокаин, холин, диэтаноламин, этилендиамин, меглумин (N-

метилглюкамин) и прокаин. Все эти соли могут быть получены из соответствующего соединения путем реакции, например, соответствующей кислоты или основания с соединением.

Используемый в настоящем документе термин «фармацевтически приемлемый носитель», или «фармацевтически приемлемый эксципиент», означает фармацевтически приемлемый материал, композицию или носитель, например, жидкий или твердый наполнитель, стабилизатор, диспергирующее средство, суспендирующее средство, разбавитель, эксципиент, загуститель, растворитель или инкапсулирующий материал, участвующий в переносе или транспортировке соединения, описанного в настоящем документе, в теле, или в тело, пациента таким образом, чтобы оно могло выполнять свою запланированную функцию. Как правило, такие соединения переносятся или транспортируются из одного органа или части тела в другой орган или часть тела. Каждый носитель должен быть «приемлемым» в смысле совместимости с другими ингредиентами препарата, включая соединение(я), описанное(ые) в настоящем документе, и не вредить пациенту. Некоторые примеры материалов, которые могут служить в качестве фармацевтически приемлемых носителей, включают: сахара, такие как лактоза, глюкоза и сахароза; крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; целлюлозу и ее производные, такие как натрий-карбоксиметилцеллюлоза, этилцеллюлоза и ацетат целлюлозы; порошкообразный трагакант; солод; желатин; тальк; эксципиенты, такие как масло какао и суппозиторные воски; масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; гликоли, такие как пропиленгликоль; полиолы, такие как глицерин, сорбит, маннит и полиэтиленгликоль; сложные эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат; агар; буферные средства, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия; поверхностно-активные вещества; альгиновую кислоту; апирогенную воду; изотонический солевой раствор; раствор Рингера; этиловый спирт; фосфатные буферные растворы; и другие нетоксичные совместимые вещества, используемые в фармацевтических препаратах. Используемый в настоящем документе термин «фармацевтически приемлемый носитель» также включает любые и все покрытия, антибактериальные и противогрибковые средства, замедляющие абсорбцию средства, и тому подобное, которые совместимы с активностью соединения (соединений), описанного в настоящем документе, и физиологически приемлемы для пациента. Вспомогательные активные соединения также могут быть включены в композиции. «Фармацевтически приемлемый носитель» может также включать фармацевтически приемлемую соль соединения (соединений), описанного в настоящем документе. Другие дополнительные ингредиенты, которые могут быть включены в фармацевтические композиции, используемые со способами или соединениями, описанными в настоящем документе, известны в данной области и описаны, например, в сборнике Remington's Pharmaceutical Sciences (Genaro, Ed., Mack Publishing Co., 1985, Easton, PA), который включен в настоящий документ посредством ссылки.

Используемый в настоящем документе термин «полипептид» означает полимер,

состоящий из аминокислотных остатков, их родственных природных структурных вариантов и синтетических не существующих в природе аналогов, связанных пептидными связями. Синтетические полипептиды могут быть синтезированы, например, с использованием автоматизированного синтезатора полипептидов. Используемый в настоящем документе термин «белок» обычно относится к крупным полипептидам. Используемый в настоящем документе термин «пептид» обычно относится к коротким полипептидам. Для представления полипептидных последовательностей в настоящем документе использованы общепринятые обозначения: левый конец полипептидной последовательности представляет собой амино-конец, а правый конец полипептидной последовательности представляет собой карбоксильный конец.

Используемый в настоящем документе термин «эффективность» означает дозу, необходимую для достижения половины максимального ответа (ED_{50}).

Используемый в настоящем документе термин «белок» означает интересующий внеклеточный белок.

Используемый в настоящем документе термин «REAG» означает любой реагент, включающий -CON, -линкер, -COH-линкер, -линкер-CON, -COH-линкер-CON, -CRBM, -COH-CRBM, -линкер-CRBM, -COH-линкер-CRBM, -линкер-COH-CRBM и/или -COH-линкер-COH-CRBM. В конкретных вариантах осуществления REAG взаимодействует с группой TNF-связывающего фрагмента, с включением TNF-связывающего фрагмента в соединение по изобретению или его фрагмент, его производное или его промежуточное соединение.

Используемый в настоящем документе термин «комнатная температура» означает температуру примерно от 15°C до 28°C.

Используемый в настоящем документе термин «специфически связывает» применительно к антителу означает антитело, которое узнает специфический антиген, но практически не узнает или не связывает другие молекулы в образце. Например, антитело, которое специфически связывает антиген от одного биологического вида, может также связывать этот антиген из одного или более других биологических видов. Но такая межвидовая перекрестная реактивность сама по себе не изменяет классификацию антитела как специфического. В другом примере антитело, которое специфически связывает антиген, может также связывать различные аллельные формы антигена. Однако такая перекрестная реактивность сама по себе не изменяет классификацию антитела как специфического. В некоторых случаях термины «специфическое связывание» или «специфически связывающее» могут быть использованы применительно к взаимодействию антитела, белка или пептида со второй химической молекулой, для указания на то, что взаимодействие зависит от наличия определенной структуры (например, антигенной детерминанты или эпитопа) на химической молекуле; например, антитело узнает и связывает конкретную структуру белка, а не белки в целом. Если антитело является специфическим для эпитопа «A», присутствие молекулы, содержащей эпитоп A (или свободного, немеченого A), в реакционной смеси, содержащей меченый

«А» и антитело, уменьшит количество меченого А, связанного с антителом.

Используемый в настоящем документе термин «растворитель» означает жидкость, которая может растворять твердое вещество, жидкость или газ. Неограничивающими примерами растворителей являются силиконы, органические соединения, вода, спирты, ионные жидкости и сверхкритические жидкости.

Используемый в настоящем документе термин «стандартные температура и давление» означает 20°С и 101 кПа.

Используемый в настоящем документе термин «по существу» означает в большинстве, или по большей части, то есть, по меньшей мере, примерно 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5%, 99,9%, 99,99% или по меньшей мере примерно 99,999%, или более, или 100%. Используемый в настоящем документе термин «по существу свободные от» может означать «не имеющие или имеющие незначительное количество», так что количество присутствующего материала не влияет на материальные свойства композиции, содержащей данный материал, например, композиция содержит от примерно 0 масс% до примерно 5 масс% материала, или от примерно 0 масс% до примерно 1 масс%, или примерно 5 масс% или менее, или менее чем, ровно, или более чем примерно 4,5 масс%, 4, 3,5, 3, 2,5, 2, 1,5, 1, 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0,01, или примерно 0,001 масс%, или менее. Термин «по существу свободные от» может означать «имеющие незначительное количество», так что композиция содержит от примерно 0 масс% до примерно 5 масс% материала, или от примерно 0 масс% до примерно 1 масс%, или примерно 5 масс% или менее, или менее чем, ровно, или более чем примерно 4,5 масс%, 4, 3,5, 3, 2,5, 2, 1,5, 1, 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0,01, или примерно 0,001 масс% или менее, или примерно 0 масс%.

Используемый в настоящем документе термин «замещенная» применительно к молекуле или органической группе в значении, указанном в настоящем документе, означает состояние, в котором один или более атомов водорода, содержащиеся в ней, заменены одним или более не водородными атомами. Используемый в настоящем документе термин «функциональная группа», или «заместитель», означает группу, которая может быть замещена, или замещена, на молекуле или на органической группе. Примеры заместителей или функциональных групп включают, но без ограничения, галоген (например, F, Cl, Br и I); атом кислорода в таких группах, как гидроксильные группы, алкоксигруппы, арилоксигруппы, аралкилоксигруппы, оксо(карбонильные) группы, карбоксильные группы, включая карбоновые кислоты, карбоксилаты и сложные карбоксилатные эфиры; атом серы в таких группах, как тиоловые группы, алкил- и арилсульфидные группы, сульфоксидные группы, сульфоновые группы, сульфонильные группы и сульфонамидные группы; атом азота в таких группах, как амины, гидроксиамины, нитрилы, нитрогруппы, N-оксиды, гидразиды, азиды и енамины; и другие гетероатомы в различных других группах. Неограничивающие примеры заместителей, которые могут быть связаны с замещенным атомом углерода (или другим), включают F, Cl, Br, I, OR, $OC(O)N(R)_2$, CN, NO, NO_2, ONO_2, азидо, CF_3, OCF_3, R, O (оксо), S (тионо),

C(O), S(O), метилендиокси, этилендиокси, $N(R)_2$, SR, SOR, SO_2R, $SO_2N(R)_2$, SO_3R, C(O)R, C(O)C(O)R, $C(O)CH_2C(O)R$, C(S)R, C(O)OR, OC(O)R, $C(O)N(R)_2$, $OC(O)N(R)_2$, $C(S)N(R)_2$, $(CH_2)_{0-2}N(R)C(O)R$, $(CH_2)_{0-2}N(R)N(R)_2$, N(R)N(R)C(O)R, N(R)N(R)C(O)OR, $N(R)N(R)CON(R)_2$, $N(R)SO_2R$, $N(R)SO_2N(R)_2$, N(R)C(O)OR, N(R)C(O)R, N(R)C(S)R, $N(R)C(O)N(R)_2$, $N(R)C(S)N(R)_2$, N(COR)COR, N(OR)R, $C(=NH)N(R)_2$, C(O)N(OR)R и C(=NOR)R, где R может представлять собой водород или углеродный фрагмент; например, R может представлять собой водород, $(C_1\text{-}C_{100})$гидрокарбил, алкил, ацил, циклоалкил, арил, аралкил, гетероциклил, гетероарил или гетероарилалкил; или где две группы R, связанные с атомом азота или с соседними атомами азота, могут вместе с атомом или атомами азота образовывать гетероциклил.

Используемый в настоящем документе термин «синтетическое антитело» означает антитело, которое получено с использованием технологии рекомбинантных ДНК, такое как, например, антитело, экспрессируемое бактериофагом, как описано в настоящем документе. Термин также должен означать антитело, которое было получено путем синтеза молекулы ДНК, кодирующей антитело, и с данной молекулы ДНК экспрессируется белок антитела или аминокислотная последовательность, определяющая антитело, где ДНК или аминокислотная последовательность были получены с использованием технологий синтеза ДНК или аминокислотной последовательности, которые доступны и хорошо известны в данной области.

«Терапевтическое лечение» представляет собой лечение, применяемое к субъекту, проявляющему признаки патологии, с целью уменьшения или устранения этих признаков.

Используемый в настоящем документе термин «тиоалкил» означает атом серы, связанный с алкильной группой в значении, указанном в настоящем документе. Алкильная группа в тиоалкиле может быть неразветвленной или разветвленной. Примеры неразветвленных тиоалкильных групп включают, но не ограничиваются ими, тиометил, тиоэтил, тиопропил, тиобутил, тиопентил, тиогексил и тому подобное. Примеры разветвленных алкоксигрупп включают, но не ограничиваются ими, изотиопропил, втор-тиобутил, трет-тиобутил, изотиопентил, изотиогексил и тому подобное. Атом серы может появляться в любом подходящем положении в алкильной цепи, например, на конце алкильной цепи или в любом участке внутри алкильной цепи.

Используемые в настоящем документе термины «лечить», «лечение» и «терапия» означают снижение частоты и степени тяжести, с которой симптомы заболевания или состояния проявляются у субъекта, за счет введения субъекту средства или соединения.

Используемый в настоящем документе термин «дикого типа» относится к гену или продукту гена, выделенному из природного источника. Ген дикого типа является таким, который наиболее часто наблюдается в популяции, и, таким образом, условно считается «нормальной» или «дикого типа» формой гена. Напротив, термин «модифицированный» или «мутантный» относится к гену или продукту гена, который имеет модификации последовательности и/или функциональных свойств (то есть, измененные характеристики) в сравнении с геном или продуктом гена дикого типа. Следует отметить,

что могут быть выделены встречающиеся в природе мутанты; их идентифицируют по наличию у них измененных характеристик (включая измененные нуклеотидные последовательности) в сравнении с геном или продуктом гена дикого типа.

Термин «аутоиммунное заболевание» означает заболевание или патологическое состояние, которое возникает, когда ткани тела атакуются собственной иммунной системой. Примеры аутоиммунных заболеваний включают, например, системную красную волчанку, синдром Шегрена, тиреоидит Хашимото, ревматоидный артрит, ювенильный (1 типа) диабет, полимиозит, склеродермию, болезнь Аддисона, витилиго, пернициозную анемию, гломерулонефрит и пульмонарный фиброз, среди многих других.

Более полный список аутоиммунных заболеваний, которые можно лечить соединениями и фармацевтическими композициями по настоящему изобретению, включает болезнь Аддисона, аутоиммунный полиэндокринный синдром (APS) 1, 2 и 3 типов, аутоиммунный панкреатит (AIP), сахарный диабет 1 типа, аутоиммунный тиреоидит, тиреоидит Орда, болезнь Грейвса, аутоиммунный оофорит, эндометриоз, аутоиммунный орхит, синдром Шегрена, аутоиммунную энтеропатию, коэлиакию, болезнь Крона, микроскопический колит, язвенный колит, аутофосфолипидный синдром, апластическую анемию, аутоиммунную гемолитическую анемию, аутоиммунный лимфопролиферативный синдром, аутоиммунную нейтропению, аутоиммунную тромбоцитопеническую пурпуру, болезнь холодовых агглютининов, эссенциальную смешанную криоглюлинемию, синдром Эванса, пернициозную анемию, истинную эритроцитарную аплазию, тромбоцитопению, болезненное ожирение, болезнь Стилла, анкилозирующий спондилит, CREST-синдром, лекарственную волчанку, артрит, связанный с энтезитом, эозинофильный фасциит, синдром Фелти, AgG4-связанную болезнь, ювенильный артрит, болезнь Лайма (хроническую), смешанное заболевание соединительной ткани (MCTD), палиндромный ревматизм, синдром Парри-Ромберга, синдром Парсонажа-Тернера, псориатический артрит, реактивный артрит, рецидивирующий полихондрит, ретроперитонеальный фиброз, ревматическую лихорадку, ревматоидный артрит, саркоидоз, синдром Шницлера, системную красную волчанку, недифференцированное заболевание соединительной ткани (UCTD), дерматомиозит, фибромиалгию, миозит, миозит с тельцами включения, миастению, нейромиотонию, паранеопластическую дегенерацию мозжечка, полимиозит, острый диссеминированный энцефаломиелит (ADEM), острую моторную аксональную нейропатию, анти-NMDA-рецепторный энцефалит, концентрический склероз Бало, энцефалит Бикерстафа, хроническую воспалительную демиелинизирующую полинейропатию, синдром Гийена-Барре, энцефалопатию Хашимото, идиопатические воспалительные демиелинизирующие заболевания, миастенический синдром Ламберта-Итона, рассеянный склероз, модель II, синдром Ошторана, детское аутоиммунное нейропсихическое расстройство, ассоциированное со стрептококком (PANDAS), прогрессирующую воспалительную нейропатию, синдром беспокойных ног, синдром скованного человека, хорею Синденхема, поперечный миелит, аутоиммунную ретинопатию, аутоиммунный увеит,

синдром Когана, офтальмопатию Грейвса, промежуточный увеит, деревянистый конъюнктивит, язву Мурена, оптический нейромиелит, синдром опсоклонуса, неврит зрительного нерва, склерит, синдром Сусака, симпатическую офтальмию, синдром Толозы-Ханта, аутоиммунное заболевание внутреннего уха (AIED), болезнь Меньера, болезнь Бехчета, эозинофильный гранулематоз с полиангиитом (EGPA), гигантоклеточный артериит, гранулематоз с полиангиитом (GPA), IgA-васкулит (IgAV), IgA-нефропатию, болезнь Кавасаки, лейкоцитокластический васкулит, волчаночный васкулит, ревматоидный васкулит, микроскопический полиангиит (MPA), узелковый полиартериит (PAN), ревматическую полимиалгию, уртикарный васкулит, васкулит, первичный иммунодефицит, синдром хронической усталости, комплексный региональный болевой синдром, эозинофильный эзофагит, гастрит, интерстициальную болезнь легких, синдром POEMS, синдром Рейно, первичный иммунодефицит и гангренозную пиодермию, в числе прочих.

Используемый в настоящем документе термин «рак», или «неоплазия», относится к патологическому процессу, который приводит к образованию и росту ракового или злокачественного новообразования, то есть, аномальной ткани, которая растет за счет клеточной пролиферации, часто более быстро, чем нормальная ткань, и продолжает расти после прекращения действия стимулов, инициировавших исходный рост. Злокачественные новообразования демонстрируют частичное или полное отсутствие структурной организации и функциональной координации с нормальной тканью, и в большинстве случаев вторгаются в окружающие ткани, метастазируют в несколько зон и могут рецидивировать после попытки удаления, и при отсутствии адекватного лечения могут вызывать смерть пациента. В настоящем документе термин «неоплазия» используется для описания всех состояний онкологического заболевания и включает, или охватывает, патологический процесс, связанный с злокачественными гематогенными, асцитными и солидными опухолями. Новообразования включают, без ограничения, морфологические нарушения клеток в ткани субъекта или хозяина, а также патологическую пролиферацию клеток в ткани субъекта в сравнении с нормальной пролиферацией в ткани того же типа. Кроме того, новообразования включают доброкачественные опухоли и злокачественные опухоли (например, опухоли толстой кишки), которые являются либо инвазивными, либо неинвазивными. Злокачественные новообразования (рак) отличаются от доброкачественных новообразований в том, что первые демонстрируют большую степень анаплазии, или потери дифференциации и ориентации клеток, и обладают свойствами инвазии и метастазирования. Примеры новообразований или неоплазий, из которых может быть получена клетка-мишень по настоящему изобретению, включают, без ограничения, карциномы (например, плоскоклеточные карциномы, аденокарциномы, печеночно-клеточные карциномы и почечноклеточный рак), в частности, карциномы мочевого пузыря, кишечника, молочной железы, шейки матки, толстой кишки, пищевода, головы, почки, печени, легких, шеи, яичников, поджелудочной железы, предстательной железы и желудка; лейкозы;

доброкачественные и злокачественные лимфомы, в частности, лимфому Беркитта и неходжскинскую лимфому; доброкачественные и злокачественные меланомы; миелопролиферативные заболевания; саркомы, в частности, саркому Юинга, гемангиосаркому, саркому Капоши, липосаркому, миосаркомы, периферическую нейроэпителиому и синовиальную саркому; опухоли центральной нервной системы (например, глиомы, астроцитомы, олигодендроглиомы, эпендимомы, глиобастомы, нейробластомы, ганглионевромы, ганглиоглиомы, медуллобластомы, опухоли из клеток шишковидной железы, менингиомы, менингеальные саркомы, нейрофибромы и шванномы); герминогенные опухоли (например, рак кишечника, рак молочной железы, рак предстательной железы, рак шейки матки, рак тела матки, рак легких, рак яичника, рак яичка, рак щитовидной железы, астроцитому, рак пищевода, рак поджелудочной железы, рак желудка, рак печени, рак толстого кишечника и меланому); новообразования смешанного типа, в частности, карциносаркому и болезнь Ходжкина; а также опухоли смешанного происхождения, такие как опухоль Вильмса и тератокарциномы (Beers and Berkow (eds.), The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 17.sup. th ed. (Whitehouse Station, N.J.: Merck Research Laboratories, 1999) 973-74, 976, 986, 988, 991). Все из этих новообразований можно лечить с использованием соединений по настоящему изобретению.

Репрезентативные распространенные виды рака для лечения соединениями по настоящему изобретению включают, например, рак предстательной железы, метастатический рак предстательной железы, рак желудка, толстой кишки, прямой кишки, печени, поджелудочной железы, легких, молочной железы, шейки матки, тела матки, яичников, яичек, мочевого пузыря, почек, мозга/ЦНС, головы и шеи, горла, болезнь Ходжкина, неходжскинскую лимфому, множественную миелому, лейкоз, меланому, немеланомный рак кожи, острый лимфоцитарный лейкоз, острый миелогенный лейкоз, саркому Юинга, мелкоклеточный рак легких, хориокарциному, рабдомиосаркому, опухоль Вильмса, нейробластому, волосатоклеточный лейкоз, рак ротовой полости/глотки, пищевода, гортани, рак почки и лимфому, в числе прочих, которые можно лечить одним или более соединениями по настоящему изобретению. Благодаря активности описанных соединений, настоящее изобретение имеет широкую применимость для лечения практически любого рака в любой ткани, таким образом, соединения, композиции и способы по настоящему изобретению, в целом, применимы для лечения рака и снижения вероятности развития рака и/или метастазирования существующего рака.

В некоторых конкретных аспектах настоящего изобретения рак, который подвергают лечению, представляет собой метастатический рак, рецидивирующий рак или устойчивый к лекарственным средствам рак, особенно, включая устойчивый к лекарственным средствам рак. Отдельно, метастатический рак может быть обнаружен практически во всех тканях онкологического пациента на поздних стадиях заболевания, как правило, метастатический рак обнаруживается в лимфатической системе/узлах

(лимфома), в костях, в легких, в ткани мочевого пузыря, в ткани почки, ткани печени и практически в любой ткани, включая головной мозг (рак/опухоль головного мозга). Таким образом, настоящее изобретение является общеприменимым, и может быть использовано для лечения любого рака в любой ткани, независимо от этиологии.

Термин «противораковое средство», или «дополнительное противораковое средство», означает соединение, отличное от химерных соединений по настоящему изобретению, которое может быть использовано в сочетании с соединением по настоящему изобретению для лечения рака. Иллюстративные противораковые средства, которые можно применять в сочетании с одним или более химерными соединениями по настоящему изобретению, включают, например, антиметаболиты, ингибиторы топоизомераз I и II, алкилирующие средства и ингибиторы сборки микротрубочек (например, таксол), в числе прочих. Иллюстративные противораковые соединения для использования по настоящему изобретению могут включать эверолимус, трабектедин, абраксан, TLK 286, AV-299, DH-101, пазопаниб, GSK690693, RTA 744, ON 0910.Na, AZD 6244 (ARRY-142886), AMH-107, TKI-258, GSK461364, AZD 1152, энзастаурин, вандетаниб, ARQ-197, MK-0457, MLN8054, PHA-739358, R-763, AT-9263, ингибитор FLT-3, ингибитор VEGFR, ингибитор EGFR TK, ингибитор киназы aurora, модулятор PIK-1, ингибитор Bcl-2, ингибитор HDAC, ингибитор c-MET, ингибитор PARP, ингибитор Cdk, ингибитор EGFR TK, ингибитор IGFR-TK, анти-HGF антитело, ингибиторы киназ PI3, ингибитор AKT, ингибитор JAK/STAT, ингибитор контрольных точек 1 или 2, ингибитор киназы фокальной адгезии, ингибитор Map-киназ (MEK), захватывающее VEGF антитело, пеметрексед, эрлотиниб, дазатиниб, нилотиниб, декатаниб, панитумумаб, амрубицин, ореговомаб, Lep-etu, нолатрексед, azd2171, батабулин, офатумумаб (арзерра), занолимумаб, эдотекарин, тетрандрин, рубитекан, тесмилифен, облимерсен, тицилимумаб, ипилимумаб, госсипол, Bio 111, 131-I-TM-601, ALT-110, BIO 140, CC 8490, циленгитид, гиматекан, IL13-PE38QQR, INO 1001, $IPdR_1$ KRX-0402, лукантон, LY 317615, нейрадиаб, витеспан, Rta 744, Sdx 102, талампанел, атрасентан, Xr 311, ромидепсин, ADS- 100380, сунитиниб, 5-фторурацил, вориностат, этопозид, гемцитабин, доксорубицин, иринотекан, липосомный доксорубицин, 5'-дезокси-5-фторуридин, винкристин, темозололмид, ZK-304709, селициклиб; PD0325901, AZD-6244, капецитабин, L-глутаминовую кислоту, N-[4-[2-(2-амино-4,7-дигидро-4-оксо-1H-пирроло[2,3-d]пиримидин-5-ил)этил]бензоил]-,
динатриевую соль, гептагидрат, камптотецин, PEG-меченый иринотекан, тамоксифен, торемифен цитрат, анастрозол, экземестан, лектрозол, DES (диэтилстилбестрол), эстрадиол, эстроген, конъюгированный эстроген, бевацизумаб, IMC-1C11, CHIR-258, 3-[5-(метилсульфонилпиперадинметил)индолилхинолон, ваталаниб, AG-013736, AVE-0005, ацетатную соль [D-Ser(But)6, Azgly 10](pyro-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Ser(But)-Leu-Arg-Pro-Azgly-NH_2 ацетат [$C_{59}H_{84}N_{18}Oi_4$ -$(C_2H_4O_2)_X$, где x=1-2,4], гозерелин ацетат, леупролид ацетат, трипторелин памоат, медроксипрогестерон ацетат, гидроксипрогестерон капроат, магестрол ацетат, ралоксифен, бикалутамид, флутамид, нилутамид, магестрол ацетат, CP-724714; TAK-165, HKI-272, эрлотиниб, лапатиниб, канертиниб, ABX-EGF антитело,

эрбитукс, EKB-569, PKI-166, GW-572016, лонафарниб, BMS-214662, типифарниб; амифостин, NVP-LAQ824, субероиланилид гидроксамовой кислоты, вальпроевую кислоту, трихостатин A, FK-228, SU11248, сорафениб, KRN951, аминоглутетимид, арнсакрин, анагрелид, L-аспарагиназу, вакцину бациллу Кальметта-Герена (BCG), блеомицин, бузерелин, бусульфан, карбоплатин, кармустин, хлорамбуцил, цисплатин, кладрибин, клодронат, ципротерон, цитарабин, декарбазин, дактиномицин, даунорубицин, диэтилстилбестрол, эпирубицин, флударабин, флудрокортизон, флуоксиместерон, флутамид, гемцитабин, гливек, гидроксимочевину, идарубицин, ифосфамид, иматиниб, леупролид, левамизол, ломустин, мехлорэтамин, мелфалан, 6-меркаптопурин, месну, метотрексат, митомицин, митотан, митоксантрон, нилутамид, октреотид, оксалиплатин, памидронат, пентостатин, пликамицин, порфимер, прокарбазин, ралтитрексид, ритуксимаб, стрептозоцин, тенипозид, тестостерон, талидомид, тиогуанин, тиотепу, третиноин, виндезин, 13-цис-ретиноевую кислоту, мелфалан, урамустин, эстрамустин, алтретамин, флоксуридин, 5-дезоксиуридин, цитозин арабинозид, 6-меркаптопурин, дезоксикоформицин, кальцитриол, валрубицин, митрамицин, винбластин, винорелбин, топотекан, рацоксин, маримастат, COL-3, неовастат, BMS-275291, скваламин, эндостатин, SU5416, SU6668, EMD121974, интерлейкин-12, IM862, ангиостатин, витаксин, дролоксифен, идоксифен, спиронолактон, финастерид, цимитидин, трастузумаб, денилейкин дифтитокс, гефитиниб, бортезимиб, паклитаксел, иринотекан, топотекан, доксорубицин, доцетаксел, винорелбин, бевацизумаб (моноклональные антитело) и эрбитукс, паклитаксел без кремофора, эпитилон B, BMS-247550, BMS-310705, дролоксифен, 4-гидрокситамоксифен, пипендоксифен, ERA-923, арзоксифен, фулвестрант, аколбифен, лазофоксифен, идоксифен, TSE-424, HMR-3339, ZK186619, PTK787/ZK 222584, VX-745, PD 184352, рапамицин, 40-O-(2-гидроксиэтил)-рапамицин, темсиролимус, AP-23573, RAD001, ABT-578, BC-210, LY294002, LY292223, LY292696, LY293684, LY293646, вортманнин, ZM336372, L-779,450, PEG-филграстим, дарбэпоэтин, эритропоэтин, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, золендронат, преднизон, цетуксимаб, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, гистрелин, пегилированный интерферон альфа-2a, интерферон альфа-2a, пегилированный интерферон альфа-2b, интерферон альфа-2b, азацитидин, PEG-L-аспарагиназу, леналидомид, гемтузумаб, гидрокортизон, интерлейкин-11, дексразоксан, алемтузумаб, полностью трансретиноевую кислоту, кетоконазол, интерлейкин-2, мегестрол, иммуноглобулин, азотистый иприт, метилпреднизолон, ибритумомаб тиуксетан, андрогены, децитабин, гексаметилмеламин, бексаротен, тозитумомаб, триоксид мышьяка, кортизон, эдитронат, митотан, циклоспорин, липосомный даунорубицин, аспарагиназу Edwina, стронций 89, казопитант, нетупитант, антагонисты рецептора NK-1, палоносетрон, апрепитант, дифенгидрамин, гидроксизин, метоклопрамид, лоразепам, альпразолам, галоперидол, дроперидол, дронабинол, дексаметазон, метилпреднизолон, прохлорперазин, гранизетрон, ондансетрон, долазетрон, трописетрон, пегфилграстим, эритропоэтин, эпоэтин альфа и дарбэпоэтин альфа,

вемурафениб в числе прочих, включая иммунотерапевтические средства, такие как ингибиторы IDO (ингибиторы пути индолеамин-2,3-диоксигеназы (IDO)), например, индоксимод (NLG-8187), навоксимод (GDC-0919) и NLG802, ингибиторы PDL1 (ингибиторы лиганда 1 программируемой гибели клеток), включая, например, ниволумаб, дурвалумаб и атезолизумаб, ингибиторы PD1, такие как пембролизумаб (Merck), и ингибиторы CTLA-4 (ингибиторы белка 4, ассоциированного с цитотоксическими Т-лимфоцитами/кластера дифференцировки 152), включая ипилимумаб и тремелимумаб, в числе прочих.

В дополнение к противораковым средствам целый ряд других средств можно вводить совместно с химерными соединениями по настоящему изобретению при лечении рака. Сюда входят активные средства, минералы, витамины и пищевые добавки, которые показали определенную эффективность в подавлении раковой ткани или ее роста, или которые иным образом полезны в лечении рака. Например, одно или более из пищевого селена, витамина Е, ликопина, соевых продуктов, куркумина (куркумы), витамина D, зеленого чая, омега-3 жирных кислот и фитоэстрогенов, включая бета-ситостерол, можно использовать в сочетании с настоящими соединениями для лечения рака.

Термин «воспалительное заболевание» используют для описания заболевания или патологического состояния с острым, но чаще хроническим, воспалением в качестве основного проявления заболевания или патологического состояния. Воспалительные заболевания включают нейродегенеративные заболевания (включая, например, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, болезнь Гентингтона; другие атаксии), заболевания нарушенного иммунного ответа, вызывающего воспаление (например, нарушение регуляции созревания Т-клеток, гомеостаза В-клеток и Т-клеток, который противодействует повреждающему воспалению), хронические воспалительные заболевания, включая, например, воспалительное заболевание кишечника, в том числе болезнь Крона, ревматоидный артрит, волчанку, рассеянный склероз, хроническую обструктивную болезнь легких/COPD, пульмонарный фиброз, кистозный фиброз, болезнь Шегрена; гипергликемические заболевания, диабет (I и II типа), нарушение функции липидного метаболизма и/или структуры островков, гибель панкреатических β-клеток и сопутствующие гипергликемические заболевания, включая сильную устойчивость к инсулину, гиперинсулинемию, инсулин-резистентный диабет (например, синдром Менденхолла, синдром Вернера, лепреконизм и липоатрофический диабет) и дислипидемию (например, гиперлипидемию, наблюдаемую у тучных субъектов, повышенные уровни липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), пониженные уровни липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), повышенные уровни триглицеридов и метаболический синдром, заболевание печени, почечную недостаточность (апоптоз в бляшках, гломерулярную болезнь), сердечно-сосудистое заболевание (особенно включая инфаркт, ишемию, инсульт, повышенное давление и осложнения во время реперфузии), дегенерацию и атрофию мышц, неспецифичное воспаление, подагру, силикоз, атеросклероз и сопутствующие заболевания, такие как кардиологические и

неврологические (как центральные, так и периферические) проявления, включая инсульт, возрастную деменцию и спорадическую форму болезни Альцгеймера, а также психиатрические заболевания, включая депрессию, инсульт и травму спинного мозга, артериосклероз, в числе прочих. При этих заболеваниях очень часто наблюдаются повышенные уровни MIF, в результате чего эти болезненные состояния и/или патологические состояния отвечают на терапию с использованием соединений и/или фармацевтических композиций по настоящему изобретению. Отмечается, что существует некоторое перекрывание между определенными аутоиммунными заболеваниями и воспалительными заболеваниями, как описано в настоящем документе.

В тексте настоящей заявки различные аспекты изобретения могут быть представлены в формате диапазона. Следует понимать, что описание в формате диапазона приведено лишь для удобства и краткости, и не должно толковаться как негибкое ограничение объема изобретения. Соответственно, описание диапазона следует рассматривать как конкретно раскрывающее все возможные поддиапазоны, а также отдельные числовые значения в пределах данного диапазона. Например, описание диапазона, например, от 1 до 6, следует рассматривать как специально раскрывающее поддиапазоны, например, от 1 до 3, от 1 до 4, от 1 до 5, от 2 до 4, от 2 до 6, от 3 до 6 и так далее, а также отдельные числа в данном диапазоне, например, 1, 2, 2,7, 3, 4, 5, 5,3 и 6. Это применимо независимо от широты диапазона.

Соединения

В одном аспекте изобретение относится к соединению формулы (I), или его соли, геометрическому изомеру, стереоизомеру или сольвату:

$[\text{белок-связывающий фрагмент}]_{k'}$-$[\text{CON}]_{h}$-$[\text{линкер}]_{i}$-$[\text{CON}]_{h'}$-$[\text{CRBM}]_{j'}$ (I).

В конкретных вариантах осуществления соединение представляет собой соединение формулы (Ia), или его соль, геометрический изомер, стереоизомер или сольват:

$[\text{белок-связывающий фрагмент}]$-$[\text{CON}]_{0\text{-}1}$-$[\text{линкер}]$-$[\text{CON}]_{0\text{-}1}$-$[\text{CRBM}]$ (Ia).

В формуле (I) и/или (Ia) белок-связывающий фрагмент представляет собой молекулу, такую как, но без ограничения, малая молекула и/или пептид, которая связывает интересующий внеклеточный белок («белок»). В конкретных вариантах осуществления для лечения или контролирования заболевания и/или нарушения требуется деградация, удаление и/или уменьшение концентрации внеклеточного белка у субъекта. В конкретных вариантах осуществления внеклеточный белок-связывающий фрагмент в формуле (I) и/или (Ia) способен связывать циркулирующий внеклеточный белок в плазме крови субъекта с идентичной аффинностью, или практически аналогичной аффинностью, в сравнении с самим внеклеточный белок-связывающим фрагментом.

В формуле (I) и/или (Ia) CRBM представляет собой клеточный рецептор-связывающий фрагмент, который связывает по меньшей мере один рецептор на поверхности гепатоцитов или других осуществляющих деградацию клеток у субъекта, где связывание (I) или (Ia) приводит к эндоцитозу и деградации (I) и/или (Ia) и/или

внеклеточного белка. В конкретных вариантах осуществления CRBM представляет собой ASGPRBM, который представляет собой клеточный рецептор-связывающий фрагмент, который связывает по меньшей мере один асиалогликопротеиновый рецептор на поверхности гепатоцитов или других осуществляющих деградацию клеток у субъекта.

В формуле (I) и/или (Ia) каждый CON независимо представляет собой связь или группу, которая ковалентно связывает белок-связывающий фрагмент с CRBM, белок-связывающий фрагмент с линкером и/или линкер с CRBM.

В формуле (I) и/или (Ia) линкер представляет собой группу с валентностью в диапазоне от 1 до 15. В конкретных вариантах осуществления валентность линкера равна 1-10. В конкретных вариантах осуществления валентность линкера равна 1-5. В конкретных вариантах осуществления валентность линкера равна 1, 2 или 3. В конкретных вариантах осуществления линкер ковалентно связывает одну или более групп CRBM и/или белок-связывающего фрагмента, необязательно через CON, где сам линкер, необязательно, содержит одну или более групп CON.

В конкретных вариантах осуществления k' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15. В конкретных вариантах осуществления k' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 10. В конкретных вариантах осуществления k' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 5. В конкретных вариантах осуществления k' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 3. В конкретных вариантах осуществления k' равен 1, 2 или 3.

В конкретных вариантах осуществления j представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15. В конкретных вариантах осуществления j представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 10. В конкретных вариантах осуществления j представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 5. В конкретных вариантах осуществления j представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 3. В конкретных вариантах осуществления j равен 1, 2 или 3.

В конкретных вариантах осуществления h представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15. В конкретных вариантах осуществления h представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15. В конкретных вариантах осуществления h представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 10. В конкретных вариантах осуществления h представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 5. В конкретных вариантах осуществления h представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 3. В конкретных вариантах осуществления h равен 1, 2 или 3.

В конкретных вариантах осуществления h' представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15. В конкретных вариантах осуществления h' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15. В конкретных вариантах осуществления h' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 10. В конкретных вариантах осуществления h' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 5. В конкретных вариантах осуществления h' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 3. В конкретных вариантах осуществления h' равен 1, 2 или 3.

В конкретных вариантах осуществления i представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15. В конкретных вариантах осуществления i представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15. В конкретных вариантах осуществления i представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 10. В конкретных вариантах осуществления i представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 5. В конкретных вариантах осуществления i представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 3. В конкретных вариантах осуществления i равен 1, 2 или 3.

В конкретных вариантах осуществления по меньшей мере один из h, h' и i равен по меньшей мере 1.

В конкретных вариантах осуществления каждый из k', j', h, h' и i независимо равен 1, 2 или 3.

В конкретных вариантах осуществления k' равен 1, и j' равен 1, 2 или 3.

В другом аспекте изобретение относится к соединению формулы (II), или его соли, геометрическому изомеру, стереоизомеру или сольвату:

$[\text{TNF-связывающий фрагмент}]_{k'}\text{-}[\text{CON}]_{h}\text{-}[\text{линкер}]_{i}\text{-}[\text{CON}]_{h'}\text{-}[\text{CRBM}]_{j'}$ (II).

В конкретных вариантах осуществления соединение представляет собой соединение формулы (IIa), или его соль, геометрический изомер, стереоизомер или сольват:

$[\text{TNF-связывающий фрагмент}]\text{-}[\text{CON}]_{0\text{-}1}\text{-}[\text{линкер}]\text{-}[\text{CON}]_{0\text{-}1}\text{-}[\text{CRBM}]_{'}$ (IIa).

В формуле (II) и/или (IIa) TNF-связывающий фрагмент представляет собой молекулу, такую как, но без ограничения, малая молекула и/или пептид, которая связывает TNF. В конкретных вариантах осуществления для лечения или контролирования заболевания и/или нарушения требуется деградация, удаление и/или уменьшение концентрации TNF у субъекта. В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент в формуле (II) и/или (IIa) способен связывать циркулирующий TNF в плазме крови субъекта с идентичной аффинностью, или практически аналогичной аффинностью, в сравнении с самим TNF-связывающим фрагментом.

В формуле (II) и/или (IIa) CRBM представляет собой клеточный рецептор-связывающий фрагмент, который связывает по меньшей мере один рецептор на поверхности гепатоцитов или других осуществляющих деградацию клеток у субъекта, где связывание (II) или (IIa) приводит к эндоцитозу и деградации (II) и/или (IIa), и/или TNF. В конкретных вариантах осуществления CRBM представляет собой ASGPRBM, который представляет собой клеточный рецептор-связывающий фрагмент, который связывает по меньшей мере один асиалогликопротеиновый рецептор на поверхности гепатоцитов или других осуществляющих деградацию клеток у субъекта.

В формуле (II) и/или (IIa) каждый CON независимо представляет собой связь или группу, которая ковалентно связывает TNF-связывающий фрагмент с CRBM, TNF-связывающий фрагмент с линкером и/или линкер с CRBM.

В формуле (II) и/или (IIa) линкер представляет собой группу с валентностью в диапазоне от 1 до 15. В конкретных вариантах осуществления валентность линкера равна

1-10. В конкретных вариантах осуществления валентность линкера равна 1-5. В конкретных вариантах осуществления валентность линкера равна 1, 2 или 3. В конкретных вариантах осуществления линкер ковалентно связывает одну или более групп CRBM и/или TNF-связывающего фрагмента, необязательно через CON, где сам линкер, необязательно, содержит одну или более групп CON.

В конкретных вариантах осуществления k' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15. В конкретных вариантах осуществления k' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 10. В конкретных вариантах осуществления k' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 5. В конкретных вариантах осуществления k' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 3. В конкретных вариантах осуществления k' равен 1, 2 или 3.

В конкретных вариантах осуществления j представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15. В конкретных вариантах осуществления j представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 10. В конкретных вариантах осуществления j представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 5. В конкретных вариантах осуществления j представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 3. В конкретных вариантах осуществления j равен 1, 2 или 3.

В конкретных вариантах осуществления h представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15. В конкретных вариантах осуществления h представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15. В конкретных вариантах осуществления h представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 10. В конкретных вариантах осуществления h представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 5. В конкретных вариантах осуществления h представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 3. В конкретных вариантах осуществления h равен 1, 2 или 3.

В конкретных вариантах осуществления h' представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15. В конкретных вариантах осуществления h' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15. В конкретных вариантах осуществления h' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 10. В конкретных вариантах осуществления h' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 5. В конкретных вариантах осуществления h' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 3. В конкретных вариантах осуществления h' равен 1, 2 или 3.

В конкретных вариантах осуществления i представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15. В конкретных вариантах осуществления i представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15. В конкретных вариантах осуществления i представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 10. В конкретных вариантах осуществления i представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 5. В конкретных вариантах осуществления i представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 3. В конкретных вариантах осуществления i равен 1, 2 или 3.

В конкретных вариантах осуществления по меньшей мере один из h, h’ и i равен по меньшей мере 1.

В конкретных вариантах осуществления каждый из k', j', h, h' и i независимо равен 1, 2 или 3.

В конкретных вариантах осуществления k' равен 1, и j' равен 1, 2 или 3.

В другом аспекте изобретение относится к соединению формулы (III), или его соли, геометрическому изомеру, стереоизомеру или сольвату:

$[AATM]_{k'}$-$[CON]_{h}$-[линкер]$_{i}$-$[CON]_{h'}$-$[CRBM]_{j'}$ (III).

В конкретных вариантах осуществления соединение представляет собой соединение формулы (IIIa), или его соль, геометрический изомер, стереоизомер или сольват:

$[AATM]$-$[CON]_{0-1}$-[линкер]-$[CON]_{0-1}$-$[CRBM]_{'}$ (IIIa).

В формуле (III) или (IIIa) AATM представляет собой лиганд аутоантитела. Этот лиганд может представлять собой, например, малую молекулу, пептид и/или аптамер нуклеиновой кислоты. В конкретных вариантах осуществления аутоантитело опосредует заболевание и/или нарушение у субъекта, и для лечения или контролирования заболевания и/или нарушения требуется деградация, удаление или уменьшение концентрации аутоантитела у субъекта. В конкретных вариантах осуществления AATM в формуле (III) или (IIIa) способен связывать аутоантитело в плазме крови субъекта с идентичной аффинностью, или практически аналогичной аффинностью, в сравнении с самим AATM.

В формуле (III) или (IIIa) CRBM представляет собой клеточный рецептор-связывающий фрагмент, который связывает по меньшей мере один рецептор на поверхности гепатоцитов или других осуществляющих деградацию клеток у субъекта, где связывание приводит к эндоцитозу и деградации (III) и/или (IIIa), и/или аутоантитела. В конкретных вариантах осуществления CRBM представляет собой ASGPRBM, который представляет собой клеточный рецептор-связывающий фрагмент, который связывает по меньшей мере один асиалогликопротеиновый рецептор на поверхности гепатоцитов или других осуществляющих деградацию клеток у субъекта.

В формуле (III) или (IIIa) каждый CON независимо представляет собой связь или группу, которая ковалентно связывает AATM с CRBM, AATM с линкером и/или линкер с CRBM.

В формуле (III) или (IIIa) линкер представляет собой группу с валентностью в диапазоне от 1 до 15. В конкретных вариантах осуществления валентность линкера равна 1-10. В конкретных вариантах осуществления валентность линкера равна 1-5. В конкретных вариантах осуществления валентность линкера равна 1, 2 или 3. В конкретных вариантах осуществления линкер ковалентно связывает одну или более групп CRBM и/или AATM, необязательно через CON, где сам линкер, необязательно, содержит одну или более групп CON.

В конкретных вариантах осуществления k' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15. В конкретных вариантах осуществления k' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 10. В конкретных вариантах осуществления k' представляет

собой целое число в диапазоне от 1 до 5. В конкретных вариантах осуществления k' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 3. В конкретных вариантах осуществления k' равен 1, 2 или 3.

В конкретных вариантах осуществления j представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15. В конкретных вариантах осуществления j представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 10. В конкретных вариантах осуществления j представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 5. В конкретных вариантах осуществления j представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 3. В конкретных вариантах осуществления j равен 1, 2 или 3.

В конкретных вариантах осуществления h представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15. В конкретных вариантах осуществления h представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15. В конкретных вариантах осуществления h представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 10. В конкретных вариантах осуществления h представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 5. В конкретных вариантах осуществления h представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 3. В конкретных вариантах осуществления h равен 1, 2 или 3.

В конкретных вариантах осуществления h' представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15. В конкретных вариантах осуществления h' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15. В конкретных вариантах осуществления h' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 10. В конкретных вариантах осуществления h' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 5. В конкретных вариантах осуществления h' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 3. В конкретных вариантах осуществления h' равен 1, 2 или 3.

В конкретных вариантах осуществления i представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15. В конкретных вариантах осуществления i представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15. В конкретных вариантах осуществления i представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 10. В конкретных вариантах осуществления i представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 5. В конкретных вариантах осуществления i представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 3. В конкретных вариантах осуществления i равен 1, 2 или 3.

В конкретных вариантах осуществления по меньшей мере один из h, h’ и i равен по меньшей мере 1.

В конкретных вариантах осуществления каждый из k’, j’, h, h’ и i независимо равен 1, 2 или 3.

В конкретных вариантах осуществления k’ равен 1, и j’ равен 1, 2 или 3.

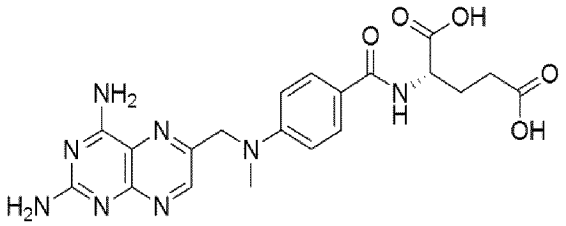
CRBM

Рецептор фолиевой кислоты (фолата):

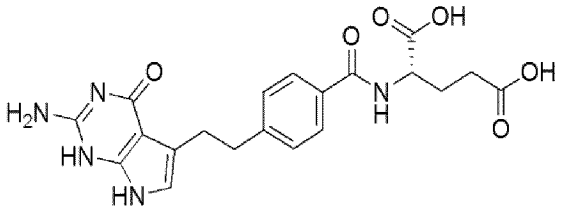
В конкретных вариантах осуществления CRBM представляет собой фолиевую кислоту, или любой ее фрагмент, или производное, который способен связывать рецептор фолиевой кислоты (фолата). Фолатные рецепторы связывают фолат и восстановленные

производные фолиевой кислоты, и опосредует доставку во внутреннюю часть клеток тетрагидрофолата, который затем превращается из моноглутаматной в полиглутаматную форму (такую как 5-метилтетрагидрофолат), поскольку лишь моноглутаматные формы могут переноситься через клеточные мембраны. Человеческие белки из этого семейства включают фолатный рецептор 1 (взрослых), фолатный рецептор 2 (эмбриональный) и фолатный рецептор-гамма.

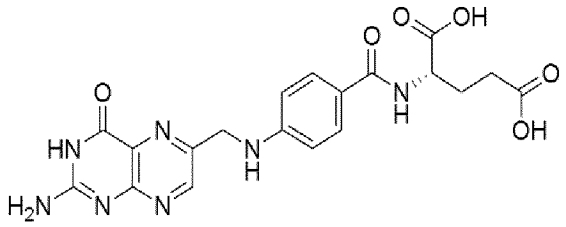
В конкретных вариантах осуществления фолиевая кислота CRBM включает метотрексат или его биологически активный фрагмент:



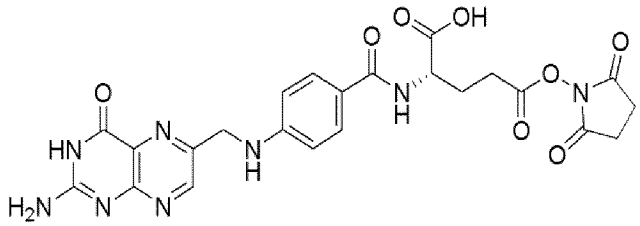
В конкретных вариантах осуществления фолиевая кислота CRBM включает пеметрексед или его биологически активный фрагмент:



В конкретных вариантах осуществления фолиевая кислота CRBM может быть включена в соединение по изобретению через одну из его карбоновых кислот, как показано на ФИГ. 1. В других вариантах осуществления фолиевая кислота CRBM может быть включена в соединение по изобретению при помощи N-гидроксисукцинимидил (NHS)-активированного фолата, как показано на ФИГ. 1 для фолиевой кислоты (аналогичная химическая реакция применима к метотрексату и пеметрекседу).



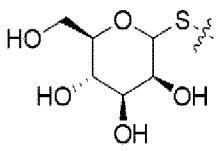
фолиевая кислота

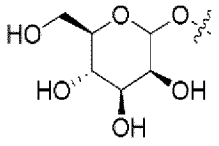


N-гидроксисукцинимидил-дериватизированная фолиевая кислота

Маннозный рецептор:

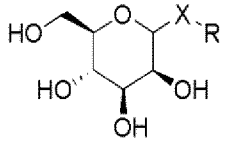
В конкретных вариантах осуществления CRBM представляет собой группу, которая связывает маннозный рецептор. В конкретных вариантах осуществления CRBM представляет собой группу:



или


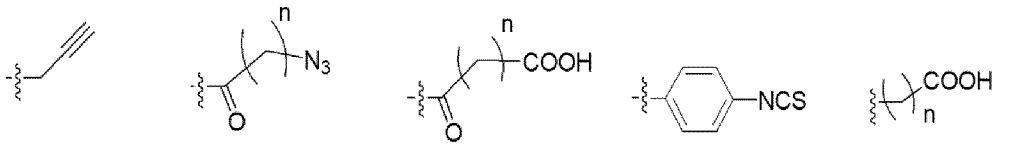
.

В конкретных вариантах осуществления маннозный рецептор-связывающий CRBM может быть присоединен к соединению по изобретению (такому как, но без ограничения, REAG) с использованием одного из следующих реагентов (которые могут быть, необязательно, защищены соответствующими защитными группами):



,

где X представляет собой S или O, где R выбран из группы, состоящей из:



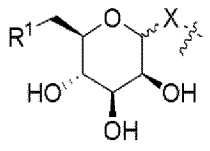
,

и где в каждом случае «n» независимо равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20.

В конкретных вариантах осуществления маннозный рецептор-связывающий CRBM является частью полимерной молекулы. Такая молекула может содержать один или более независимо выбранных маннозный рецептор-связывающих CRBM в виде части полимерной цепи. В конкретных вариантах осуществления CRBM включены в полимерную молекулу при помощи реагентов для CRBM, описанных в другом разделе настоящего документа.

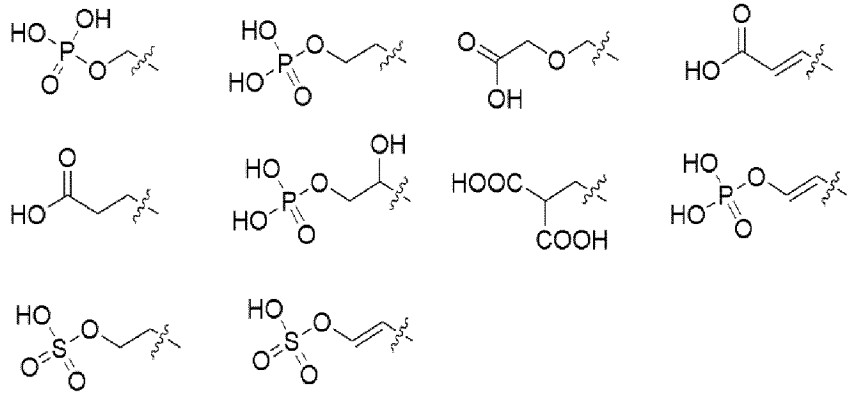
Манноза-6-Фосфатный (M6P) рецептор:

В конкретных вариантах осуществления CRBM представляет собой группу, которая связывает манноза-6-фосфатный (M6P) рецептор. В конкретных вариантах осуществления CRBM представляет собой группу:

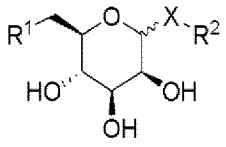


,

где X представляет собой O или S, и где R^1 выбран из группы, состоящей из:

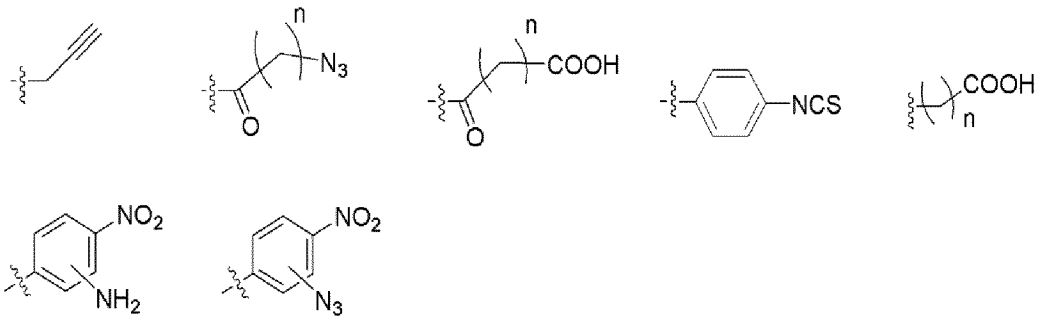


В конкретных вариантах осуществления CRBM может быть присоединен к соединению по изобретению (такому как, но без ограничения, REAG) с использованием одного из следующих реагентов (которые могут быть, необязательно, защищены соответствующими защитными группами):



,

где X и R^1 являются такими, как определено в другом разделе настоящего документа, где R^2 выбран из группы, состоящей из:

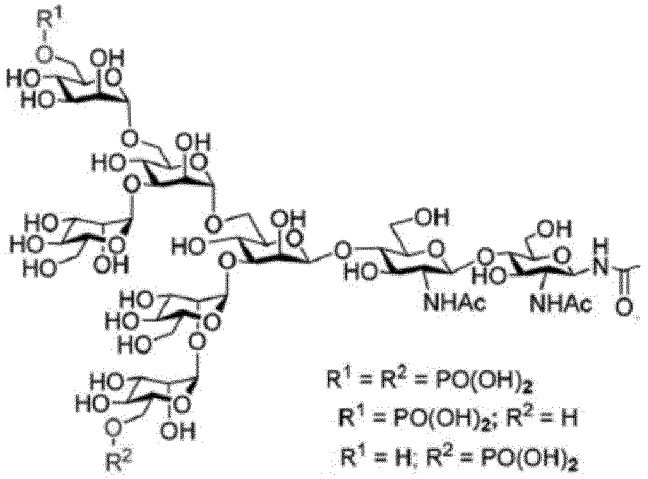


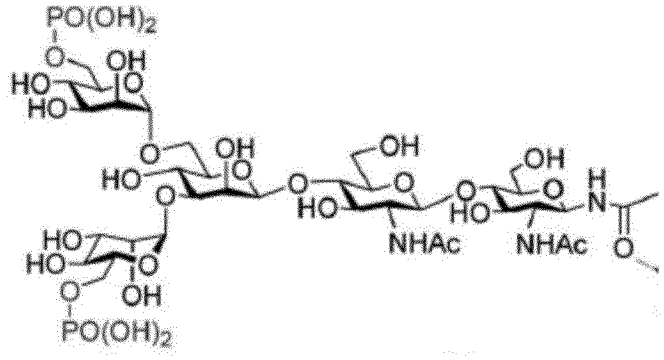
,

и где в каждом случае «n» независимо равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20.

В конкретных вариантах осуществления M6P рецептор-связывающий CRBM является частью полимерной молекулы. Такая молекула может содержать один или более независимо выбранных M6P рецептор-связывающих CRBM в виде части полимерной цепи. В конкретных вариантах осуществления CRBM включены в полимерную молекулу при помощи реагентов для CRBM, описанных в другом разделе настоящего документа. На ФИГ. 2-9 показаны иллюстративные маннозный рецептор-связывающие фрагменты и их получение.

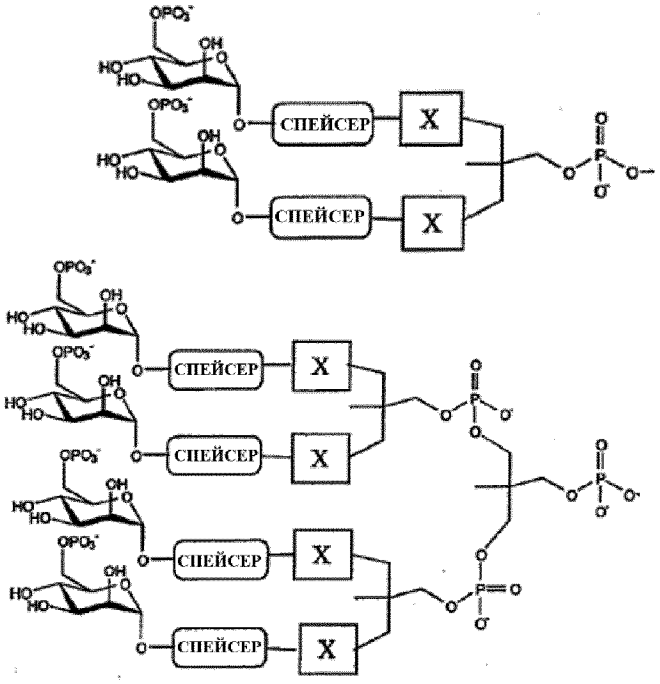
В конкретных вариантах осуществления M6P рецептор-связывающий CRBM имеет одну из следующих структур (Yamaguchi, et al., 2016, J. Am. Chem. Soc. 138(38):12472-12485):

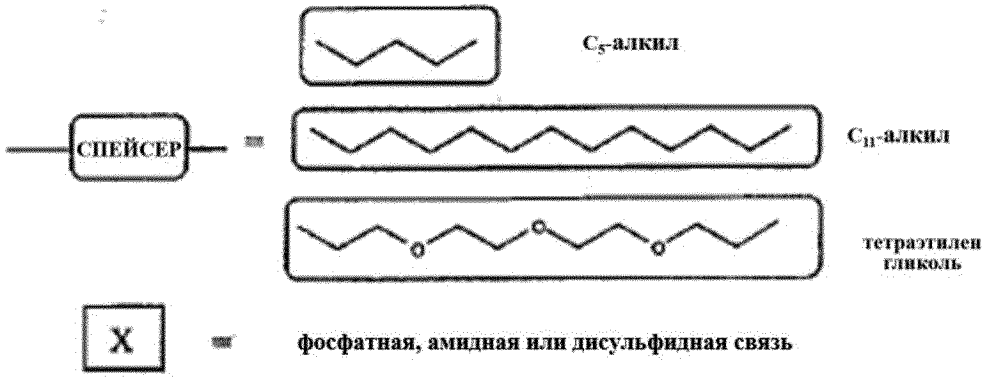




.

В конкретных вариантах осуществления M6P рецептор-связывающий CRBM имеет одну из следующих структур (US 2011/0110960, Platenburg):





***Родственный рецептору липопротеина низкой плотности рецептор-белок 1,* (LRP1):**

В конкретных вариантах осуществления CRBM представляет собой LRP1 [родственный рецептору липопротеина низкой плотности белок 1; также известный как рецептор альфа-2-макроглобулина (A2MR), рецептор аполипопротеина E (APOER) или кластер дифференцировки 91 (CD91)]-связывающую группу, имеющую одну из следующих аминокислотных последовательностей:

Ac-VKFNKPFVFLNleIEQNTK-NH_2 (SEQ ID NO: 1), Toldo et al., 2017, JACC: Basic to Translational Science 2,5:561-574;

VKFNKPFVFLMIEQNTK (SEQ ID NO: 2), Toldo et al., 2017, JACC: Basic to Translational Science 2,5:561-574;

TWPKHFDKHTFYSILKLGKH-OH (SEQ ID NO: 3), Sakamoto, et al., 2017, Biochemistry and biophysics reports 12:135-139;

Angiopep-2: TFFYGGSRGKRNNFKTEEY-OH (SEQ ID NO: 4), Sakamoto, et al., 2017, Biochemistry and biophysics reports 12:135-139;

LRKLRKRLLRDADDLLRKLRKRLLRDADDL (SEQ ID NO: 5), Croy, et al., 2004, Biochemistry 43,23:7328-7335;

TEELRVRLASHLRKLRKRLL (SEQ ID NO: 6), Croy, et al., 2004, Biochemistry 43,23:7328-7335;

Rap12: EAKIEKHNHYQK (SEQ ID NO: 7), Ruan, et al., 2018, Journal of Controlled Release 279:306-315;

Rap22: EAKIEKHNHYQKQLEIAHEKLR (SEQ ID NO: 8), Ruan, et al., 2018, Journal of Controlled Release 279:306-315; или

ANG: TFFYGGSRGKRNNFKTEEY (SEQ ID NO: 9) Kim, et al., 2016, Scientific reports 6:34297.

***Рецептор липопротеина низкой плотности* (LDLR):**

В конкретных вариантах осуществления CRBM представляет собой LDLR (рецептор липопротеина низкой плотности)-связывающую группу, имеющую одну из следующих аминокислотных последовательностей:

VH4127: cM-Thz-RLRG-Pen (циклизированный c-Pen) (SEQ ID NO: 10), Molino, et al., 2017, The FASEB Journal 31,5:1807-1827;

VH434: CMPRLRGC (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 11), Molino, et al., 2017, The FASEB Journal 31,5:1807-1827;

VH101: HLDCMPRGCFRN (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 12), David, et al., 2018, PloS one 13,2: 0191052;

VH202: CQVKSMPRC (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 13), David, et al., 2018, PloS one 13,2: 0191052;

VH203: CTTPMPRLC (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 14), David, et al., 2018, PloS one 13,2: 0191052;

VH204: CKAPQMPRC (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 15), David, et al., 2018, PloS one 13,2: 0191052;

VH205: CLNPSMPRC (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 16), David, et al., 2018, PloS one 13,2: 0191052;

VH306: CLVSSMPRC (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 17), David, et al., 2018, PloS one 13,2: 0191052;

VH307: CLQPMPRLC (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 18), David, et al., 2018, PloS one 13,2: 0191052;

VH308: CPVSSMPRC (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 19), David, et al., 2018, PloS one 13,2: 0191052;

VH309: CQSPMPRLC (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 20), David, et al., 2018, PloS one 13,2: 0191052;

VH310: CLTPMPRLC (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 21), David, et al., 2018, PloS one 13,2: 0191052;

VH411: DSGLCMPRLRGCDPR (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 22), David, et al., 2018, PloS one 13,2: 0191052;

VH549: TPSAHAMALQSLSVG (SEQ ID NO: 23), David, et al., 2018, PloS one 13,2: 0191052;

AcVH411: Ac-DSGLCMPRLRGCDPR-NH_2 (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 24), David, et al., 2018, PloS one 13,2: 0191052;

PrVH434: Pr-CMPRLRGC-NH_2 (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 25), David, et al., 2018, PloS one 13,2: 0191052;

VH445: Pr-cMPRLRGC-NH_2 (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 26), David, et al., 2018, PloS one 13,2: 0191052;

VH4127: Pr-cMThzRLRG-Pen-NH_2 (циклизированный C-Pen) (SEQ ID NO: 27), David, et al., 2018, PloS one 13,2: 0191052;

AcVH434: Ac-CMPRLGC-NH_2 (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 28), Jacquot, et al., 2016, Molecular pharmaceutics 13,12:4094-4105;

AcVH445: Ac-cMPRLRGC-NH_2 (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 29), Jacquot, et al., 2016, Molecular pharmaceutics 13,12:4094-4105;

VH4106: Ac-D-Pen-M-Thz-RLRGC-NH_2 (циклизированный Pen-C) (SEQ ID NO: 30), Jacquot, et al., 2016, Molecular pharmaceutics 13,12:4094-4105;

VH4127: Pr-cM-Thz-RLRG-Pen-NH_2 (циклизированный c-Pen) (SEQ ID NO: 31), Jacquot, et al., 2016, Molecular pharmaceutics 13,12:4094-4105;

VH4128: Pr-cM-Thz-RLR-Sar-Pen-NH_2 (циклизированный C-Pen) (SEQ ID NO: 32), Jacquot, et al., 2016, Molecular pharmaceutics 13,12:4094-4105;

VH4129: Pr-cM-Pip-RLR-Sar-C-NH_2 (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 33), Jacquot, et al., 2016, Molecular pharmaceutics 13,12:4094-4105;

VH4130: Pr-cM-Pip-RLRG-Pen-NH_2 (циклизированный c-Pen) (SEQ ID NO: 34), Jacquot, et al., 2016, Molecular pharmaceutics 13,12:4094-4105; или

VH4131: Pr-cM-Pip-RLR-Sar-Pen-NH_2 (циклизированный c-Pen) (SEQ ID NO: 35), Jacquot, et al., 2016, Molecular pharmaceutics 13,12:4094-4105.

***Рецептор* FcγRI:**

В конкретных вариантах осуществления CRBM представляет собой FcγRI-связывающую группу, имеющую одну из следующих аминокислотных последовательностей:

Cp22: TDTCLMLPLLLGCDEE (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 36), Bonetto, et al., 2009, The FASEB Journal 23,2:575-585;

Cp21: DPICWYFPRLLGCTTL (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 37), Bonetto, et al., 2009, The FASEB Journal 23,2:575-585;

Cp23: WYPCYIYPRLLGCDGD (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 38), Bonetto, et al., 2009, The FASEB Journal 23,2:575-585;

Cp24: GNICMLIPGLLGCSYE (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 39), Bonetto, et al., 2009, The FASEB Journal 23,2:575-585;

Cp33: VNSCLLLPNLLGCGDD (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 40), Bonetto, et al., 2009, The FASEB Journal 23,2:575-585;

Cp25: TPVCILLPSLLGCDTQ (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 41), Bonetto, et al., 2009, The FASEB Journal 23,2:575-585;

Cp26: TVLCSLWPELLGCPPE (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 42), Bonetto, et al., 2009, The FASEB Journal 23,2:575-585;

Cp27: TFSCLMWPWLLGCESL (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 43), Bonetto, et al., 2009, The FASEB Journal 23,2:575-585;

Cp32: FGTCYTWPWLLGCEGF (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 44), Bonetto, et al., 2009, The FASEB Journal 23,2:575-585;

Cp34: SLFCRLLLTPVGCVSQ (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 45), Bonetto, et al., 2009, The FASEB Journal 23,2:575-585;

P35: HLLVLPRGLLGCTTLA (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 46), Bonetto, et al., 2009, The FASEB Journal 23,2:575-585;

Cp28: TSLCSMFPDLLGCFNL (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 47), Bonetto, et al., 2009, The FASEB Journal 23,2:575-585;

Cp29: SHPCGRLPMLLGCAES (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 48), Bonetto, et al., 2009, The FASEB Journal 23,2:575-585;

P37: TSTCSMVPGPLGAVSTW (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 49), Bonetto, et al., 2009, The FASEB Journal 23,2:575-585;

Cp30: KDPCTRWAMLLGCDGE (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 50), Bonetto, et al., 2009, The FASEB Journal 23,2:575-585;

Cp31: IMTCSVYPFLLGCVDK (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 51), Bonetto, et al., 2009, The FASEB Journal 23,2:575-585;

Cp36: IHSCAHVMRLLGCWSR (циклизированный C-C) (SEQ ID NO: 52), Bonetto, et al., 2009, The FASEB Journal 23,2:575-585.

Трансферриновый рецептор:

В конкретных вариантах осуществления CRBM представляет собой трансферриновый рецептор-связывающую группу, имеющую одну из следующих аминокислотных последовательностей:

Tf1: CGGGPFWWWP (SEQ ID NO: 53), Santi, et al., 2016, Bioconjugate chemistry 28,2:471-480;

Tf2: CGGGHKYLRW (SEQ ID NO: 54), Santi, et al., 2016, Bioconjugate chemistry 28,2:471-480;

Tf3: CGGGKRIFMV (SEQ ID NO: 55), Santi, et al., 2016, Bioconjugate chemistry 28,2:471-480;

Tf2-scr: CGGGKWHYLR (SEQ ID NO: 56), Santi, et al., 2016, Bioconjugate chemistry 28,2:471-480;

TfR-T_{12}: THRPPMWSPVWP (SEQ ID NO: 57), Mu, et al., 2017, Scientific reports 7,1:3487;

HAIYPRH (SEQ ID NO: 74), Lee, et al., 2001, European journal of biochemistry 268,7:2004-2012);

THRPPMWSPVWP (SEQ ID NO: 58), Lee, et al., 2001, European journal of biochemistry 268,7:2004-2012);

THRPPMWSPVWP (SEQ ID NO: 59), Wängler, et al., 2011, Molecular Imaging и Biology 13,2:332-341.

Фагоцитарный рецептор макрофагов:

В конкретных вариантах осуществления CRBM представляет собой фагоцитарный рецептор макрофагов-связывающий фрагмент, имеющий одну из следующих аминокислотных последовательностей:

PP1: LSLERFLRCWSDAPA (SEQ ID NO: 60), Segers, et al., 2012, Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology 32,4:971-978;

PP1-13: LERFLRCWSDAPA (SEQ ID NO: 61), Segers, et al., 2012, Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology 32,4:971-978;

PP1-11: RFLRCWSDAPA (SEQ ID NO: 62), Segers, et al., 2012, Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology 32,4:971-978;

PP1-9: LRCWSDAPA (SEQ ID NO: 63), Segers, et al., 2012, Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology 32,4:971-978;

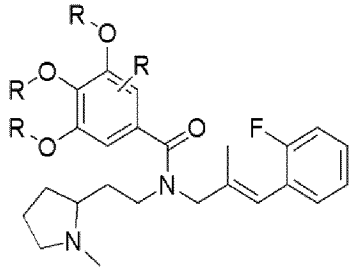
PP1-7: CWSDAPA (SEQ ID NO: 64), Segers, et al., 2012, Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology 32,4:971-978;

4F: DWFKAFYDKVAEKFKEAF (SEQ ID NO: 65), Neyen, et al., 2009, Biochemistry 48,50:11858-11871).

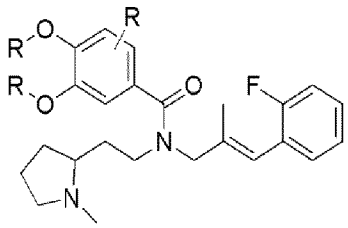
При использовании в настоящем документе Pen означает пеницилламин, Thz означает тиазолидин-4-карбоновую кислоту, Sar означает саркозин, Pip означает пипеколиновую кислоту, Nleu означает норлейцин и NMeLeu означает N-метиллейцин.

Связанный с G-белками рецептор:

В конкретных вариантах осуществления CRBM представляет собой связанный с G-белками рецептор (GPCR)-связывающий фрагмент. В конкретных вариантах осуществления связывающий фрагмент связывает GPCR и индуцирует интернализацию рецептора. В конкретных вариантах осуществления рецептор представляет собой CXCR7 (смотри, например, Nalawansha, et al., 2019, ACS Cent. Sci. 5(6):1079-1084). В конкретных вариантах осуществления связывающий фрагмент представляет собой:

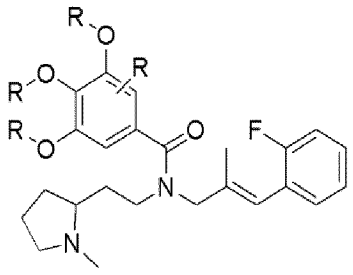


или

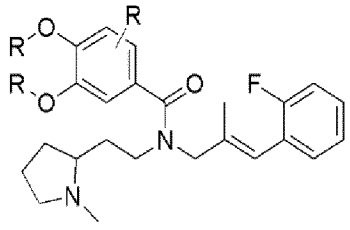


,

где в каждом случае R независимо представляет собой H или C_1-C_6 алкил. В конкретных вариантах осуществления CRBM может быть присоединен к соединению по изобретению (такому как, но без ограничения, REAG) с использованием одного из следующих реагентов (который может быть, необязательно, защищен соответствующими защитными группами):



или



,

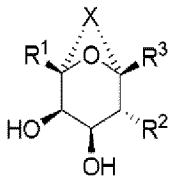
где по меньшей мере в одном случае R представляет собой REAG, и где в остальных случаях R независимо представляют собой H или C_1-C_6 алкил.

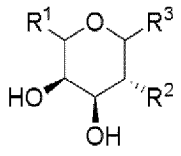
Асиалогликопротеиновый рецептор (ASGPR):

По изобретению предусмотрено применение ASGPR-связывающего фрагмента (ASGPRBM).

В конкретных вариантах осуществления группа ASGPRBM представляет собой любую группу, описанную в публикации Huang, et al., 2017, Bioconjugate Chem. 28:283-295, полное содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки.

В конкретных вариантах осуществления группа ASGPRBM имеет структуру:



или


,

где X представляет собой линкер длиной 1-4 атома и включает группы O, S, $N(R^{N1})$ или $C(R^{N1})(R^{N1})$, так что:

когда X представляет собой линкер длиной 1 атом, X представляет собой O, S, $N(R^{N1})$ или $C(R^{N1})(R^{N1})$,

когда X представляет собой линкер длиной 2 атома, не более чем 1 атом из X представляет собой O, S или $N(R^{N1})$,

когда X представляет собой линкер длиной 3 или 4 атома, не более чем 2 атома из X независимо представляют собой O, S или $N(R^{N1})$.

В конкретных вариантах осуществления в каждом случае R^{N1} независимо представляет собой H или C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами.

В конкретных вариантах осуществления X в ASGPRBM представляет собой -O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-O-, -S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-S-, -$N(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-$N(R^{N1})$- или -$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, когда X имеет длину 2 атома.

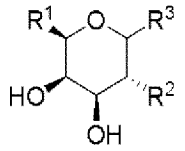
В конкретных вариантах осуществления X в ASGPRBM представляет собой -O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-O-, -O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-S-, -O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$N(R^{N1})$-, -S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-S, -S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-S-, -S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-O-, -S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$N(R^{N1})$-, -$N(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-$N(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$N(R^{N1})$-, -$N(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$N(R^{N1})$- или -$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$, когда X имеет длину 3 атома.

В конкретных вариантах осуществления X в ASGPRBM представляет собой -O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$N(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$- или -$C(R^{N1})(R^{N1})$-$N(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, когда X имеет длину 4 атома.

В конкретных вариантах осуществления X представляет собой OCH_2, и R^{N1} представляет собой H.

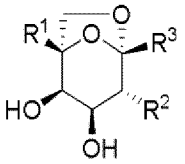
В конкретных вариантах осуществления X представляет собой CH_2O, и R^{N1} представляет собой H.

В конкретных вариантах осуществления ASGPRBM имеет структуру:



.

В конкретных вариантах осуществления ASGPRBM имеет структуру:



.

В конкретных вариантах осуществления R^1 представляет собой группу, изображенную на ФИГ. 10. В конкретных вариантах осуществления R^3 представляет собой группу, изображенную на ФИГ. 10. В конкретных вариантах осуществления каждый из R^1 и R^3 независимо представляет собой группу, изображенную на ФИГ. 10.

В конкретных вариантах осуществления каждый из R^1 и R^3 независимо представляет собой H, $-(CH_2)_KOH$, $-(CH_2)_KO(C_1\text{-}C_4$ алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, $C_1\text{-}C_4$ алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, $-(CH_2)_K$(винил), $-O(CH_2)_K$(винил), $-(CH_2)_K$(алкинил), $-(CH_2)_KCOOH$, $-(CH_2)_KC(=O)O(C_1\text{-}C_4$ алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, $-OC(=O)(C_1\text{-}C_4$ алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, или $-C(=O)(C_1\text{-}C_4$ алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена.

В конкретных вариантах осуществления каждый из R^1 и R^3 независимо представляет собой $Ph(CH_2)_K$-, который необязательно замещен 1-3 независимо выбранными атомами галогена; $C_1\text{-}C_4$ алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами; или $C_1\text{-}C_4$ алкокси, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами.

В конкретных вариантах осуществления каждый из R^1 и R^3 независимо представляет собой группу со структурой

$-O-(CH_2)_K-CH(OH)-(CH_2)K'-R^7$,

где R^7 представляет собой $C_1\text{-}C_4$ алкокси, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами; $-NR^{N3}R^{N4}$; или $-(CH_2)_{K'}-O-(CH_2)_K-CH_2-CH=CH_2$.

В конкретных вариантах осуществления K равен 0. В конкретных вариантах осуществления K равен 1. В конкретных вариантах осуществления K равен 2. В конкретных вариантах осуществления K равен 3. В конкретных вариантах осуществления K равен 4.

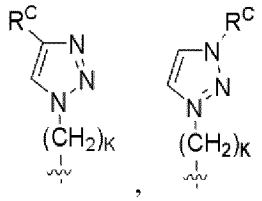
В конкретных вариантах осуществления K' равен 1. В конкретных вариантах осуществления K' равен 2. В конкретных вариантах осуществления K' равен 3. В

конкретных вариантах осуществления K' равен 4.

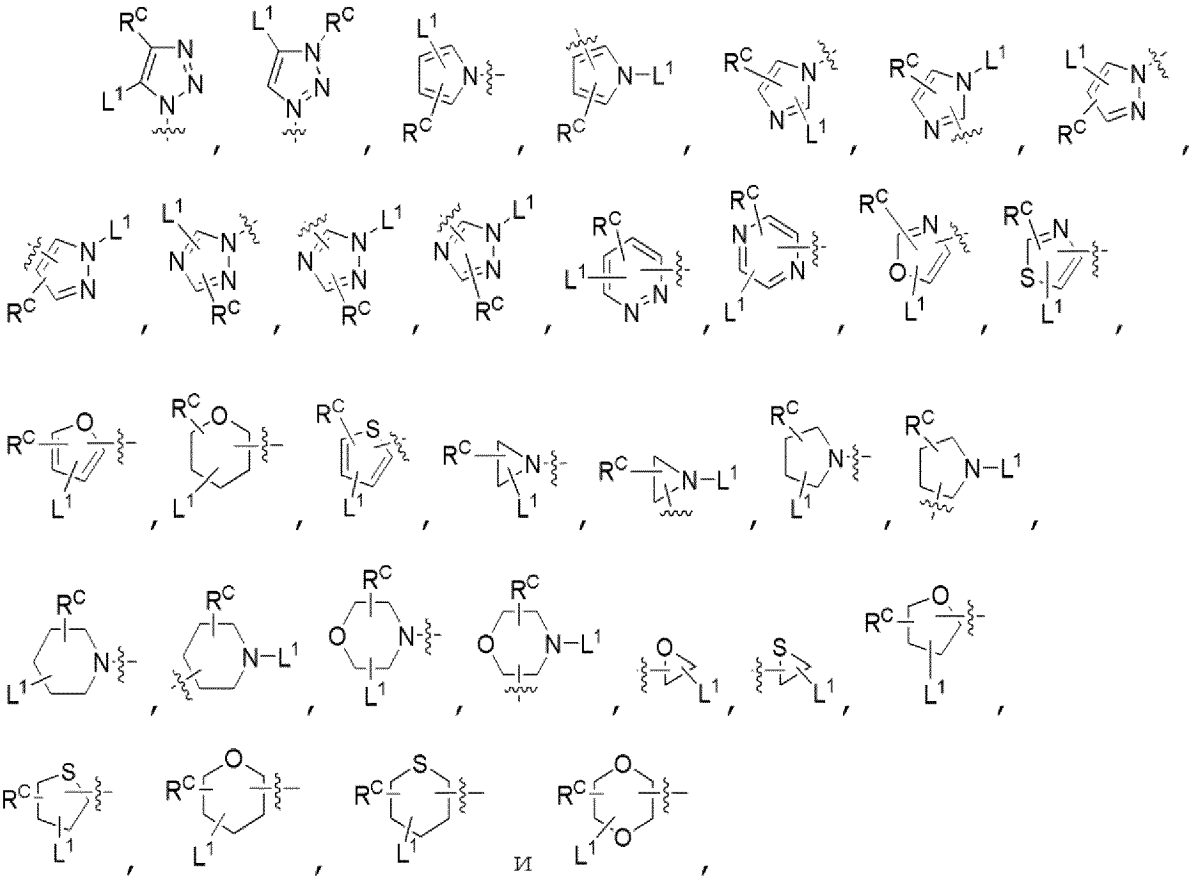
В конкретных вариантах осуществления в каждом случае R^{N3} независимо представляет собой H или C_1-C_3 алкил. В конкретных вариантах осуществления в каждом случае R^{N3} независимо представляет собой H или C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами;

В конкретных вариантах осуществления в каждом случае R^{N4} независимо представляет собой H, C_1-C_3 алкил или Ph-$(CH_2)_K$-. В конкретных вариантах осуществления в каждом случае R^{N4} независимо представляет собой H, C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами, или Ph-$(CH_2)_K$-.

В конкретных вариантах осуществления каждый из R^1 и R^3 независимо выбран из группы, состоящей из:

-$(CH_2)_K$OH,  , L^1-≡-, L^1-$(CH_2)_K$- и CYC-$(CH_2)_K$-,

где CYC выбран из группы, состоящей из:

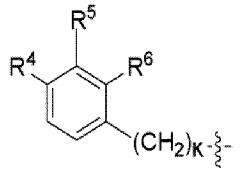


где связь, отмеченная 〰, указывает на участок CYC, с которым связан -$(CH_2)_K$.

В конкретных вариантах осуществления L^1 представляет собой связь, -линкер, -COH-линкер или -COH-линкер-CON. В конкретных вариантах осуществления L^1

представляет собой связь. В конкретных вариантах осуществления L^1 представляет собой -линкер. В конкретных вариантах осуществления L^1 представляет собой -COH-линкер. В конкретных вариантах осуществления L^1 представляет собой -COH-линкер-CON.

В конкретных вариантах осуществления R^C отсутствует, представляет собой H, C_1-C_4 алкил, необязательно замещенный 1-3 необязательно замещенными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами, или группу со структурой:

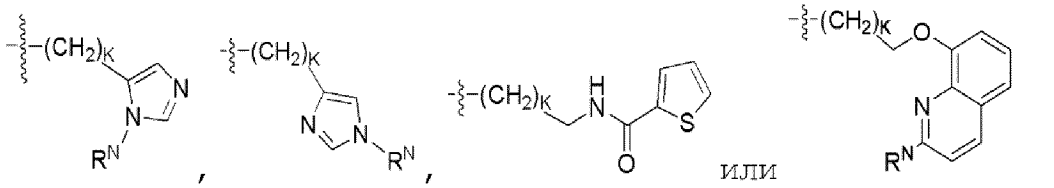


,

где каждый из R^4, R^5 и R^6 независимо представляет собой H, F, Cl, Br, I, CN, $NR^{N1}R^{N2}$, -$(CH_2)_K$OH, -$(CH_2)_K$O(C_1-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, C_1-C_3-алкокси, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, -$(CH_2)_K$COOH, -$(CH_2)_K$C(=O)O-(C_1-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, O-C(=O)-(C_1-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, или -C(=O)-(C_1-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена.

В конкретных вариантах осуществления в каждом случае R^{N2} независимо представляет собой H или C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами.

В конкретных вариантах осуществления R^C представляет собой



.

В конкретных вариантах осуществления каждый из R^1 и R^3 независимо представляет собой (C_3-C_8 насыщенный карбоцикл)-$(CH_2)_K$-, где карбоцикл дополнительно замещен -L^1 и -R^C.

В конкретных вариантах осуществления в каждом случае R^N независимо представляет собой H или C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами.

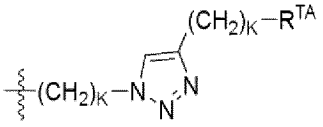
В конкретных вариантах осуществления R^2 представляет собой группу, изображенную на ФИГ. 11.

В конкретных вариантах осуществления R^2 представляет собой -$(CH_2)_K$-N(R^{N1})-C(=O)R^{AM}.

В конкретных вариантах осуществления R^{AM} представляет собой H, C_1-C_4 алкил,

необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами, -$(CH_2)_K$COOH, -$(CH_2)_K$C(=O)O(C_1-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, -OC(=O)(C_1-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, -C(=O)(C_1-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, или -$(CH_2)_K$-$NR^{N3}R^{N4}$.

В конкретных вариантах осуществления R^2 представляет собой



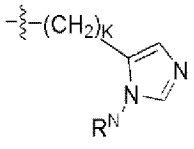
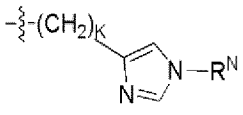
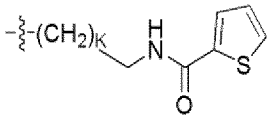
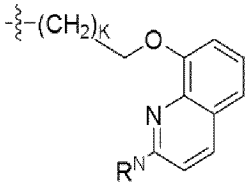
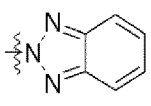
, где:

R^{TA} представляет собой H, CN, $NR^{N1}R^{N2}$, -$(CH_2)_K$OH, -$(CH_2)_K$O(C_1-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, C_1-C_4 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, -$(CH_2)_K$COOH, -$(CH_2)_K$C(=O)O(C_1-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, -OC(=O)(C_1-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, или -C(=O)(C_1-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена,

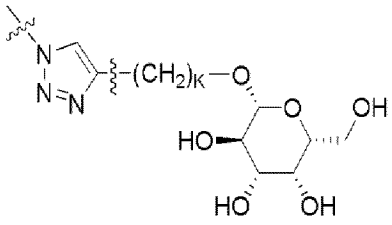
или

R^{TA} представляет собой C_3-C_{10} арил или 3-10-членную гетероарильную группу, содержащую 1-5 не углеродных атомов кольца, при этом каждая из арильной или гетероарильной группы необязательно замещена 1-3 группами, независимо выбранными из CN, $NR^{N1}R^{N2}$, -$(CH_2)_K$OH, -$(CH_2)_K$O(C_1-C_4 алкила), необязательно замещенного 1-3 независимо выбранными атомами галогена, C_1-C_3 алкила, необязательно замещенного 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами, -(C_1-C_3-алкокси), необязательно замещенного 1-3 независимо выбранными атомами галогена, -$(CH_2)_K$COOH, -$(CH_2)_K$C(=O)O-(C_1-C_4 алкила), необязательно замещенного 1-3 независимо выбранными атомами галогена, -OC(=O)(C_1-C_4 алкила), необязательно замещенного 1-3 независимо выбранными атомами галогена, или -$(CH_2)_K$C(=O)-(C_1-C_4 алкила), необязательно замещенного 1-3 независимо выбранными атомами галогена,

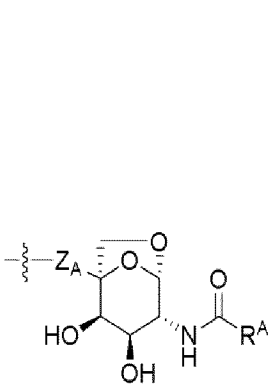
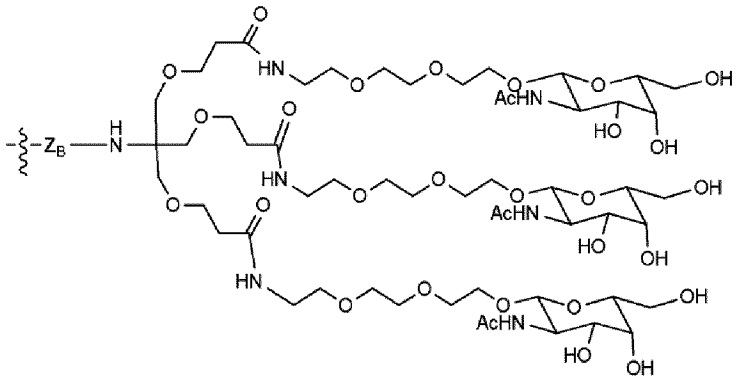
или

R^{TA} представляет собой  ,  ,  ,  или  , необязательно замещенный 1-3 C_1-C_3 алкильными группами, необязательно замещенными 1-3 независимо выбранными атомами галогена,

или

R^{TA} представляет собой  , где каждая $-(CH_2)_K$ группа необязательно замещена 1-4 C_1-C_3 алкильными группами, необязательно замещенными 1-3 группами фтора или 1-2 гидроксильными группами.

В конкретных вариантах осуществления группа ASGPRBM имеет структуру:

 или  ;

где:

R^A представляет собой C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-5 независимо выбранными атомами галогена;

Z_A представляет собой $-(CH_2)_{IM}-$, $-O-(CH_2)_{IM}-$, $-S-(CH_2)_{IM}-$, $-NR^M-(CH_2)_{IM}-$, $-C(=O)-(CH_2)_{IM}-$, PEG-группу, содержащую от 1 до 8 остатков этиленгликоля, или $-C(O)(CH_2)_{IM}NR^M-$;

Z_B отсутствует, представляет собой $-(CH_2)_{IM}-$, $-C(=O)-(CH_2)_{IM}-$ или $-C(=O)(CH_2)_{IM}-NR^M-$;

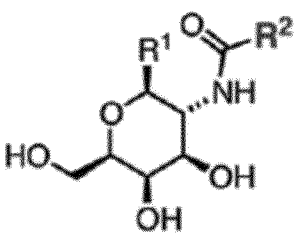
R^M представляет собой H или C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-2 гидроксильными группами; и

в каждом случае IM независимо равен 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6.

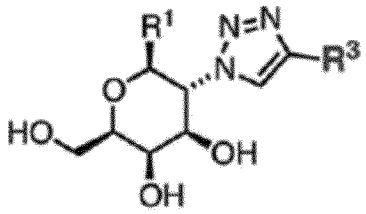
В конкретных вариантах осуществления R^A представляет собой метил или этил, каждый из которых необязательно замещен 1-3 атомами фтора.

В конкретных вариантах осуществления Z_A представляет собой PEG-группу, содержащую от 1 до 4 остатков этиленгликоля.

В конкретных вариантах осуществления группа ASGPRBM имеет одну из следующих структур (Mamidyala, et al., 2012, J. Am. Chem. Soc. 134:1978-1981):



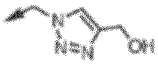
3

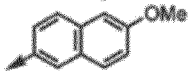
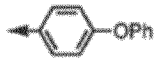
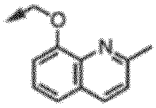


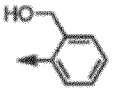
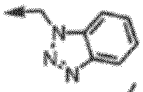
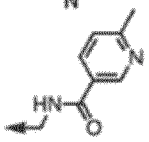
4

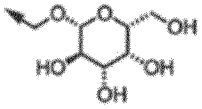
	R¹
a	Me
b	4-OMePh

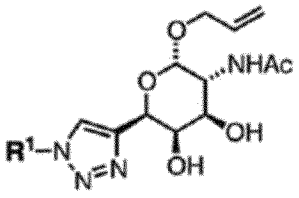
#	R²
1	Me
2	*n*-C_3H_7
3	*i*-Pr
4	*t*-Bu
5	CCl_3
6	CF_3
7	Ot-Bu
8	CH_2CO_2H

#	R²
9	CH_2NH_2
10	CH_2CF_3
11	2-фурил
12	Ph
13	4-OMePh
14	3-OMePh
15	4-CNPh
16	3-пиридил
17	

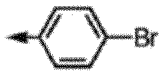
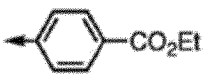
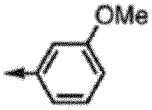
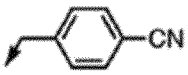
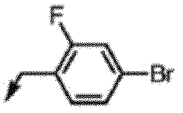
#	R³
1	Ph
2	4-OMePh
3	3-OMePh
4	3-NH_2Ph
5	4-NMe_2Ph
6	2-пиридил
7	
8	
9	

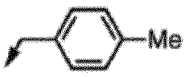
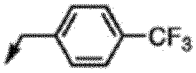
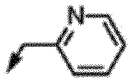
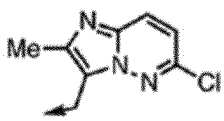
#	R³
10	
11	
12	
13	

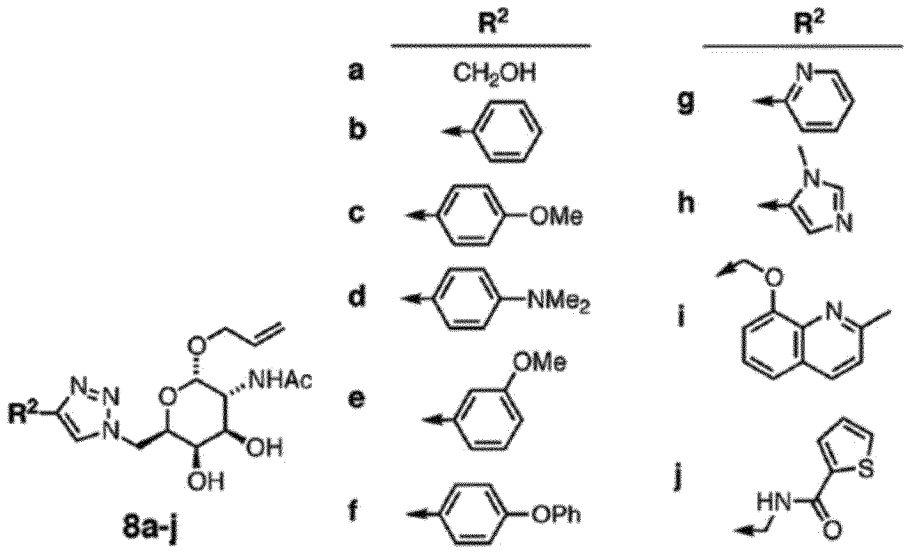
#	R³
14	
15	CH_2OH
16	CH_2NH_2
17	CH_2NHMe
18	CH_2NMe_2
19	CO_2H
20	$CH_2NHCOPh$
21	$CH_2NHCOMe$

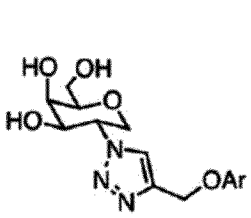


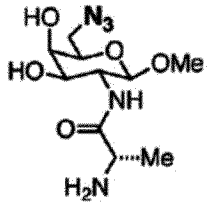
6a-j

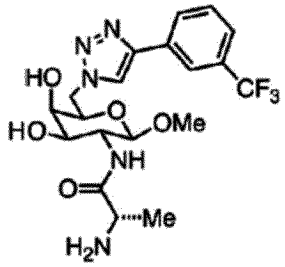
	R¹
a	Me
b	
c	
d	
e	
f	

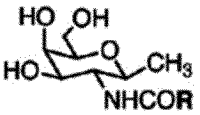
	R¹
g	
h	
i	
j	

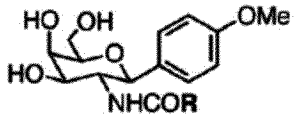




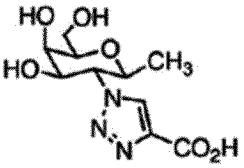


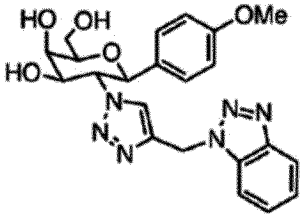


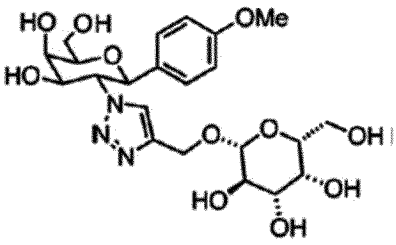


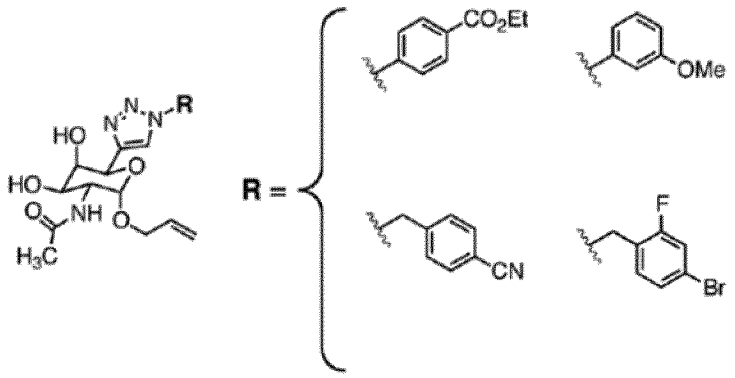


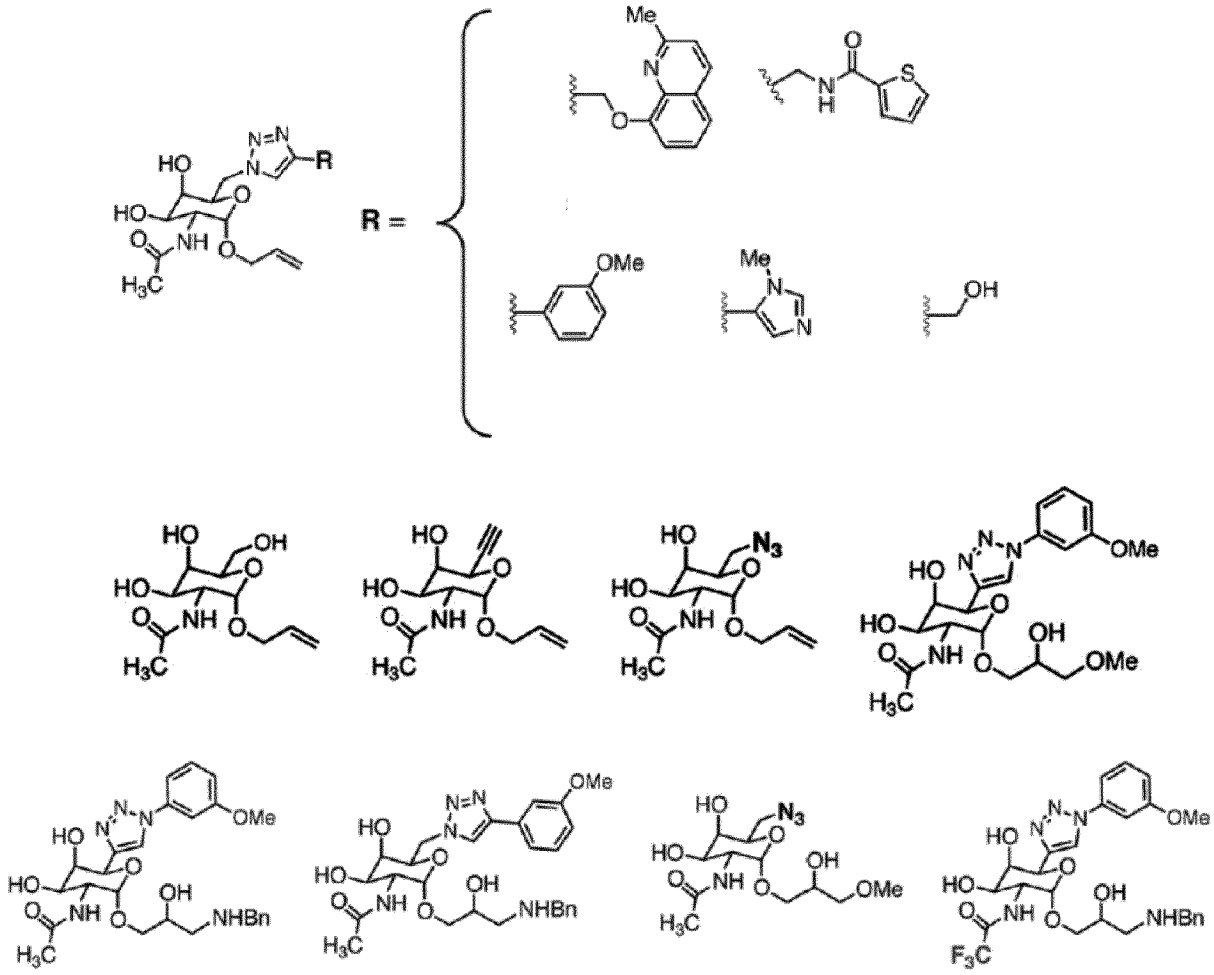
R=CH_3, CF_3 или CH_2CF_3;





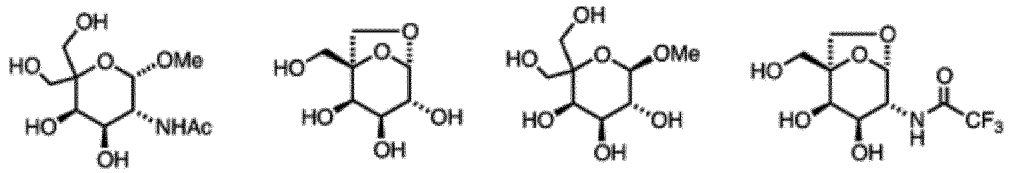


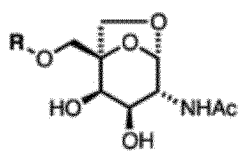




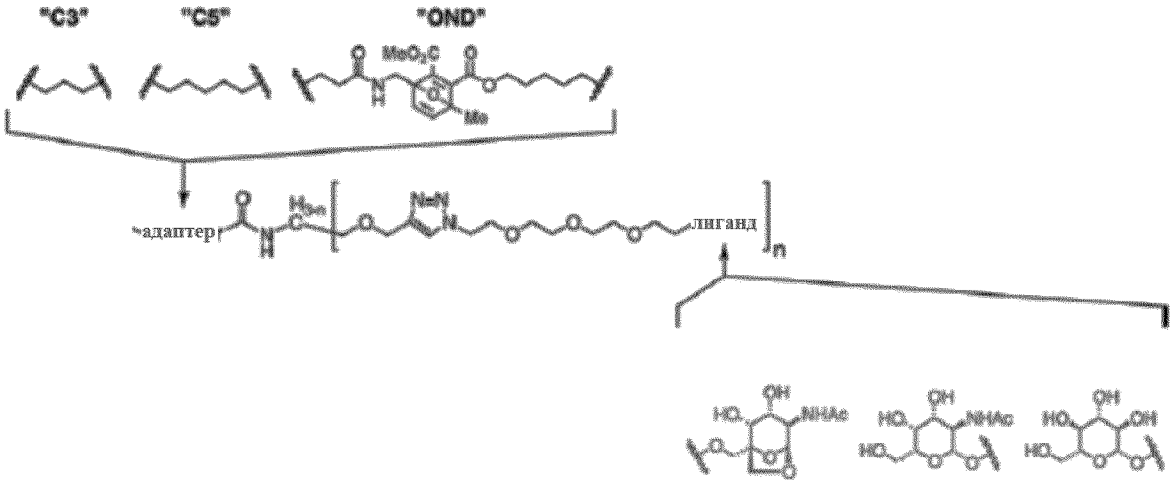
.

В конкретных вариантах осуществления группа ASGPRBM имеет одну из следующих структур (Sanhueza, et al., 2017, J. Am. Chem. Soc. 139:3528-3536):





	R
16a	Et
16b	*n*-C_3H_7
16c	*n*-C_4H_9
16d	*n*-C_5H_{11}
16e	*n*-C_6H_{13}
16f	$(CH_2CH_2O)_4Me$



***Линкер и* CON**

В конкретных вариантах осуществления линкер представляет собой полиэтиленгликоль-содержащий линкер, имеющий 1-12 остатков этиленгликоля.

В конкретных вариантах осуществления линкер имеет структуру: -$CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_mOCH_2$-, -$(CH_2)_mCH_2$-, -$[N(R^a)$-$CH(R^b)(C=O)]_m$-, либо полипропиленгликолевой или полипропилен-ко-полиэтиленгликолевой группы, содержащей 1-100 алкиленгликолевых единиц;

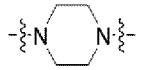
где каждый R^a независимо представляет собой H, C_1-C_3 алкил или C_1-C_6 алканол, или в сочетании с R^b образует пирролидиновую или гидроксипирролиновую группу;

где каждый R^b независимо выбран из группы, состоящей из водорода, метила, изопропила, -$CH(CH_3)CH_2CH_3$, -$CH_2CH(CH_3)_2$, -$(CH_2)_3$-гуанидина, -$CH_2C(=O)NH_2$, -$CH_2C(=O)OH$, -CH_2SH, -$(CH_2)_2C(=O)NH_2$, -$(CH_2)_2C(=O)OH$, -(CH_2)имидазола, -$(CH_2)_4NH_2$, -$CH_2CH_2SCH_3$, бензила, -CH_2OH, -$CH(OH)CH_3$, -(CH_2)имидазола или -(CH_2)фенола; и

где m представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15.

В конкретных вариантах осуществления линкер имеет структуру -$[N(R'$-$(CH_2)_{1-15}$-$C(=O)]$-, где R' представляет собой H или C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-2 гидроксильными группами, и m представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 100.

В конкретных вариантах осуществления линкер имеет структуру -Z-D-Z'-, где:

каждый из Z и Z' независимо представляет собой связь, -$(CH_2)_i$-O-, -$(CH_2)_i$-S-, -$(CH_2)_i$-N(R)-,  , -$(CH_2)_i$-$C(R^2)=C(R^2)$- (цис или транс), -$(CH_2)_i$-≡- или -Y-C(=O)-Y-;

каждый R независимо представляет собой H, C_1-C_3 алкил или C_1-C_6 алканол;

каждый R^2 независимо представляет собой H или C_1-C_3 алкил;

каждый Y независимо представляет собой связь, O, S или N(R);

каждый i независимо равен 0-100; в конкретных вариантах осуществления 0-75; в конкретных вариантах осуществления 1-60; в конкретных вариантах осуществления 1-55; в конкретных вариантах осуществления 1-50; в конкретных вариантах осуществления 1-45; в конкретных вариантах осуществления 1-40; в конкретных вариантах осуществления

2-35; в конкретных вариантах осуществления 3-30; в конкретных вариантах осуществления 1-15; в конкретных вариантах осуществления 1-10; в конкретных вариантах осуществления 1-8; в конкретных вариантах осуществления 1-6; в конкретных вариантах осуществления 0, 1, 2, 3, 4 или 5;

D представляет собой связь, $-(CH_2)_i-Y-C(=O)-Y-(CH_2)_i-$, $-(CH_2)_{m'}-$ или $-[(CH_2)_n-X_1)]_j-$, при условии, что все из Z, Z' и D одновременно не являются связями;

X^1 представляет собой O, S или N(R);

j представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 100; в конкретных вариантах осуществления 1-75; в конкретных вариантах осуществления 1-60; в конкретных вариантах осуществления 1-55; в конкретных вариантах осуществления 1-50; в конкретных вариантах осуществления 1-45; в конкретных вариантах осуществления 1-40; в конкретных вариантах осуществления 2-35; в конкретных вариантах осуществления 3-30; в конкретных вариантах осуществления 1-15; в конкретных вариантах осуществления 1-10; в конкретных вариантах осуществления 1-8; в конкретных вариантах осуществления 1-6; в конкретных вариантах осуществления 1, 2, 3, 4 или 5;

m' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 100; в конкретных вариантах осуществления 1-75; в конкретных вариантах осуществления 1-60; в конкретных вариантах осуществления 1-55; в конкретных вариантах осуществления 1-50; в конкретных вариантах осуществления 1-45; в конкретных вариантах осуществления 1-40; в конкретных вариантах осуществления 2-35; в конкретных вариантах осуществления 3-30; в конкретных вариантах осуществления 1-15; в конкретных вариантах осуществления 1-10; в конкретных вариантах осуществления 1-8; в конкретных вариантах осуществления 1-6; в конкретных вариантах осуществления 1, 2, 3, 4 или 5;

n представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 100; в конкретных вариантах осуществления 1-75; в конкретных вариантах осуществления 1-60; в конкретных вариантах осуществления 1-55; в конкретных вариантах осуществления 1-50; в конкретных вариантах осуществления 1-45; в конкретных вариантах осуществления 1-40; в конкретных вариантах осуществления 2-35; в конкретных вариантах осуществления 3-30; в конкретных вариантах осуществления 1-15; в конкретных вариантах осуществления 1-10; в конкретных вариантах осуществления 1-8; в конкретных вариантах осуществления 1-6; в конкретных вариантах осуществления 1, 2, 3, 4 или 5.

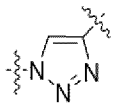
В конкретных вариантах осуществления линкер имеет структуру:

$-CH_2-(OCH_2CH_2)_n-CH_2-$, $-(CH_2CH_2O)_{n'}CH_2CH_2-$ или $-(CH_2CH_2CH_2O)_n-$,

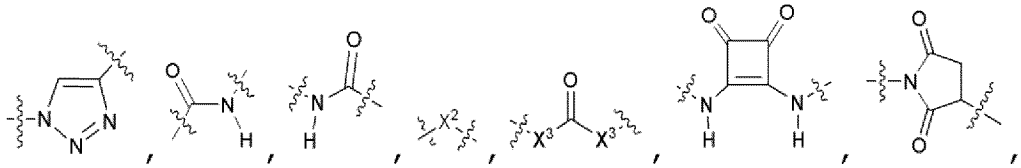
где каждый n и n' независимо представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 25; в конкретных вариантах осуществления 1-15; в конкретных вариантах осуществления 1-12; в конкретных вариантах осуществления 2-11; в конкретных вариантах осуществления 2-10; в конкретных вариантах осуществления 2-8; в конкретных вариантах осуществления 2-6; в конкретных вариантах осуществления 2-5; в конкретных вариантах осуществления 2-4; в конкретных вариантах осуществления 2 или 3; в конкретных вариантах осуществления 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8.

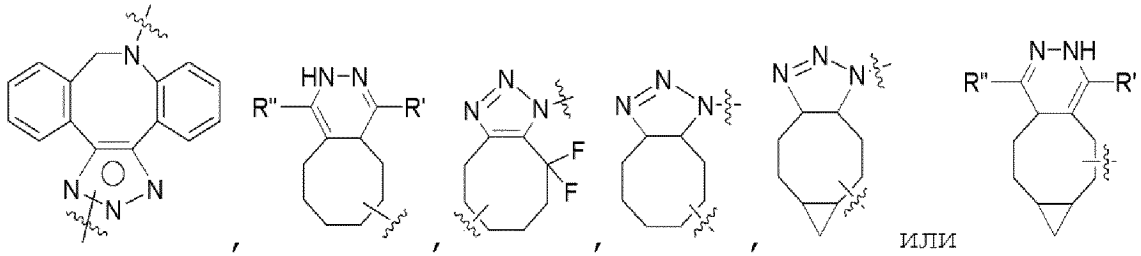
В конкретных вариантах осуществления линкер имеет структуру:

-PEG-COH-PEG-,

где каждый PEG независимо представляет собой полиэтиленгликолевую группу, содержащую 1-12 остатков этиленгликоля, и CON представляет собой триазольную группу  .

В конкретных вариантах осуществления CON имеет структуру:





где каждый из R' и R" независимо представляет собой H, метил или связь.

В конкретных вариантах осуществления CON имеет диамидную структуру:

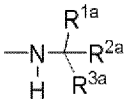
-C(=O)-N(R^1)-(CH_2)$_{n"}$-N(R^1)C(=O)-,

-N(R^1)-C(=O)(CH_2)$_{n"}$-C(=O)N(R^1)- или

-N(R^1)-C(=O)(CH_2)$_{n"}$-N(R^1)C(=O) -;

где каждый R^1 независимо представляет собой H или C_1-C_3 алкил, и n" независимо представляет собой целое число от 0 до 8, в конкретных вариантах осуществления 1-7, в конкретных вариантах осуществления 1, 2, 3, 4, 5 или 6.

В конкретных вариантах осуществления CON имеет структуру:

 , где:

каждый из R^{1a}, R^{2a} и R^{3a} независимо представляет собой H, -(CH_2)$_{M1}$-, -(CH_2)$_{M2}$C(=O)$_{M3}$(NR^4)$_{M3}$-(CH_2)$_{M2}$-, -(CH_2)$_{M2}$(NR^4)$_{M3}$C(O)$_{M3}$-(CH_2)$_{M2}$- или -(CH_2)$_{M2}$O-(CH_2)$_{M1}$-C(O)NR^4-, при условии, что R^{1a}, R^{2a} и R^{3a} одновременно не являются H;

каждый M1 независимо равен 1, 2, 3 или 4; в конкретных вариантах осуществления 1 или 2;

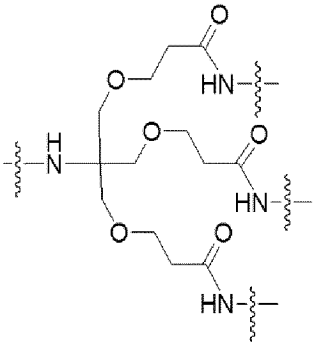
каждый M2 независимо равен 0, 1, 2, 3 или 4; в конкретных вариантах осуществления 0, 1 или 2;

каждый M3 независимо равен 0 или 1; и

каждый R^4 независимо представляет собой H, C_1-C_3 алкил, C_1-C_6 алканол или -

C(=O)(C_1-C_3 алкил), при условии, что M2 и M3 в одном и том же R^{1a}, R^{2a} и R^{3a} одновременно не могут быть равны 0.

В конкретных вариантах осуществления CON имеет структуру:



Белок-связывающие фрагменты

Любой белок-связывающий фрагмент, который связывает интересующий белок (который в конкретных вариантах осуществления представляет собой циркулирующий белок), может быть использован в формуле (I) и формуле (Ia) по настоящему изобретению. В конкретных неограничивающих вариантах осуществления связывающий фрагмент представляет собой малую молекулу. В конкретных неограничивающих вариантах осуществления связывающий фрагмент представляет собой пептид и/или полипептид.

Белок-связывающий фрагмент может быть включен в соединения формулы (I) и/или формулы (Ia) с использованием любых способов, известных в данной области, и/или любых способов, описанных или проиллюстрированных в настоящем документе. Например, белок-связывающий фрагмент может быть присоединен к линкеру и/или CON с использованием амидного связывания, сложноэфирного связывания, нуклеофильного вытеснения, электрофильного вытеснения, радикального связывания или любого другого метода синтеза, известного в данной области. Положение присоединения белок-связывающего фрагмента должно быть таким, чтобы присоединенный белок-связывающий фрагмент в формуле (I) или формуле (Ia) все еще был способен связывать интересующий белок. Путем стандартного экспериментирования, ожидаемого от, и известного для, специалиста в данной области, может быть подобран способ связывания белок-связывающего фрагмента с интересующим белком и выявлены потенциальные сайты присоединения на белок-связывающем фрагменте, и/или присоединения белок-связывающего фрагмента к CON и/или линкеру, и выяснено, нарушает ли такое присоединение связывание белок-связывающего фрагмента с интересующим белком.

В конкретных вариантах осуществления белок-связывающий фрагмент представляет собой антитело, такое как, но без ограничения, моноклональные антитело. Интересующее антитело может быть включено в соединения формулы (I) или формулы (Ia) с использованием любых способов, известных в данной области, и/или любых способов, описанных или проиллюстрированных в настоящем документе. Например, антитело может быть присоединено к линкеру и/или CON через группу карбоновой

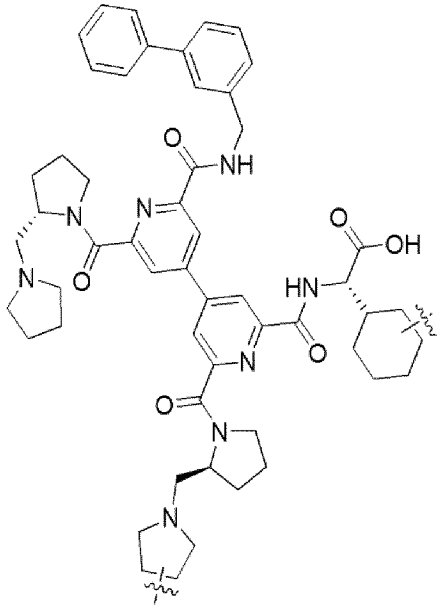
кислоты на поверхности антитела, с использованием, например, химии образования амидов или сложных эфиров. Например, антитело может быть присоединено к линкеру и/или CON через аминогруппу на поверхности антитела, с использованием, например, химии образования амидов. Например, антитело может быть присоединено к линкеру и/или CON через тиоловую группу на поверхности антитела с использованием, например, химии нуклеофильного замещения. В этом случае поверхностный остаток цистеина может присутствовать в форме дикого типа антитела и/или может быть введен путем мутации с использованием, например, сайт-направленного мутагенеза. Линкер и/или CON, полезный по изобретению, может представлять собой любой линкер, известный в данной области, при условии, что присутствие линкера существенно не нарушает способность антитела к связыванию интересующего белка.

В конкретных вариантах осуществления белок-связывающий фрагмент представляет собой полипептид. Интересующий полипептид может быть включен в соединения формулы (I) или формулы (Ia) с использованием любых способов, известных в данной области, и/или любых способов, описанных или проиллюстрированных в настоящем документе. Например, полипептид может быть присоединен к линкеру и/или CON через его C-конец и/или его N-конец, с использованием, например, химии образования амидов или сложных эфиров. Например, полипептид может быть присоединен к линкеру и/или CON через любой промежуточный остаток с использованием, например, химии образования амидов или сложных эфиров и/или химии нуклеофильного замещения (например, если полипептид имеет тиоловый остаток). Полипептид может быть синтезирован стандартным методом Fmoc-SPPS. Введение линкера на N- или C-конец, с последующей функциональной обработкой (N_3, алкин и так далее), позволяет выполнять простое связывание с направляющим доменом.

Белок-связывающие фрагменты, имеющие белковую основу, такие как антитела, полипептиды и тому подобное, могут быть синтезированы различными методами, хорошо известными в данной области, такими как экспрессия в E. coli для тех белков, которые не требуют посттрансляционной модификации (ПТМ), или в культуре клеток млекопитающих для тех белков, для которых необходима ПТМ. Эти связывающие белки могут быть преобразованы в бифункциональные белки путем введения искусственной аминокислотной метки для лигирования (N_3, алкин и так далее), с последующей реакцией с соответствующим направляющим доменом, или при помощи многих других известных биоортогональных реакций для специфического мечения белков.

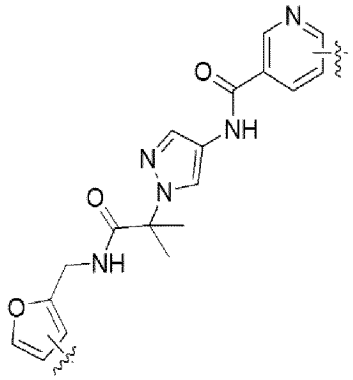
Как понятно специалистам в данной области, любой белок-связывающий фрагмент, который способен узнавать и специфически связывать интересующий белок, может быть использован по настоящему изобретению. Изобретение не следует считать ограниченным каким-либо одним типом белок-связывающего фрагмента, либо известным, либо ранее неизвестным, при условии, что белок-связывающий фрагмент может специфически связывать интересующий белок и предотвращать или минимизировать биологическую активность интересующего белка.

В конкретных вариантах осуществления интересующий белок представляет собой CD40L. В конкретных вариантах осуществления белок-связывающий фрагмент, который связывает CD40L, имеет следующую структуру (где волнистыми линиями указаны потенциальные неограничивающие точки присоединения к REAG в соединениях, предусмотренных по изобретению):

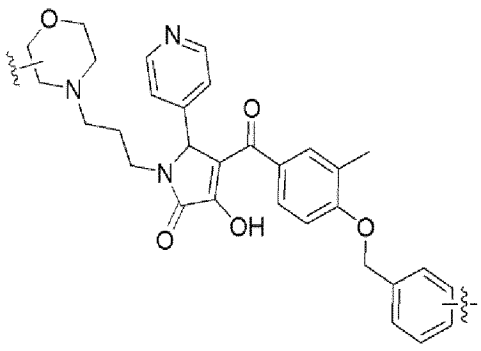


.

В конкретных вариантах осуществления интересующий белок представляет собой PCSK9. В конкретных вариантах осуществления белок-связывающий фрагмент, который связывает PCSK9, имеет следующую структуру (где С-конец пептида, необязательно, является амидированным, и где волнистыми линиями указаны потенциальные неограничивающие точки присоединения к REAG в соединениях, предусмотренных по изобретению):



,

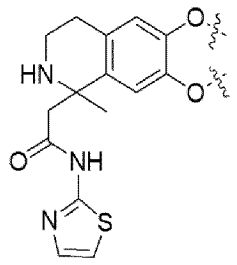
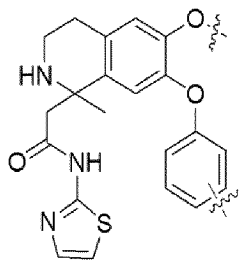
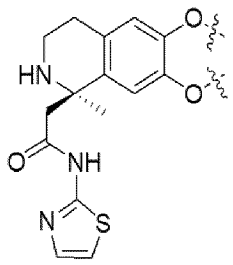
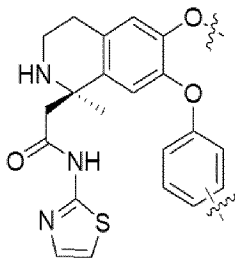
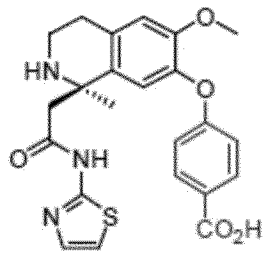
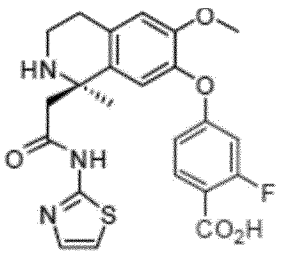
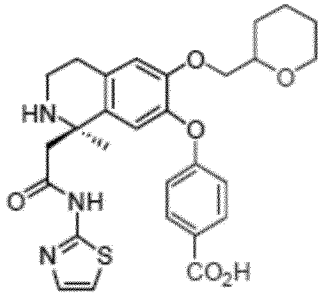
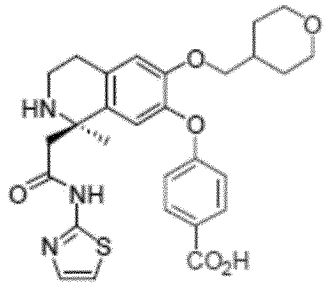
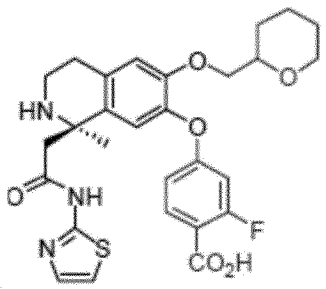
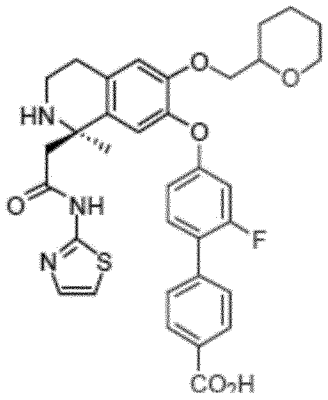
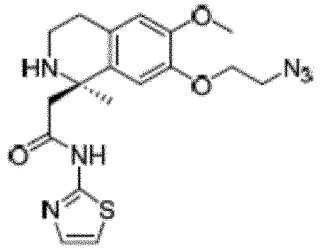
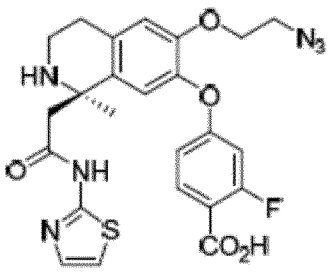
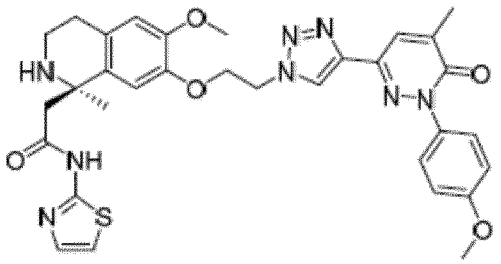


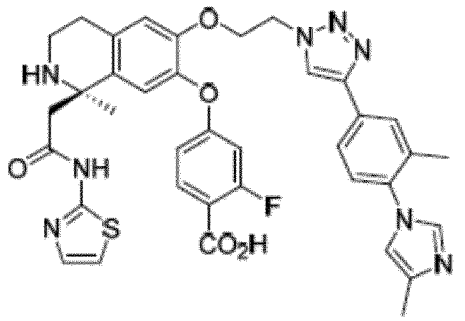
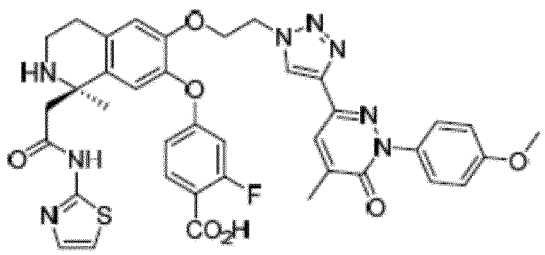
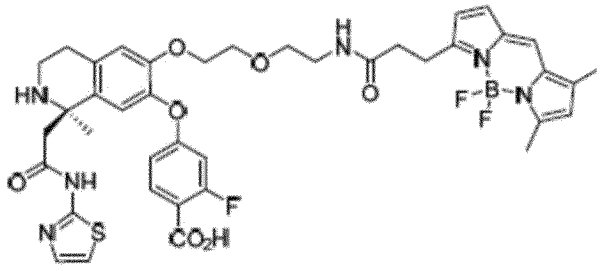
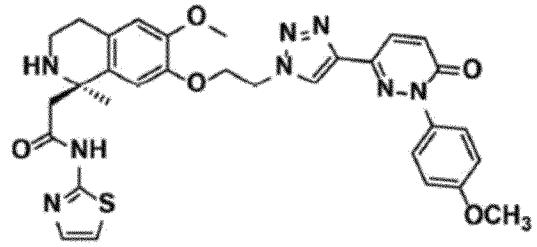
,

— NH-TVFTSWEEYLDWV-X (SEQ ID NO: 66), где X=OH или NH_2.

В конкретных вариантах осуществления интересующий белок представляет собой PCSK9. В конкретных вариантах осуществления белок-связывающий фрагмент, который связывает PCSK9, представляет собой любой связывающий фрагмент, описанный в WO2018/057409. В конкретных вариантах осуществления белок-связывающий фрагмент имеет любую из следующих структур (где волнистыми линиями указаны потенциальные

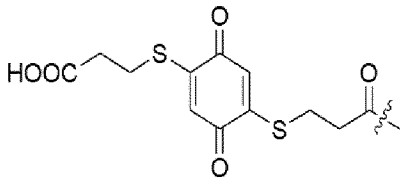
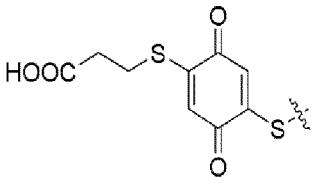
неограничивающие точки присоединения к REAG в соединениях, предусмотренных по изобретению):


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

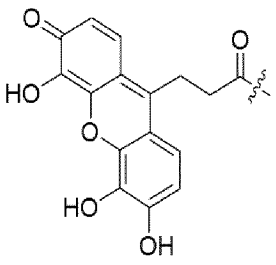
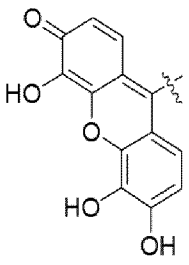
В конкретных вариантах осуществления интересующий белок представляет собой VEGF. В конкретных вариантах осуществления белок-связывающий фрагмент, который связывает VEGF, имеет следующую структуру (где С-конец пептида, необязательно, является амидированным, и где волнистыми линиями указаны потенциальные неограничивающие точки присоединения к REAG в соединениях, предусмотренных по изобретению):

- NH-VEPNCDIHVMWEWECFERL-X (SEQ ID NO: 67), где X=OH или NH_2,

В конкретных вариантах осуществления интересующий белок представляет собой TGF-бета. В конкретных вариантах осуществления белок-связывающий фрагмент, который связывает TGF-бета, имеет следующую структуру (где С-конец пептида, необязательно, является амидированным, и где волнистыми линиями указаны потенциальные неограничивающие точки присоединения к REAG в соединениях, предусмотренных по изобретению):

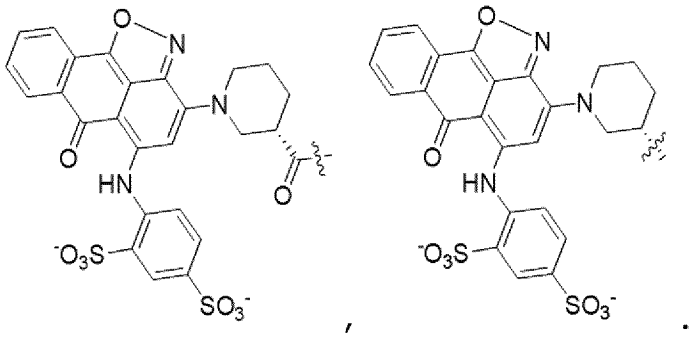
- NH-KRFKQDGGC-X (SEQ ID NO: 68), где X=OH или NH_2

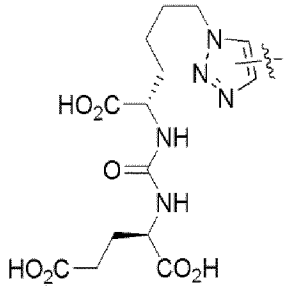
В конкретных вариантах осуществления интересующий белок представляет собой TSP-1. В конкретных вариантах осуществления белок-связывающий фрагмент, который связывает TSP-1, имеет следующую структуру (где С-конец пептида, необязательно, является амидированным, и где волнистыми линиями указаны потенциальные неограничивающие точки присоединения к REAG в соединениях, предусмотренных по изобретению):

~ NH-RGQILSKLRL-X (SEQ ID NO: 69), где X=OH или NH_2.

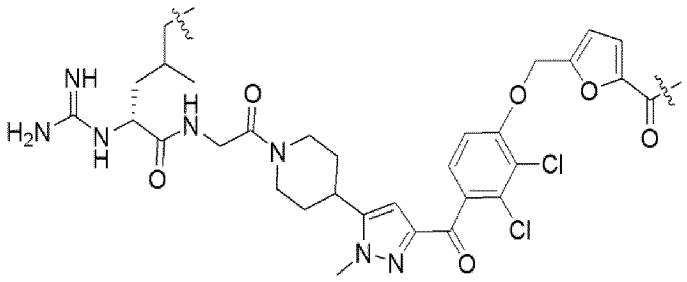
В конкретных вариантах осуществления интересующий белок представляет собой растворимый uPAR. В конкретных вариантах осуществления белок-связывающий фрагмент, который связывает uPAR, имеет следующую структуру (где волнистыми линиями указаны потенциальные неограничивающие точки присоединения к REAG в соединениях, предусмотренных по изобретению):



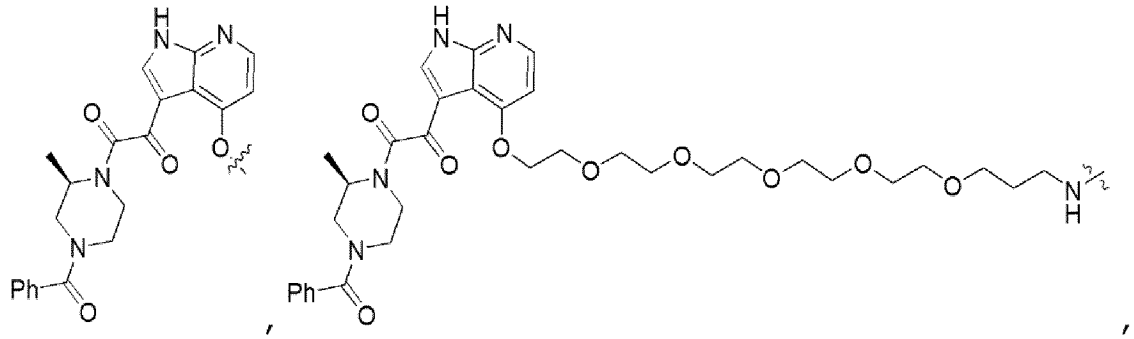
В конкретных вариантах осуществления интересующий белок представляет собой растворимый PSMA. В конкретных вариантах осуществления белок-связывающий фрагмент, который связывает PSMA, имеет следующую структуру (где волнистыми линиями указаны потенциальные неограничивающие точки присоединения к REAG в соединениях, предусмотренных по изобретению):



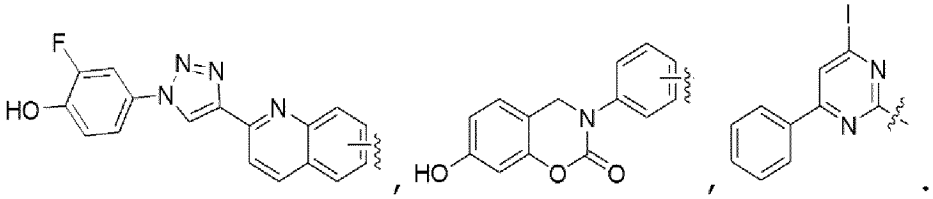
В конкретных вариантах осуществления интересующий белок представляет собой IL-2. В конкретных вариантах осуществления белок-связывающий фрагмент, который связывает IL-2, имеет следующую структуру (где волнистыми линиями указаны потенциальные неограничивающие точки присоединения к REAG в соединениях, предусмотренных по изобретению):



В конкретных вариантах осуществления интересующий белок представляет собой GP120. В конкретных вариантах осуществления белок-связывающий фрагмент, который связывает GP120, имеет следующую структуру (где волнистыми линиями указаны потенциальные неограничивающие точки присоединения к REAG в соединениях, предусмотренных по изобретению):



В конкретных вариантах осуществления интересующий белок представляет собой MIF. В конкретных вариантах осуществления белок-связывающий фрагмент, который связывает MIF, имеет следующую структуру (где волнистыми линиями указаны потенциальные неограничивающие точки присоединения к REAG в соединениях, предусмотренных по изобретению):



В конкретных вариантах осуществления интересующий белок представляет собой IgA, как известно в данной области или описано в другом разделе настоящего документа.

В конкретных вариантах осуществления белок-связывающий фрагмент, который связывает IgA, представляет собой любой пептид, описанный в Hatanaka, et al., 2012, J. Biol. Chem. 287:43126-43136, такой как, но без ограничения:

STFCLLGQKDQSYCFTI (SEQ ID NO: 70)
HMRCLHYKGRRVCFLL (SEQ ID NO: 71)
KTMCLRYNHDKVCFRI (SEQ ID NO: 72)
LVLCLVHRTSKHRKCFVI (SEQ ID NO: 73)
A2-3a: SDVCLRYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 75)
Opt-1: HMVCLAYRGRPVCFAL (SEQ ID NO: 76)
Opt-2: HMVCLSYRGRPVCFSL (SEQ ID NO: 77)
Opt-3: HQVCLSYRGRPVCFST (SEQ ID NO: 78)
RDVCLRYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 79)
HDVCLRYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 80)
ADVCLRYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 81)
SAVCLRYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 82)
SMVCLRYRGRPVCFQV SEQ ID NO: 83)
SDRCLRYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 84)
SDACLRYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 85)
SDVCARYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 86)
SDVCLNYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 87)
SDVCLHYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 88)
SDVCLAYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 89)
SDVCLRARGRPVCFQV (SEQ ID NO: 90)
SDVCLRYAGRPVCFQV (SEQ ID NO: 91)
SDVCLRYRARPVCFQV (SEQ ID NO: 92)
SDVCLRYRGSPVCFQV (SEQ ID NO: 93)
SDVCLRYRGAPVCFQV (SEQ ID NO: 94)
SDVCLRYRGRRVCFQV (SEQ ID NO: 95)
SDVCLRYRGRAVCFQV (SEQ ID NO: 96)
SDVCLRYRGRPACFQV (SEQ ID NO: 97)
SDVCLRYRGRPVCRQV (SEQ ID NO: 98)
SDVCLRYRGRPVCAQV (SEQ ID NO: 99)
SDVCLRYRGRPVCFRV (SEQ ID NO: 100)
SDVCLRYRGRPVCFLV (SEQ ID NO: 101)
SDVCLRYRGRPVCFAV (SEQ ID NO: 102)
SDVCLRYRGRPVCFQW (SEQ ID NO: 103)
SDVCLRYRGRPVCFQL (SEQ ID NO: 104)
SDVCLRYRGRPVCFQA (SEQ ID NO: 105).

Эти пептиды могут быть ациклическими (в виде свободных тиолов) или циклизированными в виде окисленных тиолов (дисульфидные связи). Кроме того, по

изобретению предусмотрено включение этих пептидов в соединения по изобретению посредством конъюгации N- и/или С-конца.

В конкретных вариантах осуществления белок-связывающий фрагмент, который связывает IgA, представляет собой любой пептидный миметик Fc-альфа рецептора, описанный в Heineke, et al., 2017, Eur. J. Immunol. 47:1835-1845, такой как, но без ограничения:

Линейные пептиды:

GRYQCQYRIGHYRFRYSD (SEQ ID NO: 106)

GRYQAQYRIGHYRFRYSD (SEQ ID NO: 107)

GRYQCQYRIGHYRFRYSD (SEQ ID NO: 108)

Циклические пептиды: CLIPS

CLIPS-CHYRFRC (SEQ ID NO: 109)

CLIPS-CRIGHYRFRC SEQ ID NO: 110)

CLIPS-YQACHYRFRC (SEQ ID NO: 111)

CLIPS-RYQAQCRIGHYRFC (SEQ ID NO: 112)

CLIPS-GRYQCQYRIGHYRFRYCD (SEQ ID NO: 113)

CLIPS-GRYQACYRIGHYRFRCSD (SEQ ID NO: 114)

CLIPS-GRYQAQCRIGHYRFCYSD (SEQ ID NO: 115)

Циклические пептиды: *окисленные*

RYQAQCRIGHYRFC (SEQ ID NO: 116)

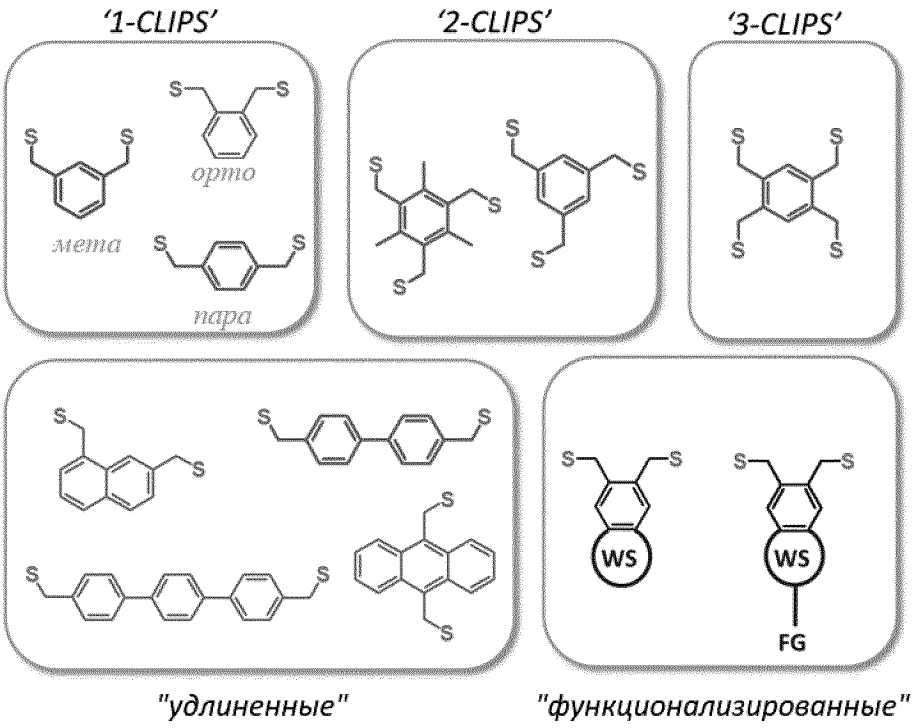
GRYQCQYRIGHYRFRYCD (SEQ ID NO: 117)

GRYQACYRIGHYRFRCSD (SEQ ID NO: 118)

GRYQAQCRIGHYRFCYSD (SEQ ID NO: 119).

Эти пептиды могут быть ациклическими (в виде свободных тиолов) или циклизированными в виде окисленных тиолов (дисульфидные связи). Кроме того, по изобретению предусмотрено включение этих пептидов в соединения по изобретению посредством конъюгации N- и/или С-конца.

CLIPS указывает на циклизацию линейных пептидов путем реакции тиоловых функциональных групп остатков цистеина с небольшим жестким фрагментом; этот якорь реагирует исключительно с тиолами и присоединяется к пептиду ковалентными связями. Неограничивающие примеры сшивающих линкеров CLIPS, предусмотренных по настоящему изобретению, включают:



TNF-*связывающие фрагменты*

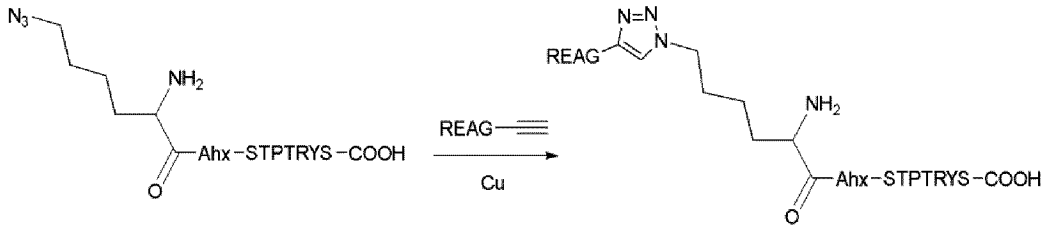
Любой TNF-связывающий фрагмент, который связывает TNF, может быть использован в формуле (II) и формуле (IIa) по настоящему изобретению. В конкретных неограничивающих вариантах осуществления связывающий фрагмент представляет собой малую молекулу. В конкретных неограничивающих вариантах осуществления связывающий фрагмент представляет собой пептид и/или полипептид.

TNF-связывающий фрагмент может быть включен в соединения формулы (II) и формулы (IIa) с использованием любых способов, известных в данной области, и/или любых способов, описанных или проиллюстрированных в настоящем документе. Например, TNF-связывающий фрагмент может быть присоединен к линкеру и/или CON с использованием амидного связывания, сложноэфирного связывания, нуклеофильного вытеснения, электрофильного вытеснения, радикального связывания или любого другого метода синтеза, известного в данной области. Положение присоединения TNF-связывающего фрагмента должно быть таким, чтобы присоединенный TNF-связывающий фрагмент в формуле (II) или формуле (IIa) все еще был способен связывать TNF. Путем стандартного экспериментирования, ожидаемого от, и известного для, специалиста в данной области, может быть подобран способ связывания TNF-связывающего фрагмента с TNF и выявлены потенциальные сайты присоединения на TNF-связывающем фрагменте, и/или присоединения TNF-связывающего фрагменте к CON и/или линкеру, и выяснено, нарушает ли такое присоединение связывание TNF-связывающего фрагмента с TNF.

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой антитело, такое как, но без ограничения, моноклональное антитело. Интересующее антитело может быть включено в соединения формулы (II) или формулы (IIa) с использованием любых способов, известных в данной области, и/или любых способов,

описанных или проиллюстрированных в настоящем документе. Например, антитело может быть присоединено к линкеру и/или CON через группу карбоновой кислоты на поверхности антитела, с использованием, например, химии образования амидов или сложных эфиров. Например, антитело может быть присоединено к линкеру и/или CON через аминогруппу на поверхности антитела, с использованием, например, химии образования амидов. Например, антитело может быть присоединено к линкеру и/или CON через тиоловую группу на поверхности антитела с использованием, например, химии нуклеофильного замещения. В этом случае поверхностный остаток цистеина может присутствовать в форме дикого типа антитела и/или может быть введен путем мутации с использованием, например, сайт-направленного мутагенеза. Линкер и/или CON, полезный по изобретению, может представлять собой любой линкер, известный в данной области, при условии, что присутствие линкера существенно не нарушает способность антитела к связыванию TNF.

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой полипептид. Интересующий полипептид может быть включен в соединения формулы (II) и формулы (IIa) с использованием любых способов, известных в данной области, и/или любых способов, описанных или проиллюстрированных в настоящем документе. Например, полипептид может быть присоединен к линкеру и/или CON через его C-конец и/или его N-конец, с использованием, например, химии образования амидов или сложных эфиров. Например, полипептид может быть присоединен к линкеру и/или CON через любой промежуточный остаток с использованием, например, химии образования амидов или сложных эфиров и/или химии нуклеофильного замещения (например, если полипептид имеет тиоловый остаток). Полипептид может быть синтезирован стандартным методом Fmoc-SPPS. В конкретных вариантах осуществления C-конец пептида является амидированным. Введение линкера на N- или C-конец, с последующей функциональной обработкой (N_3, алкин и так далее), позволяет выполнять простое связывание с направляющим доменом ASGPR. В неограничивающем примере:



TNF-связывающие фрагменты, имеющие белковую основу, такие как антитела, полипептиды и тому подобное, могут быть синтезированы различными методами, хорошо известными в данной области, такими как экспрессия в E. coli для тех белков, которые не требуют посттрансляционной модификации, или в культуре клеток млекопитающих для тех белков, для которых необходима ПТМ. Эти связывающие белки могут быть преобразованы в бифункциональные белки, направленные на TNF-ASGPR, путем введения искусственной аминокислотной метки для лигирования (N_3, алкин и так далее), с

последующей реакцией с соответствующим направляющим доменом ASGPR, или при помощи многих других известных биоортогональных реакций для специфического мечения белков.

Как понятно специалистам в данной области, любой TNF-связывающий фрагмент, который способен узнавать и специфически связывать TNF, может быть использован по настоящему изобретению. Изобретение не следует считать ограниченным каким-либо одним типом TNF-связывающего фрагмента, либо известным, либо ранее неизвестным, при условии, что TNF-связывающий фрагмент может специфически связывать TNF и предотвращать или минимизировать биологическую активность TNF.

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой полипептид STPTRYS (SEQ ID NO: 120) (Guangdong Yixue 2008, 29(1):55-57).

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой полипептид CALWHWWHC SEQ ID NO: 121) или C(T/S)WLHWWAC (SEQ ID NO: 122) (Diyi Daxue Xuebao 2002, 22(7):597-599).

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой любой Tbab белок, описанный в Zhu, et al., 2016, Protein Sci. 25:2066-2075.

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой полипептид (L/M)HEL(Y/F)(L/M)X(W/Y/F) (SEQ ID NO: 123), описанный в Zhang, et al., 2003, Biochem. Biophys. Res. Commun. 310:1181-1187.

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой один из полипептидов:

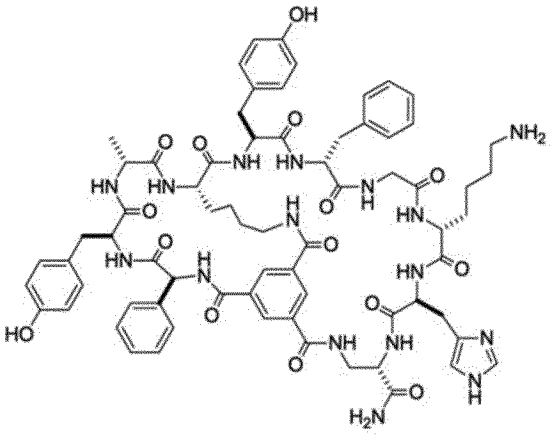
DHPT-9: D-DDDEK QLKER WYKRW LEYLD EFKKN (SEQ ID NO: 124)

DHPT-91: D-TEEEK QLKEW WYKHW QEYLE EFKKN (SEQ ID NO: 125)

(Yang, et al., 2019, FEBS Lett. 593:1292-1302).

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой TNFR1 или TNFR2 (Yang & Yang, 2013, Fenxi Huaxue/Chinese J. Anal. Chem. 41:664-669).

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой антикахексин C1 и/или C2 (Lian, et al., 2013, J. Am. Chem. Soc. 135:11990-11995).



Антикахексин C1

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой адалимумаб, инфликсимаб, этанерцепт, голимумаб и/или цертолизумаб.

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой 29,2-кДа scFv, описанный в Safarpour, et al., 2018, Iran. J. Pharm. Res. 17:743-752.

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой GACPPCLWQVLCGGSGSGSG (SEQ ID NO: 126) (который может представлять собой, в неограничивающем примере, трис-бромметилмезитиленовое ядро, связанное с серой; Luzi, et al., 2015, Protein Eng. Des. Sel. 28:45-52).

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой любые аффитела (~60 аминокислот) описанные в Löfdahl, et al., 2009, N. Biotechnol. 26:251-259.

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой любые аффитела, описанные в Kronqvist, et al., 2008, Protein Eng. Des. Sel. 21:247-255.

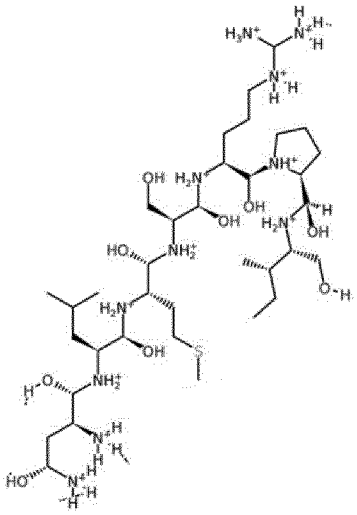
В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой любые аффитела, описанные в Jonsson, et al., 2009, Biotechnol. Appl. Biochem. 54:93-103.

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой биспецифический альбумин/TNF-связывающий полипептид, описанный в Nilvebrant, et al., 2011, PLoS One 6.

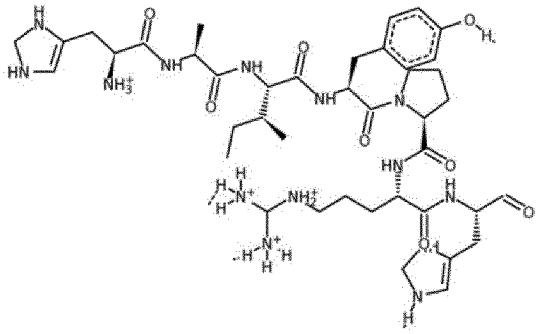
В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой искусственный связывающий белок на основе убиквитина, описанный в Hoffmann, et al., 2012, PLoS One 7:2-11.

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой HIHDDLLRYYGW, линейный (SEQ ID NO: 127) или тетра-разветвленный пептид (SEQ ID NO: 128), описанный в Brunetti, et al., 2014, Molecules 19:7255-7268.

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой любые TNFα-связывающие пептиды (P51 и P52), описанные в Alizadeh, et al., 2017, Eur. J. Pharm. Sci. 96:490-498.



P51



P52

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой scFv антитело, описанное в Alizadeh, et al., 2015, Adv. Pharm. Bull. 5:661-666.

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой любой TNF-связывающий пептид, описанный в WO 2006/053568 (такой как, но без ограничения, KRWSRYF (SEQ ID NO: 129), который в конкретных вариантах осуществления может быть поливалентным), полное содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки.

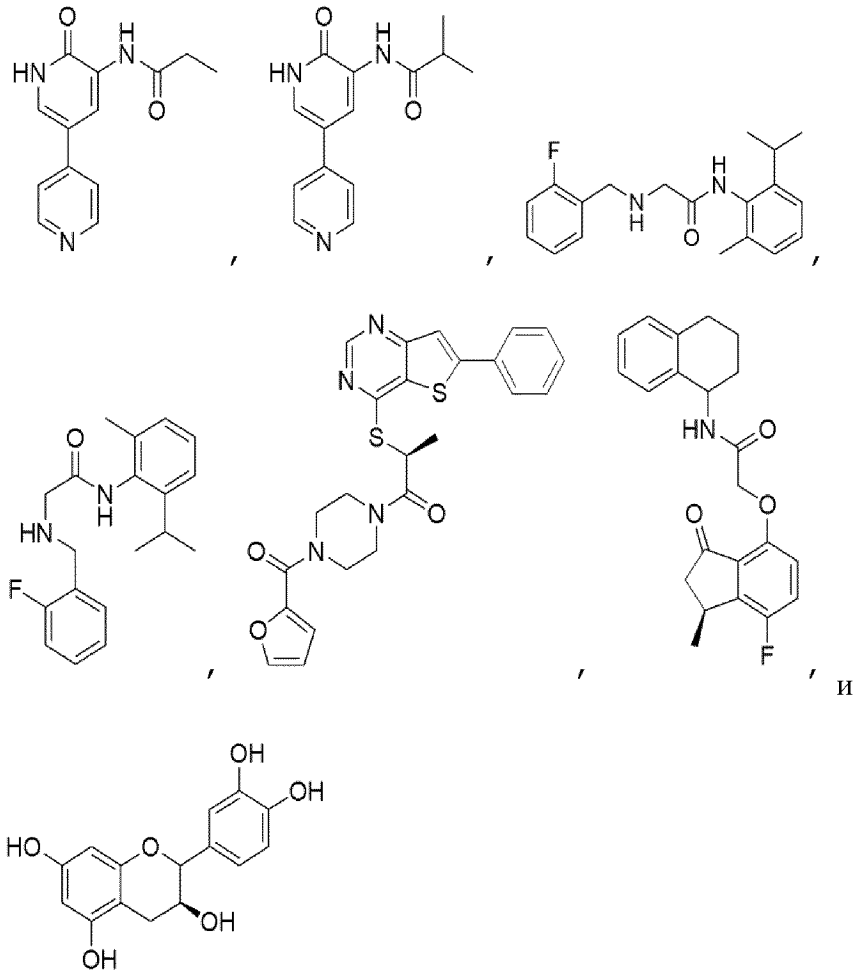
В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой любой TNF-связывающий пептид, описанный в WO 2015/055597 (такой как, но без ограничения, HIHDDLLRYYGW (SEQ ID NO: 127), который в конкретных вариантах осуществления может быть поливалентным), полное содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки.

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой YCWSQYLCY (SEQ ID NO: 130), как описано в Arthritis & Rheumatism 2007, 56(4):1164-74.

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой DFLPHYKNTSLGHRP (SEQ ID NO: 131), как описано в Chirinos-Rojas, et al., 1998, J. Immunol. 161:5621-5626.

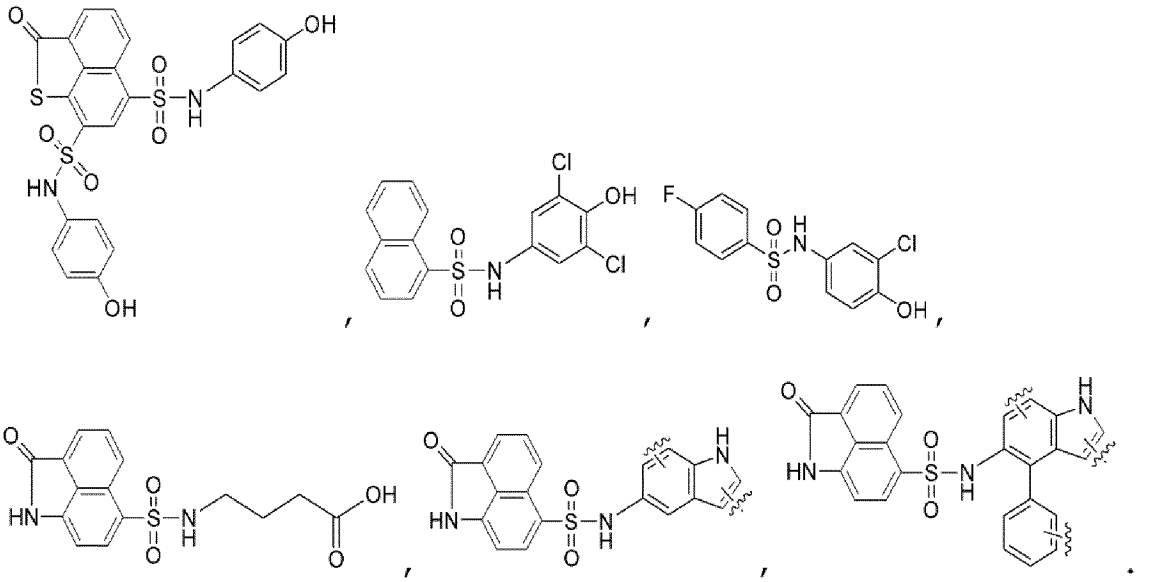
В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой YCLYQSWCY (SEQ ID NO: 132). В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой его восстановленную форму (то есть, с внутренней дисульфидной связью). В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой его окисленную форму (то есть, без внутренней дисульфидной связи). Смотри ФИГ. 12 в качестве неограничивающего примера.

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент имеет одну из следующих структур:



(Zaka, et al., 2019, J. Biomol. Struct. Dyn. 37:2464-2476).

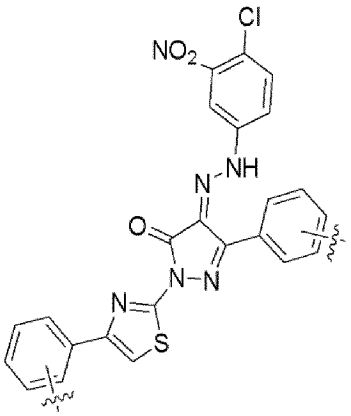
В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент имеет одну из следующих структур:



(Shen, et al., 2014, Eur. J. Med. Chem. 85:119-126). Смотри ФИГ. 13 и ФИГ. 14 в качестве неограничивающих примеров.

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет

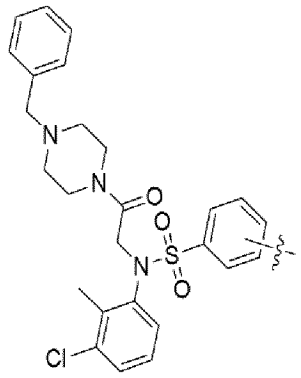
собой:



.

Смотри ФИГ. 15 в качестве неограничивающего примера.

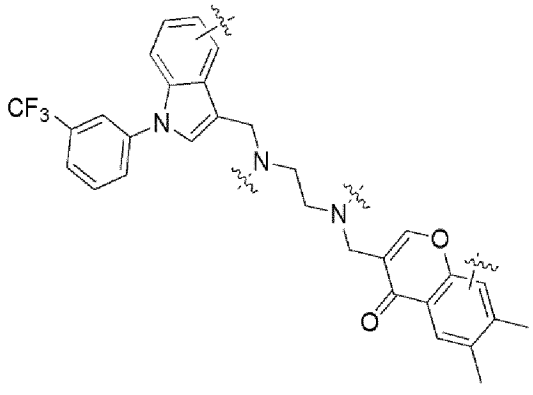
В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой:



.

Смотри ФИГ. 16 в качестве неограничивающего примера.

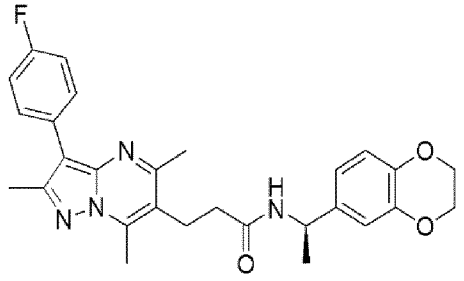
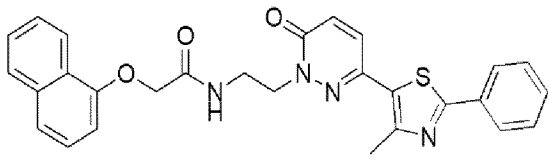
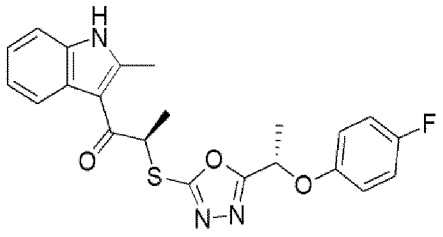
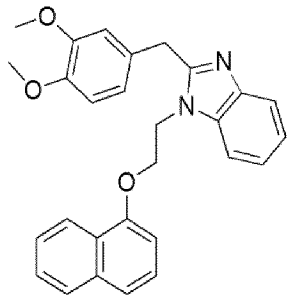
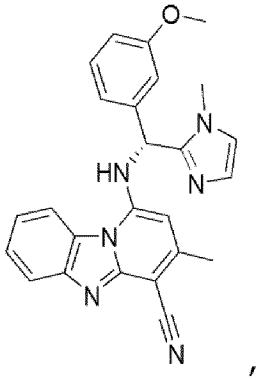
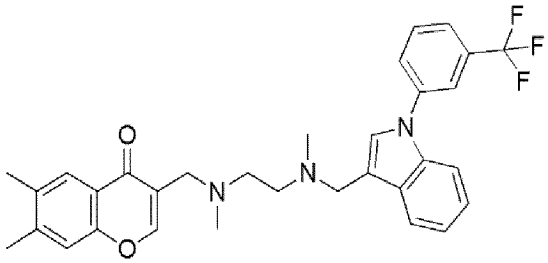
В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой:



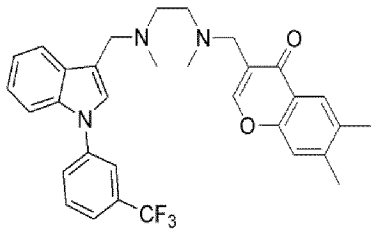
.

Смотри ФИГ. 17 в качестве неограничивающего примера.

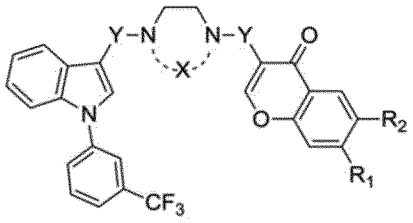
В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент имеет одну из следующих структур (Saddala & Huang, 2019, J. Transl. Med. 17:1-16):


,

,

,

,

,

.

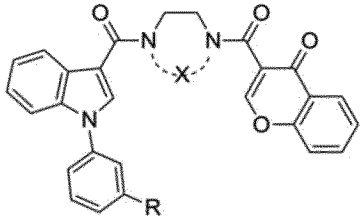
В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой SPD-304 и его аналоги (He, et al., 2005, Science 310:1022-1025; Papaneophytou, et al., 2015, Medchemcomm 6:1196-1209):



SPD-304



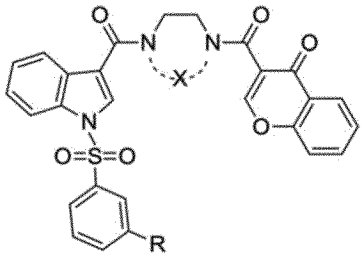
1, 2a-e



3a-d

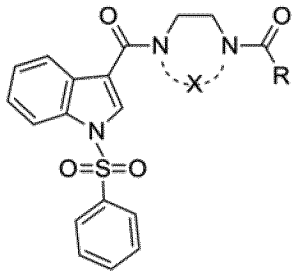
1: R_1=R_2 = CH_3, X = CH_3,CH_3, Y = CH_2
2a: R_1=R_2 = CH_3, X =  , Y = CH_2
2b: R_1 =H, R_2 = CH_3, X = CH_3,CH_3, Y = CH_2
2c: R_1 =H, R_2 = CH_3, X =  , Y = CH_2
2d: R_1=R_2 = CH_3, X= CH_3,CH_3, Y = C =O
2e: R_1=R_2 = CH_3, X=  , Y = C=O

3a: R = NO_2, X = CH_3,CH_3
3b: R = NO_2, X =
3c: R = NH_2, X = CH_3,CH_3
3d: R = NH_2, X =

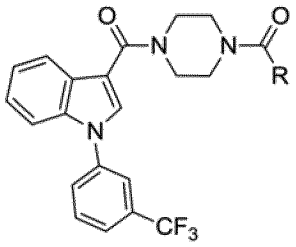


4a-f

4a: R = H, X = CH_3,CH_3
4b: R = H, X =
4c: R = NO_2, X = CH_3,CH_3
4d: R = NO_2, X =
4e: R = NH_2, X = CH_3,CH_3
4f: R = NH_2, X =



5a-g



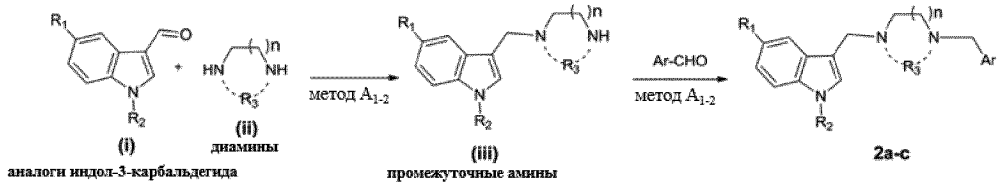
6a-c

5a: R =нафтил, X = H, H
5b: R =нафтил, X = CH_3, CH_3
5c: R = Ph, X = CH_3, CH_3
5d: R = 1*H*имидазол, X = CH_3, CH_3
5e: R = 2-FPh, X = CH_3, CH_3
5f: R = 2- тиофен, X = CH_3, CH_3
5g: R = нафтил, X=

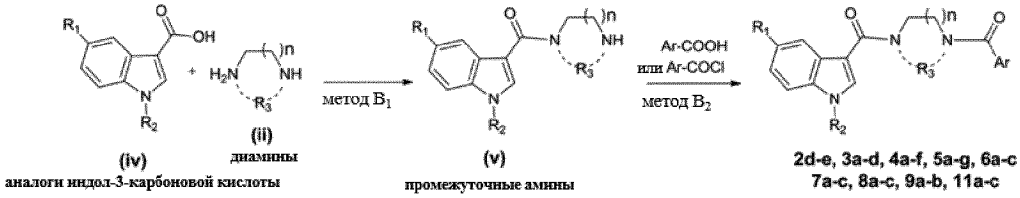
6a: R =нафтил
6b: R = 1*H*-имидазол
6c: R = Ph

Неограничивающие химические схемы получения и дериватизации этих соединений приведены в настоящем документе:

ПУТЬ А: ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЕ АМИНИРОВАНИЕ



ПУТЬ В: ОБРАЗОВАНИЕ АМИДОВ



СМЕШАННЫЕ АНАЛОГИ

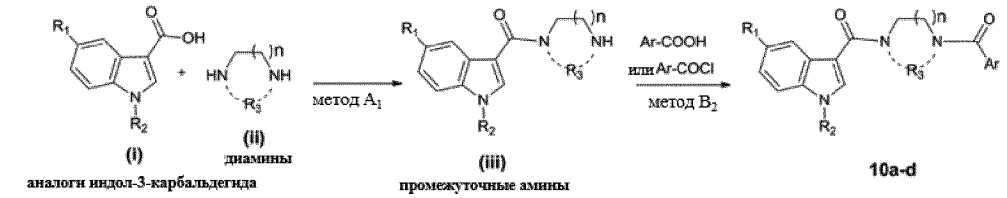
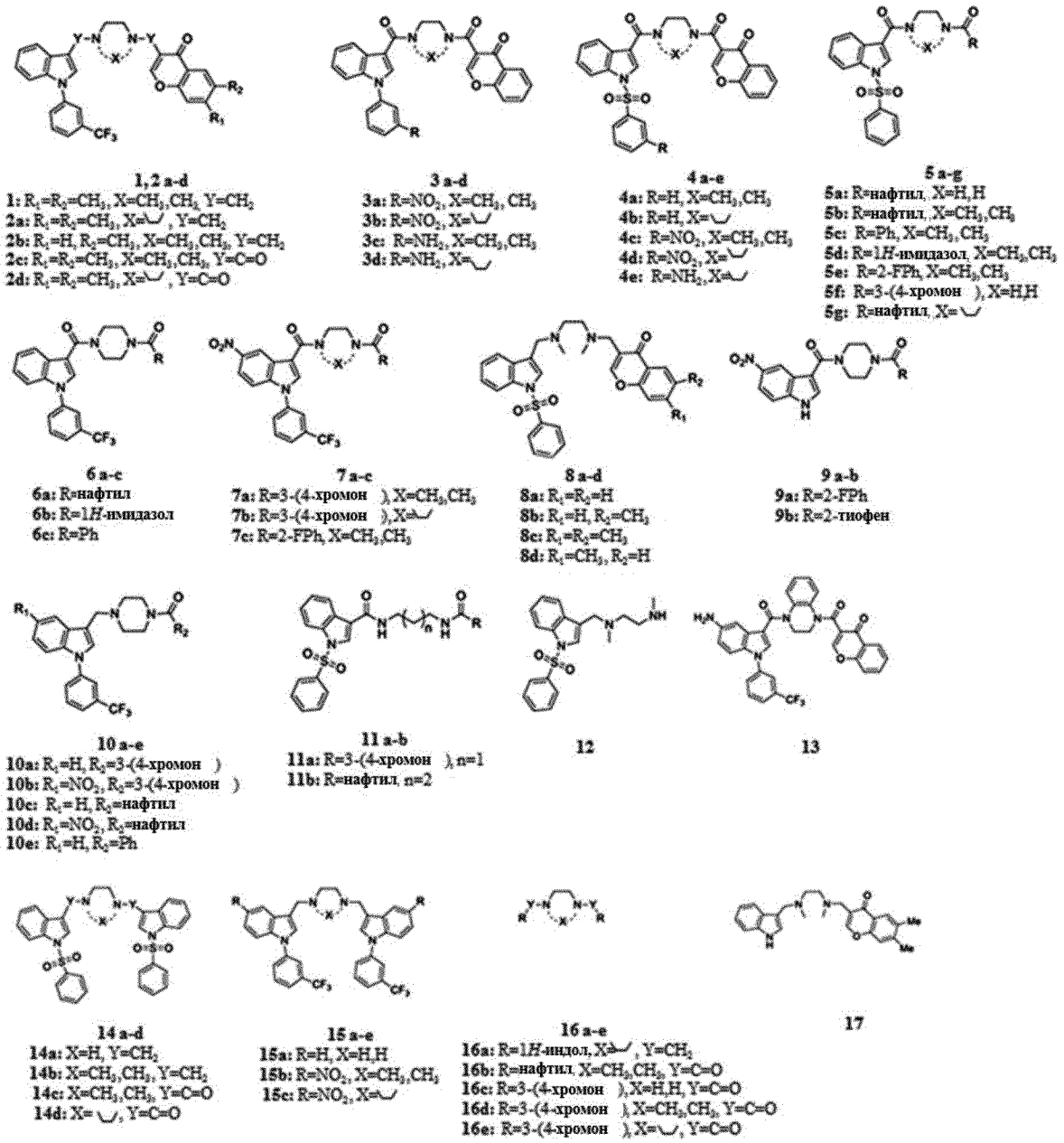


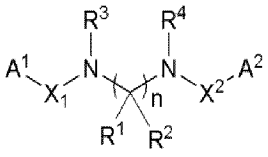
Схема 2. Реагенты и условия. Путь А: A_1) $NaBH(OAc)_3$/MeOH или DCE с доведением или без доведения pH с помощью AcOH и A_2) TMOF, $NaBH_3CN$ или $NaBH_4$; путь В: B_1) CDI/THF и B_2) i. $(COCl)_2$, DMF/THF, ii. пиридин или Et_3N/THF



Структуры 55 изученных соединений (SPD304; соединение I и 54 аналога SPD304; соединения 2a-17)

(Mettou, et al., 2018, SLAS Discov. 23:84-93). Смотри ФИГ. 18 в качестве неограничивающего примера.

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой соединение формулы (2a):

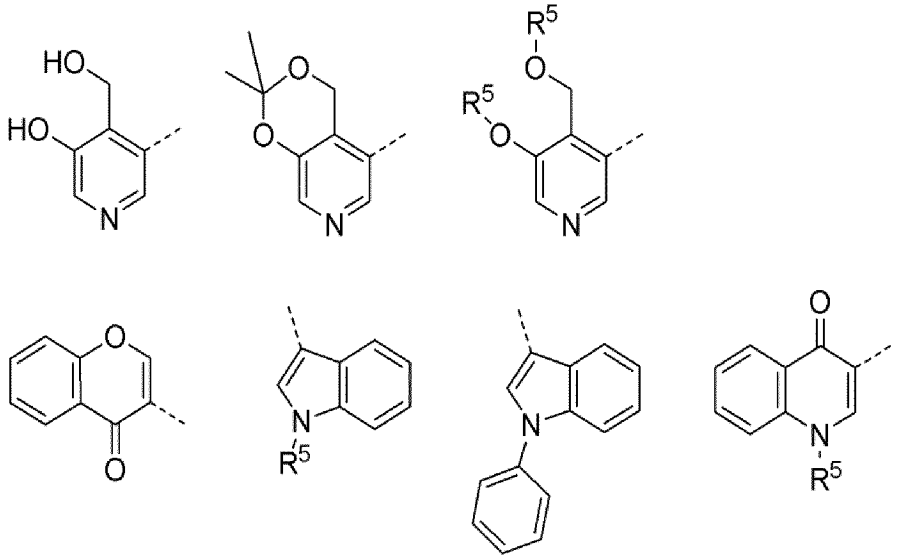


(2a),

где:

A^1 и A^2 независимо представляют собой замещенную или незамещенную фенильную группу, где заместители представляют собой по меньшей мере одно из F, Cl,

Br, I, OH, C_1-C_4 алкила, C_1-C_4 алкила, замещенного по меньшей мере одним OH, C_1-C_4 фторалкила (такого как, но без ограничения, CF_3), C_1-C_4 алкокси, C_1-C_4 галоалкокси, бензилокси и следующих гетероциклических колец, необязательно замещенных по меньшей мере одним из F, Cl, Br, I, OH, C_1-C_4 алкила, C_1-C_4 алкила, замещенного по меньшей мере одним OH, C_1-C_4 фторалкила (такого как, но без ограничения, CF_3), C_1-C_4 алкокси и C_1-C_4 галоалкокси (пунктирными линиями обозначена точка присоединения):



;

каждый R^5 независимо представляет собой водород или необязательно замещенный C_1-C_4 алкил;

R^1 и R^2 независимо представляют собой водород или необязательно замещенный C_1-C_4 алкил;

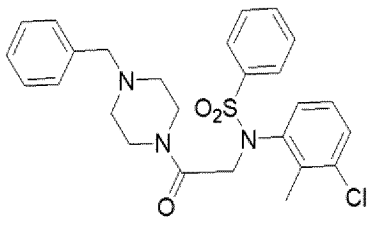
X^1 и X^2 независимо представляют собой карбонил или CH_2;

n равен 2, 3 или 4;

R^3 и R^4 независимо представляют собой водород или необязательно замещенный C_1-C_4 алкил, или R^3 и R^4 могут в совокупности образовывать гетероциклильное кольцо. Смотри ФИГ. 19 в качестве неограничивающего примера.

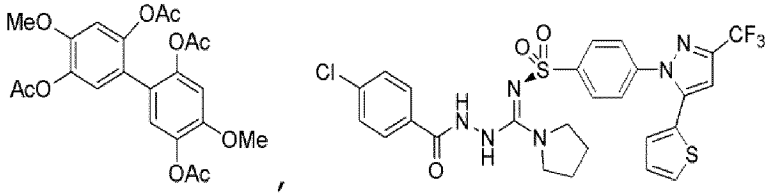
Например, когда A^1 и A^2 представляют собой 1-(3-(трифторметил)фенил)-1H-индол и 6,7-диметил-4H-хромен-4-он, соответственно, и X^1 и X^2 оба представляют собой CH_2, R^3 и R^4 образуют гетероциклильное кольцо, такое как, но без ограничения, пиперазинильное кольцо.

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой малую молекулу IA-14069.

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой  (Mouhsine, et al., 2017, Sci. Rep. 7:1-10 (2017). В

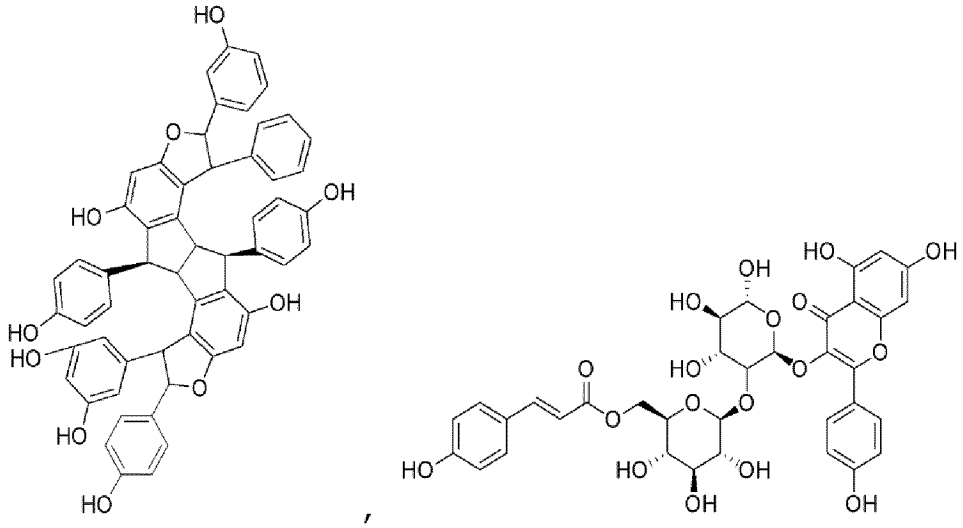
конкретных вариантах осуществления линкер и/или Con могут быть присоединены к сульфонамидофенильному кольцу. Смотри ФИГ. 20 в качестве неограничивающего примера.

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент имеет одну из следующих структур:

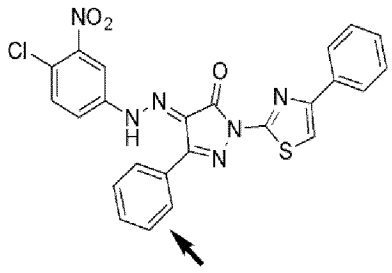


(Melagraki, et al., 2017, PLoS Comput. Biol. 13:1-27).

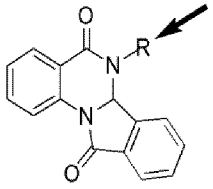
В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент имеет одну из следующих структур:



(Melagraki, et al., 2018, Front. Pharmacol. 9:1-12).

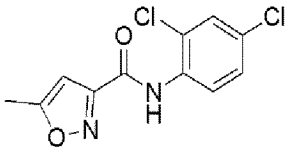
В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой  (Ma, et al., 2014, J. Biol. Chem. 289:12457-12466). В конкретных вариантах осуществления линкер и/или CON могут быть присоединены к фенильной группе, указанной стрелкой. Смотри ФИГ. 21 в качестве неограничивающего примера.

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент имеет одну из следующих структур:



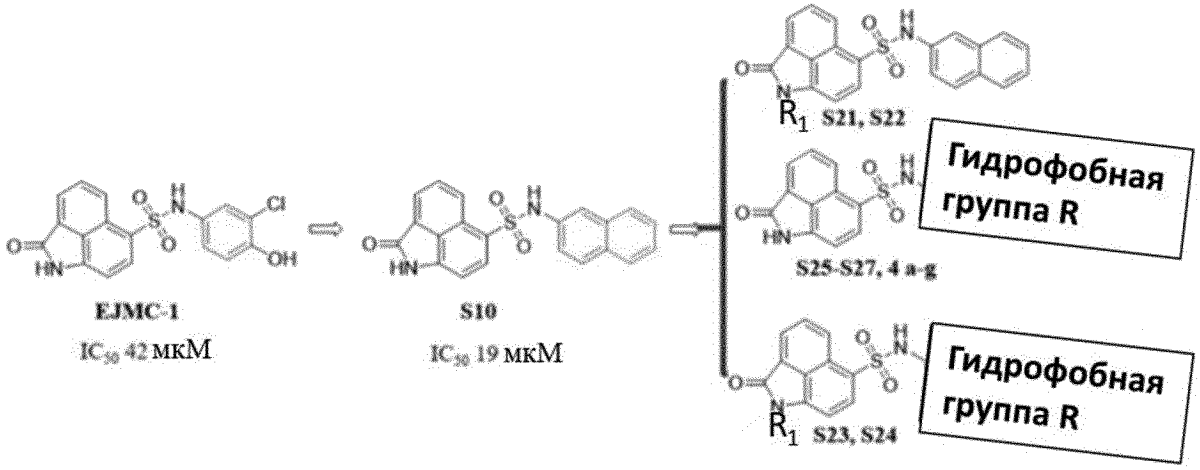
R= CH_2Ph, C_6H_4OMe-p, C_6H_4Cl-p, H

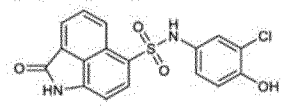
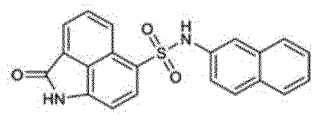
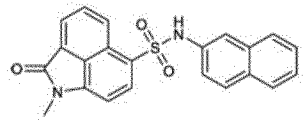
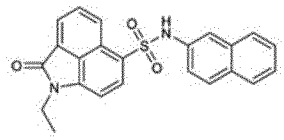
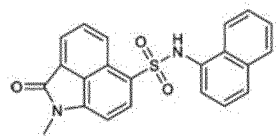
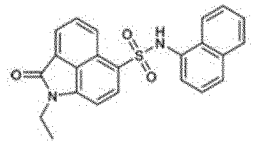
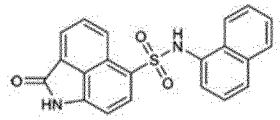
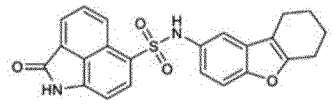
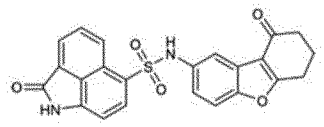
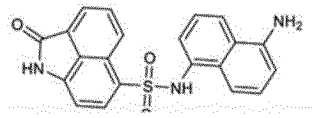
, где R представляет собой неограничивающий сайт дериватизации (Kumar, et al., 2011, Chem. Commun. 47:5010-5012). Смотри ФИГ. 22 в качестве неограничивающего примера.

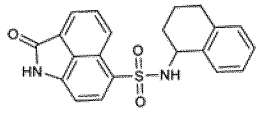
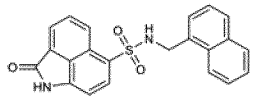
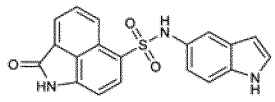
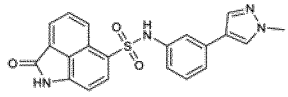
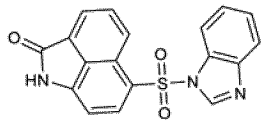
В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой 

(Jiajiu & Shaw, 2013, Cancer Chemother Pharmacol 72:1-7 (2013).

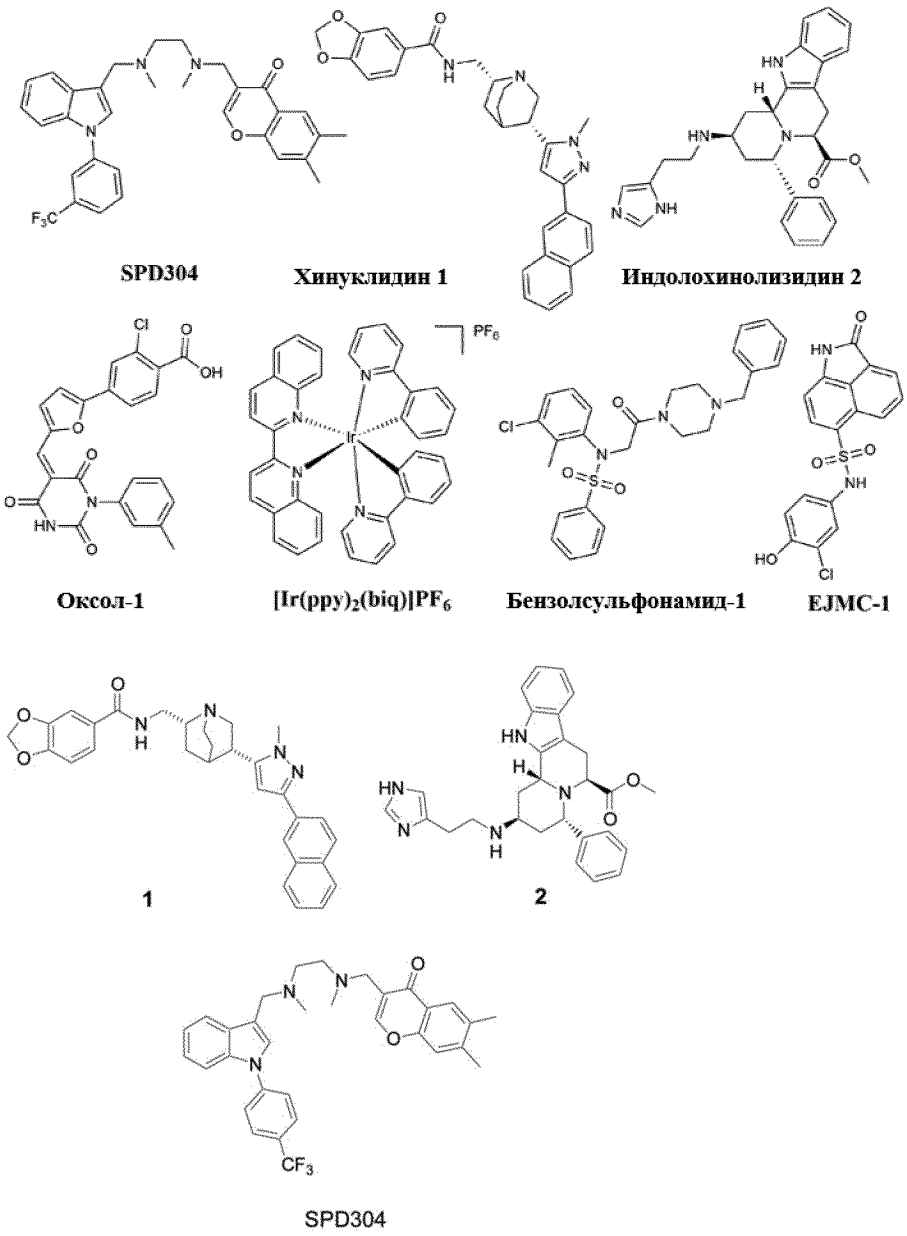
В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой любой дигидробензо[cd]индол-6-сульфонамид или аналоги, указанные в настоящем документе (неограничивающие точки присоединения для REAG включают R_1 или гидрофобную группу R, включая нафтил, в правой части молекулы):



Соединение	Структура
EJMC-1	
S10	
S21	
S22	
S23	
S24	
S25	
S26	
S27	
4a	

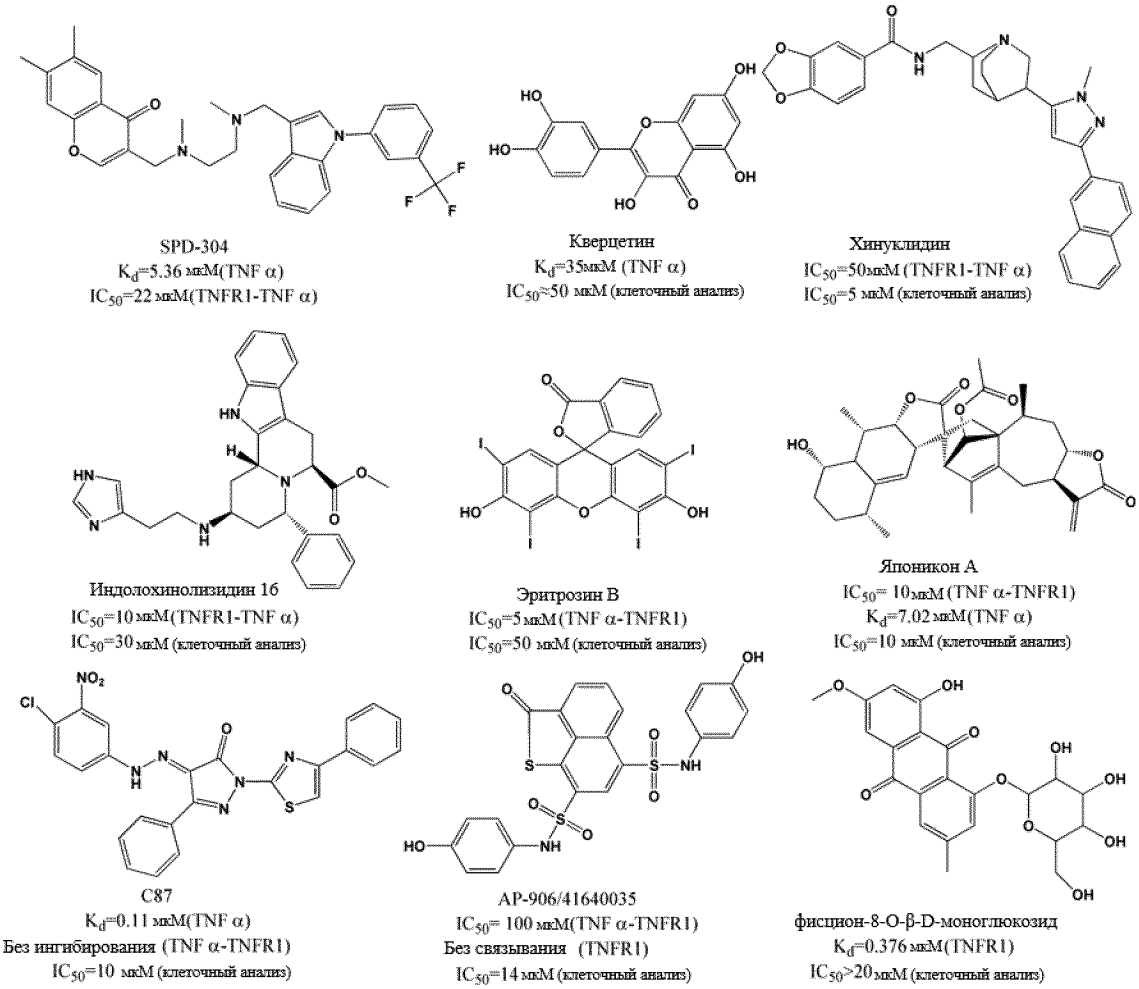
Соединение	Структура
4c	
4d	
4e	
4f	
4g	

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент имеет любую из следующих структур:



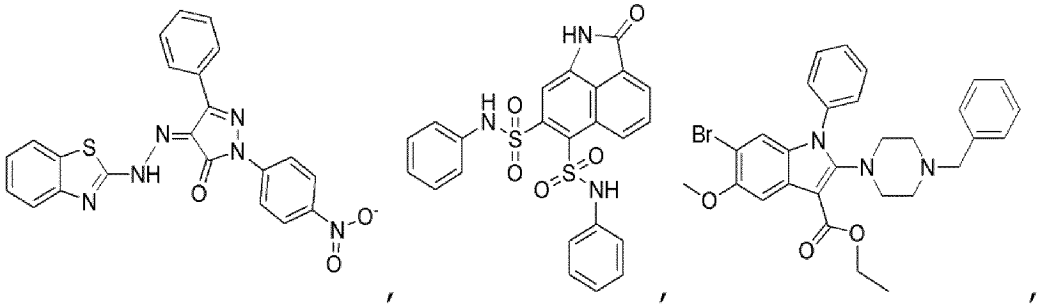
(Shiu-Hin Chan, 2010, Angew Chem Int Ed Engl. 49:2860-4).

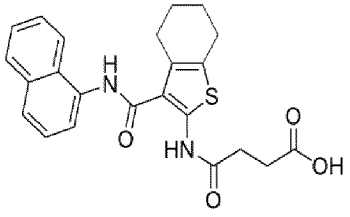
В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент имеет любую из следующих структур:



.

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент имеет любую из следующих структур:





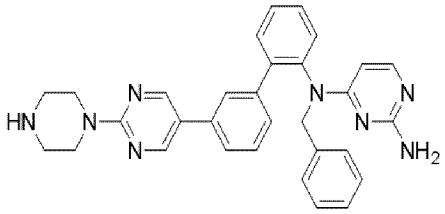
(Chen, et al., 2017, J. Chem. Inf. Model. 57:1101-1111).

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой любое соединение, раскрытое в патенте США № 10266532, полное содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки.

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой любое соединение, раскрытое в патенте США № 9879016, полное содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки.

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой любое соединение, раскрытое в WO 2008/142623, полное содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки.

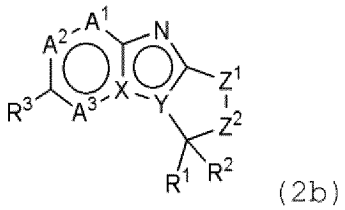
В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой



.

В конкретных вариантах осуществления линкер и/или CON могут быть присоединены к соединению через пиперизинильную группу (Blevitt, et al., 2017, J. Med. Chem. 60:3511-3517). Смотри ФИГ. 23 в качестве неограничивающего примера.

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой соединение формулы (2b):



(2b)

или его фармацевтически приемлемую соль, таутомер, геометрический изомер или стереоизомер, где:

R^1 представляет собой H, OH, F или необязательно замещенный (C_1-C_3)алкил;

R^2 представляет собой необязательно замещенный арил, необязательно замещенный (C_3-C_8)циклоалкил, необязательно замещенный гетероарил или необязательно замещенный гетероциклил; или

R^1 и R^2 совместно могут образовывать необязательно замещенное насыщенное или частично насыщенное карбоциклическое кольцо или необязательно замещенное насыщенное или частично насыщенное гетероциклическое кольцо;

вплоть до двух из A^1, A^2 и A^3 представляют собой N, и остальные независимо представляют собой $C(R^{A2})$;

X представляет собой N и Y представляет собой C, где:

Z^1 представляет собой $-C(R^z)_2-$ и Z^2 представляет собой $-C(R^z)_2-$, $-N(R^{z1})^-$ или -O-; или

Z^1 представляет собой $-CH_2-$ и Z^2 представляет собой $-Z^{2a}-Z^{2b}-$,

где Z^{2a} присоединен к Z^1 и Z^{2b} присоединен к $C(R^1)(R^2)$; и Z^{2a} и Z^{2b} независимо представляют собой $-C(R^z)_2-$, $-C(R^z)_2C(R^z)_2-$, -O- или $-N(R^{z1})-$, при условии, что один из Z^{2a}

и Z^{2b} представляет собой $-C(R^z)_2-$ или $-C(R^z)_2C(R^z)_2-$; или $-Z^{2a}-Z^{2b}-$ образуют $-N(R^{z1})C(O)-$ или $-C(O)N(R^{z1})-$;

или

X представляет собой C и Y представляет собой N, при условии, что R^1 не является -OH или -F, где:

Z^1 представляет собой $-C(R^z)_2-$ и Z^2 представляет собой $-C(R^z)_2-$; или

Z^1 представляет собой $-C(R^z)_2-$ и Z^2 представляет собой $-Z^{2a}-Z^{2b}-$,

где Z^{2a} присоединен к Z^1 и Z^{2b} присоединен к $C(R^1)(R^2)$, и Z^{2a} представляет собой $-C(R^z)_2-$, $-C(R^z)_2C(R^z)_2-$, -O- или $-N(R^{z1})$, и Z^{2b} представляет собой $-C(R^z)_2-$, или $-Z^{2a}-Z^{2b}-$ образуют $-N(R^{z1})C(O)-$ или $-C(O)N(R^{z1})-$;

R^3 представляет собой $-R^{3a}-R^{3b}$, где:

R^{3a} представляет собой необязательно замещенный арил, необязательно замещенный насыщенный или частично насыщенный гетероциклил или необязательно замещенный гетероарил;

R^{3b} представляет собой H, $-CF_3$, -CN, -C(O)OH, $-N(R^a)(R^b)$, $-C(O)N(R^a)(R^b)$, -C(O)- необязательно замещенный гетероциклил, $-O(R^a)$, $-S(O)_2(C_1-C_3)$алкил, $-S(O)_2N(R^c)(R^d)$, -S-(C_1-C_3)алкил, $-S(O)_2-R^c$ необязательно замещенный (C_1-C_5)алкил, $-(CH_2)_p$-необязательно замещенный (C_3-C_6)циклоалкил, $-(CH_2)_p$-необязательно замещенный гетероарил или $-(CH_2)_p$-необязательно замещенный насыщенный, ненасыщенный или частично насыщенный гетероциклил; при условии, что $R3^b$ не является H или метокси, когда R^2 необязательно представляет собой замещенный фенил;

R^a и R^b независимо выбраны из H, необязательно замещенного (C_1-C_5)алкила, -C(O)-необязательно замещенного (C_1-C_5)алкила, необязательно замещенного $-(CH_2)_p-(C_3-C_6)$циклоалкила и $-(CH_2)_p$-необязательно замещенного гетероциклила;

R^c и R^d независимо выбраны из H, необязательно замещенного (C_1-C_5)алкила, необязательно замещенного $-(CH_2)_p-(C_3-C_6)$циклоалкила и $-(CH_2)_p$-необязательно замещенного гетероциклила;

R^{A2} независимо представляет собой H, CF_3, галоген или (C_1-C_3)алкил;

R^z независимо представляет собой H, F, CF_3, -OH или (C_1-C_3)алкил;

R^{z1} независимо представляет собой H или (C_1-C_3)алкил; и

p независимо равен 0, 1 или 2.

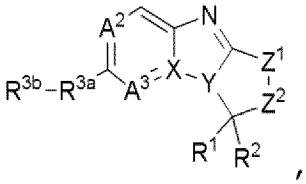
В конкретных вариантах осуществления R^2 не является фенилом, замещенным $-OCHF_2$.

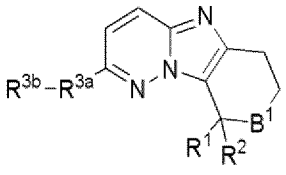
В конкретных вариантах осуществления соединение не является 1-(2-метилфенил)-7-[2-(морфолин-4-ил)пиримидин-5-ил]-2,3-дигидро-1H-пирроло[1,2-a]бензимидазолом; 7-[2-(морфолин-4-ил)пиримидин-5-ил]-1-фенил-2,3-дигидро-1H-пирроло[1,2-a]бензимидазолом; (1R или S)-7-(6-метилсульфонил-3-пиридил)-1-фенил-2,3-дигидро-1H-пирроло[1,2-a]бензимидазолом; [5-[(1R или S)-1-фенил-2,3-дигидро-1H-пирроло[1,2-a]бензимидазол-7-ил]-2-пиридил]метанолом; трет-бутил-4-[5-[(1R или S)-1-фенил-2,3-дигидро-1H-пирроло[1,2-a]бензимидазол-7-ил]-2-пиридил]пиперазин-1-карбоксилатом;

(1R или S)-7-[6-хлорметил)-3-пиридил]-1-фенил-2,3-дигидро-1H-пирроло[1,2-а]бензимидазолом; (1R или S)-7-[(6-(метилсульфонилметил)-3-пиридил]-1-фенил-2,3-дигидро-1H-пирроло[1,2-а]бензимидазолом или (1R или S)-1-фенил-7-[6-(пиперазин-1-ил)пиридин-3-ил]-2,3-дигидро-1H-пирроло[1,2-а]бензимидазолом.

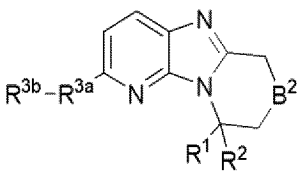
В конкретных вариантах осуществления соединение представляет собой 1-(2-метилфенил)-7-[2-(морфолин-4-ил)пиримидин-5-ил]-2,3-дигидро-1H-пирроло[1,2-а]бензимидазол; 7-[2-(морфолин-4-ил)пиримидин-5-ил]-1-фенил-2,3-дигидро-1H-пирроло[1,2-а]бензимидазол; (1R или S)-7-(6-метилсульфонил-3-пиридил)-1-фенил-2,3-дигидро-1H-пирроло[1,2-а]бензимидазол; [5-[(1R или S)-1-фенил-2,3-дигидро-1H-пирроло[1,2-а]бензимидазол-7-ил]-2-пиридил]метанол; трет-бутил-4-[5-[(1R или S)-1-фенил-2,3-дигидро-1H-пирроло[1,2-а]бензимидазол-7-ил]-2-пиридил]пиперазин-1-карбоксилат; (1R или S)-7-[6-хлорметил)-3-пиридил]-1-фенил-2,3-дигидро-1H-пирроло[1,2-а]бензимидазол; (1R или S)-7-[(6-(метилсульфонилметил)-3-пиридил]-1-фенил-2,3-дигидро-1H-пирроло[1,2-а]бензимидазол или (1R или S)-1-фенил-7-[6-(пиперазин-1-ил)пиридин-3-ил]-2,3-дигидро-1H-пирроло[1,2-а]бензимидазол.

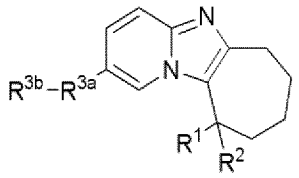
В конкретных вариантах осуществления соединение формулы (2a) имеет одну из следующих структур:



,


,

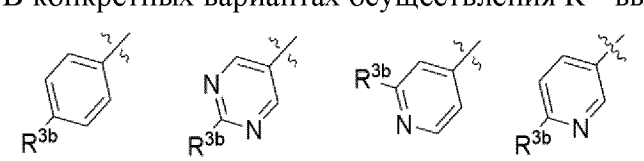


или


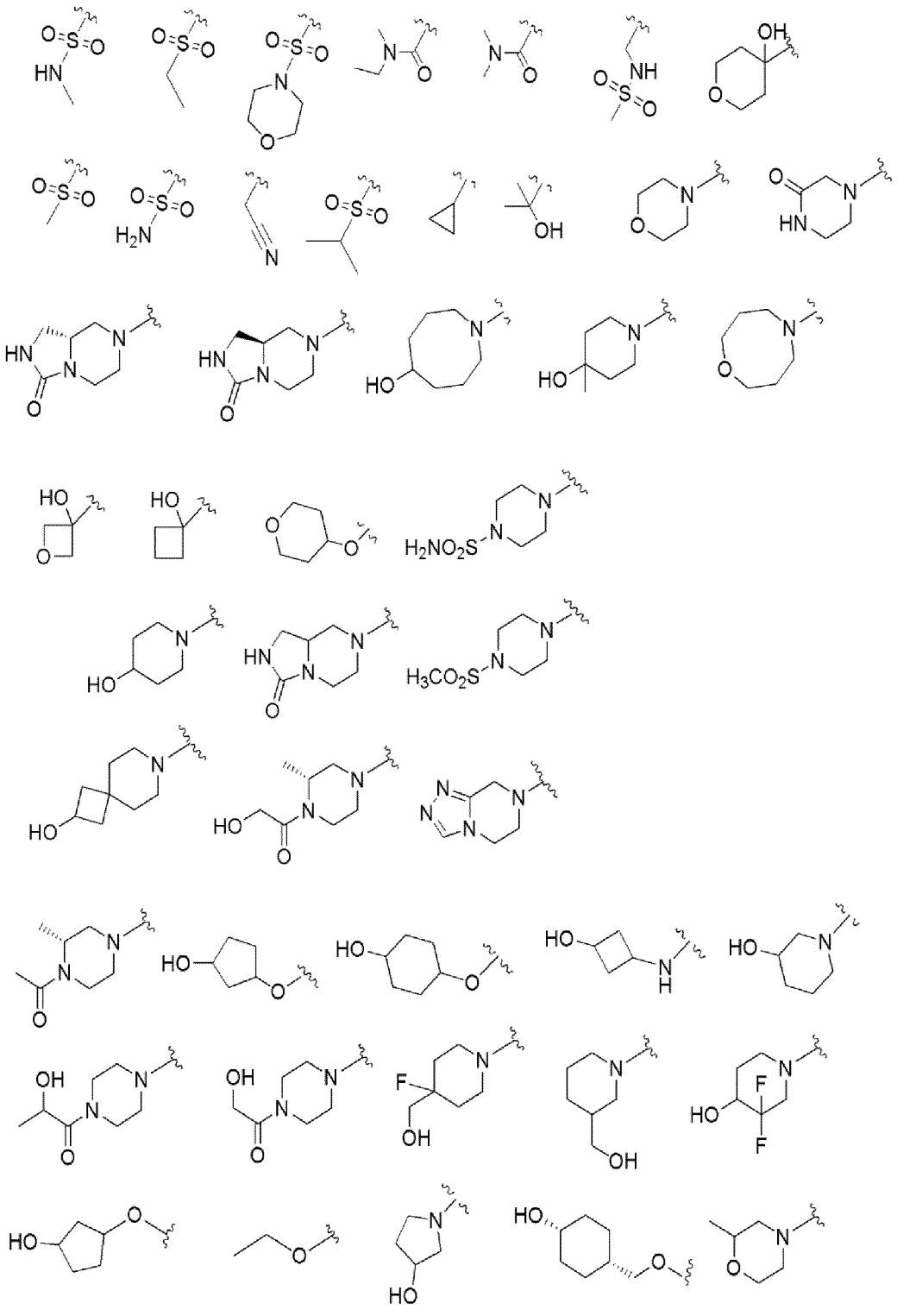
,

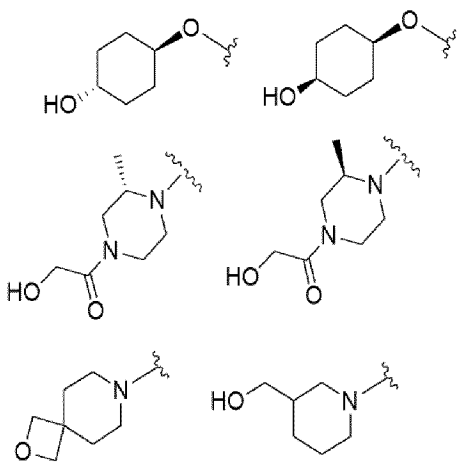
где A^2 представляет собой CH или N; A^3 представляет собой CH или N; B^1 представляет собой CH_2 или O; B^2 представляет собой CH_2 или O; X представляет собой C или N; Y представляет собой C или N; Z^1 представляет собой CH_2 или O; и Z^2 представляет собой CH_2 или O.

В конкретных вариантах осуществления R^{3a} выбран из группы, состоящей из:



В конкретных вариантах осуществления R^{3b} выбран из группы, состоящей из:

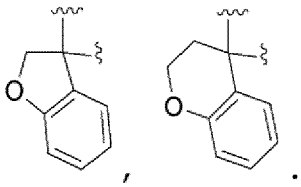




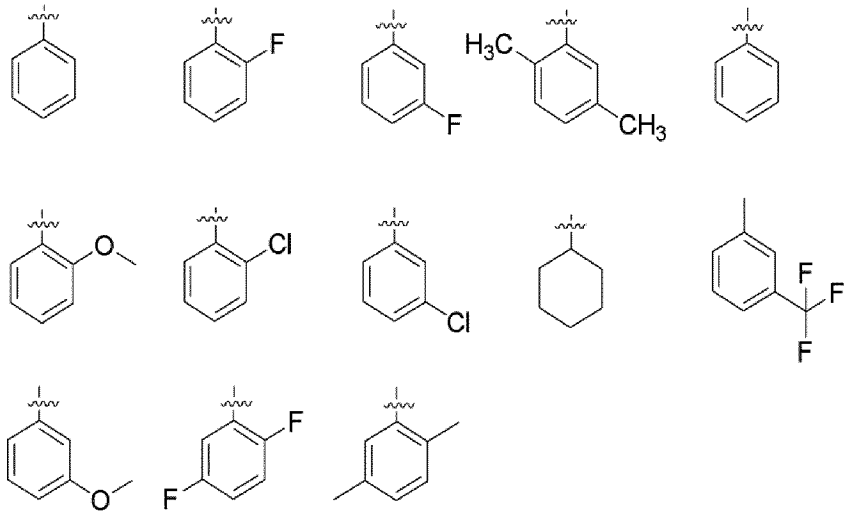
В конкретных вариантах осуществления R^{3a} или R^{3b} могут быть использованы для присоединения линкера TNF к соединению по изобретению. Это может быть выполнено, например, с использованием любой гидроксильной, амино, амидо, тиильной или карбоксильной группы, которая имеется в R^{3a} или R^{3b}, описанных в настоящем документе, или которая может быть введена в них. В любых подобных случаях гидроксильная группа в R^{3a} или R^{3b} может быть использована, например, для образования сложноэфирной связи; карбоксильная группа в R^{3a} или R^{3b} может быть использована, например, для образования сложноэфирной связи или амидной связи; аминогруппа в R^{3a} или R^{3b} может быть использована, например, для образования амидной группы и иминогруппы и так далее; амино, амидо или тиильная группа в R^{3a} или R^{3b} может быть использована, например, для образования химической связи путем алкилирования или нуклеофильного замещения и так далее, как известно специалистам в данной области.

В конкретных вариантах осуществления R^1 выбран из группы, состоящей из H, метила и гидроксила.

В конкретных вариантах осуществления R^1 и R^2 в совокупности образуют одну из следующих структур:



В конкретных вариантах осуществления R^4 выбран из группы, состоящей из:



В конкретных вариантах осуществления соединение выбрано из группы, состоящей из:

2-(5-(1-(2-метоксифенил)-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

4-(3-фторфенил)-7-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

(R)-1-фенил-7-(2-((тетрагидро-2H-пиран-4-ил)окси)пиридин-4-ил)-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазола;

(S)-2-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-9-фенил-8,9-дигидро-6H-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

2-(5-(8-метил-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

2-(5-(1-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

(S)-7-(2-((1R,6S)-3,10-диазабицикло[4,3,1]декан-10-ил)пиримидин-5-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

(S)-7-(5-(4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)-7-азаспиро[3,5]нонан-2-амина;

7-(5-((S)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

7-(5-(8-(2-метоксифенил)-7,8-дигидро-6H-циклопента[4,5]имидазо[1,2-b]пиридазин-2-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

1-(5-(8-фенил-7,8-дигидро-6H-циклопента[4,5]имидазо[1,2-b]пиридазин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

2-(5-(4-(2-метоксифенил)-3,4-дигидро-1H-пиран[3',4':4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-7-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

(S)-7-(5-((R)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

(R)-7-(5-((R)-1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

2-(5-(8-(пиридин-2-ил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

2-(5-(1-(пиридин-2-ил)-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

(S)-7-(5-((S)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

(R)-7-(5-((S)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

7-(5-(9-(2-метоксифенил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)-7-азаспиро[3,5]нонан-2-ола;

4-(5-(9-(2-метоксифенил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)-1,4-оксазепана;

7-(5-(9-(2-метоксифенил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

1-(5-(9-(2-метоксифенил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)-4-метилпиперидин-4-ола;

(4-фтор-1-(5-(9-(2-метоксифенил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ил)метанола;

(4-фтор-1-(5-(9-(2-метоксифенил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ил)метанола;

1-(5-(9-(2-метоксифенил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)азепан-4-ола;

1-(5-(9-(2-метоксифенил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

1-(5-(8-метил-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

1-(5-(9-(3-фторфенил)-8,9-дигидро-6H-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

7-(5-(8-метил-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

7-(5-(9-(3-фторфенил)-8,9-дигидро-6H-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-2-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

7-(5-(8-циклогексил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

7-(5-((R)-8-циклогексил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

7-(5-((S)-4-(2-хлорфенил)-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

7-(5-(4-(3-хлорфенил)-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

7-(5-(4-(2-фторфенил)-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

4-(5-(1-(2-метоксифенил)-2,3-дигидро-1H-циклопента[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-7-ил)пиримидин-2-ил)морфолина;

(R)-7-(5-((R)-9-фенил-8,9-дигидро-6H-пирано[3',4':4,5]имидазо[1,2-b]пиридазин-2-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

(R)-7-(5-((R)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-пирано[3',4':4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-7-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

1-(5-(9-(2-метоксифенил)-6,7,8,9-тетрагидроимидазо[1,2-a:5,4-b']дипиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

7-(5-(8-(2-метоксифенил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

1-(5-(8-(2-метоксифенил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

(S)-1-(5-(9-(2-метоксифенил)-8,9-дигидро-6H-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

7-(5-((S)-9-фенил-8,9-дигидро-6H-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-2-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-1(5H)-она;

(S)-1-(5-(9-фенил-8,9-дигидро-6H-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

(S)-4-(5-(9-фенил-8,9-дигидро-6H-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперазин-2-она;

(S)-2-(5-(9-фенил-8,9-дигидро-6H-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-2-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

(S)-7-(5-((R)-1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

(R)-3-(5-(1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)оксетан-3-ола;

(R)-1-(5-(1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)циклобутанола;

(R)-4-(5-(1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)тетрагидро-2H-пиран-4-ола;

(R)-7-(5-((R)-1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

2-(5-(4-(2,6-дихлорфенил)-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

(S)-2-(5-(4-(2-метоксифенил)-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

7-(5-((S)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

7-(5-(4-(2-хлорфенил)-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

7-(5-(1,2',3,3'-тетрагидроспиро[бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-4,1'-инден]-7-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

(S)-2-гидрокси-1-(4-(5-(4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)пиперазин-1-ил)этанона;

7-(5-((S)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)-7-азаспиро[3,5]нонан-1-ола;

(R)-1-(5-(8-(3-фторфенил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

(R)-1-(5-(8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

(R)-4-(5-(8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)морфолина;

(S)-2-(5-(1-(2,5-диметилфенил)-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

(R)-2-(5-(1-(2,5-диметилфенил)-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

(S)-4-(3-фторфенил)-7-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

7-(5-(8-(2,5-диметилфенил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она, соединенного с этаном (1:1);

7-(5-(8-(3-фторфенил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

(R)-1-(5-(1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

(R)-4-(5-(1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)тиоморфолина 1,1-диоксида;

-(5-(8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

7-(5-((R)-1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

3,3-дифтор-1-(5-((R)-1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

(S)-2-(5-(4-(2-(дифторметокси)фенил)-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

(S)-2-(5-(9-(2-метоксифенил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-2-

ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

(R)-7-(5-(1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)-7-азаспиро[3,5]нонан-2-ола;

1-(5-(8-(2,5-диметилфенил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

4-(5-(10-(2-метоксифенил)-7,8,9,10-тетрагидро-6H-циклогепта[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)морфолина;

(R)-4-(5-(1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)морфолина;

7-(5-((S)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

4-(5-(8-(2,5-диметилфенил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперазин-2-она;

2-(5-(1-(2,5-диметилфенил)-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

3,3-дифтор-1-(5-((S)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

7-(5-(4-(3-фторфенил)-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

(R)-2-(5-(1-(2-метоксифенил)-2,3-дигидро-1H-циклопента[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-7-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

7-(4-(изопропилсульфонил)фенил)-1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазола;

2-(5-(9-(2-метоксифенил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

4-(5-(8-(2,5-диметилфенил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)морфолина;

(S)-7-(5-(4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)-7-азаспиро[3,5]нонан-2-ола;

4-(5-(9-(2-метоксифенил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)морфолина;

(S)-1-(5-(4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

1-(5-(9-фенил-6,7,8,9-тетрагидроимидазо[1,2-a:5,4-b']дипиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

(R)-2-(5-(1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

4-(5-(8-(3-фторфенил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)морфолина;

2-(5-(10-(2-метоксифенил)-7,8,9,10-тетрагидро-6H-циклогепта[4,5]имидазо[1,2-

а]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

N-метил-4-(1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)бензолсульфонамида;

1-(5-(8-(3-фторфенил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

7-(4-(этилсульфонил)фенил)-1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазола;

(S)-7-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

4-(5-(8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)морфолина;

4-(5-(8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)морфолина;

(S)-7-(5-(4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)-7-азаспиро[3,5]нонан-2-ола;

1-(5-(8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

(S)-7-(2-(1,4-оксазепан-4-ил)пиримидин-5-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

4-(5-(1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)морфолина;

3,3-дифтор-1-(5-(4-(3-фторфенил)-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

(1-(5-((S)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-3-ил)метанола;

1-(5-((S)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)азепан-4-ола;

(S)-4-(5-(4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)пиперазин-1-сульфонамида;

N-(4-(1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)бензил)метансульфонамида;

2-(5-(1-(2-метоксифенил)-2,3-дигидро-1H-циклопента[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-7-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

7-(4-(метилсульфонил)фенил)-1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазола;

7-(2-(1,4-оксазепан-4-ил)пиримидин-5-ил)-4-(3-фторфенил)-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

4-(1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)бензолсульфонамида;

(4-(5-((S)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-

ил)пиримидин-2-ил)морфолин-2-ил)метанола;

(S)-4-(5-(4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)тиоморфолина 1,1-диоксида;

4-(5-(9-фенил-6,7,8,9-тетрагидроимидазо[1,2-a:5,4-b']дипиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)морфолина;

(R)-4-(5-(1-фенил-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-8-ил)пиримидин-2-ил)морфолина;

2-(5-(1-(3-фторфенил)-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

(S)-(4-фтор-1-(5-(4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ил)метанола;

4-(5-(9-(3-хлорфенил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)морфолина;

(R)-2-(5-(1-фенил-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-8-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

(S)-7-(2-(1'-метил-[4,4'-бипиперидин]-1-ил)пиримидин-5-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

2-(5-(9-фенил-6,7,8,9-тетрагидроимидазо[1,2-a:5,4-b']дипиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

7-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

(4S)-7-(2-(2-метилморфолино)пиримидин-5-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

7-(5-(4-(3-фторфенил)-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)-7-азаспиро[3,5]нонан-2-ола;

4-(5-(1-фенил-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-8-ил)пиримидин-2-ил)морфолина;

Этил-2-[[5-[9-(2-метоксифенил)-6,7,8,9-тетрагидропиридо[1,2-a]бензимидазол-2-ил]пиримидин-2-ил]амино]ацетата;

(S)-7-(2-(5,6-дигидро-[1,2,4]триазоло[4,3-a]пиразин-7(8H)-ил)пиримидин-5-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

2-(5-(8-(3-фторфенил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

(S)-7-(2-(4-(метилсульфонил)пиперазин-1-ил)пиримидин-5-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

2-(5-(8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

2-(4-(1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)фенил)ацетонитрила;

4-(5-(8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-

ил)пиримидин-2-ил)пиперазин-2-она;

7-(2-циклопропилпиримидин-5-ил)-1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазола;

(S)-4-(5-(4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)пиперазин-2-она;

2-((5-(9-(2-метоксифенил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-2-ил)пиридин-2-ил)окси)уксусной кислоты;

7-(6-(этилсульфонил)пиридин-3-ил)-1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазола;

4-(5-(8-(3-фторфенил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперазин-2-она;

10-(3-фторфенил)-2-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-7,8,9,10-тетрагидро-6H-циклогепта[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-10-ола;

4-(5-(9-фенил-6,7,8,9-тетрагидроимидазо[1,2-a:5,4-b']дипиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперазин-2-она;

(S)-6-(5-(4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)-6-азаспиро[3,4]октан-2-ола;

N,H-диметил-4-(1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)бензамида;

H-этил-H-метил-4-(1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)бензамида;

7-(6-морфолинопиридин-3-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

2-(5-(1-фенил-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-8-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

2-(5-(1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

(S)-4-(2-гидроксиэтил)-1-(5-(4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

(S)-7-(2-(2-окса-7-азаспиро[3,5]нонан-7-ил)пиримидин-5-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

2-(1-(5-((S)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-3-ил)уксусной кислоты;

7-(5-метил-6-морфолинопиридин-3-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

7-(5-(2-метил-1H-имидазол-1-ил)пиразин-2-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

2-(5-(1-циклогексил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

2-(5-(4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-

ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

(S)-(4-(метилсульфонил)-1-(5-(4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ил)метанола;

1-(1-(5-((S)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ил)этанола;

(S)-4-(5-(4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)-1,4-диазепан-2-она;

2-(4-(1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)фенокси)ацетонитрила;

(S)-N-(1-(5-(4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ил)метансульфонамида;

(S)-3-(1-(5-(4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ил)пропионовой кислоты;

4-фенил-7-(6-(трифторметил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

4-(5-(1-фенил-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-8-ил)пиримидин-2-ил)пиперазин-2-она;

7-(5-фтор-6-метоксипиридин-3-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

N,N-диметил-5-(1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиридин-2-амина;

7-(2-метилпиридин-4-ил)-1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазола;

(4S)-4-фенил-7-(2-(2-(трифторметил)морфолино)пиримидин-5-ил)-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

7-(5-((S)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)-2,7-диазаспиро[4,4]нонан-1-она;

N-циклопентил-5-(4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-амина;

7-(2-(1H-пиразол-1-ил)пиримидин-5-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

(4S)-7-(2-(2,6-диметилморфолино)пиримидин-5-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

7-(6-метилпиридин-3-ил)-1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазола;

7-(5-этоксипиридин-3-ил)-1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазола;

2-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-9-(м-толил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-9-ола;

7-(6-(метилтио)пиридин-3-ил)-1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-

а]имидазола;

этил-2-((5-(10-(2-метоксифенил)-7,8,9,10-тетрагидро-6Н-циклогепта[4,5]имидазо[1,2-а]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)амино)ацетата;

(S)-3-(4-(5-(4-фенил-3,4-дигидро-1Н-бензо[4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)пиперазин-1-ил)пропан-1-ола;

9-(3-фторфенил)-2-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пиридин-9-ола;

2-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-9-фенил-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пиридин-9-ола;

4-(2,5-дифторфенил)-7-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-3,4-дигидро-1Н-бензо[4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазина;

1-фенил-7-(6-(пиперазин-1-ил)пиридин-3-ил)-2,3-дигидро-1Н-бензо[d]пирроло[1,2-а]имидазола;

9-(2-метоксифенил)-2-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пиридин-9-ола;

(S)-7-(2-(2-окса-6-азаспиро[3,4]октан-6-ил)пиримидин-5-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1Н-бензо[4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазина;

7-(5-(1Н-имидазол-1-ил)пиразин-2-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1Н-бензо[4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазина;

7-(фуро[3,2-b]пиридин-6-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1Н-бензо[4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазина;

10-(3-хлорфенил)-2-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-7,8,9,10-тетрагидро-6Н-циклогепта[4,5]имидазо[1,2-а]пиридин-10-ола;

Н-этил-4-(1-фенил-2,3-дигидро-1Н-бензо[d]пирроло[1,2-а]имидазол-7-ил)бензамида;

2-(3-(1-фенил-2,3-дигидро-1Н-бензо[d]пирроло[1,2-а]имидазол-7-ил)феноксиацетонитрила;

2-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-10-(м-толил)-7,8,9,10-тетрагидро-6Н-циклогепта[4,5]имидазо[1,2-а]пиридин-10-ола;

2-((5-(10-(2-метоксифенил)-7,8,9,10-тетрагидро-6Н-циклогепта[4,5]имидазо[1,2-а]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)амино)уксусной кислоты;

Н-циклопропил-4-(1-фенил-2,3-дигидро-1Н-бензо[d]пирроло[1,2-а]имидазол-7-ил)бензамида;

4-(1-фенил-2,3-дигидро-1Н-бензо[d]пирроло[1,2-а]имидазол-7-ил)бензамида;

1-(4-(5-(4-фенил-3,4-дигидро-1Н-бензо[4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазин-7-ил)пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)этанона;

7-(6-(4-метилпиперазин-1-ил)пиридин-3-ил)-1-фенил-2,3-дигидро-1Н-бензо[d]пирроло[1,2-а]имидазола;

7-(бензо[d][1,3]диоксол-5-ил)-1-фенил-2,3-дигидро-1Н-бензо[d]пирроло[1,2-а]имидазола;

9-(3-фтор-2-метилфенил)-2-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-9-ола;

8-фенил-2-(4-(пиримидин-2-ил)пиперазин-1-ил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридина;

9-(4-фторфенил)-2-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-9-ола;

7-(5-((S)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)тетрагидро-1H-оксазоло[3,4-a]пиразин-3(5H)-она;

2-((5-(9-(2-метоксифенил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)амино)уксусной кислоты;

10-(4-фторфенил)-2-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-7,8,9,10-тетрагидро-6H-циклогепта[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-10-ола;

9-(3-хлорфенил)-2-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-9-ола;

N-циклопропил-5-(4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-амина;

9-(3-хлор-5-фторфенил)-2-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-9-ола;

N,N-диметил-5-(4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-амина;

1-(5-(1-фенил-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-8-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-карбоновой кислоты;

7-(6-изопропоксипиридин-3-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

7-(6-изопропоксипиридин-3-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

4-(5-(6-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[1',2':1,2]имидазо[4,5-c]пиридин-3-ил)пиримидин-2-ил)морфолина;

1-фенил-7-(1-(пиридин-3-илметил)-1H-пиразол-4-ил)-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазола;

5-(4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиколинонитрила;

7-(4-метил-3,4-дигидро-2H-пиридо[3,2-b][1,4]оксазин-7-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

2-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-9-(п-толил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-9-ола;

7-(6-(метилсульфонил)пиридин-3-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

N-(2-метоксиэтил)-4-(1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)бензамида;

N-метил-4-(1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)бензамида;

4-фенил-7-(6-(2,2,2-трифторэтокси)пиридин-3-ил)-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

1-(5-(4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-карбоновой кислоты;

7-(5-метил-6-(4-метилпиперазин-1-ил)пиридин-3-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

5-(9-(2-метоксифенил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-2-ил)тиофен-2-карбоновой кислоты;

7-(6-(4-метилпиперазин-1-ил)пиридин-3-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

(S)-7-(2-(1'-метил-[4,4'-бипиперидин]-1-ил)пиримидин-5-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

7-(2-метоксипиримидин-5-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

10-(3-хлор-5-фторфенил)-2-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-7,8,9,10-тетрагидро-6H-циклогепта[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-10-ола;

3-(2-гидроксиэтил)-1-(5-((S)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)пирролидин-3-ола;

4-(5-(9-(2-метоксифенил)-6,7-дигидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)морфолина;

10-(4-метоксифенил)-2-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-7,8,9,10-тетрагидро-6H-циклогепта[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-10-ола;

7-(5-(1H-пиразол-1-ил)пиразин-2-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

1-фенил-7-(пиридин-3-ил)-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазола;

5-(1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиримидин-2-амина;

2-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-10-(п-толил)-7,8,9,10-тетрагидро-6H-циклогепта[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-10-ола;

5-(4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-карбонитрила;

(R)-2-(5-(9-(2-метоксифенил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

(S)-7-(2-((R)-3-(метилсульфонил)пирролидин-1-ил)пиримидин-5-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

7-([1,2,5]оксадиазоло[3,4-b]пиридин-6-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

2-(5-(6-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[1,2':1,2]имидазо[4,5-c]пиридин-3-

ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

7-(2-метилпиримидин-5-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1Н-бензо[4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазина;

1-фенил-7-(пиримидин-5-ил)-2,3-дигидро-1Н-бензо[d]пирроло[1,2-а]имидазола;

7-(6-метокси-5-метилпиридин-3-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1Н-бензо[4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазина;

10-(4-хлорфенил)-2-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-7,8,9,10-тетрагидро-6Н-циклогепта[4,5]имидазо[1,2-а]пиридин-10-ола;

2-(3-(1-фенил-2,3-дигидро-1Н-бензо[d]пирроло[1,2-а]имидазол-7-ил)фенил)ацетонитрила;

Н-(3-(1-фенил-2,3-дигидро-1Н-бензо[d]пирроло[1,2-а]имидазол-7-ил)бензил)метансульфонамида;

7-(6-метилпиридин-3-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1Н-бензо[4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазина;

(S)-2-(5-(1-фенил-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пиридин-8-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

(S)-7-(2-(4-(1-метилпиперидин-4-ил)пиперазин-1-ил)пиримидин-5-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1Н-бензо[4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазина;

4-фенил-7-(6-(пиперазин-1-ил)пиридин-3-ил)-3,4-дигидро-1Н-бензо[4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазина;

(4S)-7-(2-(3-(метилсульфонил)пирролидин-1-ил)пиримидин-5-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1Н-бензо[4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазина;

(S)-8-(5-(4-фенил-3,4-дигидро-1Н-бензо[4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)-1,3,8-триазаспиро[4,5]декан-4-она;

7-(6-изопропокси-5-метилпиридин-3-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1Н-бензо[4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазина;

7-(5-метилпиридин-3-ил)-1-фенил-2,3-дигидро-Н-бензо[d]пирроло[1,2-а]имидазола;

Н-метил-3-(1-фенил-2,3-дигидро-1Н-бензо[d]пирроло[1,2-а]имидазол-7-ил)бензамида;

4-(1-фенил-2,3-дигидро-1Н-бензо[d]пирроло[1,2-а]имидазол-7-ил)-Н-((тетрагидрофуран-2-ил)метил)бензамида;

(S)-4-(5-(1-фенил-2,3-дигидро-1Н-бензо[d]пирроло[1,2-а]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)морфолина;

Н-(5-(4-фенил-3,4-дигидро-1Н-бензо[4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазин-7-ил)пиридин-2-ил)ацетамида;

Н-этил-Н-метил-3-(1-фенил-2,3-дигидро-1Н-бензо[d]пирроло[1,2-а]имидазол-7-ил)бензамида;

5-(1-фенил-2,3-дигидро-1Н-бензо[d]пирроло[1,2-а]имидазол-7-ил)пиридин-2-амина;

7-(3-метил-3Н-имидазо[4,5-b]пиридин-6-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1Н-

бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

10-(3,5-диметоксифенил)-2-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-7,8,9,10-тетрагидро-6H-циклогепта[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-10-ола;

N,H-диметил-3-((5-(4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиридин-2-ил)окси)пропан-1-амина;

(3R,4R)-1-(5-((S)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)пирролидин-3,4-диола;

H-(2-(диметиламино)этил)-3-(1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)бензамида;

10-(3-метоксифенил)-2-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-7,8,9,10-тетрагидро-6H-циклогепта[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-10-ола;

7-(1,5-диметил-1H-пиразол-4-ил)-1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазола;

N,H-диметил-3-(1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)бензамида;

7-(3-(метилсульфонил)фенил)-1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазола;

4-фенил-7-(пиридо[2,3-b]пиразин-7-ил)-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

1-метил-5-(1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиридин-2(1H)-она;

(3S,4S)-1-(5-((S)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)пирролидин-3,4-диола;

4-фенил-7-(пиримидин-5-ил)-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

(S)-2-(5-(1-(2-метоксифенил)-2,3-дигидро-1H-циклопента[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-7-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

(S)-2-(5-(1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

2-(2-(2-(2-гидроксипропан-2-ил)пиримидин-5-ил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-9-ил)фенола;

4-(5-(6-фенил-6,7,8,9-тетрагидроимидазо[1,2-a:4,5-b']дипиридин-3-ил)пиримидин-2-ил)пиперазин-2-она;

(S)-7-(2-(3-морфолиноазетидин-1-ил)пиримидин-5-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

7-(5-(метилсульфонил)пиридин-3-ил)-1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-a]имидазола;

(R)-7-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1H-бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

7-(2-метилпиридин-3-ил)-1-фенил-2,3-дигидро-1H-бензо[d]пирроло[1,2-

а]имидазола;

1-(5-(1-фенил-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пиридин-8-ил)пиримидин-2-ил)азетидин-3-карбоновой кислоты;

7-(1-метил-1Н-пиррол-3-ил)-1-фенил-2,3-дигидро-1Н-бензо[d]пирроло[1,2-а]имидазола или

Н-(2-морфолиноэтил)-5-(4-фенил-3,4-дигидро-1Н-бензо[4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазин-7-ил)пиридин-2-амина.

В конкретных вариантах осуществления соединение выбрано из группы, состоящей из:

7-(5-((R)-1-фенил-2,3-дигидро-1Н-бензо[d]пирроло[1,2-а]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-а]пиразин-3(2Н)-она;

3,3-дифтор-1-(5-((R)-1-фенил-2,3-дигидро-1Н-бензо[d]пирроло[1,2-а]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

(S)-2-(5-(4-(2-(дифторметокси)фенил)-3,4-дигидро-1Н-бензо[4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

(S)-2-(5-(9-(2-метоксифенил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

(R)-7-(5-(1-фенил-2,3-дигидро-1Н-бензо[d]пирроло[1,2-а]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)-7-азаспиро[3,5]нонан-2-ола;

1-(5-(8-(2,5-диметилфенил)-7,8-дигидро-6Н-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

4-(5-(10-(2-метоксифенил)-7,8,9,10-тетрагидро-6Н-циклогепта[4,5]имидазо[1,2-а]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)морфолина;

(R)-4-(5-(1-фенил-2,3-дигидро-1Н-бензо[d]пирроло[1,2-а]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)морфолина;

7-(5-((S)-4-фенил-3,4-дигидро-1Н-бензо[4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-а]пиразин-3(2Н)-она;

7-(5-((S)-4-фенил-3,4-дигидро-1Н-бензо[4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-а]пиразин-3(2Н)-она;

4-(5-(8-(2,5-диметилфенил)-7,8-дигидро-6Н-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперазин-2-она;

2-(5-(1-(2,5-диметилфенил)-2,3-дигидро-1Н-бензо[d]пирроло[1,2-а]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

3,3-дифтор-1-(5-((S)-4-фенил-3,4-дигидро-1Н-бензо[4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

7-(5-(4-(3-фторфенил)-3,4-дигидро-1Н-бензо[4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-а]пиразин-3(2Н)-она;

(R)-2-(5-(1-(2-метоксифенил)-2,3-дигидро-1Н-циклопента[4,5]имидазо[1,2-а]пиридин-7-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

7-(4-(изопропилсульфонил)фенил)-1-фенил-2,3-дигидро-1Н-бензо[d]пирроло[1,2-

а]имидазола;

2-(5-(9-(2-метоксифенил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

4-(5-(8-(2,5-диметилфенил)-7,8-дигидро-6Н-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)морфолина;

(S)-7-(5-(4-фенил-3,4-дигидро-1Н-бензо[4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)-7-азаспиро[3,5]нонан-2-ола;

4-(5-(9-(2-метоксифенил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)морфолина;

1-(5-(9-фенил-6,7,8,9-тетрагидроимидазо[1,2-а:5,4-b']дипиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

(R)-2-(5-(1-фенил-2,3-дигидро-1Н-бензо[d]пирроло[1,2-а]имидазол-7-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

2-(5-(10-(2-метоксифенил)-7,8,9,10-тетрагидро-6Н-циклогепта[4,5]имидазо[1,2-а]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

Н-метил-4-(1-фенил-2,3-дигидро-1Н-бензо[d]пирроло[1,2-а]имидазол-7-ил)бензолсульфонамида;

(S)-7-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-4-фенил-3,4-дигидро-1Н-бензо[4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазина;

(S)-7-(5-(4-фенил-3,4-дигидро-1Н-бензо[4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазин-7-ил)пиримидин-2-ил)-7-азаспиро[3,5]нонан-2-ола;

2-(5-(1-(2-метоксифенил)-2,3-дигидро-1Н-циклопента[4,5]имидазо[1,2-а]пиридин-7-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

(R)-2-(5-(1-фенил-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пиридин-8-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

этил-2-[[5-[9-(2-метоксифенил)-6,7,8,9-тетрагидропиридо[1,2-а]бензимидазол-2-ил]пиримидин-2-ил]амино]ацетата;

2-((5-(9-(2-метоксифенил)-6,7,8,9-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пиридин-2-ил)пиридин-2-ил)окси)уксусной кислоты.

В конкретных вариантах осуществления соединение выбрано из группы, состоящей из:

(8aR)-7-(5-(6',8'-дигидро-2Н-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-а]пиразин-3(2Н)-она;

3-((5-(6',8'-дигидро-2Н-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)амино)циклобутанола;

5-(6',8'-дигидро-2Н-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазин]-2'-ил)-Н-(тетрагидрофуран-3-ил)пиримидин-2-амина;

1-(5-(6',8'-дигидро-2Н-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-с][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-3-ола;

2'-(2-(4-метилпиперазин-1-ил)пиримидин-5-ил)-6',8'-дигидро-2Н-

спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина];

2'-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина];

1-(5-(1,2',3,3'-тетрагидроспиро[бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-4,1'-инден]-7-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

(1-(5-(2,3,6',8'-тетрагидроспиро[инден-1,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-3-ил)метанола;

(8aS)-7-(5-(2,3,6',8'-тетрагидроспиро[инден-1,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

2'-(2-(1,4-оксазепан-4-ил)пиримидин-5-ил)-2,3,6',8'-тетрагидроспиро[инден-1,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина];

3,3-дифтор-1-(5-(2,3,6',8'-тетрагидроспиро[инден-1,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

2-гидрокси-1-(4-(5-(2,3,6',8'-тетрагидроспиро[инден-1,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)пиперазин-1-ил)пропан-1-она;

2-гидрокси-1-(4-(5-(2,3,6',8'-тетрагидроспиро[инден-1,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)пиперазин-1-ил)этанона;

(4-фтор-1-(5-(2,3,6',8'-тетрагидроспиро[инден-1,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ил)метанола;

2'-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-2,3,6',8'-тетрагидроспиро[инден-1,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина];

1-(5-(2,3,6',8'-тетрагидроспиро[инден-1,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)азепан-4-ола;

(S)-2-(5-(6',8'-дигидроспиро[хроман-4,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

(R)-2-(5-(6',8'-дигидроспиро[хроман-4,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

(8aR)-7-(5-(6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

3-((5-(6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)амино)циклобутанола;

5-(6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)-N-(тетрагидрофуран-3-ил)пиримидин-2-амина;

1-(5-(6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-3-ола;

2'-(2-(4-метилпиперазин-1-ил)пиримидин-5-ил)-6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина];

2'-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-

пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина];

1-(5-(1,2',3,3'-тетрагидроспиро[бензо[4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-4,1'-инден]-7-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

(1-(5-(2,3,6',8'-тетрагидроспиро[инден-1,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-3-ил)метанола;

(8aR)-7-(5-(2,3,6',8'-тетрагидроспиро[инден-1,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

2'-(2-(1,4-оксазепан-4-ил)пиримидин-5-ил)-2,3,6',8'-тетрагидроспиро[инден-1,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина];

3,3-дифтор-1-(5-(2,3,6',8'-тетрагидроспиро[инден-1,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

2-гидрокси-1-(4-(5-(2,3,6',8'-тетрагидроспиро[инден-1,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)пиперазин-1-ил)пропан-1-она;

2-гидрокси-1-(4-(5-(2,3,6',8'-тетрагидроспиро[инден-1,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)пиперазин-1-ил)этанона;

(4-фтор-1-(5-(2,3,6',8'-тетрагидроспиро[инден-1,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ил)метанола;

2'-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-2,3,6',8'-тетрагидроспиро[инден-1,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина];

1-(5-(2,3,6',8'-тетрагидроспиро[инден-1,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)азепан-4-ола;

(R)-1-((4,4-дифторциклогексил)метил)-4-(8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиридин-2(1H)-она;

(1r,4r)-4-((4-(6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиридин-2-ил)окси)циклогексанола;

(1s,4s)-4-((4-(6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиридин-2-ил)окси)циклогексанола;

3-((4-(6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиридин-2-ил)окси)циклопентанола;

2'-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-6',7'-дигидроспиро[циклогексан-1,9'-пирано[4',3':4,5]имидазо[1,2-b]пиридазина];

2'-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-6',7'-дигидроспиро[хроман-4,9'-пирано[4',3':4,5]имидазо[1,2-b]пиридазина];

2'-(2-(пиперазин-1-ил)пиримидин-5-ил)-6'H,8'H-спиро[хроман-4,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина];

2'-(2-метоксипиримидин-5-ил)-6',8'-дигидроспиро[хроман-4,9'-пиридо[3,2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина];

2'-(2-этоксипиримидин-5-ил)-6',8-дигидроспиро[хроман-4,9'-

пиридо[3,2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина];

2'-(2-(метилсульфонил)пиримидин-5-ил)-6',8'-дигидроспиро[хроман-4,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина];

2'-(2-(1,4-диазепан-1-ил)пиримидин-5-ил)-6',8'-дигидроспиро[хроман-4,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина];

5-(6',8'-дигидроспиро[хроман-4,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)-N-изопропилпиримидин-2-амина;

2'-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-6',8-дигидроспиро[хроман-4,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина];

2-(5-(6',8'-дигидроспиро[хроман-4,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

2'-(2-((тетрагидро-2H-пиран-4-ил)окси)пиридин-4-ил)-6',8'-дигидроспиро[хроман-4,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина];

5-(6'H,8'H-спиро[хроман-4,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)-N-(тетрагидрофуран-3-ил)пиримидин-2-амина;

(8aR)-7-(5-(6',8'-дигидроспиро[хроман-4,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

1-(5-(6',8'-дигидроспиро[хроман-4,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

1-(5-(6',8'-дигидроспиро[хроман-4,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-3-ола;

1-(5-(6',8'-дигидроспиро[хроман-4,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)азетидин-3-ола;

1-(5-(6',8'-дигидроспиро[хроман-4,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)пирролидин-3-ола;

3-((5-(6',8'-дигидроспиро[хроман-4,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)амино)циклобутанола;

1-(5-(6',8'-дигидроспиро[хроман-4,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)-3-метилазетидин-3-ола;

2'-(2-(4-метилпиперазин-1-ил)пиримидин-5-ил)-6',8'-дигидроспиро[хроман-4,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина];

2'-(5,5-диметил-2,5-дигидро-1H-пиррол-3-ил)-2H,6'H,8'H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина];

2'-(2,5-дигидро-1H-пиррол-3-ил)-6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина];

2'-(2-(пиперазин-1-ил)пиримидин-5-ил)-2H,6'H,8'H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина];

2'-(2-((тетрагидро-2H-пиран-4-ил)окси)пиридин-4-ил)-6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина];

2'-(2-метоксипиримидин-5-ил)-6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-

пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина];

2-(трет-бутокси)-1-((2S)-4-(5-(6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)-2-метилпиперазин-1-ил)этанона;

2-(трет-бутокси)-1-((3S)-4-(5-(6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)-3-метилпиперазин-1-ил)этанона;

2-(трет-бутокси)-1-((3R)-4-(5-(6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)-3-метилпиперазин-1-ил)этанона;

2-(трет-бутокси)-1-((2R)-4-(5-(6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)-2-метилпиперазин-1-ил)этанона;

1-((2S)-4-(5-(2H,6'H,8'H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)-2-метилпиперазин-1-ил)-2-гидроксиэтан-1-она;

1-((3S)-4-(5-(6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)-3-метилпиперазин-1-ил)-2-гидроксиэтанона;

1-((3R)-4-(5-(6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)-3-метилпиперазин-1-ил)-2-гидроксиэтанона;

1-((2R)-4-(5-(6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)-2-метилпиперазин-1-ил)-2-гидроксиэтанона;

2-(5-(2,3-дигидро-6'H,8'H-спиро[инден-1,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

2'-(2-(2-гидроксипропан-2-ил)пиримидин-5-ил)-6',8'-дигидроспиро[инден-1,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-3(2H)-она;

2'-(2-(2-гидроксипропан-2-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидро-6'H,8'H-спиро[инден-1,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-6'-ола;

2'-(1-(пиримидин-4-ил)-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-2H,6'H,8'H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина];

1-(4-(6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)-5,6-дигидропиридин-1(2H)-ил)-3-метокси-3-метилбутан-1-она;

(S)-1-(5-(6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

(R)-7-(5-((S)-6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

(1S,4r)-4-((4-((S)-6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиридин-2-ил)окси)циклогексанола;

1-((S)-4-(5-((S)-6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)-2-метилпиперазин-1-ил)-2-гидроксиэтанона;

1-((R)-4-(5-((S)-6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)-2-метилпиперазин-1-ил)-2-гидроксиэтанона;

1-((R)-4-(5-((R)-6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)-2-метилпиперазин-1-ил)-2-гидроксиэтанона;

1-((S)-4-(5-((R)-6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)-2-метилпиперазин-1-ил)-2-гидроксиэтанона;

1-(5-(6',8'-дигидроспиро[изохроман-4,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

(8aR)-7-(5-(6',8'-дигидроспиро[изохроман-4,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

2'-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-6',8'-дигидроспиро[изохроман-4,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина];

2-(5-(2,3-дигидро-6'H,8'H-спиро[инден-1,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-амина;

(S)-2-(5-(6',8'-дигидро-2H-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-амина; или

2'-(2-(2-гидроксипропан-2-ил)пиримидин-5-ил)-2,3,6',8'-тетрагидроспиро[инден-1,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-3-ола.

В конкретных вариантах осуществления соединение выбрано из группы, состоящей из:

((R)-1-(5-((R)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пирролидин-2-ил)метанола;

((S)-1-(5-((R)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пирролидин-2-ил)метанола;

(R)-1-(2-(метилсульфонил)этил)-4-(8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиридин-2(1H)-она;

(R)-1-(2-гидрокси-2-метилпропил)-4-(8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиридин-2(1H)-она;

1-(5-((R)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)этанола;

2-циклопропил-1-(5-((R)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)этанола;

(5-((R)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)метанола;

1-(5-((R)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)этанола;

1-циклопропил-2-(5-((R)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-

b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

1-((R)-2-метил-4-(5-((R)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперазин-1-ил)этанона;

1-((S)-2-метил-4-(5-((R)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперазин-1-ил)этанона;

(1R,3R)-3-((4-((R)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пиридо[3,2-b]пирролизин-2-ил)пиридин-2-ил)окси)циклопентанкарбонитрила;

(R)-1-((4,4-дифторциклогексил)метил)-4-(8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиридин-2(1H)-она;

2-(5-(8-(пиридин-2-ил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

1-((S)-2-метил-4-(5-((R)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперазин-1-ил)этанона;

2-гидрокси-1-((R)-2-метил-4-(5-((R)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперазин-1-ил)этанона;

(R)-7-(5-((R)-8-(3-метоксифенил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

1-((R)-4-(5-((R)-8-(3-метоксифенил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)-2-метилпиперазин-1-ил)этанона;

(R)-7-(5-((S)-8-(3-метоксифенил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

(R)-7-(5-((R)-8-(2-метоксифенил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

(S)-7-(5-((R)-8-(2-метоксифенил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

(R)-1-(5-(8-(2-метоксифенил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

2-гидрокси-1-((R)-4-(5-((R)-8-(2-метоксифенил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)-2-метилпиперазин-1-ил)этанона;

(R)-7-(5-((S)-8-(2-метоксифенил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2H)-она;

1-((R)-4-(5-((R)-8-(3-(гидроксиметил)фенил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)-2-метилпиперазин-1-ил)этанона;

1-((R)-4-(5-((R)-8-(3-(гидроксиметил)фенил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)-2-метилпиперазин-1-ил)этанона;

(S)-1-(5-((R)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ил-2-амино-3-метилбутаноата;

(R)-1-(5-(8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ила дигидрофосфата гидрохлорида;

(R)-8-фенил-2-(2-((тетрагидро-2H-пиран-4-ил)окси)пиридин-4-ил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридина;

3-((4-((R)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1:2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиридин-2-ил)окси)циклопентанола;

(R)-4-((4-(8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1:2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиридин-2-ил)окси)циклогексанола;

(R)-2-(2-(оксетан-3-илокси)пиридин-4-ил)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридина;

3-((4-((R)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1:2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиридин-2-ил)окси)циклогексанола;

(R)-2-(2-(оксетан-3-илметокси)пиридин-4-ил)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридина;

(R)-2-(2-(((R)-1-метилпирролидин-3-ил)окси)пиридин-4-ил)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридина;

(R)-2-((4-(8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1:2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиридин-2-ил)окси)этанола;

(R)-2-(2-(((S)-1-метилпирролидин-3-ил)окси)пиридин-4-ил)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридина;

(1S,4s)-4-((4-((R)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиридин-2-ил)окси)циклогексанола;

(8R)-8-фенил-2-(2-((тетрагидро-2H-пиран-3-ил)окси)пиридин-4-ил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридина;

(8R)-8-фенил-2-(2-((тетрагидрофуран-3-ил)окси)пиридин-4-ил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридина;

(R)-2-(2-(циклопентилокси)пиридин-4-ил)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридина;

(R)-2-(2-(циклогексилокси)пиридин-4-ил)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридина;

(R)-метил-4-((4-(8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиридин-2-ил)окси)циклогексанкарбоксилата;

метил-3-((4-((R)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиридин-2-ил)окси)циклопентанкарбоксилата;

(R)-2-(2-бутоксипиридин-4-ил)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пиридо[3,2-b]пирролизина;

(1R,3R)-3-((4-((R)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пиридо[3,2-b]пирролизин-2-ил)пиридин-2-ил)окси)циклопентанкарбонитрила;

(R)-8-фенил-2-(2-((S)-пирролидин-3-илокси)пиридин-4-ил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридина;

(8R)-8-фенил-2-(2-(пиперидин-3-илокси)пиридин-4-ил)-7,8-дигидро-6Н-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридина;

(R)-8-фенил-2-(2-((R)-пирролидин-3-илокси)пиридин-4-ил)-7,8-дигидро-6Н-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридина;

(8R)-2-(2-(6-азаспиро[3,4]октан-1-илокси)пиридин-4-ил)-8-фенил-7,8-дигидро-6Н-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридина;

(R)-2-(2-(6-азаспиро[3,4]октан-2-илокси)пиридин-4-ил)-8-фенил-7,8-дигидро-6Н-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридина;

(8R)-2-(2-(6-азаспиро[3,5]нонан-1-илокси)пиридин-4-ил)-8-фенил-7,8-дигидро-6Н-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридина;

1-(5-(6',8'-дигидро-2Н-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

(R)-1-((4,4-дифторциклогексил)метил)-4-(8-фенил-7,8-дигидро-6Н-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиридин-2(1Н)-она;

(R)-1-(2-метоксиэтил)-4-(8-фенил-7,8-дигидро-6Н-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиридин-2(1Н)-она;

(R)-4-(8-фенил-7,8-дигидро-6Н-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)-1-((тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)метил)пиридин-2(1Н)-она;

4-((R)-8-фенил-7,8-дигидро-6Н-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)-1-(тетрагидрофуран-3-ил)пиридин-2(1Н)-она;

(R)-4-(8-фенил-7,8-дигидро-6Н-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)пиридин-2(1Н)-она;

(R)-8-фенил-2-(1-(тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)-1Н-пиразол-4-ил)-7,8-дигидро-6Н-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридина;

4-((4-(6',8'-дигидро-2Н-спиро[бензофуран-3,9'-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин]-2'-ил)пиридин-2-ил)окси)циклогексанола;

(R)-1-(5-(3-фтор-8-фенил-7,8-дигидро-6Н-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

2-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-9-фенил-7,9-дигидро-6Н-пиран[4',3':4,5]имидазо[1,2-b]пиридазина;

транс-4-((4-(4-(2-метоксифенил)-3,4-дигидро-2Н-пиран[2',3':4,5]имидазо[1,2-a]пиридин-7-ил)пиридин-2-ил)окси)циклогексанола;

(8aS)-7-(5-(9-фенил-8,9-дигидро-6Н-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-2-ил)пиримидин-2-ил)гексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-3(2Н)-она;

3,3-дифтор-1-(5-(9-фенил-8,9-дигидро-6Н-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

1-(5-(9-фенил-8,9-дигидро-6Н-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

2-(2-(1,4-оксазепан-4-ил)пиримидин-5-ил)-9-фенил-8,9-дигидро-6Н-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина;

(1-(5-(9-фенил-8,9-дигидро-6H-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-3-ил)метанола;

(4-фтор-1-(5-(9-фенил-8,9-дигидро-6H-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ил)метанола;

2-гидрокси-1-(4-(5-(9-фенил-8,9-дигидро-6H-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперазин-1-ил)пропан-1-она;

2-гидрокси-1-(4-(5-(9-фенил-8,9-дигидро-6H-пиридо[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперазин-1-ил)этанона;

(R)-8-фенил-2-(2-((тетрагидро-2H-пиран-4-ил)метокси)пиридин-4-ил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридина;

(R)-2-(2-(2-метоксиэтокси)пиридин-4-ил)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридина;

(R)-2-метил-1-((4-(8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиридин-2-ил)окси)пропан-2-ола;

(R)-8-фенил-2-(1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридина;

(1S,4s)-4-(((4-((R)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиридин-2-ил)окси)метил)циклогексанола;

(1R,4r)-4-(((4-((R)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[1':22',1:2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиридин-2-ил)окси)метил)циклогексанола;

((1R,4r)-4-(((4-((R)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиридин-2-ил)окси)метил)циклогексил)метанола;

(R)-8-фенил-2-(1-(пиримидин-4-ил)-1,2,3,6-тетрагидропиридин-4-ил)-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридина;

метил-2-(4-((R)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)циклогекс-3-ен-1-ил)ацетата;

1-(5-(8-метил-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

(S)-1-(5-(8-метил-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

(R)-1-(5-(8-метил-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

(S)-2-(5-(8-метил-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

(R)-2-(5-(8-метил-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

(R)-2-(5-(8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-амина;

2-(2-(4,4-дифторпиперидин-1-ил)пиримидин-5-ил)-9-фенил-8,9-дигидро-6H-пиридо-[3',2':4,5]имидазо[2,1-c][1,4]оксазина или

(1R,4R)-4-((4-((R)-8-фенил-7,8-дигидро-6H-пирроло[2',1':2,3]имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)пиридин-2-ил)окси)циклогексанола.

В конкретных вариантах осуществления соединение выбрано из группы, состоящей из:

2-(5-(9-фенил-6,7,8,9-тетрагидро-6,8-метаноимидазо[1,2-a:5,4-b']дипиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

9-фенил-2-(2-((тетрагидро-2H-пиран-4-ил)окси)пиридин-4-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-6,8-метаноимидазо[1,2-a:5,4-b']дипиридина;

4-(5-(9-фенил-6,7,8,9-тетрагидро-6,8-метаноимидазо[1,2-a:5,4-b']дипиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)морфолина;

1-(5-(9-фенил-6,7,8,9-тетрагидро-6,8-метаноимидазо[1,2-a:5,4-b']дипиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

2-(5-((6R,8S,9S)-9-фенил-6,7,8,9-тетрагидро-6,8-эпоксиимидазо[1,2-a:5,4-b']дипиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

1-(5-((6R,8S,9S)-9-фенил-6,7,8,9-тетрагидро-6,8-эпоксиимидазо[1,2-a:5,4-b']дипиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

2-(5-(9-фенил-6,7,8,9-тетрагидро-6,8-метаноимидазо[1,2-a:5,4-b']дипиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола;

9-фенил-2-(2-((тетрагидро-2H-пиран-4-ил)окси)пиридин-4-ил)-6,7,8,9-тетрагидро-6,8-метаноимидазо[1,2-a:5,4-b']дипиридина;

1-(5-(9-фенил-6,7,8,9-тетрагидро-6,8-метаноимидазо[1,2-a:5,4-b']дипиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола;

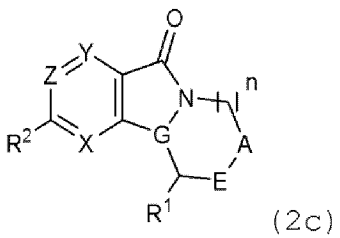
4-(5-(9-фенил-6,7,8,9-тетрагидро-6,8-метаноимидазо[1,2-a:5,4-b']дипиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)морфолина;

2-(5-((6R,8S,9S)-9-фенил-6,7,8,9-тетрагидро-6,8-эпоксиимидазо[1,2-a:5,4-b']дипиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пропан-2-ола или

1-(5-((6R,8S,9S)-9-фенил-6,7,8,9-тетрагидро-6,8-эпоксиимидазо[1,2-a:5,4-b']дипиридин-2-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-ола.

Патенты США № 10266532 B2 и № 9856253 B2, и патентные заявки США №№ US20160304517A1 и US2018/0179198 A1, включены в настоящий документ в полном объеме посредством ссылки.

В конкретных вариантах осуществления TNF-связывающий фрагмент представляет собой соединение формулы (2c):



(2c)

или его фармацевтически приемлемую соль, таутомер, геометрический изомер или

стереоизомер, где:

X, Y и Z независимо представляют собой CR^4 или N;

при условии, что Y и Z оба не являются N;

A представляет собой $-C(R^z)_2-$;

E представляет собой CH_2 или O и G представляет собой CH; или E представляет собой CH_2 и G представляет собой CH или N;

R^1 представляет собой необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил;

R^2 представляет собой $-R^{2a}-R^{2b}$, где:

R^{2a} представляет собой необязательно замещенный насыщенный, ненасыщенный или частично насыщенный гетероциклил или необязательно замещенный гетероарил;

R^{2b} представляет собой $-N(R^a)(R^b)$, $-O(R^a)$, необязательно замещенный (C_1-C_5)алкил, необязательно замещенный (C_3-C_6)циклоалкил, $-(CH_2)_p$-необязательно замещенный гетероарил или $-(CH_2)_p$-необязательно замещенный гетероциклил; где

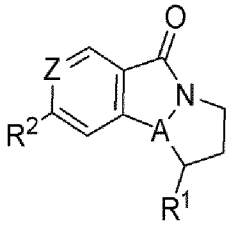
R^a и R^b независимо выбраны из H, необязательно замещенного (C_1-C_5)алкила и $-(CH_2)_n$-необязательно замещенного гетероциклила;

R^4 независимо представляет собой H, галоген, CF_3 или (C_1-C_3)алкил;

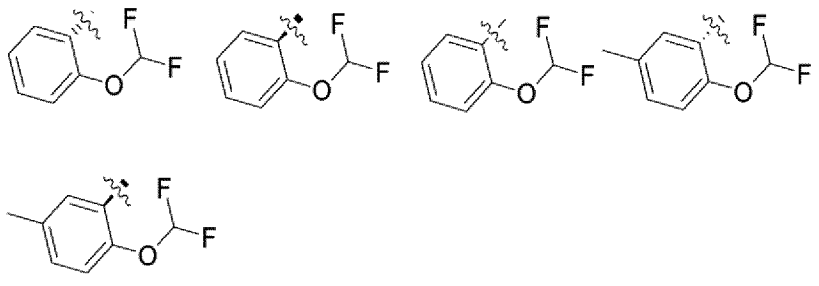
R^z независимо представляет собой H, галоген, CF_3 или (C_1-C_3)алкил;

n равен 0 или 1; и

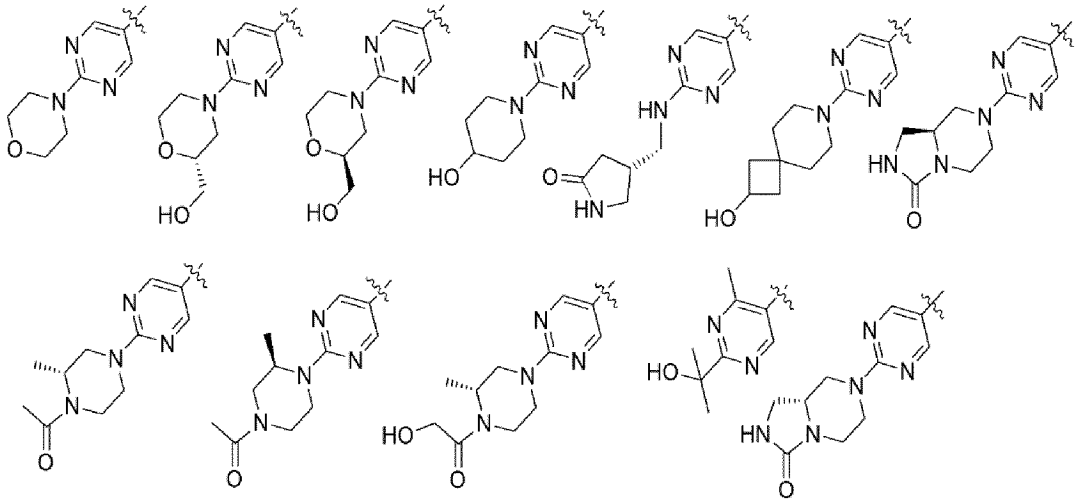
p равен 0 или 1.

В конкретных вариантах осуществления соединение формулы (2c) представляет собой  , где G представляет собой N или CH; и Z представляет собой CH или CF.

В конкретных вариантах осуществления соединения формулы (2c) R^1 выбран из группы, состоящей из:



В конкретных вариантах осуществления соединения формулы (2c) R^2 выбран из группы, состоящей из:



В конкретных вариантах осуществления R^2 может быть использован для присоединения линкера TNF к соединению по изобретению. Это может быть выполнено, например, с использованием любой гидроксильной, амино, амидо, тиильной или карбоксильной группы, которая имеется в R^2, описанном в настоящем документе, или которая может быть введена в него. В любых подобных случаях гидроксильная группа в R^2 может быть использована, например, для образования сложноэфирной связи; карбоксильная группа в R^2 может быть использована, например, для образования сложноэфирной связи или амидной связи; аминогруппа в R^2 может быть использована, например, для образования амидной группы и иминогруппы и так далее; амино, амидо или тиильная группа в R^2 может быть использована, например, для образования химической связи путем алкилирования или нуклеофильного замещения и так далее, как известно специалистам в данной области.

В конкретных вариантах осуществления соединение выбрано из группы, состоящей из:

3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-a]индазол-9(1H)-она;

(R)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-a]индазол-9(1H)-она;

(S)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-a]индазол-9(1H)-она;

1-(5-(3-(2-(дифторметокси)фенил)-9-оксо-1,2,3,9-тетрагидропиразоло[1,2-a]индазол-6-ил)пиримидин-2-ил)пиперидин-4-карбоновой кислоты;

(S)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-((R)-2-(метоксиметил)пирролидин-1-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-a]индазол-9(1H)-она;

(R)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-((R)-2-(метоксиметил)пирролидин-1-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-a]индазол-9(1H)-она;

(R)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-(((R)-тетрагидрофуран-3-ил)амино)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-a]индазол-9(1H)-она;

(S)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-(((R)-тетрагидрофуран-3-

ил)амино)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

(R)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-((R)-2-(гидроксиметил)морфолино)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

(S)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-((R)-2-(гидроксиметил)морфолино)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

(S)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-((S)-2-(гидроксиметил)морфолино)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

(R)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-((S)-2-(гидроксиметил)морфолино)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

(R)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-(2-гидроксипропан-2-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

(S)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-(2-гидроксипропан-2-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-(4-гидроксипиперидин-1-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

(R)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-((((S)-5-оксопирролидин-3-ил)метил)амино)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

(S)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-((((S)-5-оксопирролидин-3-ил)метил)амино)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

(R)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-((((R)-5-оксопирролидин-3-ил)метил)амино)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

(S)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-((((R)-5-оксопирролидин-3-ил)метил)амино)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

(R)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-(2-гидрокси-7-азаспиро[3,5]нонан-7-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

(S)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-(2-гидрокси-7-азаспиро[3,5]нонан-7-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

(S)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-((S)-3-оксогексагидроимидазо[1,5-а]пиразин-7(1Н)-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

(S)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-((R)-3-оксогексагидроимидазо[1,5-а]пиразин-7(1Н)-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

(R)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-((S)-3-оксогексагидроимидазо[1,5-а]пиразин-7(1Н)-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

(R)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-((R)-3-оксогексагидроимидазо[1,5-а]пиразин-7(1Н)-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

(R)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-((3-метоксипропил)амино)пиримидин-5-ил)-

2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

(S)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-((3-метоксипропил)амино)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

(S)-6-(2-(4-ацетилпиперазин-1-ил)пиримидин-5-ил)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

(R)-6-(2-(4-ацетилпиперазин-1-ил)пиримидин-5-ил)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

6-(2-(дифторметокси)фенил)-3-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-8,9-дигидро-6Н-пиридазино[1,2-а]индазол-11(7Н)-она;

6-(2-(дифторметокси)фенил)-3-(2-(4-гидроксипиперидин-1-ил)пиримидин-5-ил)-8,9-дигидро-6Н-пиридазино[1,2-а]индазол-11(7Н)-она;

6-(2-(дифторметокси)фенил)-3-(2-(1,1-диоксидитиоморфолино)пиримидин-5-ил)-8,9-дигидро-6Н-пиридазино[1,2-а]индазол-11(7Н)-она;

3-(2-метоксифенил)-6-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

(R)-6-(2-(2-гидроксипропан-2-ил)пиримидин-5-ил)-3-(2-метоксифенил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

(S)-6-(2-(2-гидроксипропан-2-ил)пиримидин-5-ил)-3-(2-метоксифенил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

2-метил-6-(6-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-9-оксо-1,2,3,9-тетрагидропиразоло[1,2-а]индазол-3-ил)бензонитрила;

6-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-3-фенил-2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

4-метокси-3-(6-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-9-оксо-1,2,3,9-тетрагидропиразоло[1,2-а]индазол-3-ил)бензонитрила;

2-метокси-3-(6-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-9-оксо-1,2,3,9-тетрагидропиразоло[1,2-а]индазол-3-ил)бензонитрила;

3-(1-изопропил-1Н-пиразол-5-ил)-6-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-а]индазол-9(1Н)-она;

2-метил-6-(6-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-9-оксо-1,2,3,9-тетрагидропиразоло[1,2-а]индазол-3-ил)бензамида;

rac-(1R,9bR)-1-(2-(дифторметокси)фенил)-8-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-2,3-дигидро-1Н-пирроло[2,1-а]изоиндол-5(9bН)-она;

rac-(1R,9bS)-1-(2-(дифторметокси)фенил)-8-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-2,3-дигидро-1Н-пирроло[2,1-а]изоиндол-5(9bН)-она;

rac-(1R,10bR)-1-(2-(дифторметокси)фенил)-9-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-3,4-дигидро-1Н-[1,4]оксазино[3,4-а]изоиндол-6(10bН)-она;

(1S,9bS)-1-(2-(дифторметокси)фенил)-8-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-2,3-дигидро-1Н-пирроло[2,1-а]изоиндол-5(9bН)-она;

(1R,9bR)-1-(2-(дифторметокси)фенил)-8-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-2,3-

дигидро-1H-пирроло[2,1-a]изоиндол-5(9bH)-она;

(1S,9bS)-1-(2-(дифторметокси)фенил)-8-(2-(2-гидроксипропан-2-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидро-1H-пирроло[2,1-a]изоиндол-5(9bH)-она;

(1R,9bR)-1-(2-(дифторметокси)фенил)-8-(2-(2-гидроксипропан-2-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидро-1H-пирроло[2,1-a]изоиндол-5(9bH)-она;

(1S,9bS)-1-(2-(дифторметокси)фенил)-8-(2-((R)-2-(метоксиметил)пирролидин-1-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидро-1H-пирроло[2,1-a]изоиндол-5(9bH)-она;

(1R,9bR)-1-(2-(дифторметокси)фенил)-8-(2-((R)-2-(метоксиметил)пирролидин-1-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидро-1H-пирроло[2,1-a]изоиндол-5(9bH)-она;

(1R,9bR)-1-(2-(дифторметокси)фенил)-8-(2-((R)-3-оксогексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-7(1H)-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидро-1H-пирроло[2,1-a]изоиндол-5(9bH)-она;

(1R,9bR)-1-(2-(дифторметокси)фенил)-8-(2-((S)-3-оксогексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-7(1H)-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидро-1H-пирроло[2,1-a]изоиндол-5(9bH)-она;

(1R)-1-(2-(дифторметокси)фенил)-8-(2-(2-гидроксипропан-2-ил)-4-метилпиримидин-5-ил)-2,3-дигидро-1H-пирроло[2,1-a]изоиндол-5(9bH)-она;

(R)-6-(2-((R)-4-ацетил-2-метилпиперазин-1-ил)пиримидин-5-ил)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-a]индазол-9(1H)-она;

(S)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-((S)-3-оксогексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-7(1H)-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-a]индазол-9(1H)-она;

(R)-3-(2-(дифторметокси)-5-метилфенил)-6-(2-(2-гидроксипропан-2-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-a]индазол-9(1H)-она;

(R)-6-(2-((R)-4-ацетил-3-метилпиперазин-1-ил)пиримидин-5-ил)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-a]индазол-9(1H)-она;

(R)-3-(2-(дифторметокси)-5-метилфенил)-6-(2-((S)-3-оксогексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-7(1H)-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-a]индазол-9(1H)-она;

(R)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-((R)-4-(2-гидроксиацетил)-3-метилпиперазин-1-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-a]индазол-9(1H)-она;

(R)-3-(2-(дифторметокси)-5-метилфенил)-6-(2-(2-гидроксипропан-2-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-a]индазол-9(1H)-она;

(S)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-((S)-3-оксогексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-7(1H)-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-a]индазол-9(1H)-она;

(S)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-(2-гидроксипропан-2-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-a]индазол-9(1H)-она;

(R)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-((R)-3-гидрокси-4-(2-гидроксиацетил)пиперазин-1-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидро-1H,9H-пиразоло[1,2-a]индазол-9-она;

(S)-3-(2-(дифторметокси)-5-метилфенил)-7-фтор-6-(2-(2-гидроксипропан-2-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-a]индазол-9(1H)-она;

(R)-3-(2-(дифторметокси)-5-метилфенил)-7-фтор-6-(2-(2-гидроксипропан-2-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-a]индазол-9(1H)-она;

(R)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-7-фтор-6-(2-(2-гидроксипропан-2-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-a]индазол-9(1H)-она;

(S)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-7-фтор-6-(2-(2-гидроксипропан-2-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-a]индазол-9(1H)-она;

3-(5-(гидроксиметил)-2-метоксифенил)-6-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-a]индазол-9(1H)-она;

(R)-3-(2-(дифторметокси)-5-метилфенил)-7-фтор-6-(2-(2-гидроксипропан-2-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидро-1H,9H-пиразоло[1,2-a]индазол-9-она;

(S)-3-(2-(дифторметокси)-5-метилфенил)-7-фтор-6-(2-(2-гидроксипропан-2-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидро-1H,9H-пиразоло[1,2-a]индазол-9-она;

(S)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-(2-гидроксипропан-2-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидро-1H,9H-пиразоло[1,2-a]индазол-9-она;

(R)-3-(2-(дифторметокси)-5-метилфенил)-6-(2-((S)-3-оксогексагидроимидазо[1,5-a]пиразин-7(1H)-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидро-1H,9H-пиразоло[1,2-a]индазол-9-она;

(R)-3-(2-(дифторметокси)-5-метилфенил)-6-(2-(2-гидроксипропан-2-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидро-1H,9H-пиразоло[1,2-a]индазол-9-она;

(R)-6-(2-((R)-4-ацетил-3-метилпиперазин-1-ил)пиримидин-5-ил)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-a]индазол-9(1H)-она;

(R)-3-(2-(дифторметокси)фенил)-6-(2-((R)-3-гидрокси-4-(2-гидроксиацетил)пиперазин-1-ил)пиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-a]индазол-9(1H)-она;

9b-(2-метоксифенил)-8-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-2,3-дигидро-1H-пирроло[2,1-a]изоиндол-5(9bH)-она или

3-(5-(гидроксиметил)-2-метоксифенил)-6-(2-морфолинопиримидин-5-ил)-2,3-дигидропиразоло[1,2-a]индазол-9(1H)-она.

ААТМ

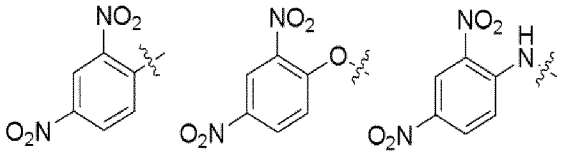
Любой аутоантитело-направленный фрагмент (ААТМ), который связывает аутоантитело, может быть использован по настоящему изобретению. В конкретных неограничивающих вариантах осуществления аутоантитело является патологическим. Любые аутоантитела, известные в данной области, предусмотрены по настоящему изобретению.

В конкретных вариантах осуществления ААТМ представляет собой любой пептид и/или малую молекулу, которые связывают FcRn, как известно в данной области или описано в другом разделе настоящего документа.

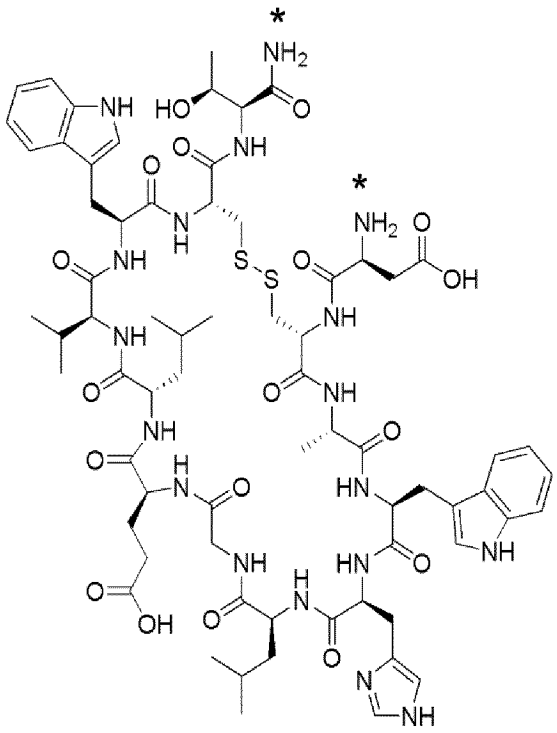
В конкретных вариантах осуществления ААТМ представляет собой антагонист FcRn, такой как, но без ограничения, розаноликсизумаб (смотри, например, Kiessling, et al., 2017, Sci. Transl. Med. 9:eaan1208).

В конкретных вариантах осуществления ААТМ представляет собой антагонист FcRn, такой как, но без ограничения, эфгартигимод (смотри, например, Ulrichts, et al., 2018, J. Clin. Invest. 128(10):4372).

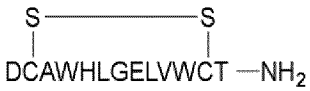
В конкретных вариантах осуществления AATM представляет собой 2,4-динитробензол, или любое его производное или аналог (где фенильное кольцо необязательно является замещенным):



В конкретных вариантах осуществления AATM представляет собой следующий циклический пептид FcIII или его любую восстановленную форму (например, его любое соответствующее свободное тиоловое производное; смотри, например, Science 2000, 287:1279-1283). Химическая группа, отмеченная *, представляет собой неограничивающее положение для присоединения линкера или CON в соединении по изобретению.

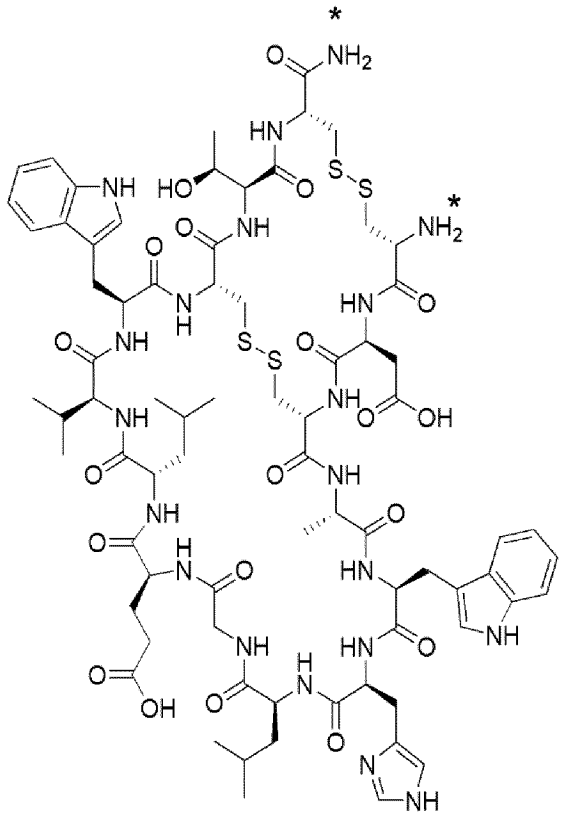


,

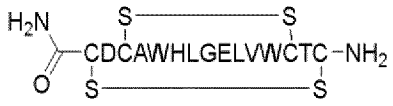


также представленное в виде (SEQ ID NO: 139, внутренняя форма цистина с амидированным С-концом).

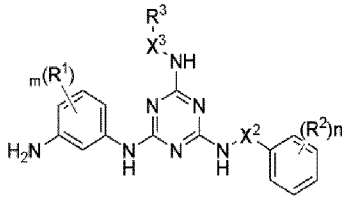
В конкретных вариантах осуществления AATM представляет собой следующий циклический пептид FcIII-4C (амид) или его любую восстановленную форму (например, его любое соответствующее свободное тиоловое производное; смотри Bioconjugate Chem. 2016, 27:1569). Химическая группа, отмеченная *, представляет собой неограничивающее положение для присоединения линкера или CON в соединении по изобретению.

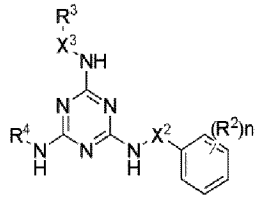


,

также представленное в виде  (SEQ ID NO: 140, внутренняя форма цистина с амидированным С-концом).

В конкретных вариантах осуществления AATM представляет собой соединение формулы (3a) или (3b):



(3a) или  (3b),

где:

в каждом случае R^1 независимо представляет собой F, Cl, Br, I, CN, NO_2, R, OR, C_1-C_6 галоалкил, C_3-C_8 галоциклоалкил, C_1-C_6 галоалкокси, C_3-C_8 галоциклоалкокси, -$N(R)_2$, -SR, -S(=O)R, -$S(=O)_2$R, -$S(=O)_2N(R)_2$, -C(=O)R, -C(=O)OR, -OC(=O)R, -$C(=O)N(R)_2$, -$N(R)S(=O)_2$R, -N(R)C(=O)OR, -N(R)C(=O)R и -$N(R)C(=O)N(R)_2$, где в каждом случае R независимо представляет собой H, C_1-C_6 алкил или C_3-C_8 циклоалкил;

m равен 0, 1, 2, 3 или 4;

X^2 представляет собой связь, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил или необязательно замещенный C_1-C_6 гетероалкил; в каждом случае R^2 независимо представляет собой F, Cl, Br, I, CN, NO_2, R, OR, C_1-C_6 галоалкил, C_3-C_8 галоциклоалкил,

C_1-C_6 галоалкокси, C_3-C_8 галоциклоалкокси, -$N(R)_2$, -SR, -S(=O)R, -$S(=O)_2$R, -$S(=O)_2N(R)_2$, -C(=O)R, -C(=O)OR, -OC(=O)R, -$C(=O)N(R)_2$, -$N(R)S(=O)_2$R, -N(R)C(=O)OR, -N(R)C(=O)R и -$N(R)C(=O)N(R)_2$, где в каждом случае R независимо представляет собой H, C_1-C_6 алкил или C_3-C_8 циклоалкил;

n равен 0, 1, 2, 3 или 4;

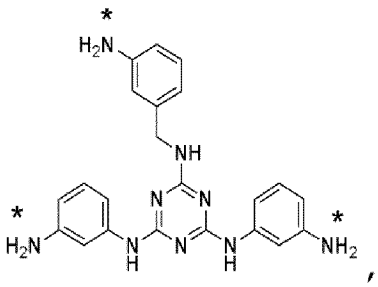
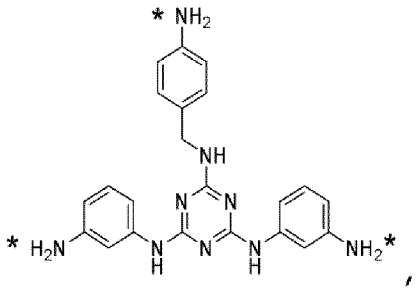
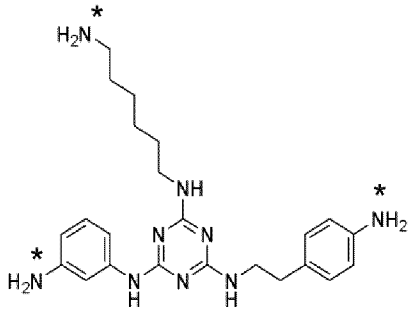
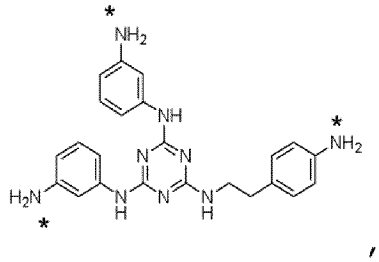
X^3 представляет собой связь, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил или необязательно замещенный C_1-C_6 гетероалкил;

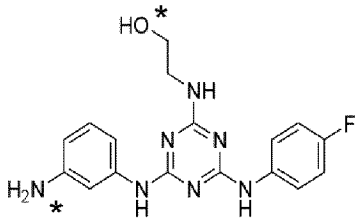
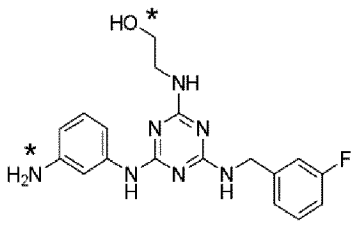
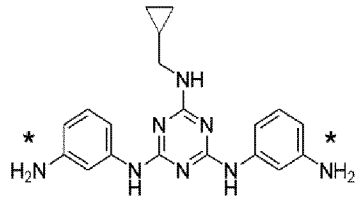
R^3 представляет собой H, R, -OH, -NH_2, -NHR, -C(=O)OH или -SH, где в каждом случае R представляет собой C_1-C_6 алкил или C_3-C_8 циклоалкил;

R^4 представляет собой циклоалкил, включая полициклический циклоалкил, который необязательно замещен 1-4 группами, независимо выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, CN, NO_2, R, OR, C_1-C_6 галоалкила, C_3-C_8 галоциклоалкила, C_1-C_6 галоалкокси, C_3-C_8 галоциклоалкокси, -$N(R)_2$, -SR, -S(=O)R, -$S(=O)_2$R, -$S(=O)_2N(R)_2$, -C(=O)R, -C(=O)OR, -OC(=O)R, -$C(=O)N(R)_2$, -$N(R)S(=O)_2$R, -N(R)C(=O)OR, -N(R)C(=O)R и -$N(R)C(=O)N(R)_2$, где в каждом случае R независимо представляет собой H, C_1-C_6 алкил или C_3-C_8 циклоалкил;

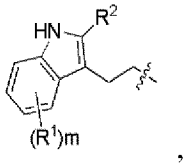
где AATM связан с линкером или CON через R^3 или по меньшей мере один из R^1 или R^2.

В конкретных вариантах осуществления AATM представляет собой одно из следующих соединений (смотри WO 2006/024175 A1). Каждая из химических групп, отмеченных *, представляет собой неограничивающее положение для присоединения линкера или CON в соединении по изобретению.

В конкретных вариантах осуществления AATM представляет собой следующее соединение, где химическая связь, изображенная ~~~ , иллюстрирует неограничивающее положение для присоединения линкера или CON в соединении по изобретению (смотри Chemistry & Biology 18:1179-1188).



где:

в каждом случае R^1 независимо представляет собой F, Cl, Br, I, CN, NO_2, R, OR, C_1-C_6 галоалкил, C_3-C_8 галоциклоалкил, C_1-C_6 галоалкокси, C_3-C_8 галоциклоалкокси, -$N(R)_2$, -SR, -S(=O)R, -$S(=O)_2$R, -$S(=O)_2N(R)_2$, -C(=O)R, -C(=O)OR, -OC(=O)R, -$C(=O)N(R)_2$, -$N(R)S(=O)_2$R, -N(R)C(=O)OR, -N(R)C(=O)R и -$N(R)C(=O)N(R)_2$, где в каждом случае R независимо представляет собой H, C_1-C_6 алкил или C_3-C_8 циклоалкил;

m равен 0, 1, 2, 3 или 4;

в каждом случае R^2 независимо представляет собой H, F, Cl, Br, I, CN, NO_2, R, OR, C_1-C_6 галоалкил, C_3-C_8 галоциклоалкил, C_1-C_6 галоалкокси, C_3-C_8 галоциклоалкокси, -$N(R)_2$, -SR, -S(=O)R, -$S(=O)_2$R, -$S(=O)_2N(R)_2$, -C(=O)R, -C(=O)OR, -OC(=O)R, -$C(=O)N(R)_2$, -$N(R)S(=O)_2$R, -N(R)C(=O)OR, -N(R)C(=O)R и -$N(R)C(=O)N(R)_2$, где в каждом случае R независимо представляет собой H, C_1-C_6 алкил или C_3-C_8 циклоалкил.

Патент США № 9879016 B2 и патентная заявка США № US 2016/0304526 A1 включены в настоящий документ в полном объеме посредством ссылки.

Соединения, описанные в настоящем документе, могут иметь один или более стереоцентров, и каждый стереоцентр может находиться независимо либо в (R), либо в (S), конфигурации. В конкретных вариантах осуществления соединения, описанные в настоящем документе, находятся в оптически активных или рацемических формах. Следует понимать, что соединения, описанные в настоящем документе, включают рацемические, оптически активные, региоизомерные и стереоизомерные формы, или их сочетания, которые обладают терапевтически полезными свойствами, описанными в настоящем документе. Получение оптически активных форм осуществляют любым подходящим способом, включая, в качестве неограничивающего примера, разделение рацемических форм методом перекристаллизации, синтез из оптически активных исходных материалов, хиральный синтез или хроматографическое разделение с

использованием хиральной стационарной фазы. В конкретных вариантах осуществления в качестве терапевтического соединения, описанного в настоящем документе, используют смесь одного или более изомеров. В других вариантах осуществления соединения, описанные в настоящем документе, имеют один или более хиральных центров. Эти соединения получают любым способом, включая стереоселективный синтез, энантиоселективный синтез и/или разделение смеси энантиомеров и/или диастереомеров. Разделение соединений и их изомеров осуществляют любым способом, включая, в качестве неограничивающего примера, химические процессы, ферментативные процессы, фракционную кристаллизацию, дистилляцию и хроматографию.

Способы и препараты, описанные в настоящем документе, включают использование N-оксидов (при необходимости), кристаллических форм (также известных как полиморфные формы), сольватов, аморфных фаз и/или фармацевтически приемлемых солей соединений, имеющих структуру любого соединения(соединений), описанного в настоящем документе, а также метаболитов и активных метаболитов этих соединений, имеющих активность того же типа. Сольваты включают водные, эфирные (например, тетрагидрофурана, метил-трет-бутилового эфира) или спиртовые (например, этанола) сольваты, ацетаты и тому подобное. В конкретных вариантах осуществления соединения, описанные в настоящем документе, находятся в сольватированных формах с фармацевтически приемлемыми растворителями, такими как вода и этанол. В других вариантах осуществления соединения, описанные в настоящем документе, находятся в не сольватированной форме.

В конкретных вариантах осуществления соединение(я), описанное(ые) в настоящем документе, может/могут существовать в виде таутомеров. Все таутомеры включены в соединения, представленные в настоящем документе.

В конкретных вариантах осуществления соединения, описанные в настоящем документе, получены в виде пролекарств. Используемый в настоящем документе термин «пролекарство» означает средство, которое превращается в исходное лекарственное средство in vivo. В конкретных вариантах осуществления при in vivo введении пролекарство химически превращается в биологически, фармацевтически или терапевтически активную форму соединения. В других вариантах осуществления пролекарство подвергается ферментативному метаболизму на протяжении одного или более этапов или процессов, переходя в биологически, фармацевтически или терапевтически активную форму соединения.

В конкретных вариантах осуществления определенные сайты, например, ароматическое кольцо соединения(соединений), описанного в настоящем документе, восприимчивы к различным метаболическим реакциям. Включение соответствующих заместителей на структурах ароматического кольца может уменьшать, минимизировать или устранять этот метаболический путь. В конкретных вариантах осуществления соответствующим заместителем для уменьшения или устранения восприимчивости ароматического кольца к метаболическим реакциям является, исключительно в качестве

примера, дейтерий, галоген или алкильная группа.

Соединения, описанные в настоящем документе, также включают изотопно-меченые соединения, где один или более атомов заменены атомом, имеющим тот же атомный номер, но атомную массу или массовое число, отличные от атомной массы или массового числа, обычно встречающихся в природе. Примеры изотопов, подходящих для включения в соединения, описанные в настоящем документе, включают, но не ограничиваются ими, ^{2}H, ^{3}H, ^{11}C, ^{13}C, ^{14}C, ^{36}Cl, ^{18}F, ^{123}I, ^{125}I, ^{13}N, ^{15}N, ^{15}O, ^{17}O, ^{18}O, ^{32}P и ^{35}S. В конкретных вариантах осуществления изотопно-меченые соединения полезны в лекарственном средстве и/или в исследованиях распределения субстратов в тканях. В других вариантах осуществления замещение более тяжелыми изотопами, такими как дейтерий, обеспечивает большую метаболическую стабильность (например, увеличенный период полувыведения in vivo или уменьшенные требования к дозировке). В других вариантах осуществления замещение позитронно-излучающими изотопами, такими как ^{11}C, ^{18}F, ^{15}O и ^{13}N, полезно в исследованиях методом позитронно-эмиссионной топографии (ПЭТ) степени занятости рецептора субстратом. Изотопно-меченые соединения получают любым подходящим способом или методами с использованием соответствующего изотопно-меченого реагента вместо немеченого реагента, используемого в других случаях.

В конкретных вариантах осуществления соединения, описанные в настоящем документе, метят иными способами, включая, но не ограничиваясь ими, использование хромофоров или флуоресцентных молекул, биолюминесцентных меток или хемилюминесцентных меток.

Соединения, описанные в настоящем документе, и другие родственные соединения, имеющие другие заместители, синтезированы с использованием методов и материалов, описанных в настоящем документе, и как описано, например, в Fieser & Fieser's Reagents for Organic Synthesis, Volumes 1-17 (John Wiley and Sons, 1991); Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, Volumes 1-5 и дополнения (Elsevier Science Publishers, 1989); Organic Reactions, Volumes 1-40 (John Wiley and Sons, 1991), Larock's Comprehensive Organic Transformations (VCH Publishers Inc., 1989), March, Advanced Organic Chemistry 4^{th} Ed., (Wiley 1992); Carey & Sundberg, Advanced Organic Chemistry 4th Ed., Vols. A and B (Plenum 2000,2001) и Green & Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis 3rd Ed., (Wiley 1999) (все из которых включены в настоящий документ посредством ссылки). Общие методы получения соединения, описанного в настоящем документе, модифицированы за счет использования соответствующих реагентов и условий для введения различных фрагментов, указанных в формуле, приведенной в настоящем документе.

Соединения, описанные в настоящем документе, синтезируют с помощью любых подходящих методов, начиная с соединений, которые доступны из коммерческих источников, или получают с помощью методов, описанных в настоящем документе.

В конкретных вариантах осуществления реакционноспособные функциональные группы, такие как гидроксильные, амино-, имино-, тио- или карбоксильные группы,

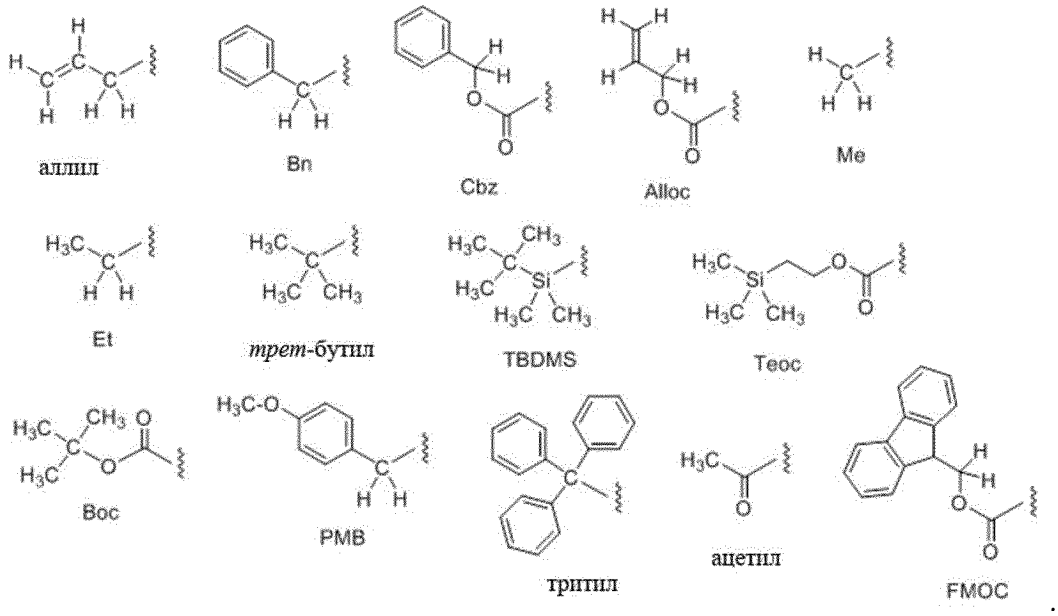
защищают, чтобы избежать их нежелательного участия в реакциях. Защитные группы используют для блокирования некоторых, или всех, реакционноспособных соединений и предотвращения участия таких групп в химических реакциях до тех пор, пока защитная группа не будет удалена. В других вариантах осуществления каждую защитную группу снимают разными способами. Защитные группы, которые расщепляются в совершенно разных условиях реакции, отвечают требованию дифференцированного удаления.

В конкретных вариантах осуществления защитные группы удаляют с помощью кислоты, основания, восстановительных условий (таких как, например, гидрогенолиз) и/или окислительных условий. Такие группы, как тритил, диметокситритил, ацеталь и трет-бутилдиметилсилил, являются кислотолабильными, и их используют для защиты карбокси- и гидроксиреактивных молекул в присутствии аминогрупп, защищенных группами Cbz, которые могут быть удалены гидрогенолизом, и группами Fmoc, которые являются основнолабильными. Карбоновые кислоты и гидроксиреактивные соединения блокируют основнолабильными группами, такими как метил, этил и ацетил, в присутствии аминов, которые блокируют кислотолабильными группами, такими как трет-бутилкарбамат, или карбаматами, которые являются одновременно кислото- и основностабильными, но гидролитически удаляемыми.

В конкретных вариантах осуществления карбоновые кислоты и гидроксиреактивные молекулы блокируют гидролитически удаляемыми защитными группами, такими как бензильная группа, в то время как аминогруппы, способные к образованию водородной связи с кислотами, блокируют основнолабильными группами, такими как Fmoc. Реакционноспособные молекулы карбоновых кислот защищают путем преобразования в простые эфирные соединения, как показано в настоящем документе, которое включает преобразование в алкиловые эфиры, или блокируют удаляемыми путем окисления защитными группами, такими как 2,4-диметоксибензил, в то время как сосуществующие аминогруппы блокируют фторид-лабильными силилкарбаматами.

Аллильные блокирующие группы полезны в присутствии кислотно- и основно-защитных групп, поскольку первые являются стабильными и впоследствии удаляются металлическими или пи-кислотными катализаторами. Например, защиту с аллил-блокированной карбоновой кислоты снимают путем катализируемой палладием реакции в присутствии кислотолабильной трет-бутилкарбаматной или основнолабильной ацетатной защитных групп для аминов. Другой формой защитной группы является смола, к которой присоединяют соединение или промежуточное соединение. Пока остаток присоединен к смоле, такая функциональная группа блокирована и не вступает в реакцию. После снятия со смолы функциональная группа доступна для участия в реакции.

Как правило, блокирующие/защитные группы могут быть выбраны из следующих:



Другие защитные группы, а также подробное описание методов, используемых для создания защитных групп и их удаления, описаны в публикациях Greene & Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd Ed., John Wiley & Sons, New York, NY, 1999, и Kocienski, Protective Groups, Thieme Verlag, New York, NY, 1994, содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки для такого раскрытия.

Композиции

Композиции, содержащие соединение(я), описанное в настоящем документе, включают фармацевтическую композицию, содержащую по меньшей мере одно соединение, описанное в настоящем документе, и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель. В конкретных вариантах осуществления композиция сформулирована для такого пути введения, как пероральный или парентеральный, например, чрескожный, трансмукозальный (например, подъязычный, лингвальный, (транс)буккальный, (транс)уретральный, вагинальный (например, транс- и перивагинальный), (интра)назальный и (транс)ректальный, внутрипузырный, внутрилегочный, интрадуоденальный, внутрижелудочный, интратекальный, подкожный, внутримышечный, внутрикожный, внутриартериальный, внутривенный, интрабронхиальный, ингаляционный и топический пути введения.

Способы лечения

Соединения по изобретению могут быть использованы для лечения определенных заболеваний и/или нарушений, таких как, но без ограничения, аутоиммунные заболевания (такие как, но без ограничения, IgA нефропатия), рак, воспаление и любое другое заболевание или нарушение, предусмотренное по настоящему изобретению.

Способы, описанные в настоящем документе, включают введение субъекту терапевтически эффективного количества по меньшей мере одного соединения, описанного в настоящем документе, которое, необязательно, сформулировано в фармацевтическую композицию. В различных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного соединения, описанного в настоящем

документе, присутствующее в фармацевтической композиции, является количеством единственного терапевтически активного соединения в фармацевтической композиции. В конкретных вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту дополнительного терапевтического средства, которое лечит заболевание или нарушение.

В конкретных вариантах осуществления введение субъекту соединения(соединений), описанного в настоящем документе, позволяет вводить более низкую дозу дополнительного терапевтического средства в сравнении с дозой вводимого отдельно дополнительного терапевтического средства, которая необходима для достижения аналогичных результатов при лечении заболевания или нарушения у субъекта. Например, в конкретных вариантах осуществления соединение(соединения), описанное в настоящем документе, усиливает(ют) активность дополнительного терапевтического соединения, что позволяет вводить более низкую дозу дополнительного терапевтического соединения для достижения того же эффекта.

В конкретных вариантах осуществления соединение(соединения), описанное в настоящем документе, и терапевтическое средство совместно вводят субъекту. В других вариантах осуществления соединение(соединения), описанное в настоящем документе, и терапевтическое средство совместно формулируют и совместно вводят субъекту.

В конкретных вариантах осуществления субъект является млекопитающим. В других вариантах осуществления млекопитающее является человеком.

Комбинированная терапия

Соединения, которые могут быть использованы в способах, описанных в настоящем документе, могут быть использованы в сочетании с одним или более дополнительными терапевтическими средствами, полезными для лечения заболевания или нарушения, и/или с дополнительными терапевтическими средствами, которые уменьшают или ослабляют симптомы и/или побочные эффекты терапевтического средства, используемого для лечения заболевания или нарушения. Эти дополнительные терапевтические средства могут включать соединения, которые коммерчески доступны, или могут быть синтезированы специалистами в данной области. При использовании дополнительных терапевтических средств, полезных для лечения заболевания или нарушения, эти дополнительные терапевтические средства, как известно, устраняют или уменьшают симптомы заболевания или нарушения.

В различных вариантах осуществления синергетический эффект наблюдается, когда соединение, описанное в настоящем документе, вводят с одним или более дополнительными терапевтическими средствами или соединениями. Синергетический эффект может быть рассчитан, например, с использованием соответствующих методов, таких как, например, сигмоидальное уравнение E_{max} (Holford & Scheiner, 1981, Clin. Pharmacokinet. 6:429-453), уравнение аддитивности Лоэва (Loewe & Muischnek, 1926, Arch. Exp. Pathol Pharmacol. 114:313-326) и уравнение медианного эффекта (Chou & Talalay, 1984, Adv. Enzyme Regul. 22:27-55). Каждое указанное выше уравнение может быть применено к экспериментальным данным для построения соответствующего

графика, позволяющего оценивать эффекты сочетания терапевтических средств. Соответствующие графики, связанные с упомянутыми выше уравнениями, имеют вид кривой зависимости эффекта от концентрации, кривой изоболограммы и кривой индекса сочетания, соответственно.

Введение/Дозы/Препараты

Режим введения может влиять на то, что представляет собой эффективное количество. Терапевтические препараты можно вводить субъекту либо до, либо после, начала заболевания или нарушения. Кроме того, несколько разделенных доз, а также ступенчатые дозы, можно вводить ежедневно или последовательно, или дозу можно вводить непрерывной инфузией или болюсной инъекцией. Кроме того, дозы терапевтических препаратов можно пропорционально увеличивать или уменьшать в соответствии с требованиями терапевтической или профилактической ситуации.

Введение композиций, описанных в настоящем документе, пациенту, предпочтительно млекопитающему, более предпочтительно человеку, можно выполнять с использованием известных процедур, в дозах и в течение периодов времени, которые, как известно, эффективны для лечения заболевания или нарушения у пациента. Эффективное количество терапевтического соединения, необходимое для достижения терапевтического эффекта, может варьироваться в зависимости от таких факторов, как состояние заболевания или нарушения у пациента; возраст, пол и масса тела пациента; а также способность терапевтического соединения лечить заболевание или нарушение у пациента. Режимы дозирования можно корректировать для обеспечения оптимального терапевтического ответа. Например, можно вводить несколько разделенных доз ежедневно, или дозу можно пропорционально уменьшать в соответствии с требованиями терапевтической ситуации. Неограничивающим примером диапазона эффективных доз для терапевтического соединения, описанного в настоящем документе, является диапазон от примерно 1 до 5000 мг/кг массы тела/сутки. Рядовой специалист в данной области сможет изучить соответствующие факторы и принять решение относительно эффективного количества терапевтического соединения без излишнего экспериментирования.

Фактические уровни доз активных ингредиентов в фармацевтических композициях, описанных в настоящем документе, можно варьировать для получения количества активного ингредиента, которое является эффективным для достижения желаемого терапевтического ответа в случае конкретного пациента, композиции и способа введения, без токсичности для пациента.

В частности, выбранный уровень доз зависит от различных факторов, включая активность конкретного используемого соединения, время введения, скорость выведения соединения, продолжительность лечения, другие лекарственные средства, соединения или материалы, используемые в сочетании с соединением, возраст, пол, массу тела, общее состояние здоровья и предшествующую историю болезни пациента, получающего лечение, и тому подобные факторы, хорошо известные в области медицины.

Медицинский работник, например, врач или ветеринар, обладающий обычными навыками в данной области, может легко определять и назначать необходимое эффективное количество фармацевтической композиции. Например, врач или ветеринар может начинать дозировку описанных в настоящем документе соединений, используемых в фармацевтической композиции, с более низких уровней, чем требуется для достижения желаемого терапевтического эффекта, и постепенно увеличивать дозировку до достижения желаемого эффекта.

В конкретных вариантах осуществления особенно предпочтительно формулировать соединение в виде стандартной лекарственной формы для удобства введения и однородности дозировки. Используемый в настоящем документе термин «стандартная лекарственная форма» означает физически дискретные единицы, подходящие в качестве стандартных доз для пациентов, получающих лечение; каждая стандартная форма содержит заранее определенное количество терапевтического соединения, рассчитанное для достижения желаемого терапевтического эффекта, в сочетании с необходимым фармацевтическим носителем. Стандартные лекарственные формы соединения(соединений), описанного в настоящем документе, определяются и напрямую зависят от (a) уникальных характеристик терапевтического соединения и конкретного терапевтического эффекта, который необходимо достичь, и (b) ограничений, характерных для области составления/формулирования такого терапевтического соединения.

В конкретных вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем документе, сформулированы с использованием одного или более фармацевтически приемлемых эксципиентов или носителей. В конкретных вариантах осуществления фармацевтические композиции, описанные в настоящем документе, содержат терапевтически эффективное количество соединения, описанного в настоящем документе, и фармацевтически приемлемый носитель.

Носитель может представлять собой растворитель или дисперсионную среду, содержащую, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль, жидкий полиэтиленгликоль и тому подобное), их подходящие смеси и растительные масла. Надлежащую текучесть можно поддерживать, например, за счет использования покрытия, такого как лецитин, поддержания необходимого размера частиц в случае дисперсии и использования сурфактантов. Действие микроорганизмов можно предотвращать с помощью различных антибактериальных и противогрибковых средств, например, парабенов, хлорбутанола, фенола, аскорбиновой кислоты, тимеросала и тому подобного. Во многих случаях предпочтительно включать в состав изотонические средства, например, сахара, хлорид натрия или многоатомные спирты, такие как маннит и сорбит. Продолжительной абсорбции инъекционных композиций можно добиваться путем включения в композицию средства, замедляющего абсорбцию, например, моностеарата алюминия или желатина.

В конкретных вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем

документе, вводят пациенту с периодичностью от одного до пяти или более раз в сутки. В других вариантах осуществления композиции, описанные в настоящем документе, вводят пациенту с периодичностью, которая включает, но без ограничения, один раз в день, каждые два дня, каждые три дня, один раз в неделю и один раз каждые две недели. Для специалиста в данной области очевидно, что частота введения различных комбинированных композиций, описанных в настоящем документе, варьируется между индивидуумами в зависимости от многих факторов, включая, но без ограничения, возраст, заболевание или нарушение, подлежащее лечению, пол, общее состояние здоровья пациента и другие факторы. Таким образом, введение соединений и композиций, описанных в настоящем документе, не следует считать ограниченным каким-либо конкретным режимом дозирования и точной дозировкой, и решение о введении композиции любому пациенту принимает лечащий врач, учитывая все другие факторы, касающиеся пациента.

Соединение(соединения), описанное в настоящем документе, для введения может находиться в диапазоне от примерно 1 мкг до примерно 10000 мг, от примерно 20 мкг до примерно 9500 мг, от примерно 40 мкг до примерно 9000 мг, от примерно 75 мкг до примерно 8500 мг, от примерно 150 мкг до примерно 7500 мг, от примерно 200 мкг до примерно 7000 мг, от примерно 350 мкг до примерно 6000 мг, от примерно 500 мкг до примерно 5000 мг, от примерно 750 мкг до примерно 4000 мг, от примерно 1 мг до примерно 3000 мг, от примерно 10 мг до примерно 2500 мг, от примерно 20 мг до примерно 2000 мг, от примерно 25 мг до примерно 1500 мг, от примерно 30 мг до примерно 1000 мг, от примерно 40 мг до примерно 900 мг, от примерно 50 мг до примерно 800 мг, от примерно 60 мг до примерно 750 мг, от примерно 70 мг до примерно 600 мг, от примерно 80 мг до примерно 500 мг, включая любые и все целые или частичные приращения между ними.

В некоторых вариантах осуществления доза соединения, описанного в настоящем документе, составляет от примерно 1 мг до примерно 2500 мг. В некоторых вариантах осуществления доза соединения, описанного в настоящем документе, используемого в композициях, описанных в настоящем документе, составляет менее примерно 10000 мг или менее примерно 8000 мг, или менее примерно 6000 мг, или менее примерно 5000 мг, или менее примерно 3000 мг, или менее примерно 2000 мг, или менее примерно 1000 мг, или менее примерно 500 мг, или менее примерно 200 мг, или менее примерно 50 мг. Аналогично, в некоторых вариантах осуществления доза второго соединения, описанного в настоящем документе, составляет менее примерно 1000 мг или менее примерно 800 мг, или менее примерно 600 мг, или менее примерно 500 мг, или менее примерно 400 мг, или менее примерно 300 мг, или менее примерно 200 мг, или менее примерно 100 мг, или менее примерно 50 мг, или менее примерно 40 мг, или менее примерно 30 мг, или менее примерно 25 мг, или менее примерно 20 мг, или менее примерно 15 мг, или менее примерно 10 мг, или менее примерно 5 мг, или менее примерно 2 мг, или менее примерно 1 мг, или менее примерно 0,5 мг, включая любые и все целые или частичные приращения

между ними.

В конкретных вариантах осуществления композиция, описанная в настоящем документе, представляет собой упакованную фармацевтическую композицию, представляющую собой контейнер, заключающий в себе терапевтически эффективное количество соединения, описанного в настоящем документе, отдельно или в сочетании со вторым фармацевтическим средством; и инструкции по использованию соединения для устранения или уменьшения одного или более симптомов заболевания или нарушения у пациента.

Препараты могут быть использованы в смесях с общепринятыми эксципиентами, то есть, фармацевтически приемлемыми органическими или неорганическими носителями, подходящими для перорального, парентерального, назального, внутривенного, подкожного, энтерального или любого другого подходящего способа введения, известного в данной области. Фармацевтические препараты могут быть стерилизованы и при желании смешаны со вспомогательными веществами, например, смазывающими средствами, консервантами, стабилизаторами, увлажняющими средствами, эмульгаторами, солями для воздействия на осмотическое давление буферов, красителями, вкусовыми добавками и/или ароматическими веществами, и тому подобным. При желании их можно комбинировать с другими активными веществами, например, другими анальгетическими средствами.

Пути введения любых композиций, описанных в настоящем документе, включают пероральный, назальный, ректальный, интравагинальный, парентеральный, трансбуккальный, подъязычный или топический пути введения. Соединения для использования в композициях, описанных в настоящем документе, могут быть сформулированы для введения любым подходящим путем, например, для перорального или парентерального, например, чрескожного, трансмукозального (например, подъязычного, лингвального, (транс)буккального, (транс)уретрального, вагинального (например, транс- и перивагинального), (интра)назального и (транс)ректального), внутрипузырного, внутрилегочного, интрадуоденального, внутрижелудочного, интратекального, подкожного, внутримышечного, внутрикожного, внутриартериального, внутривенного, интрабронхиального, ингаляционного и топического введения.

Подходящие композиции и лекарственные формы включают, например, таблетки, капсулы, каплеты, пилюли, гелевые капсулы, лепешки, дисперсии, суспензии, растворы, сиропы, гранулы, дробины, чрескожные пластыри, гели, порошки, драже, жидкие мази, пастилки, кремы, пасты, пластыри, лосьоны, диски, суппозитории, жидкие спреи для назального или перорального введения, сухой порошок или аэрозольные препараты для ингаляции, препараты и композиции для внутрипузырного введения и тому подобное. Следует понимать, что описанные в настоящем документе препараты и композиции не ограничены конкретными препаратами и композициями, которые описаны в настоящем документе.

Пероральное введение

Для перорального введения особенно подходящими являются таблетки, драже, жидкости, капли, суппозитории или капсулы, каплеты и гелевые капсулы. Композиции, предназначенные для перорального применения, могут быть получены любым способом, известным в данной области, и такие композиции могут содержать одно или более средств, выбранных из группы, состоящей из инертных, нетоксичных фармацевтически приемлемых эксципиентов, которые подходят для изготовления таблеток. Такие эксципиенты включают, например, инертный разбавитель, такой как лактоза; гранулирующие и дезинтегрирующие средства, такие как кукурузный крахмал; связывающие вещества, такие как крахмал, и смазывающие средства, такие как стеарат магния. Таблетки могут быть без покрытия, или они могут иметь покрытие, нанесенное известными методами, для более привлекательного внешнего вида или для отсрочки высвобождения активных ингредиентов. Препараты для перорального применения также могут быть предложены в виде твердых желатиновых капсул, в которых активный ингредиент смешан с инертным разбавителем.

Для перорального введения соединение(соединения), описанное в настоящем документе, может иметь форму таблетки или капсулы, полученной общепринятыми методами с фармацевтически приемлемыми эксципиентами, такими как связывающие вещества (например, поливинилпирролидон, гидроксипропилцеллюлоза или гидроксипропилметилцеллюлоза); наполнители (например, кукурузный крахмал, лактоза, микрокристаллическая целлюлоза или фосфат кальция); смазывающие средства (например, стеарат магния, тальк или кремнезем); разрыхлители (например, натрия крахмал гликолят); или увлажняющие средства (например, натрия лаурилсульфат). При необходимости на таблетки можно наносить покрытие с использованием соответствующих способов и материалов покрытия, таких как системы пленочного покрытия OPADRY™, доступные от компании Colorcon, West Point, Pa. (например, OPADRY™ OY Type, OYC Type, Organic Enteric OY-P Type, Aqueous Enteric OY-A Type, OY-PM Type and OPADRY™ White, 32K18400). Жидкий препарат для перорального введения может находиться в форме растворов, сиропов или суспензий. Жидкие препараты могут быть получены общепринятыми методами с фармацевтически приемлемыми добавками, такими как суспендирующие средства (например, сироп сорбита, метилцеллюлоза или гидрогенизированные съедобные жиры); эмульгатор (например, лецитин или гуммиарабик); неводные растворители (например, миндальное масло, масляные эфиры или этиловый спирт) и консерванты (например, метил- или пропил-п-гидроксибензоаты или сорбиновая кислота).

Парентеральное введение

Для парентерального введения соединения, описанные в настоящем документе, могут быть сформулированы для инъекции или инфузии, например, внутривенной, внутримышечной или подкожной инъекции или инфузии; или для введения болюсной дозой и/или непрерывной инфузией. Можно использовать суспензии, растворы или эмульсии в масляном или водном растворителе, необязательно содержащем другие

средства для формулирования, такие как суспендирующие, стабилизирующие и/или диспергирующие средства.

Стерильные инъекционные формы композиций, описанных в настоящем документе, могут представлять собой водную или масляную суспензию. Эти суспензии могут быть сформулированы методами, известными в данной области, с использованием соответствующих диспергирующих или увлажняющих средств и суспендирующих средств. Стерильный инъекционный препарат также может представлять собой стерильный инъекционный раствор или суспензию в нетоксичном парентерально-приемлемом разбавителе или растворителе, например, раствор в 1,3-бутандиоле. В число приемлемых носителей и растворителей, которые могут быть использованы, входят вода, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. В качестве растворителя или суспензионной среды обычно используют стерильные нелетучие масла. Для этой цели можно использовать любое мягкое жирное масло, включая синтетические моно- или диглицериды. Для получения инъекционных препаратов могут быть использованы жирные кислоты, такие как олеиновая кислота и ее глицеридные производные, а также натуральные фармацевтически приемлемые масла, такие как оливковое масло или касторовое масло, в частности, в их полиоксиэтилированных вариантах. Такие масляные растворы или суспензии также могут содержать спиртовой разбавитель или диспергирующее средство на основе спирта с длинной цепью, например, Ph. Helv или аналогичный спирт.

Дополнительные вводимые лекарственные формы

Дополнительные лекарственные формы, подходящие для использования с соединением(соединениями) и композициями, описанными в настоящем документе, включают лекарственные формы, описанные в патентах США №№ 6340475; 6488962; 6451808; 5972389; 5582837 и 5007790. Дополнительные лекарственные формы, подходящие для использования с соединением(соединениями) и композициями, описанными в настоящем документе, также включают лекарственные формы, описанные в патентных заявках США №№ 20030147952; 20030104062; 20030104053; 20030044466; 20030039688 и 20020051820. Дополнительные лекарственные формы, подходящие для использования с соединением(соединениями) и композициями, описанными в настоящем документе, также включают лекарственные формы, описанные в PCT заявках №№ WO 03/35041; WO 03/35040; WO 03/35029; WO 03/35177; WO 03/35039; WO 02/96404; WO 02/32416; WO 01/97783; WO 01/56544; WO 01/32217; WO 98/55107; WO 98/11879; WO 97/47285; WO 93/18755 и WO 90/11757.

Препараты с контролируемым высвобождением и системы доставки лекарственных средств

В конкретных вариантах осуществления препараты, описанные в настоящем документе, могут представлять собой, но не ограничиваются ими, препараты с краткосрочным, быстрым, а также контролируемым высвобождением, например, препараты с замедленным высвобождением, отсроченным высвобождением и

импульсным высвобождением.

В настоящем документе термин «замедленное высвобождение» используют в обычном смысле для обозначения лекарственного препарата, который обеспечивает постепенное высвобождение лекарственного средства в течение длительного периода времени, и который может, хотя и не обязательно, приводить к практически постоянному уровню содержания лекарственного средства в крови в течение длительного периода времени. Период времени может достигать месяца или более, и должен быть более длительным, чем период высвобождения того же количества препарата, введенного в болюсной форме.

Для замедленного высвобождения соединения могут быть сформулированы с подходящим полимером или гидрофобным материалом, который обеспечивает замедленное высвобождение соединений. Таким образом, соединения для использования в способе(способах), описанном в настоящем документе, могут быть введены в форме микрочастиц, например, путем инъекции, или в форме пластин или дисков путем имплантации.

В некоторых случаях используемые лекарственные формы могут быть предоставлены в виде препаратов с замедленным или контролируемым высвобождением одного или более активных ингредиентов за счет использования, например, гидропропилметилцеллюлозы, других полимерных матриц, гелей, проницаемых мембран, осмотических систем, многослойных покрытий, микрочастиц, липосом, микросфер, или их сочетания, для обеспечения желаемого профиля высвобождения в различных пропорциях. Подходящие препараты с контролируемым высвобождением, известные специалистам в данной области, включая описанные в настоящем документе, могут быть легко выбраны для использования с фармацевтическими композициями, описанными в настоящем документе. Таким образом, композиции и лекарственные формы, описанные в настоящем документе, охватывают стандартные лекарственные формы, подходящие для перорального введения, такие как таблетки, капсулы, гелевые капсулы и каплеты, которые приспособлены для контролируемого высвобождения.

Большинство фармацевтических препаратов с контролируемым высвобождением имеют общей целью повышение эффективности терапии лекарственными средствами в сравнении с неконтролируемыми аналогами. В идеале, использование оптимально разработанного препарата с контролируемым высвобождением в медицинском лечении отличается тем, что для лечения или контролирования состояния за минимальное время используется минимальное количество лекарственного средства. Преимущества препаратов с контролируемым высвобождением включают продление активности лекарственного средства, снижение частоты дозирования и лучшее соблюдение пациентами режима лечения. Кроме того, препараты с контролируемым высвобождением могут быть использованы для влияния на время начала действия или другие характеристики, такие как уровень лекарственного средства в крови, и, таким образом, могут влиять на возникновение побочных эффектов.

Большинство препаратов с контролируемым высвобождением разработаны для первоначального высвобождения количества лекарственного средства, которое быстро вызывает желаемый терапевтический эффект, и постепенного и непрерывного высвобождения других количеств лекарственного средства для поддержания этого уровня терапевтического эффекта в течение длительного периода времени. Для поддержания постоянного уровня лекарственного средства в организме лекарственное средство должно высвобождаться из лекарственной формы с такой скоростью, чтобы заменять количество лекарственного средства, которое метаболизируется и выводится из организма.

Контролируемое высвобождение активного ингредиента может быть стимулировано различными индукторами, например, pH, температурой, ферментами, водой или другими физиологическими условиями или соединениями. Используемый в настоящем документе термин «компонент для контролируемого высвобождения» означает соединение или соединения, включая, но не ограничиваясь ими, полимеры, полимерные матрицы, гели, проницаемые мембраны, липосомы, микросферы или их сочетания, которые способствуют контролируемому высвобождению активного ингредиента. В одном варианте осуществления соединения, описанные в настоящем документе, вводят пациенту отдельно или в сочетании с другим фармацевтическим средством, используя препарат с замедленным высвобождением. В одном варианте осуществления соединения, описанные в настоящем документе, вводят пациенту отдельно или в сочетании с другим фармацевтическим средством, используя препарат с замедленным высвобождением.

В настоящем документе термин «отсроченное высвобождение» используют в обычном смысле для обозначения свойства лекарственного препарата, который обеспечивает первоначальное высвобождение лекарственного средства с некоторой задержкой после введения лекарственного средства, которая, хотя и не обязательно, включает задержку от примерно 10 минут до примерно 12 часов.

В настоящем документе термин «импульсное высвобождение» используют в обычном смысле для обозначения свойства лекарственного препарата, который обеспечивает высвобождение лекарственного средства таким образом, что после введения лекарственного средства создаются импульсные профили его содержания в плазме крови.

Термин «немедленное высвобождение» используют в обычном смысле для обозначения свойства лекарственного препарата, который обеспечивает высвобождение лекарственного средства сразу после его введения.

Используемый в настоящем документе термин «краткосрочный период» относится к любому периоду времени вплоть до, или включая, примерно 8 часов, примерно 7 часов, примерно 6 часов, примерно 5 часов, примерно 4 часа, примерно 3 часа, примерно 2 часа, примерно 1 час, примерно 40 минут, примерно 20 минут или примерно 10 минут, а также любые, или все, полные или частичные приращения этого периода, после введения лекарственного средства.

Используемый в настоящем документе термин «быстрое действие» относится к

любому периоду времени вплоть до, или включая, примерно 8 часов, примерно 7 часов, примерно 6 часов, примерно 5 часов, примерно 4 часа, примерно 3 часа, примерно 2 часа, примерно 1 час, примерно 40 минут, примерно 20 минут или примерно 10 минут, а также любые, или все, полные или частичные приращения этого периода, после введения лекарственного средства.

Дозирование

Терапевтически эффективное количество, или доза, соединения, описанного в настоящем документе, зависит от возраста, пола и массы тела пациента, текущего состояния здоровья пациента и прогрессирования заболевания или нарушения у пациента, который получает лечение. Квалифицированный специалист может определять подходящие дозировки в зависимости от этих и других факторов.

Подходящая доза соединения, описанного в настоящем документе, может находиться в диапазоне от примерно 0,01 мг до примерно 5000 мг в сутки, например, от примерно 0,1 мг до примерно 1000 мг, например, от примерно 1 мг до примерно 500 мг, например, от примерно 5 мг до примерно 250 мг в сутки. Дозу можно вводить одной дозой или несколькими дозами, например, 1-4 или более раз в сутки. При использовании нескольких доз размеры всех доз могут быть одинаковыми или разными. Например, дозу 1 мг в сутки можно вводить в виде двух 0,5-мг доз, с примерно 12-часовым интервалом между дозами.

Понятно, что количество соединения, введенное в сутки, может быть введено, в неограничивающих примерах, ежедневно, через день, каждые 2 дня, каждые 3 дня, каждые 4 дня или каждые 5 дней. Например, при введении через день 5-мг суточную дозу можно начинать вводить в понедельник, с первой последующей 5-мг суточной дозой, введенной в среду, второй последующей 5-мг суточной дозой, введенной в пятницу, и так далее.

В случае, если состояние пациента улучшается, по усмотрению врача введение соединения (соединений), описанного в настоящем документе, может быть продолжено; альтернативно, дозу вводимого лекарственного средства временно снижают или временно приостанавливают введение на определенный период времени (то есть, «лекарственные каникулы»). Продолжительность лекарственных каникул может варьироваться от 2 дней до 1 года, в том числе, лишь в качестве примера, 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней, 7 дней, 10 дней, 12 дней, 15 дней, 20 дней, 28 дней, 35 дней, 50 дней, 70 дней, 100 дней, 120 дней, 150 дней, 180 дней, 200 дней, 250 дней, 280 дней, 300 дней, 320 дней, 350 дней или 365 дней. Снижение дозы во время лекарственных каникул составляет от 10% до 100%, включая, лишь в качестве примера, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100%.

После улучшения состояния пациента при необходимости вводят поддерживающую дозу. Впоследствии дозу или частоту введения, или и то, и другое, снижают до уровня, при котором сохраняется улучшенное состояние больного. В некоторых вариантах осуществления пациенты нуждаются в периодическом лечении на

долгосрочной основе при любом рецидиве симптомов и/или инфекции.

Соединения, описанные в настоящем документе, могут быть сформулированы в стандартной лекарственной форме. Термин «стандартная лекарственная форма» относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве единичной дозы для пациентов, получающих лечение, при этом каждая единица содержит заранее определенное количество активного материала, рассчитанное для достижения желаемого терапевтического эффекта, необязательно, в сочетании с подходящим фармацевтическим носителем. Стандартная лекарственная форма может быть предназначена для одной суточной дозы или одной из нескольких суточных доз (например, 1-4 или более раз в день). При использовании нескольких суточных доз стандартная лекарственная форма может быть одинаковой или разной для каждой дозы.

Токсичность и терапевтическую эффективность таких терапевтических режимов, необязательно, определяют на клеточных культурах или экспериментальных животных, включая, но не ограничиваясь этим, определение LD_{50} (дозы, летальной для 50% популяции) и ED_{50} (дозы, терапевтически эффективной для 50% популяции). Соотношение доз между токсическим и терапевтическим эффектами представляет собой терапевтический индекс, который выражают в виде соотношения между LD_{50} и ED_{50}. Данные, полученные в результате анализов клеточных культур и исследований на животных, необязательно, используют при определении диапазона доз для применения у человека. Дозировка таких соединений предпочтительно находится в диапазоне циркулирующих концентраций, которые включают ED_{50} с минимальной токсичностью. Дозировка может варьироваться в пределах этого диапазона в зависимости от используемой лекарственной формы и способа введения.

Специалисты в данной области знают или смогут установить с помощью обычного экспериментирования многочисленные эквиваленты конкретных способов, вариантов осуществления, пунктов формулы изобретения и примеров, описанных в настоящем документе. Такие эквиваленты считаются входящими в объем настоящего изобретения и охватываются прилагаемой формулой изобретения. Например, следует понимать, что изменения в условиях реакции, включая, но не ограничиваясь ими, время реакции, размер/объем реакционной смеси и экспериментальные реагенты, такие как растворители, катализаторы, давление, атмосферные условия, например, атмосфера азота, и восстанавливающие/окисляющие средства, с признанными в данной области альтернативами и с использованием не более чем обычного экспериментирования, входят в объем настоящего изобретения.

Следует понимать, что везде, где в настоящем документе представлены значения и диапазоны, все значения и диапазоны, охватываемые этими значениями и диапазонами, предусмотрены в пределах объема настоящего изобретения. Более того, все значения, которые попадают в эти диапазоны, а также верхняя или нижняя границы диапазона значений, также предусмотрены в настоящей заявке.

Следующие примеры дополнительно иллюстрируют аспекты настоящего

изобретения. Однако они никоим образом не ограничивают идеи или раскрытие настоящего изобретения, описанного в настоящем документе.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПРИМЕРЫ

Далее изобретение описано со ссылкой на следующие примеры. Эти примеры приведены исключительно для целей иллюстрации, и изобретение никоим образом не должно быть истолковано как ограниченное этими примерами, а скорее должно быть истолковано как охватывающее любые и все варианты, которые становятся очевидными в результате идей, изложенных в настоящем документе.

Без дополнительного описания считается, что рядовой специалист в данной области может, используя предшествующее описание и следующие далее иллюстративные примеры, получать и использовать соединения по настоящему изобретению и применять на практике заявленные способы. Таким образом, следующие рабочие примеры иллюстрируют конкретные варианты осуществления настоящего изобретения и не должны рассматриваться как ограничивающие каким-либо образом остальную часть изобретения.

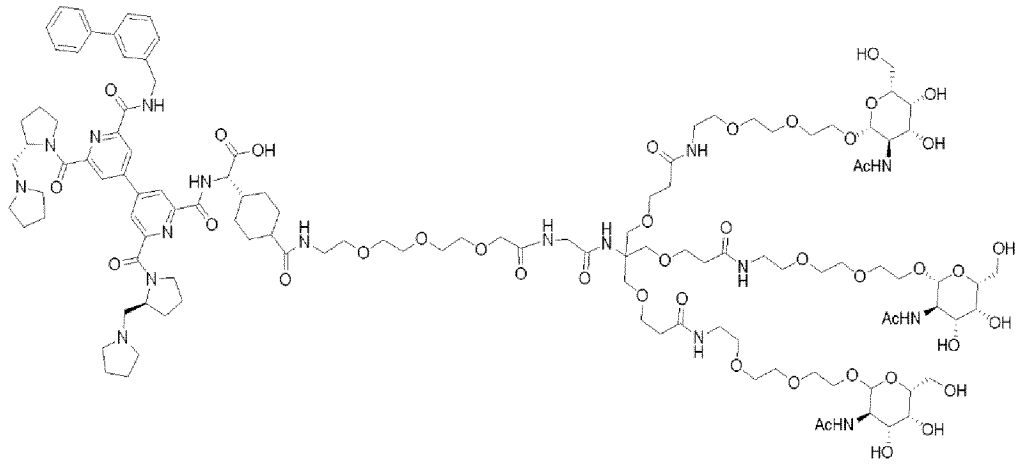
Далее описаны материалы и методы, использованные в экспериментах, представленных в данном экспериментальном примере.

Пример 1: Синтез некоторых групп ASGPRBM.

ФИГ. 24A-24B, ФИГ. 25A-25C, ФИГ. 26A-26L и ФИГ. 27A-27O иллюстрируют неограничивающие варианты синтеза некоторых групп ASGPRBM, которые могут быть использованы в соединениях формулы (I), формулы (Ia), формулы (II), формулы (IIa), формулы (III) или формулы (IIIa).

Пример 2:

(2S)-2-(2'-(([1,1'-бифенил]-3-илметил)карбамоил)-6,6'-бис((S)-2-(пирролидин-1-илметил)пирролидин-1-карбонил)-[4,4'-бипиридин]-2-карбоксамидо)-2-(4-((30-(((2R,3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-16-(14-(((2R,3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-5-оксо-2,9,12-триокса-6-азатетрадецил)-16-(14-(((3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-5-оксо-2,9,12-триокса-6-азатетрадецил)-11,14,21-триоксо-3,6,9,18,25,28-гексаокса-12,15,22-триазатриаконтил)карбамоил)циклогексил)уксусная кислота (ФИГ. 28A-28B).



N-Cbz и O-Bz-защищенный фенилглицин обрабатывали оксидом углерода в присутствии соляной кислоты и трихлорида алюминия, с получением промежуточного соединения арилальдегида, которое затем восстанавливали газообразным водородом над рутением, с получением циклогексильного производного. Любой восстановленный альдегид повторно окисляли с помощью периодинана Десса-Мартина. Амин и карбоновую кислоту повторно защищали с помощью CbzCl и Obz, соответственно. Затем альдегид окисляли реактивом Джонса, и в реакции с оксаилилхлоридом получали ацилхлорид, который подвергали реакции с аминокарбоновой кислотой, с получением карбоновой кислоты. Защитные группы амина и карбоновой кислоты удаляли с помощью Pd/C в атмосфере водорода, и защищали карбоновые кислоты группами OtBu, используя кислоту в трет-бутаноле, с получением промежуточного продукта **A**.

Отдельно проводили реакцию 4-бромпиридин-2,6-дикарбоновой кислоты с оксалилхлоридом, с получением диацилхлорида, который затем подвергали реакции с промежуточным соединением **A** и (S)-1-(пирролидин-2-илметил)пирролидином в присутствии триэтиламина, с получением соединения **B**.

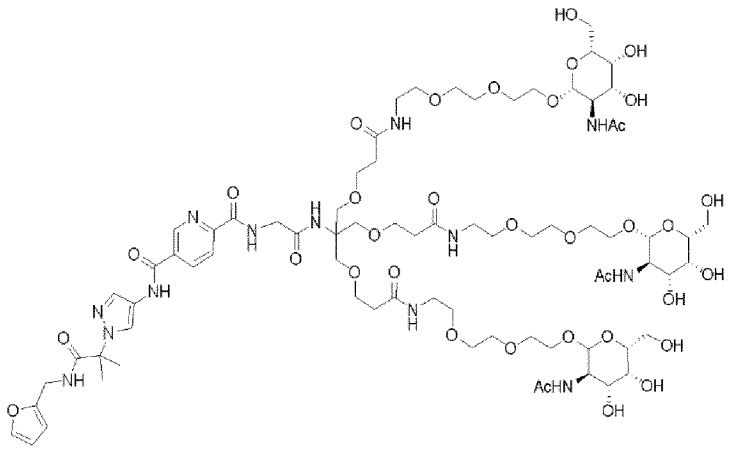
Отдельно 4-бромпиридин-2,6-дикарбоновую кислоту обрабатывали оксалилхлоридом и проводили реакцию с [1,1'-бифенил]-3-илметанамином и (S)-1-(пирролидин-2-илметил)пирролидином в присутствии триэтиламина, с получением соединения **C**.

B и C перекрестно связывали с использованием палладиевого катализатора в DMF при повышенной температуре, с последующей обработкой водным бикарбонатом натрия и обработкой TFA в DCM, с получением промежуточного соединения карбоновой кислоты. Затем ее обрабатывали HBTU, DIPEA и H_2N-GN3 в присутствии DMF. Снятие защиты метоксидом натрия приводило к получению конечного соединения.

Пример 3:

N2-(1-(((2R,3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-15-(14-(((2R,3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-5-оксо-2,9,12-триокса-6-азатетрадецил)-15-(14-(((3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-

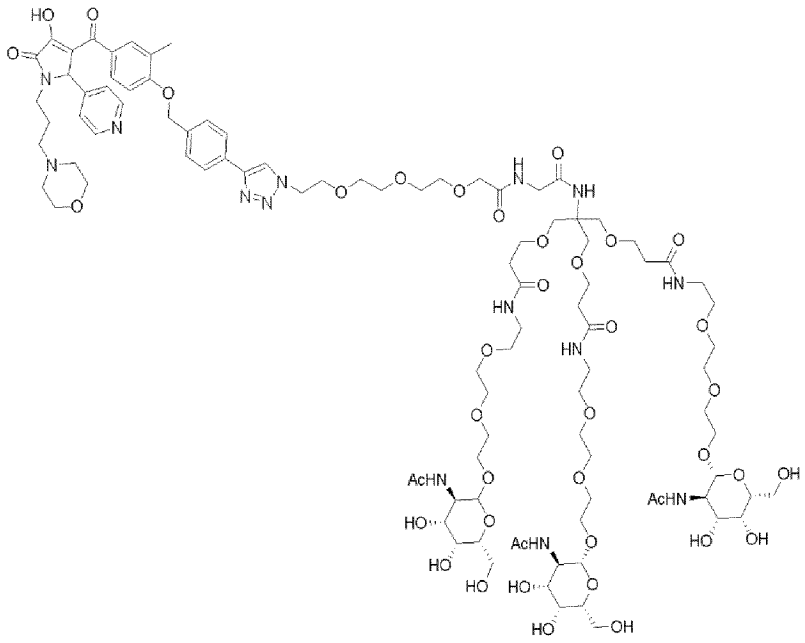
дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-5-оксо-2,9,12-триокса-6-азатетрадецил)-10,17-диоксо-3,6,13-триокса-9,16-диазаоктадекан-18-ил)-N5-(1-(1-((фуран-2-илметил)амино)-2-метил-1-оксопропан-2-ил)-1H-пиразол-4-ил)пиридин-2,5-дикарбоксамид (ФИГ. 29).



4-нитро-1H-пиразол обрабатывали этил-2-бром-2-метилпропаноатом в присутствии органического основания в DMF, с получением алкилированного продукта. Затем с метилового эфира снимали защиту гидроксидом натрия, и проводили его реакцию с фуран-2-илметанамином в стандартных условиях амидного связывания, с получением амидного нитропродукта, который затем восстанавливали для получения амина. Затем проводили его реакцию с 6-(метоксикарбонил)никотиновой кислотой в стандартных условиях амидного связывания, с получением метилового эфира диамида, с которого снимали защиту, получая карбоновую кислоту. Ее активировали с использованием HBTU и DIPEA в DMF и проводили реакцию с H_2H-GN3. Снятие защиты с ацильных групп GN3 приводило к получению конечного соединения.

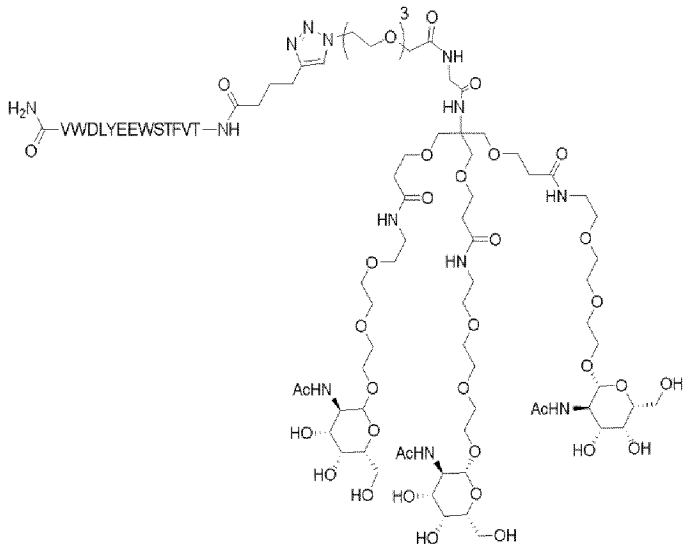
Пример 4:

3,3'-((2-(14-(((3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-5-оксо-2,9,12-триокса-6-азатетрадецил)-2-(14-(4-(4-((4-(4-гидрокси-1-(3-морфолинопропил)-5-оксо-2-(пиридин-4-ил)-2,5-дигидро-1H-пиррол-3-карбонил)-2-метилфенокси)метил)фенил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)-4-оксо-6,9,12-триокса-3-азатетрадеканамидо)пропан-1,3-диил)бис(окси))бис(N-(2-(2-(2-(((2R,3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)этокси)этокси)этил)пропанамид) (ФИГ. 30).



1-(4-гидрокси-2-метилфенил)этан-1-он обрабатывали гидридом натрия и проводили реакцию с 1-(бромметил)-4-этинилбензолом, с получением промежуточного соединения кетона, затем проводили его реакцию с гидридом натрия и обрабатывали диметилоксалатом, с получением енольного продукта. Его затем конденсировали с 3-морфолинопропан-1-амином и изоникотинальдегидом, с получением 5-членного кольца. Проводили реакцию полученного алкина с N_3-$(CH_2CH_2O)_3CH_2C(=O)NH$-GN3 (со снятой защитой ацила) в стандартных условиях клик-связывания, с получением продукта.

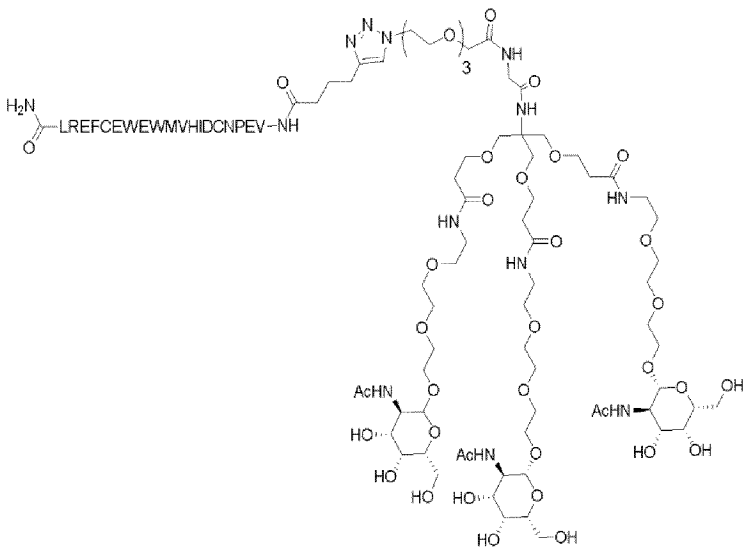
Пример 5 (ФИГ. 31):



Пептид VWDLYEEWSTFVT (SEQ ID NO: 135) синтезировали в соответствии со стандартными протоколами Fmoc. Пептид обрабатывали 5-гексиновой кислотой на смоле, с получением алкина, который снимали со смолы при помощи реагента L. Проводили реакцию алкина с N_3-$(CH_2CH_2O)_3CH_2C(=O)NH$-GN3 (защиту групп OAc снимали метоксидом натрия) в стандартных условиях под действием меди, получая конечную

бифункциональную молекулу.

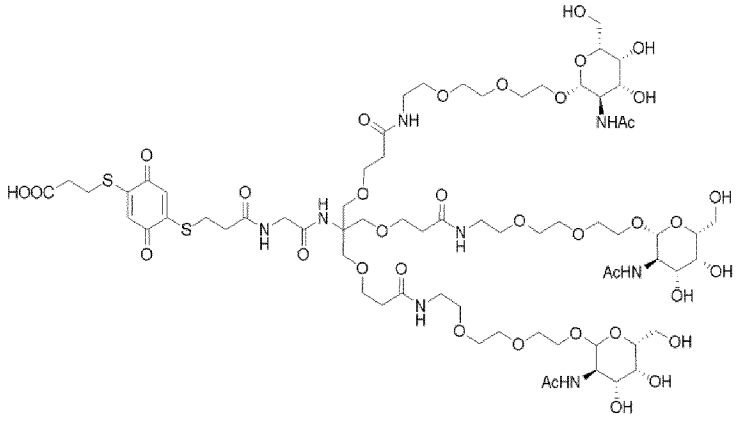
Пример 6 (ФИГ. 32):



Пептид LREFCEWEWMVHIDCNPEV (SEQ ID NO: 136) синтезировали в соответствии со стандартными протоколами Fmoc. Пептид обрабатывали 5-гексиновой кислотой на смоле, с получением алкина, который снимали со смолы при помощи реагента L, затем циклизировали в течение ночи в буфере с pH 8. Проводили реакцию алкина с N_3-$(CH_2CH_2O)_3CH_2C(=O)NH$-GN3 (защиту групп OAc снимали метоксидом натрия) в стандартных условиях под действием меди, получая конечную бифункциональную молекулу.

Пример 7:

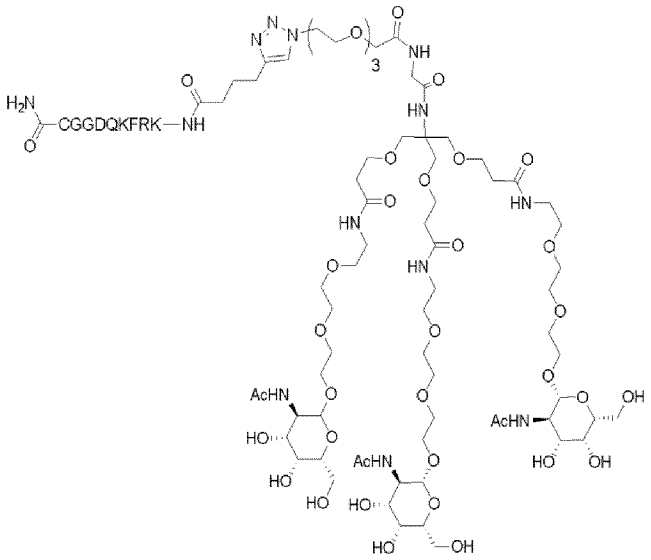
3-((4-((1-(((2R,3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-15-(14-(((2R,3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-5-оксо-2,9,12-триокса-6-азатетрадецил)-15-(14-(((3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-5-оксо-2,9,12-триокса-6-азатетрадецил)-10,17,20-триоксо-3,6,13-триокса-9,16,19- триазадокозан-22-ил)тио)-3,6-диоксоциклогекса-1,4-диен-1-ил)тио)пропионовая кислота (ФИГ. 33).



Проводили реакцию бензохинона с двумя эквивалентами 3-меркаптопропионовой

кислоты, с получением дикарбоновой кислоты. Затем проводили ее реакцию с 1 эквивалентом HBTU в присутствии органического основания в DMF и обрабатывали H_2H-GN3 (защиту ацила снимали метоксидом натрия), получая бифункциональную молекулу.

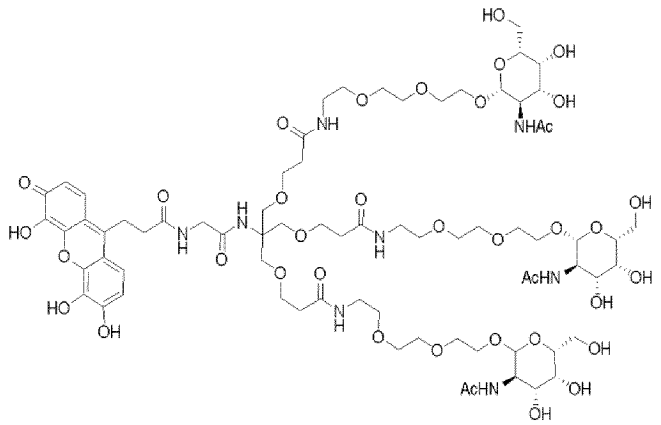
Пример 8 (ФИГ. 34):



Пептид CGGDQKFRK (SEQ ID NO: 137) синтезировали на смоле, следуя стандартным протоколам твердофазного синтеза, и обрабатывали 5-гексиновой кислотой в присутствии HATU, NMM и DMF. Алкинил-пептид снимали со смолы при помощи реагента L и проводили его реакцию с N_3-$(CH_2CH_2O)_3CH_2C(=O)NH$-GN3 (защиту ацила снимали метоксидом натрия) в стандартных условиях под действием меди, получая бифункциональную молекулу.

Пример 9:

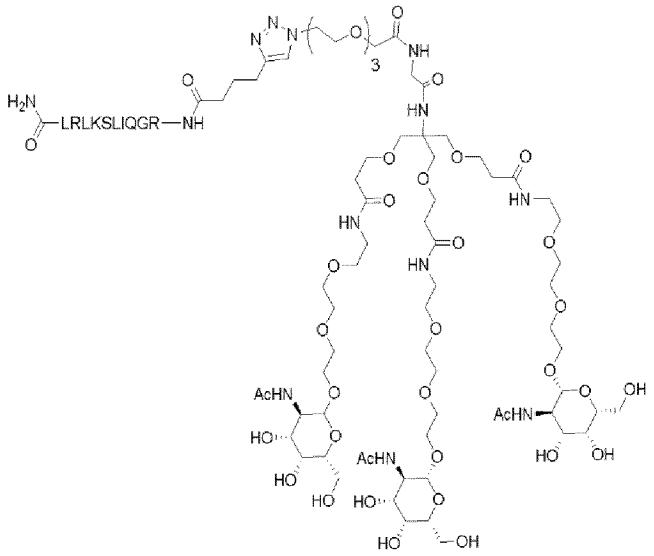
3,3'-((2-(14-(((3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-5-оксо-2,9,12-триокса-6-азатетрадецил)-2-(2-(3-(4,5,6-тригидрокси-3-оксо-3H-ксантен-9-ил)пропанамидо)ацетамидо)пропан-1,3-диил)бис(окси))бис(H-(2-(2-(((2R,3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)этокси)этокси)этил)пропанамид) (ФИГ. 35).



3-(4,5,6-тригидрокси-3-оксо-3H-ксантен-9-ил)пропионовую кислоту обрабатывали

HBTU в присутствии органического основания в DMF и обрабатывали H_2H-GN3 (защиту ацетила снимали метоксидом натрия), с получением конечного соединения.

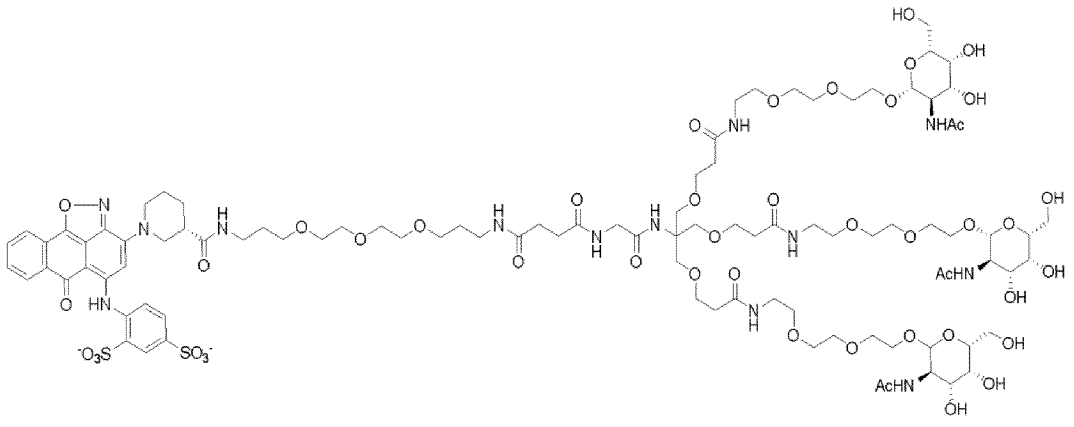
Пример 10 (ФИГ. 36):



Пептид LRLKSLIQGR (SEQ ID NO: 138) синтезировали на смоле, следуя стандартным протоколам твердофазного синтеза, и обрабатывали 5-гексиновой кислотой в присутствии HATU, NMM и DMF. Алкинил-пептид снимали со смолы при помощи реагента L и проводили его реакцию с N_3-$(CH_2CH_2O)_3CH_2C(=O)$NH-GN3 (защиту ацила снимали метоксидом натрия) в стандартных условиях под действием меди, получая бифункциональную молекулу.

Пример 11:

4-((3-((3S)-3-((1-(((2R,3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-15-(14-(((2R,3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-5-оксо-2,9,12-триокса-6-азатетрадецил)-15-(14-(((3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-5-оксо-2,9,12-триокса-6-азатетрадецил)-10,17,20,23-тетраоксо-3,6,13,28,31,34-гексаокса-9,16,19,24-тетраазагептатриаконтан-37-ил)карбамоил)пиперидин-1-ил)-6-оксо-6H-антра[1,9-cd]изоксазол-5-ил)амино)бензол-1,3-дисульфонат (ФИГ. 37B).



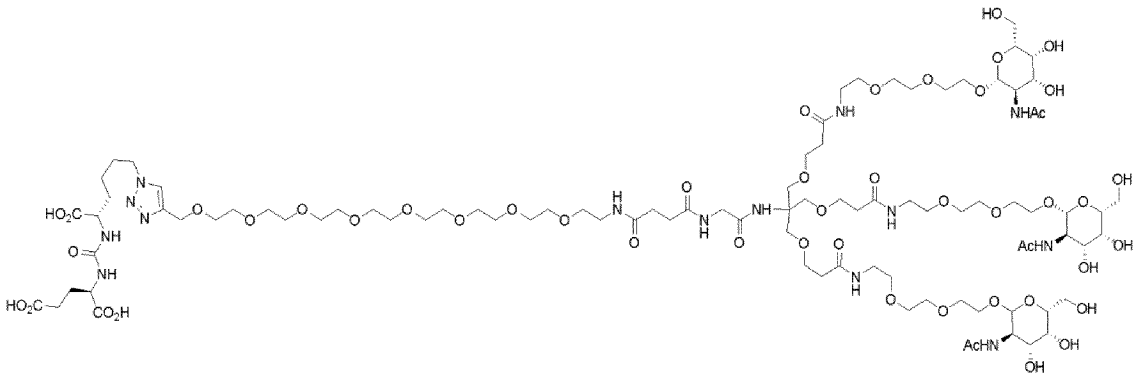
Бензил(3-(2-(2-(3-аминопропокси)этокси)этокси)пропил)карбамат обрабатывали (S)-1-(трет-бутоксикарбонил)пиперидин-3-карбоновой кислотой в стандартных условиях амидного связывания. Затем это соединение обрабатывали TFA в DCM, с получением однозащищенного диамина **A**.

Отдельно нафталин-1,4-дион обрабатывали 1-триметилсилокси-1,3-бутадином в DCM в течение 24 часов, затем обрабатывали триэтиламином, получая ароматическое соединение (ФИГ. 37A). Его затем обрабатывали хлорацетамидом в присутствии иодида калия и карбоната калия при повышенной температуре в DMF, получая амин, который был дибромирован в уксусной кислоте путем обработки элементарным бромом. Это промежуточное соединение обрабатывали нитратом натрия в сильной кислоте, затем азидом натрия и водой, и в заключение нагревали с обратным холодильником в толуоле, получая циклизированный продукт. Это промежуточное соединение затем обрабатывали анилин-2,4-дисульфоновой кислотой в присутствии карбоната лития и ацетата меди (II) в DMF в темноте при повышенных температурах.

Обработка при помощи **A** в присутствии органического основания в DMF при повышенной температуре приводила к получению Cbz-защищенного амина, защиту с которого снимали в атмосфере водорода с использованием Pd/C, и проводили реакцию с янтарным ангидридом, получая карбоновую кислоту. Ее затем обрабатывали HBTU в присутствии органического основания в DMF и проводили реакцию с H_2H-GN3 (защиту ацетила снимали метоксидом натрия), получая конечное соединение (ФИГ. 37B).

Пример 12:

(((1S)-5-(4-(30-((1-(((2R,3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-15-(14-(((2R,3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-5-оксо-2,9,12-триокса-6-азатетрадецил)-15-(14-(((3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-5-оксо-2,9,12-триокса-6-азатетрадецил)-10,17-диоксо-3,6,13-триокса-9,16-диазаоктадекан-18-ил)амино)-27,30-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23-октаокса-26-азатриаконтил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)-1-карбоксипентил)карбамоил)-D-глутаминовая кислота (ФИГ. 38B).



O-(2-азидоэтил)гептаэтиленгликоль обрабатывали гидридом натрия, а затем пропаргилбромидом, получая промежуточное соединение алкин, который затем

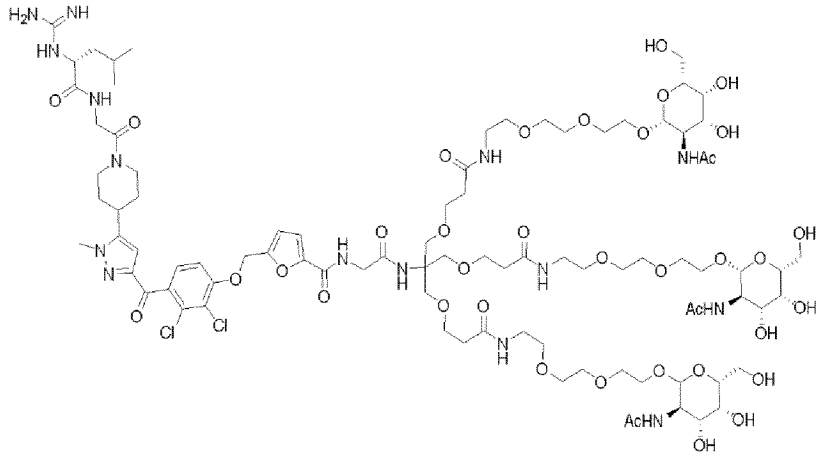
восстанавливали трифенилфосфином в смеси вода/THF, с последующей защитой амина Boc-ангидридом в присутствии органического основания в метаноле, с получением **A** (ФИГ. 38A).

Отдельно ди-трет-бутил-L-глутамат обрабатывали трифосгеном, а затем H-Lys(cbz)-Ot-Bu, получая промежуточное соединение мочевину. Ее затем восстанавливали в атмосфере газообразного водорода над Pd/C, получая промежуточное соединение амин, который превращали в азид путем обработки трифлик-азидом и медью в присутствии основания. Затем проводили реакцию этого азида с промежуточным соединением **A** в стандартных условиях циклизации под воздействием меди, после чего обрабатывали TFA, получая амин **B**.

Отдельно H_2H-GN3 (защиту ацетила снимали с использованием метоксида натрия в метаноле) обрабатывали янтарным ангидридом в присутствии органического основания в DMF, получая карбоновую кислоту, которую затем активировали HBTU в присутствии DIPEA в DMF для реакции амином **B**, приводящей к получению конечной молекулы (ФИГ. 38B).

Пример 13:

3,3'-((2-(14-(((3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-5-оксо-2,9,12-триокса-6-азатетрадецил)-2-(2-(5-((2,3-дихлор-4-(5-(1-(2-((R)-2-гуанидино-4-метилпентанамидо)ацетил)пиперидин-4-ил)-1-метил-1H-пиразол-3-карбонил)фенокси)метил)фуран-2-карбоксамидо)ацетамидо)пропан-1,3-диил)бис(окси))бис(N-(2-(2-(2-(((2R,3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)этокси)этокси)этил)пропанамид) (ФИГ. 39A-39B).



Трет-бутил-4-формилпиперидин-1-карбоксилат обрабатывали диметил-1-диазо-2-оксопропилфосфонатом в присутствии карбоната калия в метаноле, получая в результате алкинамин, с которого снимали защиту при помощи кислоты в диоксане, получая в результате амин. Его подвергали реакции в стандартных условиях реакции сочетания с N-Boc-глицином, получая Boc-защищенный амин, с которого снимали защиту, как описано выше, и связывали с N-Boc-D-лейцином, используя стандартные условия реакции

сочетания. Полученный алкин представляет собой промежуточное соединение **A**.

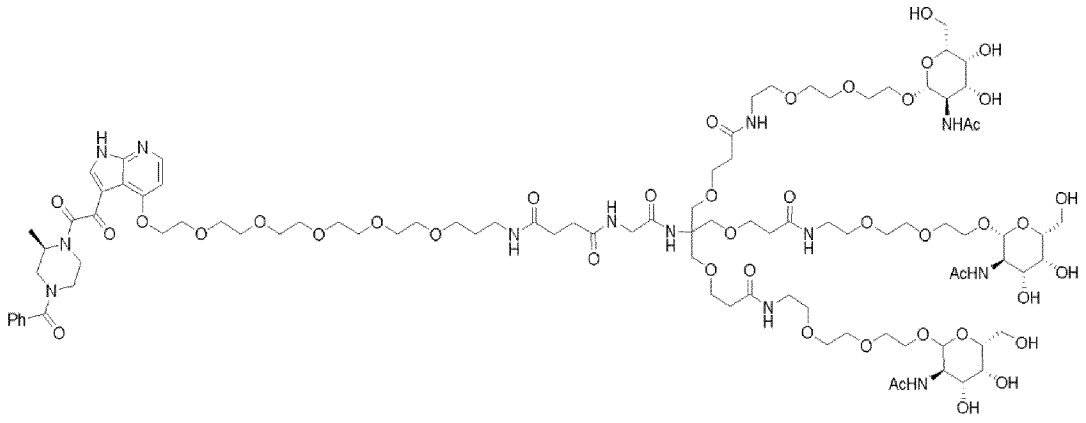
Отдельно 2,3-дихлорфенол обрабатывали бромом в DCM в течение 2 часов, с получением монобромированного продукта. Его затем подвергали реакции с TIPS хлоридом, получая силиловый эфир, который обрабатывали н-BuLi в THF при низкой температуре с барботированием диоксидом углерода, получая карбоновую кислоту. Эту карбоновую кислоту превращали в ацилхлорид **B** путем обработки оксиалилхлоридом в смеси DMF/DCM.

Отдельно проводили реакцию 5-формилфуран-2-карбоновой кислоты с триметилсилилдиазометаном в смеси бензол/метанол, с последующим восстановлением борогидридом натрия, получая спирт **C**.

A и **B** конденсировали с использованием иодида меди (I) в присутствии палладиевого катализатора и органического основания. Полученное соединение обрабатывали метилгидразином в этаноле, с последующим снятием защиты при помощи фторида при пониженной температуре в THF, получая промежуточное соединение фенол. Его обрабатывали промежуточным соединением **C** в присутствии диэтилазодикарбоксилата и трифенилфосфина, получая эфирный продукт. Затем защиту с метилового эфира снимали гидроксидом лития в THF, с последующим снятием защиты Boc кислотой в диоксане. Затем проводили обработку N, N'-бис-Boc-1-гуанилпиразолом в присутствии органического основания. Оставшиеся группы Boc удаляли TFA/DCM. Карбоновую кислоту активировали с использованием HBTU для связывания с H_2H-GN3 (ацетильные группы удаляли метоксидом натрия в метаноле) в присутствии органического основания в DMF. Образование амида приводило к получению конечного соединения.

Пример 14:

N1-(1-(((2R,3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-15-(14-(((2R,3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-5-оксо-2,9,12-триокса-6-азатетрадецил)-15-(14-(((3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-5-оксо-2,9,12-триокса-6-азатетрадецил)-10,17-диоксо-3,6,13-триокса-9,16-диазаоктадекан-18-ил)-N4-(1-((3-(2-((R)-4-бензоил-2-метилпиперазин-1-ил)-2-оксоацетил)-1H-пирроло[2,3-b]пиридин-4-ил)окси)-3,6,9,12,15-пентаоксаоктадекан-18-ил)сукцинамид (ФИГ. 40B).

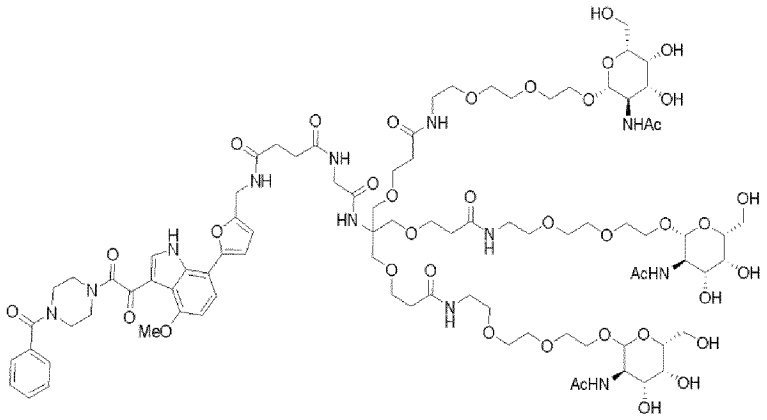


Гексапропиленгликоль обрабатывали тозилхлоридом в присутствии органического основания, с последующей обработкой азидом натрия при повышенной температуре, с получением моноазидоспирта **A** (ФИГ. 40A).

Отдельно 1H-пирроло[2,3-b]пиридин обрабатывали метилмагнийиодидом, а затем хлоридом цинка (II), после чего ClCOCOOMe, с получением метилэфирного производного. Обработка бикарбонатом калия снимала защиту с метилового эфира, с образованием карбоновой кислоты, которую подвергали амидному связыванию с N-бензоил-3-(R)-метилпиперазином в присутствии DEPBT и DIPEA в DMF. Обработка mCPBA в ацетоне приводила к получению цвиттерионного промежуточного соединения, которое под воздействием азотной кислоты и TFA превращалось в мононитрированный продукт. Обработка промежуточным соединением **A,** с последующей реакцией с PCl_3, приводила к получению азидо-производного (ФИГ. 40A). Его восстанавливали трифенилфосфином в THF и воде, с последующей обработкой янтарным ангидридом в присутствии органического основания, получая карбоновую кислоту. Ее затем активировали, как описано выше, для связывания с H_2H-GN3]], приводящего к получению конечного соединения (ФИГ. 40B).

Пример 15:

N1-(1-(((2R,3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-15-(14-(((2R,3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-5-оксо-2,9,12-триокса-6-азатетрадецил)-15-(14-(((3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-5-оксо-2,9,12-триокса-6-азатетрадецил)-10,17-диоксо-3,6,13-триокса-9,16-диазаоктадекан-18-ил)-N4-((5-(3-(2-(4-бензоилпиперазин-1-ил)-2-оксоацетил)-4-метокси-1H-индол-7-ил)фуран-2-ил)метил)сукцинамид (ФИГ. 41).



7-бром-4-метокси-1H-индол обрабатывали оксалилхлоридом в THF, получая ацилхлоридное промежуточное соединение. После обработки трет-бутилпиперазин-1-карбоксилатом в присутствии органического основания молекулу обрабатывали TFA в DCM, получая промежуточный вторичный амин. Его связывали с бензойной кислотой при помощи EDC и HOBT в присутствии органического основания. Бромид конденсировали с (5-(((трет-бутоксикарбонил)амино)метил)фуран-2-ил)бороновой кислотой в присутствии бикарбоната натрия в воде и DMF под микроволновым облучением, получая конденсированный промежуточный продукт, с которого затем снимали защиту (TFA в DCM) и проводили реакцию с янтарным ангидридом, получая карбоновую кислоту. Карбоновую кислоту активировали, как описано выше, для амидного связывания с H_2H-GN3, приводящего к получению конечного соединения.

Пример 16:

Каждая из ФИГ. 42-50 иллюстрирует неограничивающие варианты получения соединения формулы (I) или формулы (Ia), содержащего MIF-связывающий фрагмент.

Каждая из ФИГ. 51A-51B, ФИГ. 52A-52B, ФИГ. 53A-53B и ФИГ. 54 иллюстрирует неограничивающие лиганды PCSK9, которые могут быть использованы в соединении формулы (I) или формулы (Ia), и их иллюстративный синтез.

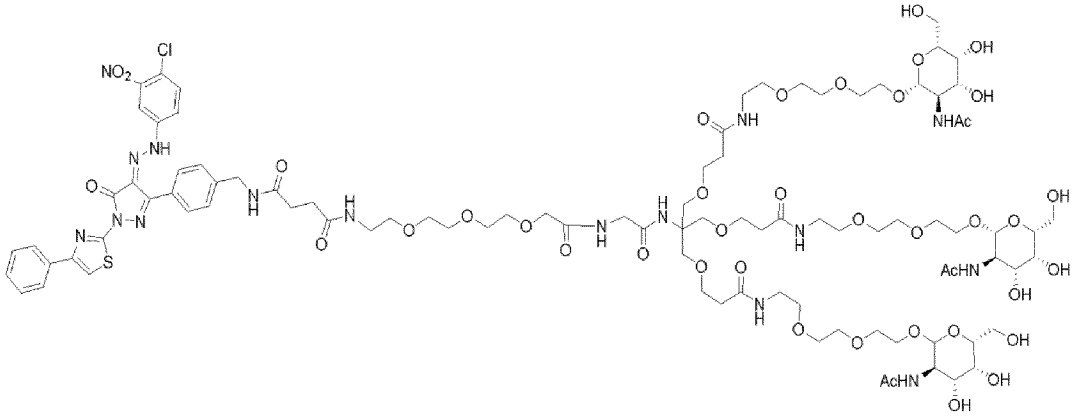
Пример 17:

ФИГ. 55A-55N и ФИГ. 56A-56O иллюстрируют неограничивающие варианты синтеза некоторых групп ASGPRBM и/или соединений формулы (I) или формулы (Ia) с использованием MIF-связывающего фрагмента в качестве неограничивающего белок-связывающего фрагмента. Защита любой защитной группы(групп) в каждом промежуточном соединении и/или конечном продукте может быть снята соответствующим образом.

Пример 18:

N1-(30-(((2R,3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-16-(14-(((2R,3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-5-оксо-2,9,12-триокса-6-азатетрадецил)-16-(14-(((3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-5-оксо-2,9,12-

триокса-6-азатетрадецил)-11,14,21-триоксо-3,6,9,18,25,28-гексаокса-12,15,22-триазатриаконтил)-N4-(4-((E)-4-(2-(4-хлор-3-нитрофенил)гидразинилиден)-5-оксо-1-(4-фенилтиазол-2-ил)-4,5-дигидро-1H-пиразол-3-ил)бензил)сукцинамид (ФИГ. 15).

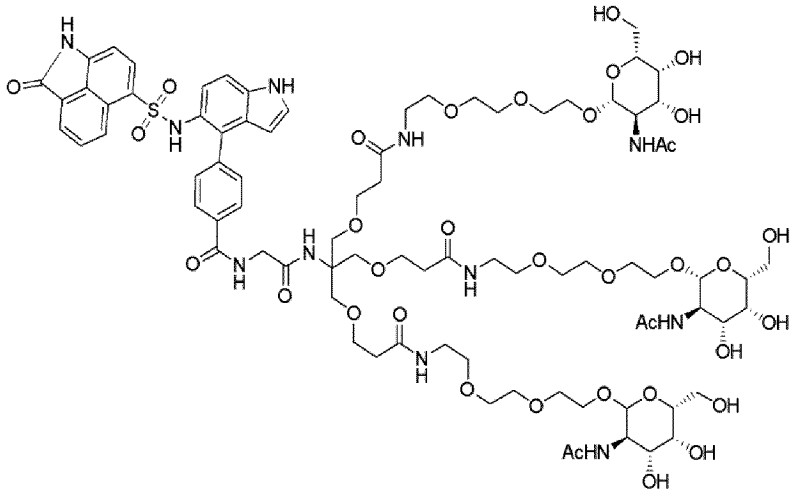


4-(((трет-бутоксикарбонил)амино)метил)бензойную кислоту обрабатывали диимидазолилкетоном и этилмалонатом магния в THF, получая промежуточный сложный эфир, который затем обрабатывали тиосемикарбазидом в присутствии HCl, с последующим перемешиванием в смеси этилацетат/этанол, получая промежуточное бициклическое соединение.

На амин вновь устанавливали защиту в виде Fmoc с использованием хлорида Fmoc в присутствии органического основания. Затем промежуточное соединение обрабатывали нитритом натрия в присутствии сильной кислоты, с последующей обработкой 4-хлор-3-нитроанилином, приводящей к получению диазо-соединения. Обработка промежуточного соединения 2-бром-1-фенилэтан-1-оном при повышенной температуре в присутствии молекулярных сит привела к получению циклического продукта. Затем проводили изомеризацию при помощи УФ-света, с последующим снятием защиты с амина и реакцией с янтарным ангидридом, с получением карбоновой кислоты. Затем проводили ее связывание с H_2H-$(CH_2CH_2O)_3CH_2C(=O)NH$-GN3 в стандартных условиях амидного связывания, которое при обработке метоксидом натрия в метаноле приводило к получению бифункциональной молекулы.

Пример 19:

3,3'-((2-(14-(((3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-5-оксо-2,9,12-триокса-6-азатетрадецил)-2-(2-(4-(5-((2-оксо-1,2-дигидробензо[cd]индол)-6-сульфонамидо)-1H-индол-4-ил)бензамидо)ацетамидо)пропан-1,3-диил)бис(окси))бис(H-(2-(2-(2-(((2R,3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)этокси)этокси)этил)пропанамид) (ФИГ. 14).

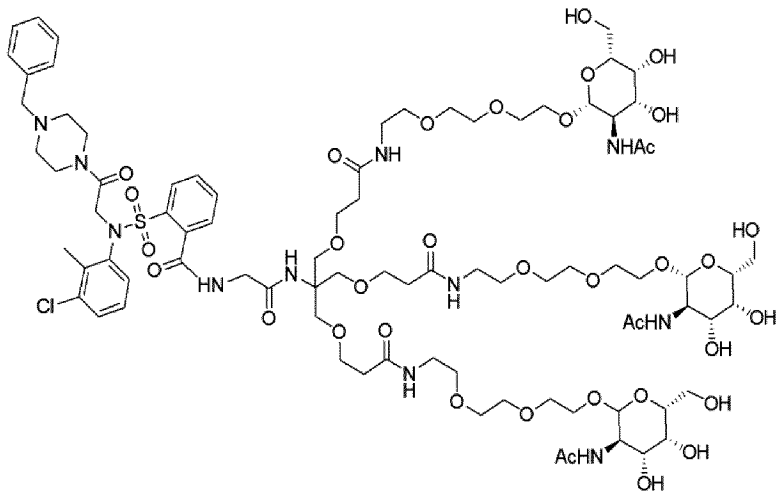


Трет-бутил-5-амино-1H-индол-1-карбоксилат обрабатывали NBS при низкой температуре в ацетонитриле, с получением бромированного промежуточного соединения, которое затем подвергали реакции с (4-(метоксикарбонил)фенил)бороновой кислотой в условиях перекрестного связывания (Pd катализатор, карбонат калия, DMF, повышенная температура), получая соединение **A**.

Отдельно бензо[cd]индол-2(1H)-он обрабатывали хлорсульфоновой кислотой, получая монозамещенный продукт, который затем подвергали реакции с **A** в присутствии пиридина в THF, с получением промежуточного метилового эфира. С него затем снимали защиту путем обработки гидроксидом натрия в смеси MeOH/вода, с последующей обработкой TFA в DCM. Карбоновую кислоту затем подвергали реакции с NHS в стандартных условиях связывания, получая NHS эфир, который подвергали реакции с GN3 и обрабатывали метоксидом натрия, с получением бифункциональной молекулы.

Пример 20:

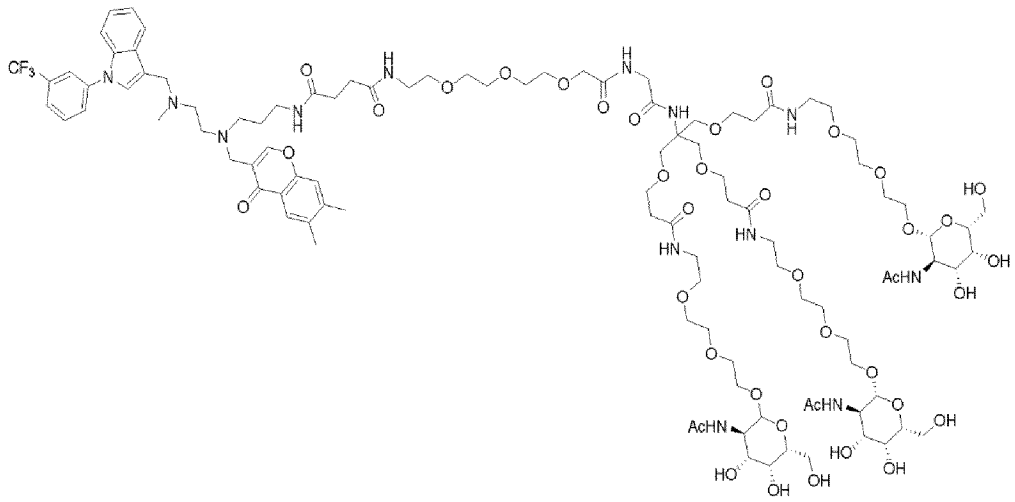
3,3'-((2-(14-(((3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-5-оксо-2,9,12-триокса-6-азатетрадецил)-2-(2-(2-(H-(2-(4-бензилпиперазин-1-ил)-2-оксоэтил)-H-(2,3-диметилфенил)сульфамоил)бензамидо)ацетамидо)пропан-1,3-диил)бис(окси))бис(H-(2-(2-(2-(((2R,3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)этокси)этокси)этил)пропанамид) (ФИГ. 16).



Пиперазин обрабатывали бензилбромидом при повышенной температуре в THF, получая моноалкилированное промежуточное соединение **A**. Отдельно метил-2-(хлорсульфонил)бензоат и 2,3-диметиланилин обрабатывали пиридином в THF, получая сульфонамидное промежуточное соединение. Его затем обрабатывали гидридом натрия в DMF, а затем трет-бутил-2-бромацетатом, получая алкилированный диэфирный продукт. С трет-бутилового эфира снимали защиту при помощи TFA в DCM, затем подвергали реакции в стандартных условиях амидного связывания с промежуточным соединением **A,** получая моноэфирное промежуточное соединение. С этого промежуточного соединения затем снимали защиту при помощи гидроксида натрия в смеси вода/метанол, после чего подвергали реакции с H_2H-GN3, используя EDCI, HOBt и DIPEA в DMF. Последующее снятие защиты с O-ацильных групп метоксидом натрия в метаноле приводило к получению конечного соединения.

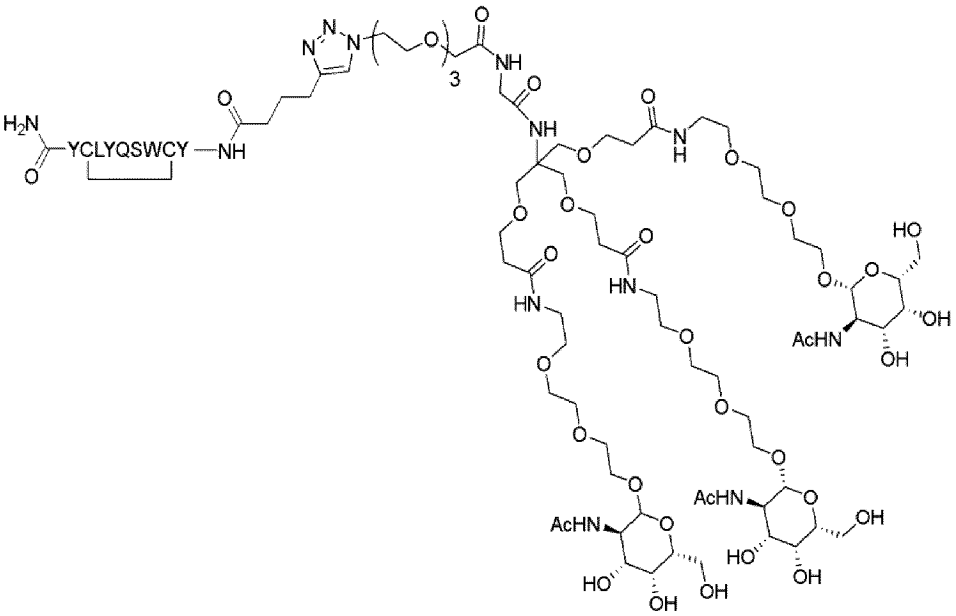
Пример 21:

N1-(30-(((2R,3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-16-(14-(((2R,3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-5-оксо-2,9,12-триокса-6-азатетрадецил)-16-(14-(((3R,4R,5R,6R)-3-ацетамидо-4,5-дигидрокси-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-5-оксо-2,9,12-триокса-6-азатетрадецил)-11,14,21-триоксо-3,6,9,18,25,28-гексаокса-12,15,22-триазатриаконтил)-N4-(3-(((6,7-диметил-4-оксо-4H-хромен-3-ил)метил)(2-(метил((1-(3-(трифторметил)фенил)-1H-индол-3-ил)метил)амино)этил)амино)пропил)сукцинамид (ФИГ. 17).



1H-индол подвергали реакции с 1-бром-3-(трифторметил)бензолом в присутствии иодида меди (I) и карбоната цезия в DMF при повышенной температуре, получая конденсированный продукт. Его затем подвергали реакции с $POCl_3$ в DMF и DCE при повышающейся температуре, с получением альдегида. N^1-(3-азидопропил)-N^2-метилэтан-1,2-диамин затем подвергали реакции с этим альдегидом и 6,7-диметил-4-оксо-4H-хромен-3-карбальдегидом, получая диимин, который восстанавливали с использованием триацетоксиборгидрида натрия. Азид затем восстанавливали трифенилфосфином в воде и THF, и подвергали реакции с янтарным ангидридом в присутствии органического основания, получая в результате карбоновую кислоту. Ее затем обрабатывали HBTU и DIPEA в DMF, с последующим добавлением H_2H-$(CH_2CH_2O)_3CH_2C(=O)$NH-GN3. Снятие защиты с групп OAc метоксидом натрия приводило к получению конечного соединения.

Пример 22 (ФИГ. 12):



Пептид YCWSQYLCY (SEQ ID NO: 132) синтезировали на амидной смоле Ринка, следуя общим протоколам твердофазного синтеза, затем обрабатывали 5-гексиновой кислотой в присутствии HATU и NMM в DMF, получая алкиновый продукт, который

снимали со смолы при помощи реагента L и циклизировали в течение ночи в буфере с pH 8. Этот алкин подвергали реакции с N_3-$(CH_2CH_2O)_3CH_2C(=O)NH$-GN3, как описано ранее, в условиях клик-химии, получая конечное соединение.

Пример 23:

ФИГ. 58 иллюстрирует некоторые соединения формулы (2b), где R представляет собой R^{3b} в неограничивающем варианте осуществления. ФИГ. 59-69 иллюстрируют неограничивающие варианты синтеза промежуточного соединения, которое может быть использовано для получения соединения формулы (2b).

ФИГ. 70A-70C иллюстрируют неограничивающие варианты синтеза конкретных промежуточных соединений, которые могут быть использованы для получения соединения формулы (2b) (с предоставлением R^3) или формулы (2c) (с предоставлением R^2).

ФИГ. 71 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза конкретного соединения по изобретению, такого как, но без ограничения, соединение формулы (2c). ФИГ. 72 и 73 иллюстрируют неограничивающие варианты синтеза промежуточного соединения, которое может быть использовано для получения соединения формулы (2c). ФИГ. 74 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза соединения формулы (2c).

Пример 24: Бифункциональные соединения в качестве деструкторов аутоантител

ФИГ. 75 иллюстрирует структуру GalNAc-NH2.

ФИГ. 76 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза индол-GN3, бифункциональной молекулы, которая направлена на деградацию IgG/IgE/IgM человека.

ФИГ. 77 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза AMD-GN3, бифункциональной молекулы, которая направлена на избирательную деградацию IgG человека.

ФИГ. 78 иллюстрирует неограничивающий вариант синтеза FcIII-GN3, бифункциональной молекулы, которая направлена на избирательную деградацию IgG человека.

ФИГ. 79A-79B иллюстрируют in vivo данные, которые свидетельствуют о расщеплении анти-DNP IgG в мышиной сыворотке, опосредуемое DNP-GN3. ФИГ. 79A: эксперимент на мышах, показывающий, что бифункциональная молекула DNP-GN3 может индуцировать деградацию инъецированных анти-DNP IgG антител в мышиной сыворотке, в то время как молекула отрицательного контроля или контрольный растворитель не проявляют такой эффект. Фиолетовая стрелка: мышам вводили инъекцией анти-DNP IgG антитела в/б; Зеленые стрелки: мышам вводили в/б инъекцией PBS (растворитель), DNP-(OH)3 (отрицательный контроль) или DNP-GN3. ФИГ. 79B: Структура DNP-GN3.

ФИГ. 80-84 иллюстрируют неограничивающие варианты синтеза конкретных бифункциональных соединений по изобретению. На ФИГ. 81 показан синтез бифункционального соединения, содержащего пептид DCAWHLGELVWCT (SEQ ID NO:

139) (необязательно C-C циклизированный). На ФИГ. 82 показан синтез бифункционального соединения, содержащего пептид CDCAWHLGELVWCTC (SEQ ID NO: 140) (необязательно C-C циклизированный).

Пример 25: Синтез отрицательного контроля - анти-DNP антитела, связывающего соединение DNP-OH3 (ФИГ. 85)

Синтез DNP-OH3 начинается с опосредованного HBTU образования амидной связи между трикарбоновой кислотой и тремя эквивалентами коммерчески доступного гидроксиамин-2-[2-(2-аминоэтокси)этокси]этанола, с получением Cbz-защищенного промежуточного соединения. Промежуточное соединение восстанавливают, с получением амина, который подвергают HBTU-опосредованному перекрестному связыванию с карбоновой кислотой, с получением конечного соединения DNP-OH3.

Пример 26: DNP-GN3 опосредует эндоцитоз анти-DNP антитела

Проводили исследование, может ли DNP-GN3 опосредовать образование тройного комплекса между флуоресцентно меченым анти-DNP антителом и ASGPR на поверхности иммортализованных человеческих гепатоцитов HepG2 в суспензии. Степень связывания флуоресцентно меченого антитела с клетками, как установлено, зависит от концентрации DNP-GN3, с концентрациями 7,4 нМ и 0,12 мкМ, вызывающими полумаксимальное связывание флуоресценции (ФИГ. 86A). Наблюдаемая колоколообразная зависимость от концентрации DNP-GN3 соответствует эффекту прозоны, обычно наблюдаемому в системах, где образуется тройной комплекс.

Установлено, что связывание с клетками флуоресценции ингибируется реагентами, которые конкурентно связывают либо ASGPR, либо анти-DNP антитело. Клеточная флуоресценция уменьшалась при увеличении концентрации как DNP-OH3 (IC_{50}=36 нМ), так и мономерного сахара GalNAc (GN) (IC_{50}=0,20 мМ) (ФИГ. 86B). Белки, специфически связывающие ASGPR, также приводили к уменьшению DNP-GN3-опосредованной клеточной флуоресценции (ФИГ. 86C). Сывороточные белки фетуин и оросомукоид (ORM) связывают ASGPR лишь после их десиалирования, с получением асиалофетуина (ASF, сообщаемая K_i=17 нМ) и асиалоросомукоида (ASOR, сообщаемая K_i=1,7 нМ), соответственно. Как ASF (IC_{50}=65 нМ), так и ASOR (IC_{50}=17 нМ), приводили к уменьшению клеточной флуоресценции, в отличие от фетуина и ORM. В совокупности эти данные свидетельствуют о том, что DNP-GN3 опосредует образование тройного комплекса между анти-DNP антителом и ASGPR на поверхности гепатоцитов.

Затем было исследовано, опосредует ли DNP-GN3 эндоцитоз флуоресцентно меченого анти-DNP антитела. Установлено, что внутриклеточная флуоресценция прикрепляющихся клеток HepG2 зависела от концентрации как DNP-GN3, так и анти-DNP антитела (ФИГ. 87A), и что внутриклеточная флуоресценция увеличивалась с течением времени (ФИГ. 87B).

Наблюдаемое увеличение внутриклеточной флуоресценции, опосредуемое DNP-GN3, можно было ингибировать реагентами, которые, как показано ранее, препятствуют образованию тройного комплекса (ФИГ. 88). При высоких концентрациях ASOR, ASF,

GalNAc и DNP-OH3 значительно уменьшали опосредованный DNP-GN3 эндоцитоз анти-DNP антитела. Напротив, никакого уменьшения эндоцитоза анти-DNP антитела не наблюдали при обработке клеток белками ORM или фетуином, которые не связывают в значительной степени ASGPR. Эти данные согласуются с моделью, в которой DNP-GN3 опосредует поглощение антитела за счет связывания ASGPR.

Для изучения клеточного механизма поглощения антитела клетки обрабатывали химическими ингибиторами нескольких путей эндоцитоза (ФИГ. 89). Комбинированная обработка общими ингибиторами эндоцитоза азидом натрия и 2-дезоксиглюкозой (DOG) приводила к значительному уменьшению внутриклеточной флуоресценции. Флуоресценция также значительно уменьшалась реагентами, которые ингибируют клатрин-зависимый эндоцитоз за счет нарушения образования эндосом (сахароза) и/или закисления (бафиломицин, хлорохин и монензин). Напротив, ингибиторы кавеолин-опосредуемого эндоцитоза (нистатин) и макропиноцитоза, а также фагоцитоза (цитохалазин D, 5-(H-этил-H-изопропил)амилорид (EIPA) и амилорид) существенно не уменьшают клеточную флуоресценцию. Паттерн ингибирования, наблюдаемый в этих экспериментах, согласуется с механизмом эндоцитоза, зависимым от клатрина, но не другими путями эндоцитоза. Учитывая, что предыдущие результаты показали, что эндоцитоз, опосредуемый ASGPR, зависит от клатрина (Oka, J. et al., Journal of Biological Chemistry, 1989, 264:12016-12024; Schwartz, A. L. et al., The Journal of cell biology, 1984, 98:732-738), эти данные дополнительно свидетельствуют в пользу участия ASGPR в эндоцитозе антитела, опосредуемом DNP-GN3.

Пример 27: DNP-GN3 опосредует деградацию анти-DNP антитела

После демонстрации того, что DNP-GN3 опосредует эндоцитоз анти-DNP антител, была изучена субклеточная локализация эндоцитированного флуоресцентно меченого анти-DNP антитела. Накопление внутриклеточной обусловленной антителом флуоресценции, как установлено, зависело от присутствия как DNP-GN3, так и анти-DNP антитела (ФИГ. 90).

Совместную локализацию эндоцитированного анти-DNP антитела с маркером ранних эндосом EEA1 не наблюдали в клетках через 12 часов (ФИГ. 91A). Напротив, наблюдали сильную совместную локализацию анти-DNP антитела с лизосомным мембранным белком LAMP2 (ФИГ. 91B). Вместе взятые, эти данные микроскопии позволяют предположить, что перемещение в лизосомы происходит быстро по временной шкале данного эксперимента (12 часов), и что большая часть эндоцитированного антитела присутствует в зрелых эндоцитарных компартментах.

Кроме того, использовали вестерн-блоттинг с антителом, направленным на Alexa Fluor 488, для определения того, деградируют ли эндоцитированные флуоресцентно меченые анти-DNP антитела in vitro. Было обнаружено, что лизаты клеток HepG2, обработанных как DNP-GN3, так и анти-DNP антителом, накапливают флуорофор зависимым от времени и от DNP-GN3 образом (ФИГ. 92A). Сигнал, обусловленный Alexa Fluor 488, в клеточных лизатах был связан лишь с полноразмерным антителом после двух

часов инкубации. После шести часов начал появляться низкомолекулярный флуорофор-связанный белковый фрагмент с массой от 37 до 50 кДа. Дополнительный белковый фрагмент с молекулярной массой от 25 до 37 кДа наблюдался через 24 часа. Считается, что эти флуорофор-связанные белковые фрагменты представляют собой продукты деградации в результате лизосомного протеолиза анти-DNP антител, коллективно указывающие на то, что эндоцитированное анти-DNP антитело деградирует в клетках HepG2. Кроме того, никакие продукты деградации не были обнаружены в супернатанте клеточной культуры (ФИГ. 92B), это указывало на то, что деградация антитела происходит в, или на, клетках HepG2. В сочетании с вышеупомянутыми результатами исследования иммунофлуоресценции, показывающими совместную локализацию обусловленной анти-DNP антителом флуоресценции с лизосомами, эти исследования подтверждают, что деградацию анти-DNP антитела опосредуют лизосомные протеазы. Лизосомная деградация также согласуется с механизмом, зависимым от ASGPR.

Пример 28: DNP-GN3 опосредует истощение анти-DNP антитела in vivo

После демонстрации того, что DNP-GN3 опосредует деградацию анти-DNP антител in vitro, оценивали применимость технологии MoDE-A (молекулярные деструкторы внеклеточных белков через асиалогликопротеиновый рецептор (ASGPR)) in vivo. Было обнаружено, что доза 1 мг/кг массы тела DNP-GN3 является биодоступной при в/б введении «голым» мышам, с максимальной сывороточной концентрацией, достигаемой через 1 ч, и измеренным периодом полувыведения в сыворотке крови 0,67 ч. DNP-GN3 хорошо переносился в дозах вплоть до 100 мг/кг, без существенных различий в массе тела или сывороточном уровне печеночных ферментов между контрольными и экспериментальными группами животных (ФИГ. 93A-93C). Эти результаты подтвердили пригодность DNP-GN3 для более подробных исследований in vivo.

Было обнаружено, что введение DNP-GN3 ускоряет истощение моноклональных мышиных IgG2 анти-DNP антител в сыворотке «голых» мышей in vivo (ФИГ. 94). После начальной дозы 200 мкг анти-DNP антитела как ежедневные, так и два раза в сутки, инъекции 1 мг/кг DNP-GN3 приводили к значительному снижению уровней антитела в сравнении с введением PBS в течение 21 дня. Ежедневное введение DNP-GN3 также приводило к значительному снижению уровней антитела после начальной дозы 500 мкг антитела, это указывало на то, что DNP-GN3 является эффективным в диапазоне концентраций целевого белка in vivo.

Никакого ускоренного истощения антитела в сыворотке не наблюдали после введения отрицательного контрольного соединения DNP-OH3, которое связывает анти-DNP антитело, но не ASGPR (ФИГ. 95). Неожиданно, доза 100 мг/кг DNP-OH3 приводила к небольшому, но статистически значимому уменьшению клиренса антитела в сравнении с контролем PBS. Существует гипотеза, что это является результатом увеличения гидродинамического радиуса антитела вследствие PEG-цепей DNP-OH3, которые могут увеличивать его период полувыведения in vivo. Подобные явления широко наблюдались для пегилированных белков и были использованы для увеличения периода полувыведения

различных терапевтических средств.

Единичные дозы DNP-GN3 также оказались эффективными в опосредовании истощения анти-DNP антител, хотя и менее эффективными, чем ежедневное введение доз (ФИГ. 96). Введение либо 1 мг/кг, либо 10 мг/кг, DNP-GN3, как установлено, является наиболее эффективным, при этом 52% и 34% анти-DNP антитела истощается в сыворотке, соответственно, через 24 часа после одной дозы, в сравнении с 24% истощением в группе введения контрольного растворителя. Значительное истощение также наблюдалось после введения дозы 100 мг/кг DNP-GN3. Таким образом, был сделан вывод, что DNP-GN3 может опосредовать истощение моноклонального антитела в сыворотке и действует в широком диапазоне концентраций целевого белка и режимов дозирования.

Также было установлено, что DNP-GN3 является эффективным в истощении поликлонального анти-DNP антитела в сыворотке, собранной от мышей, иммунизированных конъюгатом DNP-гемоцианин лимфы улитки (KLH) (ФИГ. 97). После ежедневного введения DNP-GN3 значительно больше поликлональных анти-DNP антител было удалено из сыворотки, в сравнении с группой введения контроля PBS, в каждой временной точке. Таким образом, действие низкомолекулярного DNP-GN3 не ограничивается только моноклональными мышиными антителами, но также распространяется на удаление поликлональных анти-DNP антител из системы кровообращения у мышей.

Пример 29: DNP-AF3 опосредует эндоцитоз анти-DNP антитела

После демонстрации того, что DNP-GN3, в котором используется трехвалентный фрагмент GalNAc для связывания с ASGPR, эффективно опосредует эндоцитоз и деградацию целевого белка как in vitro, так и in vivo, были проведены эксперименты с DNP-AF3. В DNP-AF3 используется трехвалентный вариант лиганда ASGPR с более высокой аффинностью для связывания рецептора.

Во-первых, определяли влияние концентрации DNP-AF3 на связывание анти-DNP антитела с клетками (ФИГ. 98). В этих экспериментах постоянное количество анти-DNP антитела и клеток инкубировали с DNP-AF3 в различных концентрациях. Измеряли среднюю интенсивность флуоресценции клеточной популяции методом проточной цитометрии. С целью учета фоновой клеточной флуоресценции и не опосредованного DNP-AF3 связывания антитела с клетками среднюю интенсивность флуоресценции образца клеток, обработанных анти-DNP антителом, но не DNP-AF3, вычитали из каждой точки данных.

Максимальное образование тройного комплекса наблюдали при концентрациях DNP-AF3 19,5 и 39,1 нМ. Эти результаты с DNP-AF3 демонстрировали тенденции, аналогичные результатам при введении DNP-GN3, для которого наблюдали максимальное образование тройного комплекса при концентрациях 20 и 40 нМ. Уменьшение клеточной флуоресценции также наблюдали при высоких концентрациях DNP-AF3, что согласуется с образованием тройного комплекса. На основании этих данных был сделан вывод о том, что DNP-AF3 опосредует связывание анти-DNP антитела с клетками HepG2.

Затем было исследовано, приводит ли увеличение концентраций конкурирующего связывающего фрагмента для анти-DNP антитела к ингибированию образования тройного комплекса. При концентрации 40 нМ DNP-AF3 наблюдали стабильное образование тройного комплекса с минимальной вариабельностью между экспериментальными репликами в одной и той же экспериментальной группе. Однако в случае других препаратов клеток HepG2 и/или соединения наблюдали варьирующие значения средней интенсивности флуоресценции для клеточной популяции между разными независимыми экспериментальными репликами. Таким образом, для исследований конкуренции определяли ингибирование образования тройного комплекса, а не среднюю интенсивность флуоресценции клеточной популяции. 100% образование тройного комплекса соотносили с флуоресценцией клеточной популяции, обработанной как 40 нМ DNP-AF3, так и 100 нМ анти-DNP антителом, при этом 0% образование тройного комплекса соотносили с флуоресценцией смеси клеток и анти-DNP антитела без DNP-AF3.

Конкурирующая с анти-DNP антителом связывающая молекула DNP-OH3 ингибировала образование тройного комплекса зависимым от концентрации образом (ФИГ. 99). Наблюдали сигмоидальную зависимость ингибирования образования тройного комплекса от концентрации, с рассчитанным значением IC_{50}, составляющим 40,6 нМ. Поскольку DNP-OH3 и DNP-AF3 имеют общий анти-DNP антитело-связывающий фрагмент, можно было ожидать, что полумаксимальное ингибирование образования тройного комплекса будет иметь место, когда два соединения присутствуют в равных концентрациях. Действительно, было обнаружено, что при концентрациях, примерно равных концентрациям DNP-AF3, DNP-OH3 ингибирует примерно наполовину общее образование тройного комплекса.

Затем определяли, влияют ли конкурирующие связывающие фрагменты для белка ASGPR на образование тройного комплекса. Малая молекула AF представляет собой синтетический миметик сахара, который связывает ASGPR более сильно, чем GalNAc. DNP-AF3 связывает вместе три сахара AF для сильного связывания с ASGPR. Мономерный сахар AF был способен ингибировать связывание антитела с клетками при высоких концентрациях, с наблюдаемым значением IC_{50}, составляющим 1,45 мкМ (ФИГ. 100). Эти данные согласуются с образованием тройного комплекса между анти-DNP антителом и ASGPR на поверхности клеток HepG2.

Также было исследовано, влияют ли белки, которые, как известно, избирательно связывают ASGPR, на образование тройного комплекса, опосредуемое DNP-AF3 (ФИГ. 101). Сывороточный белок ORM не влиял на образование тройного комплекса. Напротив, десиалированный ORM (ASOR) приводил к уменьшению образования тройного комплекса при высоких концентрациях. В отличие от паттернов, наблюдаемых с DNP-GN3, который демонстрировал полное ингибирование образования тройного комплекса при высоких концентрациях ASOR, 100% ингибирование образования тройного комплекса не было достигнуто. Одно из возможных объяснений этого наблюдения

заключается в том, что ASOR может не присутствовать в достаточно высоких концентрациях для эффективной конкуренции с DNP-AF3 за связывание ASGPR. Вследствие предела растворимости белка была достигнута лишь концентрация 0,1 мг/мл (примерно 2,38 мкМ). Исходя из предыдущих результатов, ожидается, что молекула AF3 (которая присутствует в концентрации 40 нМ) связывает ASGPR более сильно, чем его связывают ASOR и DNP-GN3. Таким образом, может оказаться невозможным достижение концентрации белка ASOR, при которой он ингибирует связывание DNP-AF3 с ASGPR.

В отличие от результатов, полученных с DNP-GN3, асиалогликопротеин ASF не ингибировал образование тройного комплекса, опосредуемое DNP-AF3 (ФИГ. 102). ASOR связывает ASGPR с величиной Kd, примерно в 10 раз более низкой, чем в случае ASF. При концентрациях DNP-AF3, используемых в данном эксперименте, ASF может не присутствовать в достаточно высоких концентрациях для оказания значительного влияния на связывание анти-DNP антитела с клетками.

После установления того, что DNP-AF3 может опосредовать образование тройного комплекса между ASGPR, присутствующим на поверхности клеток HepG2, и флуоресцентно меченым анти-DNP антителом, было изучено, приводит ли образование тройного комплекса к эндоцитозу анти-DNP антитела. Определяли внутриклеточную флуоресценцию клеток, которые инкубировали при 37°C как с флуоресцентно меченым анти-DNP антителом, так и с DNP-AF3, в течение определенного периода времени. Затем клетки промывали, снимали с планшета трипсином и подвергали проточной цитометрии. Ожидается, что обработка трипсином приведет к отщеплению ASGPR и связанного с поверхностью анти-DNP антитела от клеток, и, таким образом, ожидается, что клеточная флуоресценция, наблюдаемая в этих анализах, будет возникать лишь от интернализованных антител.

Внутриклеточная флуоресценция клеток HepG2 зависела от концентрации как анти-DNP антитела, так и DNP-AF3 (ФИГ. 103A). Максимальное накопление внутриклеточной флуоресценции наблюдали при концентрации анти-DNP антитела 100 нМ. Более высокие концентрации антитела не использовали, поскольку они приводили к резкому увеличению эндоцитоза антитела даже в отсутствие DNP-AF3 (данные не представлены). 40 нМ DNP-AF3 приводил к максимальному эндоцитозу анти-DNP антитела, когда целевой белок присутствовал в концентрации 100 нМ. Это согласуется с данными по образованию тройного комплекса, которые показали, что 40 нМ DNP-AF3 является наиболее эффективной концентрацией для опосредования связывания анти-DNP антитела с клетками. Кроме того, эндоцитоз проявлял колоколообразную зависимость от концентрации DNP-AF3, и при микромолярных уровнях DNP-AF3 авторы изобретения наблюдали примерно фоновые уровни эндоцитоза. Эти данные подтверждают, что образование тройного комплекса напрямую коррелирует с эндоцитозом. При пониженных уровнях анти-DNP антитела (10 нМ) максимальный эндоцитоз наблюдали с DNP-AF3 в концентрации 8 нМ. Это согласуется с моделью образования тройного комплекса, которая предсказывает, что при пониженных концентрациях целевого белка требуются более

низкие концентрации молекулы-адаптера в качестве посредника максимального образования тройного комплекса. Усиленное поглощение анти-DNP антитела в присутствии DNP-AF3 наблюдали при концентрациях всего лишь 1 нМ анти-DNP антитела. Напротив, бифункциональная молекула DNP-GN3 не опосредовала эффективно поглощение анти-DNP антитела, когда целевой белок присутствовал в концентрации 1 нМ. Также наблюдали зависимое от времени увеличение внутриклеточной флуоресценции (ФИГ. 103A и 103B), что отражает тенденции, наблюдаемые через шесть часов. В совокупности эти данные указывают на то, что DNP-AF3 опосредует эндоцитоз анти-DNP антитела в широком диапазоне концентраций, и что молекула более эффективна в качестве посредника эндоцитоза, чем DNP-GN3.

Альтернативно, по этим данным может быть построен график для демонстрации зависимости от времени DNP-AF3-опосредованного эндоцитоза анти-DNP антитела (ФИГ. 104). С течением времени концентрация 5 мкМ DNP-AF3 приводит к почти фоновым уровням эндоцитоза. При концентрациях как 8, так и 200 нМ, DNP-AF3 опосредует эндоцитоз анти-DNP антитела с течением времени. Однако при концентрации 40 нМ наблюдали самый сильный эндоцитоз анти-DNP антитела с течением времени.

Также определяли, ингибируют ли реагенты, ингибирующие образование тройного комплекса, эндоцитоз, опосредуемый DNP-AF3. Для учета неспецифического связывания антитела с клетками среднюю интенсивность флуоресценции аликвоты клеток, которые были обработаны анти-DNP антителом, но не DNP-AF3, вычитали из каждого значения. В отсутствие конкурирующего ингибитора эндоцитоза клеточная популяция имела среднюю интенсивность флуоресценции примерно 1,31e6. В присутствии 2,38 мкМ (0,1 мг/мл) ASOR флуоресценция клеточной популяции снижалась до 4,66e5 (ФИГ. 105); при этой концентрации ASOR образование тройного комплекса уменьшается на примерно 70%. Поскольку образование тройного комплекса не ингибируется полностью при этой концентрации ASOR, ожидается, что продуктивные эндоцитарные явления все еще происходят.

Как описано выше, асиалогликопротеин ASF не был эффективен в ингибировании образования тройного комплекса при любой протестированной концентрации белка. Хотя белок не был эффективен в уменьшении образования тройного комплекса, наблюдалось значительное уменьшение эндоцитоза после обработки клеток ASF в концентрации 2,07 мкМ. Сывороточные белки ORM и фетуин существенно не влияли на эндоцитоз флуоресцентного антитела. Исходя из этих данных, которые демонстрируют, что известные белки, связывающие ASGPR, ингибируют опосредуемый DNP-AF3 эндоцитоз анти-DNP антитела, был сделан вывод о том, что DNP-AF3 опосредует эндоцитоз через ASGPR.

Клеточная флуоресценция уменьшалась до почти фоновых уровней за счет DNP-OH3, конкурирующего связывающего фрагмента для анти-DNP антитела. DNP-OH3 использовали в концентрации, в 15,6 раз превышающей IC_{50}, наблюдаемую в экспериментах с тройным комплексом. Мономерные сахара также приводили к

уменьшению клеточной флуоресценции. Когда он присутствовал в концентрации 1,25 мМ - примерно на три порядка превышающей наблюдаемое значение IC_{50} в экспериментах с тройным комплексом - мономерный сахар AF приводил к уменьшению клеточной флуоресценции до фоновых уровней. Мономерный сахар GalNAc, который имеет более низкую аффинность для ASGPR, также приводит к значительному уменьшению клеточной флуоресценции при концентрации 1,25 мМ. На основании этих данных был сделан вывод о том, что образование тройного комплекса необходимо для эндоцитоза антитела, и реагенты, ингибирующие образование тройного комплекса, также ингибируют эндоцитоз антитела.

Затем определяли, ингибируют ли ингибиторы конкретных путей эндоцитоза эндоцитоз анти-DNP антитела (ФИГ. 106). При инкубации с анти-DNP антителом и DNP-AF3 средняя интенсивность флуоресценции клеточной популяции составляла 9,31e6. В отсутствие DNP-AF3 средняя интенсивность флуоресценции клеточной популяции уменьшалась до 1,53e5. Это свидетельствует в пользу сильной зависимости от DNP-AF3 в качестве посредника поглощения антитела. Когда клетки обрабатывали метаболическими ядами 2-дезоксиглюкозой (DOG) и азидом натрия, наблюдали значительное уменьшение флуоресценции клеточной популяции. Это согласуется с данными, собранными при использовании DNP-GN3, и предыдущими сообщениями о том, что обработка азидом натрия ингибирует рециклинг ASGPR. Одной из возможных причин, почему эти ингибиторы не вызывают полной отмены поглощения, является то, что используемые концентрации не обеспечивают полного ингибирования АТФ-опосредуемого эндоцитоза и рециклинга рецептора. Также возможно, что DNP-AF3 индуцирует не зависимый от АТФ механизм поглощения анти-DNP антитела.

Эндоцитоз антитела был в значительной степени ингибирован некоторыми ингибиторами макропиноцитоза и фагоцитоза. Обработка цитохализином D (CytD) приводила к несущественному уменьшению интенсивности флуоресценции клеточной популяции. Одним из возможных объяснений этого является то, что CytD ингибирует процессы, ответственные за перемещение эндосом в клетке, и нарушение этих сетей может уменьшать рециклинг ASGPR. Наблюдалось уменьшение клеточной флуоресценции ингибитором макропиноцитоза амилоридом, но не близкородственным соединением EIPA. Также возможно, что некоторые из ингибиторов, протестированных в этих анализах, не специфичны для определенного для них пути, а скорее оказывают влияние на несколько различных путей эндоцитоза. Обработка ингибиторами кавеолин-зависимого эндоцитоза нистатином, индометацином и генистеином не приводила к значительному уменьшению флуоресценции клеточной популяции. Напротив, все протестированные ингибиторы клатрин-опосредуемого эндоцитоза значительно уменьшали эндоцитоз антитела в сравнении с не ингибированными клетками. Эти ингибиторы являются слабыми основаниями, которые либо нейтрализуют эндосомы и лизосомы, либо ингибируют протонные насосы, которые подкисляют эндолизосомные компартменты. На основании этих данных был сделан вывод о том, что DNP-AF3

опосредует эндоцитоз анти-DNP антитела в соответствии с таргетингом ASGPR. Часть эндоцитоза, опосредуемая DNP-AF3, может осуществляться по независимым от клатрина путям.

Пример 30: DNP-AF3 опосредует деградацию анти-DNP антитела

Для исследования внутриклеточной локализации эндоцитированного анти-DNP антитела проводили эксперименты по совместной локализации с использованием антител, направленных на маркеры разных цитоплазматических компартментов. Было обнаружено, что точки, содержащие эндоцитированное Alexa 568-меченое анти-DNP антитело, накапливаются в клетках с течением времени, с четкими точками, появляющимися после одного часа инкубации с анти-DNP антителом и DNP-AF3 (ФИГ. 107). Количество и яркость точек постепенно увеличивались в течение 24-часовой продолжительности данного эксперимента. В дополнительных экспериментах с клетками для анализа использовали временную точку 12 часов. Кроме того, определяли, зависела ли внутриклеточная флуоресценция, обусловленная каналом флуоресценции Alexa 568, от присутствия как Alexa Fluor 568-меченого анти-DNP антитела, так и DNP-AF3. Клетки инкубировали с добавлением или без добавления каждого реагента в течение 12 часов, затем фиксировали и проводили визуализацию. Яркие точки внутри клеток, содержащие Alexa-568, наблюдали только в клетках, обработанных как анти-DNP антителом, так и DNP-AF3 (ФИГ. 108).

Затем исследовали, локализуется ли флуоресценция, обусловленная эндоцитированным анти-DNP антителом, совместно с ранними или поздними эндосомами в клетках. Было установлено, что эндоцитированное анти-DNP антитело в значительной степени не локализуется совместно с антителом, узнающим белок EEA1 ранних эндосом, это указывало на то, что эндоцитированное антитело не накапливается в ранних эндосомах (ФИГ. 109). Напротив, обусловленная анти-DNP антителом флуоресценция в значительной степени локализовалась с белком LAMP2, который присутствует в мембране поздних эндосом и лизосом (ФИГ. 110). На основании этих наблюдений был сделан вывод о том, что анти-DNP антитело переносится в поздние эндосомы и лизосомы в клетках, и что через 12 часов большая часть антитела присутствует в зрелых эндоцитарных компартментах в клетке. После установления того, что DNP-AF3 опосредует эндоцитоз анти-DNP антитела, и что происходящая от антитела флуоресценция локализуется совместно с маркером поздних эндосом LAMP2 в клетках, определяли, деградирует ли эндоцитированное анти-DNP антитело в клетках. Для этого клетки обрабатывали Alexa-568-меченым анти-DNP антителом и DNP-AF3 в течение определенного периода времени, затем лизировали в присутствии ингибиторов протеаз. Были использованы несколько разных способов визуализации и электрофорез в полиакриламидном геле (ПААГ) с разной степенью успеха.

Во-первых, использовали восстанавливающие условия для визуализации деградации антитела методом электрофореза в ПААГ. В этих условиях при анализе супернатанта клеточной культуры наблюдали ярко выраженные полосы с молекулярной

массой 50 и 25 кДа (ФИГ. 111). Без связи с конкретной теорией, было выдвинуто предположение, что эти полосы соответствуют тяжелым и легким цепям анти-DNP антитела, соответственно. Уровни анти-DNP антитела, наблюдаемые в клеточных супернатантах, не менялись с течением времени в присутствии или в отсутствие DNP-AF3. В дополнение к ожидаемым полосам на уровне примерно 25 и 50 кДа, были обнаружены связанные с флуорофором белковые фрагменты с молекулярной массой примерно 75 кДа. Хотя их идентичность не была исследована, эти белковые полосы могут представлять собой агрегированные формы анти-DNP антитела или примесный белок, присутствующий на низком уровне в коммерческих маточных растворах антитела. Кроме того, флуоресцентный сигнал наблюдали очень близко к фронту наносимого на гель красителя. Одна из возможностей заключается в том, что эти полосы представляют собой гидролизованный флуорофор Alexa 488, присутствующий в коммерческом растворе антитела. Ни наличие DNP-AF3, ни время сбора образцов, не изменяли яркость этих полос в сравнении с полосами, присутствующими на уровне 50 и 25 кДа.

Накопление антитела в клеточных лизатах зависело как от времени, так и от присутствия DNP-AF3 (ФИГ. 112). В отсутствие DNP-AF3 небольшое количество анти-DNP антитела было эндоцитировано клетками, это согласуется с данными проточной цитометрии, демонстрирующими, что поглощение анти-DNP антитела на низком уровне имеет место даже в отсутствие DNP-AF3. Это фоновое поглощение анти-DNP антитела может являться следствием неспецифического эндоцитоза анти-DNP антитела или связывания анти-DNP антитела с рецептором на клеточной поверхности (например, FcRN), который опосредует его эндоцитоз и накопление в клетках. В присутствии DNP-AF3 наблюдали сильное поглощение антитела через 2 часа, с увеличением внутриклеточной флуоресценции в каждой следующей временной точке. В дополнение к ожидаемым полосам при 50 и 25 кДа наблюдали сигнал, возникающий из полосы, соответствующей примерно 50 кДа, которую также наблюдали в случае клеточных супернатантов. Помимо этого белкового фрагмента вновь наблюдали сигнал от низкомолекулярного соединения, который перемещался вблизи фронта красителя.

В клеточных лизатах наблюдали два связанных с флуорофором белковых фрагмента, которые отсутствовали в супернатантах клеточной культуры. Первый был обнаружен в лунке геля, который, как предполагается, представляет собой высокомолекулярные агрегаты анти-DNP антитела в клеточных лизатах. Кроме того, наблюдали флуоресцентную полосу, соответствующую молекулярной массе менее 10 кДа, которая была обнаружена в лизатах клеток, обработанных DNP-AF3, после шести часов инкубации. Поскольку эта полоса в значительной степени представлена лишь в клеточных лизатах и лишь в клетках, обработанных DNP-AF3, было выдвинуто предположение, что она соответствует низкомолекулярному белковому фрагменту, образующемуся в результате лизосомного протеолиза анти-DNP антитела.

Помимо наблюдения возрастающих количеств анти-DNP антитела в клеточных лизатах, наблюдали изменение в представленности каждого белкового фрагмента

относительно других белковых фрагментов. В образцах клеточных супернатантов яркость полосы тяжелой цепи была примерно в 3 раза выше, чем у легкой цепи во всех условиях (ФИГ. 113). Однако в лизатах DNP-AF3-обработанных клеток, при том, что через 2 часа яркость полос тяжелых и легких цепей была примерно одинаковой, интенсивность сигнала флуорофора, происходящего от белков с молекулярной массой 25 кДа, увеличивалась с течением времени. Через 24 часа соотношение интенсивностей флуоресценции от 50-кДа фрагментов в сравнении с 25-кДа фрагментами составляло 0,58, в сравнении с 3,15 в случае супернатантов этих клеток. Учитывая эти данные, было выдвинуто предположение, что полоса, соответствующая 50 кДа, подвергается протеолизу с течением времени, с образованием более мелких фрагментов с молекулярной массой 25 кДа каждый. Эти фрагменты перекрываются с 25-кДа легкой цепью и приводят к увеличению флуоресценции полосы на уровне этой молекулярной массы в сравнении с полосой, соответствующей 50 кДа. Кроме того, было выдвинуто предположение, что одна или обе из цепей антитела подвергаются протеолизу, с образованием низкомолекулярной полосы (<10 кДа), наблюдаемой в клеточных лизатах. В лизатах клеток, обработанных только анти-DNP антителом, тяжелая цепь по яркости примерно соответствовала легкой цепи во всех временных точках. Было выдвинуто предположение, что это связано с низким базовым уровнем протеолиза эндоцитированной 50-кДа тяжелой цепи.

Изменение интенсивности отдельных белковых полос наблюдали во многих клеточных лизатах. Интенсивность флуоресценции, связанной с белками, имеющими молекулярную массу 50 кДа, увеличивалась во временных точках вплоть до шести часов, после чего наблюдалось постепенное уменьшение их флуоресценции (ФИГ. 114). Напротив, интенсивность в случае белковых фрагментов с молекулярной массой 25 кДа увеличивалась во всех временных точках. Полоса, соответствующая молекулярной массе менее 10 кДа, становилась заметной выше уровней фона после примерно 12 часов инкубации как с DNP-AF3, так и анти-DNP антителом, и через 24 часа была второй по яркости полосой, присутствующей в клеточном лизате. В совокупности эти данные указывают на то, что анти-DNP антитело эндоцитируется с течением времени, и что флуоресценция от анти-DNP антитела становится связанной с низкомолекулярными фрагментами с течением времени.

Было выдвинуто предположение, что эти наблюдения обусловлены протеолизом эндоцитированного антитела лизосомными протеазами. Например, была выдвинута гипотеза о том, что накопление белковых фрагментов с молекулярной массой 25 кДа обусловлено протеолизом белка тяжелой цепи антитела. Было также выдвинуто предположение, что фрагменты, наблюдаемые на уровне <10 кДа, являются продуктами протеолиза обеих полос, 50 и 25 кДа. Логометрическое представление интенсивности наблюдаемого флуоресцентного сигнала, связанного с белками с молекулярной массой 50 кДа, деленного на сигнал белков с молекулярной массой 25 кДа, приведено на ФИГ. 115.

Накопление флуоресцентно меченых белковых фрагментов на уровне как 25 кДа, так и <10 кДа, было ингибировано при добавлении некоторых ингибиторов протеаз.

Логометрическое сравнение интенсивности полосы при 50 кДа, деленной на интенсивность полосы при 25 кДа, использовали в качестве меры деградации анти-DNP антитела. По мере того, как эндоцитированное анти-DNP антитело деградирует в клетках, это соотношение уменьшается. Анализируя данные таким образом, эндоцитоз анти-DNP антитела не было необходимости контролировать для определения того, являются ли ингибиторы протеаз эффективными. Каждое логометрическое измерение производили с использованием лишь белковых фрагментов, присутствующих в клеточном лизате.

В отсутствие ингибиторов протеаз наблюдали общее уменьшение соотношения сигналов от 50-кДа цепи и 25-кДа цепи, с соотношением, составляющим 1,28, 1,02 и 0,74, наблюдаемым через шесть, 12 и 24 часов, соответственно (ФИГ. 116). Ожидается, что ингибиторы протеаз, ингибирующие деградацию анти-DNP антитела, будут вызывать увеличение интенсивности флуоресценции полосы с 50 кДа и уменьшение интенсивности флуоресценции полосы с 25 кДа. Таким образом, эффективные ингибиторы будут приводить к коэффициентам интенсивности, превышающим соотношения, наблюдаемые для клеток, не обработанных ингибиторами протеаз. Некоторые ингибиторы доказали свою эффективность в уменьшении деградации анти-DNP антитела.

Ингибитор протеаз лейпептин был эффективен в ингибировании деградации анти-DNP антитела при концентрации как 20, так и 80 мкМ. Лейпептин представляет собой альдегид-содержащий трипептид, образующий ковалентные связи с активными боковыми остатками как сериновых, так и цистеиновых, протеаз, и ранее был успешно использован в клетках HepG2 для ингибирования лизосомной деградации белков. E64 представляет собой ковалентный ингибитор цистеиновых протеаз, содержащий транс-эпоксисукцинильную группу, который был эффективно использован в клетках HepG2 для ингибирования деградации белков. В отличие от лейпептина и антипаина, E64 является специфическим для цистеиновых протеаз, таких как папаин, актинидаза, а также катепсины B, H и L. E64 в концентрациях 50 и 10 мкМ был эффективен в уменьшении деградации анти-DNP антитела. Пепстатин представляет собой ингибитор аспарагиновых протеаз, который, как показано ранее, ингибирует деградацию белков в клетках HepG2. Пепстатин не был эффективен в уменьшении деградации антитела в любой временной точке. Через 24 часа концентрация пепстатина 5 мкМ становилась токсичной для клеток. Антипаин представляет собой олигопептид, который ингибирует как цистеиновые, так и сериновые, протеазы путем образования ковалентной связи с нуклеофильными остатками активного центра протеазы. Антипаин был эффективен в ингибировании деградации анти-DNP антитела в концентрации как 50, так и 100 мкМ. Апротинин представляет собой 58-мерный белок, который ингибирует сериновые протеазы, и был успешно использован для ингибирования деградации белков в клетках HepG2. Апротинин не был эффективен в ингибировании деградации анти-DNP антитела в концентрации 400 или 800 нМ. В то время как этот белок, как сообщается, способен проникать в клетки, его белковая природа может означать, что он деградирует под действием других протеаз в лизосоме, или что апротинин локализуется в цитозоле, а не в лизосоме. Бестатин представляет собой

ингибитор аминопротеаз, таких как лейцинаминопептидаза и аминопептидаза N. Эти протеазы отвечают за отщепление одиночных N-концевых аминокислот от белковых цепей. Бестатин не был эффективен в ингибировании деградации анти-DNP антитела ни при одной протестированной концентрации. Поскольку бестатин ингибирует протеазы, которые катализируют удаление только одной аминокислоты с белков, любое ингибирование деградации может быть недостаточно значительным для изменения миграции флуоресцентно меченых белковых фрагментов. Фенилметилсульфонилфторид (PMSF) представляет собой малую молекулу, которая ковалентно ингибирует сериновые протеазы, и он был эффективно использован в клетках HepG2. PMSF не был эффективен в ингибировании деградации анти-DNP антитела в концентрации 100 или 500 мкМ. Сообщалось, что PMSF очень нестабилен в водных растворах и имеет плохую растворимость, поэтому возможно, что этот ингибитор либо был инактивирован в растворе, либо находился в очень низкой концентрации в супернатанте клеточной культуры. 4-(2-аминоэтил)бензолсульфонилфторид гидрохлорид (AEBSF) аналогичен по структуре PMSF, но, как сообщается, является более стабильным при более низких значениях pH. Сульфонилхлоридная группа реагирует с нуклеофилами активного центра протеаз. AEBSF не был эффективен в уменьшении деградации анти-DNP антитела в концентрации 10 мкМ. В концентрации 100 мкМ AEBSF был токсичным для клеток. Ингибитор I кальпаина (Ac-LLnL-CHO, ALLN) ковалентно ингибирует как сериновые, так и цистеиновые, протеазы. ALLN аналогичен лейпептину, но может быть способен лучше проникать в клетки, поскольку он является более гидрофобным. В концентрации 10 мкМ ALLN не был эффективен в ингибировании деградации анти-DNP антитела. Однако в концентрации 100 мкМ ALLN демонстрировал сильное ингибирование во временной точке 12 часов. Через 24 часа, согласно наблюдениям, 100 мкМ ALLN становился токсичным для клеток.

После проведения первичного скрининга на ингибиторы протеаз, которые уменьшают деградацию анти-DNP антитела, для будущих исследований была выбрана одна временная точка (12 часов). Временная точка 24 часа не была выбрана, поскольку в это время в большинстве клеточных лизатов наблюдалось более резкое увеличение содержания низкомолекулярных белковых фрагментов даже в присутствии эффективных ингибиторов протеаз. Возможно, это связано с тем, что ингибиторы протеаз гидролизуются или иным образом инактивируются в растворе. Это наблюдение также может быть связано с продуцированием большего количества протеаз для компенсации ковалентно ингибированных протеаз, присутствующих в клетках.

Затем было изучено, является ли воспроизводимым ингибирование деградации анти-DNP антитела ингибиторами протеаз. Каждую концентрацию ингибитора протеаз тестировали в тройном повторе в клетках HepG2 (ФИГ. 117). Было показано, что лейпептин, E64 и антипаин ингибируют деградацию анти-DNP антитела во всех протестированных концентрациях, в соответствии с результатами скрининга. Ожидаемо, пепстатин, апротинин, бестатин, PMSF и AEBSF существенно не ингибировали

деградацию анти-DNP антитела. ALLN оказался эффективным в ингибировании деградации анти-DNP антитела в концентрации как 100, так и 10 мкМ, в этом анализе, хотя наблюдаемое ингибирование деградации в значительной степени варьировалось между репликами. Видимые различия в клеточной морфологии или адгерентности отсутствовали во временной точке 12 часов при любой концентрации ALLN.

На основании этих данных был проведен еще один повторный эксперимент с использованием лишь 5 условий, который продемонстрировал наиболее сильное ингибирование деградации анти-DNP антитела. Пепстатин в концентрации 15 мкМ был включен в качестве отрицательного контроля. Ожидаемо, 80 мкМ лейпептин, 50 мМ E64, 100 мМ антипаин, а также 10 и 100 мкМ ALLN, ингибировали деградацию анти-DNP антитела в клетках, в отличие от пепстатина (ФИГ. 118). Ингибирование деградации, наблюдаемое в клетках, обработанных 80 мкМ лейпептином, было незначительным (p=0,0504).

Пример 31: Синтез MIF-GN3 (ФИГ. 123A-123B)

Сначала синтезировали заканчивающийся карбоновой кислотой ингибитор MIF 34 (ФИГ. 119A). Реакция 2-хлорхинолин-6-ола и этилбромбутирата в присутствии слабого основания приводила к получению этилового эфира 30, который затем подвергали реакции связывания по Соногашира, с получением TMS-защищенного алкина 31. Снятие защиты привело к получению алкина 32, который затем подвергали реакции клик-химии, с получением триарильного ингибитора MIF 33. Обработка гидроксидом натрия привела к получению карбоновой кислоты 34. Конечная бифункциональная молекула MIF-GN3 (76) была получена путем EDC-опосредованного образования амидной связи с три-GalNAc лигандом ASGPR 74 (ФИГ. 119B). После очистки методом ВЭЖХ соединение 76 было получено с выходом 13%.

Пример 32: Синтез ингибитора MIF 3w (ФИГ. 124)

Ингибитор ферментативной активности MIF синтезировали для использования в качестве соединения отрицательного контроля в экспериментах по истощению белка. Заканчивающийся морфолином ингибитор MIF 3w (105) был синтезирован путем адаптации метода, описанного выше, для синтеза карбоновой кислоты 34. Морфолиногруппа была введена на ранней стадии синтеза путем нуклеофильного замещения концевого хлорида соединения 101 (ФИГ. 120). Соединение 105 было использовано как в анализах ферментного ингибирования, так и в in vitro и in vivo анализах эффективности против заболевания.

Пример 33: Синтез MIF-PEG2-GN3 (ФИГ. 125) и MIF-PEG4-GN3 (ФИГ. 126)

Синтезировали варианты бифункциональной молекулы MIF-GN3 (76) с дополнительными PEG-спейсерами между три-GalNAc-направляющим фрагментом и MIF-связывающим фрагментом. MIF-PEG2-GN3 (ФИГ. 121) и MIF-PEG4-GN3 (ФИГ. 122) синтезировали путем модифицирования ингибитора MIF 34 удлиненными PEG-линкерами перед конъюгацией с молекулой три-GalNAc 75.

Пример 34: Синтез MIF-NVS-PEG3-GN3 (ФИГ. 127)

Бифункциональную молекулу, которая связывает MIF, синтезировали путем включения ингибитора MIF, структурно отличающегося от используемого в бифункциональной молекуле MIF-GN3. Заканчивающийся азидогруппой ингибитор MIF конъюгировали с фрагментом три-GalNAc в реакции опосредуемого медью образования триазола, получая конечное соединение MIF-NVS-PEG3-GN3 (ФИГ. 123).

Пример 35: Синтез MIF-AF1 (ФИГ. 128), MIF-AF2 (ФИГ. 129) и MIF-AF3 (ФИГ. 130)

Синтезировали молекулы, содержащие высокоаффинный лиганд ASGPR 15, для деградации MIF. Кроме того, исследовали влияние валентности сахара на способность этих молекул осуществлять деградацию белка MIF. Путем адаптации ранее описанных методов синтезировали бифункциональные молекулы MIF-AF1 (39, одновалентное экспонирование сахара 15, ФИГ. 124), MIF-AF2 (43, двухвалентное экспонирование, ФИГ. 125) и MIF-AF3 (47, трехвалентное экспонирование, ФИГ. 126).

Пример 36: Описанные ингибиторы ферментативной активности MIF являются активными в отношении мышиного MIF

Хотя описаны многочисленные ингибиторы ферментативной активности MIF, эти малые молекулы были проанализированы лишь в отношении белка MIF человека. Таким образом, было изучено, являются ли описанные ингибиторы MIF также эффективными в ингибировании таутомеразной реакции, осуществляемой мышиным MIF. Была выдвинута гипотеза, что ингибиторы, которые, как установлено, ингибируют как человеческий, так и мышиный, MIF, могут быть преобразованы в бифункциональные молекулы, способные к деградации белка MIF обоих биологических видов. Первичная последовательность MIF является высоко консервативной среди грызунов и млекопитающих, с более чем 90% консервативностью последовательности среди биологических видов.

Для определения того, связывают ли описанные ингибиторы мышиный MIF, проводили анализы ферментативной активности для определения влияния этих малых молекул на ферментативную активность мышиного MIF. Как MIF человека, так и MIF мыши, как установлено, опосредуют таутомеризацию D-допахрома. Для всех проанализированных коммерческих препаратов мышиный MIF осуществлял реакцию таутомеризации медленнее, чем MIF человека, присутствуя в такой же концентрации. В используемых условиях анализа белок MIF человека осуществлял полную таутомеризацию своего субстрата менее чем за десять минут. Напротив, в анализах с мышиным MIF для завершения каждой реакции требовалось вплоть до 20 минут. Относительные скорости катализа для человеческого и мышиного MIF не были исследованы. Одной из возможных причин снижения ферментативной скорости, наблюдаемой для мышиного MIF, может быть неэффективный посттрансляционный процессинг белка. Посттрансляционное отщепление N-концевого остатка метионина как от MIF человека, так и от MIF мыши, является необходимым для ферментативной активности белка; в рекомбинантных препаратах эта модификация часто не производится. Если мышиный белок MIF не был посттрансляционно модифицирован в той же степени,

что и белок MIF человека, ожидается, что гораздо меньшая часть белка будет ферментативно активна. Это согласуется с наблюдаемым снижением скорости таутомеризации. Несколько ингибиторов MIF были проанализированы на их способность ингибировать таутомеразную активность мышиного MIF (ФИГ. 127).

Пример 37: Бифункциональные молекулы опосредуют эндоцитоз MIF человека

Оценки уровней циркулирующего MIF у человека варьируются в широких пределах - от менее 1 нг/мл (80 пМ) у здоровых пациентов до 300 нг/мл (24 нМ) при некоторых болезненных состояниях. Уровень циркулирующего MIF у мышей колеблется в пределах 60-140 нг/мл.

Исследовали способность бифункциональных MIF-связывающих молекул опосредовать истощение MIF человека в клеточной культуре. В этих анализах MIF человека присутствовал в концентрации 100 нМ, и использовали сэндвич-анализ ELISA для определения концентрации MIF человека, остающегося в супернатанте клеточной культуры. Использовали близкородственные бифункциональные молекулы MIF-GN3, MIF-PEG2-GN3 и MIF-PEG4-GN3, а также структурно отличающуюся молекулу MIF-NVS-PEG3-GN3. После инкубации в течение 24 часов все протестированные бифункциональные молекулы эффективно опосредовали истощение MIF человека в супернатанте клеточной культуры (ФИГ. 128A). Установлено, что наиболее эффективными концентрациями для каждой бифункциональной молекулы являются 400 и 2000 нМ. Исходя из простоты его синтеза и его эффективности в данном эксперименте, MIF-GN3 был выбран для использования в дальнейших экспериментах. Далее исследовали, опосредует ли ингибитор MIF 3w истощение MIF в супернатанте клеточной культуры. Не ожидается, что 3w будет опосредовать деградацию целевого белка, поскольку он не связывает ASGPR для опосредования эндоцитоза и деградации MIF. При обработке клеток 3w никакого истощения экзогенного белка MIF не наблюдали через 24 часа (ФИГ. 128B). Напротив, бифункциональная молекула MIF-PEG2-GN3, которая имеет такой же MIF-связывающий фрагмент, как и 3w, опосредует истощение MIF в широком диапазоне концентраций. На основании этих данных был сделан вывод, что для опосредованного истощения MIF в супернатанте молекула должна связывать и MIF, и ASGPR.

Бифункциональные молекулы, содержащие оптимизированные ASGPR-связывающие фрагменты, также способны опосредовать истощение MIF в супернатанте клеточной культуры (ФИГ. 129). MIF-связывающая молекула MIF-AF1, которая содержит только один ASGPR-связывающий сахар, не была способна эффективно опосредовать истощение MIF в супернатанте при любой протестированной концентрации. Существует гипотеза, что это связано с низкой предсказанной аффинностью соединения для ASGPR (мкМ диапазон). Вследствие экспонирования только одного сахарного остатка аффинность этой молекулы для ASGPR не усиливается за счет эффектов авидности. Напротив, двухвалентная ASGPR-связывающая молекула MIF-AF2 эффективно истощала

MIF в супернатанте клеточной культуры в концентрации 40 нМ, 200 нМ и 1 мкМ. В концентрации либо 200 нМ, либо 1 мкМ, MIF-AF2 опосредовала почти 100% истощение MIF в супернатанте клеточной культуры через 48 часов. Аналогичные результаты были получены при использовании трехвалентной ASGPR-связывающей молекулы MIF-AF3. В отличие от этих молекул, в которых использованы оптимизированные синтетические лиганды ASGPR, молекула MIF-GN3 на основе GalNAc опосредовала лишь 67,0% и 56,0% удаление MIF из супернатанта через 48 часов в концентрации 1 мкМ и 200 нМ, соответственно. На основании этих данных был сделан вывод о том, что бифункциональные молекулы, в которых использованы оптимизированные ASGPR-связывающие сахара, могут быть более эффективными в качестве посредников истощения целевого белка в супернатанте. Помимо его наблюдаемой эффективности соединение MIF-AF3 демонстрирует наличие каталитической активности в предварительных анализах. В концентрации 40 нМ (4,0 пмоль молекулы), MIF-AF3 опосредует удаление 83,2% MIF, присутствующего в супернатанте клеточной культуры, или 8,32 пмолей белка MIF человека. Таким образом, был сделан вывод, что в условиях данного эксперимента MIF-AF3 опосредует истощение 2,08 молярных эквивалентов белка MIF.

После демонстрации того, что MIF-связывающие бифункциональные молекулы могут опосредовать истощение MIF в супернатанте клеточной культуры, определяли, накапливается ли эндоцитированный белок MIF в клетках. Белок MIF человека флуоресцентно метили NHS эфиром Alexa 488, затем инкубировали с клетками HepG2 в присутствии MIF-GN3 в разных концентрациях. Увеличение внутриклеточной флуоресценции наблюдали при увеличении концентраций MIF-GN3, с максимальной флуоресценцией, наблюдаемой при максимальной концентрации, исследованной авторами изобретения (1,0 мкМ) (ФИГ. 130). В отличие от DNP-GN3, эффект прозоны не наблюдали при MIF-GN3-опосредованном поглощении белка MIF при более высоких концентрациях.

Оценивали способность MIF-GN3 опосредовать эндоцитоз MIF в широком диапазоне концентраций целевого белка. При концентрации 100 нМ белка MIF было обнаружено, что MIF-GN3 в нескольких разных концентрациях опосредует устойчивое поглощение MIF-связанного флуорофора (ФИГ. 131). Небольшое уменьшение поглощения MIF имело место, когда MIF-GN3 присутствовал в концентрации 5,00 мкМ, в сравнении с более низкими концентрациями. Это уменьшение эндоцитоза при высоких концентрациях согласуется с эффектом «сползания», наблюдаемым при образовании тройного комплекса. Эффективное поглощение белка MIF также наблюдали при концентрации 10 нМ: установлено, что клетки, обработанные 200 нМ MIF-GN3, накапливают в 4 раза больше флуоресценции, чем клетки, не обработанные бифункциональной молекулой. Кроме того, при концентрации 1 нМ проявлялась способность MIF-GN3 в некоторых концентрациях опосредовать небольшое увеличение средней интенсивности флуоресценции клеточной популяции. На основании этих данных был сделан вывод, что MIF-GN3 опосредует эндоцитоз белка MIF в широком диапазоне

концентраций целевого белка.

Затем ингибиторы различных путей эндоцитоза использовали для определения того, опосредует ли MIF-GN3 эндоцитоз MIF согласующимся с ASGPR образом (ФИГ. 132). Когда клетки инкубировали с метаболическими ядами азидом натрия и 2-дезоксиглюкозой, средняя интенсивность флуоресценции клеточной популяции значительно уменьшалась (p=0,0001). Это указывает на то, что MIF-GN3 опосредует эндоцитоз белка MIF по механизму, который зависит от АТФ и клеточного метаболизма. Ингибитор фагоцитоза и макропиноцитоза амилорид существенно не влиял на флуоресценцию. Напротив, близкородственная молекула EIPA значительно ингибировала поглощение (p=0,0199, *). Третий ингибитор этих путей, цитохализин D, был токсичен для клеток в этих условиях и был исключен из анализа. Ингибиторы кавеолин-зависимого эндоцитоза нистатин и индометацин не приводили к снижению уровней внутриклеточной флуоресценции. Третий ингибитор кавеолин-опосредуемого эндоцитоза, генистеин, был токсичен для клеток при тестируемой концентрации. Эти токсические эффекты не наблюдались в аналогичных экспериментах, в которых использовали анти-DNP антитело в качестве целевого белка. Одно из объяснений такой повышенной токсичности заключается в том, что клетки HepG2 могут иметь белок клеточной поверхности, который связывает MIF и сенсибилизирует их к различным ингибиторам при стимуляции MIF. В присутствии ингибиторов клатрин-опосредуемого эндоцитоза хлорида аммония, монензина, хлорохина, сахарозы и бафиломицина наблюдали почти фоновые уровни внутриклеточной флуоресценции (все условия p=0,0001, ****).

Пример 38: Эндоцитированный белок MIF перемещается в поздние эндосомы

Для исследования субклеточной локализации эндоцитированного белка MIF проводили исследования на клетках HepG2 по совместной локализации. Через 12 часов после опосредованного MIF-GN эндоцитоза несколько точек, демонстрирующих обусловленную MIF флуоресценцию, присутствовали в каждой клетке. Расположение этих точек не совпадало с расположением антитела, которое обнаруживает белок EEA1, присутствующий только в ранних эндосомах (ФИГ. 133). Напротив, исследования показали практически полную совместную локализацию белка MIF с белком LAMP2, который присутствует в поздних эндосомах и лизосомах. На основании этих данных был сделан вывод о том, что эндоцитированное MIF перемещается в лизосомы, где может вступать в контакт с лизосомными протеазами.

Пример 39: MIF-GN3 опосредует истощение белка MIF человека в сыворотке мышей

Изучали способность MIF-GN3 опосредовать истощение введенного инъекцией MIF человека в сыворотке мышей. Сначала исследовали фармакокинетику бифункциональной молекулы. После дозы один мг/кг MIF-GN3, введенной самцам «голых» мышей, наблюдали время полувыведения из сыворотки, составляющее 0,43 часа, с максимальной концентрацией в плазме, составляющей 586,87 нг/мл, через 15 минут.

Проводили in vivo эксперименты по истощению MIF человека для определения

того, способен ли MIF-GN3 опосредовать истощение введенного инъекцией рекомбинантного MIF человека в сыворотке мышей. Мышам вводили инъекцией пять мкг белка MIF человека. В этом эксперименте одной группе мышей также вводили инъекцией одну 10 мг/кг дозу MIF-GN3 наряду с белком MIF человека. Было замечено, что через четыре часа средний уровень MIF человека в сыворотке получавших PBS мышей составлял 1,76 нг/мл (ФИГ. 134). Однако у мышей, получавших 10 мг/кг MIF-GN3, концентрация MIF человека в сыворотке составляла 0,68 нг/мл. Через день после первой инъекции уровни MIF человека достигали фоновых уровней в любых условиях. Было установлено, что разница между сывороточными уровнями MIF в этих двух группах мышей была несущественной. Была выдвинута гипотеза, что из-за короткого периода полувыведения MIF человека в сыворотке исследование уровней MIF человека в более ранние периоды времени может быть более информативным.

Затем проводили эксперимент для определения того, может ли MIF-GN3 усиливать клиренс MIF во временных точках ранее четырех часов. Мышам совместно вводили инъекцией рекомбинантный MIF человека и 10 мг/кг MIF-GN3 либо в/б, либо в/в, путем. Для групп с введением контрольного PBS MIF человека вводили инъекцией с PBS. Было замечено, что в отсутствие MIF-GN3 наблюдался всплеск уровня huMIF в системе циркуляции через 30 минут (ФИГ. 135). Однако в присутствии MIF-GN3 уровни белка MIF оставались низкими через 30 минут, и не наблюдался всплеск его концентрации. Через два часа уровни MIF человека в системе циркуляции снижались до фоновых уровней. Через 30 минут введение MIF-GN3 как в/б ($p=0,0212$, *), так и в/в ($p=0,0455$, *), приводило к значительному истощению белка MIF человека в сыворотке. В последующем эксперименте определяли, может ли ингибитор белка MIF (3w) опосредовать истощение белка в сыворотке. Бифункциональную молекулу, которая опосредует истощение анти-DNP антитела в сыворотке, также анализировали в качестве отрицательного контроля. Ожидалось, что ни одна из этих молекул не будет опосредовать образование тройного комплекса между белком MIF человека и ASGPR. Когда MIF человека вводили инъекцией совместно с 3w или DNP-GN3, не наблюдали существенного уменьшения в сыворотке концентрации MIF человека в сравнении с введением контроля PBS (ФИГ. 136). Напротив, введение дозы один мг/кг MIF-GN3 приводило к значительному уменьшению уровней MIF человека в сыворотке во временных точках как 40 ($p=0,0001$, ****), так и 60 ($p=0,0002$, ***) минут. Введение дозы десять мг/кг MIF-GN3 также приводило к значительному уменьшению концентрации MIF человека в сыворотке (40 минут, $p=0,0001$, ****; 60 минут, $p=0,0005$, ***).

Для подтверждения того, что мыши, инъецированные дозами один или десять мг/кг MIF-GN3, получили инъекцию, и что наблюдаемая стабильность концентраций MIF у получавших MIF-GN3 мышей не была результатом ошибки введения, в данном эксперименте 200 мкг анти-DNP антитела вводили инъекцией совместно с белком MIF. Уровни анти-DNP антитела существенно не изменялись при введении любых бифункциональных молекул (во всех случаях и временных точках, $p>0,0702$). Таким

образом, бифункциональная молекула MIF-GN3 опосредует истощение целевого белка MIF в отличие от контрольных молекул 3w и DNP-GN3. Затем проводили исследование способности MIF-GN3 опосредовать истощение эндогенного мышиного MIF in vivo. Мышам вводили либо PBS, либо 10 мг/кг MIF-GN3. Не наблюдали значительного снижения концентраций MIF у мышей, которым вводили MIF-GN3 (ФИГ. 137). Одно из возможных объяснений этого результата заключается в том, что белок MIF может быть быстро синтезирован, и любое увеличение деградации, опосредуемой MIF-GN3, может быть недостаточно значительным для оказания влияния на уровень белка в сыворотке крови.

Пример 40: MIF-GN3 может замедлять рост клеток PC3 опухоли предстательной железы человека in vivo

Исследовали способность MIF-GN3 опосредовать истощение MIF в терапевтически релевантной модели заболевания. Показано, что клетки линии PC3 рака предстательной железы человека растут более быстро в присутствии гомологов MIF человека, а также размножаются в меньшей степени в условиях с истощенным MIF. Проводили эксперимент для определения того, может ли бифункциональная молекула MIF-GN3 истощать MIF человека в сыворотке в достаточной степени для замедления роста опухоли PC3. Мышам вводили инъекцией аликвоту клеток PC3, и размер развивающихся опухолей, а также уровни MIF человека в сыворотке, контролировали в течение пяти недель. Размер опухоли, возникающей в результате введения PC3, постепенно увеличивался в течение эксперимента. Через пять недель после первоначального введения клеток PC3 у первой мыши опухоль достигла максимального размера (1000 $мм^2$), и животное было умерщвлено (ФИГ. 138). Введение PBS, DNP-GN3, ингибитора MIF 3w и 10 мг/кг MIF-GN3 не приводило к уменьшению роста опухоли у мышей. Однако введение мышам MIF-GN3 в дозе 1 мг/кг приводило к задержке роста опухоли. Задержку роста опухоли также наблюдали у мышей, получавших анти-MIF антитело, которое, как ожидалось, нейтрализовало сигнал цитокинов для пролиферации. Помимо наблюдаемой задержки роста опухоли у мышей, получавших 1 мг/кг MIF-GN3 и анти-MIF антитело, в сыворотке у этих мышей также наблюдалось снижение уровней белка MIF человека (ФИГ. 139). Снижение уровней MIF человека, опосредуемое MIF-GN3, согласуется с механизмом действия, при котором MIF-GN3 опосредует истощение и деградацию циркулирующего белка MIF. Хотя не обязательно ожидается, что анти-MIF антитело будет снижать уровень MIF человека, возможно, что антитело опосредует нейтрализацию MIF таким образом, что маскирует его сигнал, определяемый в анализе ELISA. Альтернативно, анти-MIF антитело может опосредовать истощение или деградацию huMIF посредством какого-либо механизма эндоцитоза. Другое возможное объяснение заключается в том, что анти-MIF антитело снижает сывороточные уровни активного MIF человека в такой степени в ранние сроки, что клетки PC3 размножаются гораздо медленнее и, таким образом, меньшее количество клеток активно секретируют MIF человека. Мышей умерщвляли, когда объем их опухолей достигал 1000 $мм^3$. У мышей, получавших 1 мг/кг MIF-GN3, наблюдалась

80% выживаемость через восемь недель после первоначального введения клеток PC3, в сравнении с 60% выживаемость в группе животных, получавших анти-MIF антитело (ФИГ. 140). В этот же момент времени в любой другой группе были живы менее 25% мышей. На основании этих данных был сделан вывод, что MIF-GN3 в дозе 1 мг/кг может опосредовать истощение huMIF в сыворотке мышей, и что истощение huMIF замедляет рост опухолевых клеток PC3 in vivo.

Пример 41: Синтез бифункциональной молекулы FcIII-GN3 (ФИГ. 141)

Бифункциональную молекулу FcIII-BCH-GN3 синтезировали практически таким же образом, как и FcIII-GN3 (ФИГ. 78). Проводили твердофазный пептидный синтез для получения заканчивающегося азидом пептида FcIII 145. Отдельно получали бициклонониновый (BCN) заканчивающийся алкином фрагмент три-GalNAc путем проведения реакции амина 75 с коммерчески доступной молекулой NHS BCN. Неочищенный продукт использовали без очистки. Путем совместного смешивания соединения 145 и 146 в диметилформамиде получали конечное соединение FcIII-BCH-GN3 (147).

Пример 42: FcIII-GN3 опосредует эндоцитоз и перемещение в лизосомы IgG человека

Исследовали способность бифункциональной молекулы FcIII-GN3 опосредовать поглощение IgG клетками HepG2. Клетки инкубировали с меченым Alexa 488 IgG человека и обрабатывали FcIII-GN3 в различных концентрациях. Изучали две формы FcIII-GN3: как восстановленную линейную форму, так и окисленную циклизированную форму. Ранее сообщалось, что восстановленная форма FcIII не связывает в значительной степени IgG человека (R. L. Dias et al., Journal of the American Chemical Society, 2006, 128:2726-2732). Было замечено, что эндоцитоз антитела зависел от концентрации FcIII-GN3, с максимальным поглощением IgG, наблюдаемым при концентрации 200 нМ (ФИГ. 142). Кроме того, наблюдали эффект «сползания», согласующийся с образованием тройного комплекса. Также было обнаружено, что восстановленная форма FcIII-GN3 индуцирует эндоцитоз IgG человека, хотя и в меньшей степени, чем циклизированная форма. Одно из возможных объяснений этого наблюдения заключается в том, что на протяжении данного эксперимента (шесть часов) происходит окисление дисульфида в культуре клеток за счет окисления на воздухе. Таким образом, небольшое количество линейного FcIII-GN3 может окисляться до циклизированной формы. Это восстановленное соединение может быть соединением, которое опосредует эндоцитоз IgG человека в этих условиях. В связи с возможными изменениями в процессе синтеза при получении FcIII-GN3 также исследовали биологическую активность FcIII-BCH-GN3, который отличается от FcIII-GN3 только по структуре связывающей триазольной группы. FcIII-BCH-GN3 доказал свою эффективность в качестве посредника эндоцитоза IgG в диапазоне концентраций и периодов времени (ФИГ. 143). Концентрация 1 мкМ FcIII-BCH-GN3 была наиболее эффективной концентрацией, за которой следовали концентрации 5 мкМ и 200 нМ. Эти тенденции дозирования согласуются с зависимым от концентрации эффектом

«сползания», наблюдаемым в системах, в которых образуется тройной комплекс. Исходя из этих in vitro данных, FcIII-GN3 или FcIII-BCH-GN3 подходят для дальнейшего исследования.

Для изучения субклеточной локализации эндоцитированного IgG человека проводили исследования совместной локализации с использованием флуоресценции. Клетки инкубировали с флуоресцентно меченым IgG человека и FcIII-GN3. В отсутствие IgG человека фоновая флуоресценция, возникающая в канале Alexa 568, отсутствовала (ФИГ. 144). В отсутствие FcIII-GN3, но в присутствии флуоресцентно меченого IgG человека, в клетках наблюдали несколько флуоресцентных точек, возможно, вследствие неспецифического поглощения антитела. Одно из возможных объяснений этого наблюдения заключается в том, что при протестированной концентрации IgG человека (100 нМ) FcRN на поверхности клеток HepG2 может опосредовать на низком уровне эндоцитоз IgG человека (R. J. Ober et al., International immunology, 2001, 13:1551-1559). В клетках, обработанных как IgG человека, так и FcIII-GN3, наблюдали увеличение количества флуоресцентных точек вследствие эндоцитоза IgG. Проводили эксперименты по совместной локализации для определения того, перемещается ли эндоцитированное IgG в ранние или поздние эндосомы. Совпадение с белком EEA1, который является маркером ранних эндосом, отсутствовало (ФИГ. 145). В отличие от этого, значительную совместную локализацию наблюдали с белком поздних эндосом и лизосом LAMP2. На основании этих данных был сделан вывод, что FcIII-GN3 опосредует перемещение в лизосомы эндоцитированного IgG.

Пример 43: TNF-связывающий фрагмент и синтез фрагмента -$[CON]_h$-$[линкер]_i$-$[CON]_{h'}$-$[CRBM]_{j'}$ (ФИГ. 146A-146B)

Синтез TNF-связывающего фрагмента (ФИГ. 146A): проводили реакцию неочищенных пептидов (1 мМ) в 1 мл 70% (по объему) 20 мМ NH_4HCO_3, pH 8, и 30% (по объему) ACN с TBMB (1,2 мМ) в течение 1 ч при комнатной температуре. Продукт реакции очищали методом обращенно-фазовой ВЭЖХ с использованием колонки C18 и градиентного элюирования с подвижной фазой, состоящей из ACN и 0,1% (по объему) водного раствора трифторуксусной кислоты (TFA), со скоростью потока 2 мл $мин^{-1}$. Очищенные пептиды лиофилизировали и растворяли в DMSO или буфере, содержащем 50 мМ Tris-Cl, pH 7,8, 150 мМ NaCl, для измерений. Величина K_d димера TNFα, согласно сообщениям, составляет 5,2 нМ (Luzi, S. et al., Protein Engineering, Design & Selection, 2015, 28:45-52). На ФИГ. 147A-147B представлены характеристики TNF-связывающего фрагмента.

На ФИГ. 146B показан синтез фрагмента -$[CON]_h$-$[линкер]_i$-$[CON]_{h'}$-$[CRBM]_{j'}$ формулы (II). Этот фрагмент может быть связан с TNF-связывающим фрагментом посредством реакции алкина во фрагменте -$[CON]_h$-$[линкер]_i$-$[CON]_{h'}$-$[CRBM]_{j'}$ с индольным кольцом на TNF-связывающем фрагменте.

Перечисление вариантов осуществления:

Далее перечислены варианты осуществления, нумерация которых не должна

рассматриваться как отражающая степень важности.

Вариант осуществления 1 относится к соединению формулы (I) или его соли, геометрическому изомеру, стереоизомеру или сольвату:

$[\text{белок-связывающий фрагмент}]_{k'}$-$[CON]_h$-$[\text{линкер}]_i$-$[CON]_{h'}$-$[CRBM]_{j'}$ (I),

где: белок-связывающий фрагмент представляет собой молекулу, которая связывает внеклеточный белок;

CRBM представляет собой клеточный рецептор-связывающий фрагмент, который связывает по меньшей мере один рецептор на поверхности отвечающей за деградацию клетки у субъекта, где связывание (I) приводит к эндоцитозу и деградации внеклеточного белка; каждый CON независимо представляет собой связь или группу, которая ковалентно связывает белок-связывающий фрагмент с CRBM, белок-связывающий фрагмент с линкером и/или линкер с CRBM; линкер представляет собой группу с валентностью в диапазоне от 1 до 15; k' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15; h представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15; i представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15; h' представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15; j представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15.

Вариант осуществления 2 относится к соединению формулы (II) или его соли, геометрическому изомеру, стереоизомеру или сольвату:

$[\text{TNF-связывающий фрагмент}]_{k'}$-$[CON]_h$-$[\text{линкер}]_i$-$[CON]_{h'}$-$[CRBM]_{j'}$ (II),

где: TNF-связывающий фрагмент представляет собой молекулу, которая связывает TNF; CRBM представляет собой клеточный рецептор-связывающий фрагмент, который связывает по меньшей мере один рецептор на поверхности отвечающей за деградацию клетки у субъекта, где связывание (II) приводит к эндоцитозу и деградации TNF; каждый CON независимо представляет собой связь или группу, которая ковалентно связывает TNF-связывающий фрагмент с CRBM, TNF-связывающий фрагмент с линкером и/или линкер с CRBM; линкер представляет собой группу с валентностью в диапазоне от 1 до 15; k' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15; h представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15; i представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15; h' представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15; j представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15.

Вариант осуществления 3 относится к соединению формулы (III) или его соли, геометрическому изомеру, стереоизомеру или сольвату:

$[AATM]_{k'}$-$[CON]_h$-$[\text{линкер}]_i$-$[CON]_{h'}$-$[CRBM]_{j'}$ (III),

где: AATM представляет собой молекулу, которая связывает аутоантитело; CRBM представляет собой клеточный рецептор-связывающий фрагмент, который связывает по меньшей мере один рецептор на поверхности отвечающей за деградацию клетки у субъекта, где связывание (III) приводит к эндоцитозу и деградации аутоантитела; каждый CON независимо представляет собой связь или группу, которая ковалентно связывает AATM с CRBM, AATM с линкером и/или линкер с CRBM; линкер представляет собой группу с валентностью в диапазоне от 1 до 15; k' представляет собой целое число в

диапазоне от 1 до 15; h представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15; i представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15; h' представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15; j представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15.

Вариант осуществления 4 относится к соединению по любому из вариантов осуществления 1-3, где валентность линкера равна 1, 2 или 3.

Вариант осуществления 5 относится к соединению по любому из вариантов осуществления 1-4, где k' равен 1, 2 или 3.

Вариант осуществления 6 относится к соединению по любому из вариантов осуществления 1-5, где j равен 1, 2 или 3.

Вариант осуществления 7 относится к соединению по любому из вариантов осуществления 1-6, где h равен 1, 2 или 3.

Вариант осуществления 8 относится к соединению по любому из вариантов осуществления 1-7, где h' равен 1, 2 или 3.

Вариант осуществления 9 относится к соединению по любому из вариантов осуществления 1-8, где i равен 1, 2 или 3.

Вариант осуществления 10 относится к соединению по любому из вариантов осуществления 1-9, где по меньшей мере один из h, h' и i равен по меньшей мере 1.

Вариант осуществления 11 относится к соединению по любому из вариантов осуществления 1-10, где каждый из k', j', h, h' и i независимо равен 1, 2 или 3.

Вариант осуществления 12 относится к соединению по любому из вариантов осуществления 1-11, где k' равен 1, и j' равен 1, 2 или 3.

Вариант осуществления 13 относится к соединению по любому из вариантов осуществления 1 или 4-12, которое представляет собой: [белок-связывающий фрагмент]-$[CON]_{0-1}$-[линкер]-$[CON]_{0-1}$-[CRBM] (Ia).

Вариант осуществления 14 относится к соединению по любому из вариантов осуществления 2 или 4-12, которое представляет собой: [TNF-связывающий фрагмент]-$[CON]_{0-1}$-[линкер]-$[CON]_{0-1}$-[CRBM] (IIa).

Вариант осуществления 15 относится к соединению по любому из вариантов осуществления 3-12, которое представляет собой: [AATM]-$[CON]_{0-1}$-[линкер]-$[CON]_{0-1}$-[CRBM] (IIIa).

Вариант осуществления 16 относится к соединению по любому из вариантов осуществления 1-15, где отвечающая за деградацию клетка представляет собой гепатоцит.

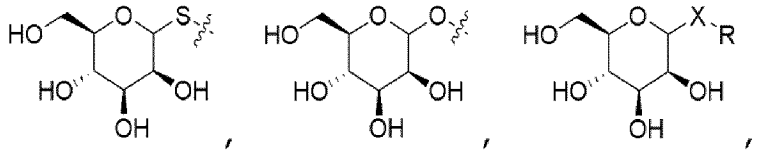
Вариант осуществления 17 относится к соединению по любому из вариантов осуществления 1-16, где CRBM представляет собой рецептор фолиевой кислоты (фолата)-связывающий фрагмент, маннозный рецептор-связывающий фрагмент, манноза-6-фосфатный (M6P) рецептор-связывающий фрагмент, родственный рецептору липопротеина низкой плотности рецептор-белок 1 (LRP1)-связывающий фрагмент, рецептор липопротеина низкой плотности (LDLR)-связывающий фрагмент, FcγRI рецептор-связывающий фрагмент, трансферриновый рецептор-связывающий фрагмент, фагоцитарный рецептор макрофагов-связывающий фрагмент, связанный с G-белками

рецептор-связывающий фрагмент или асиалогликопротеиновый рецептор (ASGPR)-связывающий фрагмент.

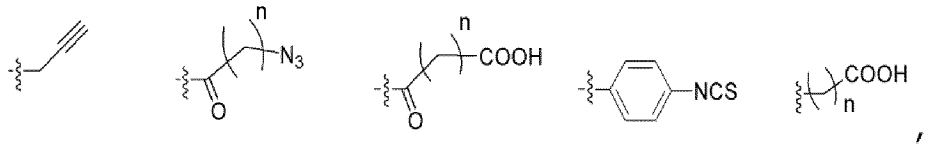
Вариант осуществления 18 относится к соединению по любому из вариантов осуществления 1-17, где CRBM представляет собой:

(a) рецептор фолиевой кислоты (фолата)-связывающий фрагмент, представляющий собой по меньшей мере одно из фолиевой кислоты, метотрексата, пеметрекседа или их биологически активных фрагментов;

(b) маннозный рецептор-связывающий фрагмент, представляющий собой по меньшей мере одно из:

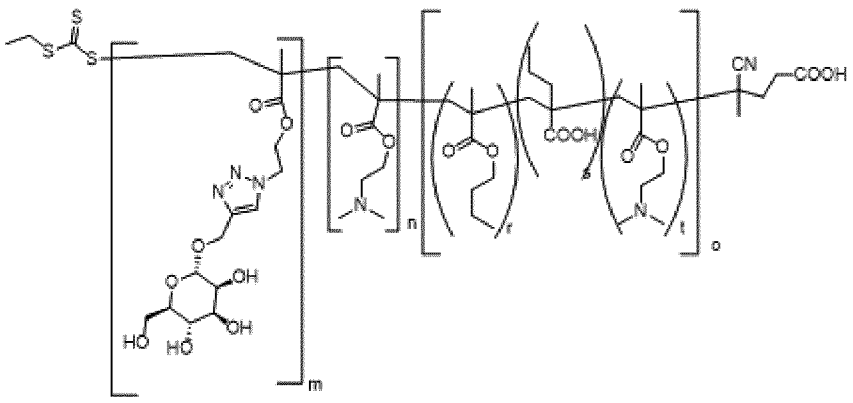


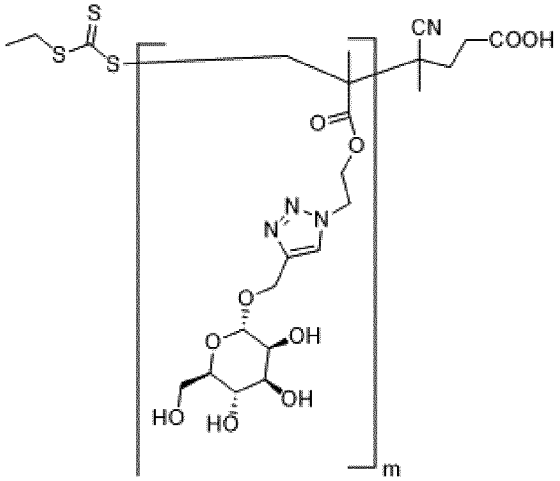
где: X представляет собой S или O, R выбран из группы, состоящей из:



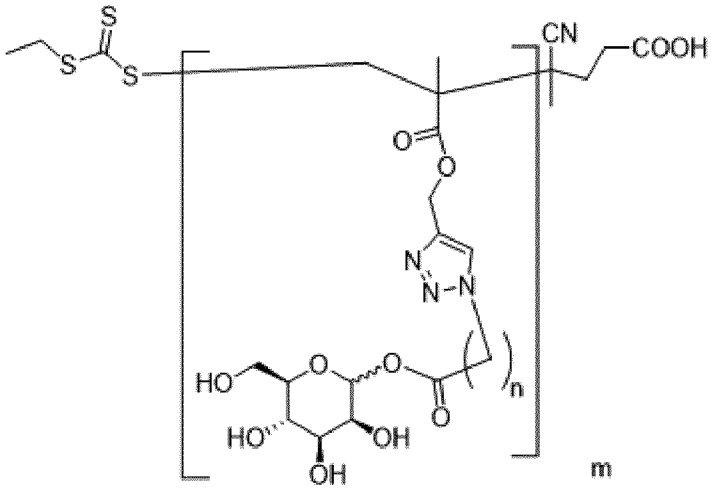
и в каждом случае «n» независимо равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20; и

полимерной молекулы, выбранной из группы, состоящей из:

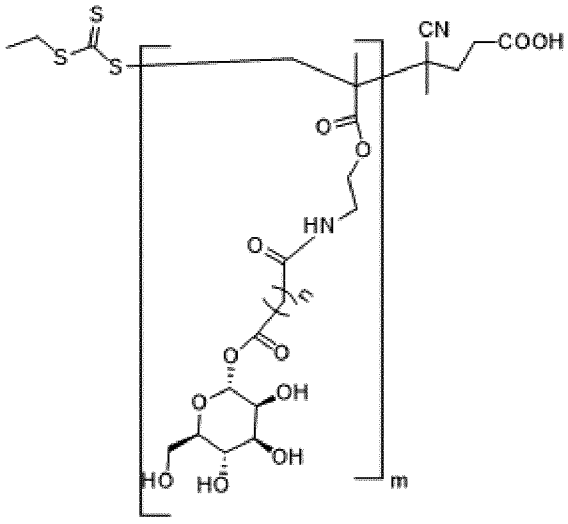




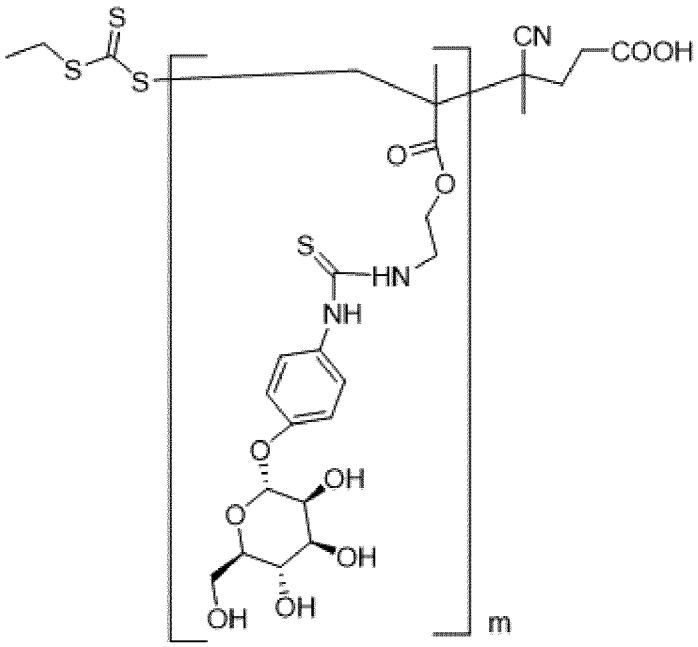
,



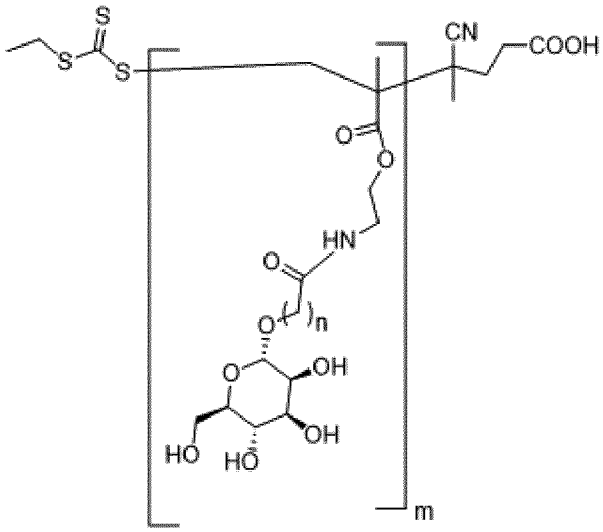
,



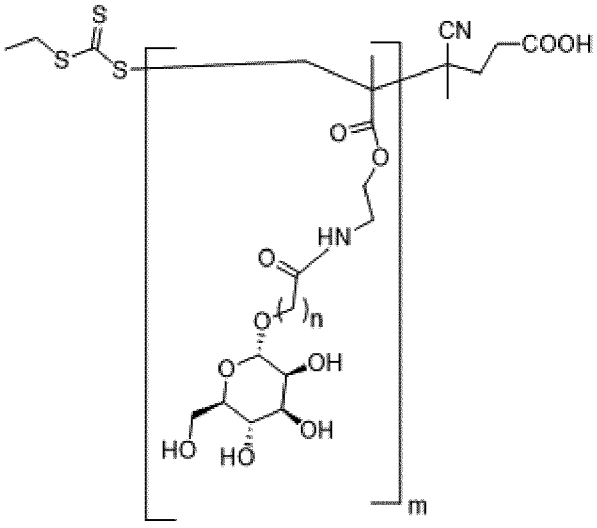
,



,



и

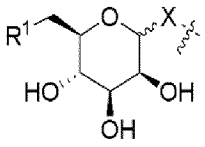
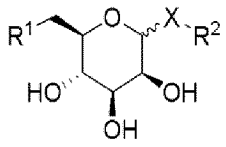


, где

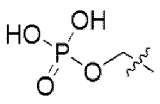
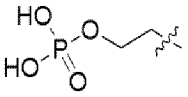
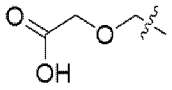
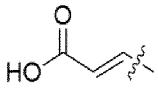
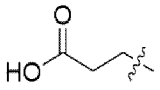
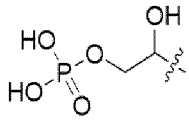
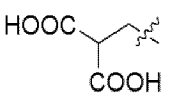
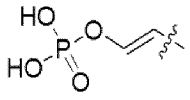
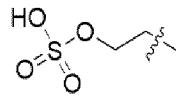
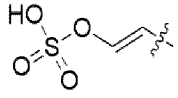
m представляет собой целое число от 1 до 100,

каждый из r, s, t и o независимо представляет собой целое число от 0 до 100, и группа COOH в полимерной молекуле дериватизирована белок-связывающим фрагментом, TNF-связывающим фрагментом или AATM;

(c) манноза-6-фосфатный (M6P) рецептор-связывающий фрагмент, представляющий собой по меньшей мере одно из:

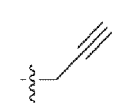
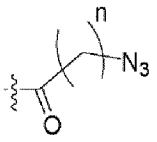
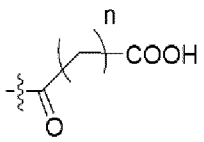
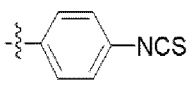
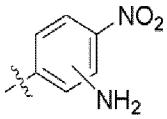
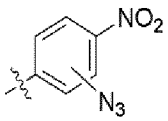
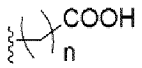



где X представляет собой O или S, R^1 выбран из группы, состоящей из:

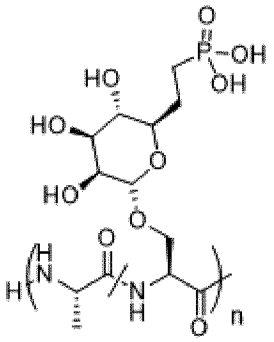
,

R^2 выбран из группы, состоящей из:

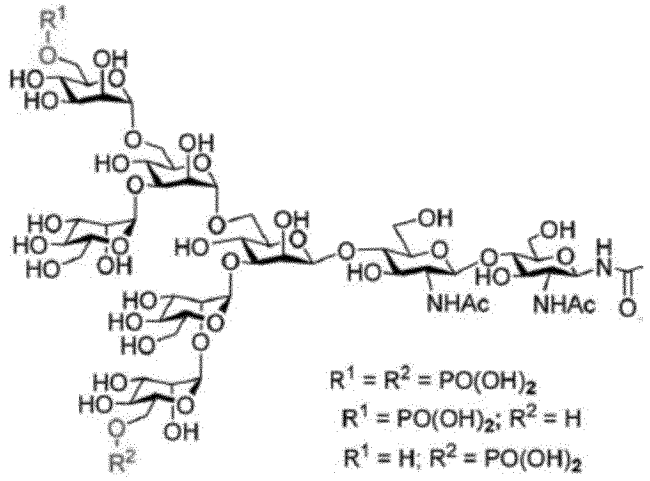
,

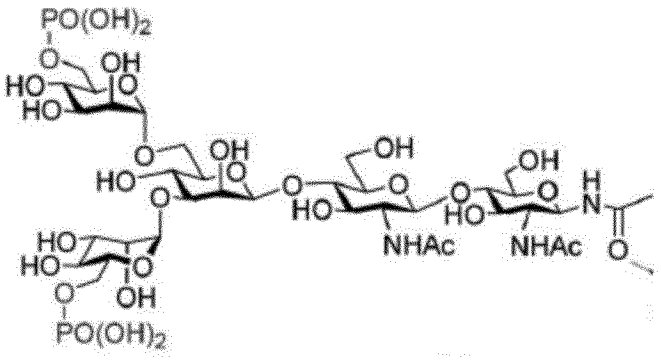
и в каждом случае «n» независимо равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20;



полимерной молекулы , где n представляет собой целое число от 1 до 100;

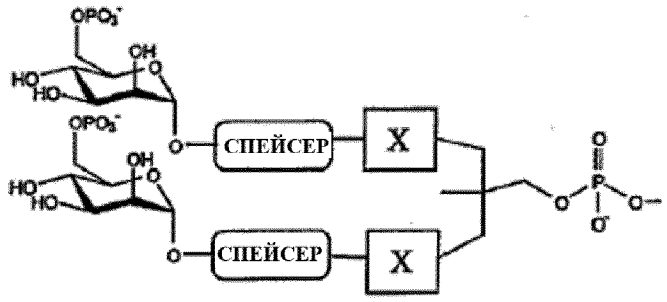
соединения, выбранного из:



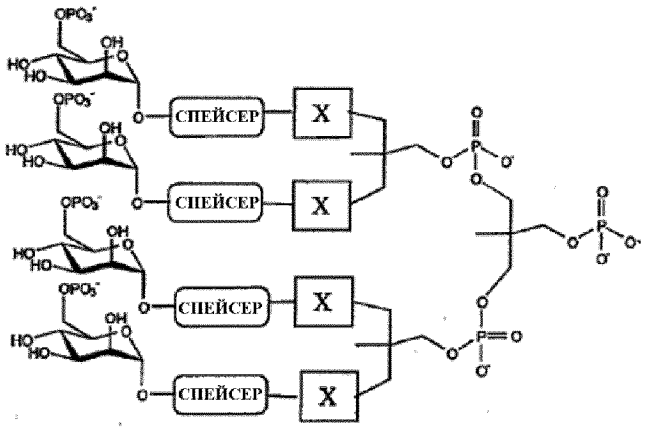


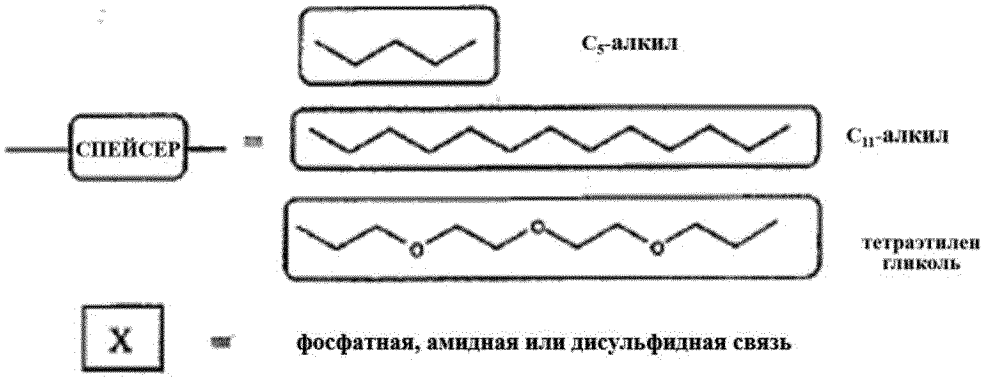
,

соединения, выбранного из:



,





;

(d) родственный рецептору липопротеина низкой плотности рецептор-белок 1 (LRP1)-связывающий фрагмент, содержащий по меньшей мере одну аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 1-9;

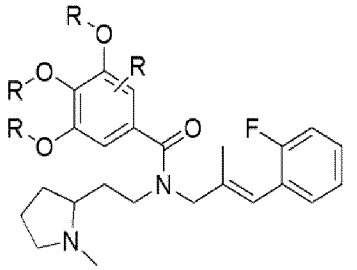
(e) рецептор липопротеина низкой плотности (LDLR)-связывающий фрагмент, содержащий по меньшей мере одну аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 10-35;

(f) FcγRI рецептор-связывающий фрагмент, содержащий по меньшей мере одну аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 36-52;

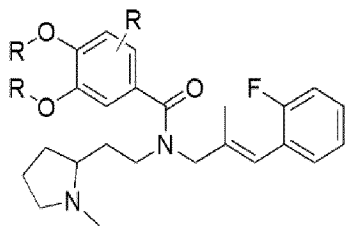
(g) трансферриновый рецептор-связывающий фрагмент, содержащий по меньшей мере одну аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 53-59 и 74;

(h) фагоцитарный рецептор макрофагов-связывающий фрагмент, содержащий по меньшей мере одну аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 60-65;

(i) связанный с G-белками рецептор-связывающий фрагмент, представляющий собой по меньшей мере одно из:



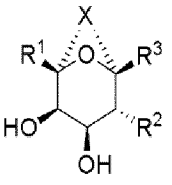
или



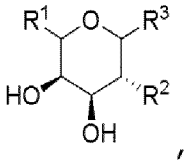
,

где в каждом случае R независимо представляет собой H или C_1-C_6 алкил;

(j) асиалогликопротеиновый рецептор (ASGPR)-связывающий фрагмент, представляющий собой:



или



,

где:

X представляет собой линкер длиной 1-4 атома и включает группы O, S, $N(R^{N1})$ или

$C(R^{N1})(R^{N1})$, так что:

когда X представляет собой линкер длиной 1 атом, X представляет собой O, S, $N(R^{N1})$ или $C(R^{N1})(R^{N1})$,

когда X представляет собой линкер длиной 2 атома, не более чем 1 атом из X представляет собой O, S или $N(R^{N1})$,

когда X представляет собой линкер длиной 3 или 4 атома, не более чем 2 атома из X независимо представляют собой O, S или $N(R^{N1})$;

где в каждом случае R^{N1} независимо представляет собой H или C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами;

каждый из R^1 и R^3 независимо представляет собой H, $-(CH_2)_KOH$, $-(CH_2)_KO(C_1$-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, C_1-C_4 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, $-(CH_2)_K$(винил), $-O(CH_2)_K$(винил), $-(CH_2)_K$(алкинил), $-(CH_2)_KCOOH$, $-(CH_2)_KC(=O)O(C_1$-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, $-OC(=O)(C_1$-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, или $-C(=O)(C_1$-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена; или

каждый из R^1 и R^3 независимо представляет собой $Ph(CH_2)_K$-, который необязательно замещен 1-3 независимо выбранными атомами галогена; C_1-C_4 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами; или C_1-C_4 алкокси, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами; или

каждый из R^1 и R^3 независимо представляет собой группу со структурой:

$-O-(CH_2)_{K'}-CH(OH)-(CH_2)K'-R^7$,

где:

R^7 представляет собой C_1-C_4 алкокси, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами; $-NR^{N3}R^{N4}$; или $-(CH_2)_{K'}-O-(CH_2)_K-CH_2-CH=CH_2$;

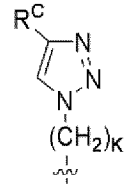
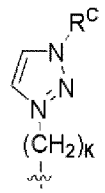
K равен 0, 1, 2, 3 или 4;

K' равен 1, 2, 3 или 4;

в каждом случае R^{N3} независимо представляет собой H или C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами;

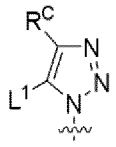
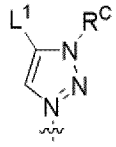
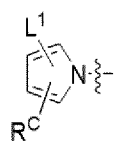
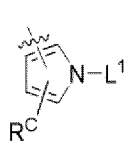
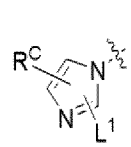
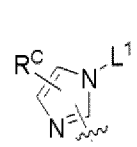
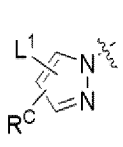
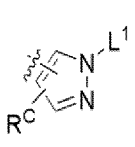
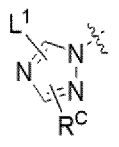
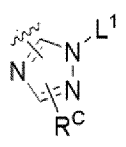
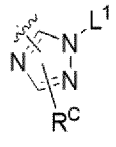
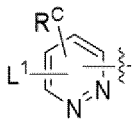
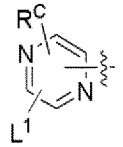
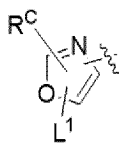
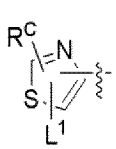
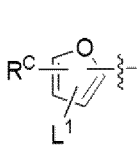
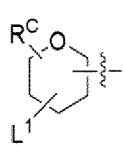
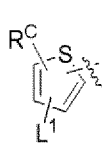
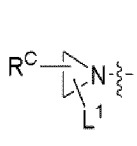
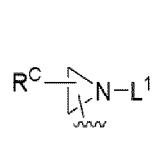
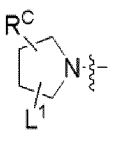
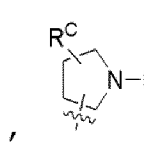
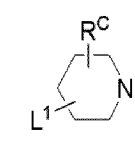
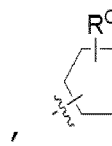
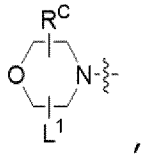
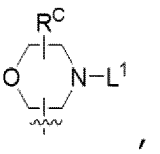
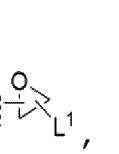
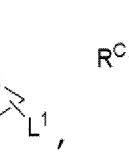
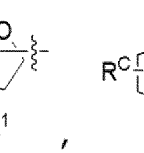
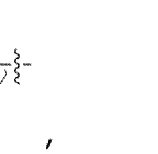
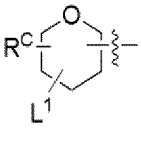
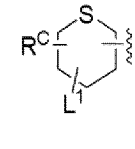
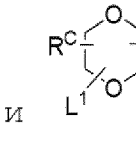
в каждом случае R^{N4} независимо представляет собой H, C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами, или $Ph-(CH_2)_K$-; или

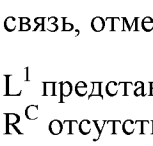
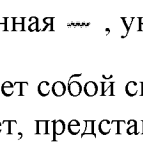
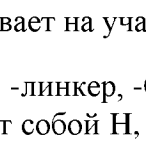
каждый из R^1 и R^3 независимо выбран из группы, состоящей из:

$-(CH_2)_KOH$, , , L^1-≡-, L^1-$(CH_2)_K$- и CYC-$(CH_2)_K$-,

где CYC выбран из группы, состоящей из:

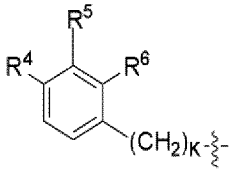
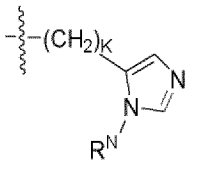
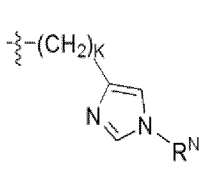
и ,

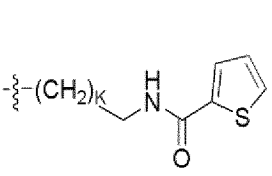
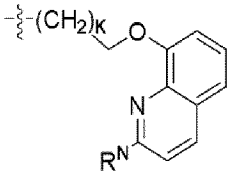
где:

связь, отмеченная 〰 , указывает на участок на CYC, с которым связан $-(CH_2)_K$;

L^1 представляет собой связь, -линкер, -COH-линкер или -COH-линкер-CON;

R^C отсутствует, представляет собой H, C_1-C_4 алкил, необязательно замещенный 1-3 необязательно замещенными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами, или

группу со структурой:  ,  ,  ,

или ,

где:

каждый из R^4, R^5 и R^6 независимо представляет собой H, F, Cl, Br, I, CN, $NR^{N1}R^{N2}$, -$(CH_2)_KOH$, -$(CH_2)_KO(C_1$-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, C_1-C_3-алкокси, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, -$(CH_2)_KCOOH$, -$(CH_2)_KC(=O)O$-(C_1-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, O-C(=O)-(C_1-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, или -C(=O)-(C_1-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена;

в каждом случае R^N независимо представляет собой H или C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами;

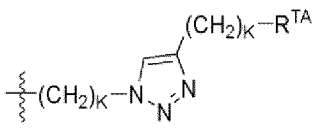
в каждом случае R^{N2} независимо представляет собой H или C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами;

или

каждый из R^1 и R^3 независимо представляет собой (C_3-C_8 насыщенный карбоцикл)-$(CH_2)_K$-, где карбоцикл дополнительно замещен -L^1 и -R^C;

R^2 представляет собой -$(CH_2)_K$-$N(R^{N1})$-$C(=O)R^{AM}$, где:

R^{AM} представляет собой H, C_1-C_4 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами, -$(CH_2)_KCOOH$, -$(CH_2)_KC(=O)O(C_1$-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, -$OC(=O)(C_1$-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, -$C(=O)(C_1$-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, или -$(CH_2)_K$-$NR^{N3}R^{N4}$; или

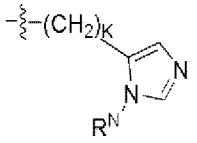
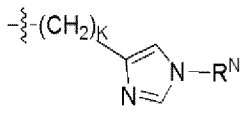
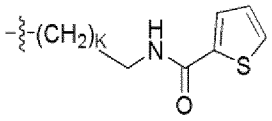
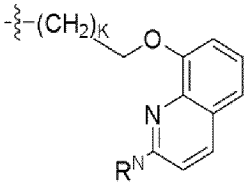
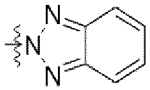
R^2 представляет собой  , где:

R^{TA} представляет собой H, CN, $NR^{N1}R^{N2}$, -$(CH_2)_KOH$, -$(CH_2)_KO(C_1$-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, C_1-C_4 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, -$(CH_2)_KCOOH$, -$(CH_2)_KC(=O)O(C_1$-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, -$OC(=O)(C_1$-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, или -$C(=O)(C_1$-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3

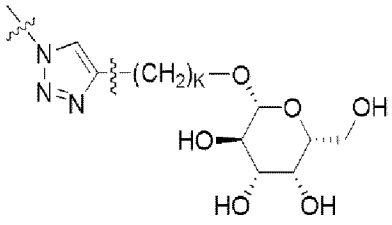
независимо выбранными атомами галогена, или

R^{TA} представляет собой C_3-C_{10} арил или 3-10-членную гетероарильную группу, содержащую 1-5 не углеродных атомов кольца, каждая из арильной или гетероарильной группы необязательно замещена 1-3 группами, независимо выбранными из CN, $NR^{N1}R^{N2}$, -$(CH_2)_KOH$, -$(CH_2)_KO(C_1$-C_4 алкила), необязательно замещенного 1-3 независимо выбранными атомами галогена, C_1-C_3 алкила, необязательно замещенного 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами, -(C_1-C_3-алкокси), необязательно замещенного 1-3 независимо выбранными атомами галогена, -$(CH_2)_KCOOH$, -$(CH_2)_KC(=O)O$-(C_1-C_4 алкила), необязательно замещенного 1-3 независимо выбранными атомами галогена, -$OC(=O)(C_1$-C_4 алкила), необязательно замещенного 1-3 независимо выбранными атомами галогена, или -$(CH_2)_KC(=O)$-(C_1-C_4 алкила), необязательно замещенного 1-3 независимо выбранными атомами галогена,

или

R^{TA} представляет собой  ,  ,  ,  или  , необязательно замещенный 1-3 C_1-C_3 алкильными группами, необязательно замещенными 1-3 независимо выбранными атомами галогена,

или

R^{TA} представляет собой  , где каждая -$(CH_2)_K$ группа необязательно замещена 1-4 C_1-C_3 алкильными группами, необязательно замещенными 1-3 группами фтора или 1-2 гидроксильными группами.

Вариант осуществления 19 относится к соединению по варианту осуществления 18, где:

X в ASGPRBM представляет собой -O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-O-, -S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-S-, -$N(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-$N(R^{N1})$- или -$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, когда X имеет длину 2 атома;

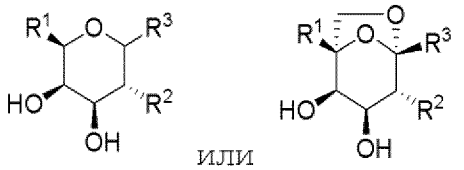
X в ASGPRBM представляет собой -O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-O-, -O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-S-, -O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$N(R^{N1})$-, -S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-S, -S-

$C(R^{N1})(R^{N1})$-S-, -S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-O-, -S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$N(R^{N1})$-, -$N(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-$N(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$N(R^{N1})$-, -$N(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$N(R^{N1})$- или -$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$- $C(R^{N1})(R^{N1})$, когда X имеет длину 3 атома; или

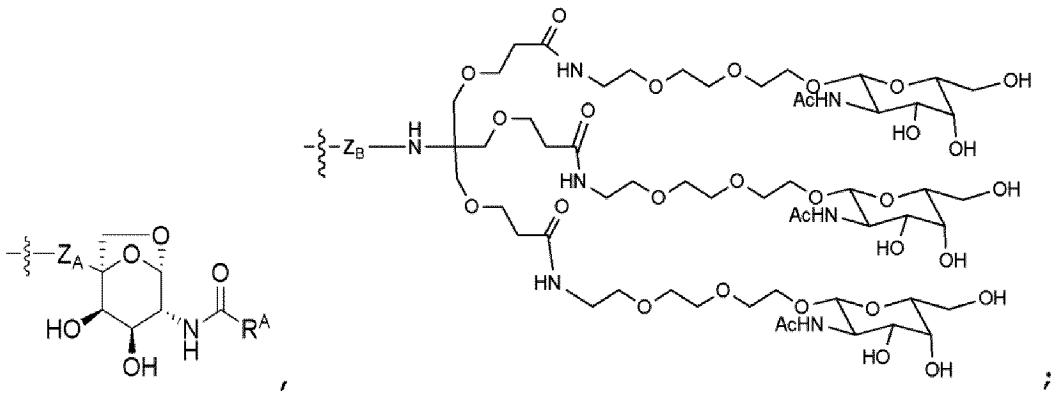
X в ASGPRBM представляет собой -O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$N(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$- $C(R^{N1})(R^{N1})$- или -$C(R^{N1})(R^{N1})$-$N(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, когда X имеет длину 4 атома.

Вариант осуществления 20 относится к соединению по любому из вариантов осуществления 18-19, где X представляет собой OCH_2 и R^{N1} представляет собой H, или где X представляет собой CH_2O и R^{N1} представляет собой H.

Вариант осуществления 21 относится к соединению по любому из вариантов осуществления 18-20, где ASGPRBM имеет структуру:



Вариант осуществления 22 относится к соединению по любому из вариантов осуществления 18-21, где группа ASGPRBM имеет структуру:



где:

R^A представляет собой C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-5 независимо выбранными атомами галогена;

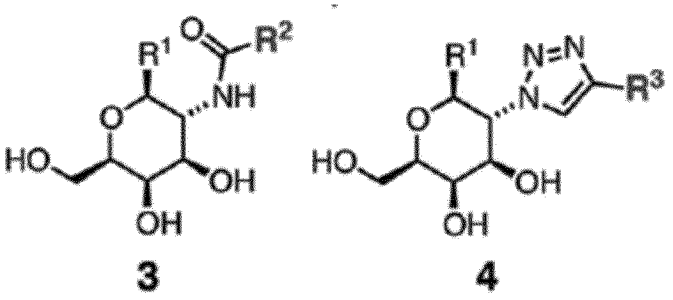
Z_A представляет собой -$(CH_2)_{IM}$-, -O-$(CH_2)_{IM}$-, -S-$(CH_2)_{IM}$-, -NR^M-$(CH_2)_{IM}$-, -C(=O)-$(CH_2)_{IM}$-, PEG-группу, содержащую от 1 до 8 остатков этиленгликоля, или -$C(O)(CH_2)_{IM}NR^M$-;

Z_B отсутствует, представляет собой -$(CH_2)_{IM}$-, -C(=O)-$(CH_2)_{IM}$- или -C(=O)$(CH_2)_{IM}$-NR^M-;

R^M представляет собой H или C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-2

гидроксильными группами; и

в каждом случае IM независимо равен 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6;

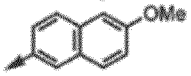
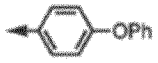
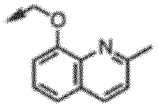


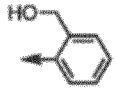
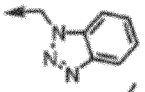
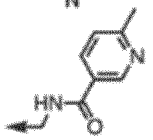
3 4

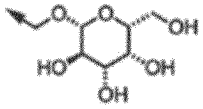
	R¹
a	Me
b	4-OMePh

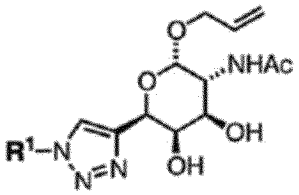
#	R²
1	Me
2	n-C₃H₇
3	i-Pr
4	i-Bu
5	CCl_3
6	CF_3
7	Ot-Bu
8	CH_2CO_2H

#	R²
9	CH_2NH_2
10	CH_2CF_3
11	2-фурил
12	Ph
13	4-OMePh
14	3-OMePh
15	4-CNPh
16	3-пиридил
17	

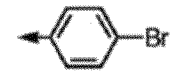
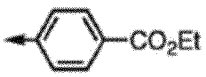
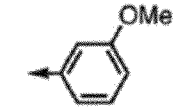
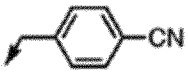
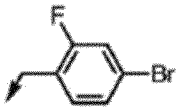
#	R³
1	Ph
2	4-OMePh
3	3-OMePh
4	3-NH_2Ph
5	4-NMe_2Ph
6	2-пиридил
7	
8	
9	

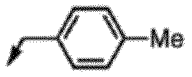
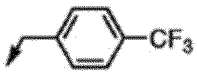
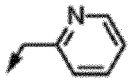
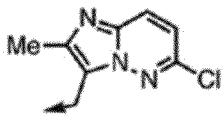
#	R³
10	
11	
12	
13	

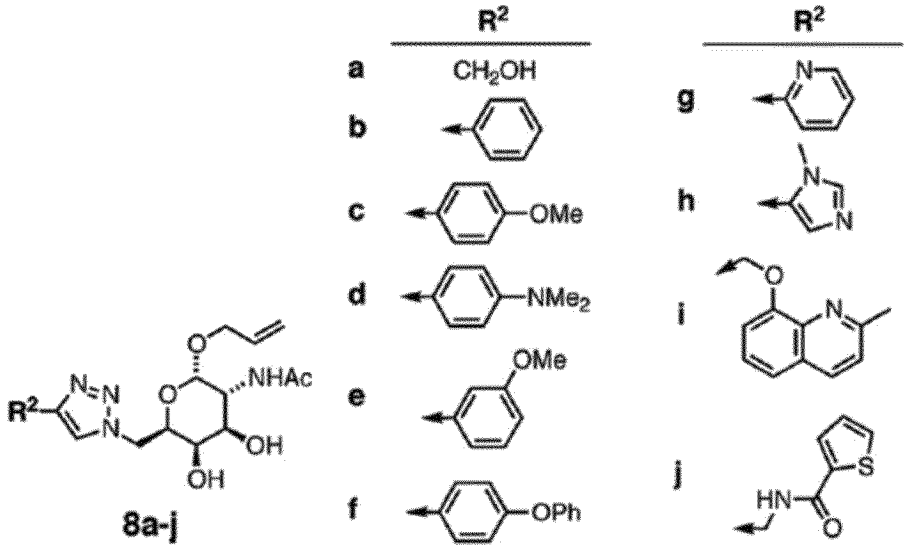
#	R³
14	
15	CH_2OH
16	CH_2NH_2
17	CH_2NHMe
18	CH_2NMe_2
19	CO_2H
20	$CH_2NHCOPh$
21	$CH_2NHCOMe$

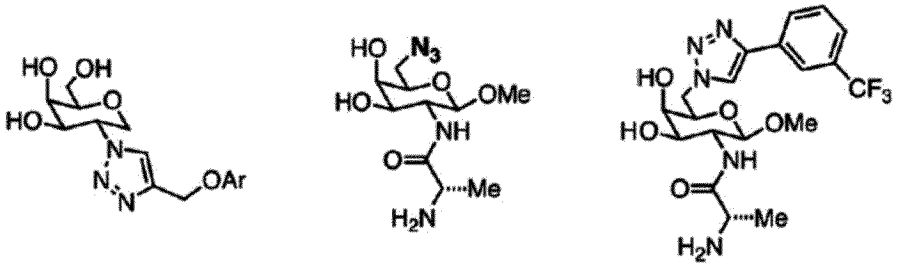


6a-j

	R¹
a	Me
b	
c	
d	
e	
f	

	R¹
g	
h	
i	
j	

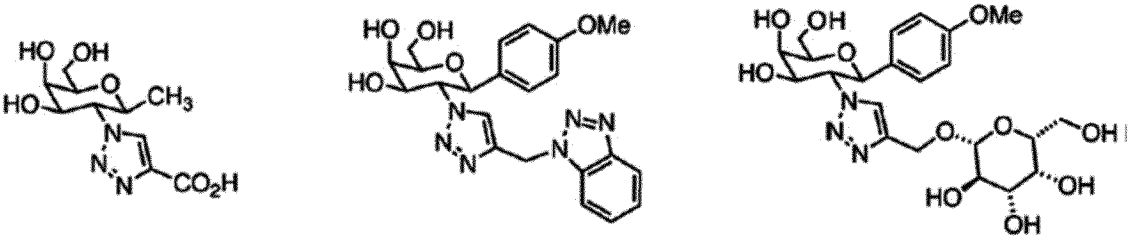


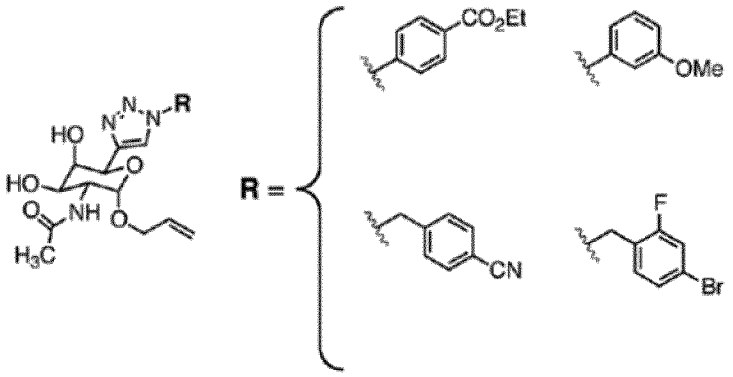


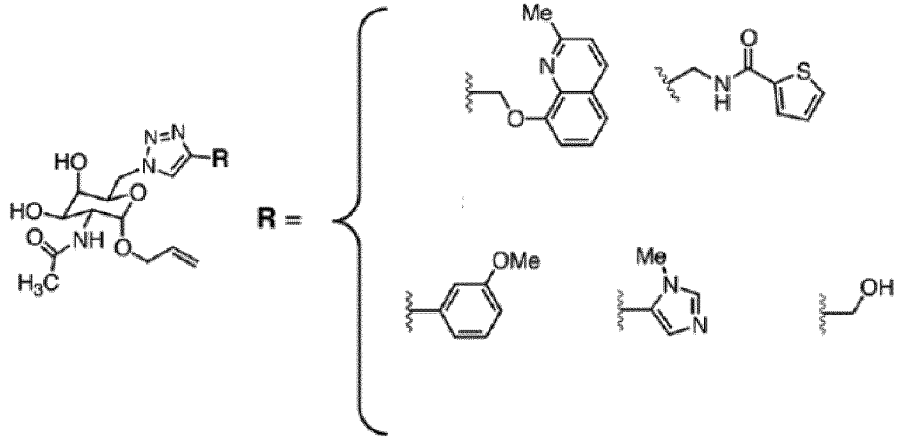


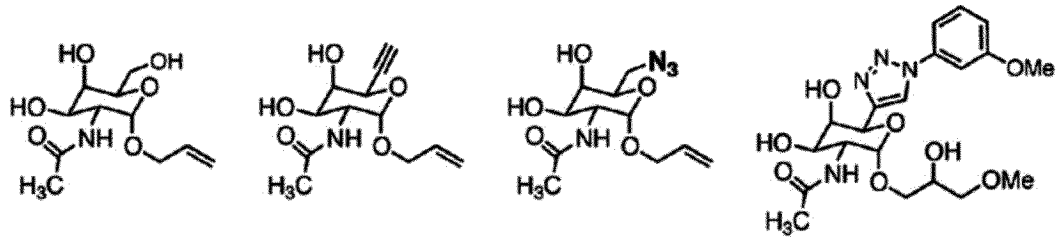
, где

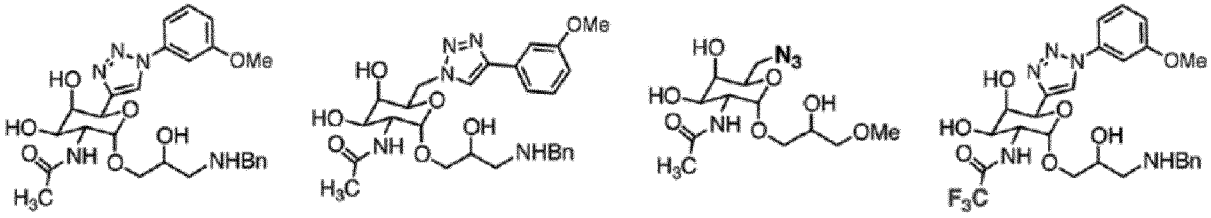
R=CH_3, CF_3 или CH_2CF_3;

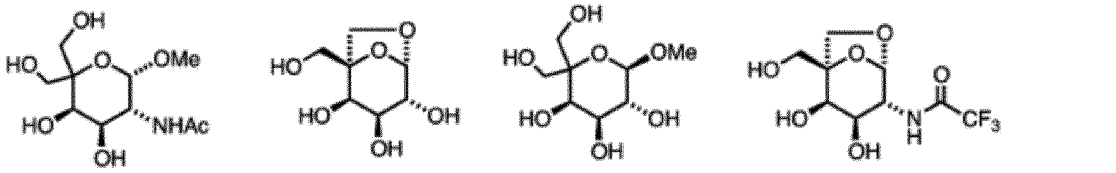






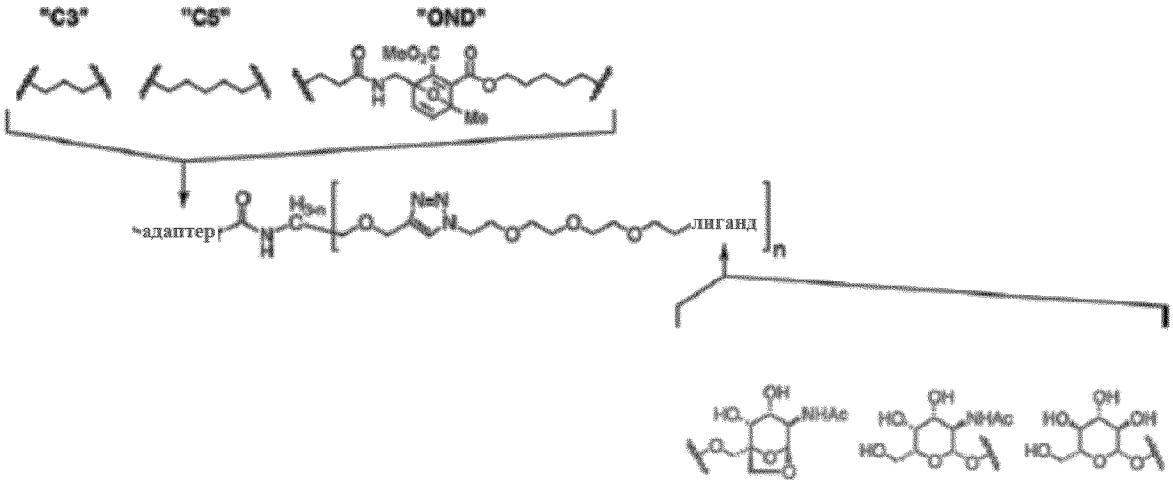






	R
16a	Et
16b	*n*-C_3H_7
16c	*n*-C_4H_9
16d	*n*-C_5H_{11}
16e	*n*-C_6H_{13}
16f	$(CH_2CH_2O)_4Me$

, или



.

Вариант осуществления 23 относится к соединению по любому из вариантов осуществления 1-22, где линкер представляет собой полиэтиленгликоль-содержащий линкер, имеющий 1-12 остатков этиленгликоля.

Вариант осуществления 24 относится к соединению по любому из вариантов осуществления 1-23,

где линкер имеет структуру: $-CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_mOCH_2-$, $-(CH_2)_mCH_2-$, $-[N(R^a)-CH(R^b)(C=O)]_m-$, либо полипропиленгликолевой или полипропилен-ко-полиэтиленгликолевой группы, содержащей 1-100 алкиленгликолевых единиц;

где каждый R^a независимо представляет собой H, C_1-C_3 алкил или C_1-C_6 алканол, или в сочетании с R^b образует пирролидиновую или гидроксипирролиновую группу;

где каждый R^b независимо выбран из группы, состоящей из водорода, метила, изопропила, $-CH(CH_3)CH_2CH_3$, $-CH_2CH(CH_3)_2$, $-(CH_2)_3$-гуанидина, $-CH_2C(=O)NH_2$, $-CH_2C(=O)OH$, $-CH_2SH$, $-(CH_2)_2C(=O)NH_2$, $-(CH_2)_2C(=O)OH$, $-(CH_2)$имидазола, $-(CH_2)_4NH_2$, $-CH_2CH_2SCH_3$, бензила, $-CH_2OH$, $-CH(OH)CH_3$, $-(CH_2)$имидазола или $-(CH_2)$фенола; и где m представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15; или

где линкер имеет структуру

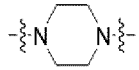
$-[N(R'-(CH_2)_{1-15}-C(=O)]-$,

где R' представляет собой H или C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-2 гидроксильными группами, и m представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 100; или

где линкер имеет структуру:

-Z-D-Z'-,

где:

каждый из Z и Z' независимо представляет собой связь, $-(CH_2)_i-O-$, $-(CH_2)_i-S-$, $-(CH_2)_i-N(R)-$,  , $-(CH_2)_i-C(R^2)=C(R^2)-$ (цис или транс), $-(CH_2)_i-\equiv-$ или -Y-C(=O)-Y-;

каждый R независимо представляет собой H, C_1-C_3 алкил или C_1-C_6 алканол;

каждый R^2 независимо представляет собой H или C_1-C_3 алкил;

каждый Y независимо представляет собой связь, O, S или N(R);

каждый i независимо равен 0-100;

D представляет собой связь, $-(CH_2)_i-Y-C(=O)-Y-(CH_2)_i-$, $-(CH_2)_{m'}-$ или $-[(CH_2)_n-X_1)]_j-$, при условии, что все из Z, Z' и D одновременно не являются связями;

X^1 представляет собой O, S или N(R);

j представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 100;

m' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 100;

n представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 100; или

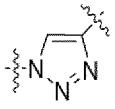
где линкер имеет структуру:

$-CH_2-(OCH_2CH_2)_n-CH_2-$, $-(CH_2CH_2O)_n\cdot CH_2CH_2-$ или $-(CH_2CH_2CH_2O)_n-$,

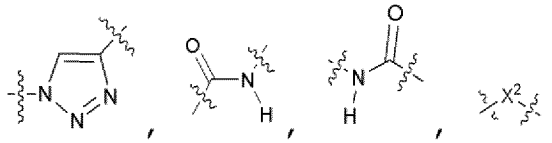
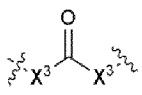
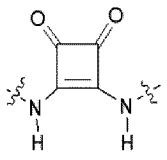
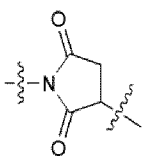
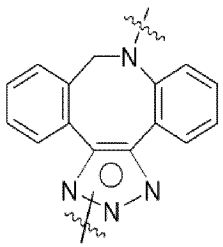
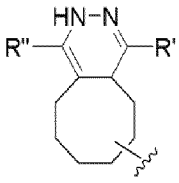
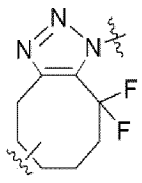
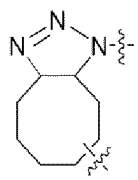
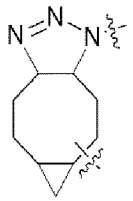
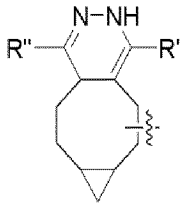
где каждый n и n' независимо представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 25; или

где линкер имеет структуру:

-PEG-COH-PEG-

где каждый PEG независимо представляет собой полиэтиленгликолевую группу, содержащую 1-12 остатков этиленгликоля, и CON представляет собой триазольную группу  .

Вариант осуществления 25 относится к соединению по любому из вариантов осуществления 1-24,

где CON имеет структуру:  , , , ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  , или  ; где каждый из R' и R" независимо представляет собой H, метил или связь; или

где CON имеет структуру:

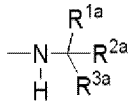
-C(=O)-N(R^1)-(CH_2)$_{n''}$-N(R^1)C(=O)-,

-N(R^1)-C(=O)(CH_2)$_{n''}$-C(=O)N(R^1)- или

-N(R^1)-C(=O)(CH_2)$_{n''}$-N(R^1)C(=O) -;

где каждый R^1 независимо представляет собой H или C_1-C_3 алкил и n" независимо представляет собой целое число от 0 до 8, в конкретных вариантах осуществления от 1 до 7, в конкретных вариантах осуществления 1, 2, 3, 4, 5 или 6; или

где CON имеет структуру:



,

где:

каждый из R^{1a}, R^{2a} и R^{3a} независимо представляет собой H, -(CH_2)$_{M1}$-, -(CH_2)$_{M2}$C(=O)$_{M3}$(NR^4)$_{M3}$-(CH_2)$_{M2}$-, -(CH_2)$_{M2}$(NR^4)$_{M3}$C(O)$_{M3}$-(CH_2)$_{M2}$- или -(CH_2)$_{M2}$O-(CH_2)$_{M1}$-C(O)NR^4-, при условии, что R^{1a}, R^{2a} и R^{3a} одновременно не являются H;

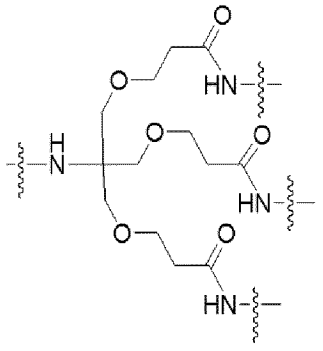
каждый M1 независимо равен 1, 2, 3 или 4;

каждый M2 независимо равен 0, 1, 2, 3 или 4;

каждый M3 независимо равен 0 или 1; и

каждый R^4 независимо представляет собой H, C_1-C_3 алкил, C_1-C_6 алканол или -C(=O)(C_1-C_3 алкил), при условии, что M2 и M3 в одном и том же R^{1a}, R^{2a} и R^{3a} одновременно не могут быть равны 0; или

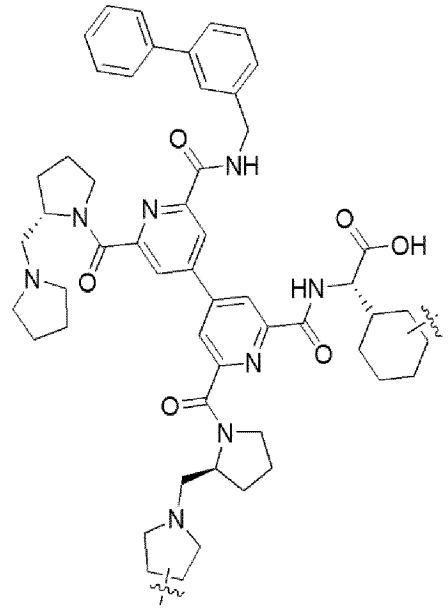
где CON имеет структуру:



.

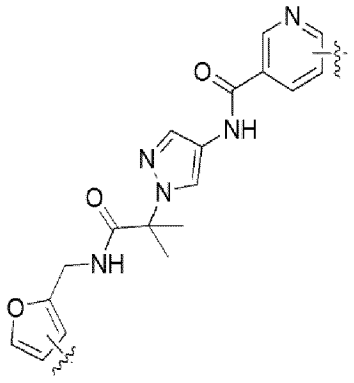
Вариант осуществления 26 относится к соединению по любому из вариантов осуществления 1 или 4-25,

где белок-связывающий фрагмент, который связывает CD40L, имеет структуру:

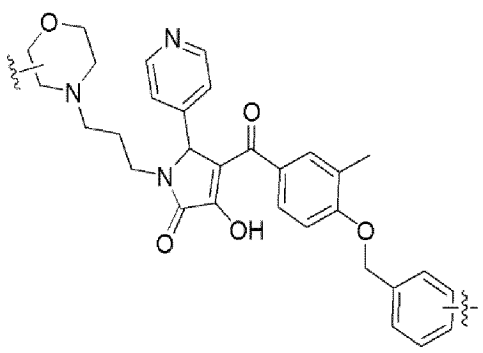


;

где белок-связывающий фрагмент, который связывает PCSK9, имеет структуру:

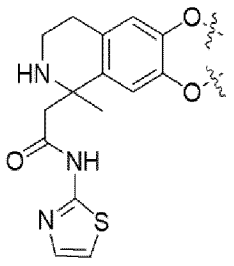


,

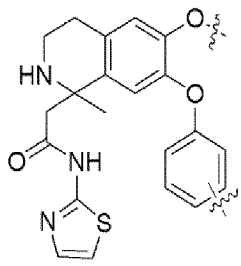


,

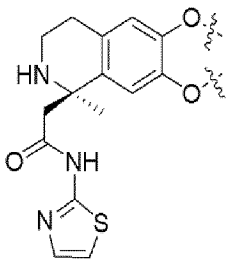
~ NH-TVFTSWEEYLDWV-X (SEQ ID NO: 66), где X=OH или NH_2;



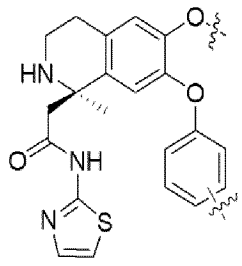
,



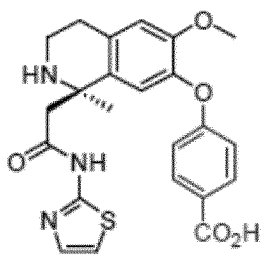
,



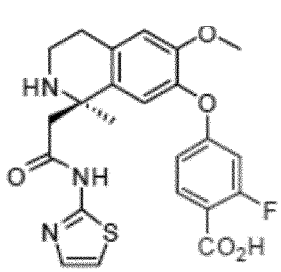
,



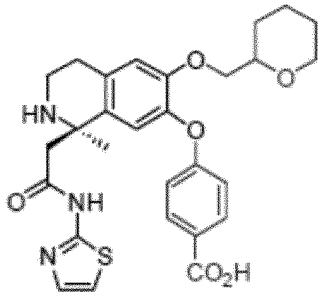
,



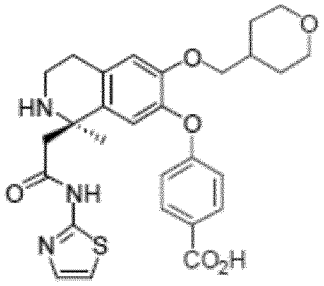
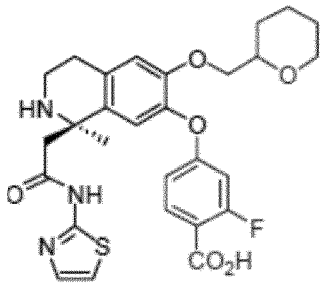
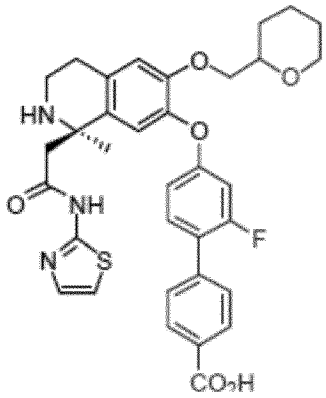
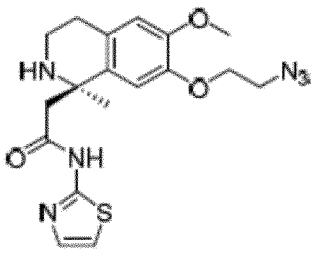
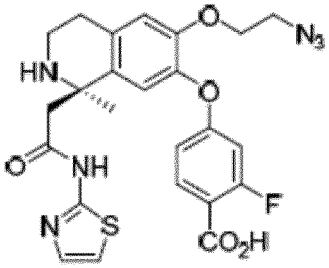
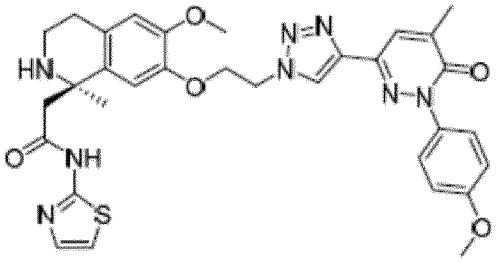
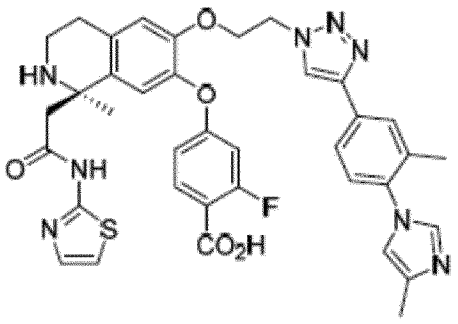
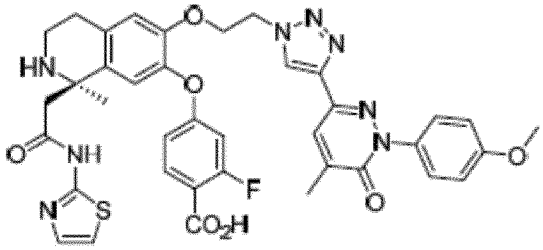
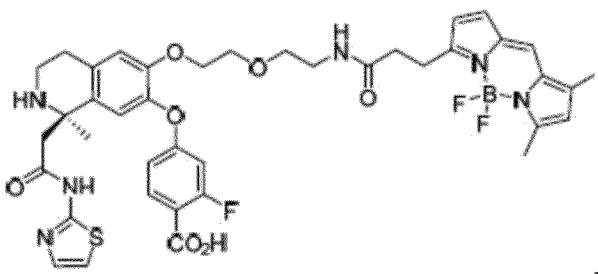
,



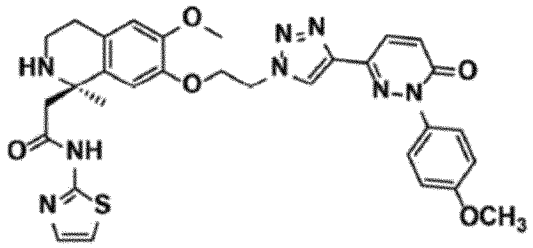
,



,

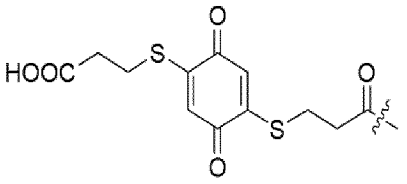

,

,

,

,

,

,

,

,


ИЛИ

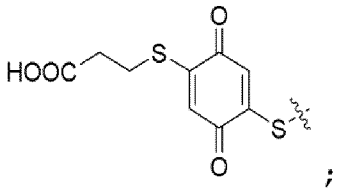


;

где белок-связывающий фрагмент, который связывает VEGF, имеет структуру:
~ NH-VEPNCDIHVMWEWECFERL-X (SEQ ID NO: 67), где X=OH или NH_2,

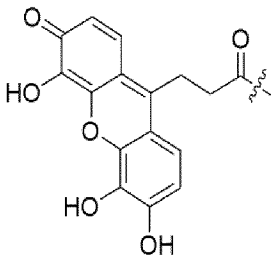


,

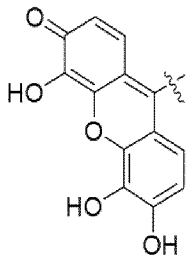


;

где белок-связывающий фрагмент, который связывает TGF-бета, имеет структуру:
~ NH-KRFKQDGGC-X (SEQ ID NO: 68), где X=OH или NH_2;



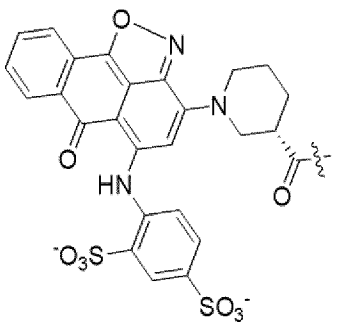
или



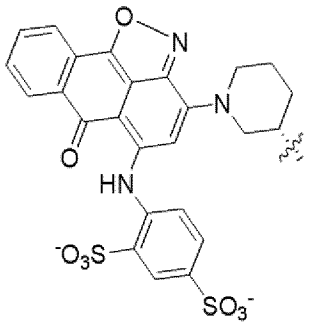
;

где белок-связывающий фрагмент, который связывает TSP-1, имеет структуру:
~ NH-RGQILSKLRL-X (SEQ ID NO: 69), где X=OH или NH_2;

где белок-связывающий фрагмент, который связывает растворимый uPAR, имеет структуру:

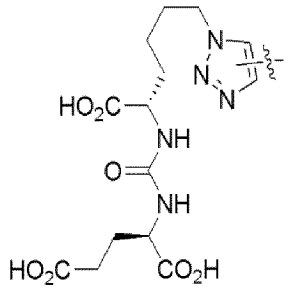


или



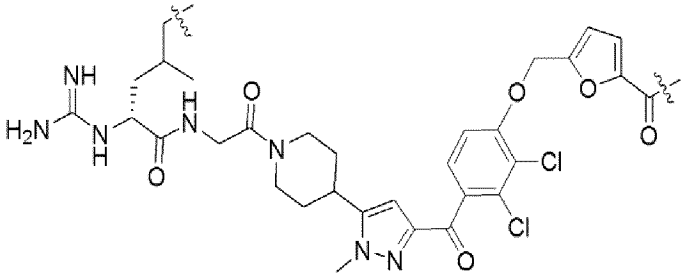
;

где белок-связывающий фрагмент, который связывает растворимый PSMA, имеет структуру:



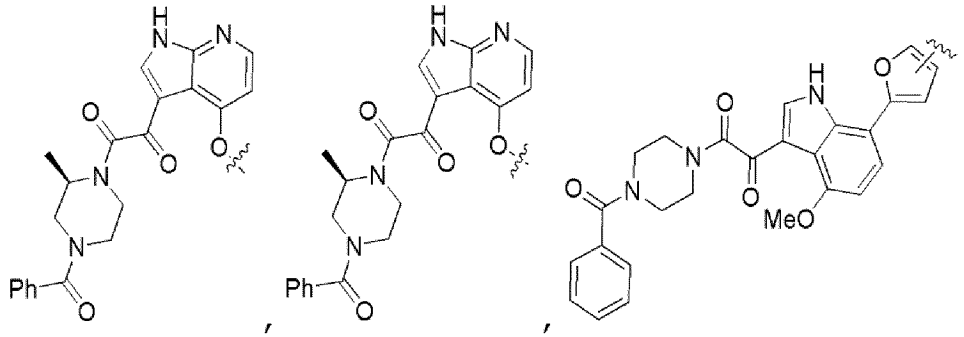
;

где белок-связывающий фрагмент, который связывает IL-2, имеет структуру:

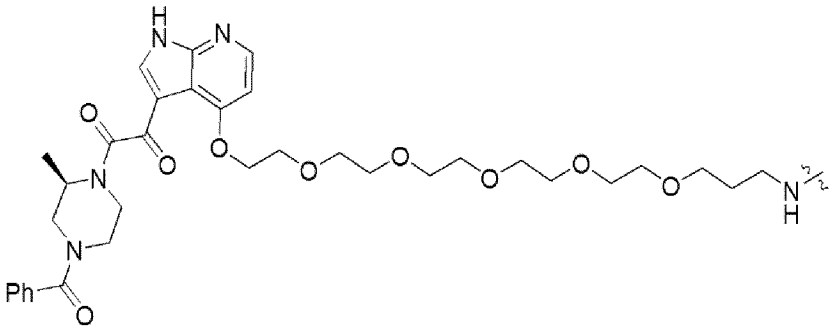


;

где белок-связывающий фрагмент, который связывает GP120, имеет структуру:

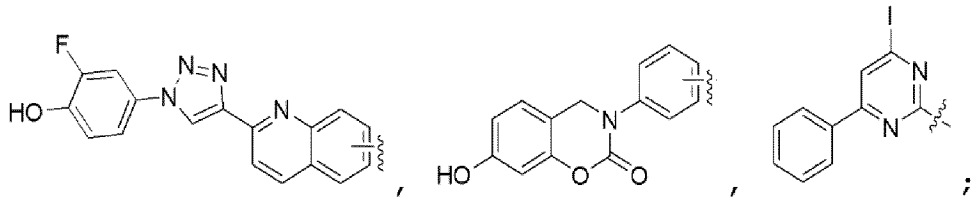


ИЛИ



;

где белок-связывающий фрагмент, который связывает MIF, имеет структуру:



;

где белок-связывающий фрагмент, который связывает IgA, содержит последовательность:

STFCLLGQKDQSYCFTI (SEQ ID NO: 70),
HMRCLHYKGRRVCFLL (SEQ ID NO: 71),
KTMCLRYNHDKVCFRI (SEQ ID NO: 72),
LVLCLVHRTSKHRKCFVI (SEQ ID NO: 73),
A2-3a: SDVCLRYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 75),
Opt-1: HMVCLAYRGRPVCFAL (SEQ ID NO: 76),
Opt-2: HMVCLSYRGRPVCFSL (SEQ ID NO: 77),
Opt-3: HQVCLSYRGRPVCFST (SEQ ID NO: 78),
RDVCLRYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 79),
HDVCLRYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 80),
ADVCLRYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 81),
SAVCLRYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 82),
SMVCLRYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 83),
SDRCLRYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 84),
SDACLRYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 85),
SDVCARYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 86),
SDVCLNYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 87),
SDVCLHYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 88),
SDVCLAYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 89),
SDVCLRARGRPVCFQV (SEQ ID NO: 90),
SDVCLRYAGRPVCFQV (SEQ ID NO: 91),
SDVCLRYRARPVCFQV (SEQ ID NO: 92),
SDVCLRYRGSPVCFQV (SEQ ID NO: 93),
SDVCLRYRGAPVCFQV (SEQ ID NO: 94),
SDVCLRYRGRRVCFQV (SEQ ID NO: 95),
SDVCLRYRGRAVCFQV (SEQ ID NO: 96),
SDVCLRYRGRPACFQV (SEQ ID NO: 97),
SDVCLRYRGRPVCRQV (SEQ ID NO: 98),
SDVCLRYRGRPVCAQV (SEQ ID NO: 99),
SDVCLRYRGRPVCFRV (SEQ ID NO: 100),
SDVCLRYRGRPVCFLV (SEQ ID NO: 101),
SDVCLRYRGRPVCFAV (SEQ ID NO: 102),
SDVCLRYRGRPVCFQW (SEQ ID NO: 103),
SDVCLRYRGRPVCFQL (SEQ ID NO: 104),
SDVCLRYRGRPVCFQA (SEQ ID NO: 105),
GRYQCQYRIGHYRFRYSD (SEQ ID NO: 106),
GRYQAQYRIGHYRFRYSD (SEQ ID NO: 107),
GRYQCQYRIGHYRFRYSD (SEQ ID NO: 108),
CLIPS-CHYRFRC (SEQ ID NO: 109),
CLIPS-CRIGHYRFRC (SEQ ID NO: 110),

CLIPS-YQACHYRFRC (SEQ ID NO: 111),

CLIPS-RYQAQCRIGHYRFC (SEQ ID NO: 112),

CLIPS-GRYQCQYRIGHYRFRYCD (SEQ ID NO: 113),

CLIPS-GRYQACYRIGHYRFRCSD (SEQ ID NO: 114),

CLIPS-GRYQAQCRIGHYRFCYSD (SEQ ID NO: 115),

RYQAQCRIGHYRFC (SEQ ID NO: 116),

GRYQCQYRIGHYRFRYCD (SEQ ID NO: 117),

GRYQACYRIGHYRFRCSD (SEQ ID NO: 118),

GRYQAQCRIGHYRFCYSD (SEQ ID NO: 119), каждая из которых может иметь ациклическую или циклическую структуру.

Вариант осуществления 27 относится к соединению по любому из вариантов осуществления 2 и 4-25,

где TNF-связывающий фрагмент содержит по меньшей мере одну из следующих аминокислотных последовательностей:

STPTRYS (SEQ ID NO: 120),

CALWHWWHC (SEQ ID NO: 121),

C(T/S)WLHWWAC (SEQ ID NO: 122),

(L/M)HEL(Y/F)(L/M)X(W/Y/F) (SEQ ID NO: 123),

D-DDDEK QLKER WYKRW LEYLD EFKKN (SEQ ID NO: 124),

D-TEEEK QLKEW WYKHW QEYLE EFKKN (SEQ ID NO: 125),

GACPPCLWQVLCGGSGSGSG (SEQ ID NO: 126),

HIHDDLLRYYGW: линейный (SEQ ID NO: 127) или тетра-разветвленный (SEQ ID NO: 128) пептид,

KRWSRYF (SEQ ID NO: 129),

HIHDDLLRYYGW (SEQ ID NO: 127),

YCWSQYLCY (SEQ ID NO: 130),

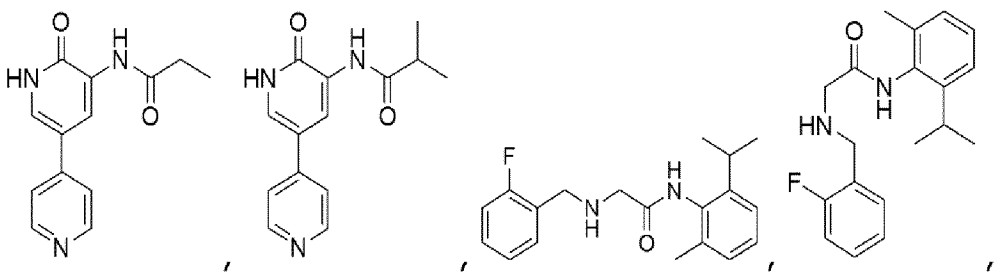
DFLPHYKNTSLGHRP (SEQ ID NO: 131), и

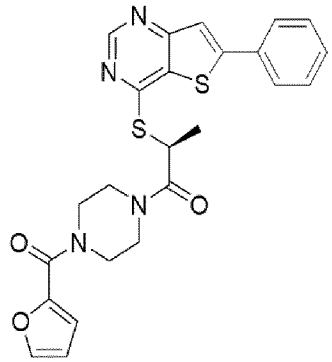
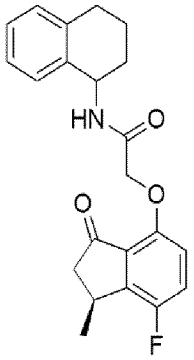
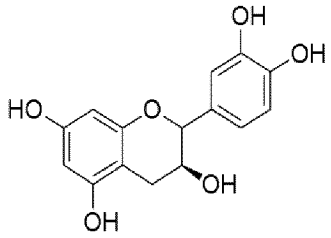
YCLYQSWCY (SEQ ID NO: 132); или

где TNF-связывающий фрагмент представляет собой по меньшей мере одно из:

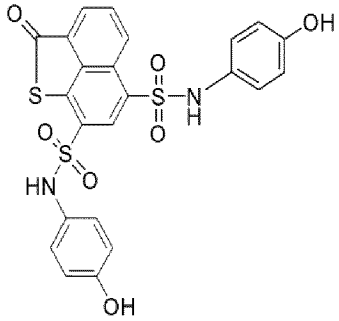
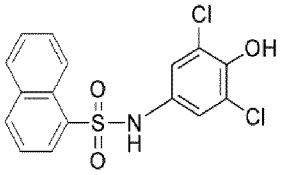
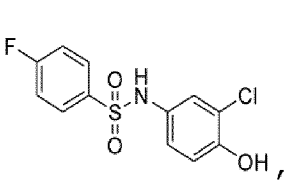
TNFR1, TNFR2, P51, P52, антикахексина C1, антикахексина C2, адалимумаба, инфликсимаба, этанерцепта, голимумаба, цертолизумаба; или

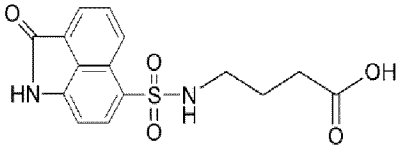
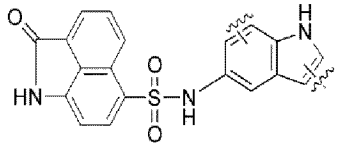
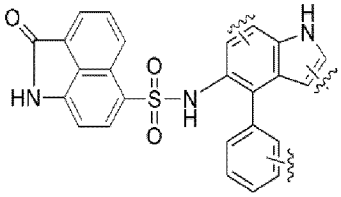
где TNF-связывающий фрагмент имеет по меньшей мере одну из следующих структур:



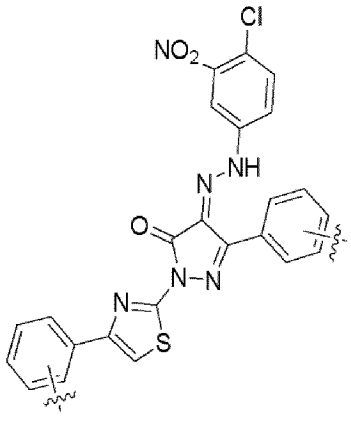
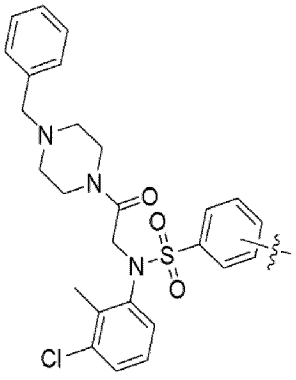

,

,

; ИЛИ

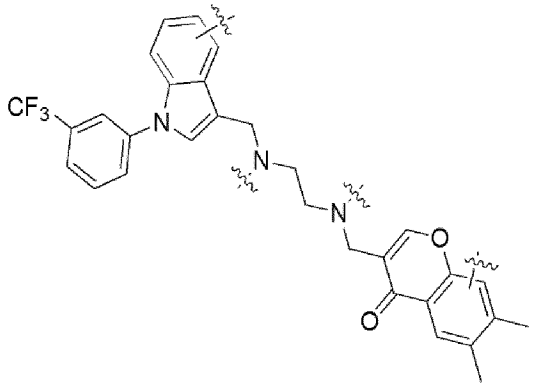
где TNF-связывающий фрагмент имеет по меньшей мере одну из следующих структур:


,

,

,


,

,

; ИЛИ

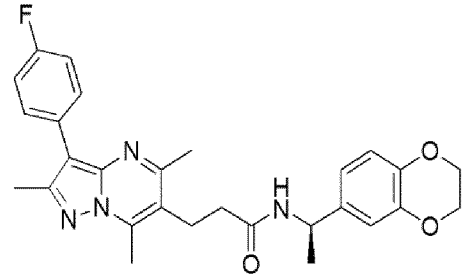
где TNF-связывающий фрагмент имеет по меньшей мере одну из следующих структур:


,

,

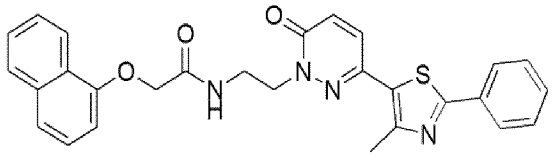


; ИЛИ

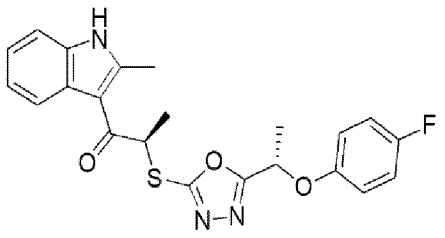
где TNF-связывающий фрагмент имеет по меньшей мере одну из следующих структур:



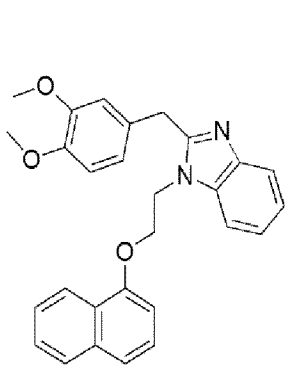
,



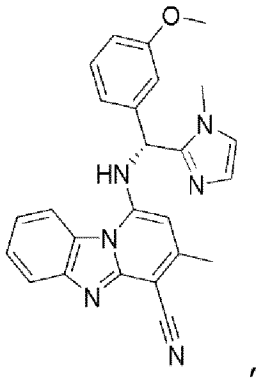
,



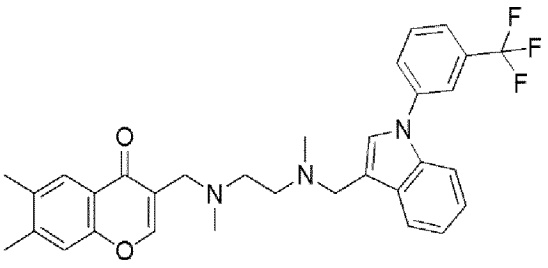
,



,

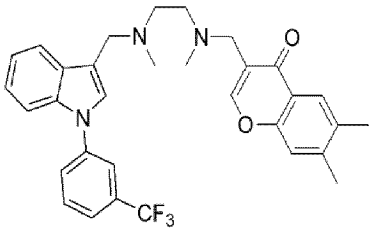


,

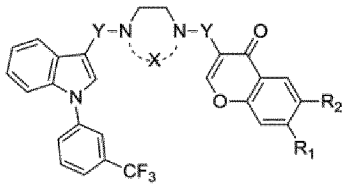


; ИЛИ

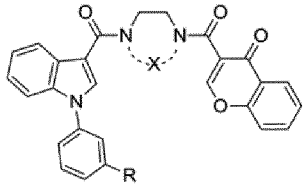
где TNF-связывающий фрагмент имеет по меньшей мере одну из следующих структур:



SPD-304



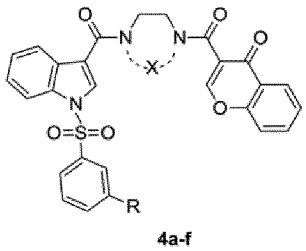
1, 2a-e



3a-d

1: R_1=R_2 = CH_3, X = CH_3,CH_3, Y = CH_2
2a: R_1=R_2 = CH_3, X =  , Y = CH_2
2b: R_1 =H, R_2 = CH_3, X = CH_3,CH_3, Y = CH_2
2c: R_1 =H, R_2 = CH_3, X =  , Y = CH_2
2d: R_1=R_2 = CH_3, X= CH_3,CH_3, Y = C =O
2e: R_1=R_2 = CH_3, X=  , Y = C=O

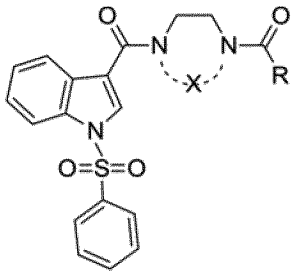
3a: R = NO_2, X = CH_3,CH_3
3b: R = NO_2, X = 
3c: R = NH_2, X = CH_3,CH_3
3d: R = NH_2, X = 



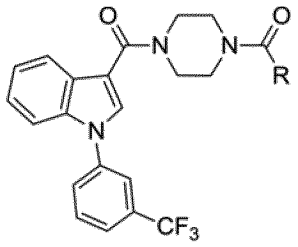
4a-f

4a: R = H, X = CH_3,CH_3
4b: R = H, X =
4c: R = NO_2, X = CH_3,CH_3
4d: R = NO_2, X = 
4e: R = NH_2, X = CH_3,CH_3
4f: R = NH_2, X = 

Fig. 1 Structures of SPD-304 derivatives **2a–e**, **3a–d** and **4a–f**.



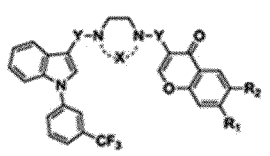
5a-g



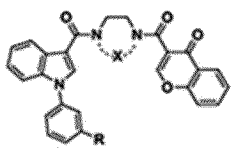
6a-c

5a: R =нафтил, X = H, H
5b: R =нафтил, X = CH_3, CH_3
5c: R = Ph, X = CH_3, CH_3
5d: R = 1*H*-имидазол, X = CH_3, CH_3
5e: R = 2-FPh, X = CH_3, CH_3
5f: R = 2- тиофен, X = CH_3, CH_3
5g: R = нафтил, X=

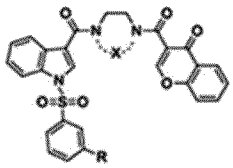
6a: R =нафтил
6b: R = 1*H*-имидазол
6c: R = Ph



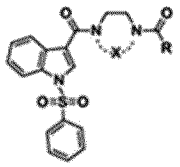
1, 2 a-d
1: $R_1=R_2=CH_3$, X=CH_2,CH_2 Y=CH_2
2a: $R_1=R_2=CH_3$, X=, Y=CH_2
2b: $R_1=H$, $R_2=CH_3$, X=CH_2,CH_2, Y=CH_2
2c: $R_1=R_2=CH_3$, X=CH_2,CH_2, Y=C=O
2d: $R_1=R_2=CH_3$, X=, Y=C=O



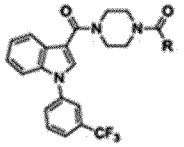
3 a-d
3a: R=NO_2, X=CH_2, CH_2
3b: R=NO_2, X=
3c: R=NH_2, X=CH_2,CH_2
3d: R=NH_2, X=



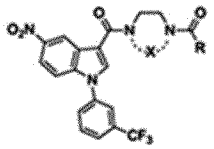
4 a-e
4a: R=H, X=CH_2,CH_3
4b: R=H, X=
4c: R=NO_2, X=CH_2,CH_3
4d: R=NO_2, X=
4e: R=NH_2, X=



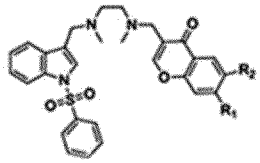
5 a-g
5a: R=нафтил, X=H,H
5b: R=нафтил, X=CH_2,CH_2
5c: R=Ph, X=CH_2,CH_2
5d: R=1*H*-имидазол, X=CH_2,CH_2
5e: R=2-FPh, X=CH_2,CH_2
5f: R=3-(4-хромон), X=H,H
5g: R=нафтил, X=



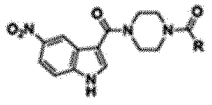
6 a-c
6a: R=нафтил
6b: R=1*H*-имидазол
6c: R=Ph



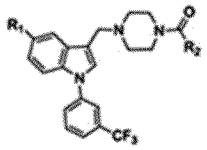
7 a-c
7a: R=3-(4-хромон), X=CH_2,CH_2
7b: R=3-(4-хромон), X=
7c: R=2-FPh, X=CH_2,CH_2



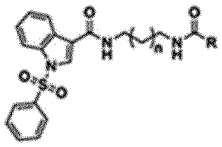
8 a-d
8a: $R_1=R_2=H$
8b: $R_1=H$, $R_2=CH_3$
8c: $R_1=R_2=CH_3$
8d: $R_1=CH_3$, $R_2=H$



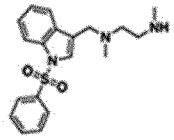
9 a-b
9a: R=2-FPh
9b: R=2-тиофен



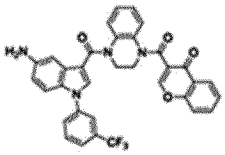
10 a-e
10a: $R_1=H$, R_2=3-(4-хромон)
10b: $R_1=NO_2$, R_2=3-(4-хромон)
10c: $R_1=H$, R_2=нафтил
10d: $R_1=NO_2$, R_2=нафтил
10e: $R_1=H$, R_2=Ph



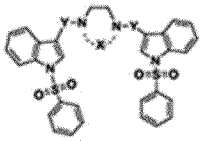
11 a-b
11a: R=3-(4-хромон), n=1
11b: R=нафтил, n=2



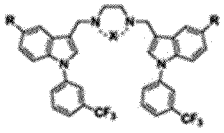
12



13



14 a-d
14a: X=H, Y=CH_2
14b: X=CH_2,CH_2, Y=CH_2
14c: X=CH_2,CH_2, Y=C=O
14d: X=, Y=C=O



15 a-e
15a: R=H, X=H,H
15b: R=NO_2, X=CH_2,CH_2
15c: R=NO_2, X=





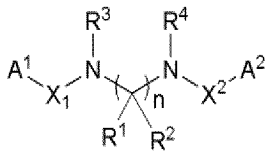
16 a-e
16a: R=1*H*-индол, X=, Y=CH_2
16b: R=нафтил, X=CH_2,CH_2, Y=C=O
16c: R=3-(4-хромон), X=H,H, Y=C=O
16d: R=3-(4-хромон), X=CH_2,CH_2, Y=C=O
16e: R=3-(4-хромон), X=, Y=C=O

17

;

или

где TNF-связывающий фрагмент имеет по меньшей мере одну из следующих структур:

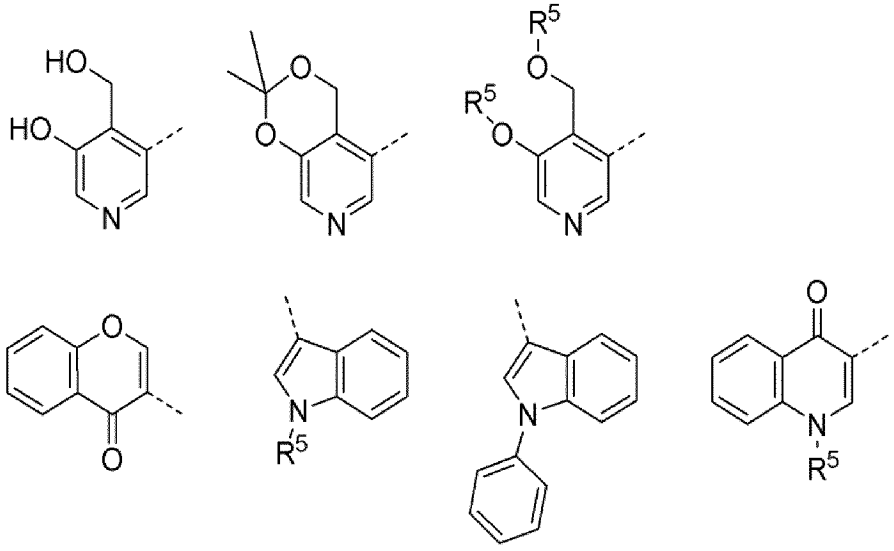


(2a) ,

где:

A^1 и A^2 независимо представляют собой замещенную или незамещенную фенильную группу, где заместители представляют собой по меньшей мере одно из F, Cl, Br, I, OH, C_1-C_4 алкила, C_1-C_4 алкила, замещенного по меньшей мере одним OH, C_1-C_4 фторалкила, C_1-C_4 алкокси, C_1-C_4 галоалкокси, бензилокси и следующих

гетероциклических колец, необязательно замещенных по меньшей мере одним из F, Cl, Br, I, OH, C_1-C_4 алкила, C_1-C_4 алкила, замещенного по меньшей мере одним OH, C_1-C_4 фторалкила, C_1-C_4 алкокси и C_1-C_4 галоалкокси, или



(пунктирными линиями обозначена точка присоединения);

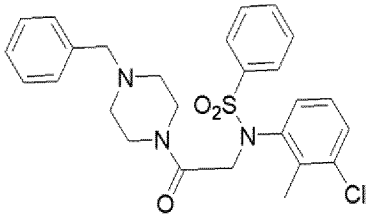
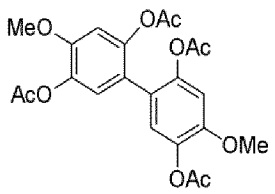
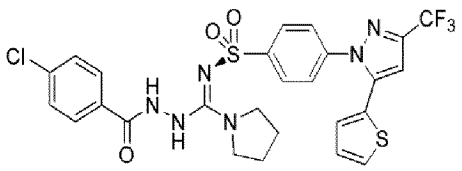
каждый R^5 независимо представляет собой водород или необязательно замещенный C_1-C_4 алкил;

R^1 и R^2 независимо представляют собой водород или необязательно замещенный C_1-C_4 алкил;

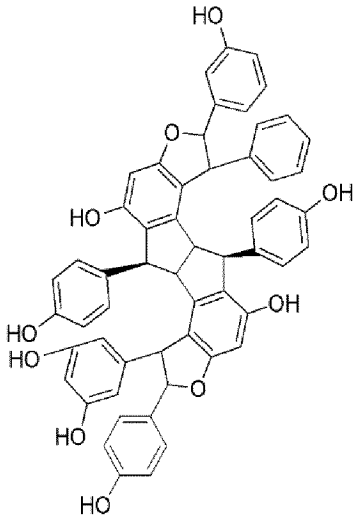
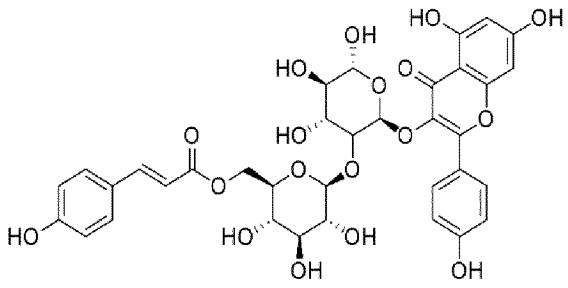
X^1 и X^2 независимо представляют собой карбонил или CH_2;

n равен 2, 3 или 4;

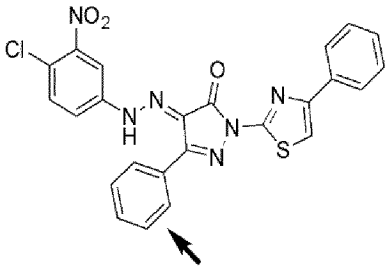
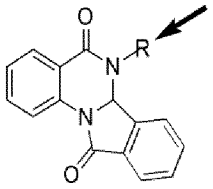
R^3 и R^4 независимо представляют собой водород или необязательно замещенный C_1-C_4 алкил, или R^3 и R^4 могут в совокупности образовывать гетероциклильное кольцо; или

где TNF-связывающий фрагмент представляет собой по меньшей мере одно из IA-14069,  ,  ,  ; или

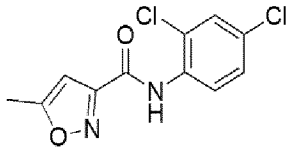
где TNF-связывающий фрагмент имеет по меньшей мере одну из следующих структур:



; или

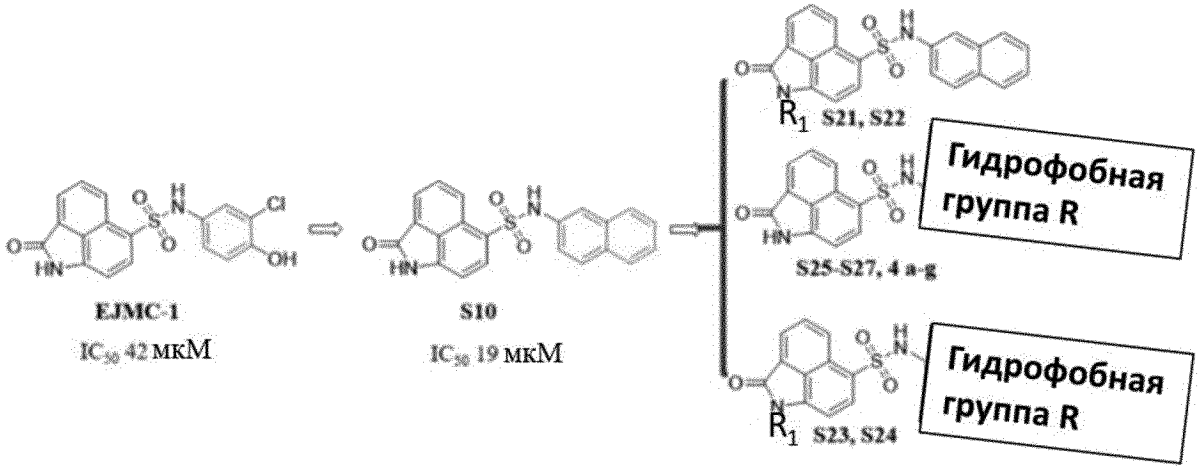
где TNF-связывающий фрагмент имеет по меньшей мере одну из следующих структур:



R= CH_2Ph, C_6H_4OMe-p, C_6H_4Cl-p, H

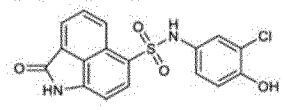
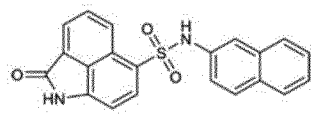
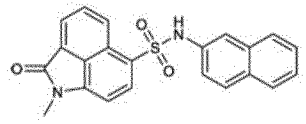
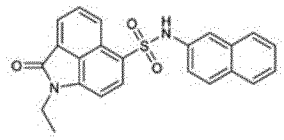
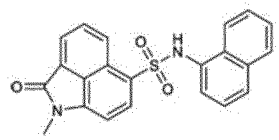
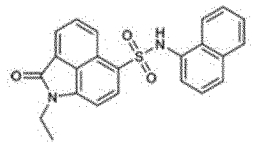
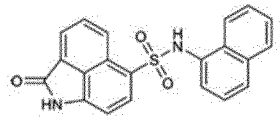
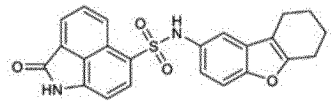
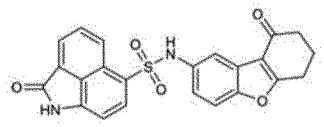
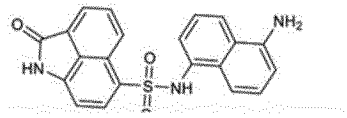
,

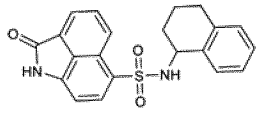
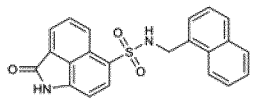
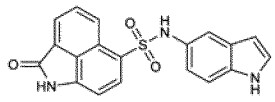
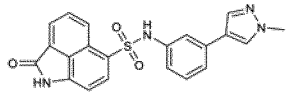
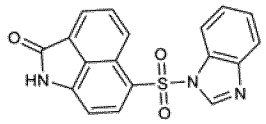

; или

где TNF-связывающий фрагмент имеет по меньшей мере одну из следующих структур:



,

Соединение	Структура
EJMC-1	
S10	
S21	
S22	
S23	
S24	
S25	
S26	
S27	
4a	

Соединение	Структура
4c	
4d	
4e	
4f	
4g	

; или

где TNF-связывающий фрагмент имеет по меньшей мере одну из следующих структур:

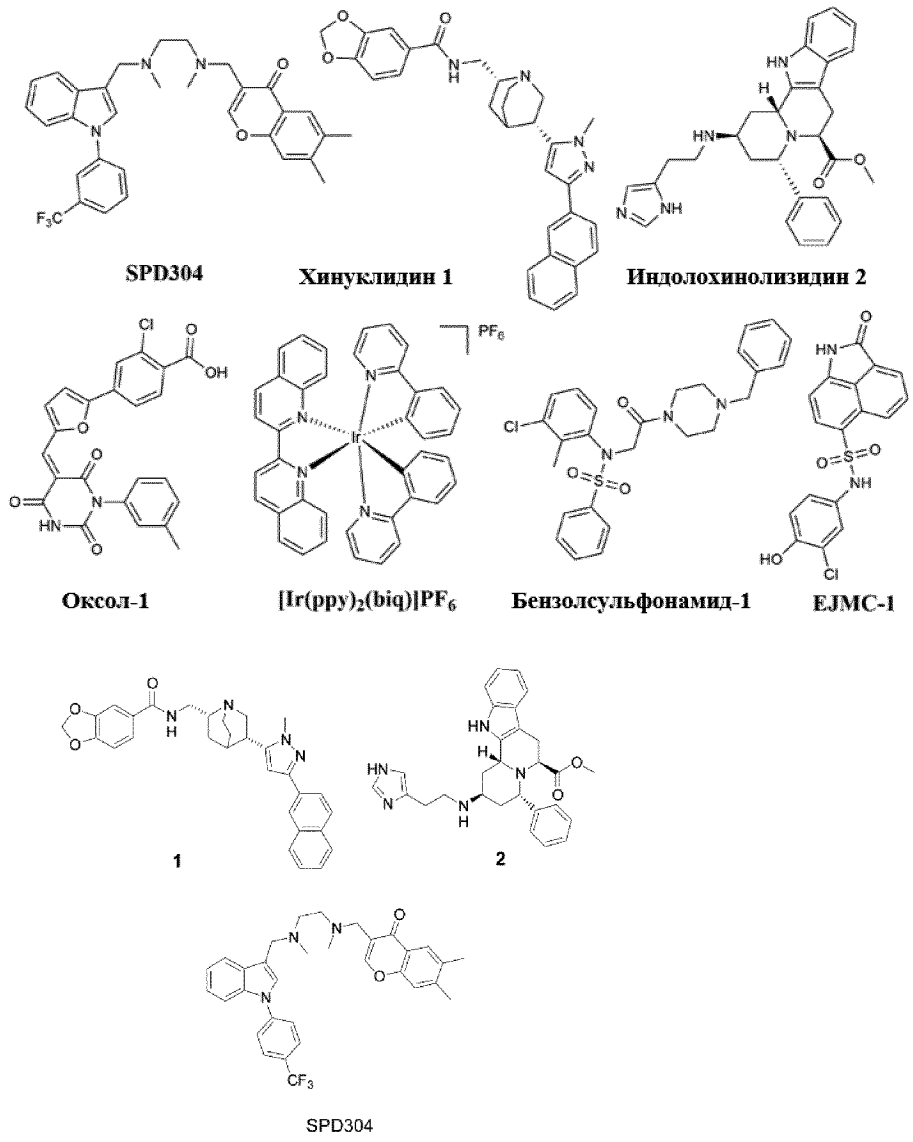
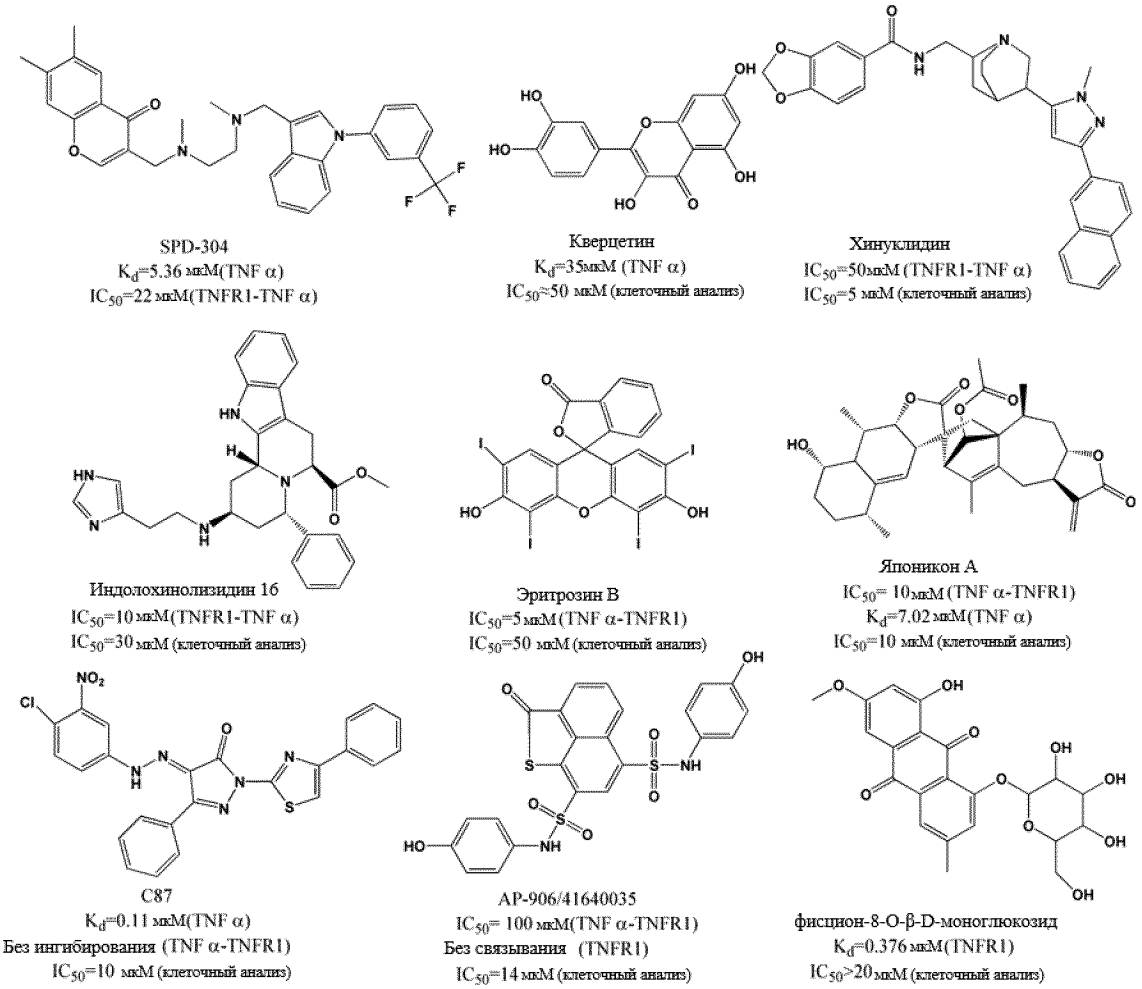


Figure 1.
Chemical structures of small molecule TNF-α inhibitors quinuclidine **1**, indoloquinolizidine **2** and SPD304.

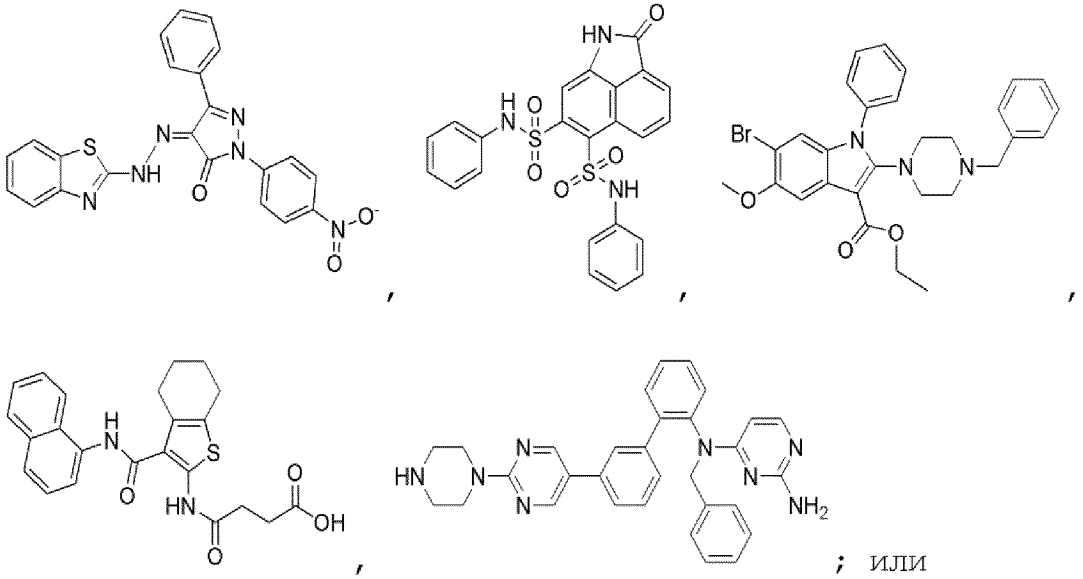
; или

где TNF-связывающий фрагмент имеет по меньшей мере одну из следующих структур:



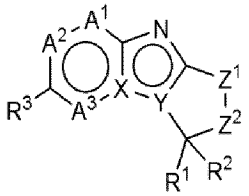
или

где TNF-связывающий фрагмент имеет по меньшей мере одну из следующих структур:



; ИЛИ

где TNF-связывающий фрагмент имеет по меньшей мере одну из следующих структур:



(2b), где:

R^1 представляет собой H, OH, F или необязательно замещенный (C_1-C_3)алкил;

R^2 представляет собой необязательно замещенный арил, необязательно замещенный (C_3-C_8)циклоалкил, необязательно замещенный гетероарил или необязательно замещенный гетероциклил; или

R^1 и R^2 совместно могут образовывать необязательно замещенное насыщенное или частично насыщенное карбоциклическое кольцо или необязательно замещенное насыщенное или частично насыщенное гетероциклическое кольцо;

вплоть до двух из A^1, A^2 и A^3 представляют собой N, и остальные независимо представляют собой $C(R^{A2})$;

X представляет собой N и Y представляет собой C, где:

Z^1 представляет собой $-C(R^z)_2-$ и Z^2 представляет собой $-C(R^z)_2-$, $-N(R^{z1})-$ или -O-; или

Z^1 представляет собой $-CH_2-$ и Z^2 представляет собой $-Z^{2a}-Z^{2b}-$,

где Z^{2a} присоединен к Z^1 и Z^{2b} присоединен к $C(R^1)(R^2)$; и Z^{2a} и Z^{2b} независимо представляют собой $-C(R^z)_2-$, $-C(R^z)_2C(R^z)_2-$, -O- или $-N(R^{z1})-$ при условии, что один из Z^{2a} и Z^{2b} представляет собой $-C(R^z)_2-$ или $-C(R^z)_2C(R^z)_2-$; или $-Z^{2a}-Z^{2b}-$ образуют $-N(R^{z1})C(O)-$ или $-C(O)N(R^{z1})-$;

или

X представляет собой C и Y представляет собой N, при условии, что R^1 не является -OH или -F, где:

Z^1 представляет собой $-C(R^z)_2-$ и Z^2 представляет собой $-C(R^z)_2-$; или

Z^1 представляет собой $-C(R^z)_2-$ и Z^2 представляет собой $-Z^{2a}-Z^{2b}-$,

где Z^{2a} присоединен к Z^1 и Z^{2b} присоединен к $C(R^1)(R^2)$, и Z^{2a} представляет собой $-C(R^z)_2-$, $-C(R^z)_2C(R^z)_2-$, -O- или $-N(R^{z1})$ и Z^{2b} представляет собой $-C(R^z)_2-$, или $-Z^{2a}-Z^{2b}-$ образуют $-N(R^{z1})C(O)-$ или $-C(O)N(R^{z1})-$;

R^3 представляет собой $-R^{3a}-R^{3b}$, где:

R^{3a} представляет собой необязательно замещенный арил, необязательно замещенный насыщенный или частично насыщенный гетероциклил или необязательно замещенный гетероарил;

R^{3b} представляет собой H, $-CF_3$, -CN, -C(O)OH, $-N(R^a)(R^b)$, $-C(O)N(R^a)(R^b)$, -C(O)-необязательно замещенный гетероциклил, $-O(R^a)$, $-S(O)_2$(C_1-C_3)алкил, $-S(O)_2N(R^c)(R^d)$, -S-(C_1-C_3)алкил, $-S(O)_2-R^c$ необязательно замещенный (C_1-C_5)алкил, $-(CH_2)_p$-необязательно замещенный (C_3-C_6)циклоалкил, $-(CH_2)_p$-необязательно замещенный гетероарил или $-(CH_2)_p$-необязательно замещенный насыщенный, ненасыщенный или частично насыщенный гетероциклил; при условии, что $R3^b$ не является H или метокси, когда R^2

представляет собой необязательно замещенный фенил;

R^a и R^b независимо выбраны из H, необязательно замещенного (C_1-C_5)алкила, -C(O)-необязательно замещенного (C_1-C_5)алкила, необязательно замещенного -$(CH_2)_p$-(C_3-C_6)циклоалкила и -$(CH_2)_p$-необязательно замещенного гетероциклила;

R^c и R^d независимо выбраны из H, необязательно замещенного (C_1-C_5)алкила, необязательно замещенного -$(CH_2)_p$-(C_3-C_6)циклоалкила и -$(CH_2)_p$-необязательно замещенного гетероциклила;

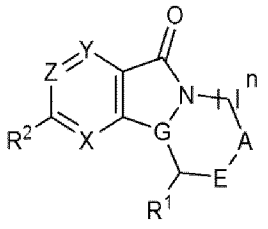
R^{A2} независимо представляет собой H, CF_3, галоген или (C_1-C_3)алкил;

R^z независимо представляет собой H, F, CF_3, -OH или (C_1-C_3)алкил;

R^{z1} независимо представляет собой H или (C_1-C_3)алкил; и

p независимо равен 0, 1 или 2; или

где TNF-связывающий фрагмент представляет собой по меньшей мере:



(2c),

где:

X, Y и Z независимо представляют собой CR^4 или N; при условии, что Y и Z оба не являются N;

A представляет собой -$C(R^z)_2$-;

E представляет собой CH_2 или O и G представляет собой CH; или E представляет собой CH_2 и G представляет собой CH или N;

R^1 представляет собой необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил;

R^2 представляет собой -R^{2a}-R^{2b}, где:

R^{2a} представляет собой необязательно замещенный насыщенный, ненасыщенный или частично насыщенный гетероциклил или необязательно замещенный гетероарил;

R^{2b} представляет собой -$N(R^a)(R^b)$, -$O(R^a)$, необязательно замещенный (C_1-C_5)алкил, необязательно замещенный (C_3-C_6)циклоалкил, -$(CH_2)_p$-необязательно замещенный гетероарил или -$(CH_2)_p$-необязательно замещенный гетероциклил; где

R^a и R^b независимо выбраны из H, необязательно замещенного (C_1-C_5)алкила и -$(CH_2)_n$-необязательно замещенного гетероциклила;

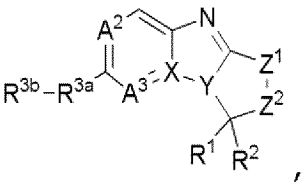
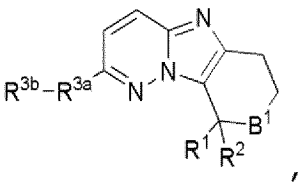
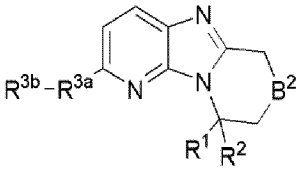
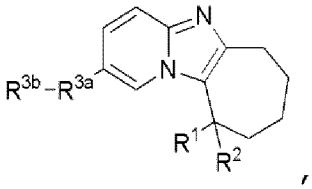
R^4 независимо представляет собой H, галоген, CF_3 или (C_1-C_3)алкил;

R^z независимо представляет собой H, галоген, CF_3 или (C_1-C_3)алкил;

n равен 0 или 1; и

p равен 0 или 1.

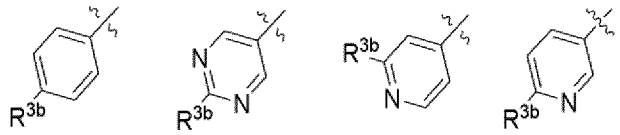
Вариант осуществления 28 относится к соединению по варианту осуществления 27, где соединение формулы (1a) имеет по меньшей мере одну из следующих структур:


,

,

или

,

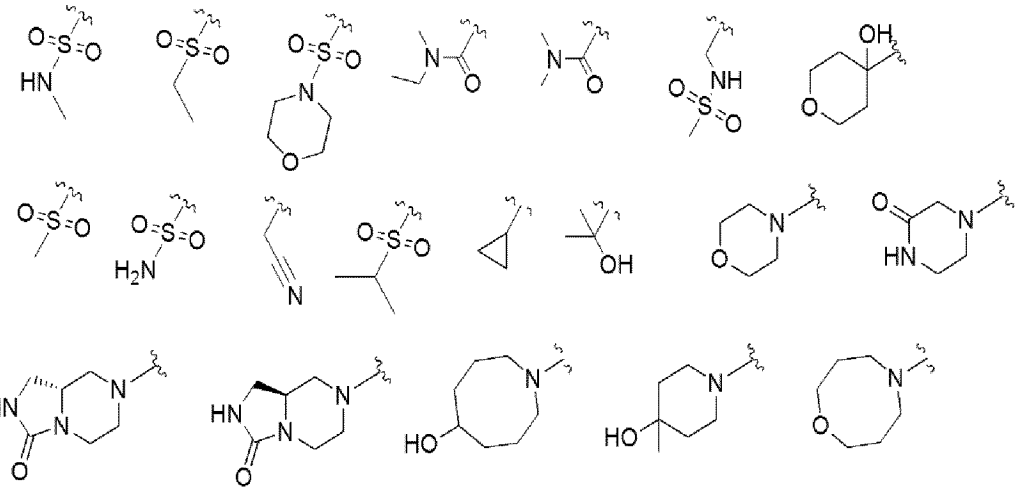
где:

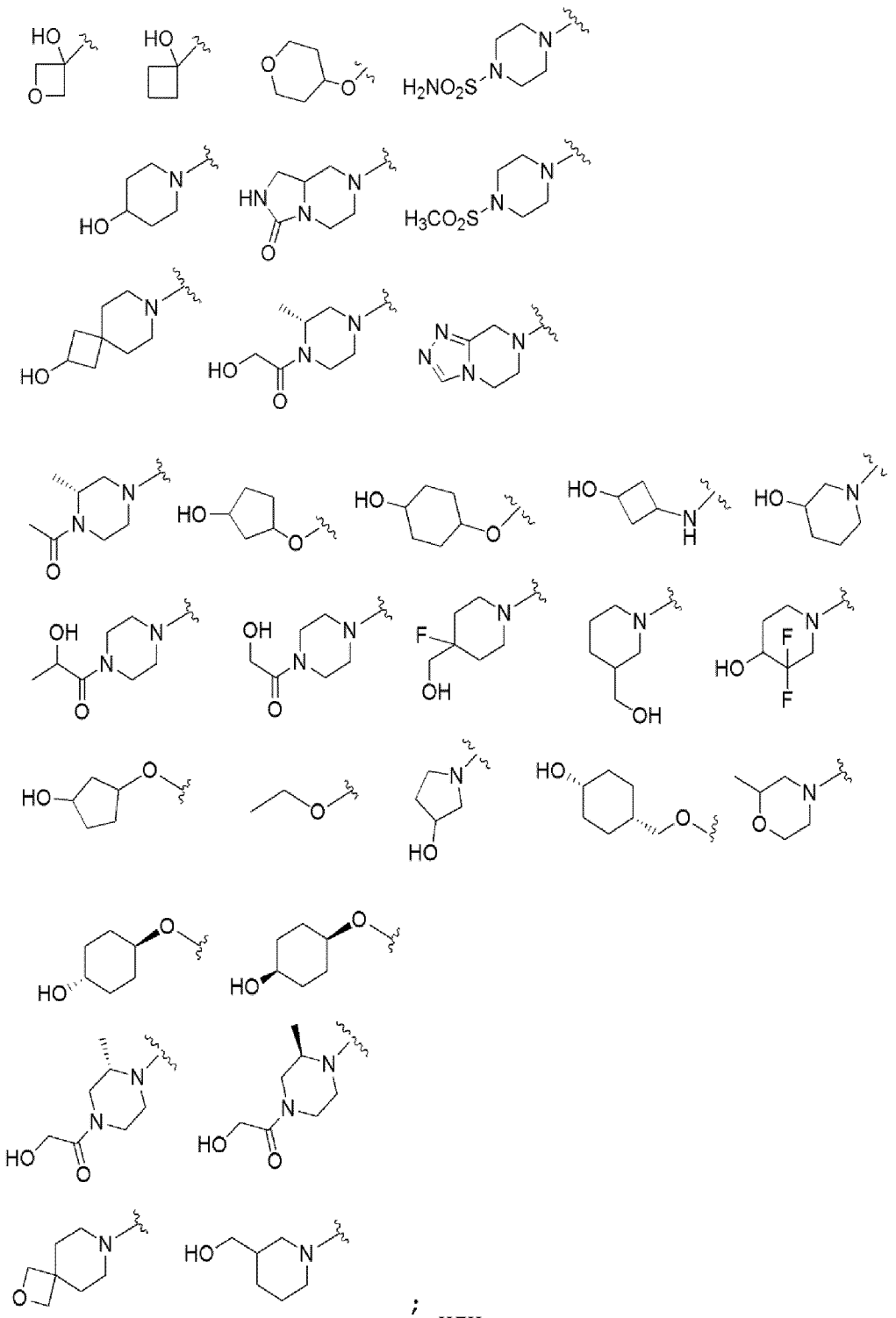
A^2 представляет собой CH или N; A^3 представляет собой CH или N; B^1 представляет собой CH_2 или O; B^2 представляет собой CH_2 или O; X представляет собой C или N; Y представляет собой C или N; Z^1 представляет собой CH_2 или O; и Z^2 представляет собой CH_2 или O;

R^{3a} выбран из группы, состоящей из:

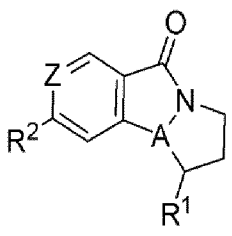

;

R^{3b} выбран из группы, состоящей из:

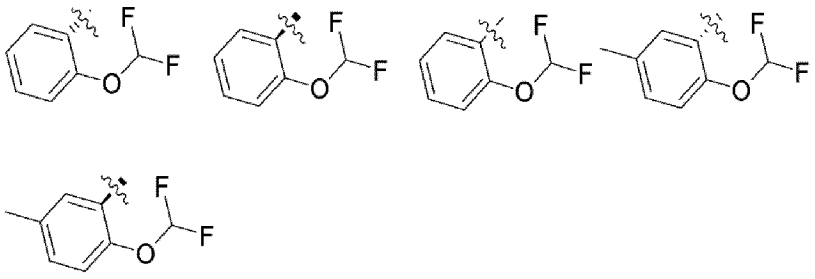




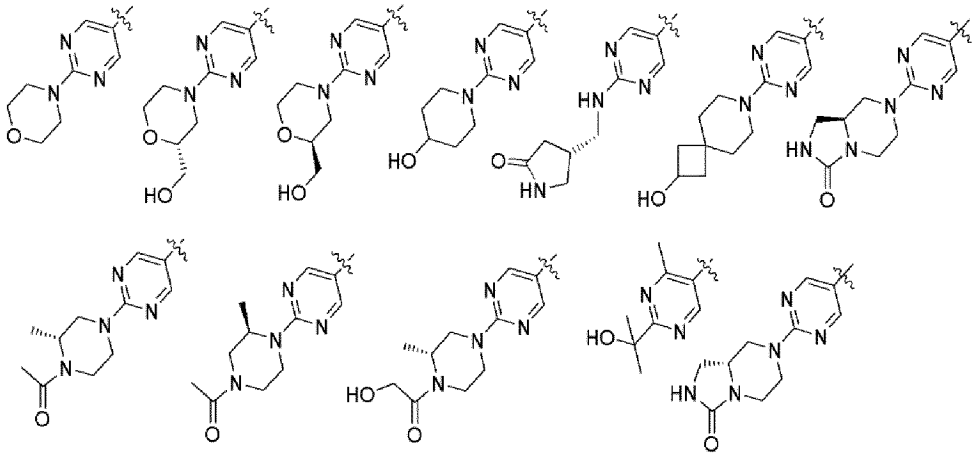
; или



где соединение формулы (2a) представляет собой , где G представляет собой N или CH; Z представляет собой CH или CF; R^1 выбран из группы,



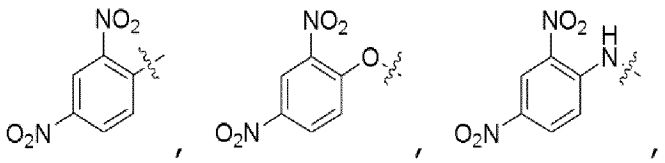
состоящей из ; и R^2 выбран из группы, состоящей из

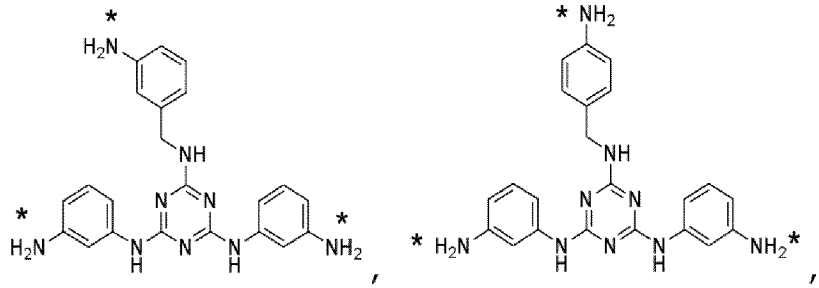


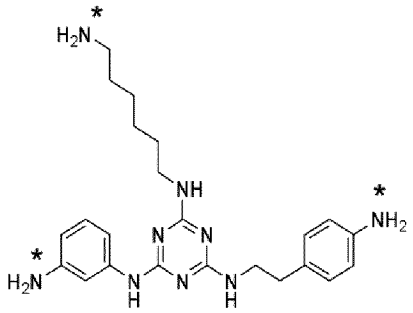
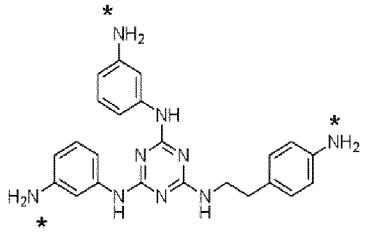
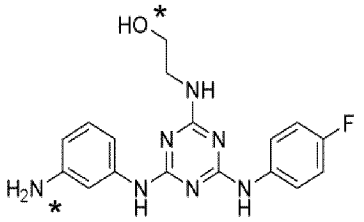
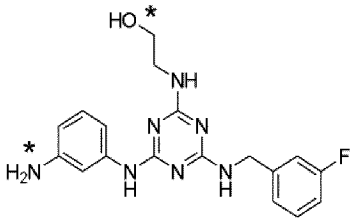
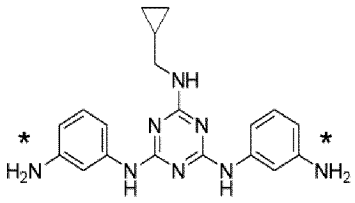
.

Вариант осуществления 29 относится к соединению по любому из вариантов осуществления 3-25, где AATM представляет собой одно из следующего:

Антагонист FcRn,



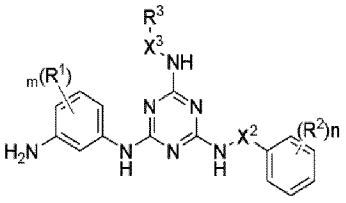
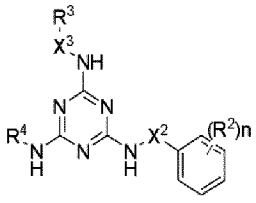



,

,

,

,

,

циклический пептид FcIII или его любая восстановленная форма,

циклический пептид FcIII-4C (амид) или его любая восстановленная форма,

соединение формулы (3a) или (3b):


(3a) или

(3b)

где:

в каждом случае R^1 независимо представляет собой F, Cl, Br, I, CN, NO_2, R, OR, C_1-C_6 галоалкил, C_3-C_8 галоциклоалкил, C_1-C_6 галоалкокси, C_3-C_8 галоциклоалкокси, -$N(R)_2$, -SR, -S(=O)R, -$S(=O)_2$R, -$S(=O)_2N(R)_2$, -C(=O)R, -C(=O)OR, -OC(=O)R, -$C(=O)N(R)_2$, -$N(R)S(=O)_2$R, -N(R)C(=O)OR, -N(R)C(=O)R и -$N(R)C(=O)N(R)_2$, где в каждом случае R независимо представляет собой H, C_1-C_6 алкил или C_3-C_8 циклоалкил;

m равен 0, 1, 2, 3 или 4;

X^2 представляет собой связь, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил или необязательно замещенный C_1-C_6 гетероалкил;

в каждом случае R^2 независимо представляет собой F, Cl, Br, I, CN, NO_2, R, OR, C_1-C_6 галоалкил, C_3-C_8 галоциклоалкил, C_1-C_6 галоалкокси, C_3-C_8 галоциклоалкокси, -$N(R)_2$, -SR, -S(=O)R, -$S(=O)_2$R, -$S(=O)_2N(R)_2$, -C(=O)R, -C(=O)OR, -OC(=O)R, -$C(=O)N(R)_2$, -$N(R)S(=O)_2$R, -N(R)C(=O)OR, -N(R)C(=O)R и -$N(R)C(=O)N(R)_2$, где в каждом случае R независимо представляет собой H, C_1-C_6 алкил или C_3-C_8 циклоалкил;

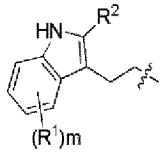
n равен 0, 1, 2, 3 или 4;

X^3 представляет собой связь, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил или необязательно замещенный C_1-C_6 гетероалкил;

R^3 представляет собой H, R, -OH, $-NH_2$, -NHR, -C(=O)OH или -SH, где в каждом случае R представляет собой C_1-C_6 алкил или C_3-C_8 циклоалкил;

R^4 представляет собой циклоалкил, включая полициклический циклоалкил, который необязательно замещен 1-4 группами, независимо выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, CN, NO_2, R, OR, C_1-C_6 галоалкила, C_3-C_8 галоциклоалкила, C_1-C_6 галоалкокси, C_3-C_8 галоциклоалкокси, $-N(R)_2$, -SR, $-S(=O)R$, $-S(=O)_2R$, $-S(=O)_2N(R)_2$, $-C(=O)R$, $-C(=O)OR$, $-OC(=O)R$, $-C(=O)N(R)_2$, $-N(R)S(=O)_2R$, $-N(R)C(=O)OR$, $-N(R)C(=O)R$ и $-N(R)C(=O)N(R)_2$, где в каждом случае R независимо представляет собой H, C_1-C_6 алкил или C_3-C_8 циклоалкил;

соединение формулы:



,

где:

в каждом случае R^1 независимо представляет собой F, Cl, Br, I, CN, NO_2, R, OR, C_1-C_6 галоалкил, C_3-C_8 галоциклоалкил, C_1-C_6 галоалкокси, C_3-C_8 галоциклоалкокси, $-N(R)_2$, -SR, $-S(=O)R$, $-S(=O)_2R$, $-S(=O)_2N(R)_2$, $-C(=O)R$, $-C(=O)OR$, $-OC(=O)R$, $-C(=O)N(R)_2$, $-N(R)S(=O)_2R$, $-N(R)C(=O)OR$, $-N(R)C(=O)R$ и $-N(R)C(=O)N(R)_2$, где в каждом случае R независимо представляет собой H, C_1-C_6 алкил или C_3-C_8 циклоалкил;

m равен 0, 1, 2, 3 или 4;

в каждом случае R^2 независимо представляет собой H, F, Cl, Br, I, CN, NO_2, R, OR, C_1-C_6 галоалкил, C_3-C_8 галоциклоалкил, C_1-C_6 галоалкокси, C_3-C_8 галоциклоалкокси, $-N(R)_2$, -SR, $-S(=O)R$, $-S(=O)_2R$, $-S(=O)_2N(R)_2$, $-C(=O)R$, $-C(=O)OR$, $-OC(=O)R$, $-C(=O)N(R)_2$, $-N(R)S(=O)_2R$, $-N(R)C(=O)OR$, $-N(R)C(=O)R$ и $-N(R)C(=O)N(R)_2$, где в каждом случае R независимо представляет собой H, C_1-C_6 алкил или C_3-C_8 циклоалкил.

Вариант осуществления 30 относится к соединению по варианту осуществления 29, где антагонист FcRn представляет собой розаноликсизумаб или эфгартигимод.

Вариант осуществления 31 относится к фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент и по меньшей мере одно соединение по любому из вариантов осуществления 1-30.

Вариант осуществления 32 относится к фармацевтической композиции по варианту осуществления 31, дополнительно содержащей другое терапевтическое средство, которое лечит облегчает и/или предотвращает заболевание или нарушение.

Вариант осуществления 33 относится к способу лечения, облегчения и/или предотвращения заболевания или нарушения у субъекта, включающему введение терапевтически эффективного количества по меньшей мере одного соединения по любому из вариантов осуществления 1-30 и/или по меньшей мере одной фармацевтической композиции по любому из вариантов осуществления 31-32.

Вариант осуществления 34 относится к способу по варианту осуществления 33, где

заболевание или нарушение представляет собой аутоиммунное заболевание, рак или воспаление.

Вариант осуществления 35 относится к способу по варианту осуществления 34, где аутоиммунное заболевание представляет собой болезнь Аддисона, аутоиммунный полиэндокринный синдром (APS) 1, 2 и 3 типов, аутоиммунный панкреатит (AIP), сахарный диабет 1 типа, аутоиммунный тиреоидит, тиреоидит Орда, болезнь Грейвса, аутоиммунный оофорит, эндометриоз, аутоиммунный орхит, синдром Шегрена, аутоиммунную энтеропатию, коэлиакию, болезнь Крона, микроскопический колит, язвенный колит, аутофосфолипидный синдром (APlS), апластическую анемию, аутоиммунную гемолитическую анемию, аутоиммунный лимфопролиферативный синдром, аутоиммунную нейтропению, аутоиммунную тромбоцитопеническую пурпуру, болезнь холодовых агглютининов, эссенциальную смешанную криоглюлинемию, синдром Эванса, пернициозную анемию, истинную эритроцитарную аплазию, тромбоцитопению, болезненное ожирение, болезнь Стилла, анкилозирующий спондилит, CREST-синдром, лекарственную волчанку, артрит, связанный с энтезитом, эозинофильный фасциит, синдром Фелти, AgG4-связанную болезнь, ювенильный артрит, болезнь Лайма (хроническую), смешанное заболевание соединительной ткани (MCTD), палиндромный ревматизм, синдром Парри-Ромберга, синдром Парсонажа-Тернера, псориатический артрит, реактивный артрит, рецидивирующий полихондрит, ретроперитонеальный фиброз, ревматическую лихорадку, ревматоидный артрит, саркоидоз, синдром Шницлера, системную красную волчанку, недифференцированное заболевание соединительной ткани (UCTD), дерматомиозит, фибромиалгию, миозит, миозит с тельцами включения, миастению, нейромиотонию, паранеопластическую дегенерацию мозжечка, полимиозит, острый диссеминированный энцефаломиелит (ADEM), острую моторную аксональную нейропатию, анти-NMDA-рецепторный энцефалит, концентрический склероз Бало, энцефалит Бикерстафа, хроническую воспалительную демиелинизирующую полинейропатию, синдром Гийена-Барре, энцефалопатию Хашимото, идиопатические воспалительные демиелинизирующие заболевания, миастенический синдром Ламберта-Итона, рассеянный склероз, модель II, синдром Ошторана, детское аутоиммунное нейропсихическое расстройство, ассоциированное со стрептококком (PANDAS), прогрессирующую воспалительную нейропатию, синдром беспокойных ног, синдром скованного человека, хорею Синденхема, поперечный миелит, аутоиммунную ретинопатию, аутоиммунный увеит, синдром Когана, офтальмопатию Грейвса, промежуточный увеит, деревянистый конъюнктивит, язву Мурена, оптический нейромиелит, синдром опсоклонуса, неврит зрительного нерва, склерит, синдром Сусака, симпатическую офтальмию, синдром Толозы-Ханта, аутоиммунное заболевание внутреннего уха (AIED), болезнь Меньера, болезнь Бехчета, эозинофильный гранулематоз с полиангиитом (EGPA), гигантоклеточный артериит, гранулематоз с полиангиитом (GPA), IgA-васкулит (IgAV), IgA-нефропатию, болезнь Кавасаки, лейкоцитокластический васкулит, волчаночный васкулит, ревматоидный васкулит, микроскопический полиангиит

(MPA), узелковый полиартериит (PAN), ревматическую полимиалгию, уртикарный васкулит, васкулит, первичный иммунодефицит, синдром хронической усталости, комплексный региональный болевой синдром, эозинофильный эзофагит, гастрит, интерстициальную болезнь легких, синдром POEMS, синдром Рейно, первичный иммунодефицит или гангренозную пиодермию.

Вариант осуществления 36 относится к способу по варианту осуществления 34, где рак представляет собой рак предстательной железы, метастатический рак предстательной железы, рак желудка, рак толстого кишечника, рак прямой кишки, рак печени, рак поджелудочной железы, рак легких, рак молочной железы, рак шейки матки, рак тела матки, рак яичников, рак яичек, рак мочевого пузыря, рак почки, рак головного мозга/ЦНС, рак головы и шеи, рак горла, болезнь Ходжкина, неходжскинскую лимфому, множественную миелому, лейкоз, меланому, немеланомный рак кожи, острый лимфоцитарный лейкоз, острый миелогенный лейкоз, саркому Юинга, мелкоклеточный рак легких, хориокарциному, рабдомиосаркому, опухоль Вильмса, нейробластому, волосатоклеточный лейкоз, рак ротовой полости/глотки, пищевода, гортани, рак почки или лимфому.

Вариант осуществления 37 относится к способу по варианту осуществления 34, где воспаление представляет собой воспалительные нейродегенеративные заболевания, заболевания, связанные с нарушением иммунного ответа, вызывающим воспаление, хронические воспалительные заболевания, гипергликемические заболевания, диабет (I и II типа), гибель панкреатических β-клеток и связанные с этим гипергликемические заболевания, заболевание печени, почечную недостаточность, сердечно-сосудистое заболевание, мышечную дегенерацию и атрофию, неспецифическое воспаление, подагру, силикоз, атеросклероз и сопутствующие состояния, инсульт и травму спинного мозга или артериосклероз.

Вариант осуществления 38 относится к способу по любому из вариантов осуществления 33-37, где субъекту дополнительно вводят по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство, которое лечит, облегчает и/или предотвращает заболевание или нарушение.

Вариант осуществления 39 относится к способу по любому из вариантов осуществления 33-38, где субъект является млекопитающим.

Вариант осуществления 40 относится к способу по любому из вариантов осуществления 33-39, где субъект является человеком.

Содержание любых и всех патентов, патентных заявок и публикаций, упомянутых в настоящем документе, включено в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме. Хотя настоящее изобретение было описано со ссылкой на конкретные варианты осуществления, очевидно, что и другие варианты осуществления и вариации настоящего изобретения могут быть разработаны другими специалистами в данной области без отклонения от истинной сущности и объема изобретения. Прилагаемая формула изобретения должна быть истолкована как включающая все такие варианты

осуществления и эквивалентные вариации.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I) или его соль, геометрический изомер, стереоизомер или сольват:

$[\text{белок-связывающий фрагмент}]_{k'}$-$[CON]_h$-$[\text{линкер}]_i$-$[CON]_{h'}$-$[CRBM]_{j'}$ (I),

где:

белок-связывающий фрагмент представляет собой молекулу, которая связывает внеклеточный белок;

CRBM представляет собой клеточный рецептор-связывающий фрагмент, который связывает по меньшей мере один рецептор на поверхности отвечающей за деградацию клетки у субъекта, где связывание (I) приводит к эндоцитозу и деградации внеклеточного белка;

каждый CON независимо представляет собой связь или группу, которая ковалентно связывает белок-связывающий фрагмент с CRBM, белок-связывающий фрагмент с линкером и/или линкер с CRBM;

линкер представляет собой группу с валентностью в диапазоне от 1 до 15;

k' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15;

h представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15;

i представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15;

h' представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15;

j представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15.

2. Соединение формулы (II) или его соль, геометрический изомер, стереоизомер или сольват:

$[\text{TNF-связывающий фрагмент}]_{k'}$-$[CON]_h$-$[\text{линкер}]_i$-$[CON]_{h'}$-$[CRBM]_{j'}$ (II),

где:

TNF-связывающий фрагмент представляет собой молекулу, которая связывает TNF;

CRBM представляет собой клеточный рецептор-связывающий фрагмент, который связывает по меньшей мере один рецептор на поверхности отвечающей за деградацию клетки у субъекта, где связывание (II) приводит к эндоцитозу и деградации TNF;

каждый CON независимо представляет собой связь или группу, которая ковалентно связывает TNF-связывающий фрагмент с CRBM, TNF-связывающий фрагмент с линкером и/или линкер с CRBM;

линкер представляет собой группу с валентностью в диапазоне от 1 до 15;

k' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15;

h представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15;

i представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15;

h' представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15;

j представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15.

3. Соединение формулы (III) или его соль, геометрический изомер, стереоизомер или сольват:

$[AATM]_{k'}$-$[CON]_{h}$-[линкер]$_{i}$-$[CON]_{h'}$-$[CRBM]_{j'}$ (III),

где:

AATM представляет собой молекулу, которая связывает аутоантитело;

CRBM представляет собой клеточный рецептор-связывающий фрагмент, который связывает по меньшей мере один рецептор на поверхности отвечающей за деградацию клетки у субъекта, где связывание (III) приводит к эндоцитозу и деградации аутоантитела;

каждый CON независимо представляет собой связь или группу, которая ковалентно связывает AATM с CRBM, AATM с линкером и/или линкер с CRBM;

линкер представляет собой группу с валентностью в диапазоне от 1 до 15;

k' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15;

h представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15;

i представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15;

h' представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 15;

j представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15.

4. Соединение по любому из пунктов 1-3, где валентность линкера равна 1, 2 или 3.

5. Соединение по любому из пунктов 1-3, где k' равен 1, 2 или 3.

6. Соединение по любому из пунктов 1-3, где j равен 1, 2 или 3.

7. Соединение по любому из пунктов 1-3, где h равен 1, 2 или 3.

8. Соединение по любому из пунктов 1-3, где h' равен 1, 2 или 3.

9. Соединение по любому из пунктов 1-3, где i равен 1, 2 или 3.

10. Соединение по любому из пунктов 1-3, где по меньшей мере один из h, h' и i равен по меньшей мере 1.

11. Соединение по любому из пунктов 1-3, где каждый из k', j', h, h' и i независимо равен 1, 2 или 3.

12. Соединение по любому из пунктов 1-3, где k' равен 1, и j' равен 1, 2 или 3.

13. Соединение по п. 1, которое представляет собой:

[белок-связывающий фрагмент]-$[CON]_{0-1}$-[линкер]-$[CON]_{0-1}$-[CRBM] (Ia).

14. Соединение по п. 2, которое представляет собой:

[TNF-связывающий фрагмент]-$[CON]_{0-1}$-[линкер]-$[CON]_{0-1}$-[CRBM] (IIa).

15. Соединение по п. 3, которое представляет собой:

[AATM]-$[CON]_{0-1}$-[линкер]-$[CON]_{0-1}$-[CRBM] (IIIa).

16. Соединение по любому из пунктов 1-3, где отвечающая за деградацию клетка представляет собой гепатоцит.

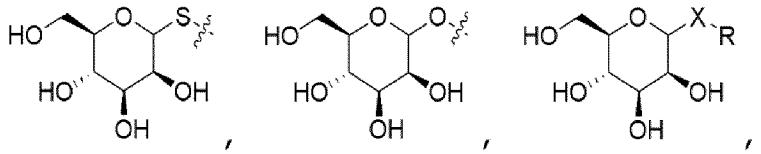
17. Соединение по любому из пунктов 1-3, где CRBM представляет собой рецептор фолиевой кислоты (фолата)-связывающий фрагмент, маннозный рецептор-связывающий фрагмент, манноза-6-фосфатный (M6P) рецептор-связывающий фрагмент, родственный рецептору липопротеина низкой плотности рецептор-белок 1 (LRP1)-связывающий фрагмент, рецептор липопротеина низкой плотности (LDLR)-связывающий фрагмент, FcγRI рецептор-связывающий фрагмент, трансферриновый рецептор-связывающий фрагмент, фагоцитарный рецептор макрофагов-связывающий фрагмент, связанный с G-

белками рецептор-связывающий фрагмент или асиалогликопротеиновый рецептор (ASGPR)-связывающий фрагмент.

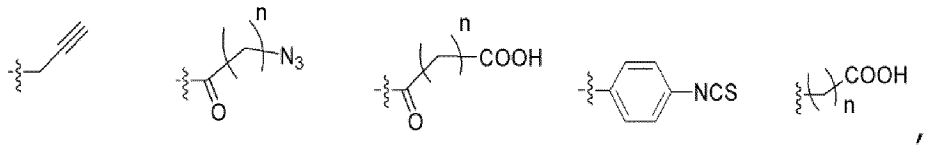
18. Соединение по любому из пунктов 1-3, где CRBM представляет собой:

(a) рецептор фолиевой кислоты (фолата)-связывающий фрагмент, представляющий собой по меньшей мере одно из фолиевой кислоты, метотрексата, пеметрекседа или их биологически активных фрагментов;

(b) маннозный рецептор-связывающий фрагмент, представляющий собой по меньшей мере одно из:

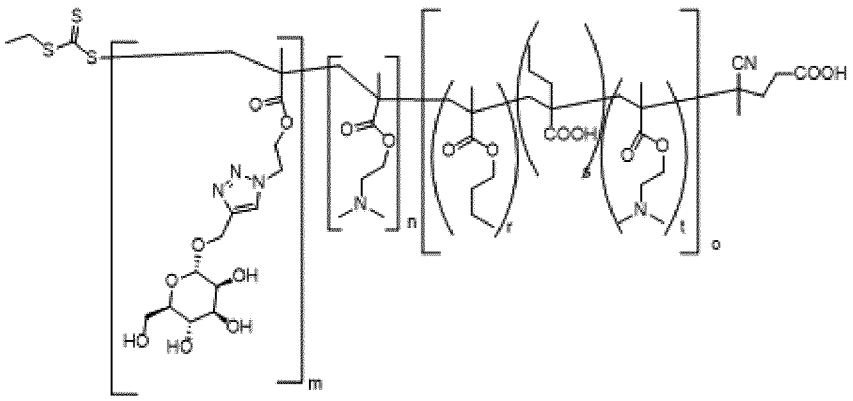


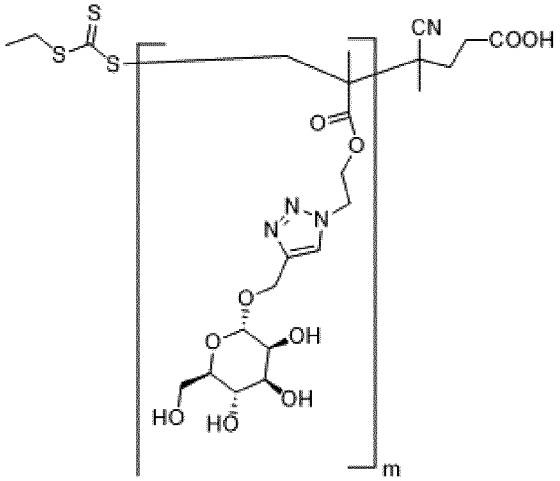
где: X представляет собой S или O, R выбран из группы, состоящей из:



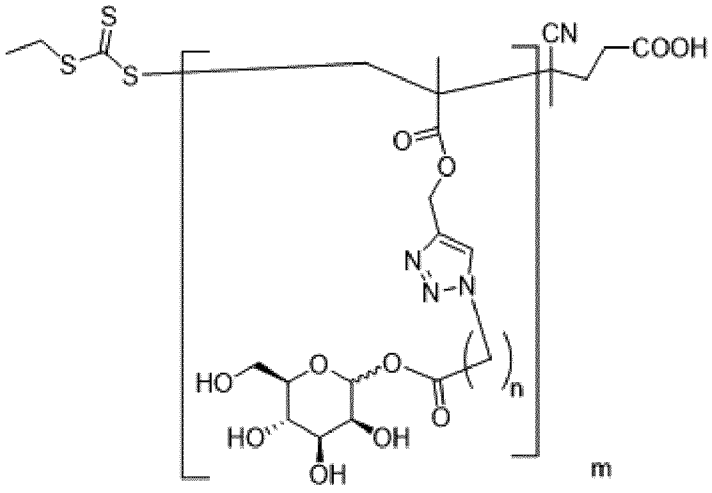
и в каждом случае «n» независимо равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20; и

полимерной молекулы, выбранной из группы, состоящей из:

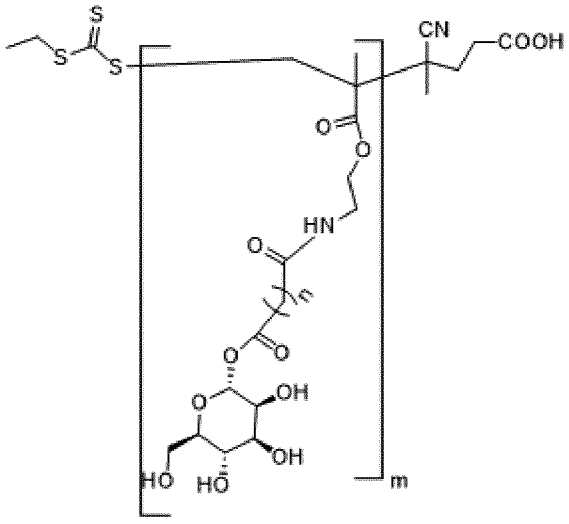




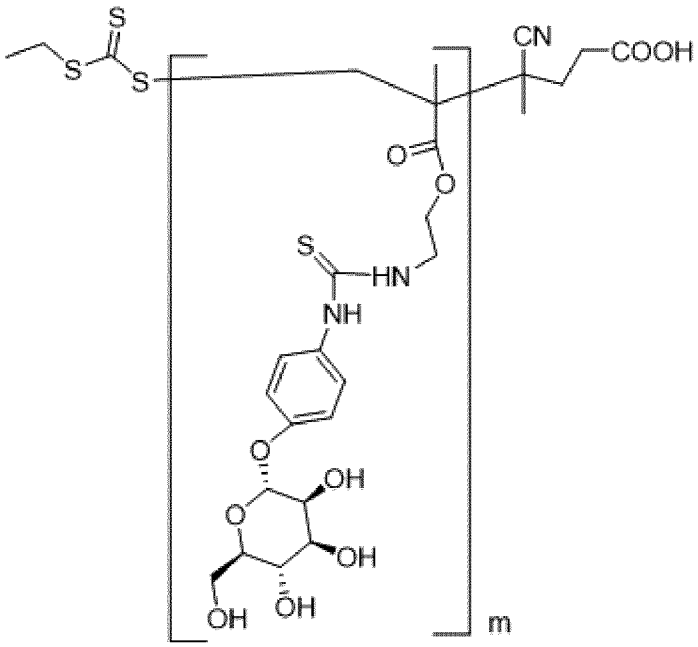
,



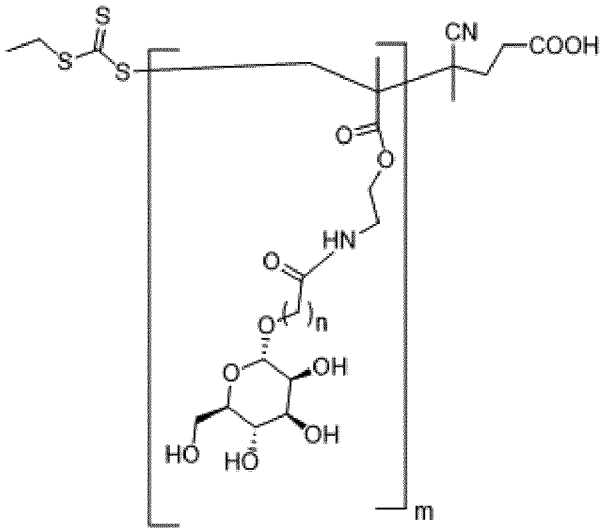
,



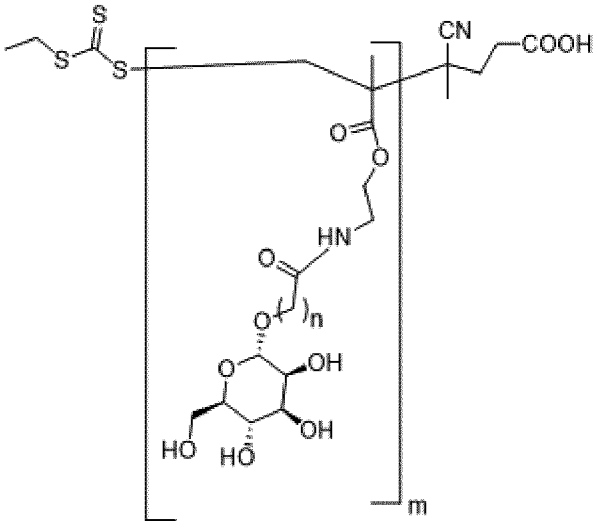
,



,



и

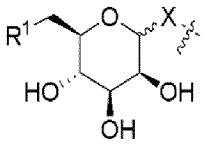
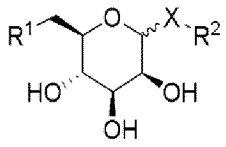


, где

m представляет собой целое число от 1 до 100,

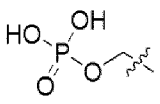
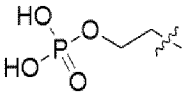
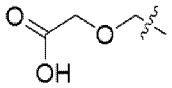
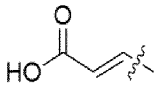
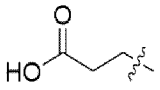
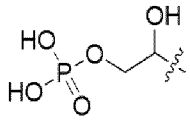
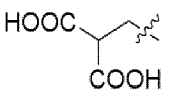
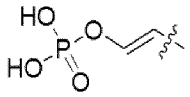
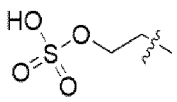
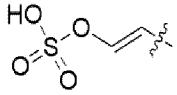
каждый из r, s, t и o независимо представляет собой целое число от 0 до 100, и группа COOH в полимерной молекуле дериватизирована белок-связывающим фрагментом, TNF-связывающим фрагментом или AATM;

(c) манноза-6-фосфатный (M6P) рецептор-связывающий фрагмент, представляющий собой по меньшей мере одно из:

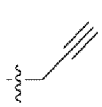
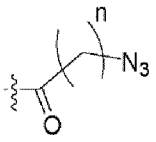
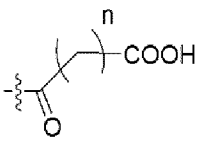
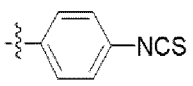
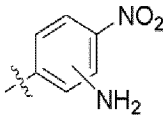
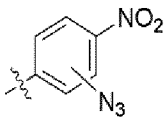
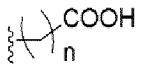
,

где X представляет собой O или S, R^1 выбран из группы, состоящей из:

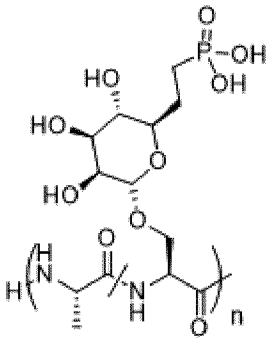
,

R^2 выбран из группы, состоящей из:

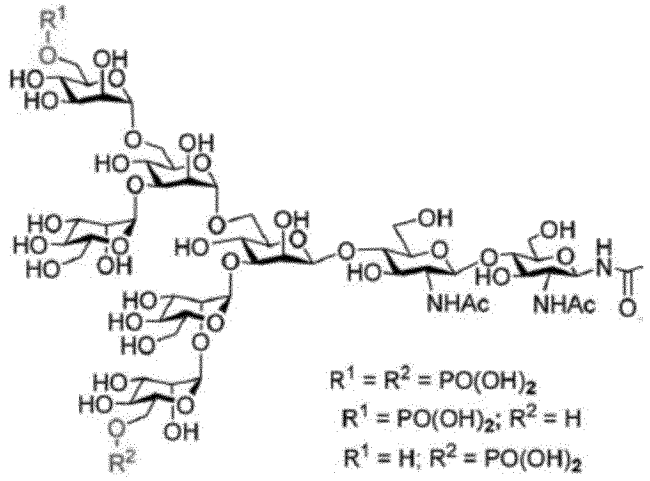








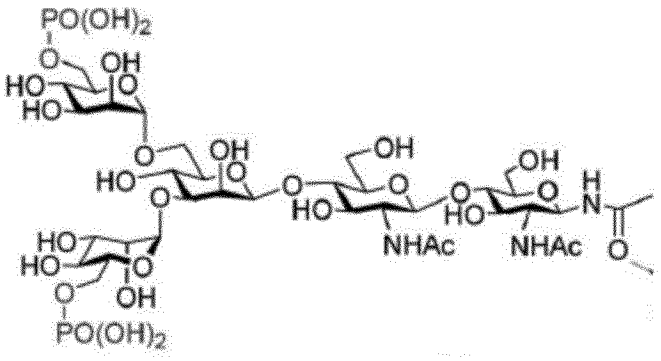
,

и в каждом случае «n» независимо равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20;

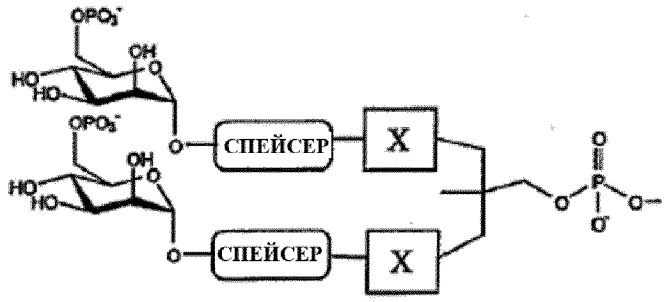
полимерной молекулы  , где n представляет собой целое число от 1 до 100;

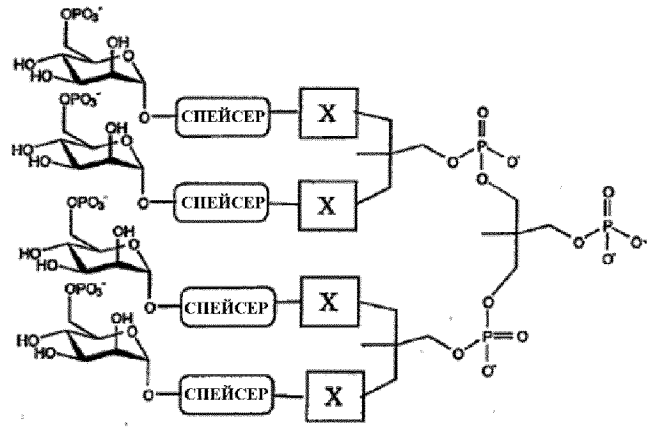
соединения, выбранного из:

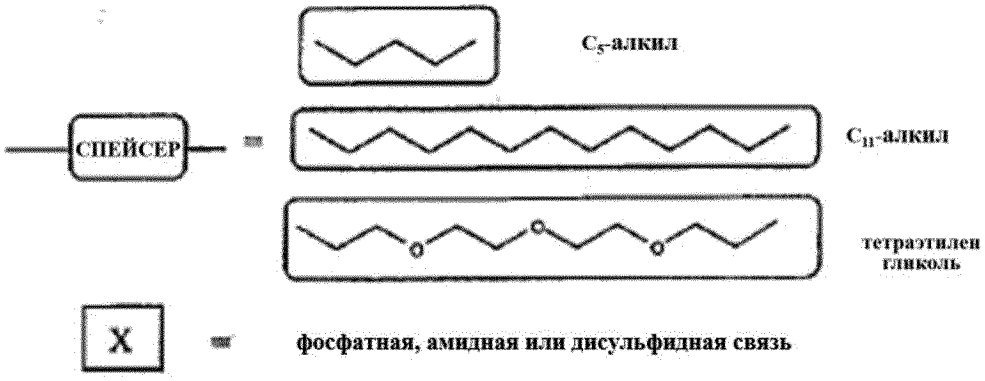




соединения, выбранного из:







;

(d) родственный рецептору липопротеина низкой плотности рецептор-белок 1 (LRP1)-связывающий фрагмент, содержащий по меньшей мере одну аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 1-9;

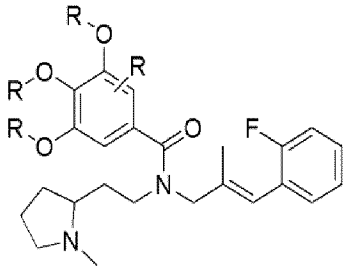
(e) рецептор липопротеина низкой плотности (LDLR)-связывающий фрагмент, содержащий по меньшей мере одну аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 10-35;

(f) FcγRI рецептор-связывающий фрагмент, содержащий по меньшей мере одну аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 36-52;

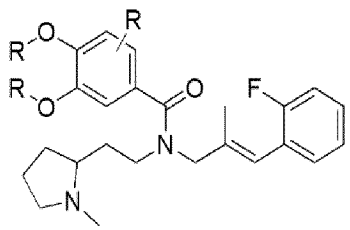
(g) трансферриновый рецептор-связывающий фрагмент, содержащий по меньшей мере одну аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 53-59 и 74;

(h) фагоцитарный рецептор макрофагов-связывающий фрагмент, содержащий по меньшей мере одну аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 60-65;

(i) связанный с G-белками рецептор-связывающий фрагмент, представляющий собой по меньшей мере одно из:



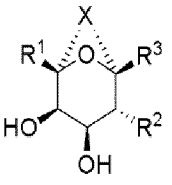
или



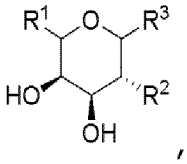
,

где в каждом случае R независимо представляет собой H или C_1-C_6 алкил;

(j) асиалогликопротеиновый рецептор (ASGPR)-связывающий фрагмент, представляющий собой:



или



,

где:

X представляет собой линкер длиной 1-4 атома и включает группы O, S, $N(R^{N1})$ или

$C(R^{N1})(R^{N1})$, так что:

когда X представляет собой линкер длиной 1 атом, X представляет собой O, S, $N(R^{N1})$ или $C(R^{N1})(R^{N1})$,

когда X представляет собой линкер длиной 2 атома, не более чем 1 атом из X представляет собой O, S или $N(R^{N1})$,

когда X представляет собой линкер длиной 3 или 4 атома, не более чем 2 атома из X независимо представляют собой O, S или $N(R^{N1})$;

где в каждом случае R^{N1} независимо представляет собой H или C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами;

каждый из R^1 и R^3 независимо представляет собой H, $-(CH_2)_KOH$, $-(CH_2)_KO(C_1$-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, C_1-C_4 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, $-(CH_2)_K$(винил), $-O(CH_2)_K$(винил), $-(CH_2)_K$(алкинил), $-(CH_2)_KCOOH$, $-(CH_2)_KC(=O)O(C_1$-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, $-OC(=O)(C_1$-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, или $-C(=O)(C_1$-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена; или

каждый из R^1 и R^3 независимо представляет собой $Ph(CH_2)_K$-, который необязательно замещен 1-3 независимо выбранными атомами галогена; C_1-C_4 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами; или C_1-C_4 алкокси, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами; или

каждый из R^1 и R^3 независимо представляет собой группу со структурой:

$-O-(CH_2)_{K'}-CH(OH)-(CH_2)K'-R^7$,

где:

R^7 представляет собой C_1-C_4 алкокси, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами; $-NR^{N3}R^{N4}$ или $-(CH_2)_{K'}-O-(CH_2)_K-CH_2-CH=CH_2$;

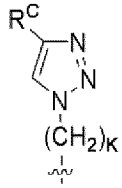
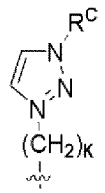
K равен 0, 1, 2, 3 или 4;

K' равен 1, 2, 3 или 4;

в каждом случае R^{N3} независимо представляет собой H или C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами;

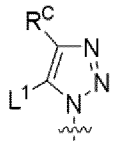
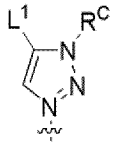
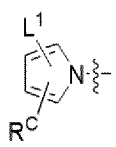
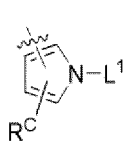
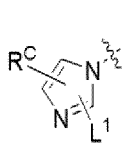
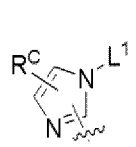
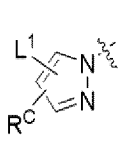
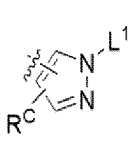
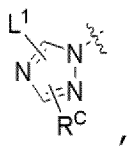
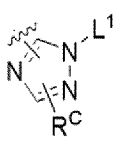
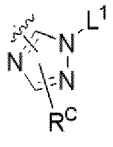
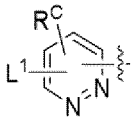
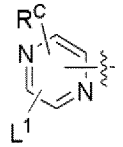
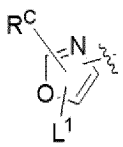
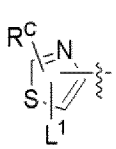
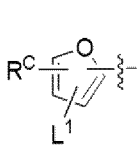
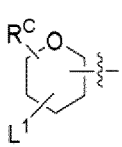
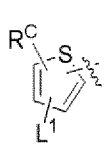
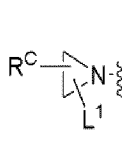
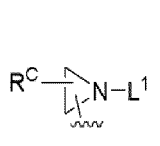
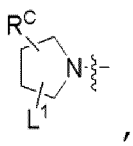
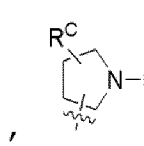
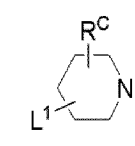
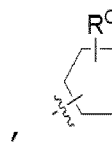
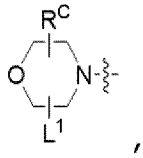
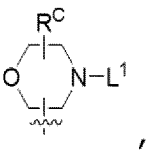
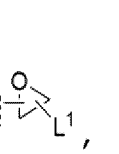
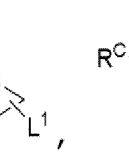
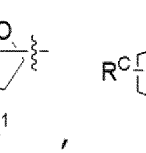
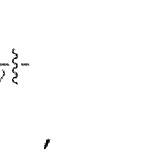
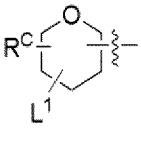
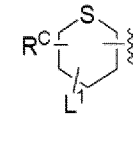
в каждом случае R^{N4} независимо представляет собой H, C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами, или $Ph-(CH_2)_K$-; или

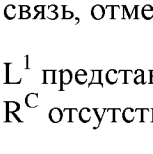
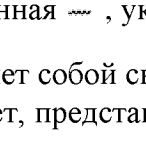
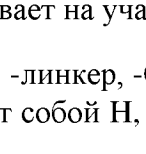
каждый из R^1 и R^3 независимо выбран из группы, состоящей из:

$-(CH_2)_KOH$, , , L^1-≡-, L^1-$(CH_2)_K$- и CYC-$(CH_2)_K$-,

где CYC выбран из группы, состоящей из:

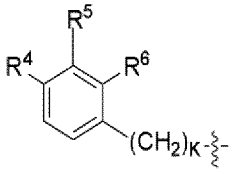
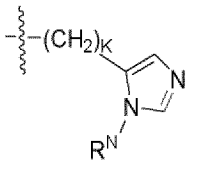
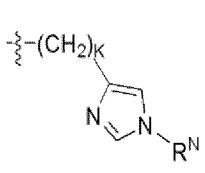
и ,

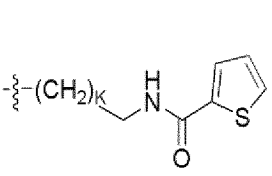
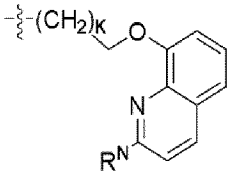
где:

связь, отмеченная 〰 , указывает на участок на CYC, с которым связан $-(CH_2)_K$;

L^1 представляет собой связь, -линкер, -COH-линкер или -COH-линкер-CON;

R^C отсутствует, представляет собой H, C_1-C_4 алкил, необязательно замещенный 1-3 необязательно замещенными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами, или

группу со структурой:  ,  ,  ,


или

,

где:

каждый из R^4, R^5 и R^6 независимо представляет собой H, F, Cl, Br, I, CN, $NR^{N1}R^{N2}$, -$(CH_2)_KOH$, -$(CH_2)_KO(C_1$-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, C_1-C_3-алкокси, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, -$(CH_2)_KCOOH$, -$(CH_2)_KC(=O)O$-$(C_1$-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, O-C(=O)-(C_1-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, или -C(=O)-(C_1-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена;

в каждом случае R^N независимо представляет собой H или C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами;

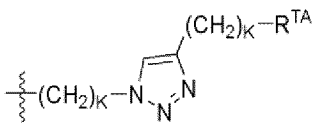
в каждом случае R^{N2} независимо представляет собой H или C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами;

или

каждый из R^1 и R^3 независимо представляет собой (C_3-C_8 насыщенный карбоцикл)-$(CH_2)_K$-, где карбоцикл дополнительно замещен -L^1 и -R^C;

R^2 представляет собой -$(CH_2)_K$-$N(R^{N1})$-$C(=O)R^{AM}$, где:

R^{AM} представляет собой H, C_1-C_4 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами, -$(CH_2)_KCOOH$, -$(CH_2)_KC(=O)O(C_1$-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, -$OC(=O)(C_1$-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, -$C(=O)(C_1$-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, или -$(CH_2)_K$-$NR^{N3}R^{N4}$; или

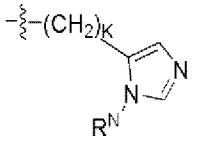
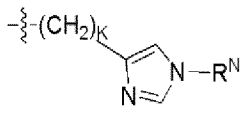
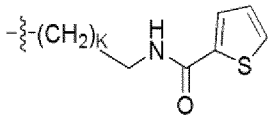
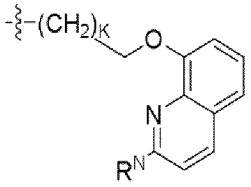
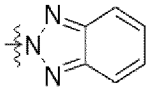
R^2 представляет собой  , где:

R^{TA} представляет собой H, CN, $NR^{N1}R^{N2}$, -$(CH_2)_KOH$, -$(CH_2)_KO(C_1$-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, C_1-C_4 алкил, необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, -$(CH_2)_KCOOH$, -$(CH_2)_KC(=O)O(C_1$-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, -$OC(=O)(C_1$-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3 независимо выбранными атомами галогена, или -$C(=O)(C_1$-C_4 алкил), необязательно замещенный 1-3

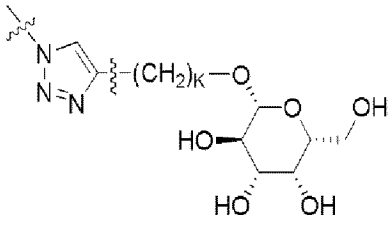
независимо выбранными атомами галогена, или

R^{TA} представляет собой C_3-C_{10} арил или 3-10-членную гетероарильную группу, содержащую 1-5 не углеродных атомов кольца, каждая из арильной или гетероарильной группы необязательно замещена 1-3 группами, независимо выбранными из CN, $NR^{N1}R^{N2}$, -$(CH_2)_KOH$, -$(CH_2)_KO(C_1$-C_4 алкила), необязательно замещенного 1-3 независимо выбранными атомами галогена, C_1-C_3 алкила, необязательно замещенного 1-3 независимо выбранными атомами галогена и/или 1-2 гидроксильными группами, -(C_1-C_3-алкокси), необязательно замещенного 1-3 независимо выбранными атомами галогена, -$(CH_2)_KCOOH$, -$(CH_2)_KC(=O)O$-(C_1-C_4 алкила), необязательно замещенного 1-3 независимо выбранными атомами галогена, -$OC(=O)(C_1$-C_4 алкила), необязательно замещенного 1-3 независимо выбранными атомами галогена, или -$(CH_2)_KC(=O)$-(C_1-C_4 алкила), необязательно замещенного 1-3 независимо выбранными атомами галогена,

или

R^{TA} представляет собой  ,  ,  ,  или  , необязательно замещенный 1-3 C_1-C_3 алкильными группами, необязательно замещенными 1-3 независимо выбранными атомами галогена,

или

R^{TA} представляет собой  , где каждая -$(CH_2)_K$ группа необязательно замещена 1-4 C_1-C_3 алкильными группами, необязательно замещенными 1-3 группами фтора или 1-2 гидроксильными группами.

19. Соединение по п. 18, где:

X в ASGPRBM представляет собой -O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-O-, -S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-S-, -$N(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-$N(R^{N1})$- или -$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, когда X имеет длину 2 атома;

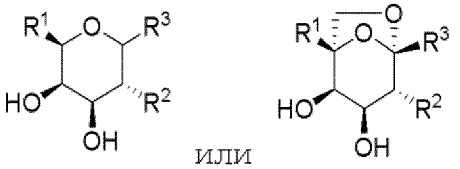
X в ASGPRBM представляет собой -O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-O-, -O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-S-, -O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$N(R^{N1})$-, -S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-S, -S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-S-, -S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-O-, -S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$N(R^{N1})$-, -$N(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-

$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-$N(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$N(R^{N1})$-, -$N(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$N(R^{N1})$- или -$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$- $C(R^{N1})(R^{N1})$, когда X имеет длину 3 атома; или

X в ASGPRBM представляет собой -O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-O-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-S-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, -$N(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$- $C(R^{N1})(R^{N1})$- или -$C(R^{N1})(R^{N1})$-$N(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-$C(R^{N1})(R^{N1})$-, когда X имеет длину 4 атома.

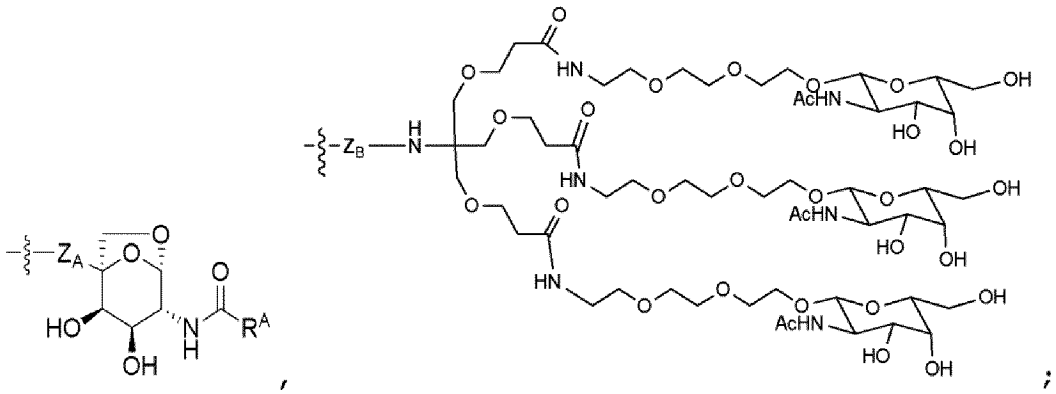
20. Соединение по п. 18, где X представляет собой OCH_2 и R^{N1} представляет собой H, или где X представляет собой CH_2O и R^{N1} представляет собой H.

21. Соединение по п. 18, где ASGPRBM имеет структуру:



.

22. Соединение по п. 18, где группа ASGPRBM имеет структуру:



,

;

где:

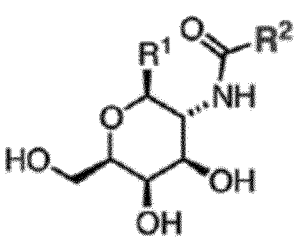
R^A представляет собой C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-5 независимо выбранными атомами галогена;

Z_A представляет собой -$(CH_2)_{IM}$-, -O-$(CH_2)_{IM}$-, -S-$(CH_2)_{IM}$-, -NR^M-$(CH_2)_{IM}$-, -C(=O)-$(CH_2)_{IM}$-, PEG-группу, содержащую от 1 до 8 остатков этиленгликоля, или -$C(O)(CH_2)_{IM}NR^M$-;

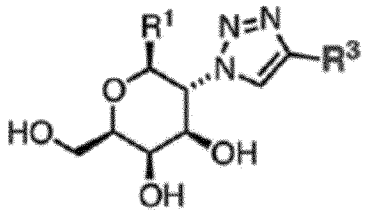
Z_B отсутствует, представляет собой -$(CH_2)_{IM}$-, -C(=O)-$(CH_2)_{IM}$- или -C(=O)$(CH_2)_{IM}$-NR^M-;

R^M представляет собой H или C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-2 гидроксильными группами; и

в каждом случае IM независимо равен 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6;



3

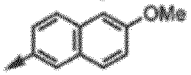
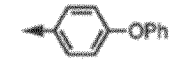
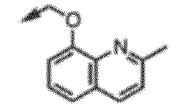


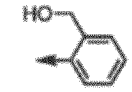
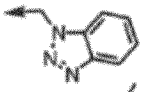
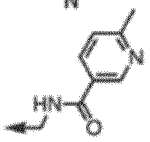
4

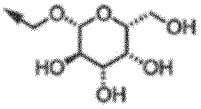
	R¹
a	Me
b	4-OMePh

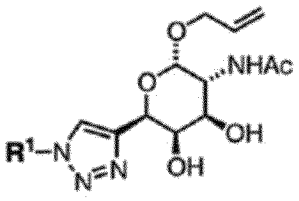
#	R²
1	Me
2	*n*-C_3H_7
3	*i*-Pr
4	*t*-Bu
5	CCl_3
6	CF_3
7	O*t*-Bu
8	CH_2CO_2H

#	R²
9	CH_2NH_2
10	CH_2CF_3
11	2-фурил
12	Ph
13	4-OMePh
14	3-OMePh
15	4-CNPh
16	3-пиридил
17	

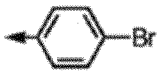
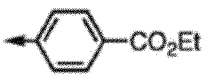
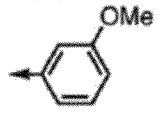
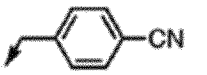
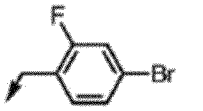
#	R³
1	Ph
2	4-OMePh
3	3-OMePh
4	3-NH_2Ph
5	4-NMe_2Ph
6	2-пиридил
7	
8	
9	

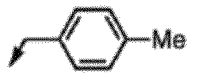
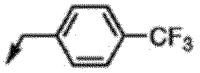
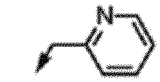
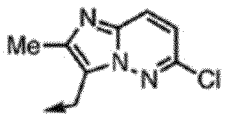
#	R³
10	
11	
12	
13	

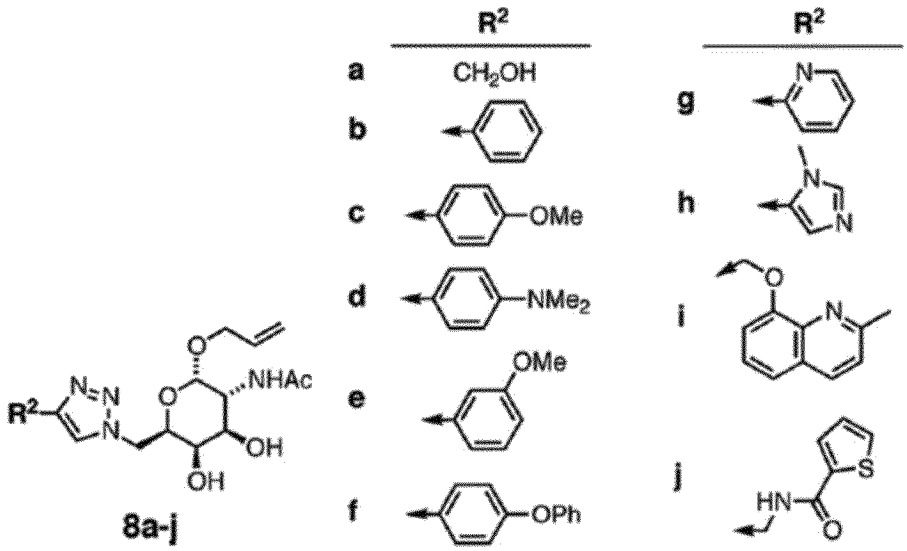
#	R³
14	
15	CH_2OH
16	CH_2NH_2
17	CH_2NHMe
18	CH_2NMe_2
19	CO_2H
20	$CH_2NHCOPh$
21	$CH_2NHCOMe$

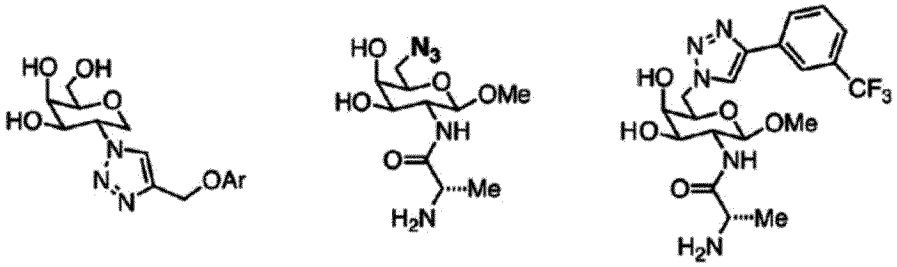


6a-j

	R¹
a	Me
b	
c	
d	
e	
f	

	R¹
g	
h	
i	
j	

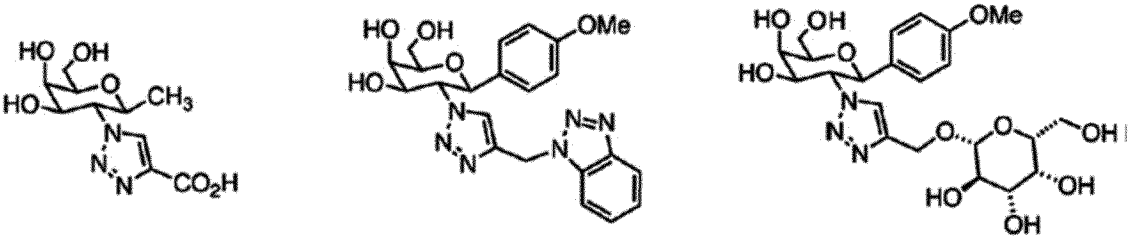


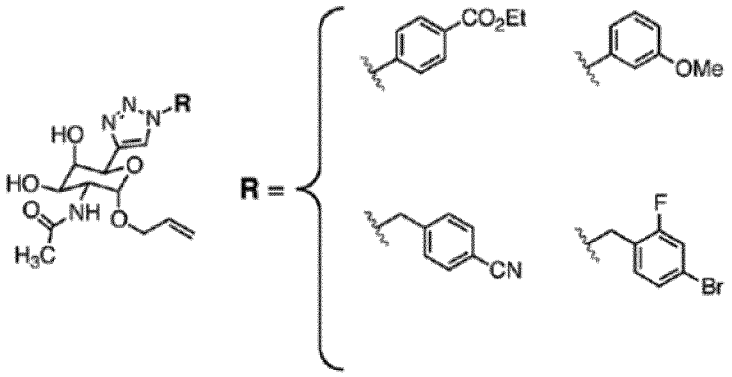


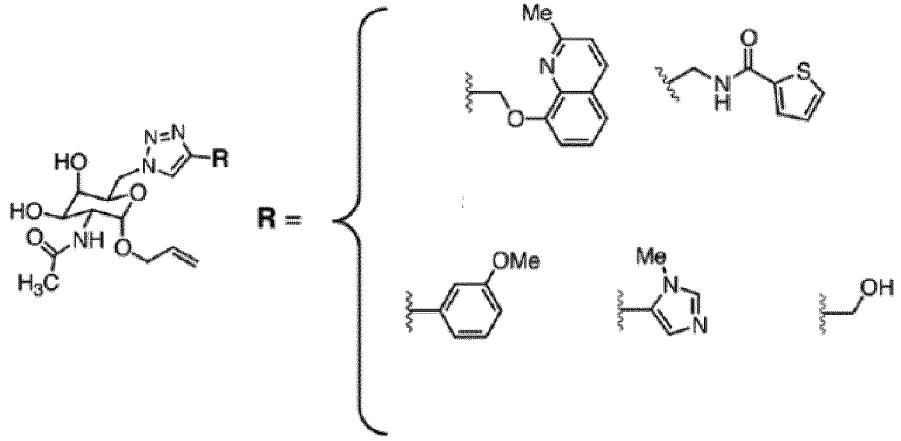


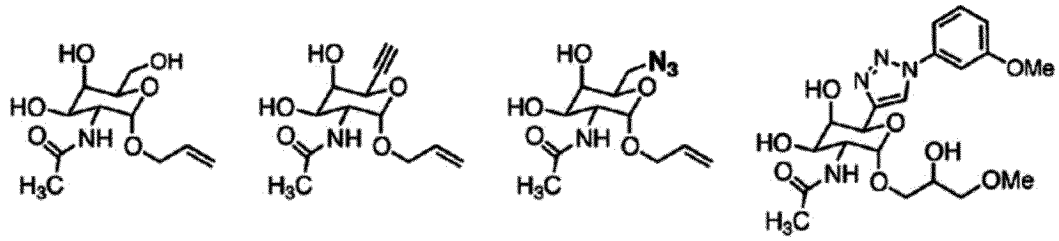
, где

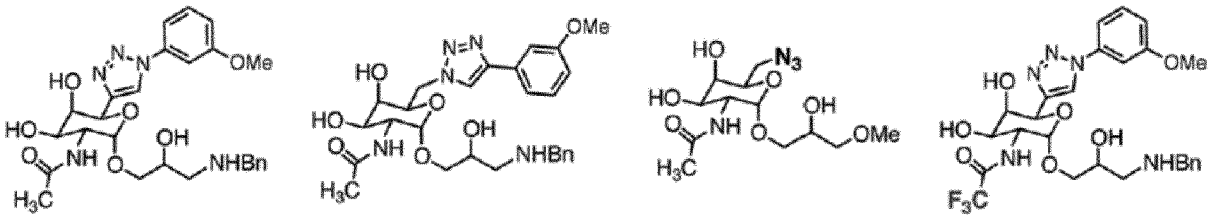
R=CH_3, CF_3 или CH_2CF_3;

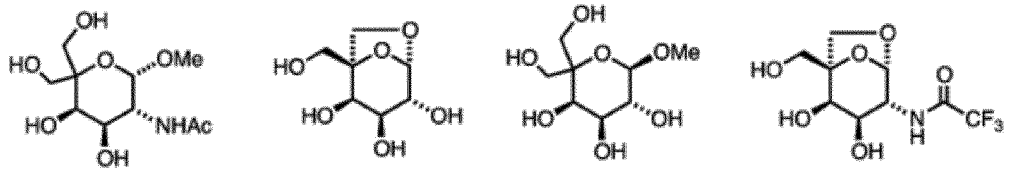






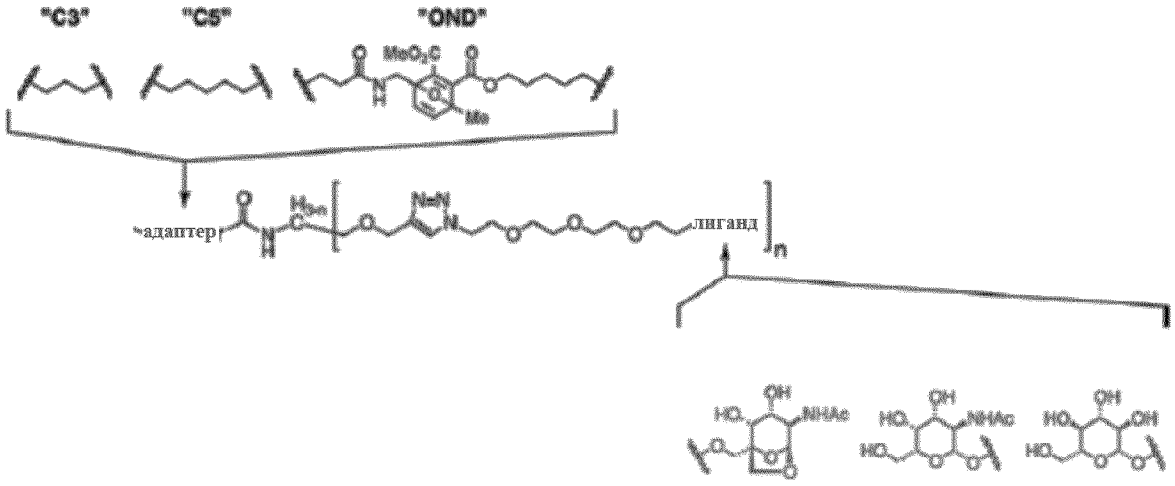






	R
16a	Et
16b	*n*-C_3H_7
16c	*n*-C_4H_9
16d	*n*-C_5H_{11}
16e	*n*-C_6H_{13}
16f	$(CH_2CH_2O)_4Me$

, или



23. Соединение по любому из пунктов 1-3, где линкер представляет собой полиэтиленгликоль-содержащий линкер, имеющий 1-12 остатков этиленгликоля.

24. Соединение по любому из пунктов 1-3,

где линкер имеет структуру:

$-CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_mOCH_2-$, $-(CH_2)_mCH_2-$, $-[N(R^a)-CH(R^b)(C=O)]_m-$, либо полипропиленгликолевой или полипропилен-ко-полиэтиленгликолевой группы, содержащей 1-100 алкиленгликолевых единиц;

где каждый R^a независимо представляет собой H, C_1-C_3 алкил или C_1-C_6 алканол, или в сочетании с R^b образует пирролидиновую или гидроксипирролиновую группу;

где каждый R^b независимо выбран из группы, состоящей из водорода, метила, изопропила, $-CH(CH_3)CH_2CH_3$, $-CH_2CH(CH_3)_2$, $-(CH_2)_3$-гуанидина, $-CH_2C(=O)NH_2$, $-CH_2C(=O)OH$, $-CH_2SH$, $-(CH_2)_2C(=O)NH_2$, $-(CH_2)_2C(=O)OH$, $-(CH_2)$имидазола, $-(CH_2)_4NH_2$, $-CH_2CH_2SCH_3$, бензила, $-CH_2OH$, $-CH(OH)CH_3$, $-(CH_2)$имидазола или $-(CH_2)$фенола; и где m представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 15; или

где линкер имеет структуру

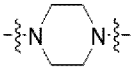
$-[N(R'-(CH_2)_{1-15}-C(=O)]-$,

где R' представляет собой H или C_1-C_3 алкил, необязательно замещенный 1-2 гидроксильными группами, и m представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 100; или

где линкер имеет структуру:

-Z-D-Z'-,

где:

каждый из Z и Z' независимо представляет собой связь, $-(CH_2)_i-O-$, $-(CH_2)_i-S-$, $-(CH_2)_i-N(R)-$,  , $-(CH_2)_i-C(R^2)=C(R^2)-$ (цис или транс), $-(CH_2)_i-\equiv-$ или -Y-C(=O)-Y-;

каждый R независимо представляет собой H, C_1-C_3 алкил или C_1-C_6 алканол;

каждый R^2 независимо представляет собой H или C_1-C_3 алкил;

каждый Y независимо представляет собой связь, O, S или N(R);

каждый i независимо равен 0-100;

D представляет собой связь, $-(CH_2)_i-Y-C(=O)-Y-(CH_2)_i-$, $-(CH_2)_{m'}-$ или $-[(CH_2)_n-X_1)]_j-$, при условии, что все из Z, Z' и D одновременно не являются связями;

X^1 представляет собой O, S или N(R);

j представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 100;

m' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 100;

n представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 100; или

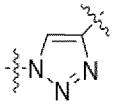
где линкер имеет структуру:

$-CH_2-(OCH_2CH_2)_n-CH_2-$, $-(CH_2CH_2O)_n-CH_2CH_2-$ или $-(CH_2CH_2CH_2O)_n-$,

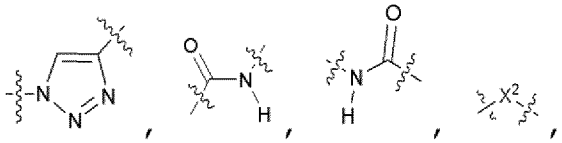
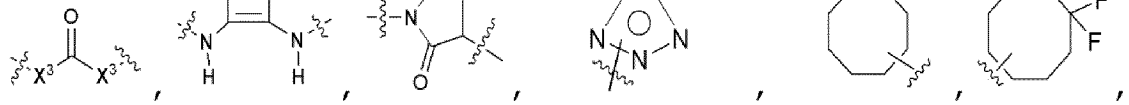
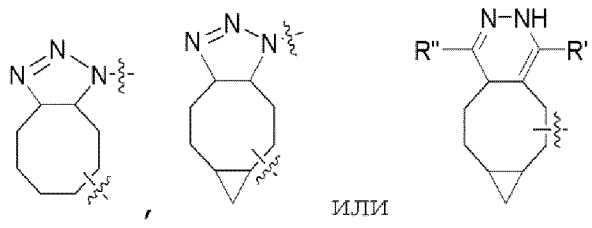
где каждый n и n' независимо представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 25; или

где линкер имеет структуру:

-PEG-COH-PEG-

где каждый PEG независимо представляет собой полиэтиленгликолевую группу, содержащую 1-12 остатков этиленгликоля, и CON представляет собой триазольную группу  .

25. Соединение по любому из пунктов 1-3,

где CON имеет структуру:  ,  ,  , или ; где каждый из R' и R" независимо представляет собой H, метил или связь; или

где CON имеет структуру:

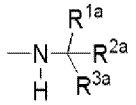
$-C(=O)-N(R^1)-(CH_2)_{n"}-N(R^1)C(=O)-$,

$-N(R^1)-C(=O)(CH_2)_{n"}-C(=O)N(R^1)-$ или

$-N(R^1)-C(=O)(CH_2)_{n"}-N(R^1)C(=O)-$;

где каждый R^1 независимо представляет собой H или C_1-C_3 алкил и n" независимо представляет собой целое число от 0 до 8, в конкретных вариантах осуществления от 1 до 7, в конкретных вариантах осуществления 1, 2, 3, 4, 5 или 6; или

где CON имеет структуру:



,

где:

каждый из R^{1a}, R^{2a} и R^{3a} независимо представляет собой H, $-(CH_2)_{M1}-$, $-(CH_2)_{M2}C(=O)_{M3}(NR^4)_{M3}-(CH_2)_{M2}-$, $-(CH_2)_{M2}(NR^4)_{M3}C(O)_{M3}-(CH_2)_{M2}-$ или $-(CH_2)_{M2}O-(CH_2)_{M1}-C(O)NR^4-$, при условии, что R^{1a}, R^{2a} и R^{3a} одновременно не являются H;

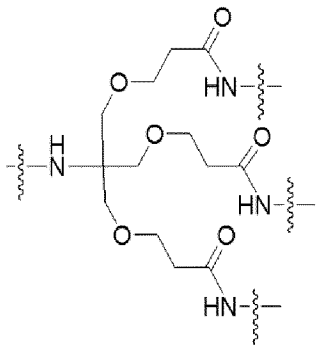
каждый M1 независимо равен 1, 2, 3 или 4;

каждый M2 независимо равен 0, 1, 2, 3 или 4;

каждый M3 независимо равен 0 или 1; и

каждый R^4 независимо представляет собой H, C_1-C_3 алкил, C_1-C_6 алканол или $-C(=O)(C_1$-C_3 алкил), при условии, что M2 и M3 в одном и том же R^{1a}, R^{2a} и R^{3a} одновременно не могут быть равны 0; или

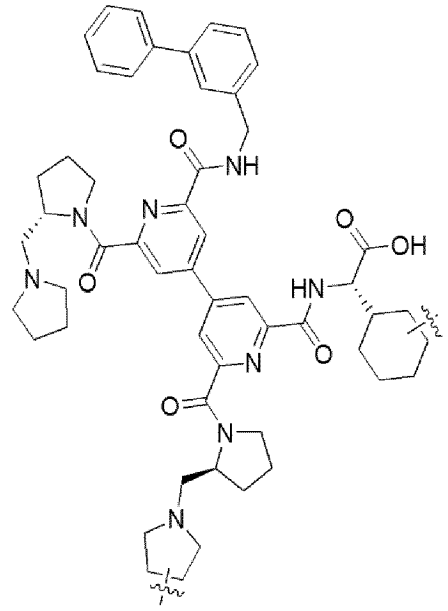
где CON имеет структуру:



.

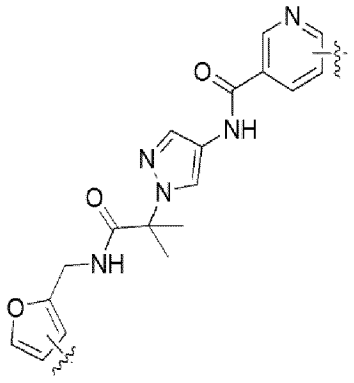
26. Соединение по п. 1,

где белок-связывающий фрагмент, который связывает CD40L, имеет структуру:

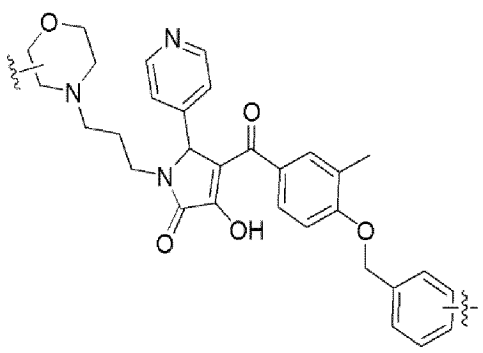


;

где белок-связывающий фрагмент, который связывает PCSK9, имеет структуру:

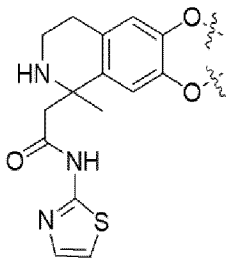


,

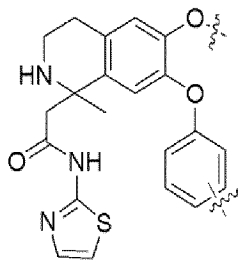


,

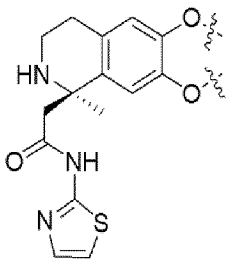
~ NH-TVFTSWEEYLDWV-X (SEQ ID NO: 66), где X=OH или NH_2;



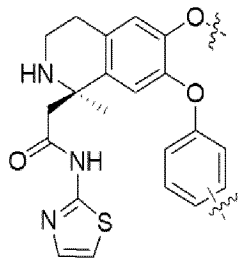
,



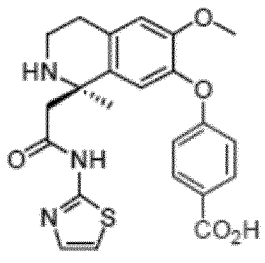
,



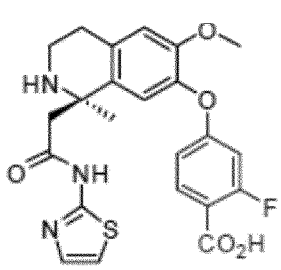
,



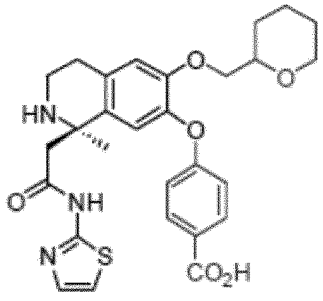
,



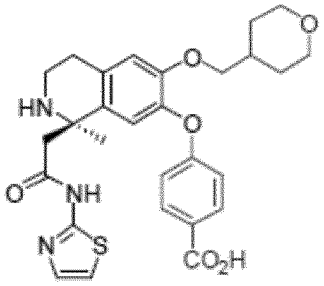
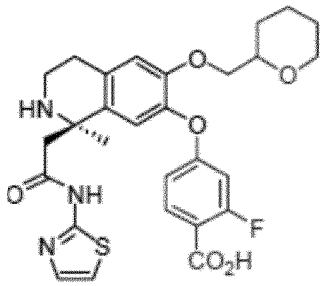
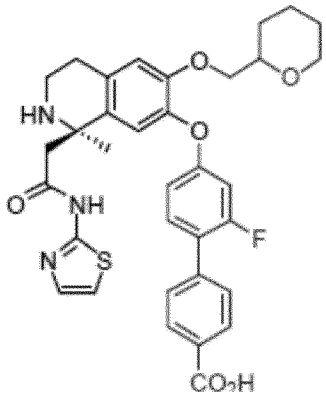
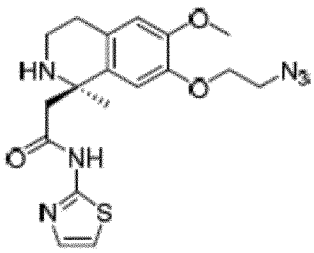
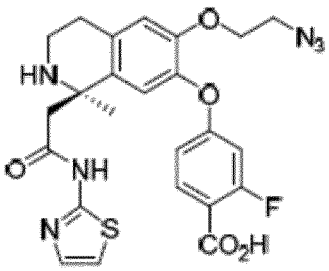
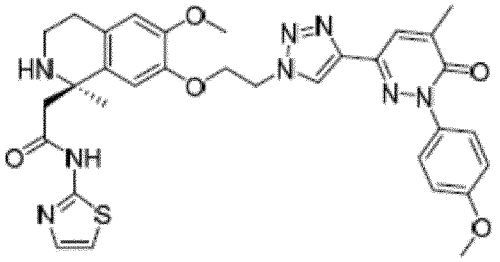
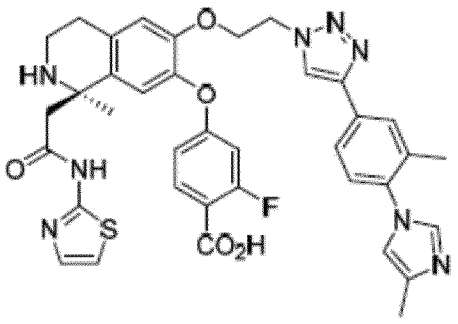
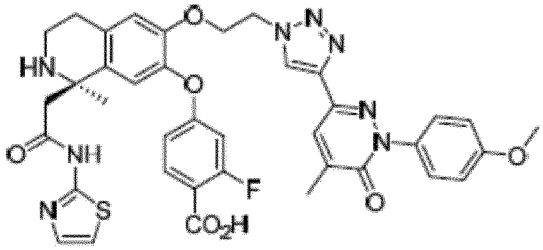
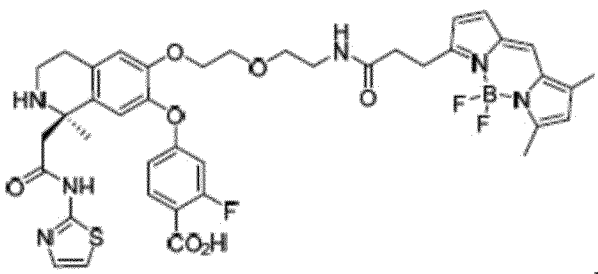
,



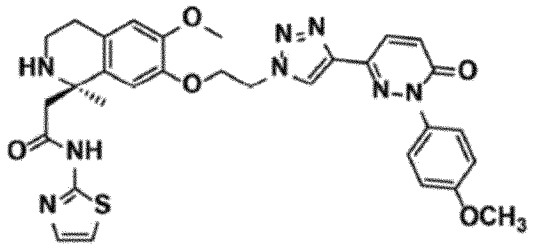
,



,

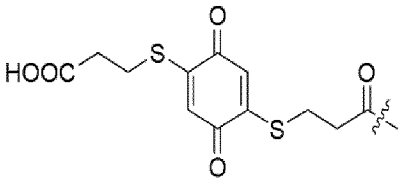

,

,

,

,

,

,

,

,


ИЛИ

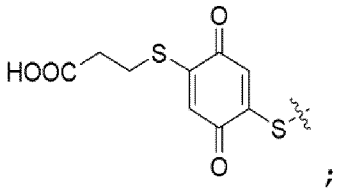


;

где белок-связывающий фрагмент, который связывает VEGF, имеет структуру:
~ NH-VEPNCDIHVMWEWECFERL-X (SEQ ID NO: 67), где X=OH или NH_2,

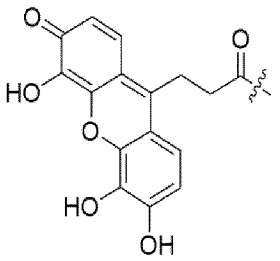


,

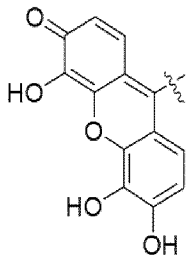


;

где белок-связывающий фрагмент, который связывает TGF-бета, имеет структуру:
~ NH-KRFKQDGGC-X (SEQ ID NO: 68), где X=OH или NH_2;



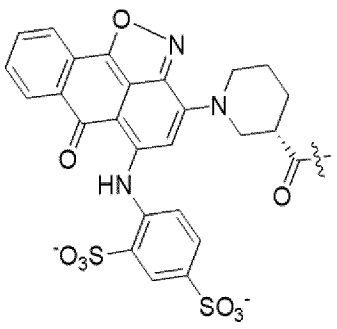
или



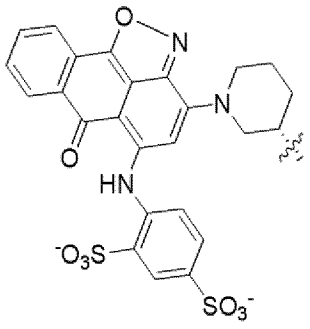
;

где белок-связывающий фрагмент, который связывает TSP-1, имеет структуру:
~ NH-RGQILSKLRL-X (SEQ ID NO: 69), где X=OH или NH_2;

где белок-связывающий фрагмент, который связывает растворимый uPAR, имеет структуру:

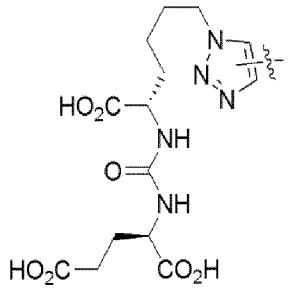


или



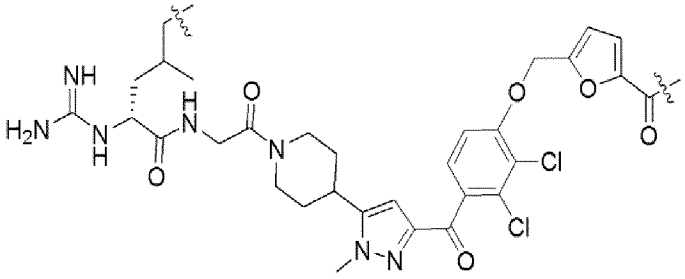
;

где белок-связывающий фрагмент, который связывает растворимый PSMA, имеет структуру:



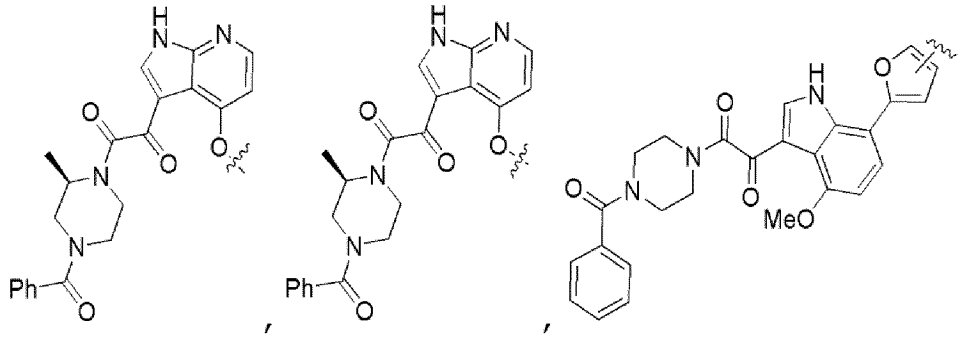
;

где белок-связывающий фрагмент, который связывает IL-2, имеет структуру:



;

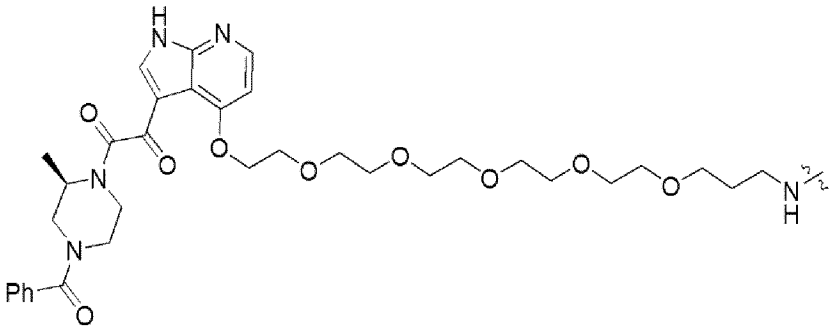
где белок-связывающий фрагмент, который связывает GP120, имеет структуру:



,

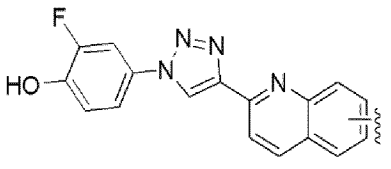
,

или

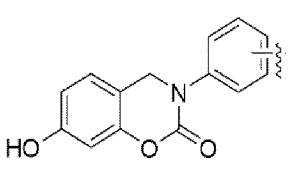


;

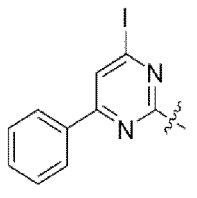
где белок-связывающий фрагмент, который связывает MIF, имеет структуру:



,



,



;

где белок-связывающий фрагмент, который связывает IgA, содержит последовательность:

STFCLLGQKDQSYCFTI (SEQ ID NO: 70),
HMRCLHYKGRRVCFLL (SEQ ID NO: 71),
KTMCLRYNHDKVCFRI (SEQ ID NO: 72),
LVLCLVHRTSKHRKCFVI (SEQ ID NO: 73),
A2-3a: SDVCLRYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 75),
Opt-1: HMVCLAYRGRPVCFAL (SEQ ID NO: 76),
Opt-2: HMVCLSYRGRPVCFSL (SEQ ID NO: 77),
Opt-3: HQVCLSYRGRPVCFST (SEQ ID NO: 78),
RDVCLRYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 79),
HDVCLRYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 80),
ADVCLRYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 81),
SAVCLRYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 82),
SMVCLRYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 83),
SDRCLRYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 84),
SDACLRYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 85),
SDVCARYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 86),
SDVCLNYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 87),
SDVCLHYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 88),
SDVCLAYRGRPVCFQV (SEQ ID NO: 89),
SDVCLRARGRPVCFQV (SEQ ID NO: 90),
SDVCLRYAGRPVCFQV (SEQ ID NO: 91),
SDVCLRYRARPVCFQV (SEQ ID NO: 92),
SDVCLRYRGSPVCFQV (SEQ ID NO: 93),
SDVCLRYRGAPVCFQV (SEQ ID NO: 94),
SDVCLRYRGRRVCFQV (SEQ ID NO: 95),
SDVCLRYRGRAVCFQV (SEQ ID NO: 96),
SDVCLRYRGRPACFQV (SEQ ID NO: 97),
SDVCLRYRGRPVCRQV (SEQ ID NO: 98),
SDVCLRYRGRPVCAQV (SEQ ID NO: 99),
SDVCLRYRGRPVCFRV (SEQ ID NO: 100),
SDVCLRYRGRPVCFLV (SEQ ID NO: 101),
SDVCLRYRGRPVCFAV (SEQ ID NO: 102),
SDVCLRYRGRPVCFQW (SEQ ID NO: 103),
SDVCLRYRGRPVCFQL (SEQ ID NO: 104),
SDVCLRYRGRPVCFQA (SEQ ID NO: 105),
GRYQCQYRIGHYRFRYSD (SEQ ID NO: 106),
GRYQAQYRIGHYRFRYSD (SEQ ID NO: 107),
GRYQCQYRIGHYRFRYSD (SEQ ID NO: 108),
CLIPS-CHYRFRC (SEQ ID NO: 109),
CLIPS-CRIGHYRFRC (SEQ ID NO: 110),

CLIPS-YQACHYRFRC (SEQ ID NO: 111),

CLIPS-RYQAQCRIGHYRFC (SEQ ID NO: 112),

CLIPS-GRYQCQYRIGHYRFRYCD (SEQ ID NO: 113),

CLIPS-GRYQACYRIGHYRFRCSD (SEQ ID NO: 114),

CLIPS-GRYQAQCRIGHYRFCYSD (SEQ ID NO: 115),

RYQAQCRIGHYRFC (SEQ ID NO: 116),

GRYQCQYRIGHYRFRYCD (SEQ ID NO: 117),

GRYQACYRIGHYRFRCSD (SEQ ID NO: 118),

GRYQAQCRIGHYRFCYSD (SEQ ID NO: 119), каждая из которых может иметь ациклическую или циклическую структуру.

27. Соединение по п. 2,

где TNF-связывающий фрагмент содержит по меньшей мере одну из следующих аминокислотных последовательностей:

STPTRYS (SEQ ID NO: 120),

CALWHWWHC (SEQ ID NO: 121),

C(T/S)WLHWWAC (SEQ ID NO: 122),

(L/M)HEL(Y/F)(L/M)X(W/Y/F) (SEQ ID NO: 123),

D-DDDEK QLKER WYKRW LEYLD EFKKN (SEQ ID NO: 124),

D-TEEEK QLKEW WYKHW QEYLE EFKKN (SEQ ID NO: 125),

GACPPCLWQVLCGGSGSGSG (SEQ ID NO: 126),

HIHDDLLRYYGW: линейный (SEQ ID NO: 127) или тетра-разветвленный (SEQ ID NO: 128) пептид,

KRWSRYF (SEQ ID NO: 129),

HIHDDLLRYYGW (SEQ ID NO: 127),

YCWSQYLCY (SEQ ID NO: 130),

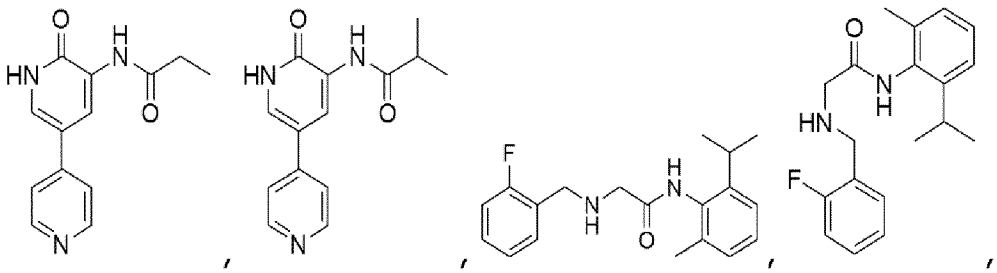
DFLPHYKNTSLGHRP (SEQ ID NO: 131), и

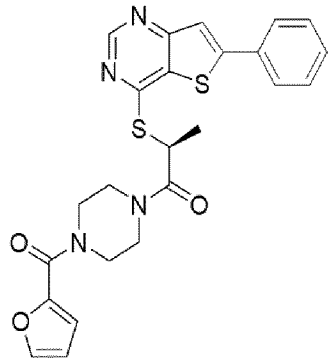
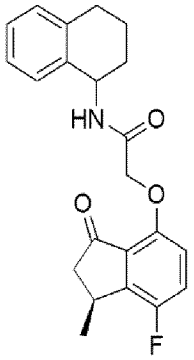
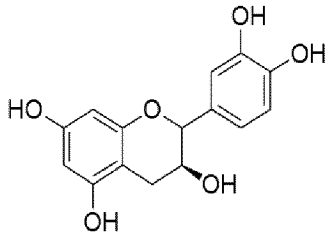
YCLYQSWCY (SEQ ID NO: 132); или

где TNF-связывающий фрагмент представляет собой по меньшей мере одно из:

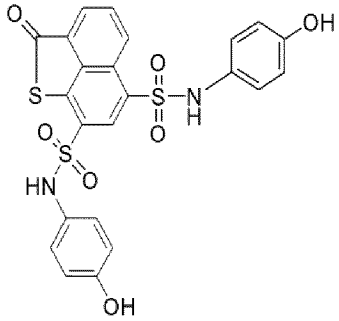
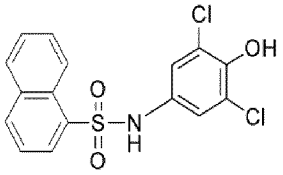
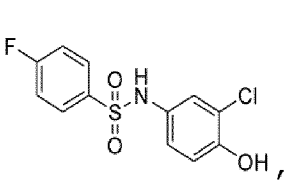
TNFR1, TNFR2, P51, P52, антикахексина C1, антикахексина C2, адалимумаба, инфликсимаба, этанерцепта, голимумаба, цертолизумаба; или

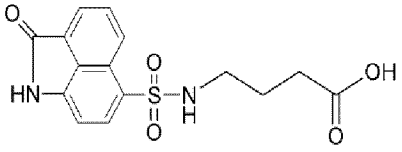
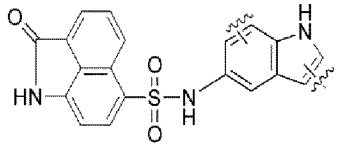
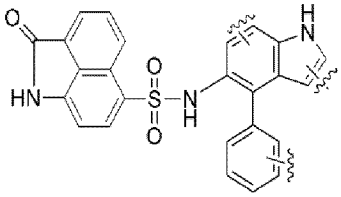
где TNF-связывающий фрагмент имеет по меньшей мере одну из следующих структур:



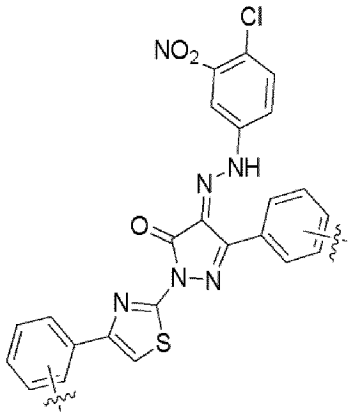
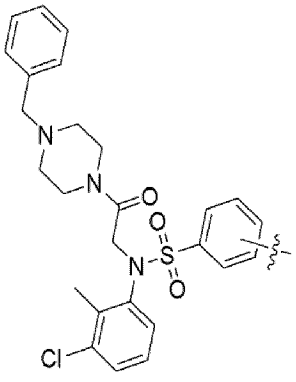

,

,

; ИЛИ

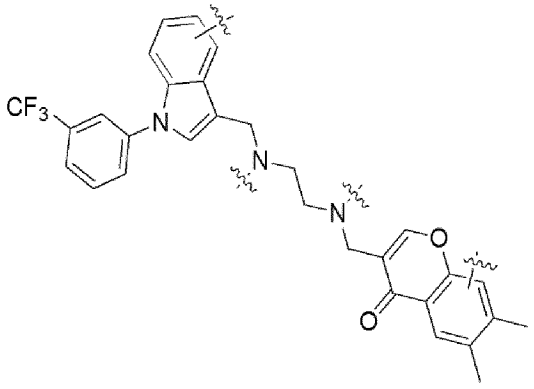
где TNF-связывающий фрагмент имеет по меньшей мере одну из следующих структур:


,

,

,


,

,

; ИЛИ

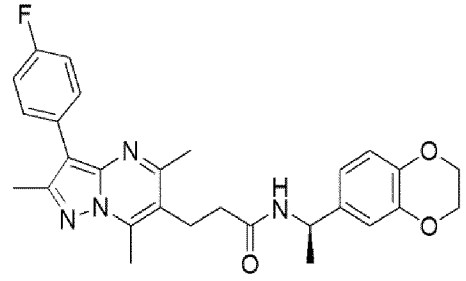
где TNF-связывающий фрагмент имеет по меньшей мере одну из следующих структур:


,

,

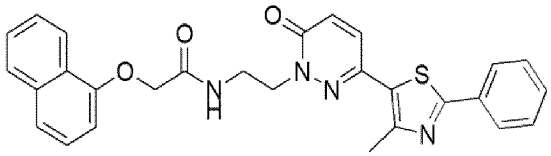


; ИЛИ

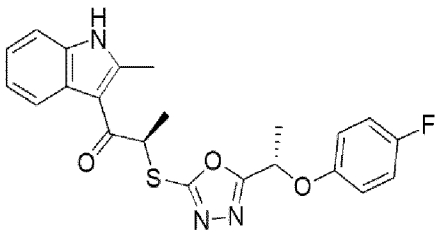
где TNF-связывающий фрагмент имеет по меньшей мере одну из следующих структур:



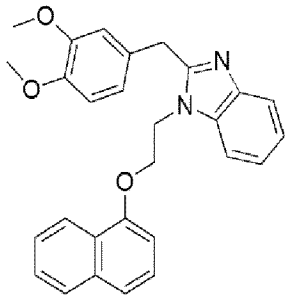
,



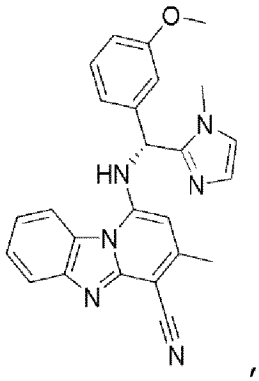
,



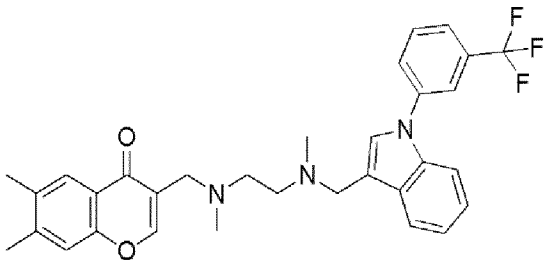
,



,

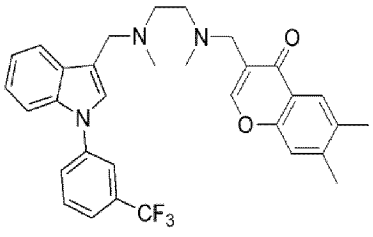


,

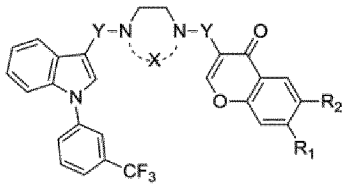


; ИЛИ

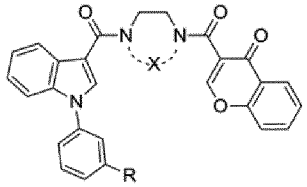
где TNF-связывающий фрагмент имеет по меньшей мере одну из следующих структур:



SPD-304



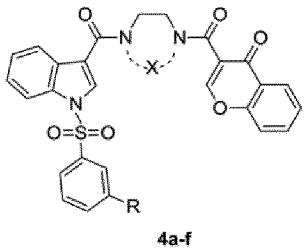
1, 2a-e



3a-d

1: R_1=R_2 = CH_3, X = CH_3,CH_3, Y = CH_2
2a: R_1=R_2 = CH_3, X =  , Y = CH_2
2b: R_1 =H, R_2 = CH_3, X = CH_3,CH_3, Y = CH_2
2c: R_1 =H, R_2 = CH_3, X =  , Y = CH_2
2d: R_1=R_2 = CH_3, X= CH_3,CH_3, Y = C =O
2e: R_1=R_2 = CH_3, X=  , Y = C=O

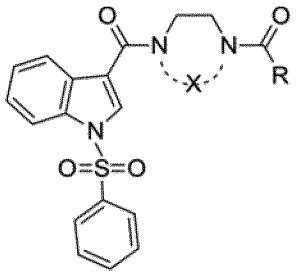
3a: R = NO_2, X = CH_3,CH_3
3b: R = NO_2, X = 
3c: R = NH_2, X = CH_3,CH_3
3d: R = NH_2, X = 



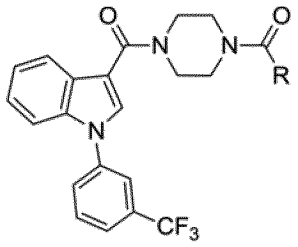
4a-f

4a: R = H, X = CH_3,CH_3
4b: R = H, X =
4c: R = NO_2, X = CH_3,CH_3
4d: R = NO_2, X = 
4e: R = NH_2, X = CH_3,CH_3
4f: R = NH_2, X =

Fig. 1 Structures of SPD-304 derivatives **2a–e**, **3a–d** and **4a–f**.



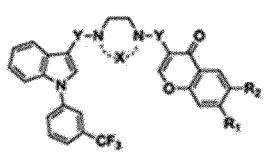
5a-g



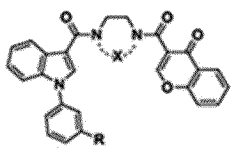
6a-c

5a: R =нафтил, X = H, H
5b: R =нафтил, X = CH_3, CH_3
5c: R = Ph, X = CH_3, CH_3
5d: R = 1*H*-имидазол, X = CH_3, CH_3
5e: R = 2-FPh, X = CH_3, CH_3
5f: R = 2- тиофен, X = CH_3, CH_3
5g: R = нафтил, X=

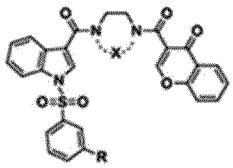
6a: R =нафтил
6b: R = 1*H*-имидазол
6c: R = Ph



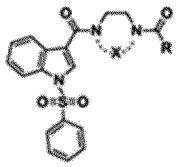
1, 2 a-d
1: $R_1=R_2=CH_3$, X=CH_2,CH_2 Y=CH_2
2a: $R_1=R_2=CH_3$, X=, Y=CH_2
2b: R_1=H, $R_2=CH_3$, X=CH_2,CH_2, Y=CH_2
2c: $R_1=R_2=CH_3$, X=CH_2,CH_2, Y=C=O
2d: $R_1=R_2=CH_3$, X=, Y=C=O



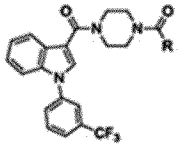
3 a-d
3a: R=NO_2, X=CH_2,CH_2
3b: R=NO_2, X=
3c: R=NH_2, X=CH_2,CH_2
3d: R=NH_2, X=



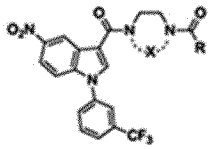
4 a-e
4a: R=H, X=CH_2,CH_3
4b: R=H, X=
4c: R=NO_2, X=CH_2,CH_3
4d: R=NO_2, X=
4e: R=NH_2, X=



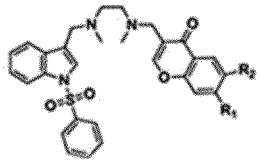
5 a-g
5a: R=нафтил, X=H,H
5b: R=нафтил, X=CH_2,CH_2
5c: R=Ph, X=CH_2,CH_2
5d: R=1*H*-имидазол, X=CH_2,CH_2
5e: R=2-FPh, X=CH_2,CH_2
5f: R=3-(4-хромон), X=H,H
5g: R=нафтил, X=



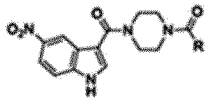
6 a-c
6a: R=нафтил
6b: R=1*H*-имидазол
6c: R=Ph



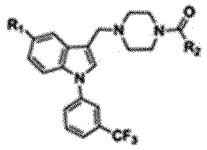
7 a-c
7a: R=3-(4-хромон), X=CH_2,CH_2
7b: R=3-(4-хромон), X=
7c: R=2-FPh, X=CH_2,CH_2



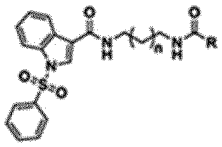
8 a-d
8a: $R_1=R_2$=H
8b: R_1=H, $R_2=CH_3$
8c: $R_1=R_2=CH_3$
8d: $R_1=CH_3$, R_2=H



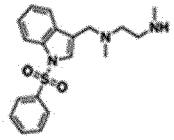
9 a-b
9a: R=2-FPh
9b: R=2-тиофен



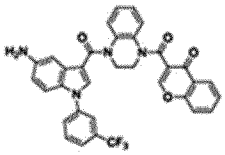
10 a-e
10a: R_1=H, R_2=3-(4-хромон)
10b: $R_1=NO_2$, R_2=3-(4-хромон)
10c: R_1=H, R_2=нафтил
10d: $R_1=NO_2$, R_2=нафтил
10e: R_1=H, R_2=Ph



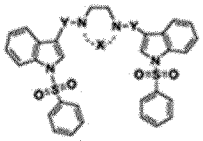
11 a-b
11a: R=3-(4-хромон), n=1
11b: R=нафтил, n=2



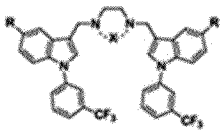
12



13

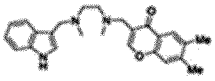


14 a-d
14a: X=H, Y=CH_2
14b: X=CH_2,CH_2, Y=CH_2
14c: X=CH_2,CH_2, Y=C=O
14d: X=, Y=C=O



15 a-e
15a: R=H, X=H,H
15b: R=NO_2, X=CH_2,CH_2
15c: R=NO_2, X=





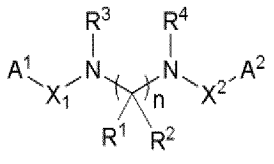
16 a-e
16a: R=1*H*-индол, X=, Y=CH_2
16b: R=нафтил, X=CH_2,CH_2, Y=C=O
16c: R=3-(4-хромон), X=H,H, Y=C=O
16d: R=3-(4-хромон), X=CH_2,CH_2, Y=C=O
16e: R=3-(4-хромон), X=, Y=C=O

17

;

или

где TNF-связывающий фрагмент имеет по меньшей мере одну из следующих структур:

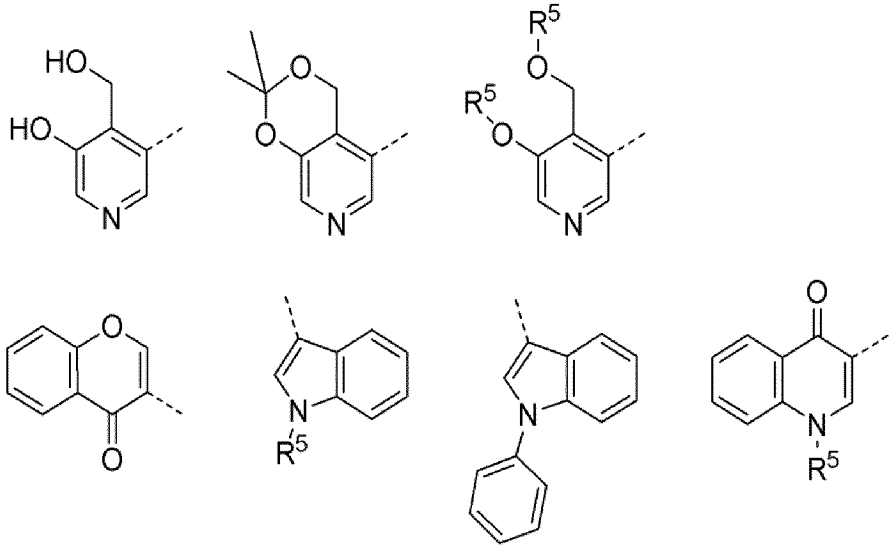


(2a) ,

где:

A^1 и A^2 независимо представляют собой замещенную или незамещенную фенильную группу, где заместители представляют собой по меньшей мере одно из F, Cl, Br, I, OH, C_1-C_4 алкила, C_1-C_4 алкила, замещенного по меньшей мере одним OH, C_1-C_4 фторалкила, C_1-C_4 алкокси, C_1-C_4 галоалкокси, бензилокси и следующих

гетероциклических колец, необязательно замещенных по меньшей мере одним из F, Cl, Br, I, OH, C_1-C_4 алкила, C_1-C_4 алкила, замещенного по меньшей мере одним OH, C_1-C_4 фторалкила, C_1-C_4 алкокси и C_1-C_4 галоалкокси, или



(пунктирными линиями обозначена точка присоединения);

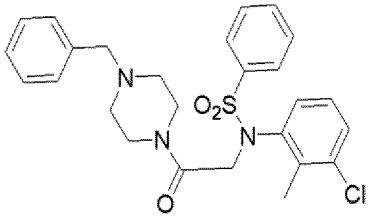
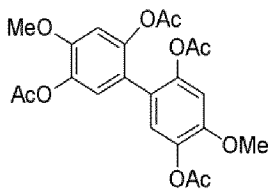
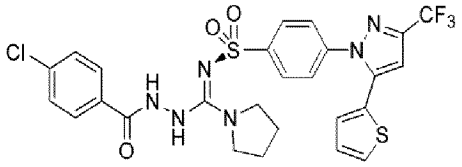
каждый R^5 независимо представляет собой водород или необязательно замещенный C_1-C_4 алкил;

R^1 и R^2 независимо представляют собой водород или необязательно замещенный C_1-C_4 алкил;

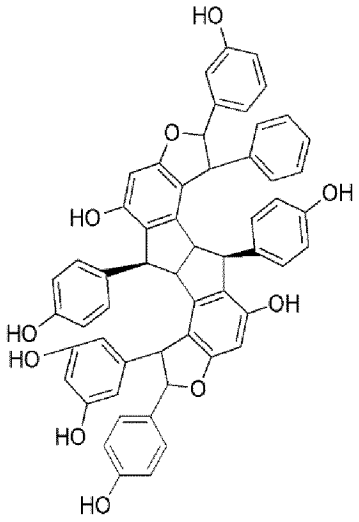
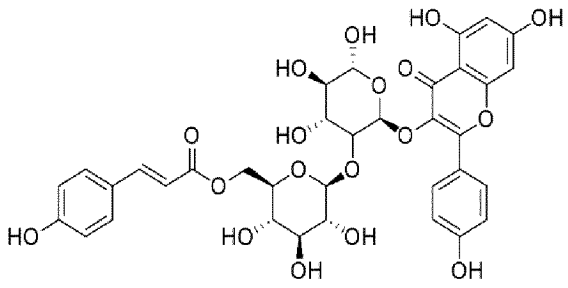
X^1 и X^2 независимо представляют собой карбонил или CH_2;

n равен 2, 3 или 4;

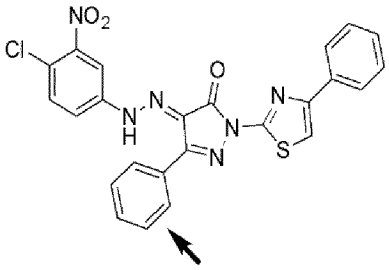
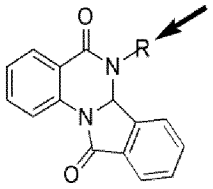
R^3 и R^4 независимо представляют собой водород или необязательно замещенный C_1-C_4 алкил, или R^3 и R^4 могут в совокупности образовывать гетероциклильное кольцо; или

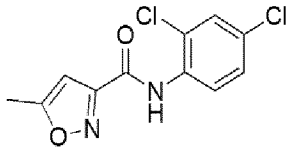
где TNF-связывающий фрагмент представляет собой по меньшей мере одно из IA-14069,  ,  ,  ; или

где TNF-связывающий фрагмент имеет по меньшей мере одну из следующих структур:

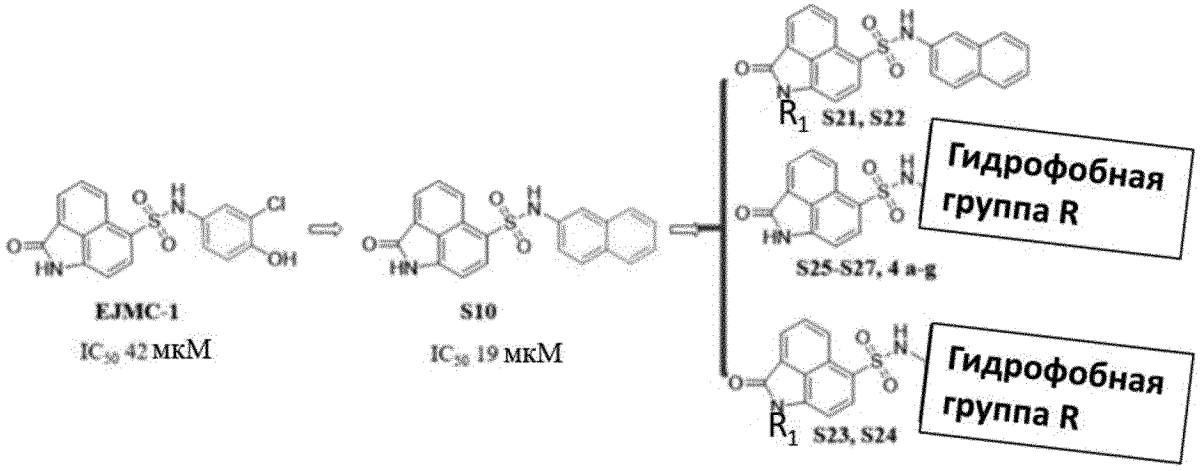


; или

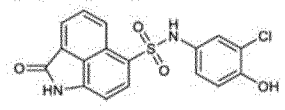
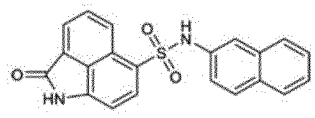
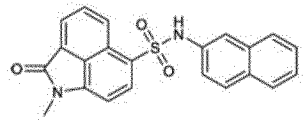
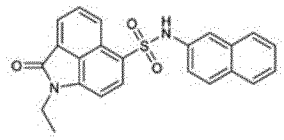
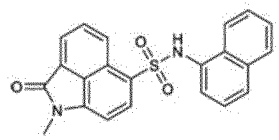
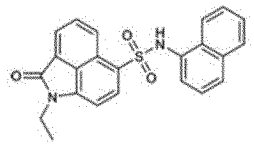
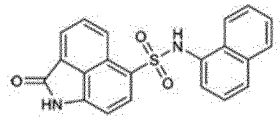
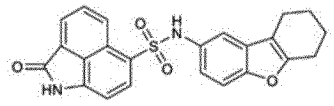
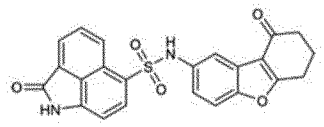
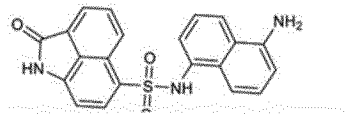
где TNF-связывающий фрагмент имеет по меньшей мере одну из следующих структур:

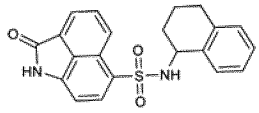
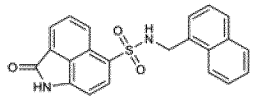
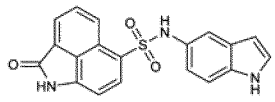
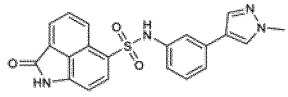
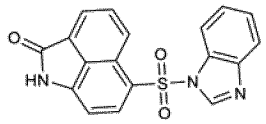


R= CH_2Ph, C_6H_4OMe-p, C_6H_4Cl-p, H


; или

где TNF-связывающий фрагмент имеет по меньшей мере одну из следующих структур:



Соединение	Структура
EJMC-1	
S10	
S21	
S22	
S23	
S24	
S25	
S26	
S27	
4a	

Соединение	Структура
4c	
4d	
4e	
4f	
4g	

; или

где TNF-связывающий фрагмент имеет по меньшей мере одну из следующих структур:

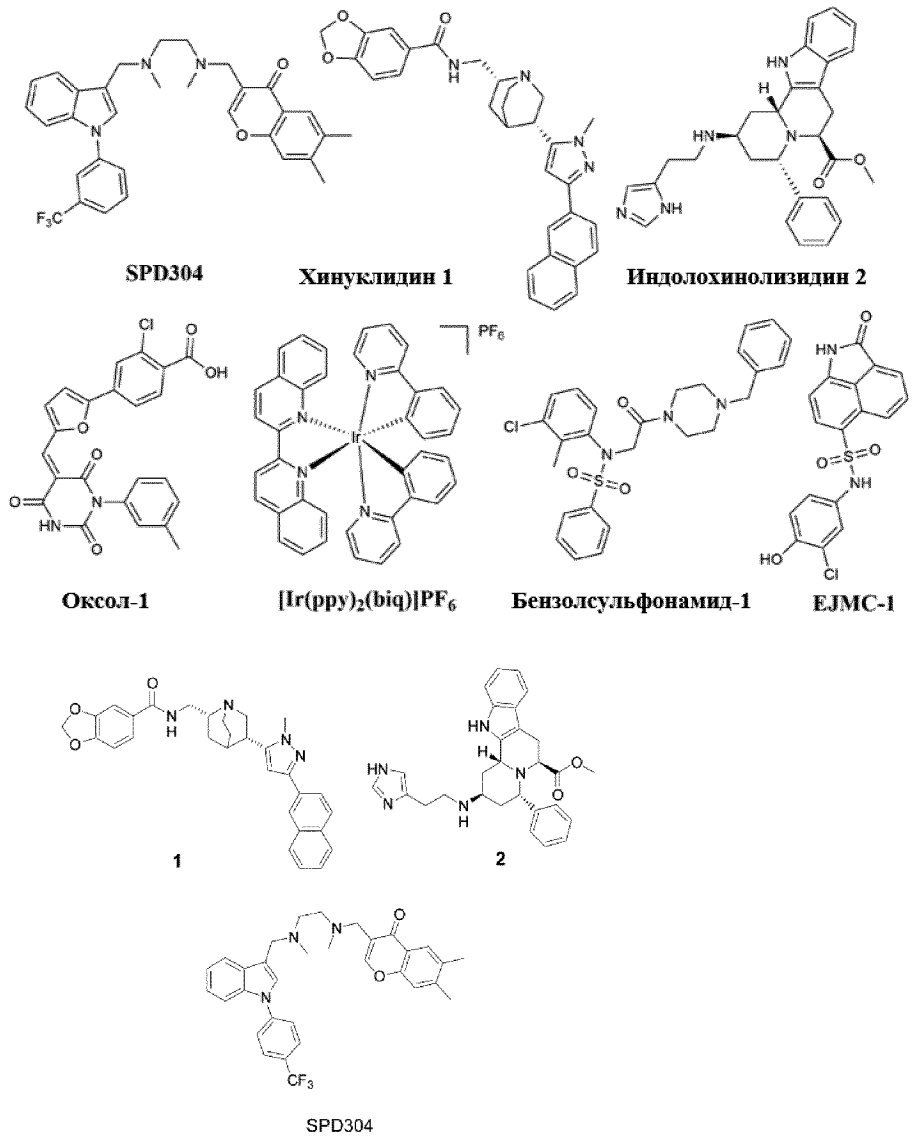
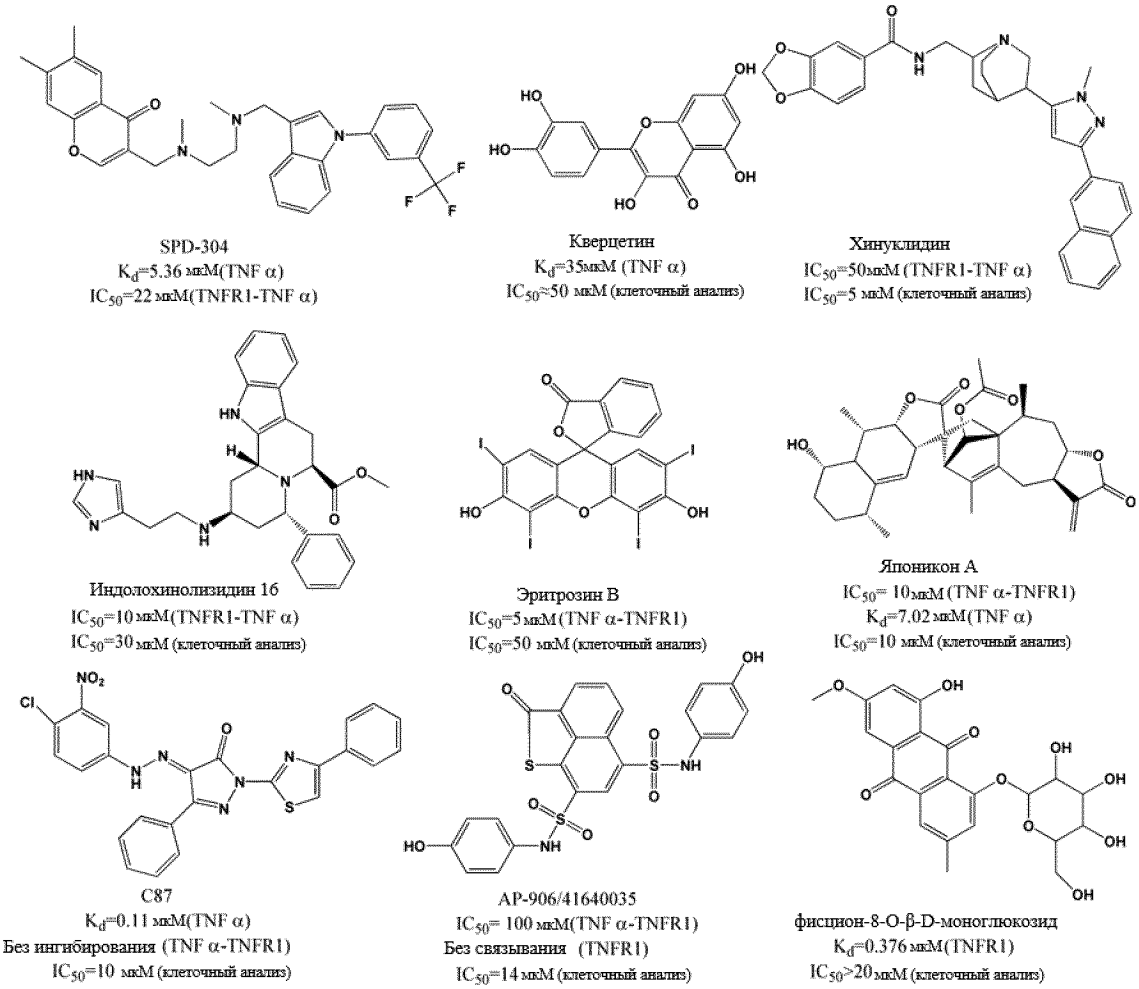


Figure 1.
Chemical structures of small molecule TNF-α inhibitors quinuclidine **1**, indoloquinolizidine **2** and SPD304.

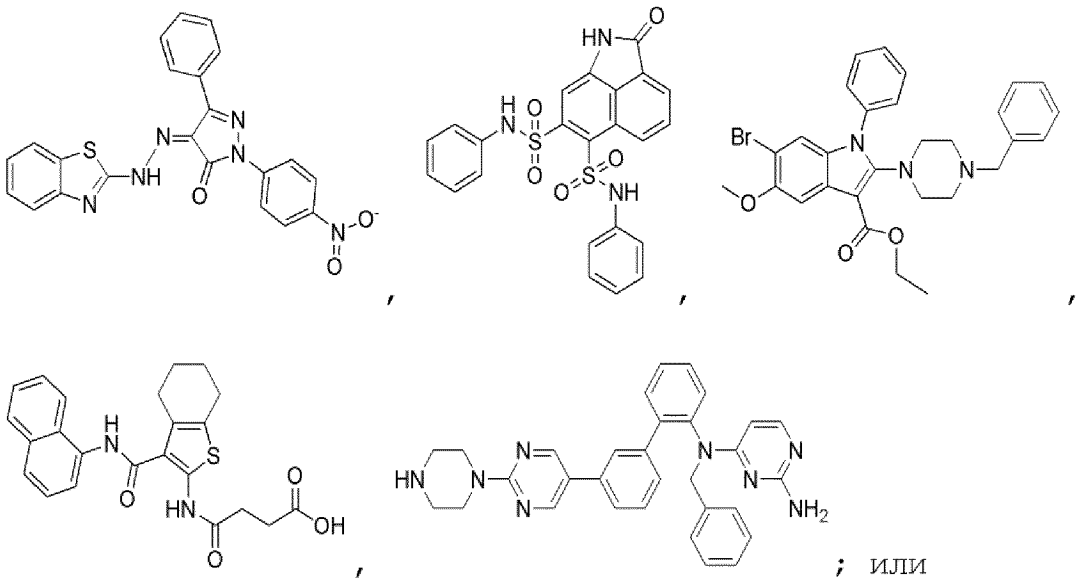
; или

где TNF-связывающий фрагмент имеет по меньшей мере одну из следующих структур:



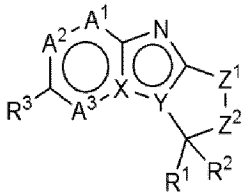
или

где TNF-связывающий фрагмент имеет по меньшей мере одну из следующих структур:



; ИЛИ

где TNF-связывающий фрагмент имеет по меньшей мере одну из следующих структур:



(2b), где:

R^1 представляет собой H, OH, F или необязательно замещенный (C_1-C_3)алкил;

R^2 представляет собой необязательно замещенный арил, необязательно замещенный (C_3-C_8)циклоалкил, необязательно замещенный гетероарил или необязательно замещенный гетероциклил; или

R^1 и R^2 совместно могут образовывать необязательно замещенное насыщенное или частично насыщенное карбоциклическое кольцо или необязательно замещенное насыщенное или частично насыщенное гетероциклическое кольцо;

вплоть до двух из A^1, A^2 и A^3 представляют собой N, и остальные независимо представляют собой $C(R^{A2})$;

X представляет собой N и Y представляет собой C, где:

Z^1 представляет собой $-C(R^z)_2-$ и Z^2 представляет собой $-C(R^z)_2-$, $-N(R^{z1})-$ или -O-; или

Z^1 представляет собой $-CH_2-$ и Z^2 представляет собой $-Z^{2a}-Z^{2b}-$,

где Z^{2a} присоединен к Z^1 и Z^{2b} присоединен к $C(R^1)(R^2)$; и Z^{2a} и Z^{2b} независимо представляют собой $-C(R^z)_2-$, $-C(R^z)_2C(R^z)_2-$, -O- или $-N(R^{z1})-$ при условии, что один из Z^{2a} и Z^{2b} представляет собой $-C(R^z)_2-$ или $-C(R^z)_2C(R^z)_2-$; или $-Z^{2a}-Z^{2b}-$ образуют $-N(R^{z1})C(O)-$ или $-C(O)N(R^{z1})-$;

или

X представляет собой C и Y представляет собой N, при условии, что R^1 не является -OH или -F, где:

Z^1 представляет собой $-C(R^z)_2-$ и Z^2 представляет собой $-C(R^z)_2-$; или

Z^1 представляет собой $-C(R^z)_2-$ и Z^2 представляет собой $-Z^{2a}-Z^{2b}-$,

где Z^{2a} присоединен к Z^1 и Z^{2b} присоединен к $C(R^1)(R^2)$, и Z^{2a} представляет собой $-C(R^z)_2-$, $-C(R^z)_2C(R^z)_2-$, -O- или $-N(R^{z1})$ и Z^{2b} представляет собой $-C(R^z)_2-$, или $-Z^{2a}-Z^{2b}-$ образуют $-N(R^{z1})C(O)-$ или $-C(O)N(R^{z1})-$;

R^3 представляет собой $-R^{3a}-R^{3b}$, где:

R^{3a} представляет собой необязательно замещенный арил, необязательно замещенный насыщенный или частично насыщенный гетероциклил или необязательно замещенный гетероарил;

R^{3b} представляет собой H, $-CF_3$, -CN, -C(O)OH, $-N(R^a)(R^b)$, $-C(O)N(R^a)(R^b)$, -C(O)-необязательно замещенный гетероциклил, $-O(R^a)$, $-S(O)_2$(C_1-C_3)алкил, $-S(O)_2N(R^c)(R^d)$, -S-(C_1-C_3)алкил, $-S(O)_2-R^c$ необязательно замещенный (C_1-C_5)алкил, $-(CH_2)_p$-необязательно замещенный (C_3-C_6)циклоалкил, $-(CH_2)_p$-необязательно замещенный гетероарил или $-(CH_2)_p$-необязательно замещенный насыщенный, ненасыщенный или частично насыщенный гетероциклил; при условии, что $R3^b$ не является H или метокси, когда R^2

представляет собой необязательно замещенный фенил;

R^a и R^b независимо выбраны из H, необязательно замещенного (C_1-C_5)алкила, -C(O)-необязательно замещенного (C_1-C_5)алкила, необязательно замещенного -$(CH_2)_p$-(C_3-C_6)циклоалкила и -$(CH_2)_p$-необязательно замещенного гетероциклила;

R^c и R^d независимо выбраны из H, необязательно замещенного (C_1-C_5)алкила, необязательно замещенного -$(CH_2)_p$-(C_3-C_6)циклоалкила и -$(CH_2)_p$-необязательно замещенного гетероциклила;

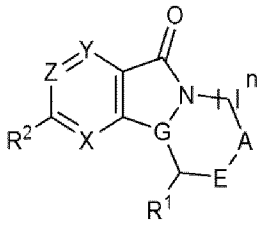
R^{A2} независимо представляет собой H, CF_3, галоген или (C_1-C_3)алкил;

R^z независимо представляет собой H, F, CF_3, -OH или (C_1-C_3)алкил;

R^{z1} независимо представляет собой H или (C_1-C_3)алкил; и

p независимо равен 0, 1 или 2; или

где TNF-связывающий фрагмент представляет собой по меньшей мере:



(2c),

где:

X, Y и Z независимо представляют собой CR^4 или N; при условии, что Y и Z оба не являются N;

A представляет собой -$C(R^z)_2$-;

E представляет собой CH_2 или O и G представляет собой CH; или E представляет собой CH_2 и G представляет собой CH или N;

R^1 представляет собой необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил;

R^2 представляет собой -R^{2a}-R^{2b}, где:

R^{2a} представляет собой необязательно замещенный насыщенный, ненасыщенный или частично насыщенный гетероциклил или необязательно замещенный гетероарил;

R^{2b} представляет собой -$N(R^a)(R^b)$, -$O(R^a)$, необязательно замещенный (C_1-C_5)алкил, необязательно замещенный (C_3-C_6)циклоалкил, -$(CH_2)_p$-необязательно замещенный гетероарил или -$(CH_2)_p$-необязательно замещенный гетероциклил; где

R^a и R^b независимо выбраны из H, необязательно замещенного (C_1-C_5)алкила и -$(CH_2)_n$-необязательно замещенного гетероциклила;

R^4 независимо представляет собой H, галоген, CF_3 или (C_1-C_3)алкил;

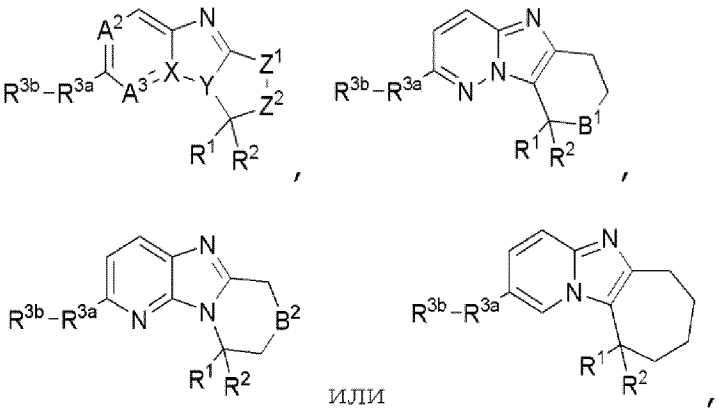
R^z независимо представляет собой H, галоген, CF_3 или (C_1-C_3)алкил;

n равен 0 или 1; и

p равен 0 или 1.

28. Соединение по п. 27,

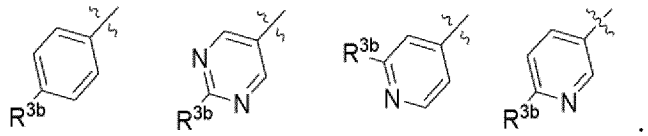
где соединение формулы (1a) имеет по меньшей мере одну из следующих структур:



где:

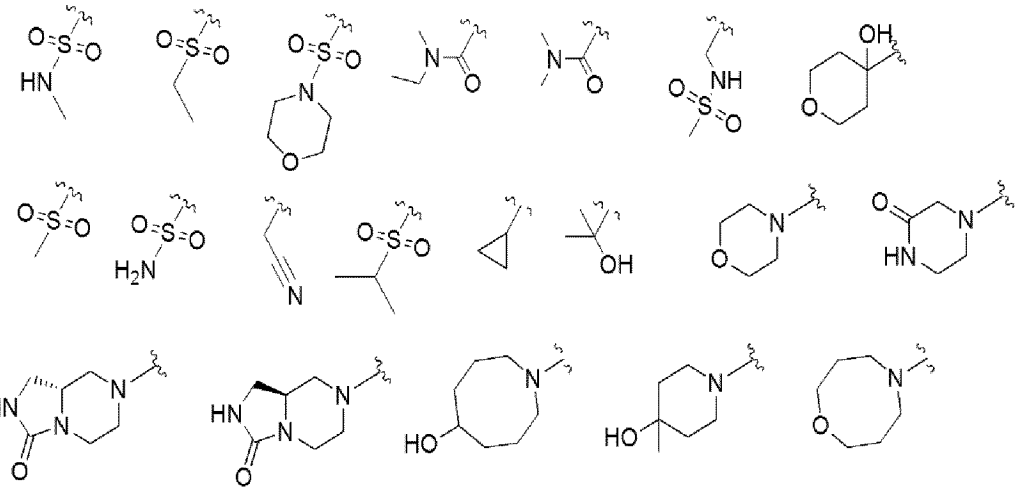
A^2 представляет собой CH или N; A^3 представляет собой CH или N; B^1 представляет собой CH_2 или O; B^2 представляет собой CH_2 или O; X представляет собой C или N; Y представляет собой C или N; Z^1 представляет собой CH_2 или O; и Z^2 представляет собой CH_2 или O;

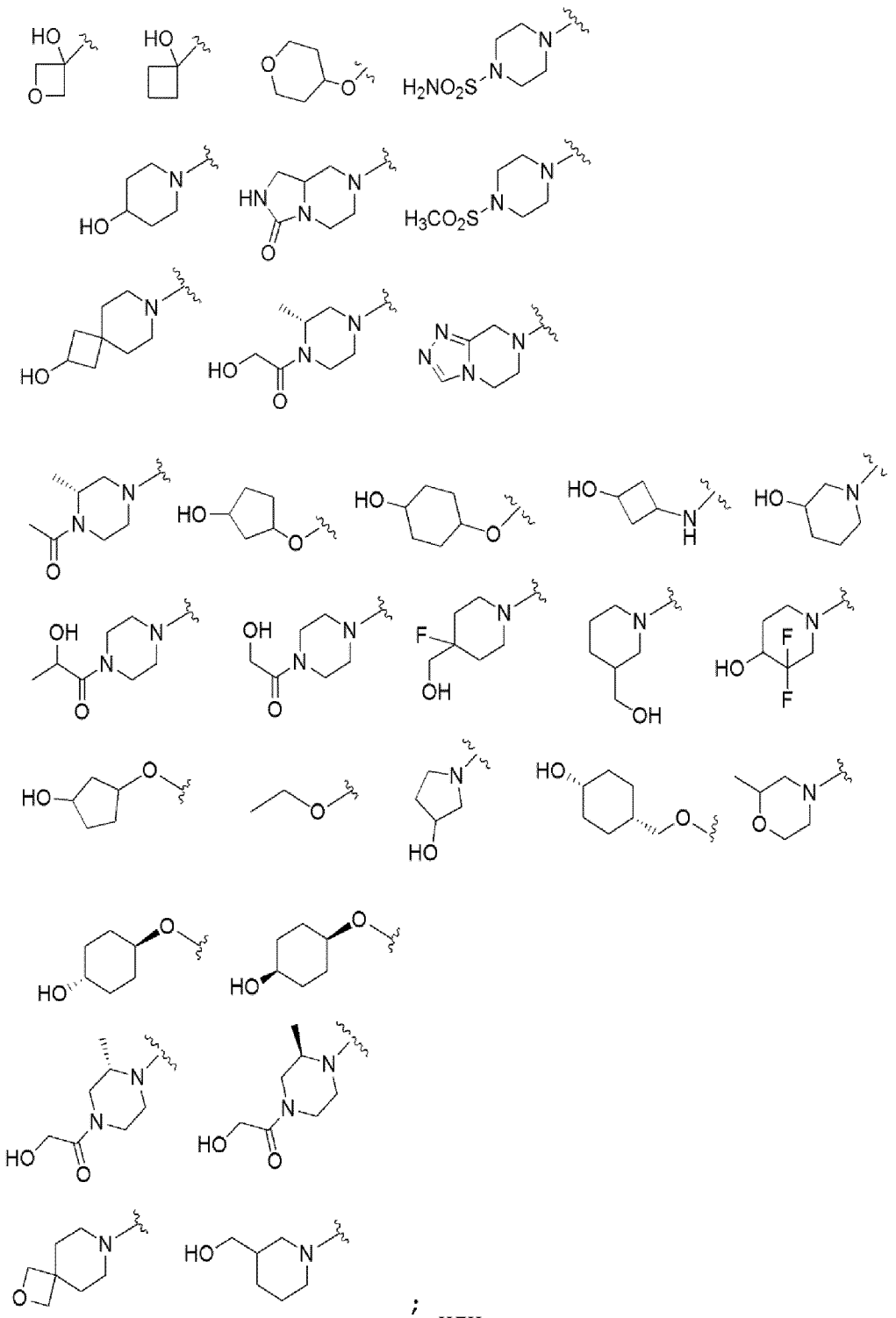
R^{3a} выбран из группы, состоящей из:



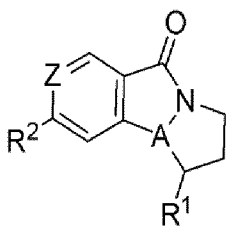
;

R^{3b} выбран из группы, состоящей из:

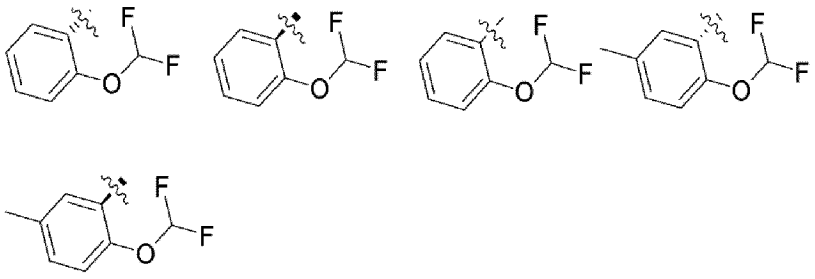




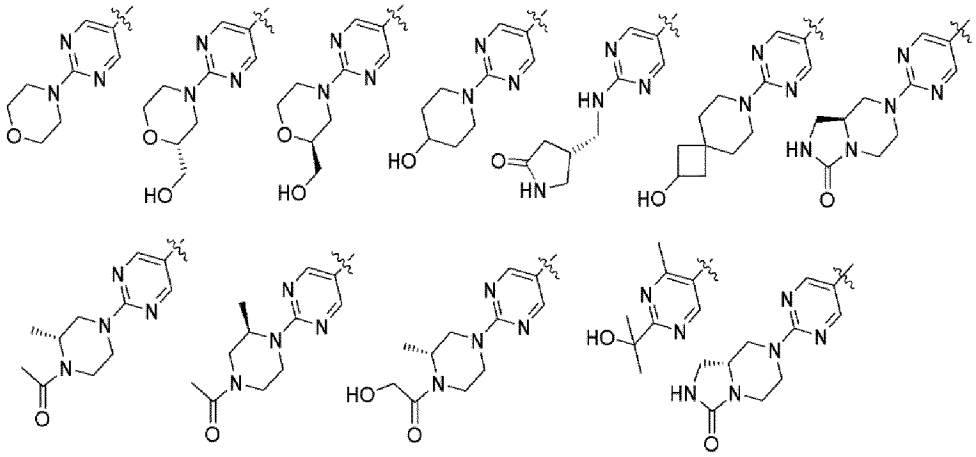
; или



где соединение формулы (2a) представляет собой , где G представляет собой N или CH; Z представляет собой CH или CF; R^1 выбран из группы,

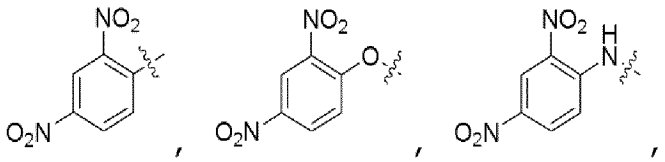


состоящей из ; и R^2 выбран из группы, состоящей из



.

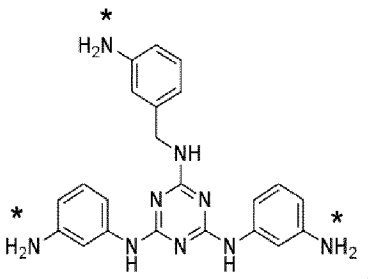
29. Соединение по п. 3, где AATM представляет собой одно из следующего: антагонист FcRn,



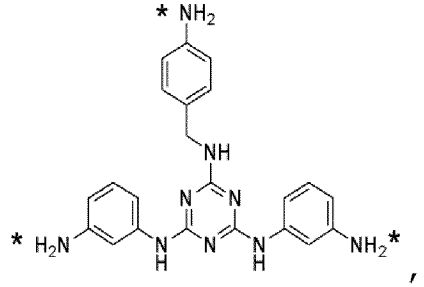
,

,

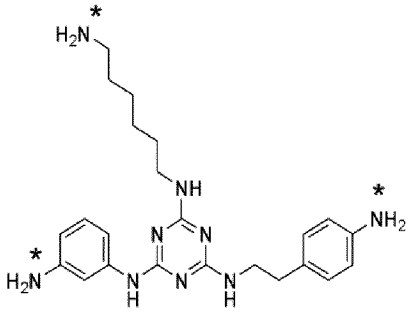
,



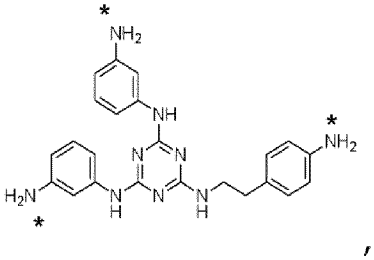
,



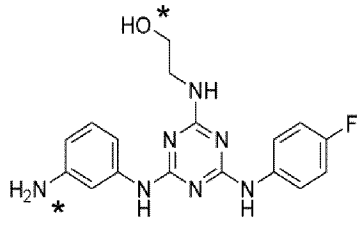
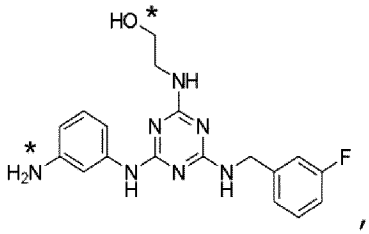
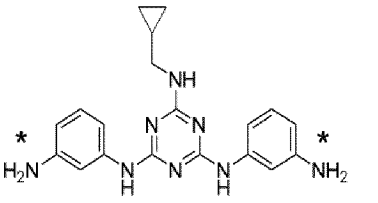
,



,



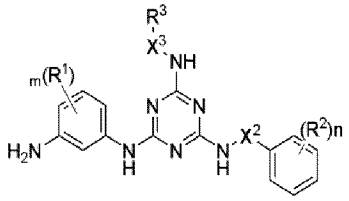
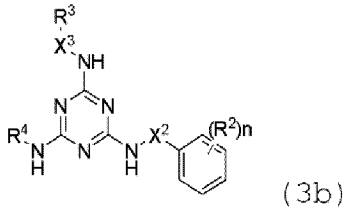
,

циклический пептид FcIII или его любая восстановленная форма,

циклический пептид FcIII-4C (амид) или его любая восстановленная форма,

соединение формулы (3a) или (3b):


(3a) или

(3b)

где:

в каждом случае R^1 независимо представляет собой F, Cl, Br, I, CN, NO_2, R, OR, C_1-C_6 галоалкил, C_3-C_8 галоциклоалкил, C_1-C_6 галоалкокси, C_3-C_8 галоциклоалкокси, -$N(R)_2$, -SR, -S(=O)R, -$S(=O)_2R$, -$S(=O)_2N(R)_2$, -C(=O)R, -C(=O)OR, -OC(=O)R, -$C(=O)N(R)_2$, -$N(R)S(=O)_2R$, -N(R)C(=O)OR, -N(R)C(=O)R и -$N(R)C(=O)N(R)_2$, где в каждом случае R независимо представляет собой H, C_1-C_6 алкил или C_3-C_8 циклоалкил;

m равен 0, 1, 2, 3 или 4;

X^2 представляет собой связь, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил или необязательно замещенный C_1-C_6 гетероалкил;

в каждом случае R^2 независимо представляет собой F, Cl, Br, I, CN, NO_2, R, OR, C_1-C_6 галоалкил, C_3-C_8 галоциклоалкил, C_1-C_6 галоалкокси, C_3-C_8 галоциклоалкокси, -$N(R)_2$, -SR, -S(=O)R, -$S(=O)_2R$, -$S(=O)_2N(R)_2$, -C(=O)R, -C(=O)OR, -OC(=O)R, -$C(=O)N(R)_2$, -$N(R)S(=O)_2R$, -N(R)C(=O)OR, -N(R)C(=O)R и -$N(R)C(=O)N(R)_2$, где в каждом случае R независимо представляет собой H, C_1-C_6 алкил или C_3-C_8 циклоалкил;

n равен 0, 1, 2, 3 или 4;

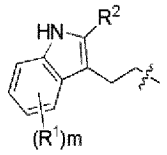
X^3 представляет собой связь, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил или необязательно замещенный C_1-C_6 гетероалкил;

R^3 представляет собой H, R, -OH, -NH_2, -NHR, -C(=O)OH или -SH, где в каждом случае R представляет собой C_1-C_6 алкил или C_3-C_8 циклоалкил;

R^4 представляет собой циклоалкил, включая полициклический циклоалкил, который необязательно замещен 1-4 группами, независимо выбранными из группы, состоящей из F, Cl, Br, I, CN, NO_2, R, OR, C_1-C_6 галоалкила, C_3-C_8 галоциклоалкила, C_1-C_6 галоалкокси, C_3-C_8 галоциклоалкокси, -$N(R)_2$, -SR, -S(=O)R, -$S(=O)_2R$, -$S(=O)_2N(R)_2$, -C(=O)R, -C(=O)OR, -OC(=O)R, -$C(=O)N(R)_2$, -$N(R)S(=O)_2R$, -N(R)C(=O)OR, -N(R)C(=O)R и -$N(R)C(=O)N(R)_2$, где в каждом случае R независимо представляет собой H, C_1-C_6 алкил

или C_3-C_8 циклоалкил;

соединение формулы:



,

где:

в каждом случае R^1 независимо представляет собой F, Cl, Br, I, CN, NO_2, R, OR, C_1-C_6 галоалкил, C_3-C_8 галоциклоалкил, C_1-C_6 галоалкокси, C_3-C_8 галоциклоалкокси, -$N(R)_2$, -SR, -S(=O)R, -$S(=O)_2$R, -$S(=O)_2N(R)_2$, -C(=O)R, -C(=O)OR, -OC(=O)R, -$C(=O)N(R)_2$, -$N(R)S(=O)_2$R, -N(R)C(=O)OR, -N(R)C(=O)R и -$N(R)C(=O)N(R)_2$, где в каждом случае R независимо представляет собой H, C_1-C_6 алкил или C_3-C_8 циклоалкил;

m равен 0, 1, 2, 3 или 4;

в каждом случае R^2 независимо представляет собой H, F, Cl, Br, I, CN, NO_2, R, OR, C_1-C_6 галоалкил, C_3-C_8 галоциклоалкил, C_1-C_6 галоалкокси, C_3-C_8 галоциклоалкокси, -$N(R)_2$, -SR, -S(=O)R, -$S(=O)_2$R, -$S(=O)_2N(R)_2$, -C(=O)R, -C(=O)OR, -OC(=O)R, -$C(=O)N(R)_2$, -$N(R)S(=O)_2$R, -N(R)C(=O)OR, -N(R)C(=O)R и -$N(R)C(=O)N(R)_2$, где в каждом случае R независимо представляет собой H, C_1-C_6 алкил или C_3-C_8 циклоалкил.

30. Соединение по п. 29, где антагонист FcRn представляет собой розаноликсизумаб или эфгартигимод.

31. Фармацевтическая композиция, содержащая по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент и по меньшей мере одно соединение по любому из пунктов 1-3.

32. Фармацевтическая композиция по п. 31, дополнительно содержащая другое терапевтически активное средство, которое лечит, облегчает и/или предотвращает заболевание или нарушение.

33. Способ лечения, облегчения и/или предотвращения заболевания или нарушения у субъекта, включающий введение терапевтически эффективного количества по меньшей мере одного соединения по любому из пунктов 1-3.

34. Способ по п. 33, где заболевание или нарушение представляет собой аутоиммунное заболевание, рак или воспаление.

35. Способ по п. 34, где аутоиммунное заболевание представляет собой болезнь Аддисона, аутоиммунный полиэндокринный синдром (APS) 1, 2 и 3 типов, аутоиммунный панкреатит (AIP), сахарный диабет 1 типа, аутоиммунный тиреоидит, тиреоидит Орда, болезнь Грейвса, аутоиммунный оофорит, эндометриоз, аутоиммунный орхит, синдром Шегрена, аутоиммунную энтеропатию, коэлиакию, болезнь Крона, микроскопический колит, язвенный колит, аутофосфолипидный синдром (APlS), апластическую анемию, аутоиммунную гемолитическую анемию, аутоиммунный лимфопролиферативный синдром, аутоиммунную нейтропению, аутоиммунную тромбоцитопеническую пурпуру, болезнь холодовых агглютининов, эссенциальную смешанную криоглюлинемию, синдром

Эванса, перниciозную анемию, истинную эритроцитарную аплазию, тромбоцитопению, болезненное ожирение, болезнь Стилла, анкилозирующий спондилит, CREST-синдром, лекарственную волчанку, артрит, связанный с энтезитом, эозинофильный фасциит, синдром Фелти, AgG4-связанную болезнь, ювенильный артрит, болезнь Лайма (хроническую), смешанное заболевание соединительной ткани (MCTD), палиндромный ревматизм, синдром Парри-Ромберга, синдром Парсонажа-Тернера, псориатический артрит, реактивный артрит, рецидивирующий полихондрит, ретроперитонеальный фиброз, ревматическую лихорадку, ревматоидный артрит, саркоидоз, синдром Шницлера, системную красную волчанку, недифференцированное заболевание соединительной ткани (UCTD), дерматомиозит, фибромиалгию, миозит, миозит с тельцами включения, миастению, нейромиотонию, паранеопластическую дегенерацию мозжечка, полимиозит, острый диссеминированный энцефаломиелит (ADEM), острую моторную аксональную нейропатию, анти-NMDA-рецепторный энцефалит, концентрический склероз Бало, энцефалит Бикерстафа, хроническую воспалительную демиелинизирующую полинейропатию, синдром Гийена-Барре, энцефалопатию Хашимото, идиопатические воспалительные демиелинизирующие заболевания, миастенический синдром Ламберта-Итона, рассеянный склероз, модель II, синдром Ошторана, детское аутоиммунное нейропсихическое расстройство, ассоциированное со стрептококком (PANDAS), прогрессирующую воспалительную нейропатию, синдром беспокойных ног, синдром скованного человека, хорею Синденхема, поперечный миелит, аутоиммунную ретинопатию, аутоиммунный увеит, синдром Когана, офтальмопатию Грейвса, промежуточный увеит, деревянистый конъюнктивит, язву Мурена, оптический нейромиелит, синдром опсоклонуса, неврит зрительного нерва, склерит, синдром Сусака, симпатическую офтальмию, синдром Толозы-Ханта, аутоиммунное заболевание внутреннего уха (AIED), болезнь Меньера, болезнь Бехчета, эозинофильный гранулематоз с полиангиитом (EGPA), гигантоклеточный артериит, гранулематоз с полиангиитом (GPA), IgA-васкулит (IgAV), IgA-нефропатию, болезнь Кавасаки, лейкоцитокластический васкулит, волчаночный васкулит, ревматоидный васкулит, микроскопический полиангиит (MPA), узелковый полиартериит (PAN), ревматическую полимиалгию, уртикарный васкулит, васкулит, первичный иммунодефицит, синдром хронической усталости, комплексный региональный болевой синдром, эозинофильный эзофагит, гастрит, интерстициальную болезнь легких, синдром POEMS, синдром Рейно, первичный иммунодефицит или гангренозную пиодермию.

36. Способ по п. 34, где рак представляет собой рак предстательной железы, метастатический рак предстательной железы, рак желудка, рак толстого кишечника, рак прямой кишки, рак печени, рак поджелудочной железы, рак легких, рак молочной железы, рак шейки матки, рак тела матки, рак яичников, рак яичек, рак мочевого пузыря, рак почки, рак головного мозга/ЦНС, рак головы и шеи, рак горла, болезнь Ходжкина, неходжскинскую лимфому, множественную миелому, лейкоз, меланому, немеланомный рак кожи, острый лимфоцитарный лейкоз, острый миелогенный лейкоз, саркому Юинга,

мелкоклеточный рак легких, хориокарциному, рабдомиосаркому, опухоль Вильмса, нейробластому, волосатоклеточный лейкоз, рак ротовой полости/глотки, пищевода, гортани, рак почки или лимфому.

37. Способ по п. 34, где воспаление представляет собой воспалительные нейродегенеративные заболевания, заболевания, связанные с нарушением иммунного ответа, вызывающим воспаление, хронические воспалительные заболевания, гипергликемические заболевания, диабет (I и II типа), гибель панкреатических β-клеток и связанные с этим гипергликемические заболевания, заболевание печени, почечную недостаточность, сердечно-сосудистое заболевание, мышечную дегенерацию и атрофию, неспецифическое воспаление, подагру, силикоз, атеросклероз и сопутствующие состояния, инсульт и травму спинного мозга или артериосклероз.

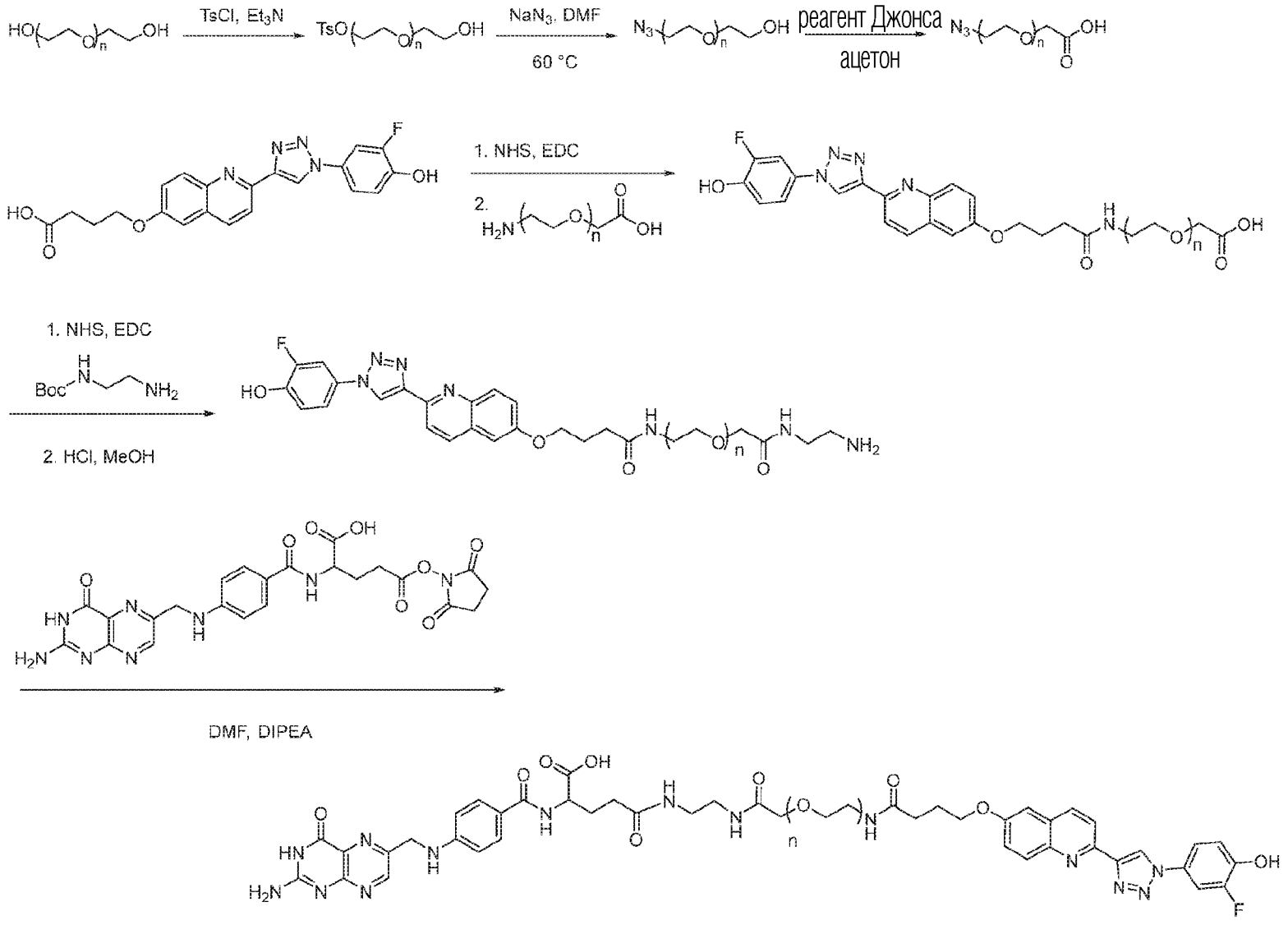
38. Способ по п. 33, где субъекту дополнительно вводят по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство, которое лечит, облегчает и/или предотвращает заболевание или нарушение.

39. Способ по п. 33, где субъект является млекопитающим.

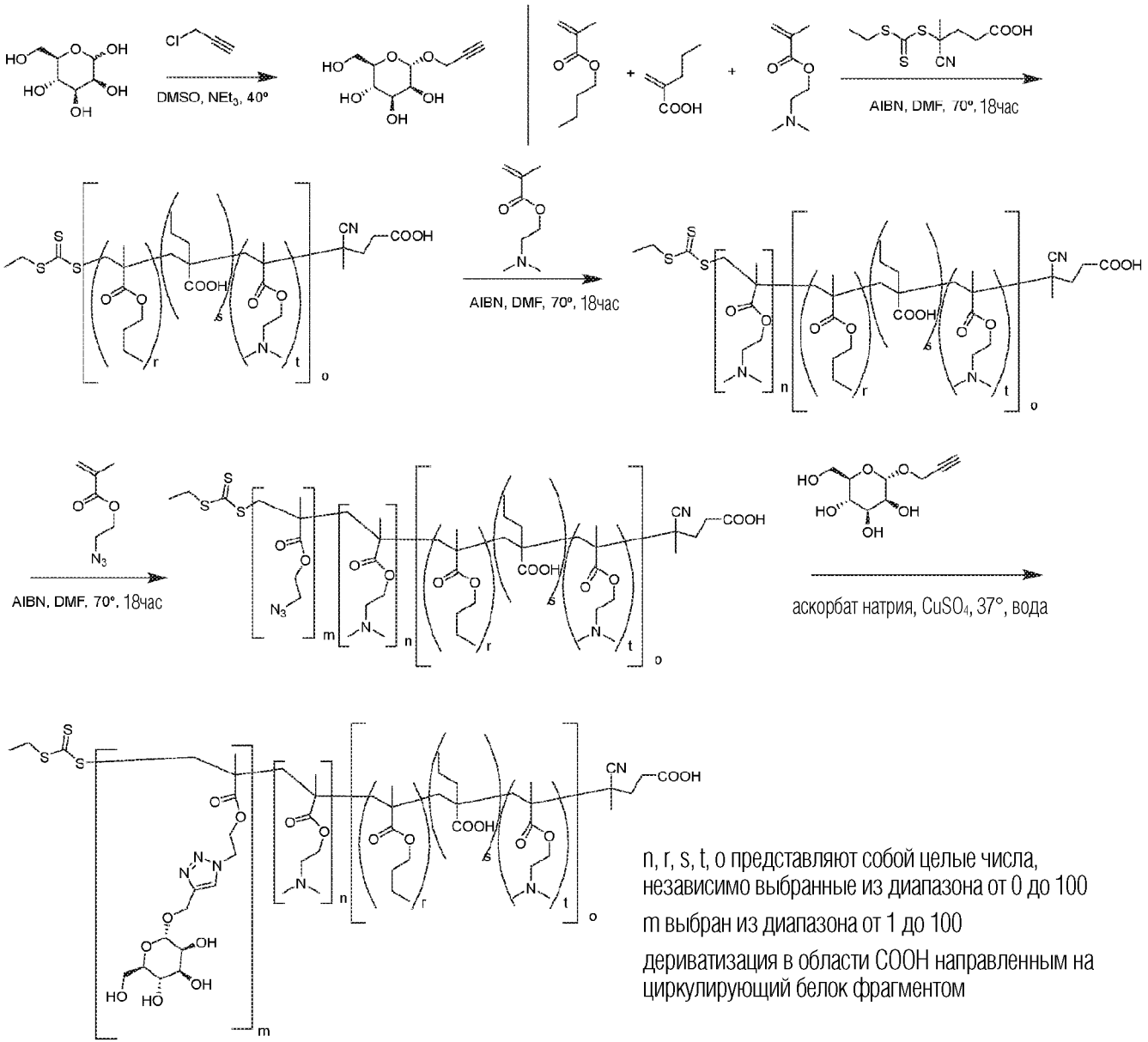
40. Способ по п. 33, где субъект является человеком.

По доверенности

ФИГ. 1


TsCl, Et3N
NaN3, DMF
60 °C
реагент Джонса
ацетон
1. NHS, EDC
2.
1. NHS, EDC
2. HCl, MeOH
DMF, DIPEA

ФИГ. 2

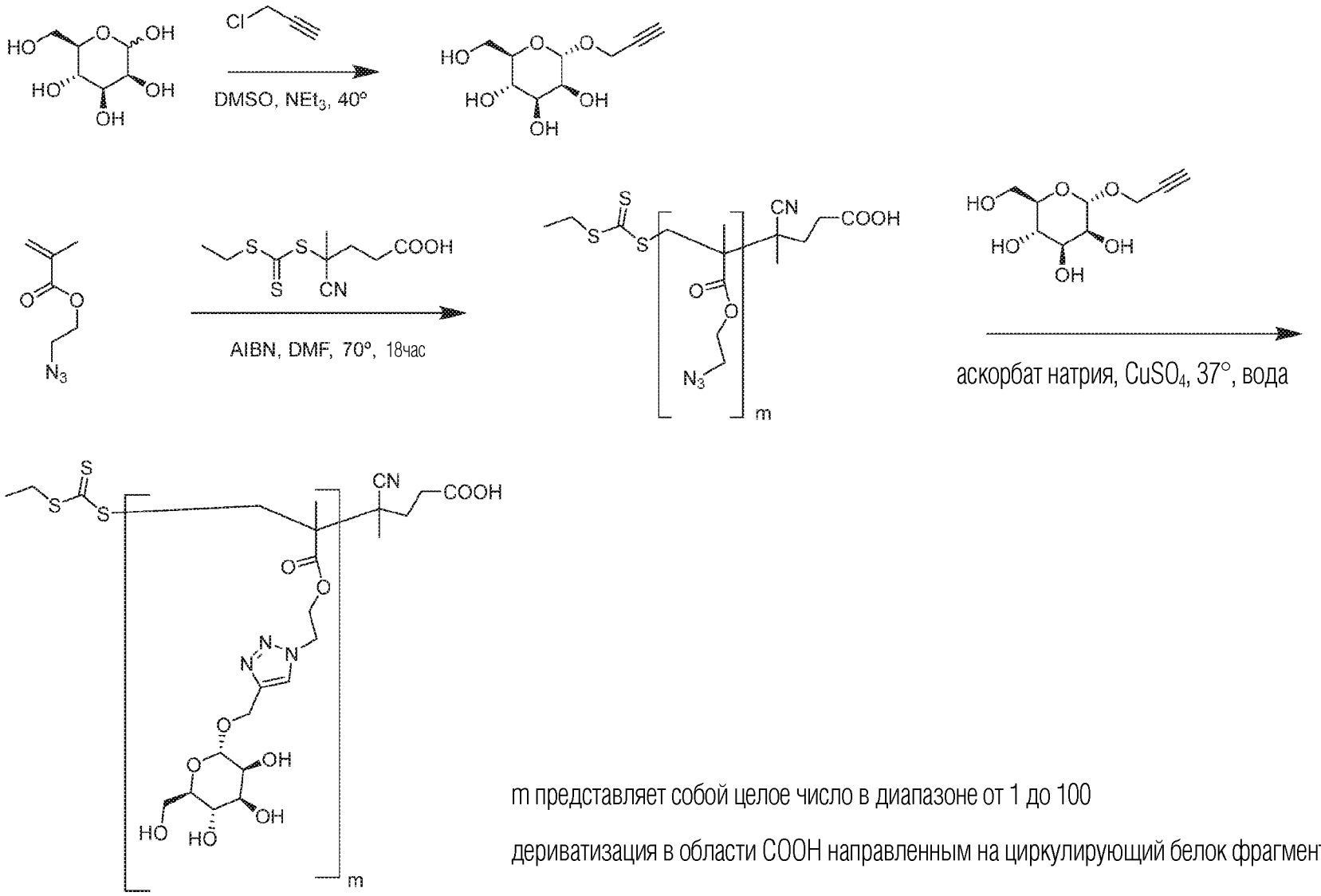


n, r, s, t, o представляют собой целые числа, независимо выбранные из диапазона от 0 до 100

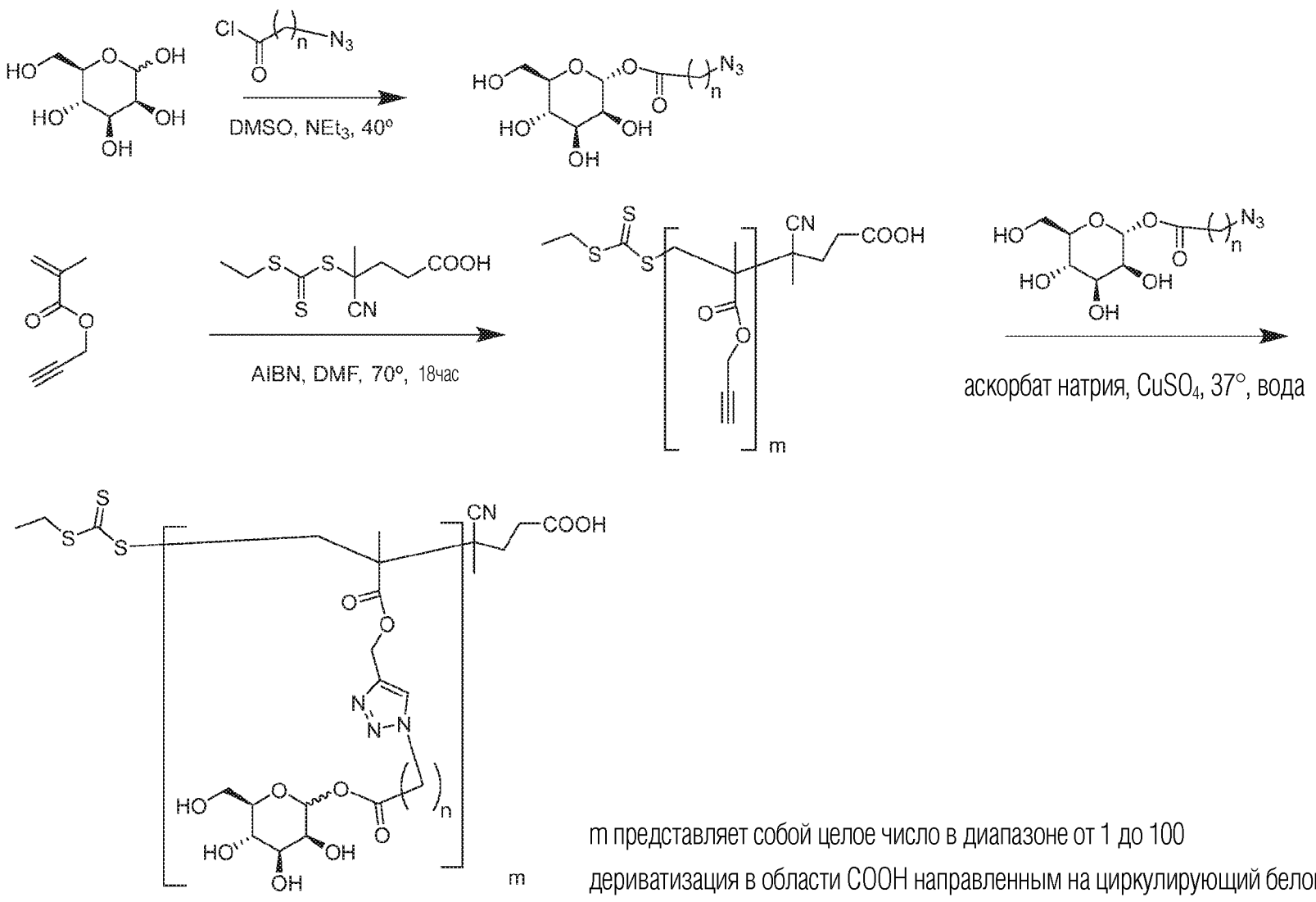
m выбран из диапазона от 1 до 100

дериватизация в области COOH направленным на циркулирующий белок фрагментом

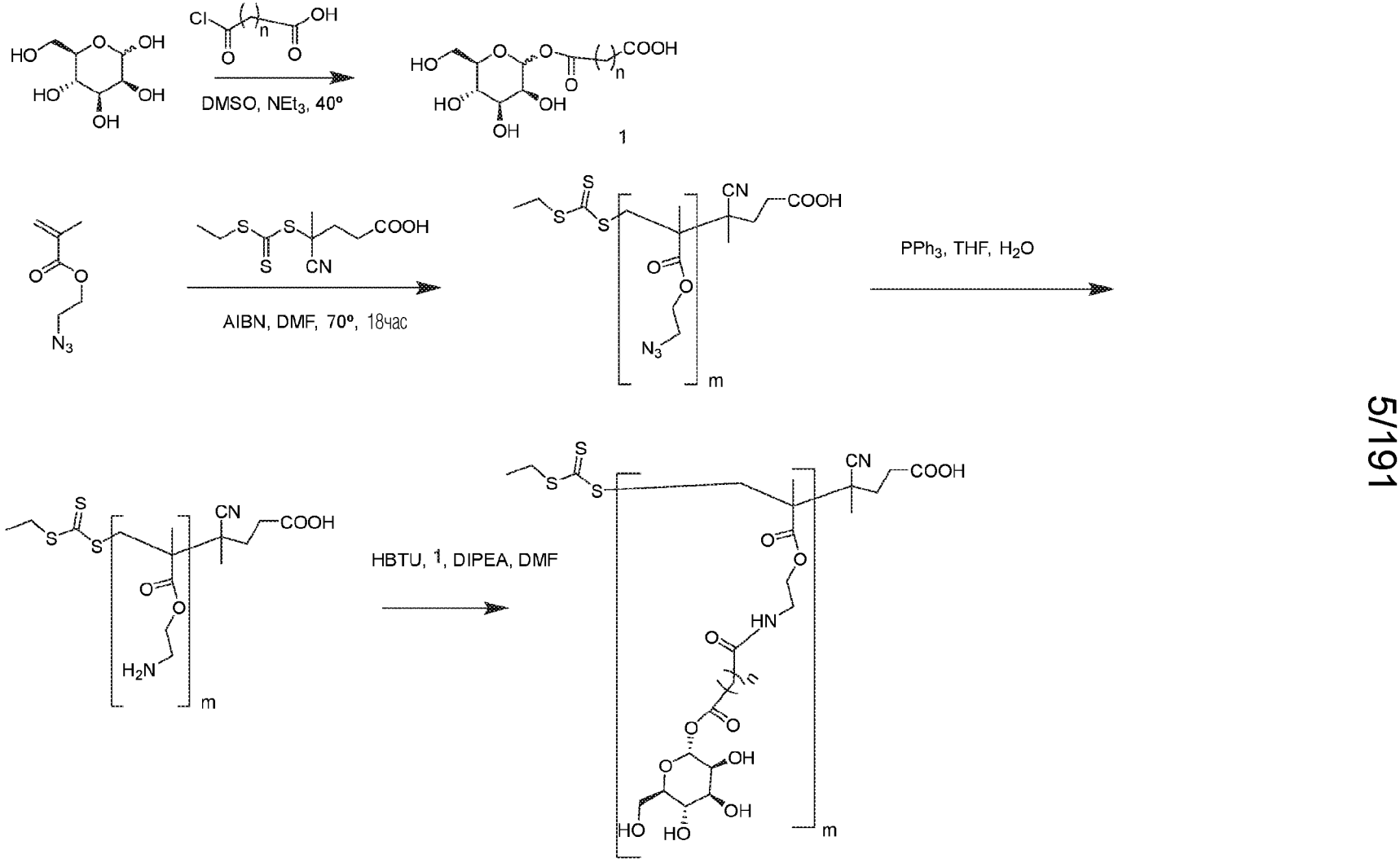
ФИГ. 3


DMSO, NEt3, 40°
AIBN, DMF, 70°, 18час
аскорбат натрия, CuSO4, 37°, вода
m представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 100
дериватизация в области COOH направленным на циркулирующий белок фрагментом

ФИГ. 4


DMSO, NEt3, 40°
AIBN, DMF, 70°, 18час
аскорбат натрия, CuSO4, 37°, вода
m представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 100
дериватизация в области COOH направленным на циркулирующий белок фрагментом

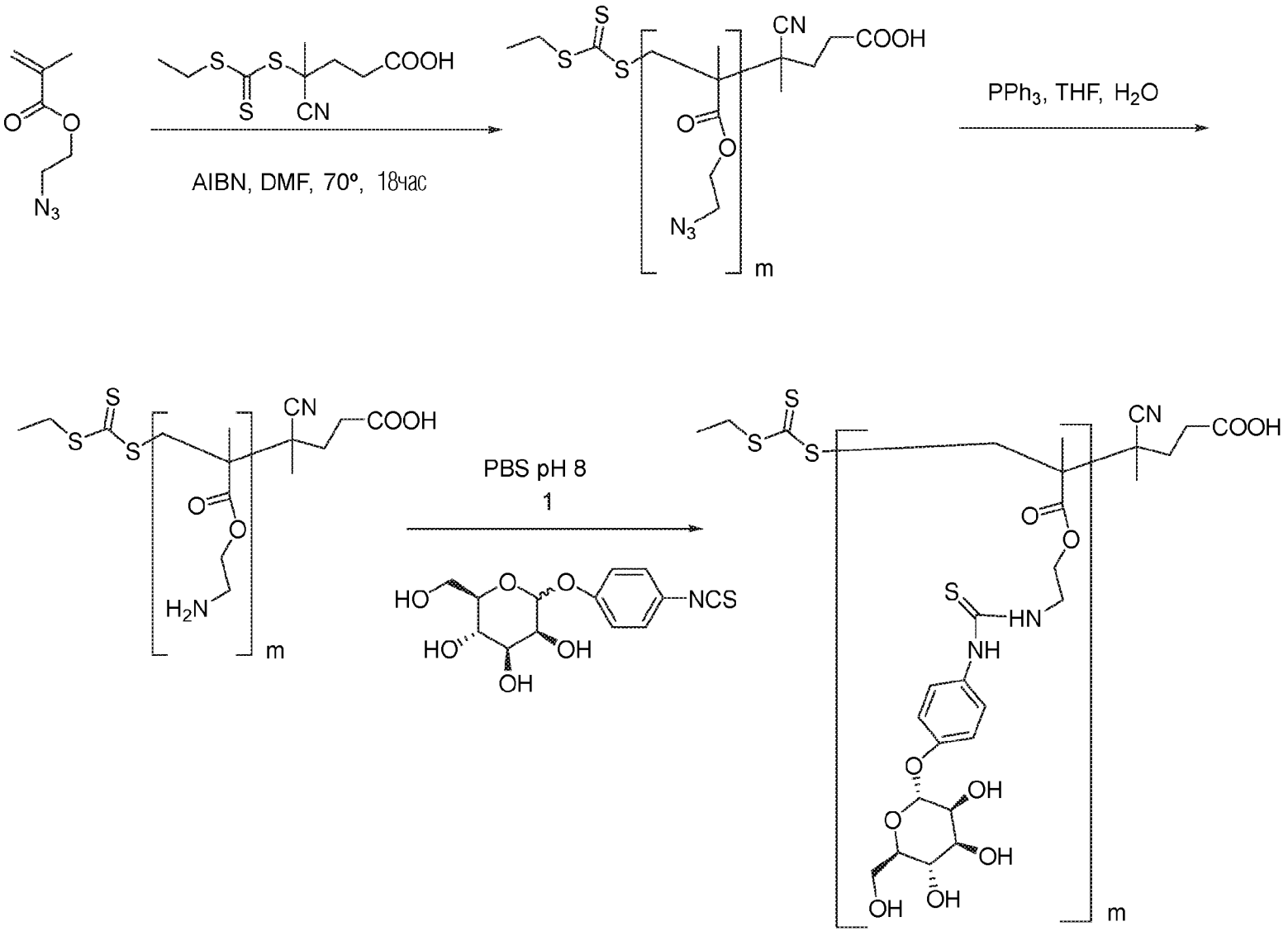
ФИГ. 5



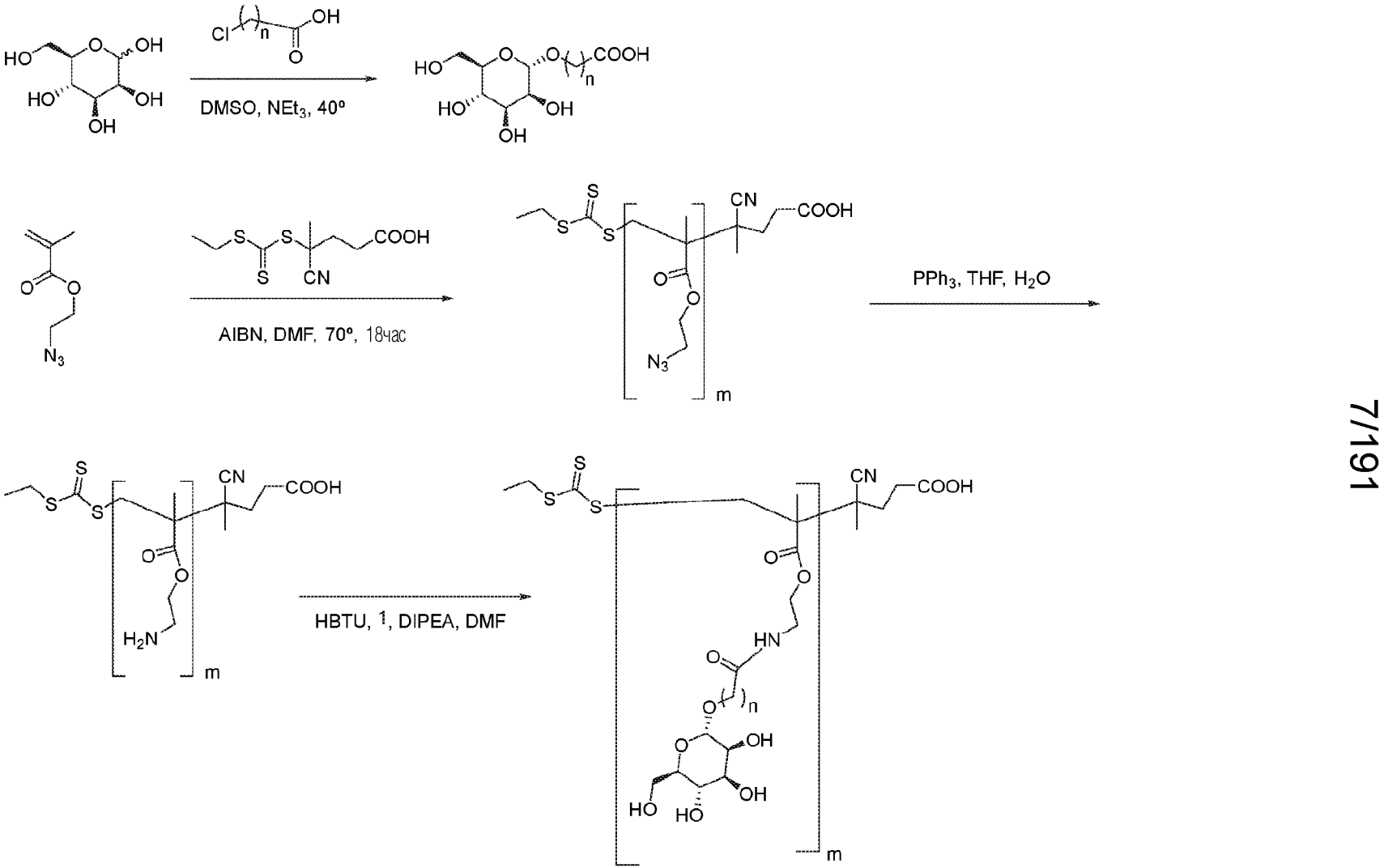
m представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 100

дериватизация в области COOH направленным на циркулирующий белок фрагментом

ФИГ. 6



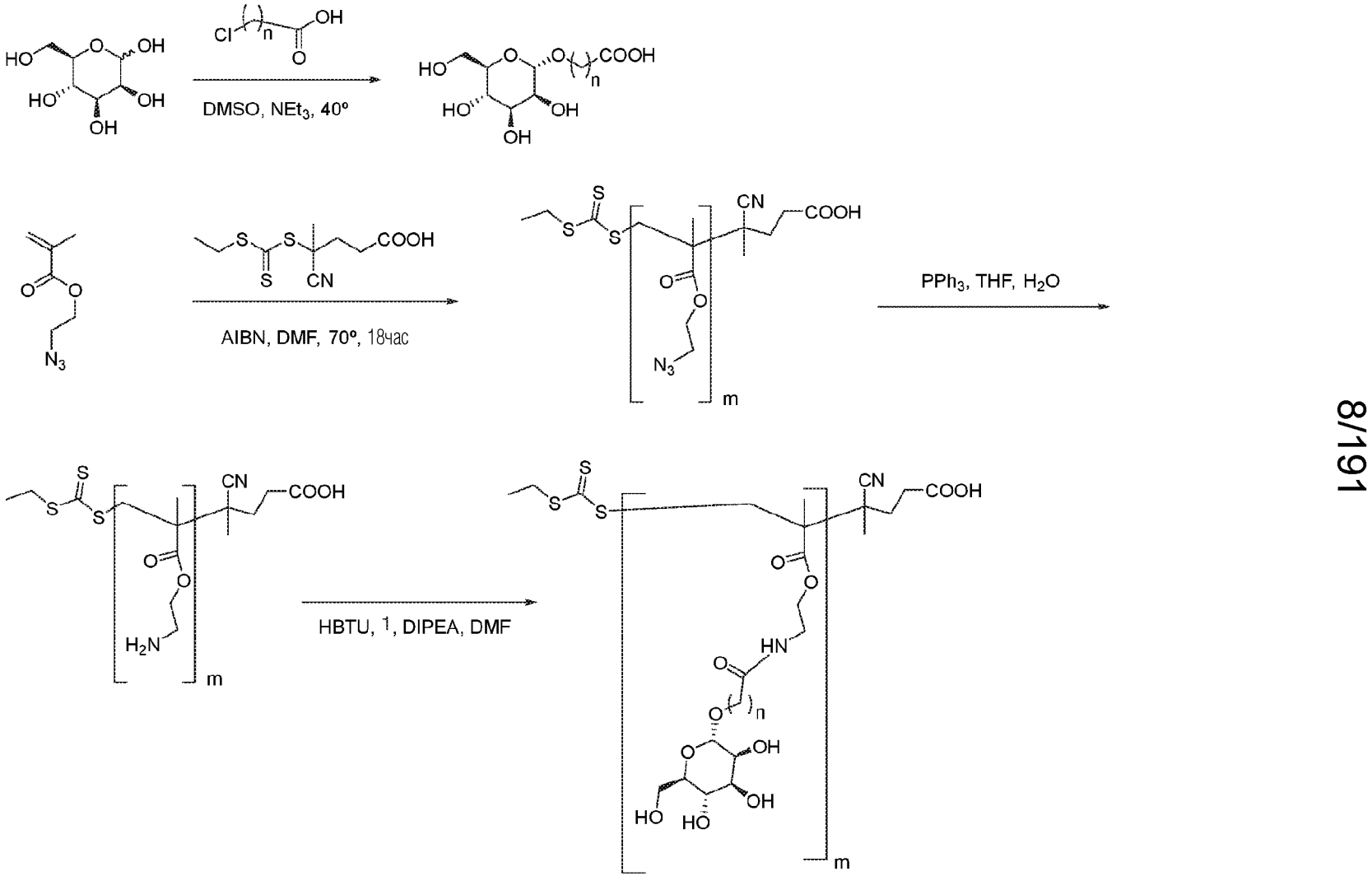
ФИГ. 7



m представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 100

дериватизация в области COOH направленным на циркулирующий белок фрагментом

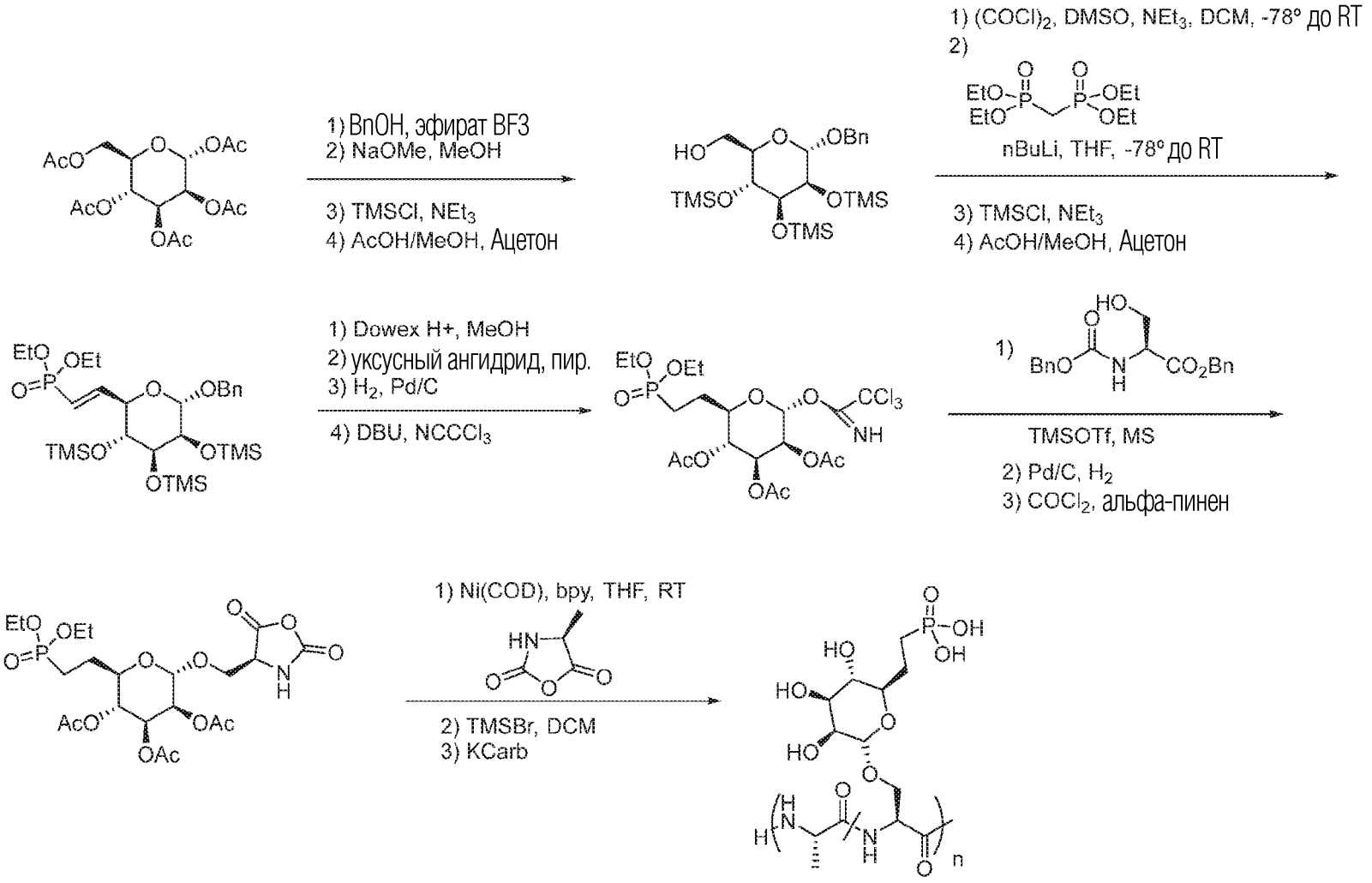
ФИГ. 8



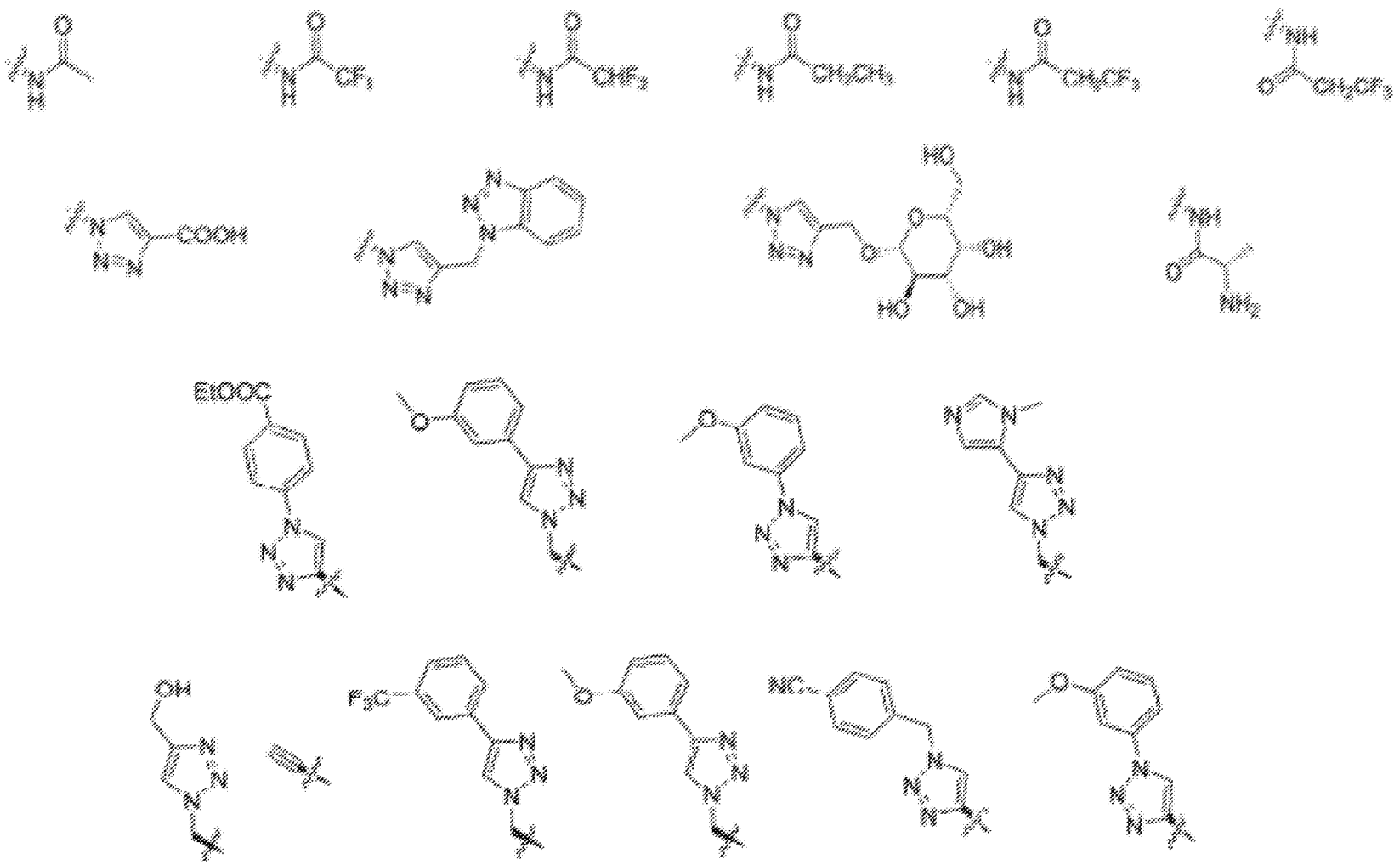
m представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 100

дериватизация в области COOH направленным на циркулирующий белок фрагментом

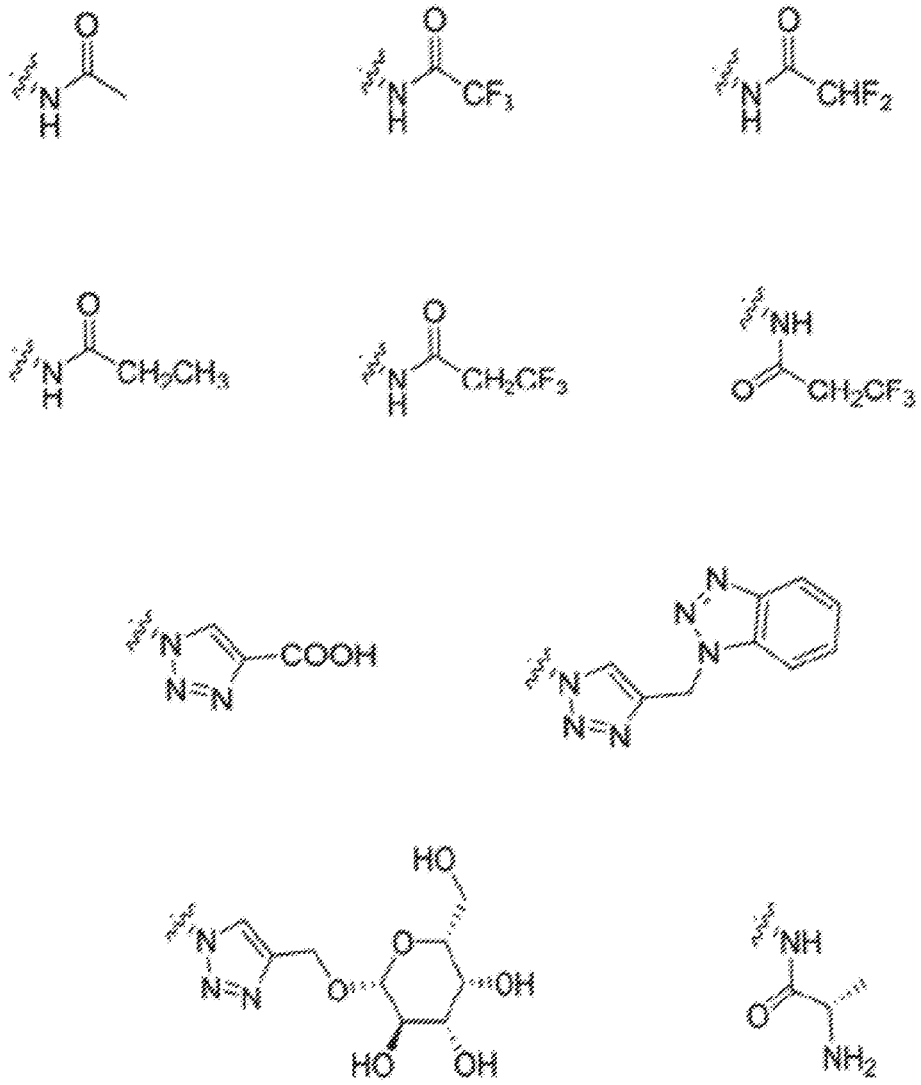
ФИГ. 9


1) BnOH, эфират BF3
2) NaOMe, MeOH
3) TMSCl, NEt3
4) AcOH/MeOH, Ацетон
1) (COCl)2, DMSO, NEt3, DCM, -78° до RT
2)
nBuLi, THF, -78° до RT
3) TMSCl, NEt3
4) AcOH/MeOH, Ацетон
1) Dowex H+, MeOH
2) уксусный ангидрид, пир.
3) H2, Pd/C
4) DBU, NCCCl3
1)
TMSOTf, MS
2) Pd/C, H2
3) COCl2, альфа-пинен
1) Ni(COD), bpy, THF, RT
2) TMSBr, DCM
3) KCarb

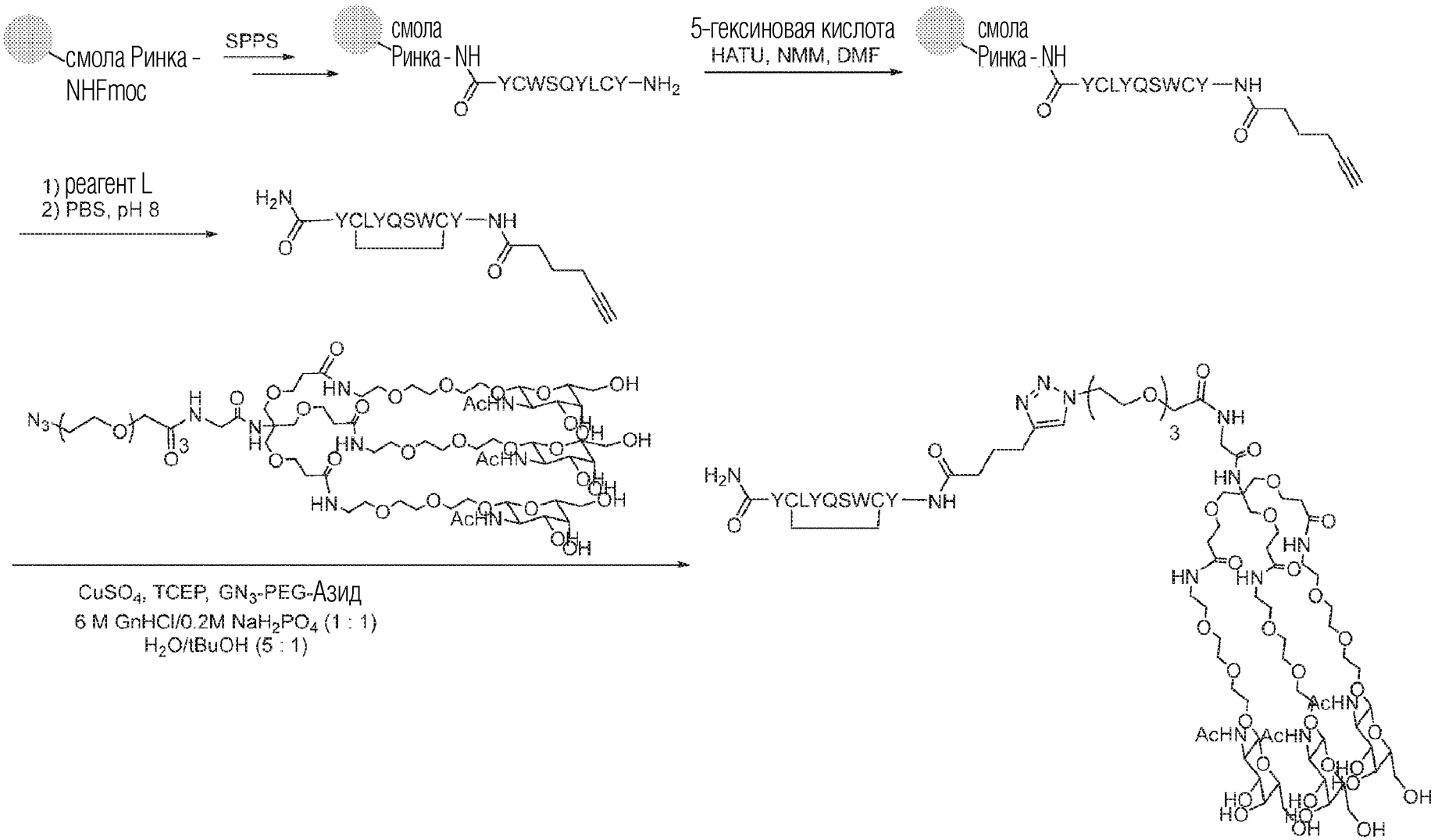
ФИГ. 10



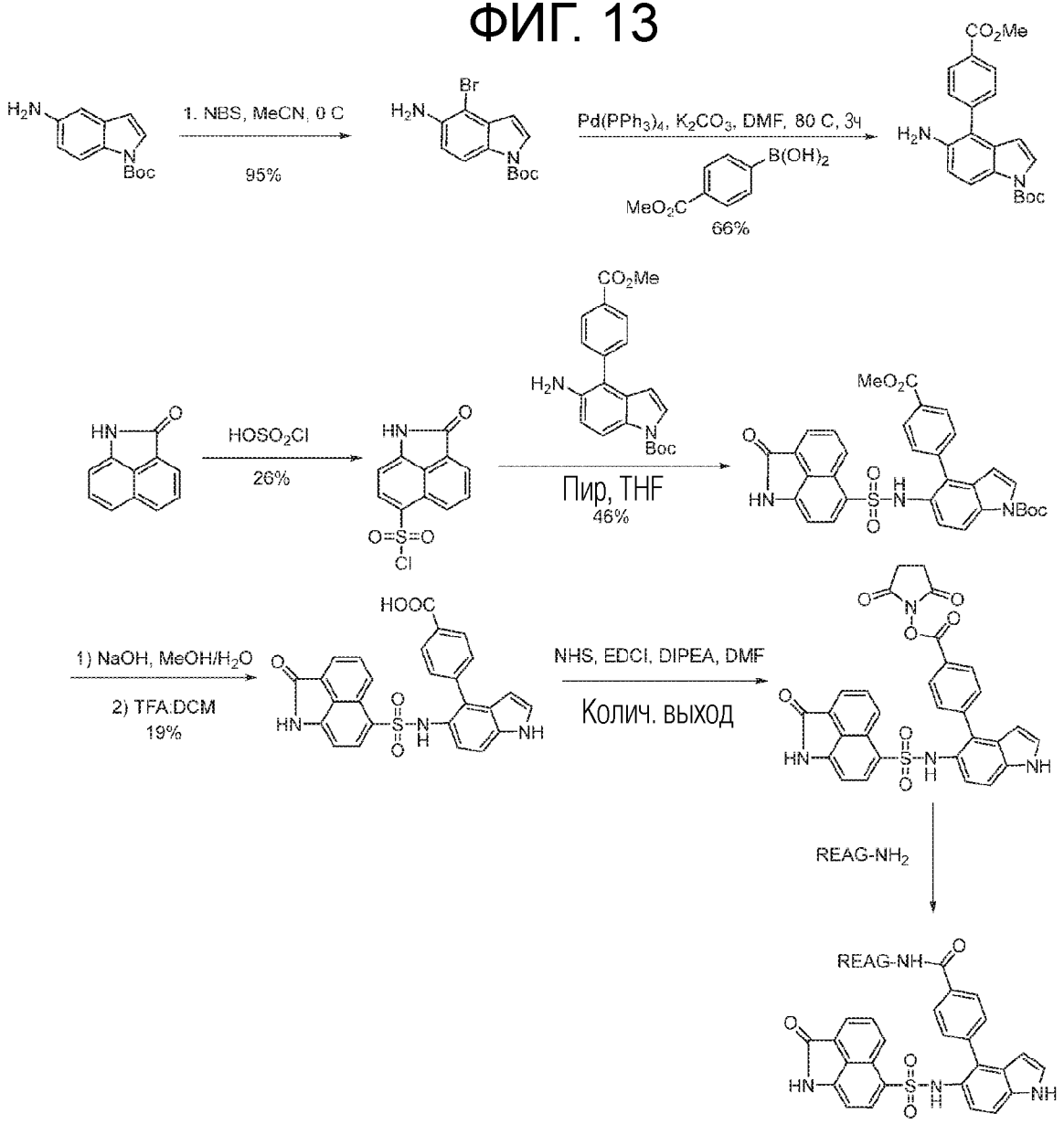
ФИГ. 11



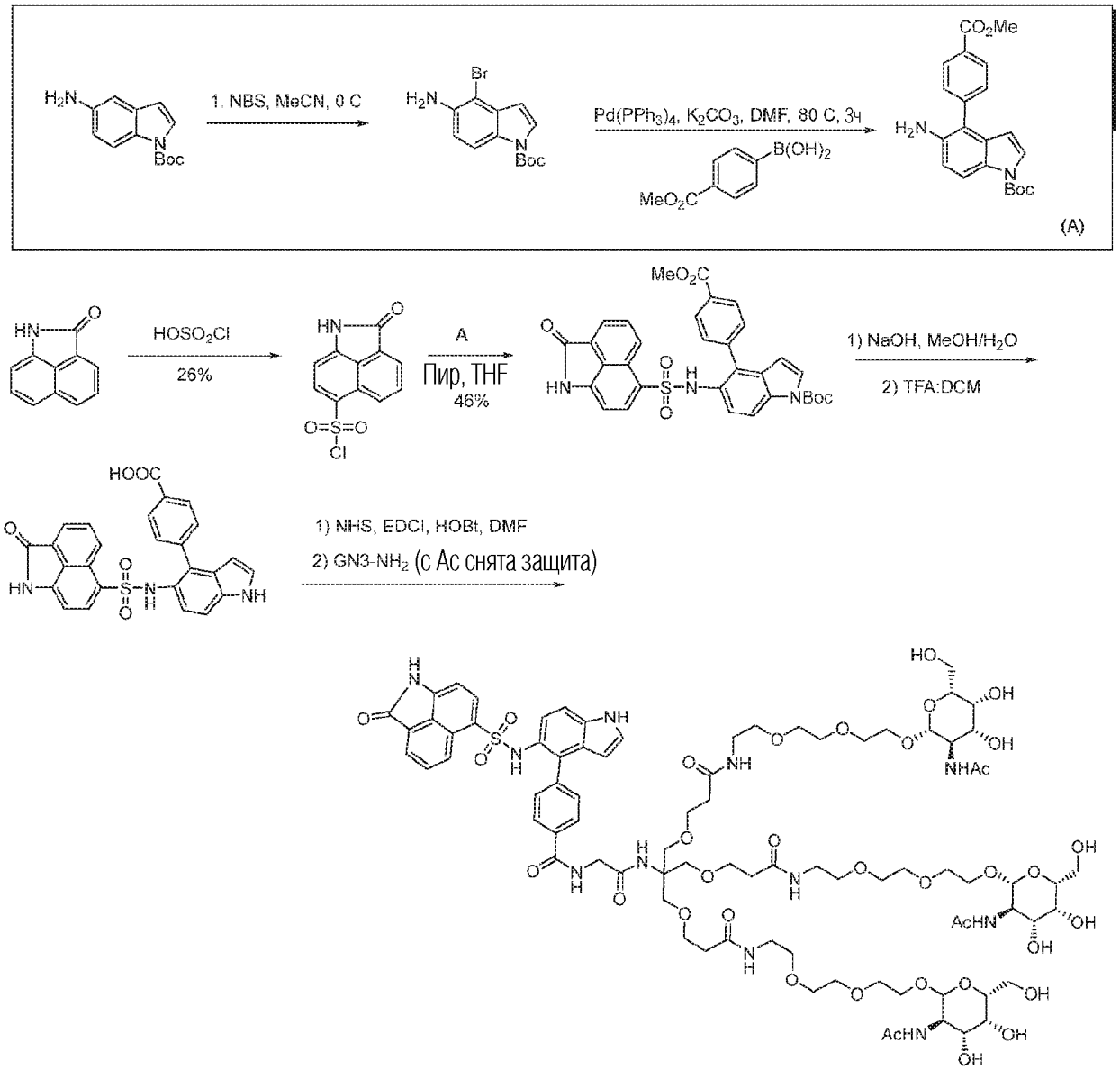
ФИГ. 12


смола Ринка - NHFmoc
SPPS
смола Ринка - NH
YCWSQYLCY—NH2
5-гексиновая кислота
HATU, NMM, DMF
смола Ринка - NH
YCLYQSWCY—NH
1) реагент L
2) PBS, pH 8
H2N
YCLYQSWCY—NH
CuSO4, TCEP, GN3-PEG-Азид
6 M GnHCl/0.2M NaH2PO4 (1 : 1)
H2O/tBuOH (5 : 1)

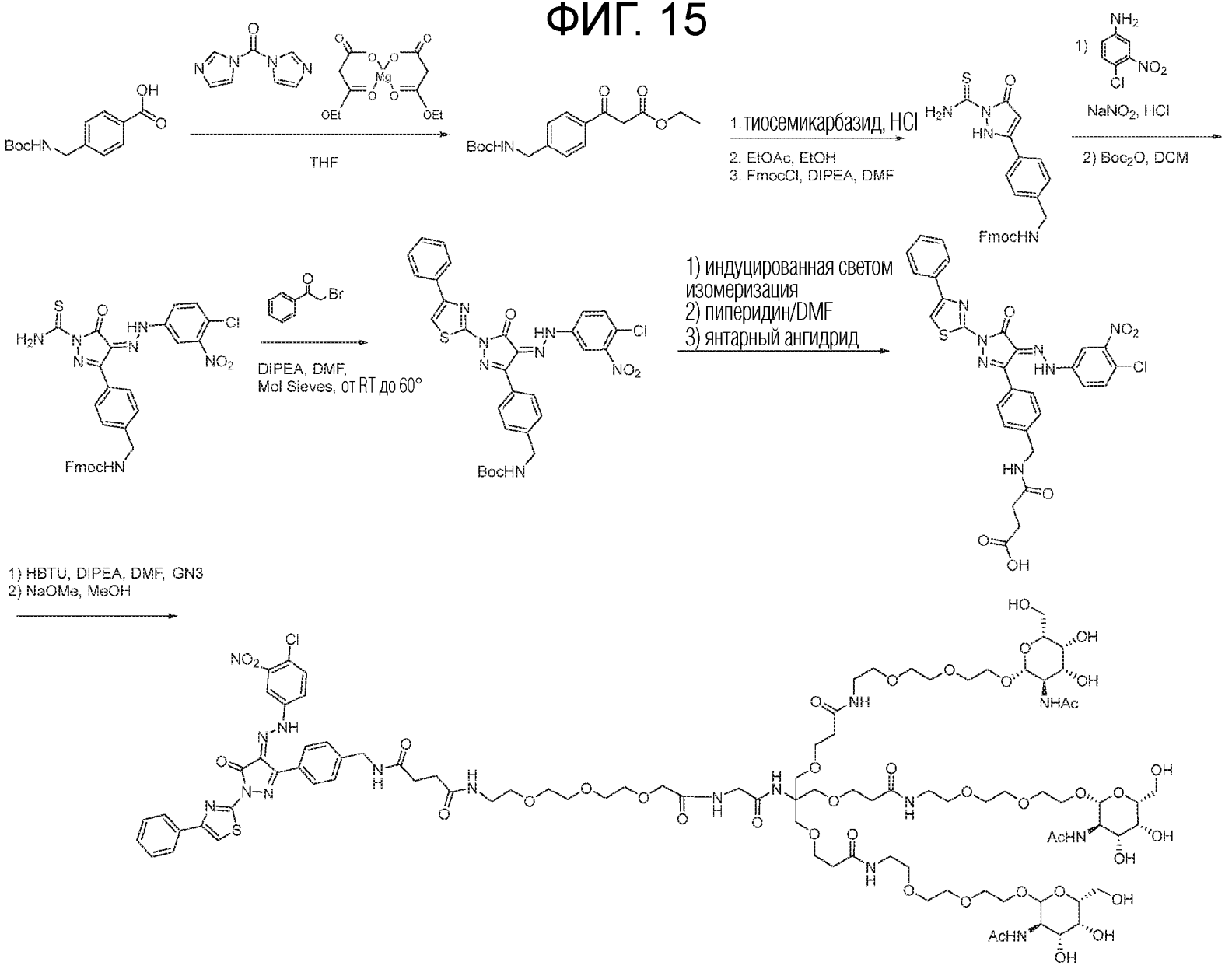
ФИГ. 13


1. NBS, MeCN, 0 C
95%
Pd(PPh3)4, K2CO3, DMF, 80 C, 3ч
66%
HOSO2Cl
26%
Пир, THF
46%
1) NaOH, MeOH/H2O
2) TFA:DCM
19%
NHS, EDCI, DIPEA, DMF
Колич. выход
REAG-NH2

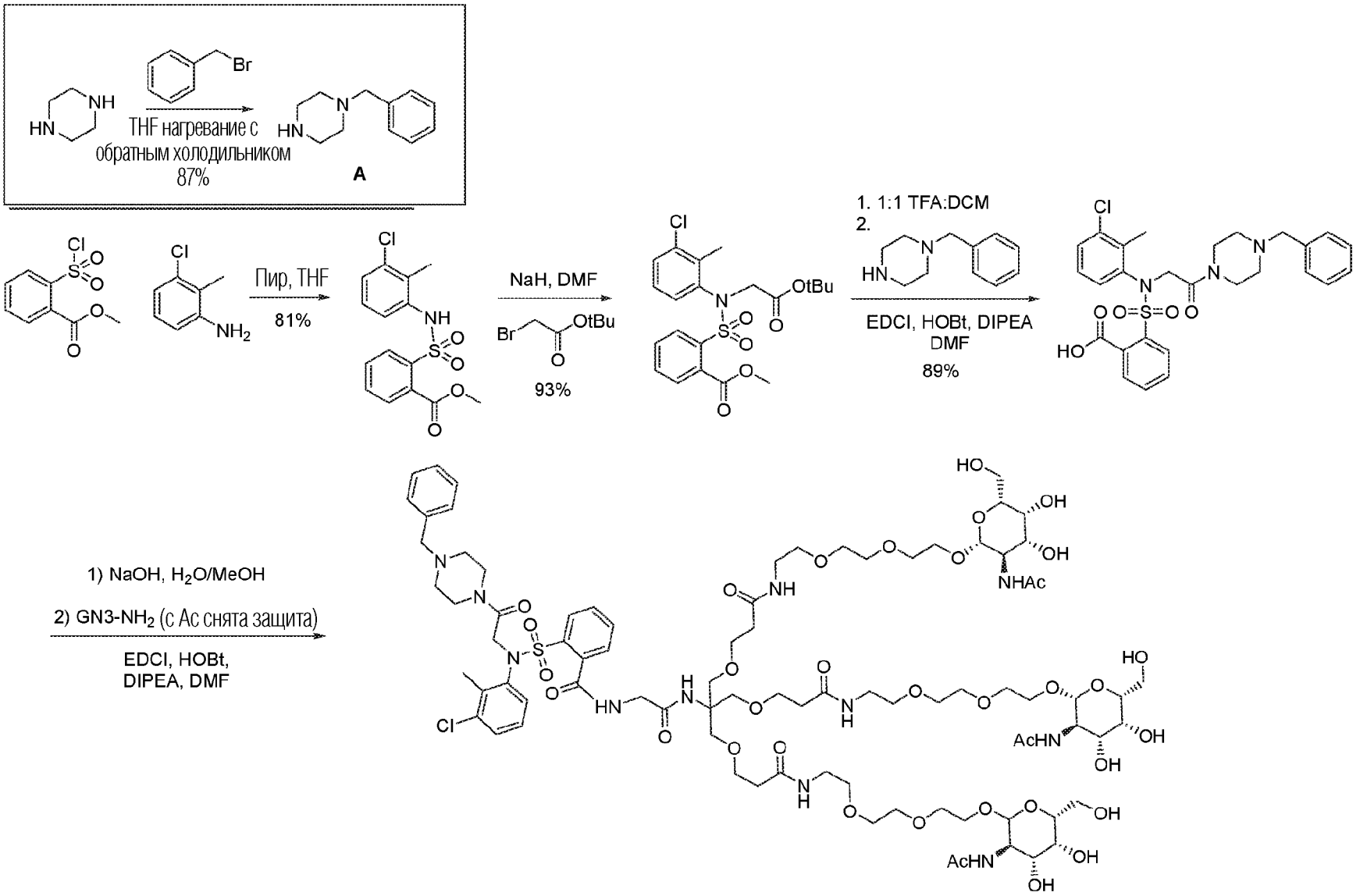
ФИГ. 14


1. NBS, MeCN, 0 C
Pd(PPh3)4, K2CO3, DMF, 80 C, 3ч
(A)
HOSO2Cl
26%
A
Пир, THF
46%
1) NaOH, MeOH/H2O
2) TFA:DCM
1) NHS, EDCI, HOBt, DMF
2) GN3-NH2 (с Ac снята защита)

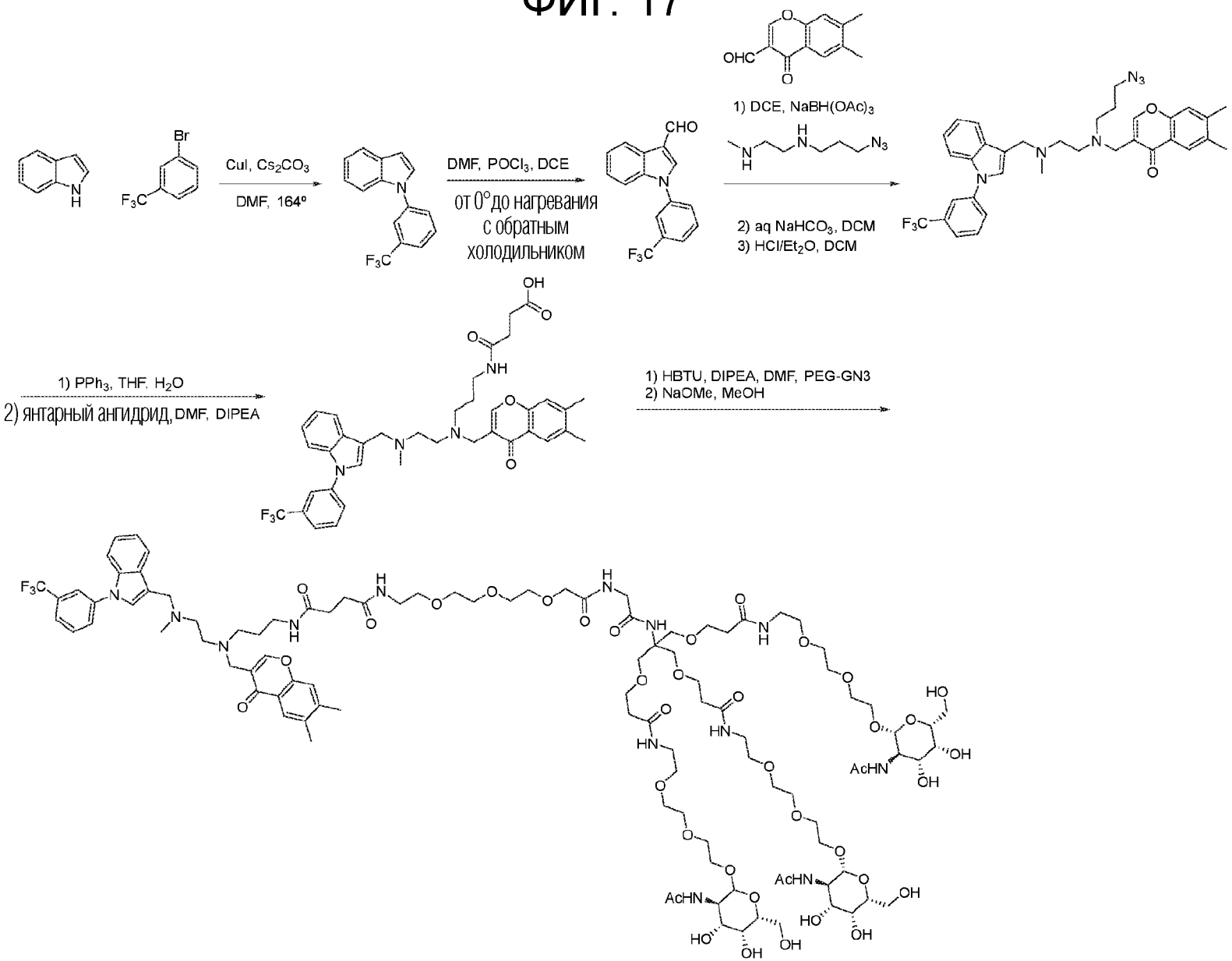
ФИГ. 15


BocHN
OH
THF
1. тиосемикарбазид, HCl
2. EtOAc, EtOH
3. FmocCl, DIPEA, DMF
1)
NaNO2, HCl
2) Boc2O, DCM
FmocHN
DIPEA, DMF,
Mol Sieves, от RT до 60°
1) индуцированная светом изомеризация
2) пиперидин/DMF
3) янтарный ангидрид
1) HBTU, DIPEA, DMF, GN3
2) NaOMe, MeOH
NHAc
AcHN

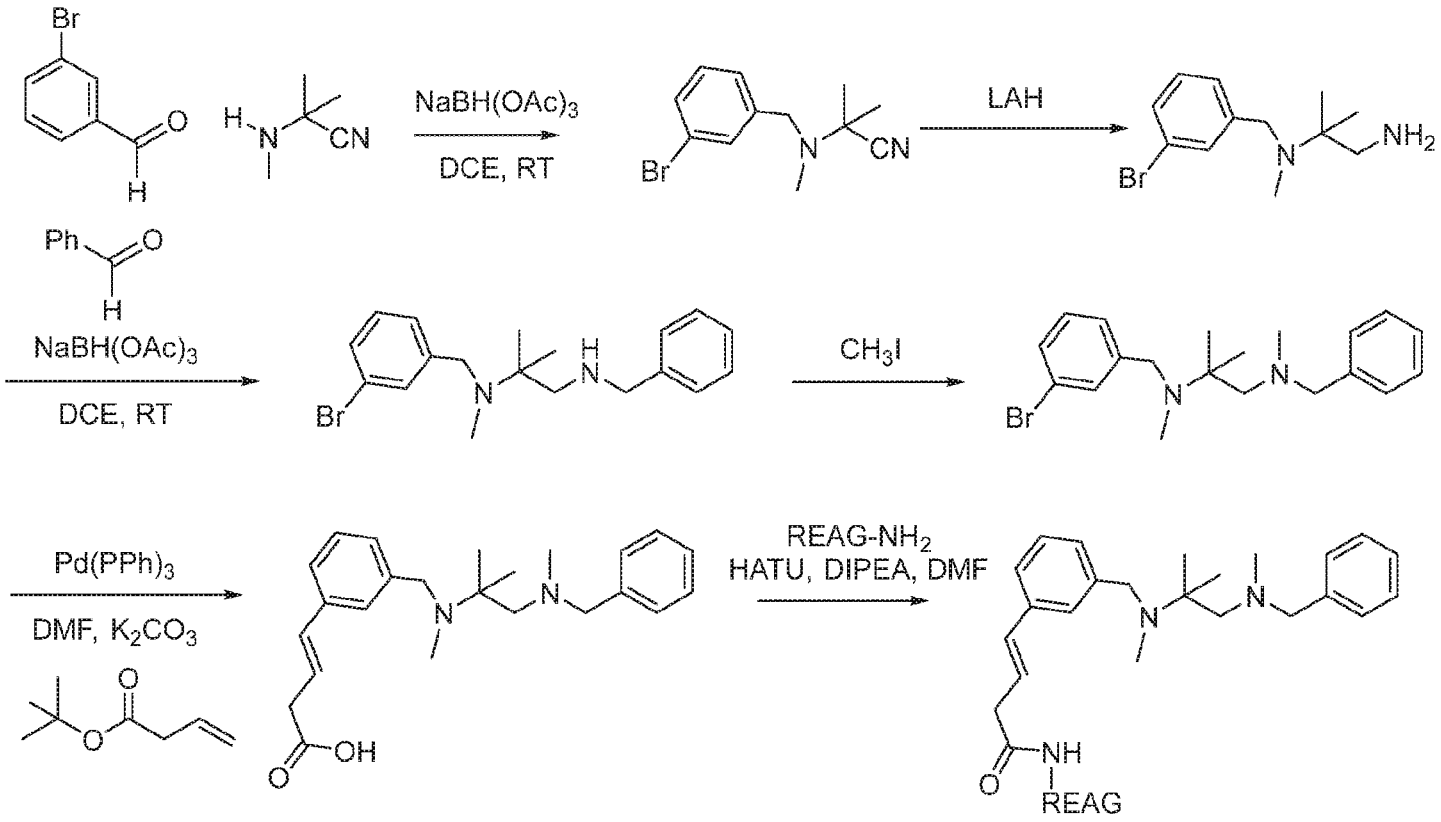
ФИГ. 16


THF нагревание с обратным холодильником
87%
A
Пир, THF
81%
NaH, DMF
93%
1. 1:1 TFA:DCM
2.
EDCI, HOBt, DIPEA
DMF
89%
1) NaOH, H2O/MeOH
2) GN3-NH2 (с Ac снята защита)
EDCI, HOBt,
DIPEA, DMF

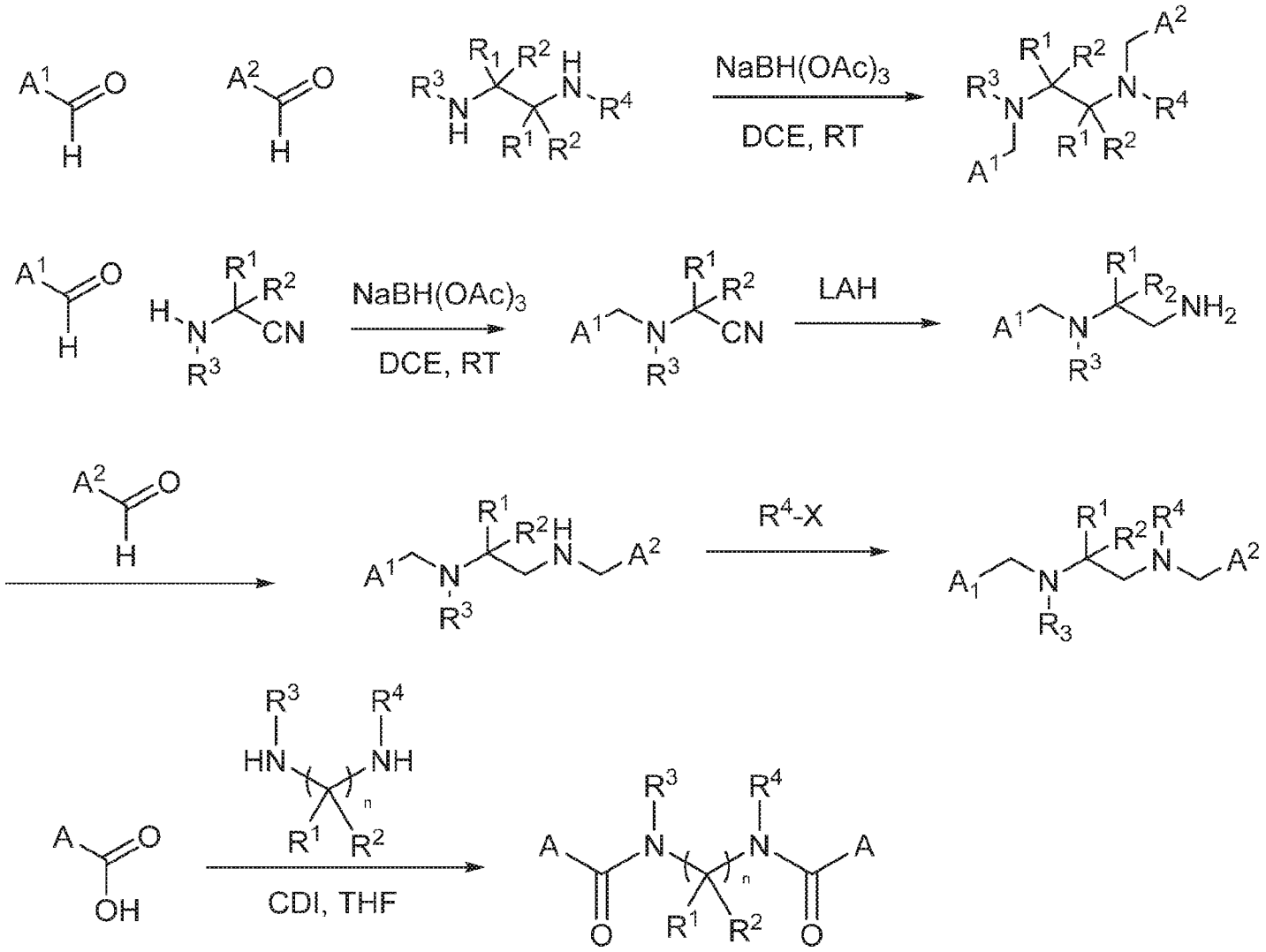
ФИГ. 17


CuI, Cs2CO3
DMF, 164°
DMF, POCl3, DCE
от 0° до нагревания с обратным холодильником
1) DCE, NaBH(OAc)3
2) aq NaHCO3, DCM
3) HCl/Et2O, DCM
1) PPh3, THF, H2O
2) янтарный ангидрид, DMF, DIPEA
1) HBTU, DIPEA, DMF, PEG-GN3
2) NaOMe, MeOH

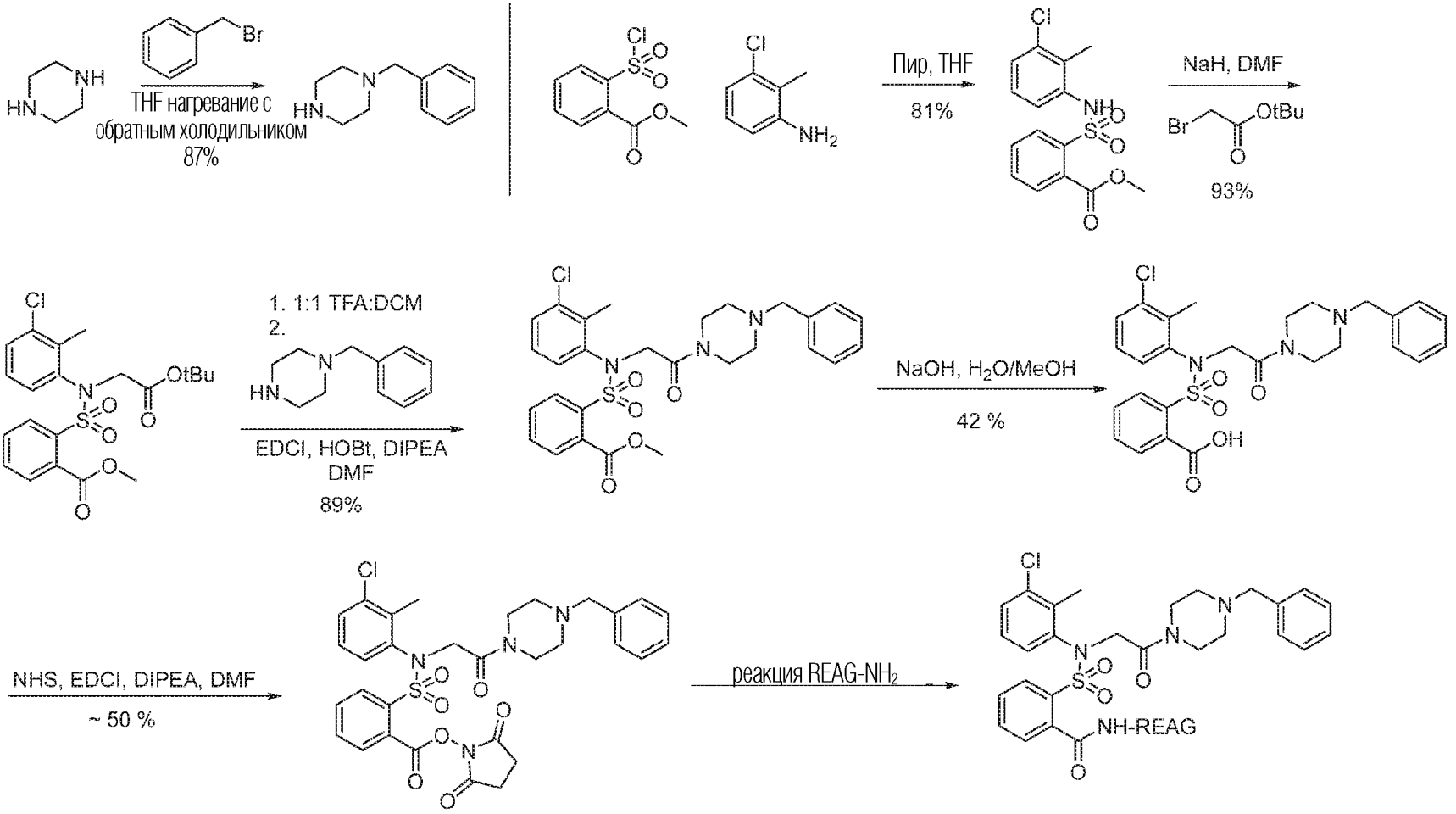
ФИГ. 18


Br
O
H
H
N
CN
NaBH(OAc)3
DCE, RT
Br
N
CN
LAH
Br
N
NH2
Ph
O
H
NaBH(OAc)3
DCE, RT
Br
N
H
N
CH3I
Br
N
N
Pd(PPh3)
DMF, K2CO3
O
O
OH
N
N
REAG-NH2
HATU, DIPEA, DMF
N
N
O
NH
REAG

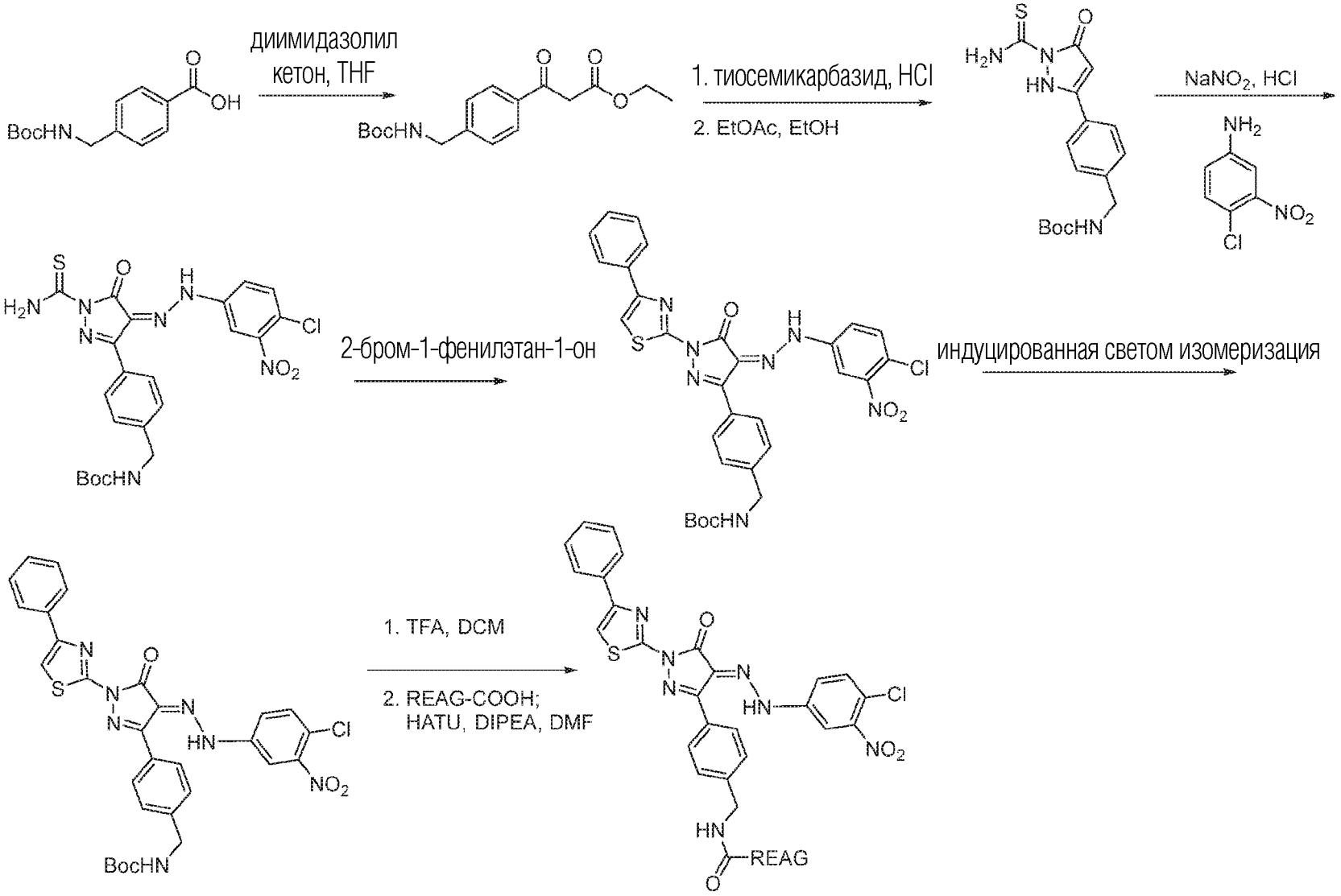
ФИГ. 19



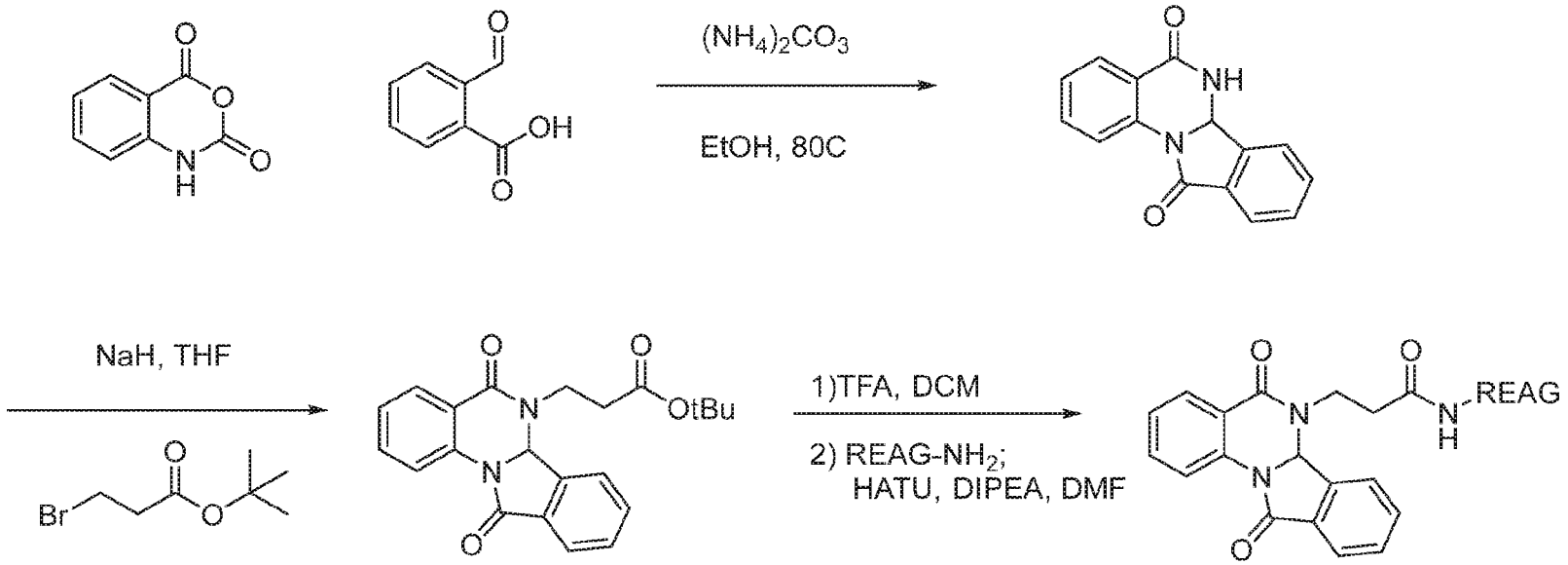
ФИГ. 20


THF нагревание с обратным холодильником
87%
Пир, THF
81%
NaH, DMF
93%
1. 1:1 TFA:DCM
2.
EDCI, HOBt, DIPEA
DMF
89%
NaOH, H2O/MeOH
42 %
NHS, EDCI, DIPEA, DMF
~ 50 %
реакция REAG-NH2
NH-REAG

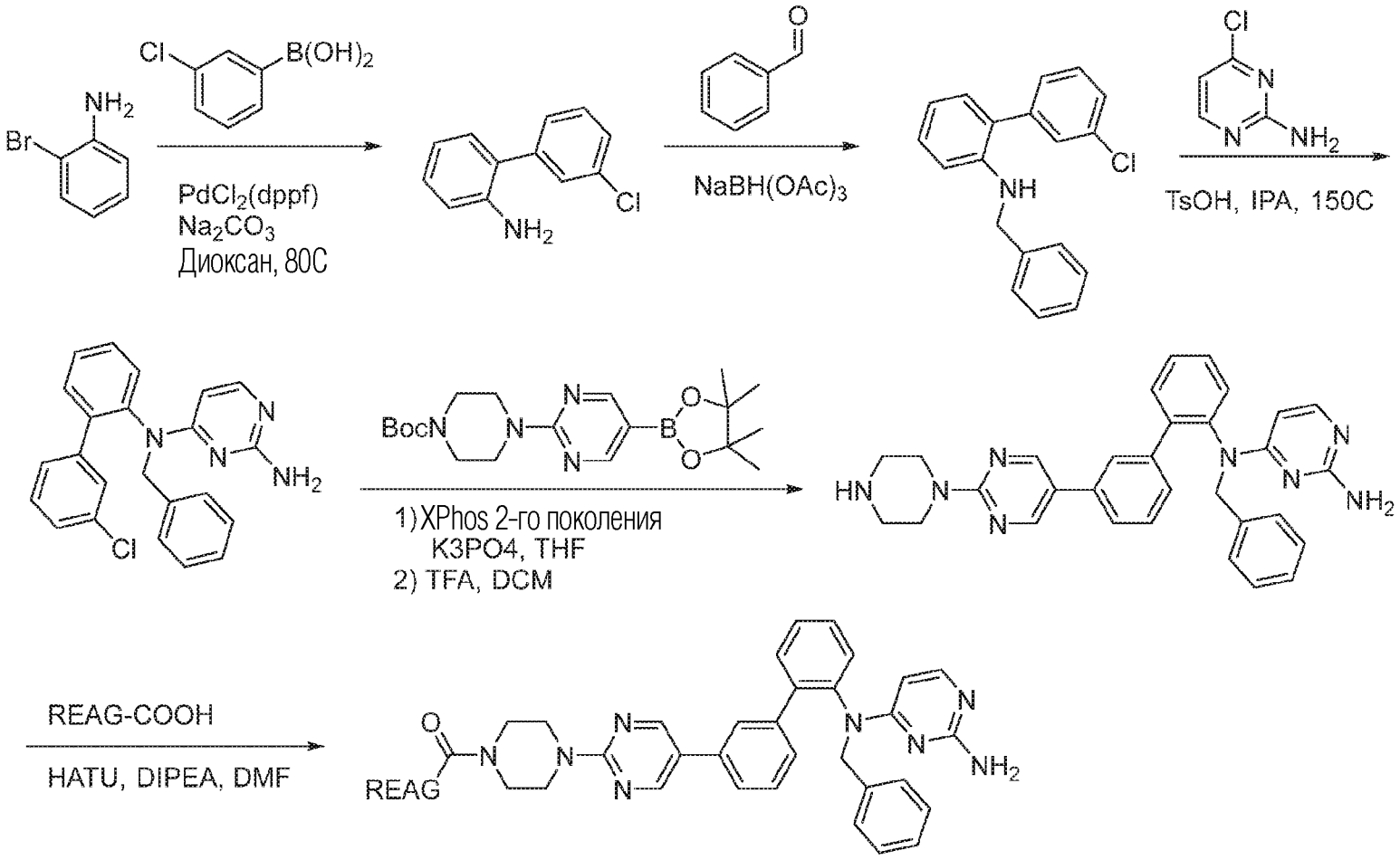
ФИГ. 21


диимидазолил
кетон, THF
1. тиосемикарбазид, HCl
2. EtOAc, EtOH
NaNO2, HCl
2-бром-1-фенилэтан-1-он
индуцированная светом изомеризация
1. TFA, DCM
2. REAG-COOH;
HATU, DIPEA, DMF
BocHN
REAG

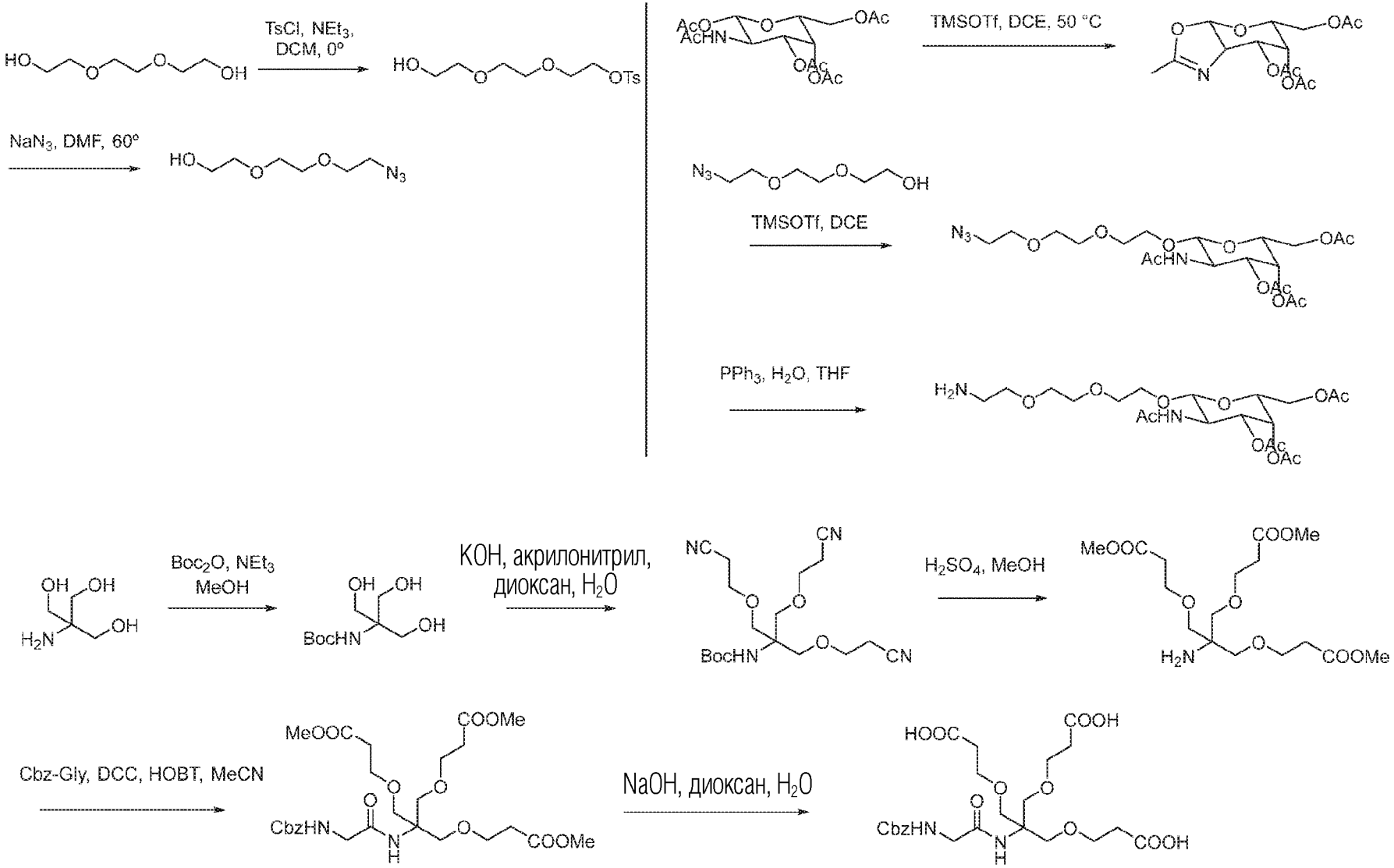
ФИГ. 22


(NH4)2CO3
EtOH, 80C
NaH, THF
Br
OtBu
1)TFA, DCM
2) REAG-NH2;
HATU, DIPEA, DMF
REAG

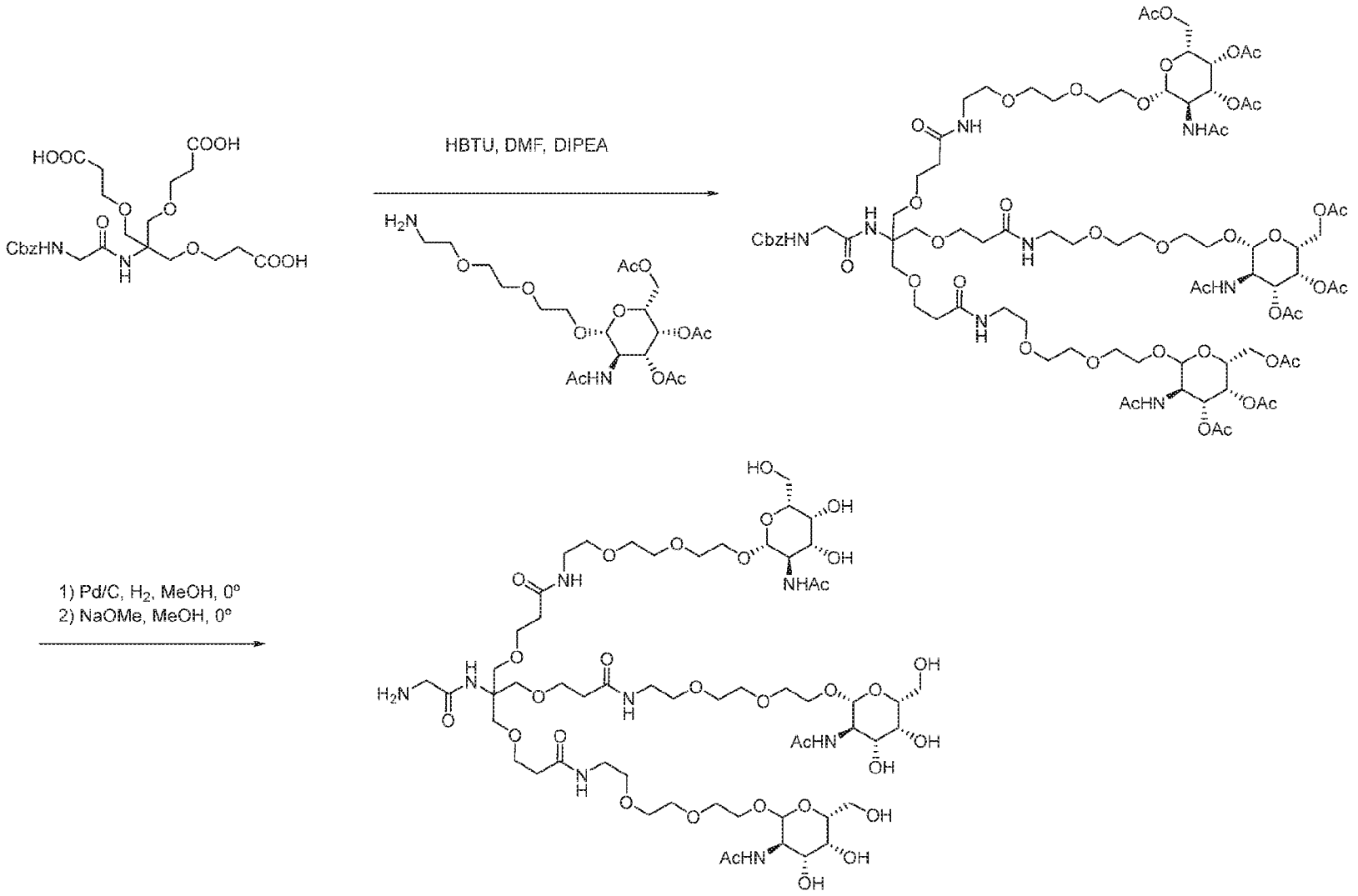
ФИГ. 23


Br
NH2
Cl
B(OH)2
PdCl2(dppf)
Na2CO3
Диоксан, 80C
NH2
Cl
O
NaBH(OAc)3
NH
Cl
Cl
N
N
NH2
TsOH, IPA, 150C
N
N
NH2
Cl
BocN
N
N
B
O
O
1) XPhos 2-го поколения
K3PO4, THF
2) TFA, DCM
HN
N
N
N
N
N
NH2
REAG-COOH
HATU, DIPEA, DMF
O
REAG
N
N
N
N
N
N
NH2

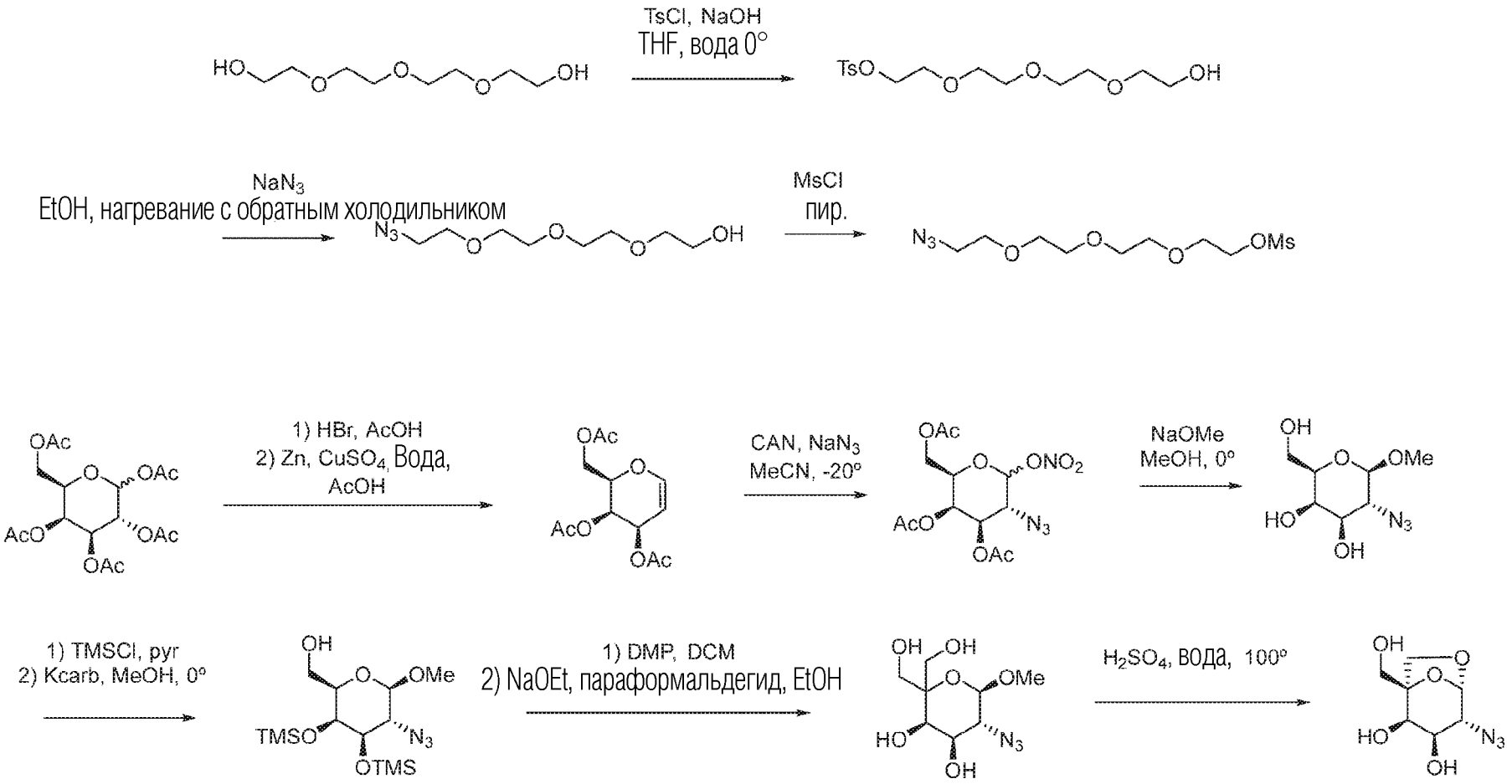
ФИГ. 24А


TsCl, NEt3, DCM, 0°
NaN3, DMF, 60°
TMSOTf, DCE, 50 °C
TMSOTf, DCE
PPh3, H2O, THF
Boc2O, NEt3 MeOH
KOH, акрилонитрил, диоксан, H2O
H2SO4, MeOH
Cbz-Gly, DCC, HOBT, MeCN
NaOH, диоксан, H2O

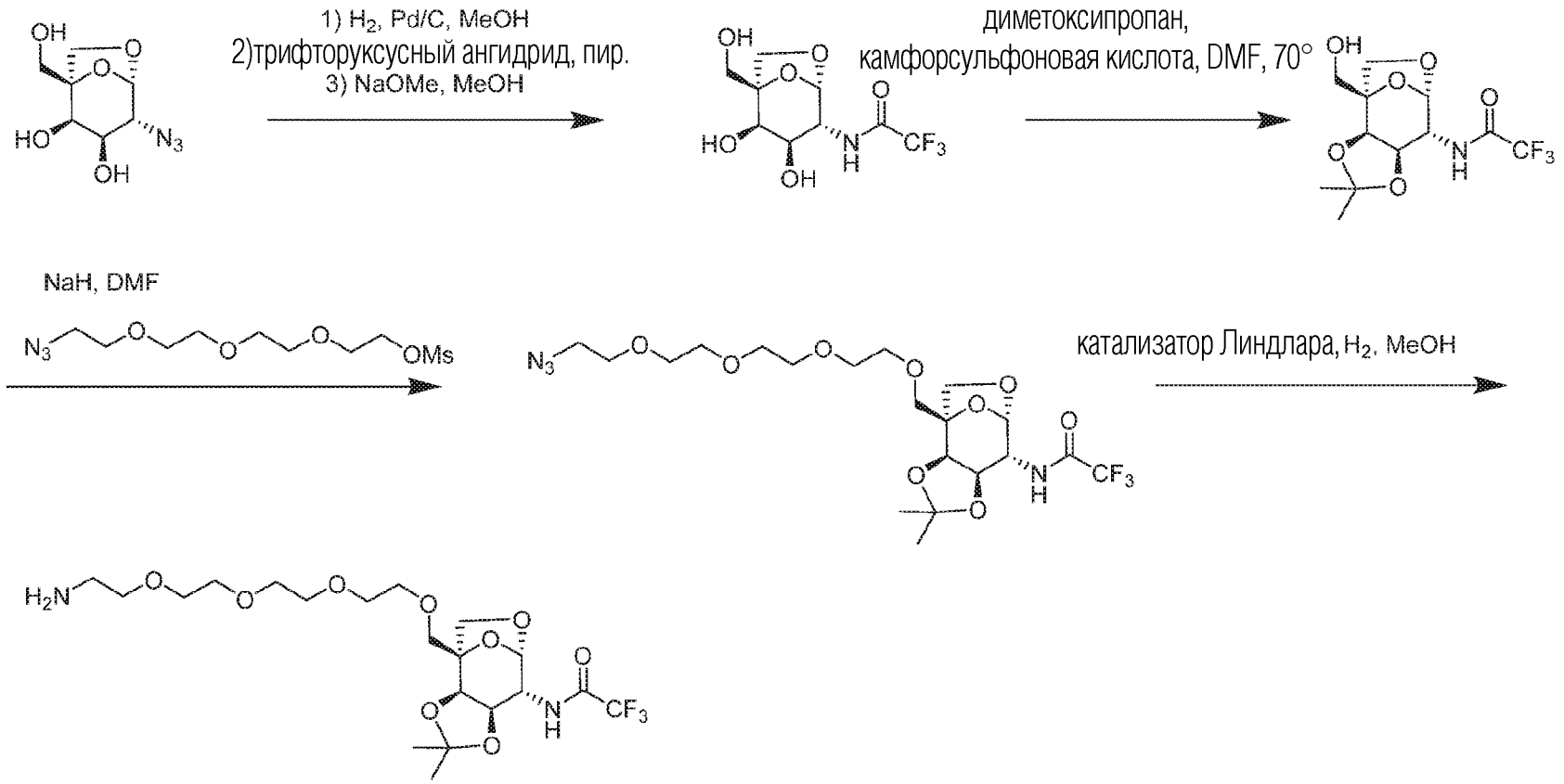
ФИГ. 24B



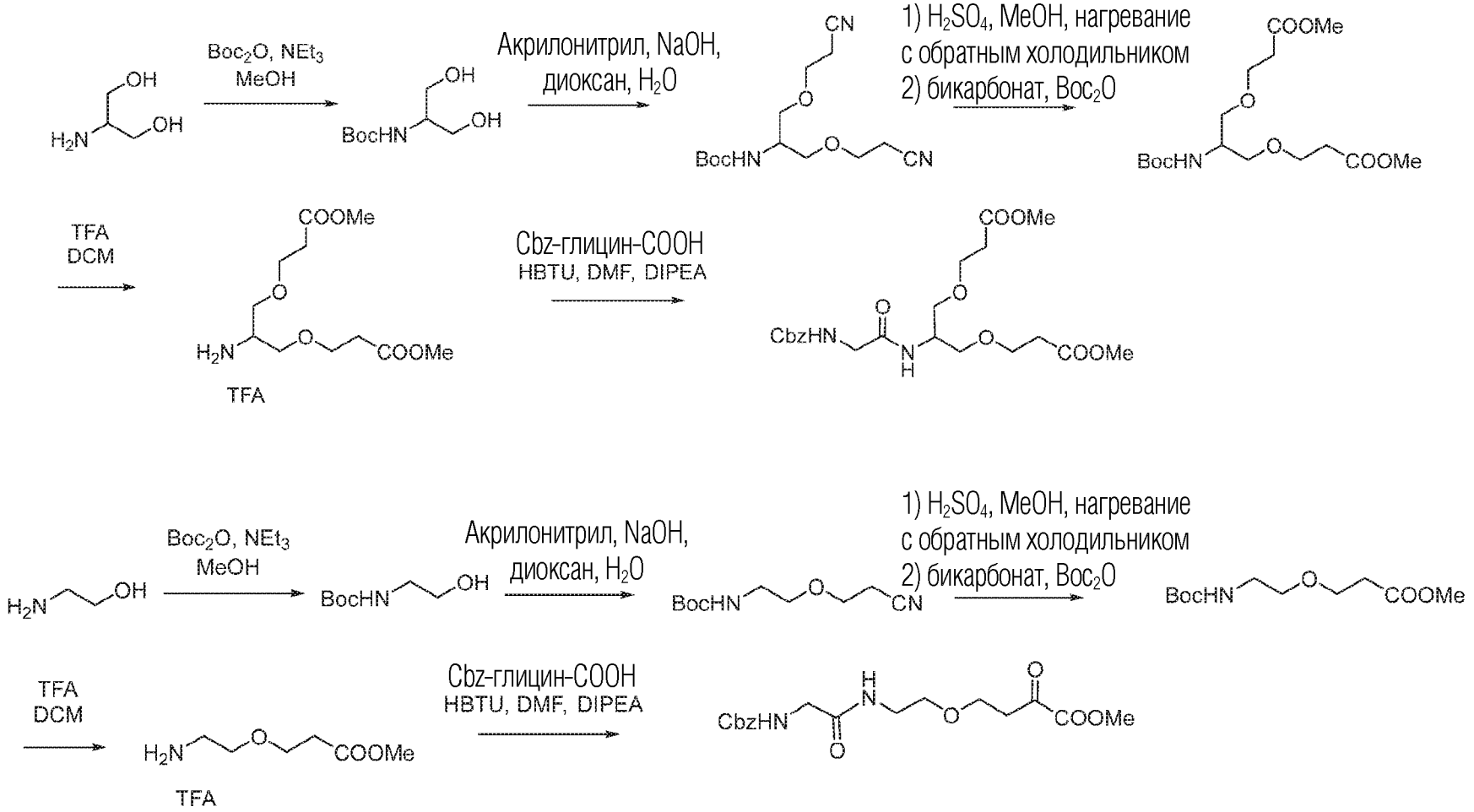
ФИГ. 25A


TsCl, NaOH
THF, вода 0°
NaN3
EtOH, нагревание с обратным холодильником
MsCl
пир.
1) HBr, AcOH
2) Zn, CuSO4, Вода,
AcOH
CAN, NaN3
MeCN, -20°
NaOMe
MeOH, 0°
1) TMSCl, pyr
2) Kcarb, MeOH, 0°
1) DMP, DCM
2) NaOEt, параформальдегид, EtOH
H2SO4, вода, 100°

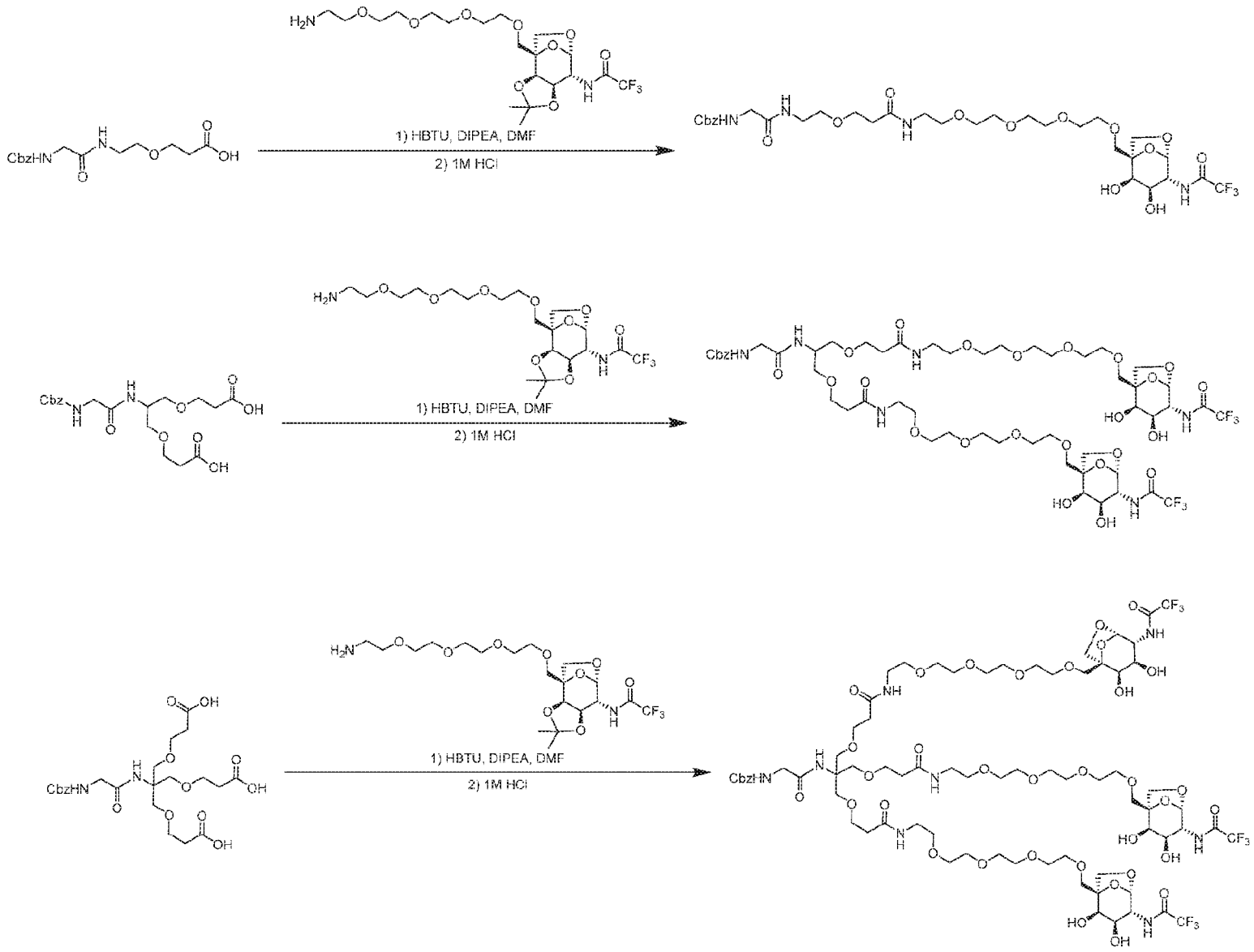
ФИГ. 25B


1) H2, Pd/C, MeOH
2)трифторуксусный ангидрид, пир.
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан,
камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
NaH, DMF
OMs
катализатор Линдлара, H2, MeOH

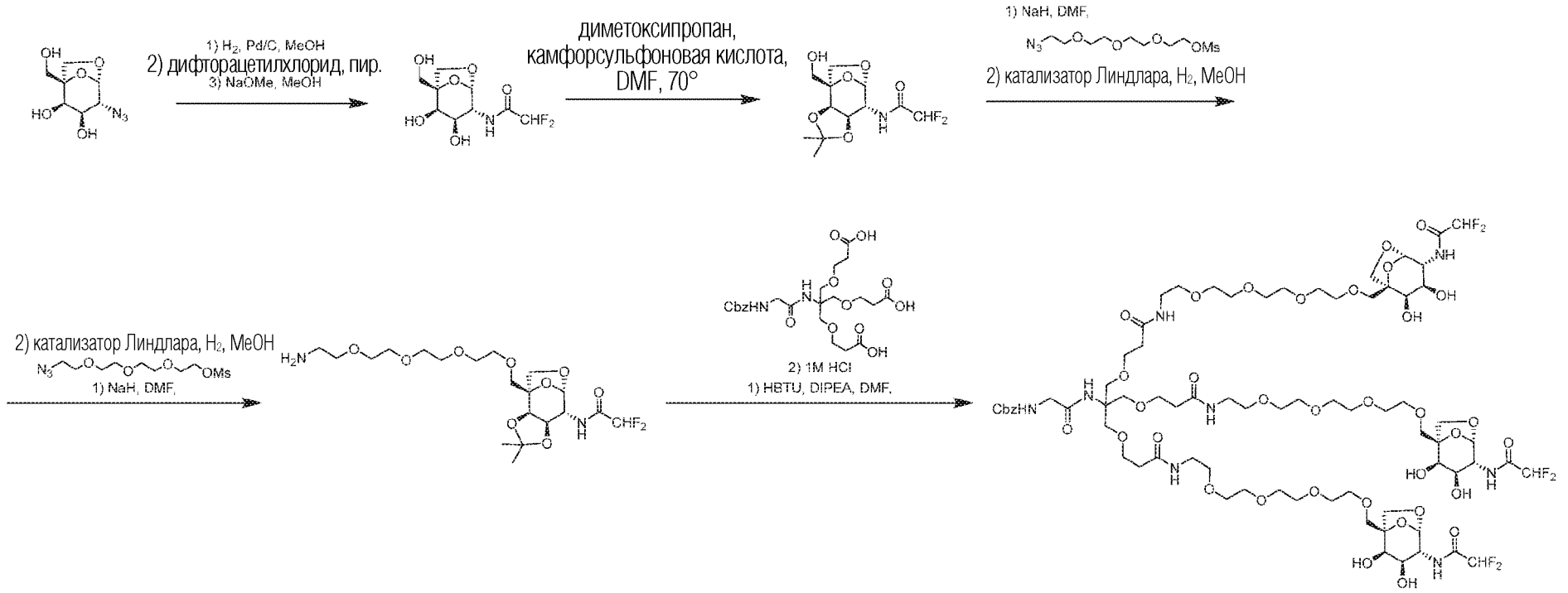
ФИГ. 25C


Boc2O, NEt3
MeOH
Акрилонитрил, NaOH,
диоксан, H2O
1) H2SO4, MeOH, нагревание
с обратным холодильником
2) бикарбонат, Boc2O
TFA
DCM
TFA
Cbz-глицин-COOH
HBTU, DMF, DIPEA
Boc2O, NEt3
MeOH
Акрилонитрил, NaOH,
диоксан, H2O
1) H2SO4, MeOH, нагревание
с обратным холодильником
2) бикарбонат, Boc2O
TFA
DCM
TFA
Cbz-глицин-COOH
HBTU, DMF, DIPEA

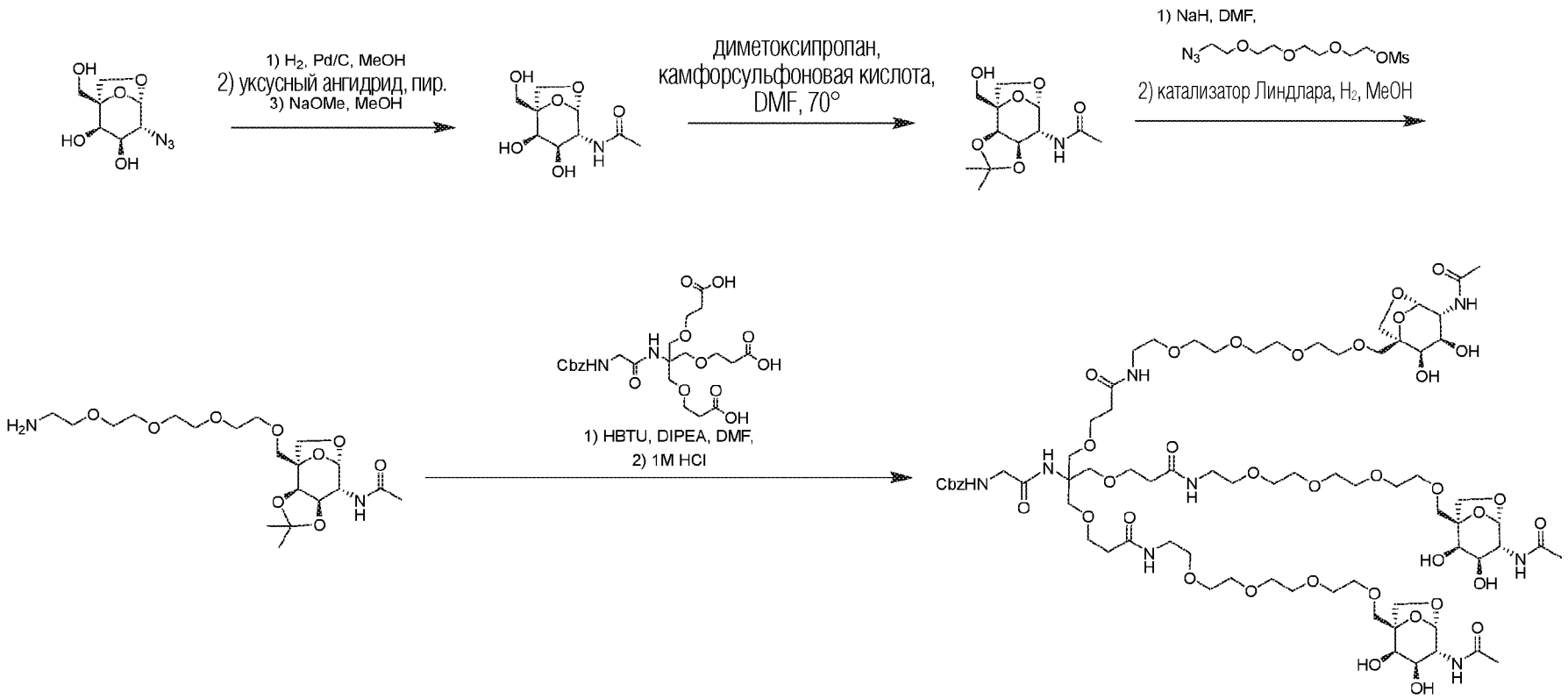
ФИГ. 25D


1) HBTU, DIPEA, DMF
2) 1M HCl
1) HBTU, DIPEA, DMF
2) 1M HCl
1) HBTU, DIPEA, DMF
2) 1M HCl

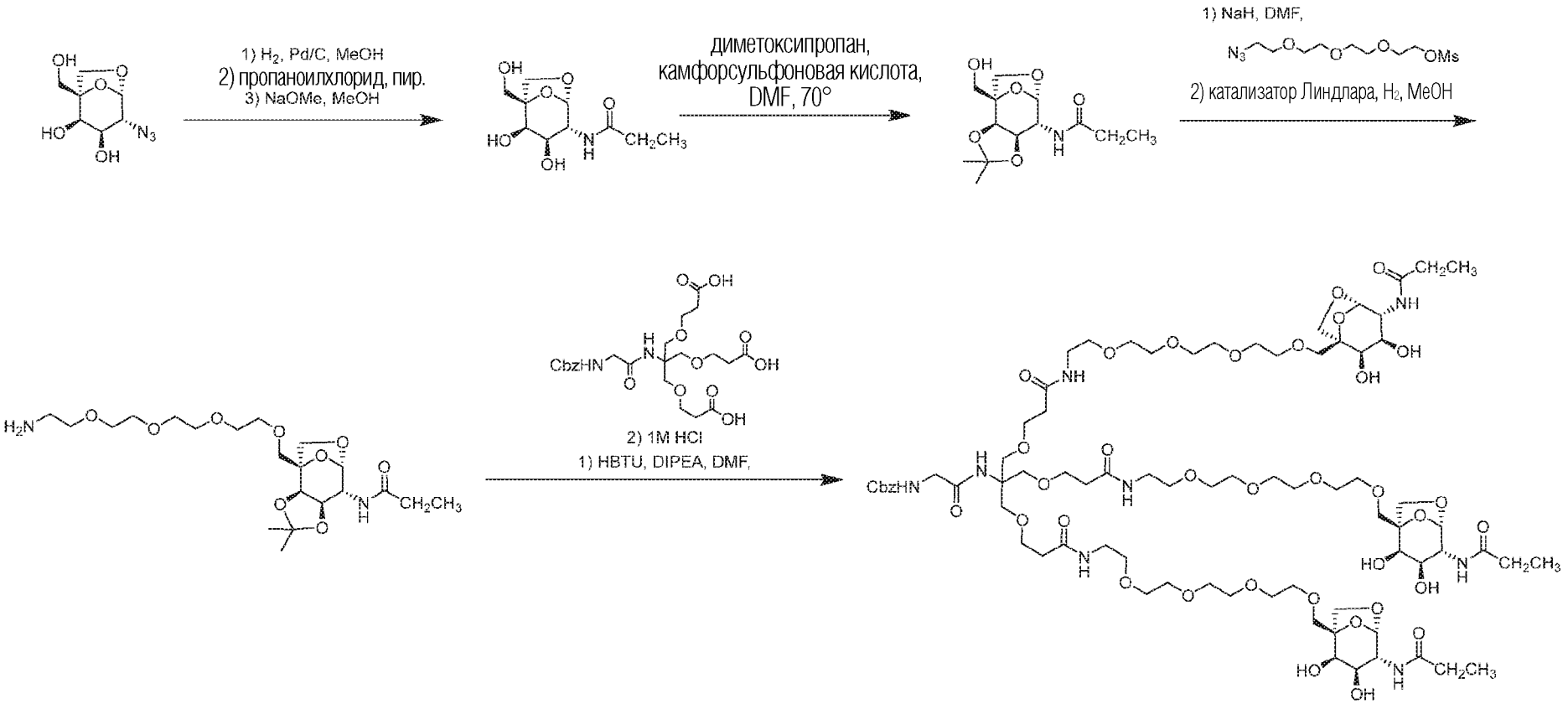
ФИГ. 26A


1) H2, Pd/C, MeOH
2) дифторацетилхлорид, пир.
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан,
камфорсульфоновая кислота,
DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) NaH, DMF,
2) 1M HCl
1) HBTU, DIPEA, DMF,

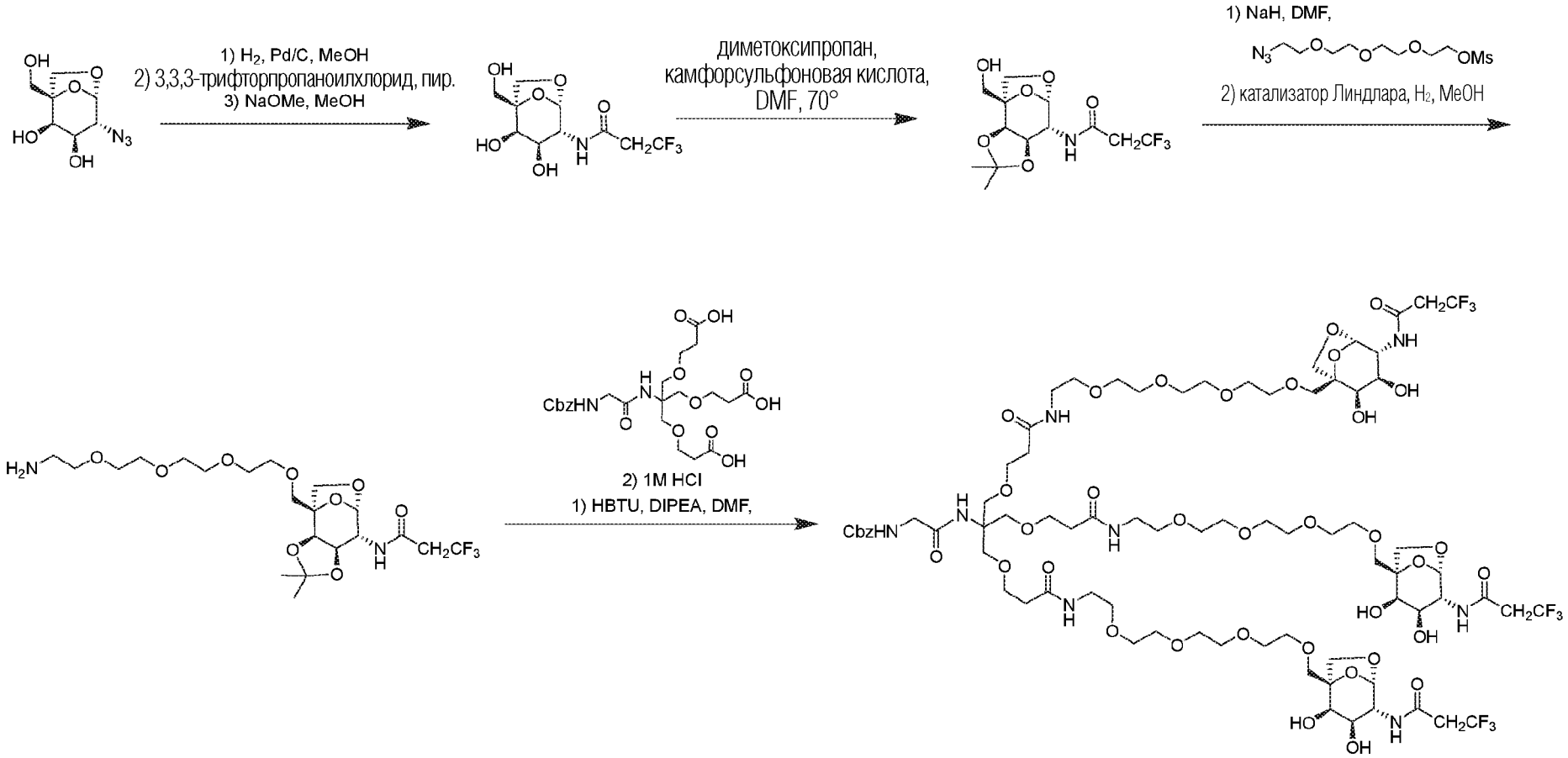
ФИГ. 26B


1) H2, Pd/C, MeOH
2) уксусный ангидрид, пир.
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан,
камфорсульфоновая кислота,
DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

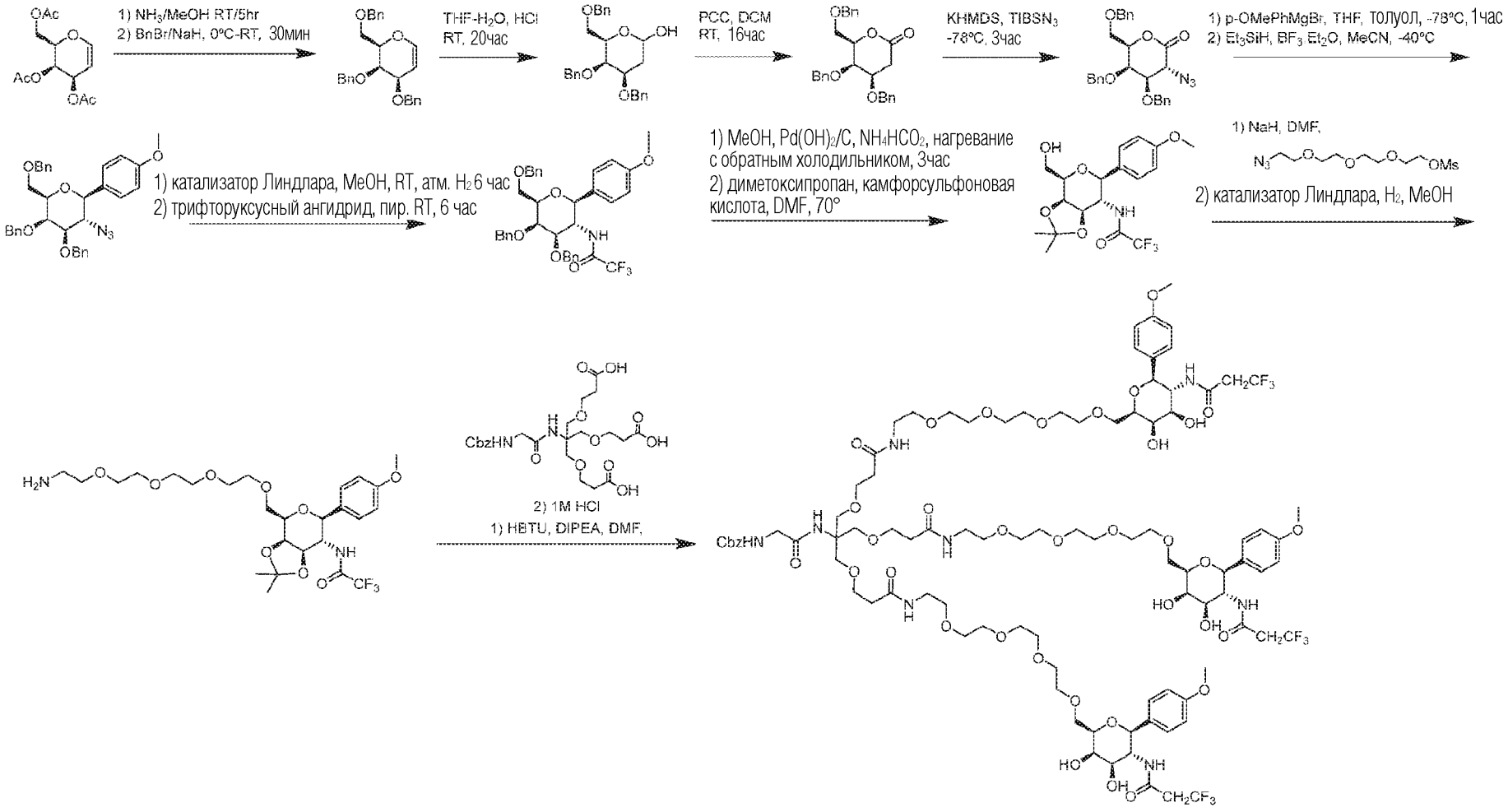
ФИГ. 26С


1) H2, Pd/C, MeOH
2) пропаноилхлорид, пир.
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан,
камфорсульфоновая кислота,
DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
2) 1M HCl
1) HBTU, DIPEA, DMF,

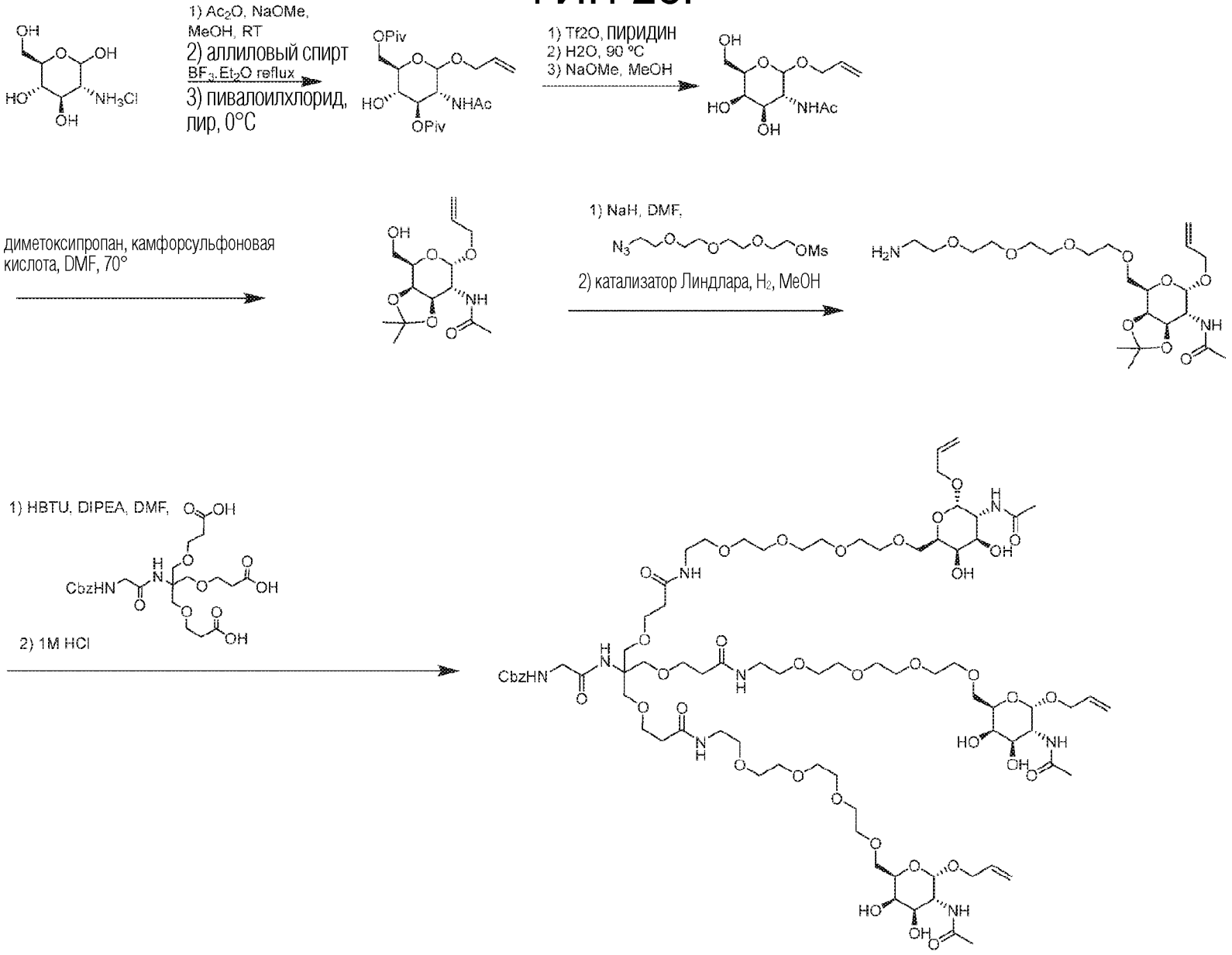
ФИГ. 26D


1) H2, Pd/C, MeOH
2) 3,3,3-трифторпропаноилхлорид, пир.
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан,
камфорсульфоновая кислота,
DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
2) 1M HCl
1) HBTU, DIPEA, DMF,

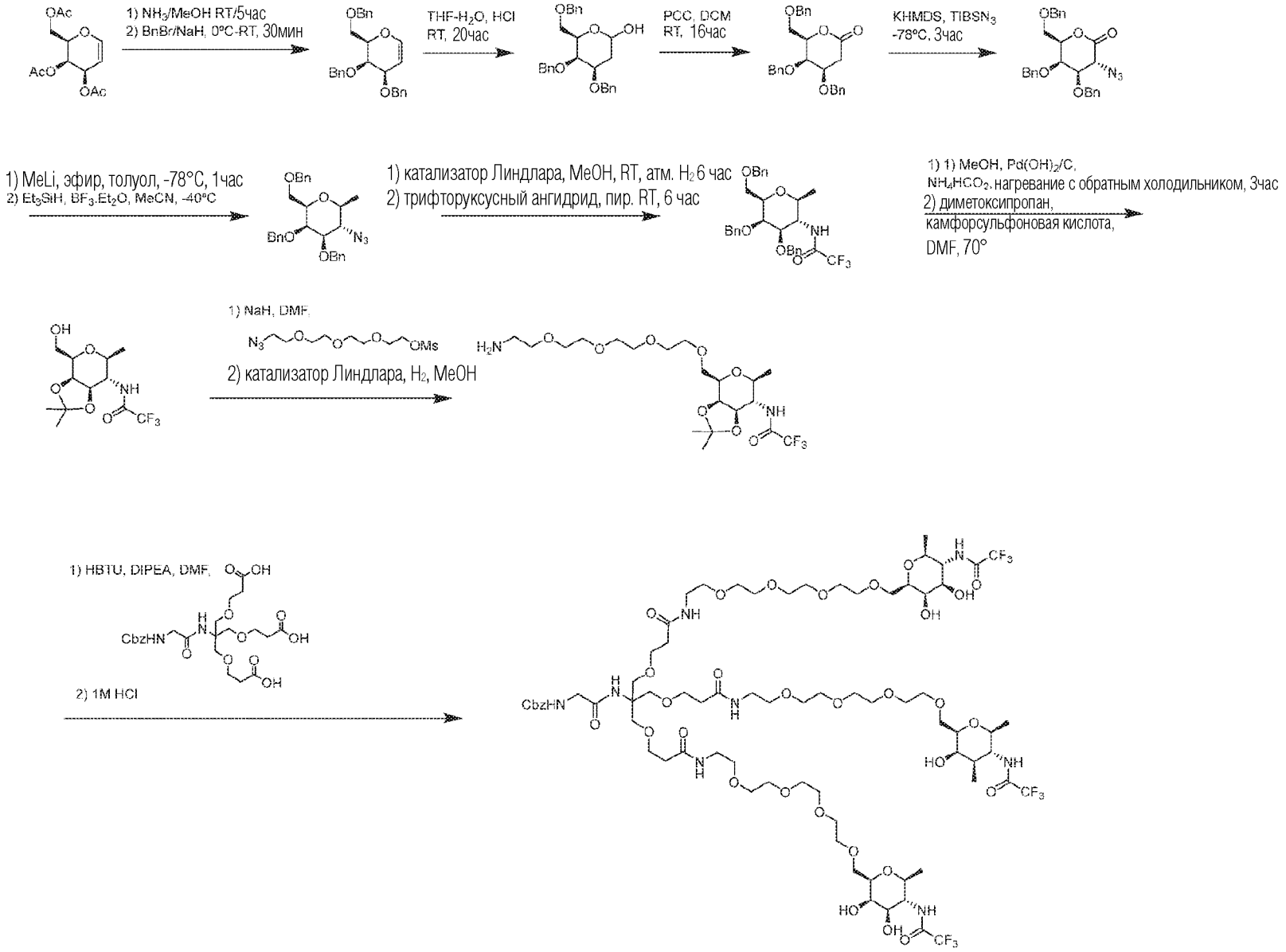
ФИГ. 26E


1) NH3/MeOH RT/5hr
2) BnBr/NaH, 0°C-RT, 30мин
THF-H2O, HCl
RT, 20час
PCC, DCM
RT, 16час
KHMDS, TIBSN3
-78°C, 3час
1) p-OMePhMgBr, THF, толуол, -78°C, 1час
2) Et3SiH, BF3 Et2O, MeCN, -40°C
1) катализатор Линдлара, MeOH, RT, атм. H2 6 час
2) трифторуксусный ангидрид, пир. RT, 6 час
1) MeOH, Pd(OH)2/C, NH4HCO2, нагревание с обратным холодильником, 3час
2) диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
2) 1M HCl
1) HBTU, DIPEA, DMF,

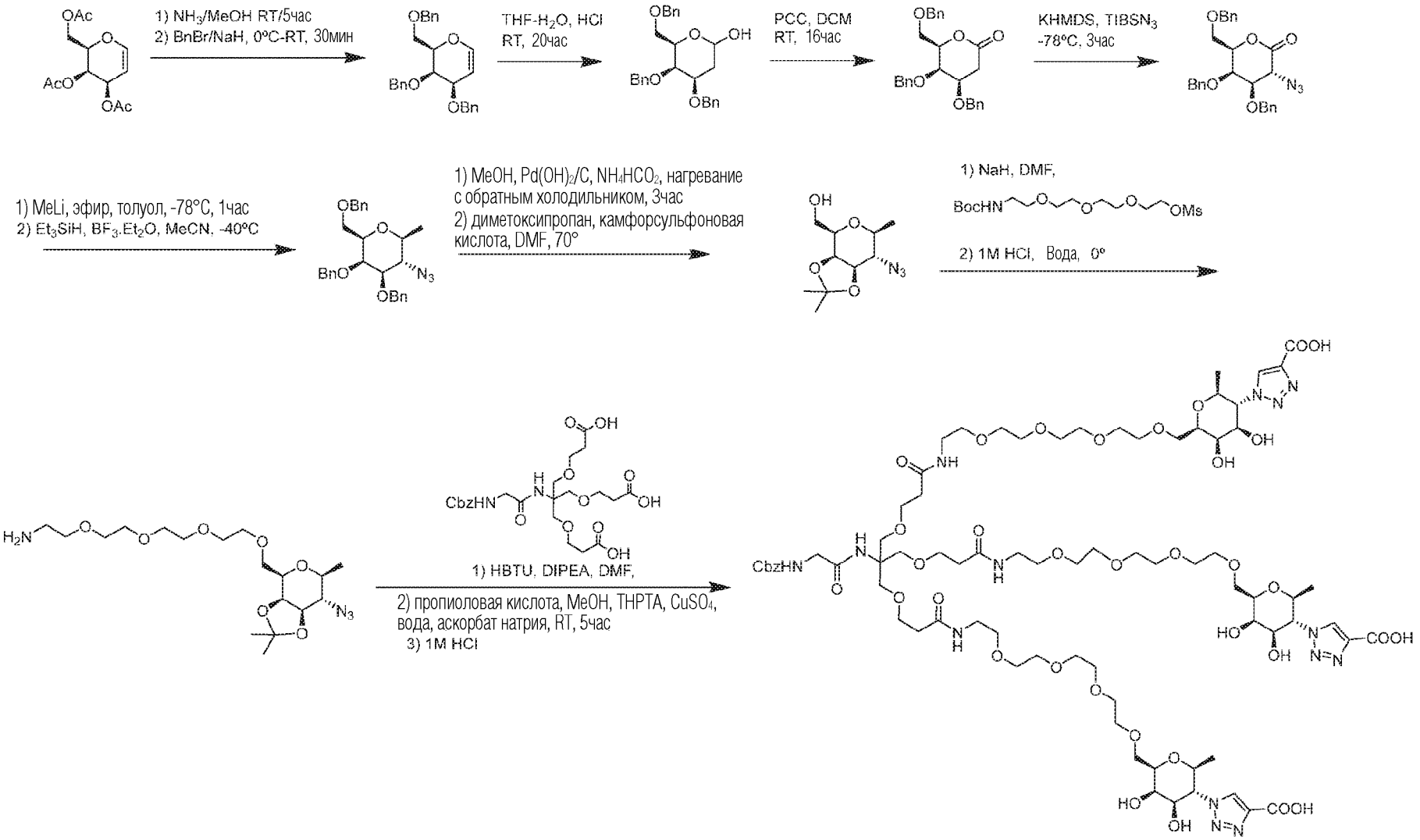
ФИГ. 26F


1) Ac2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт
BF3.Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, лир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

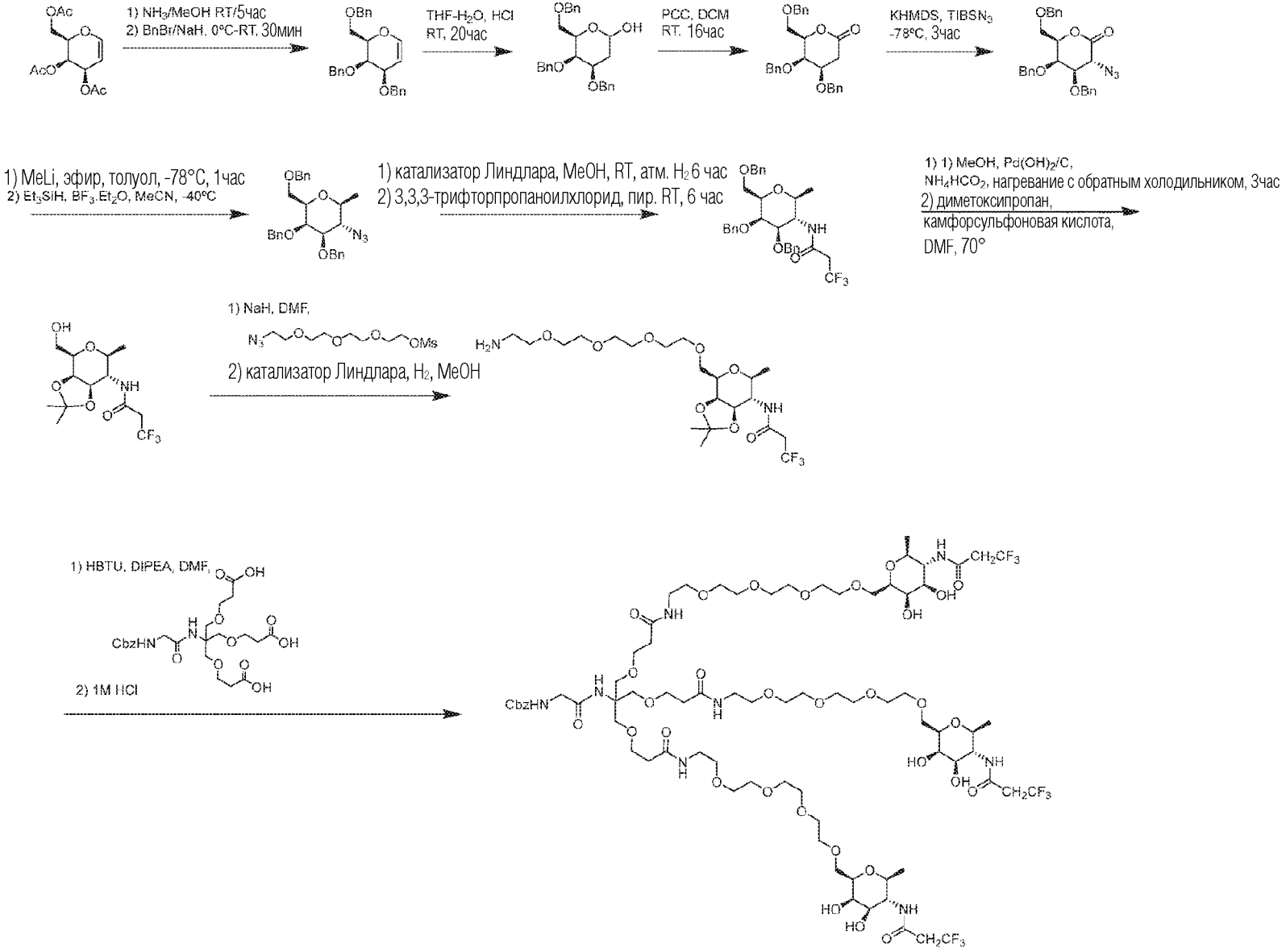
ФИГ. 26G


1) NH3/MeOH RT/5час
2) BnBr/NaH, 0°C-RT, 30мин
THF-H2O, HCl
RT, 20час
PCC, DCM
RT, 16час
KHMDS, TIBSN3
-78°C, 3час
1) MeLi, эфир, толуол, -78°C, 1час
2) Et3SiH, BF3.Et2O, MeCN, -40°C
1) катализатор Линдлара, MeOH, RT, атм. H2 6 час
2) трифторуксусный ангидрид, пир. RT, 6 час
1) 1) MeOH, Pd(OH)2/C,
NH4HCO2, нагревание с обратным холодильником, 3час
2) диметоксипропан,
камфорсульфоновая кислота,
DMF, 70°
1) NaH, DMF
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) HBTU, DIPEA, DMF
2) 1M HCl

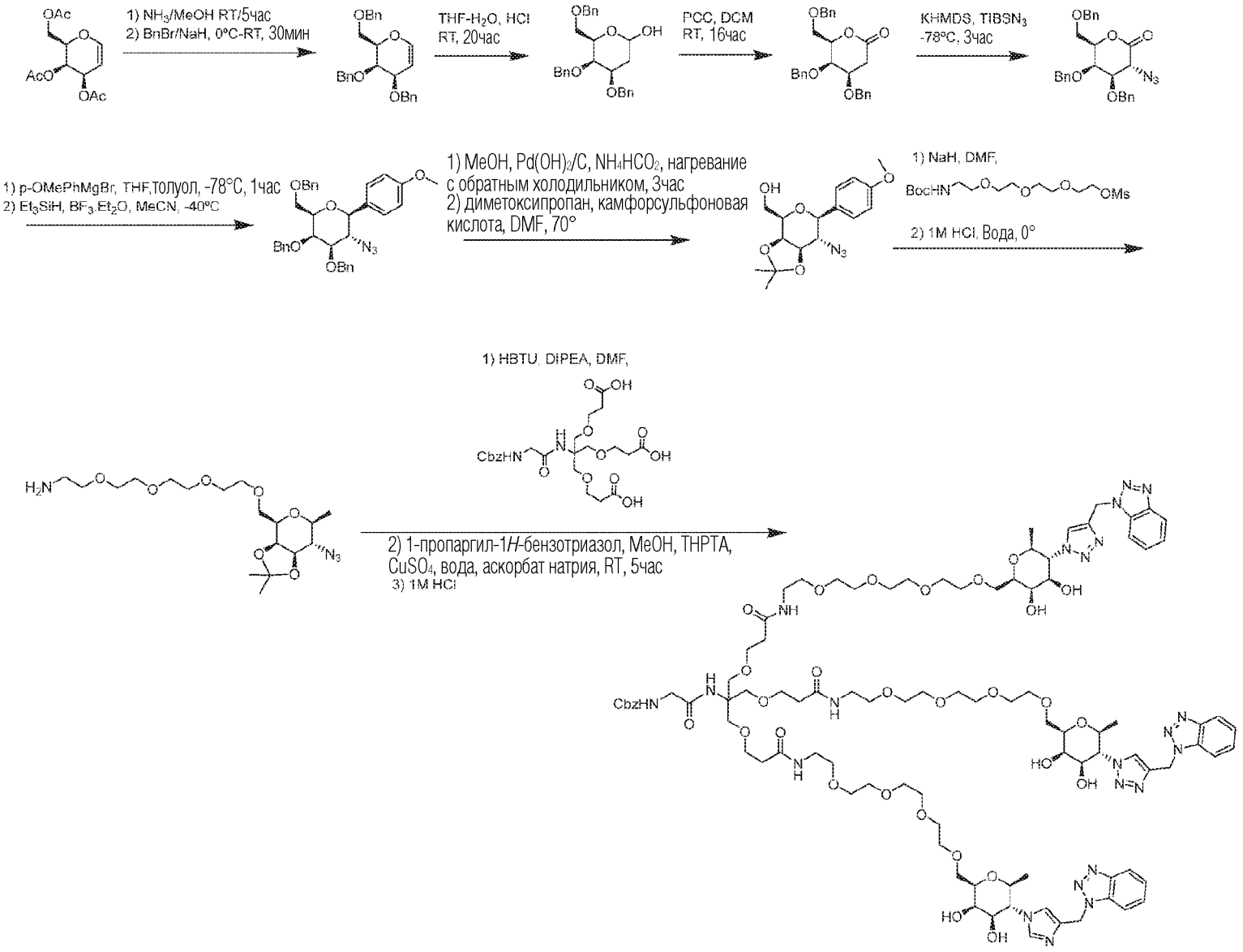
ФИГ. 26H


1) NH3/MeOH RT/5час
2) BnBr/NaH, 0°C-RT, 30мин
THF-H2O, HCl
RT, 20час
PCC, DCM
RT, 16час
KHMDS, TIBSN3
-78°C, 3час
1) MeLi, эфир, толуол, -78°C, 1час
2) Et3SiH, BF3.Et2O, MeCN, -40°C
1) MeOH, Pd(OH)2/C, NH4HCO2, нагревание
с обратным холодильником, 3час
2) диметоксипропан, камфорсульфоновая
кислота, DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) 1M HCl, Вода, 0°
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) пропиоловая кислота, MeOH, THPTA, CuSO4,
вода, аскорбат натрия, RT, 5час
3) 1M HCl

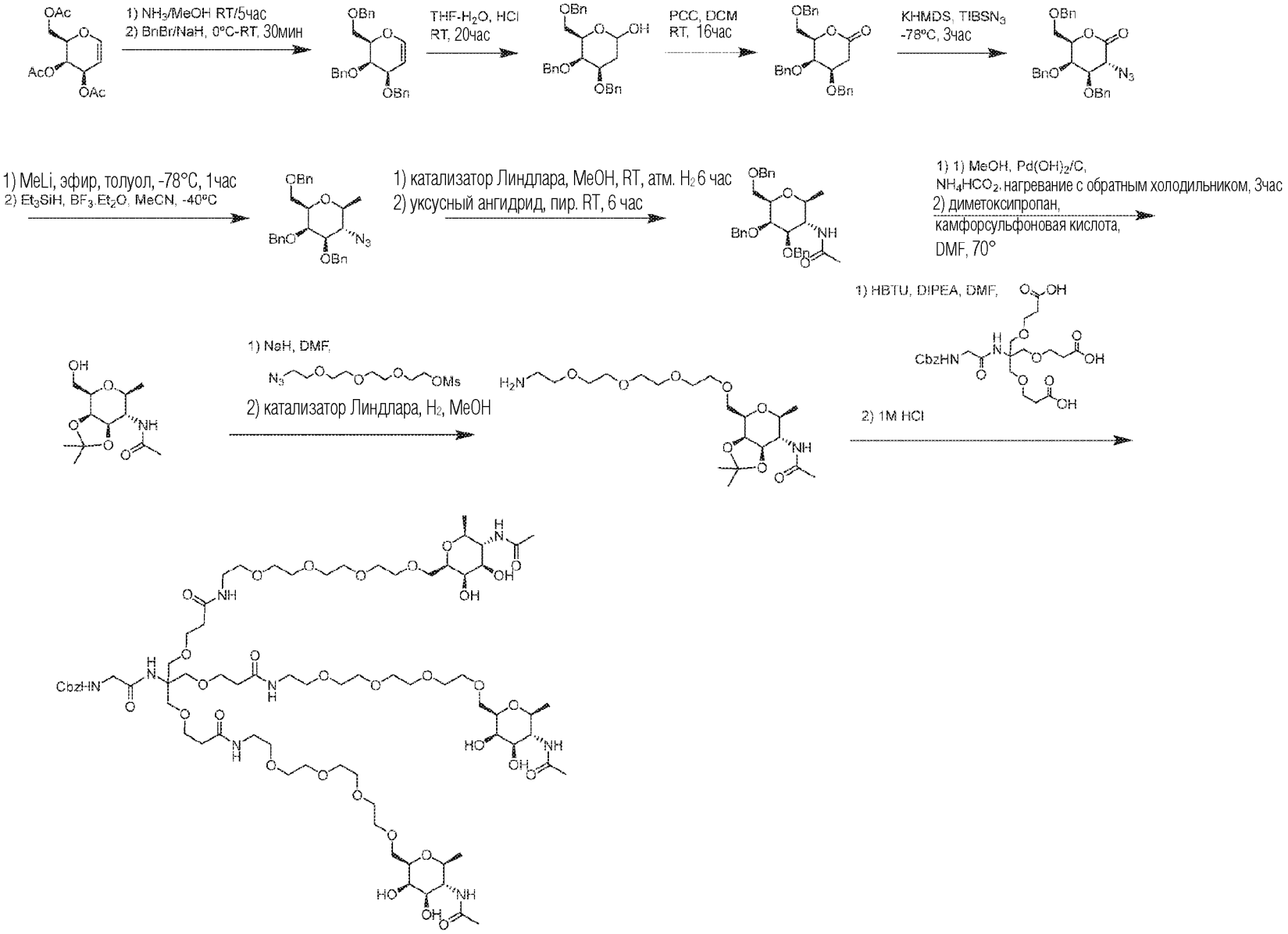
ФИГ. 26I


1) NH3/MeOH RT/5час
2) BnBr/NaH, 0°C-RT, 30мин
THF-H2O, HCl
RT, 20час
PCC, DCM
RT, 16час
KHMDS, TIBSN3
-78°C, 3час
1) MeLi, эфир, толуол, -78°C, 1час
2) Et3SiH, BF3.Et2O, MeCN, -40°C
1) катализатор Линдлара, MeOH, RT, атм. H2 6 час
2) 3,3,3-трифторпропаноилхлорид, пир. RT, 6 час
1) 1) MeOH, Pd(OH)2/C,
NH4HCO2, нагревание с обратным холодильником, 3час
2) диметоксипропан,
камфорсульфоновая кислота,
DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

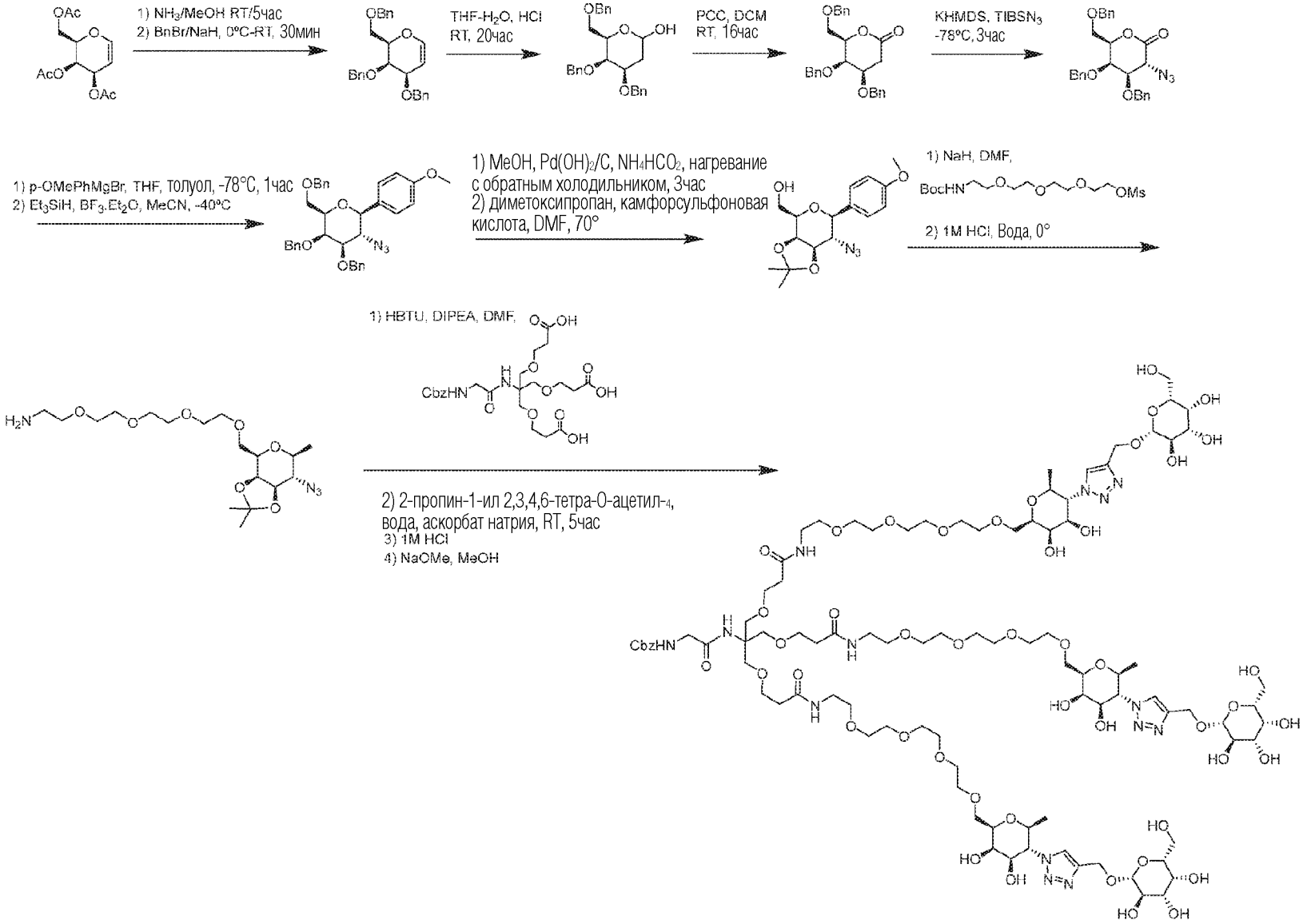
ФИГ. 26J


1) NH3/MeOH RT/5час
2) BnBr/NaH, 0°C-RT, 30мин
THF-H2O, HCl
RT, 20час
PCC, DCM
RT, 16час
KHMDS, TIBSN3
-78°C, 3час
1) p-OMePhMgBr, THF,толуол, -78°C, 1час
2) Et3SiH, BF3.Et2O, MeCN, -40°C
1) MeOH, Pd(OH)2/C, NH4HCO2, нагревание с обратным холодильником, 3час
2) диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) 1M HCl, Вода, 0°
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1-пропаргил-1H-бензотриазол, MeOH, THPTA, CuSO4, вода, аскорбат натрия, RT, 5час
3) 1M HCl

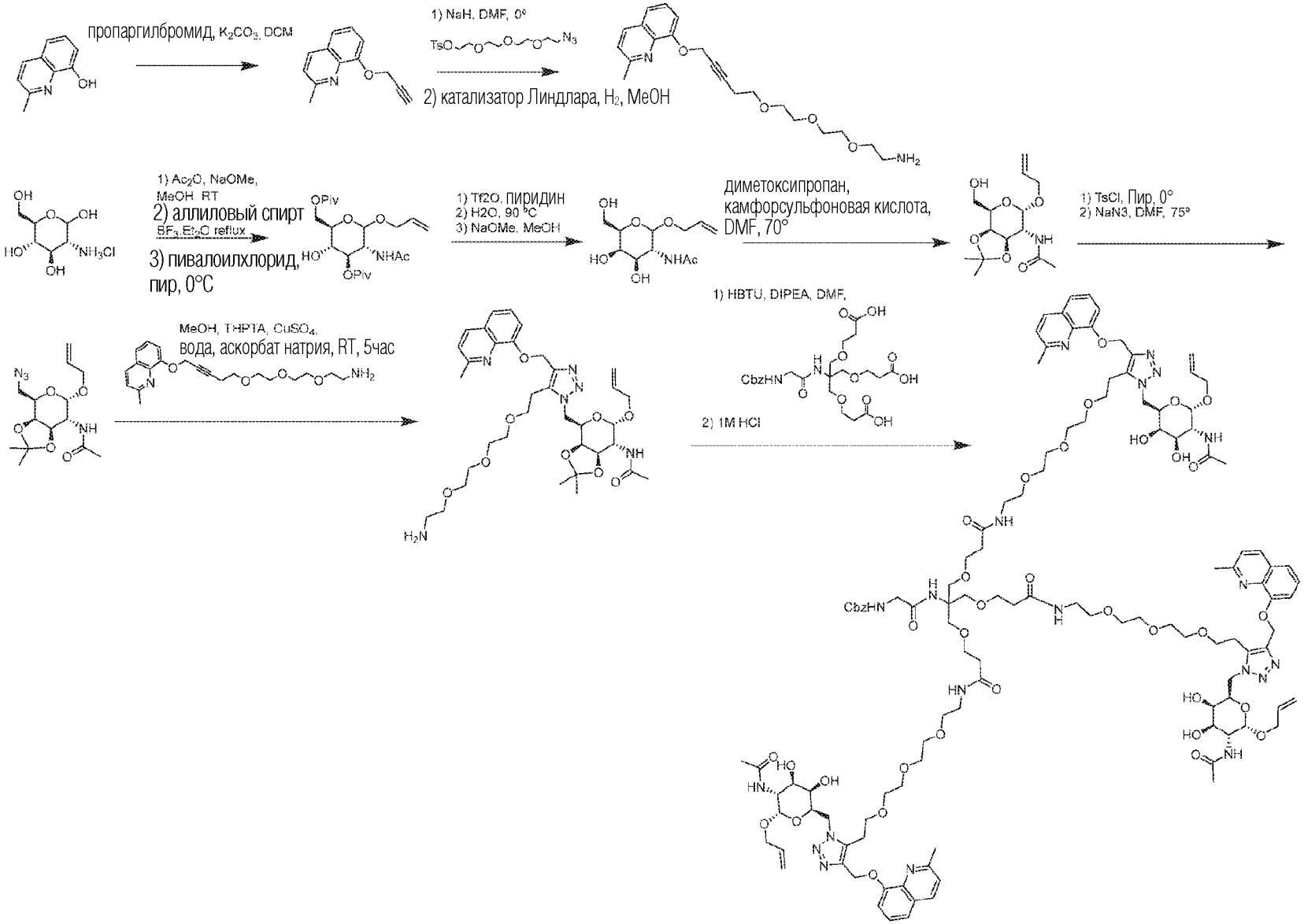
ФИГ. 26K


1) NH3/MeOH RT/5час
2) BnBr/NaH, 0°C-RT, 30мин
THF-H2O, HCl
RT, 20час
PCC, DCM
RT, 16час
KHMDS, TIBSN3
-78°C, 3час
1) MeLi, эфир, толуол, -78°C, 1час
2) Et3SiH, BF3.Et2O, MeCN, -40°C
1) катализатор Линдлара, MeOH, RT, атм. H2 6 час
2) уксусный ангидрид, пир. RT, 6 час
1) 1) MeOH, Pd(OH)2/C,
NH4HCO2, нагревание с обратным холодильником, 3час
2) диметоксипропан,
камфорсульфоновая кислота,
DMF, 70°
1) NaH, DMF
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) HBTU, DIPEA, DMF
2) 1M HCl

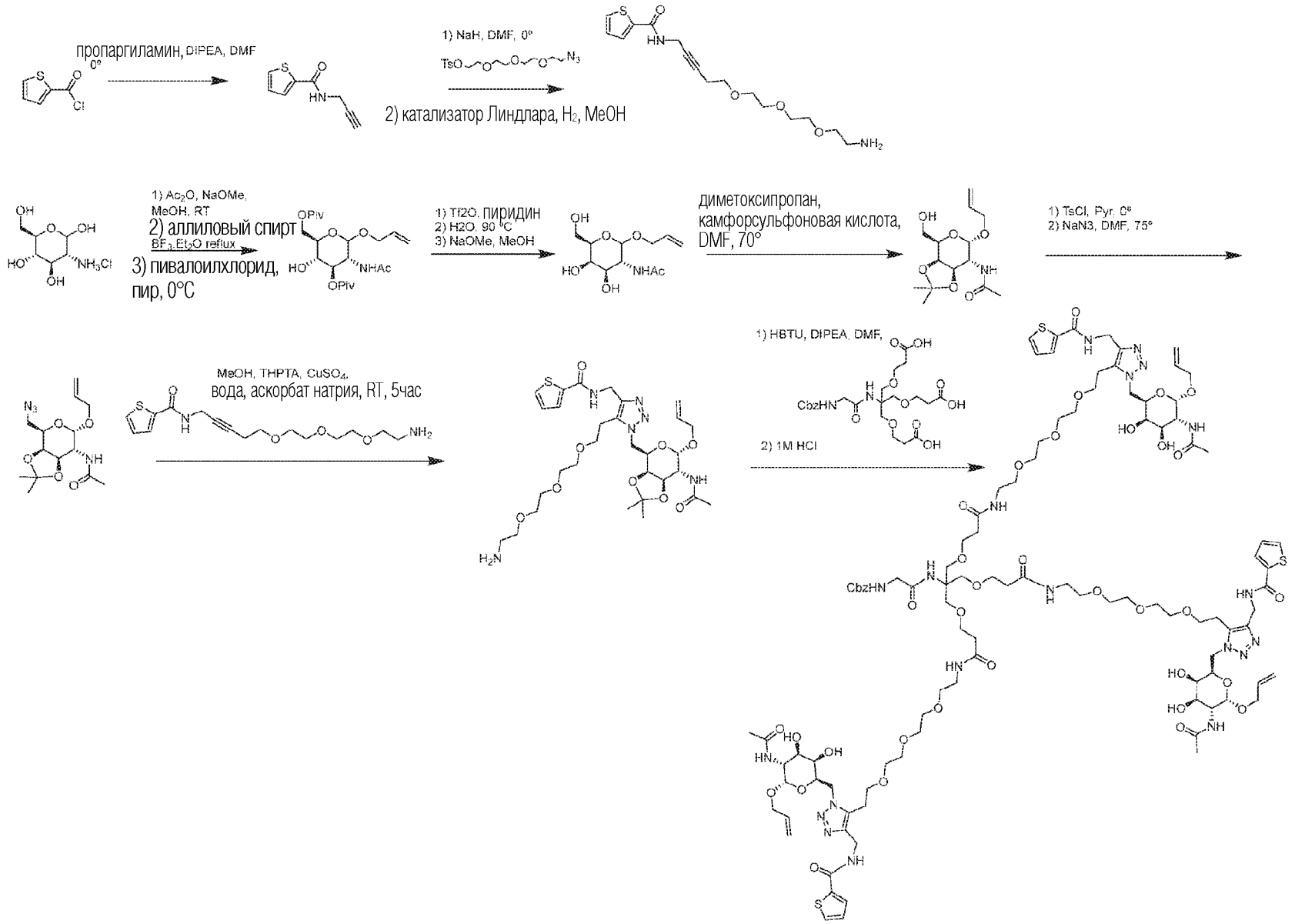
ФИГ. 26L


1) NH3/MeOH RT/5час
2) BnBr/NaH, 0°C-RT, 30мин
THF-H2O, HCl
RT, 20час
PCC, DCM
RT, 16час
KHMDS, TIBSN3
-78°C, 3час
1) p-OMePhMgBr, THF, толуол, -78°C, 1час
2) Et3SiH, BF3.Et2O, MeCN, -40°C
1) MeOH, Pd(OH)2/C, NH4HCO2, нагревание с обратным холодильником, 3час
2) диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) 1M HCl, Вода, 0°
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 2-пропин-1-ил 2,3,4,6-тетра-O-ацетил-4, вода, аскорбат натрия, RT, 5час
3) 1M HCl
4) NaOMe, MeOH

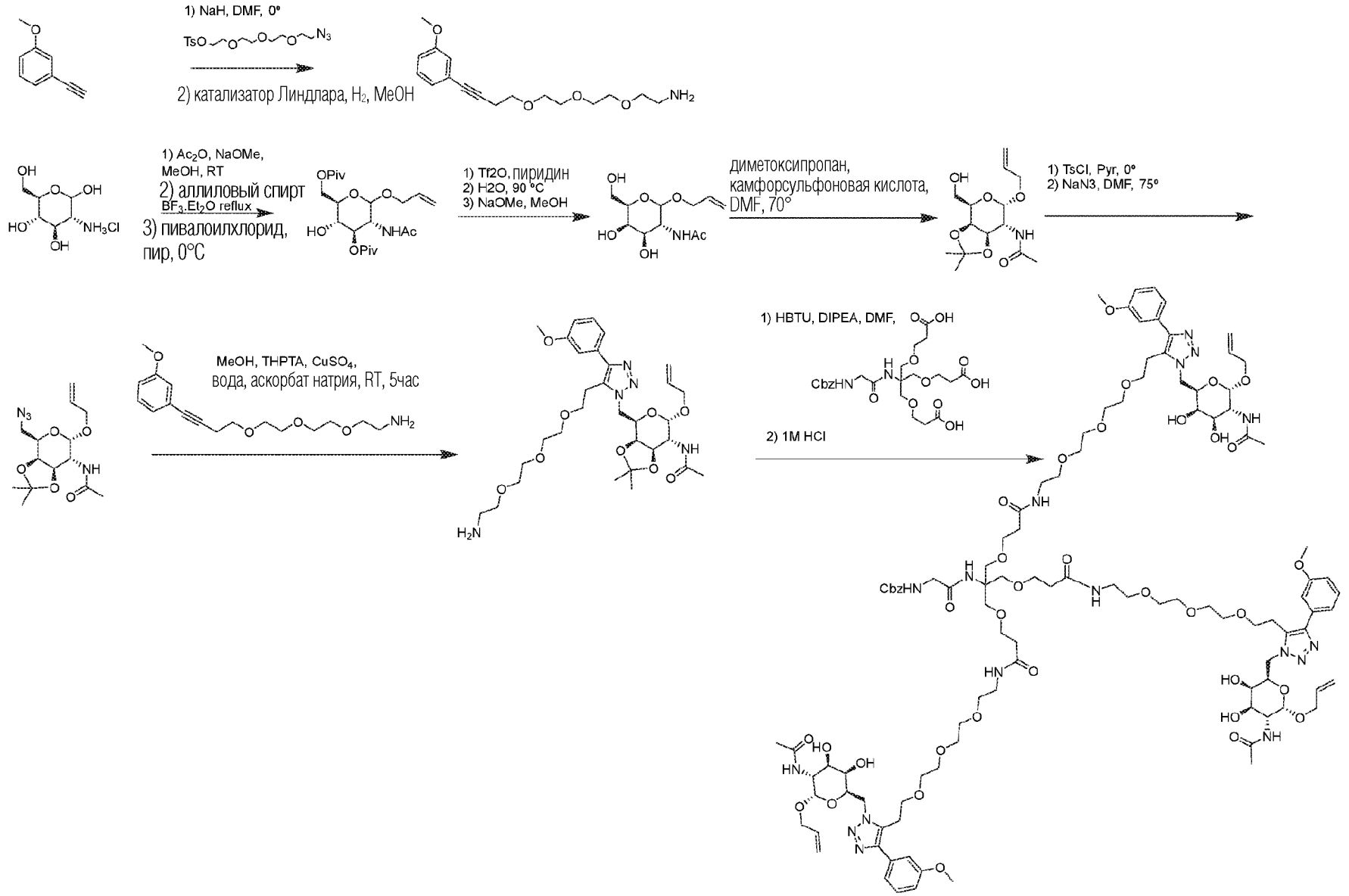
ФИГ. 27А


пропаргилбромид, K_2CO_3, DCM
1) NaH, DMF, 0°
2) катализатор Линдлара, H_2, MeOH
1) Ac_2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт
$BF_3.Et_2O$ reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) TsCl, Пир, 0°
2) NaN3, DMF, 75°
MeOH, THPTA, $CuSO_4$, вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

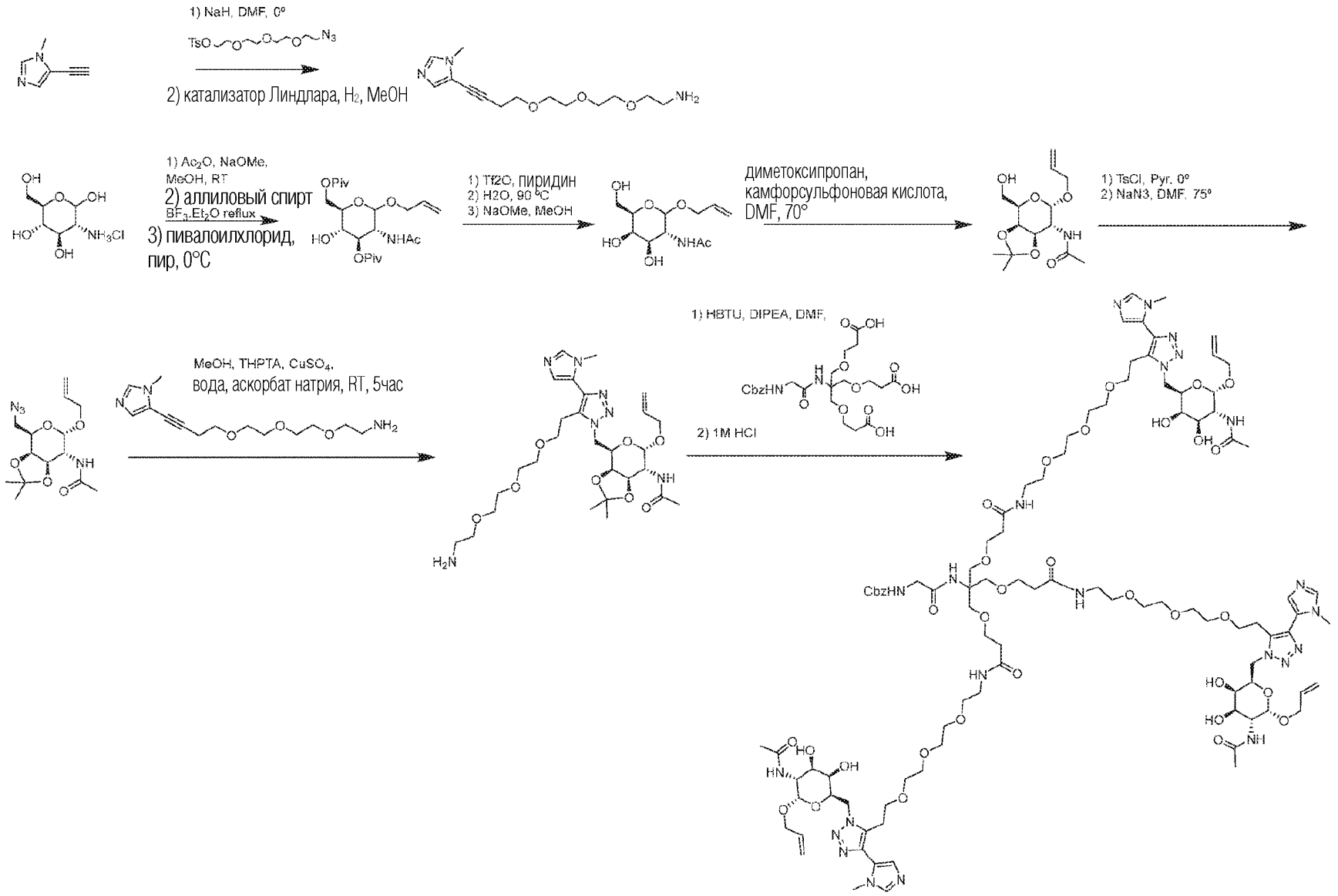
ФИГ. 27B


пропаргиламин, DIPEA, DMF
0°
1) NaH, DMF, 0°
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) Ac2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт
BF3.Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, ПИРИДИН
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) TsCl, Pyr, 0°
2) NaN3, DMF, 75°
MeOH, THPTA, CuSO4,
вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

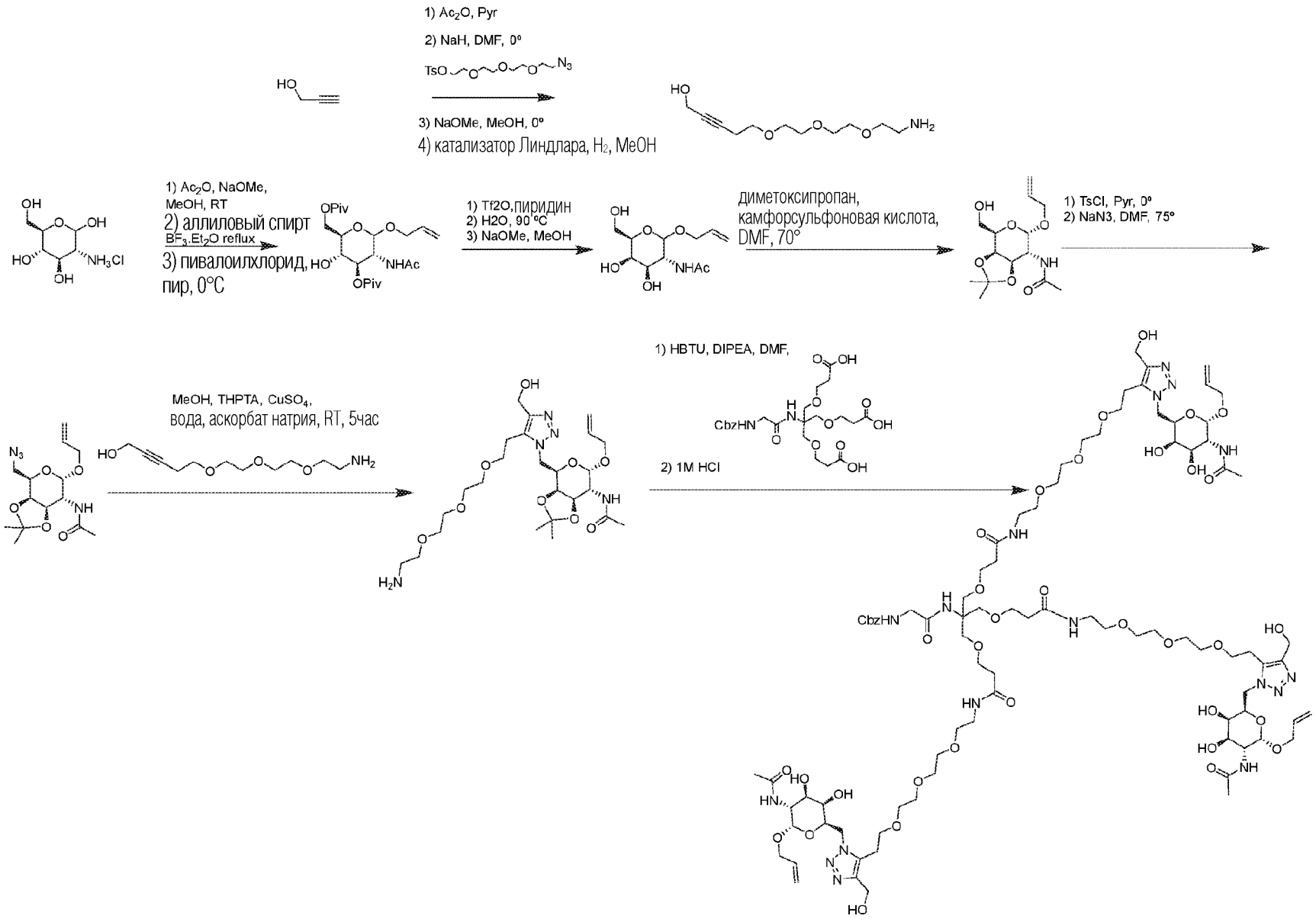
ФИГ. 27С


1) NaH, DMF, 0°
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) Ac2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт BF3.Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) TsCl, Pyr, 0°
2) NaN3, DMF, 75°
MeOH, THPTA, CuSO4, вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

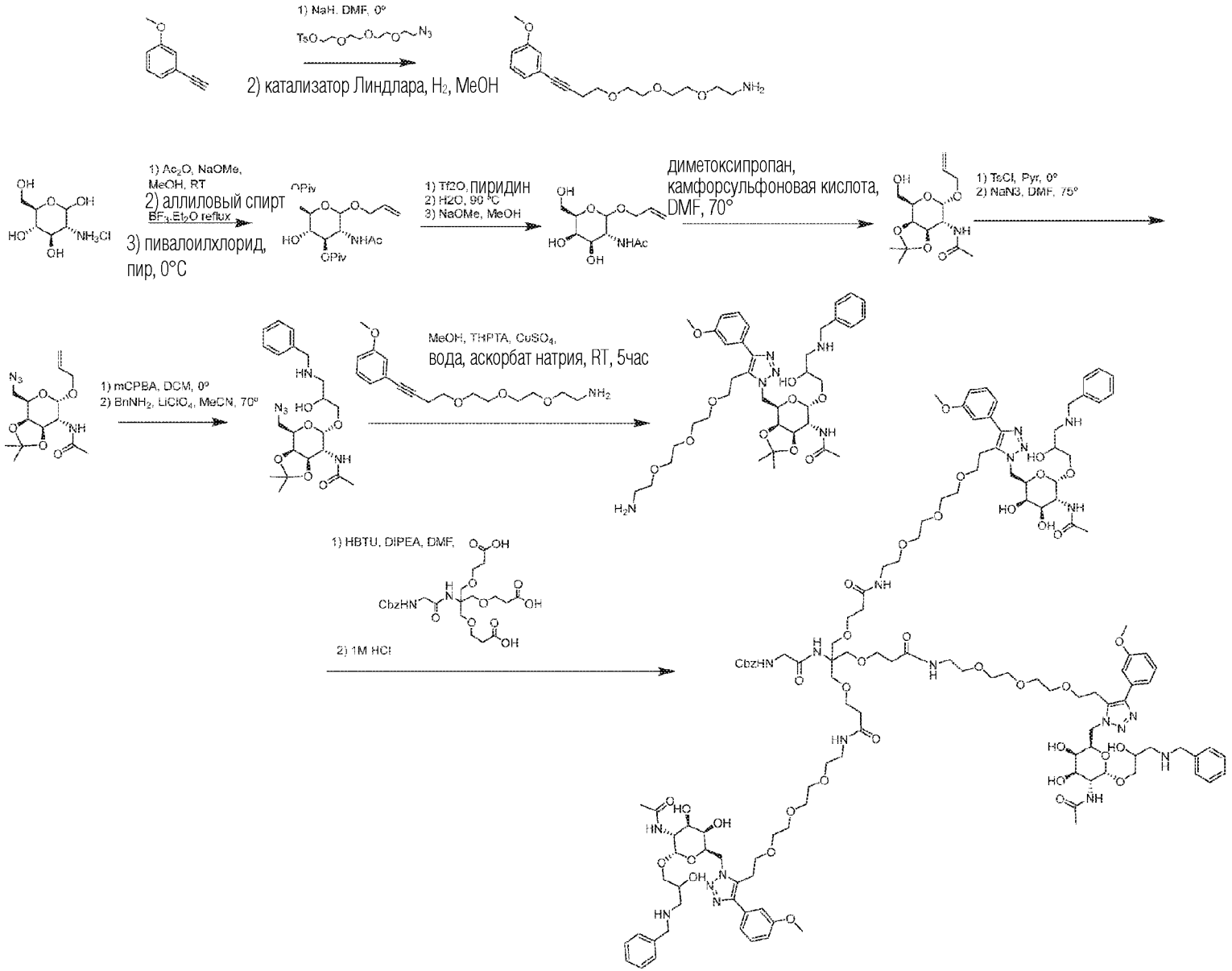
ФИГ. 27D


1) NaH, DMF, 0°
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) Ac2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт BF3.Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) TsCl, Pyr, 0°
2) NaN3, DMF, 75°
MeOH, THPTA, CuSO4, вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF;
2) 1M HCl

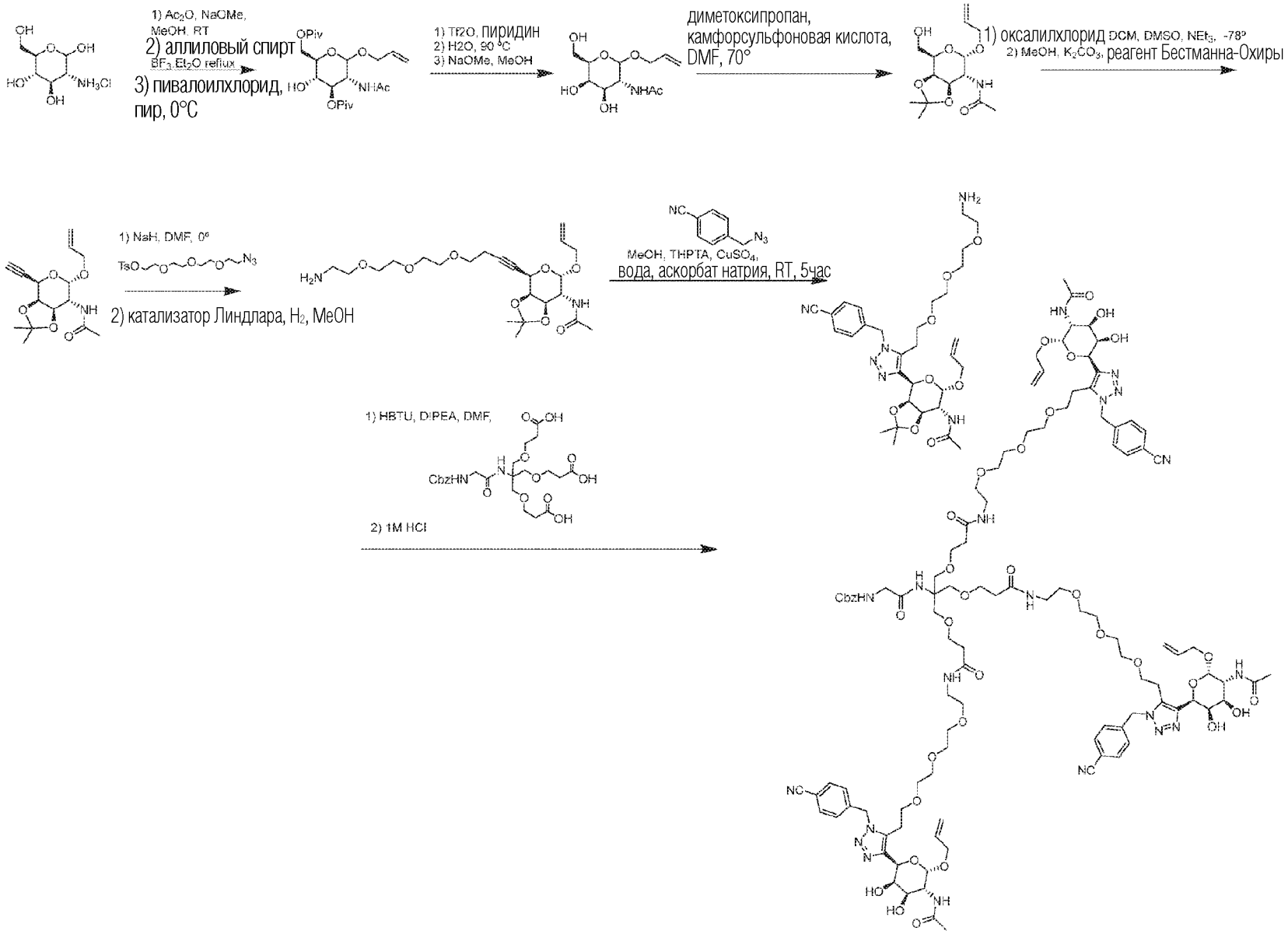
ФИГ. 27E


1) Ac2O, Pyr
2) NaH, DMF, 0°
3) NaOMe, MeOH, 0°
4) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) Ac2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт BF3.Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O,пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) TsCl, Pyr, 0°
2) NaN3, DMF, 75°
MeOH, THPTA, CuSO4, вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

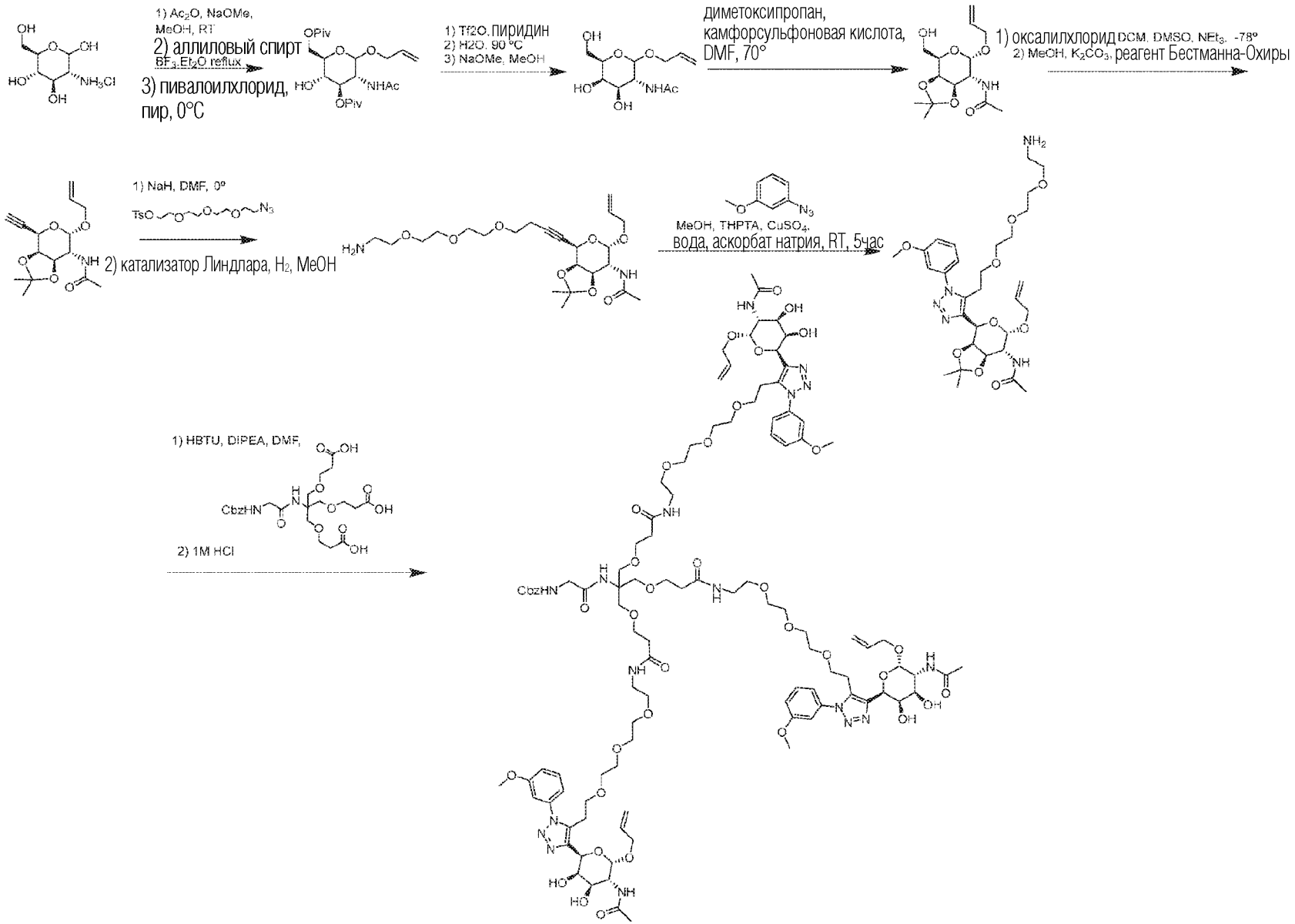
ФИГ. 27F


1) NaH, DMF, 0°
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) Ac2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт BF3.Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) TsCl, Pyr, 0°
2) NaN3, DMF, 75°
1) mCPBA, DCM, 0°
2) BnNH2, LiClO4, MeCN, 70°
MeOH, THPTA, CuSO4, вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

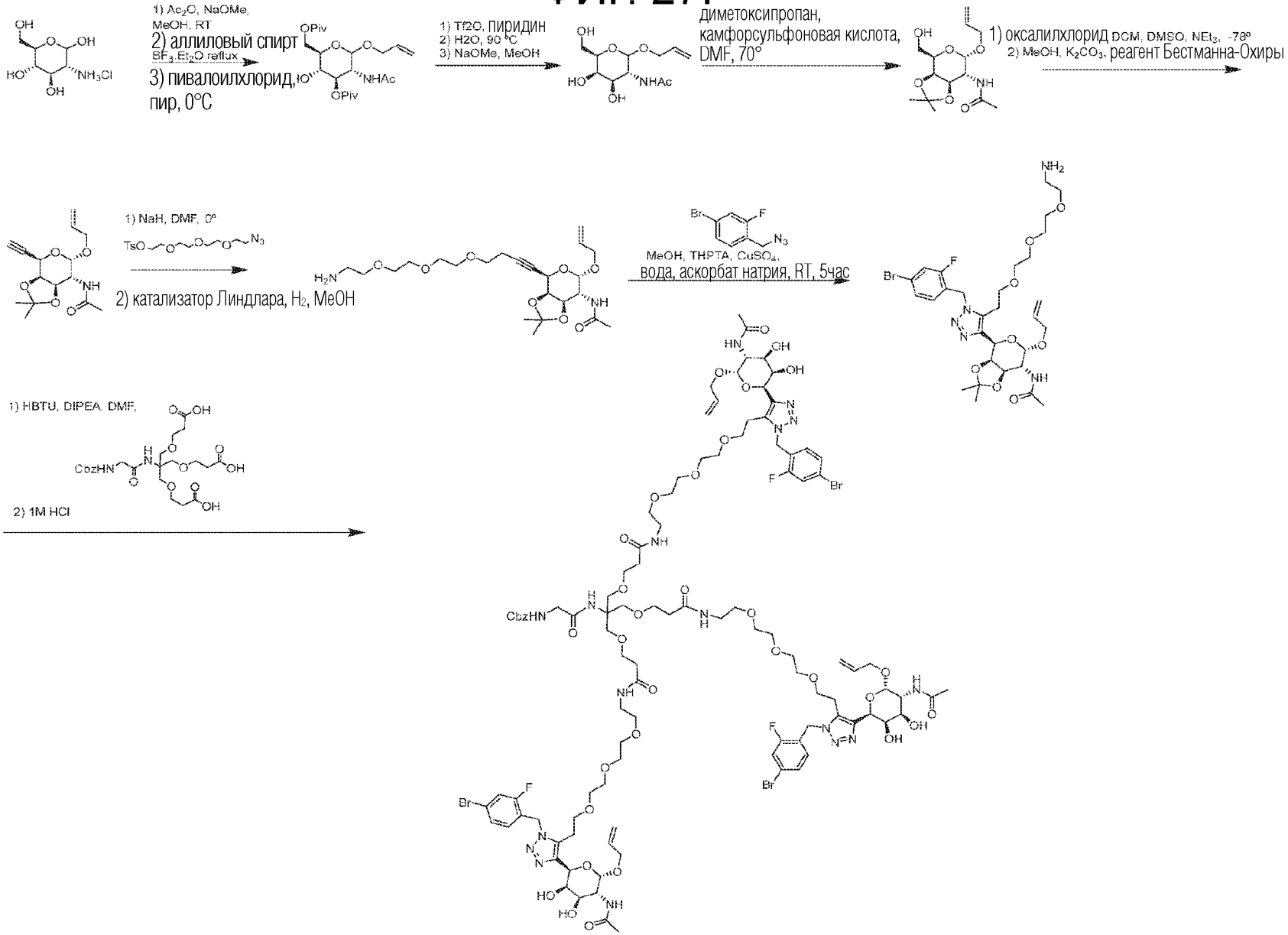
ФИГ. 27G


1) Ac2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт
BF3.Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, ПИРИДИН
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) оксалилхлорид DCM, DMSO, NEt3, -78°
2) MeOH, K2CO3, реагент Бестманна-Охиры
1) NaH, DMF, 0°
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
MeOH, THPTA, CuSO4, вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

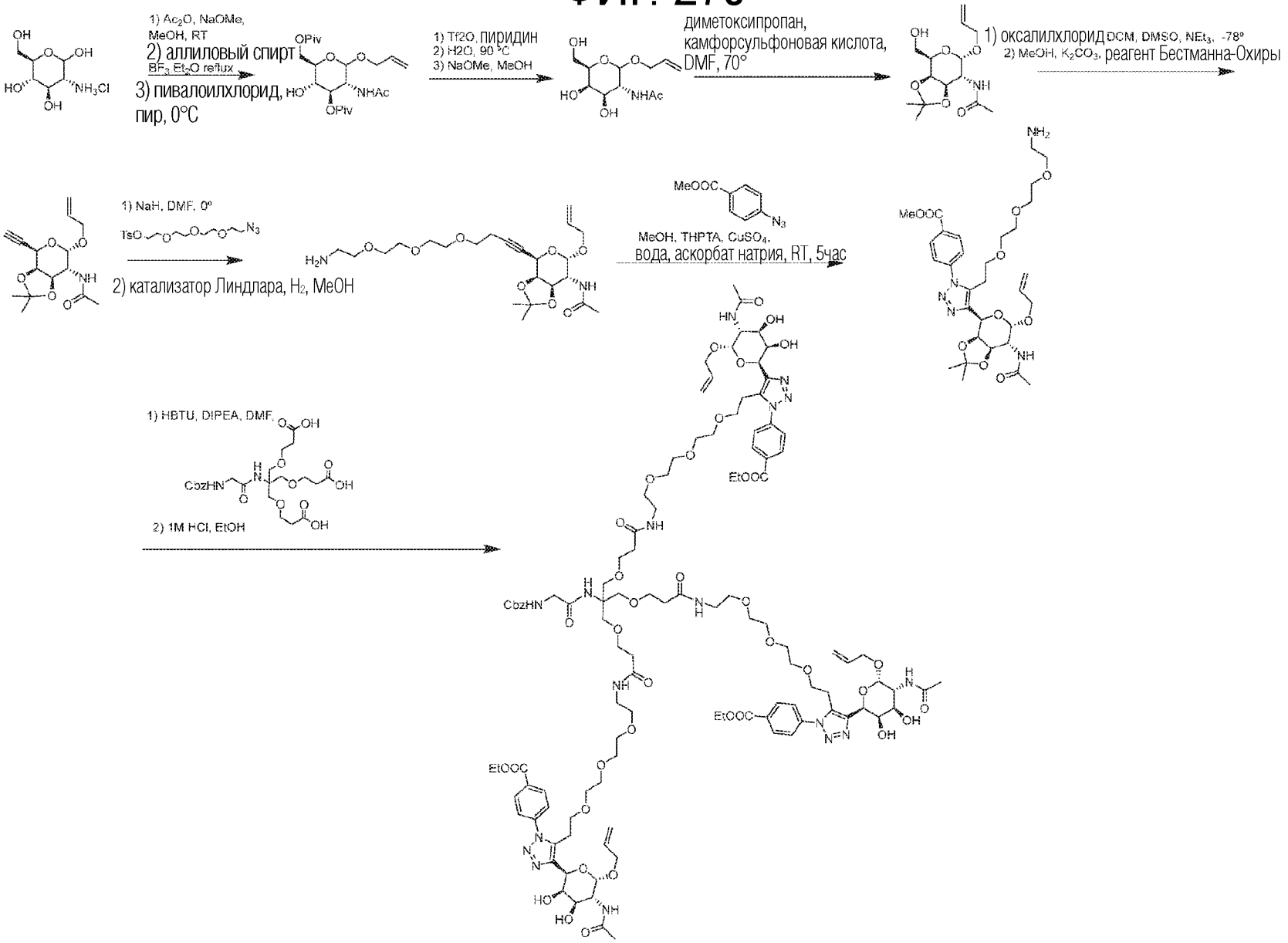
ФИГ. 27H


1) Ac_2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт
$BF_3.Et_2O$ reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) оксалилхлорид DCM, DMSO, NEt_3, -78°
2) MeOH, K_2CO_3, реагент Бестманна-Охиры
1) NaH, DMF, 0°
2) катализатор Линдлара, H_2, MeOH
MeOH, THPTA, $CuSO_4$, вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

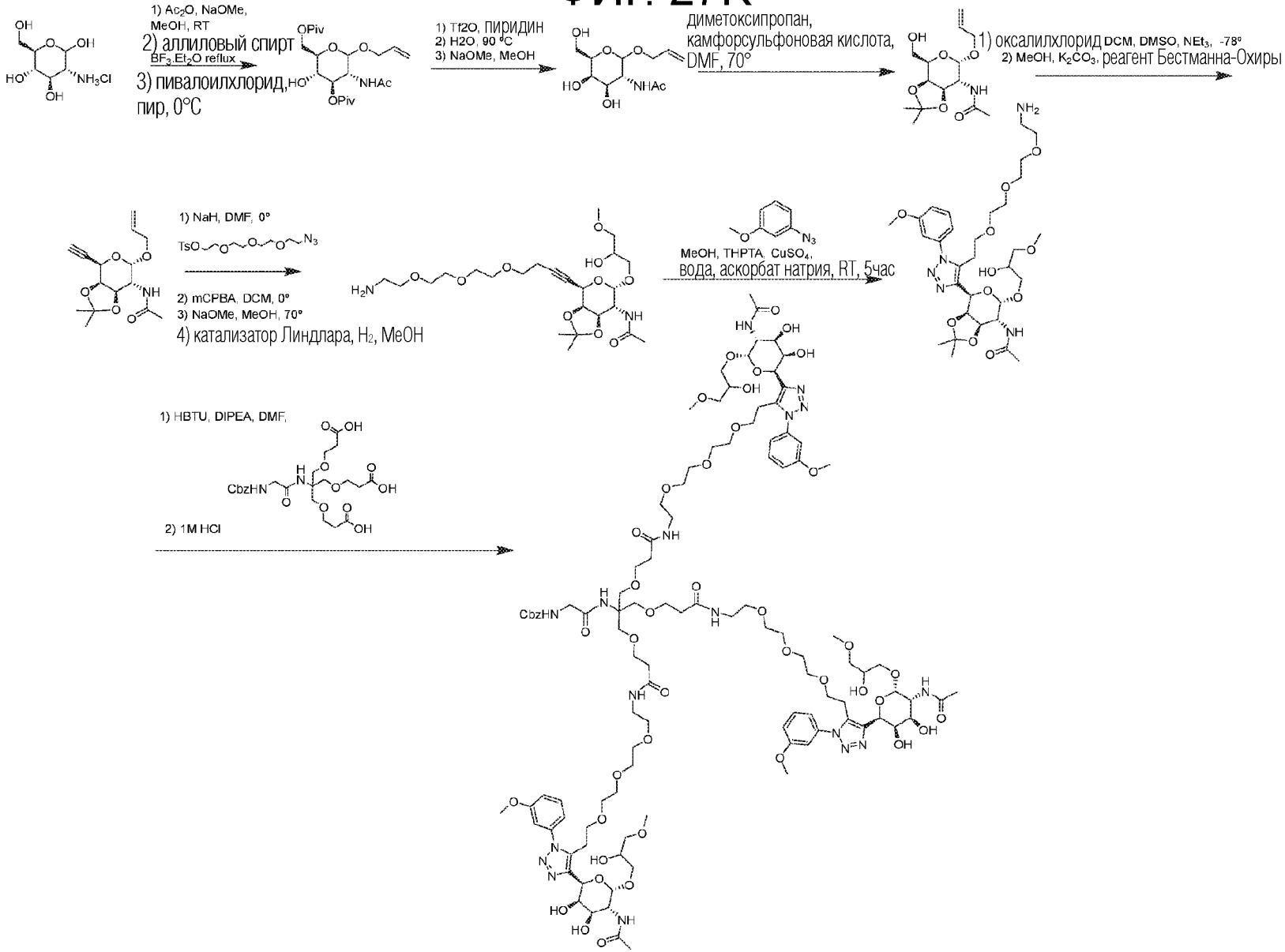
ФИГ. 27I


1) Ac2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт
BF3.Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) оксалилхлорид DCM, DMSO, NEt3, -78°
2) MeOH, K2CO3, реагент Бестманна-Охиры
1) NaH, DMF, 0°
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
MeOH, THPTA, CuSO4, вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

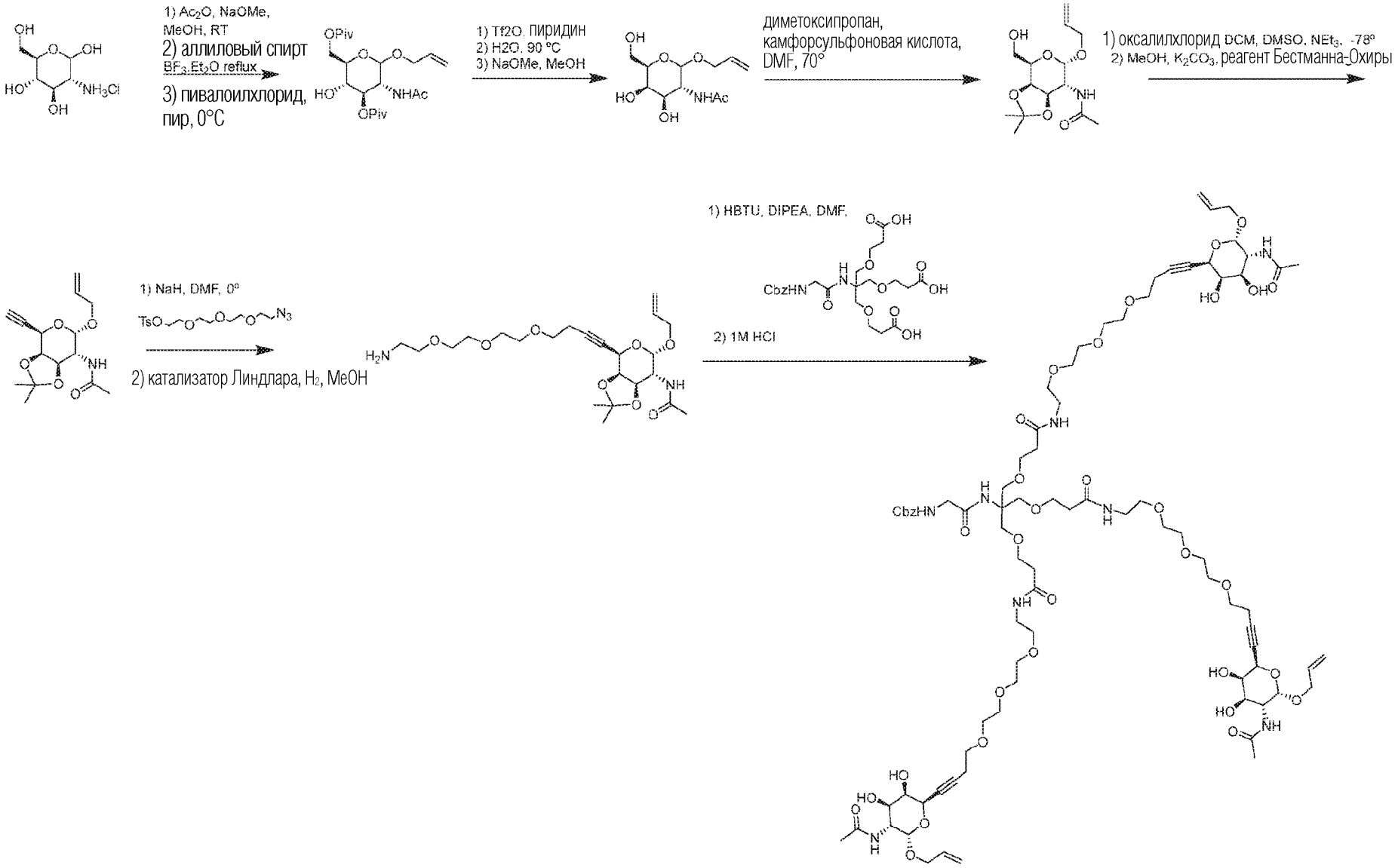
ФИГ. 27J


1) Ac2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт BF3.Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) оксалилхлорид DCM, DMSO, NEt3, -78°
2) MeOH, K2CO3, реагент Бестманна-Охиры
1) NaH, DMF, 0°
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
MeOH, THPTA, CuSO4, вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl, EtOH

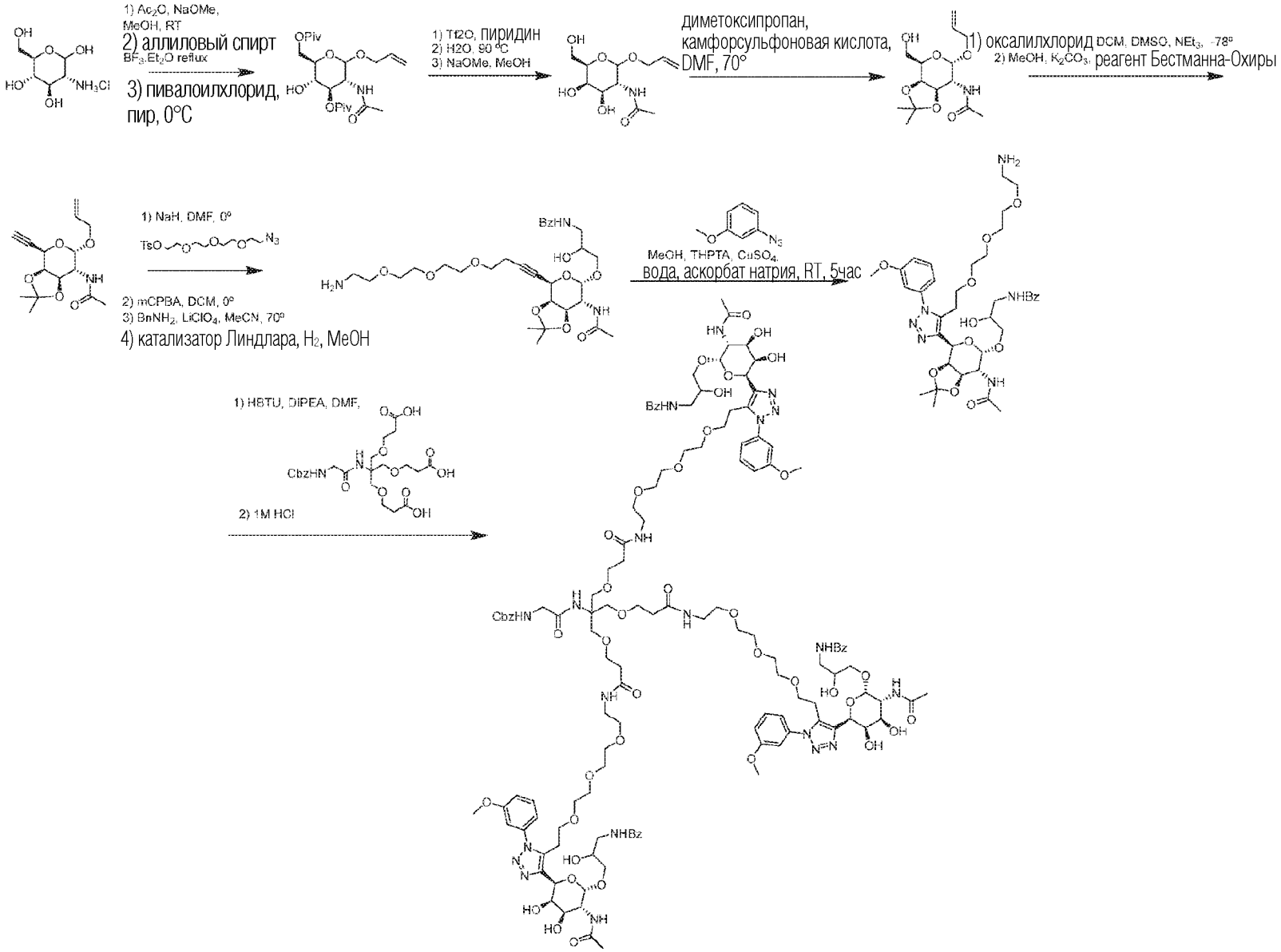
ФИГ. 27K


1) Ac2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт
BF3.Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, ПИРИДИН
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) оксалилхлорид DCM, DMSO, NEt3, -78°
2) MeOH, K2CO3, реагент Бестманна-Охиры
1) NaH, DMF, 0°
2) mCPBA, DCM, 0°
3) NaOMe, MeOH, 70°
4) катализатор Линдлара, H2, MeOH
MeOH, THPTA, CuSO4, вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

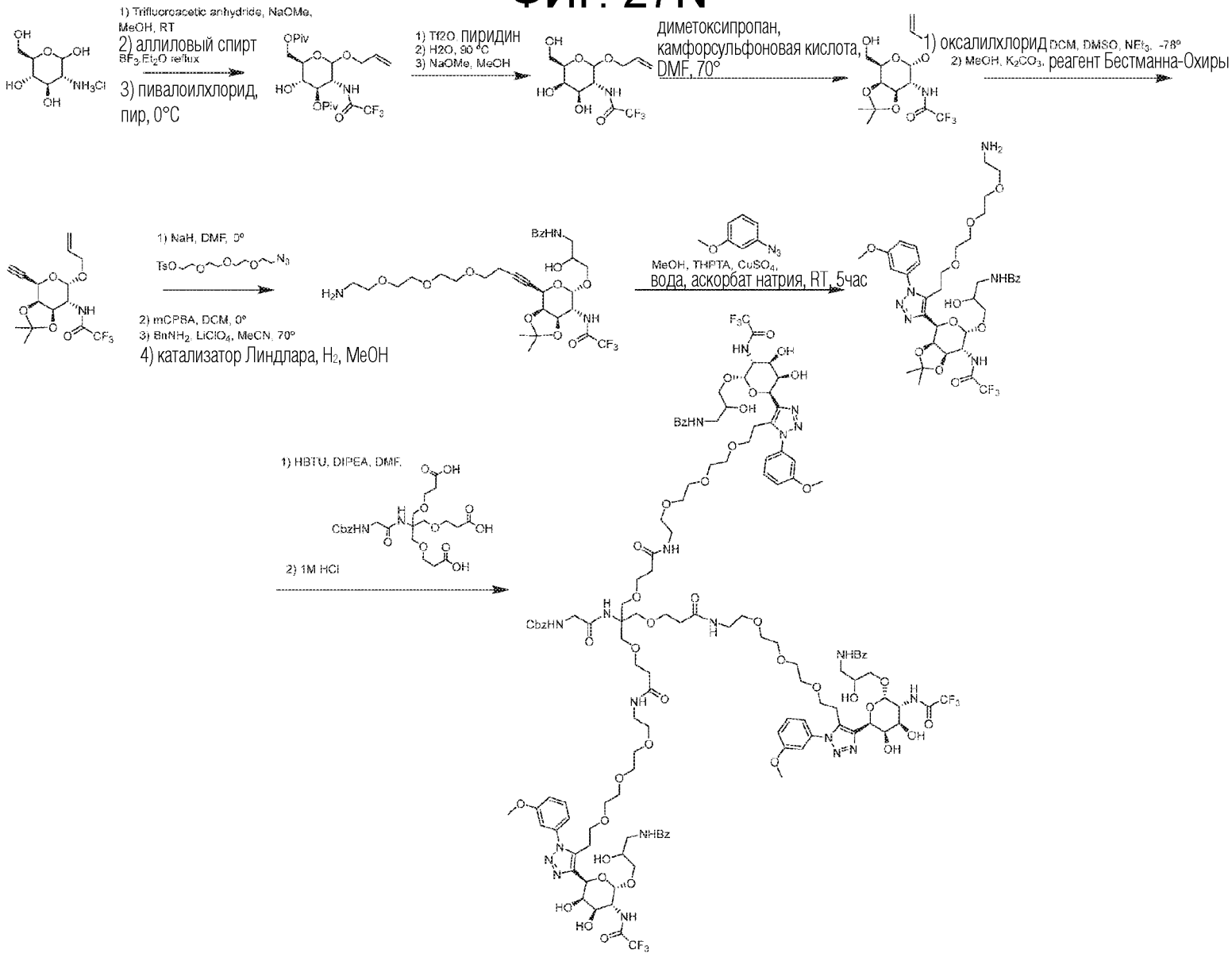
ФИГ. 27L


1) Ac2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт
BF3.Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) оксалилхлорид DCM, DMSO, NEt3, -78°
2) MeOH, K2CO3, реагент Бестманна-Охиры
1) NaH, DMF, 0°
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) HBTU, DIPEA, DMF
2) 1M HCl

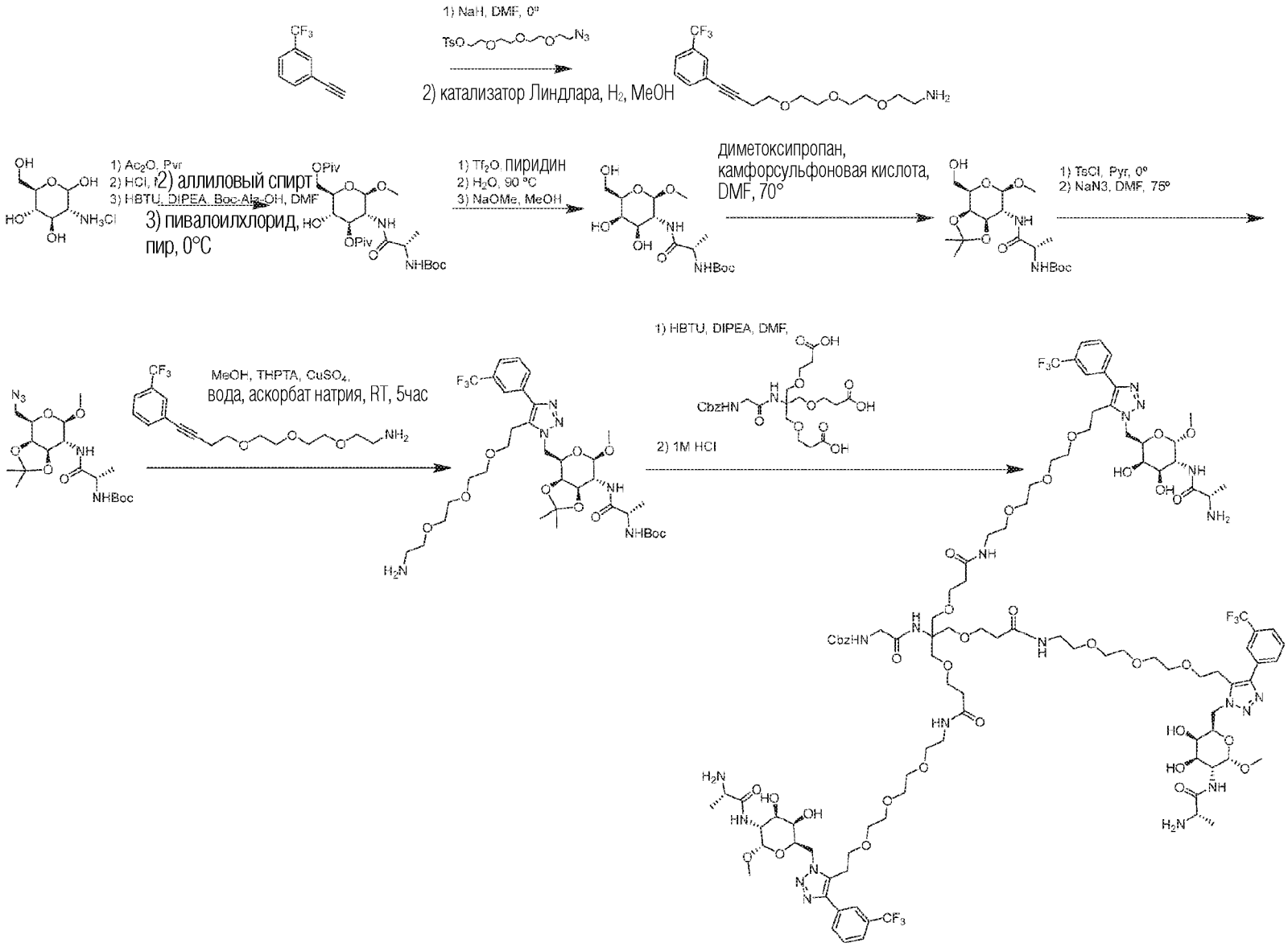
ФИГ. 27M


1) Ac2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт
BF3.Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) оксалилхлорид DCM, DMSO, NEt3, -78°
2) MeOH, K2CO3, реагент Бестманна-Охиры
1) NaH, DMF, 0°
2) mCPBA, DCM, 0°
3) BnNH2, LiClO4, MeCN, 70°
4) катализатор Линдлара, H2, MeOH
MeOH, THPTA, CuSO4, вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

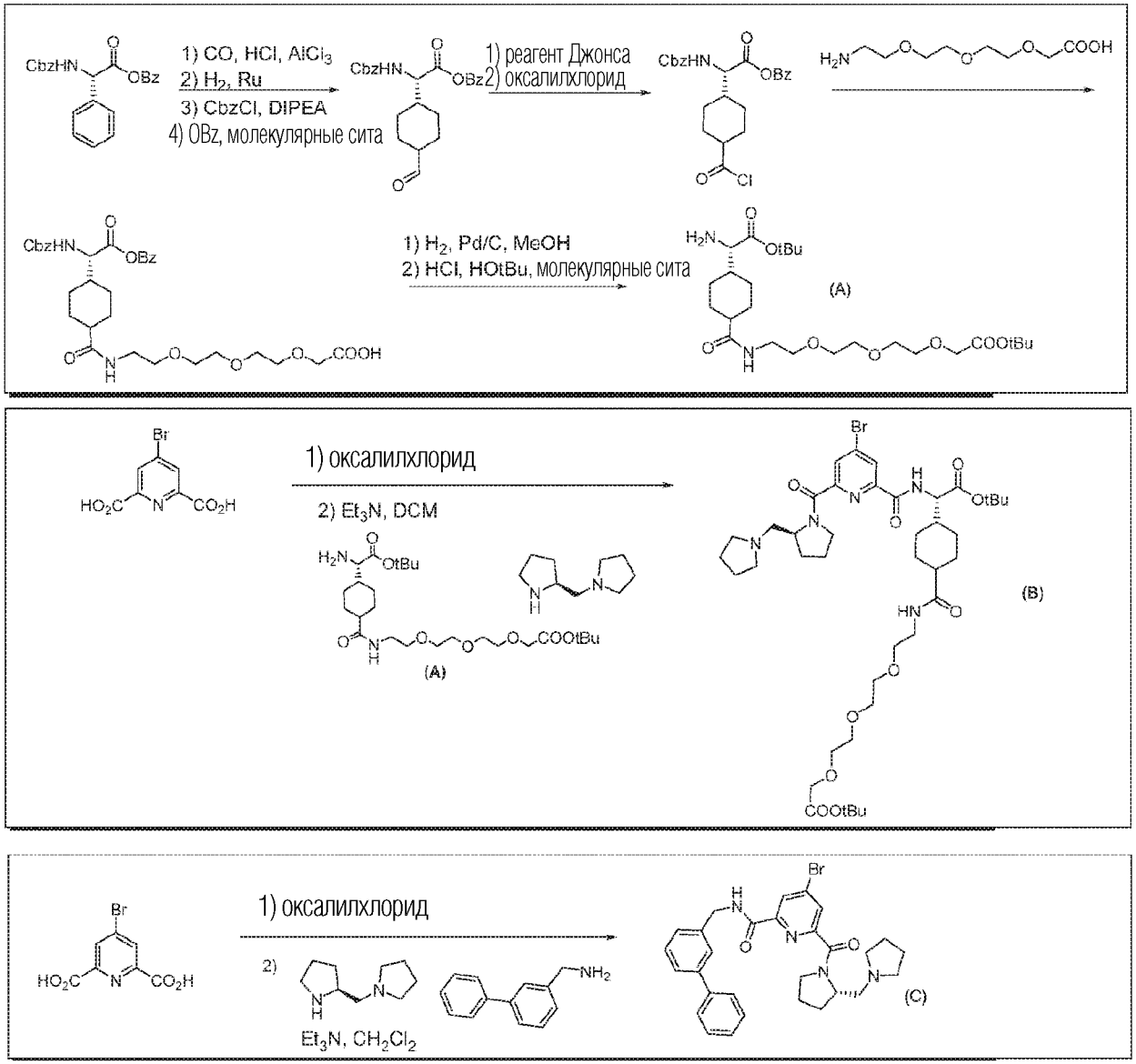
ФИГ. 27N


1) Trifluoroacetic anhydride, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт
BF3.Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) оксалилхлорид DCM, DMSO, NEt3, -78°
2) MeOH, K2CO3, реагент Бестманна-Охиры
1) NaH, DMF, 0°
2) mCPBA, DCM, 0°
3) BnNH2, LiClO4, MeCN, 70°
4) катализатор Линдлара, H2, MeOH
MeOH, THPTA, CuSO4, вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF
2) 1M HCl

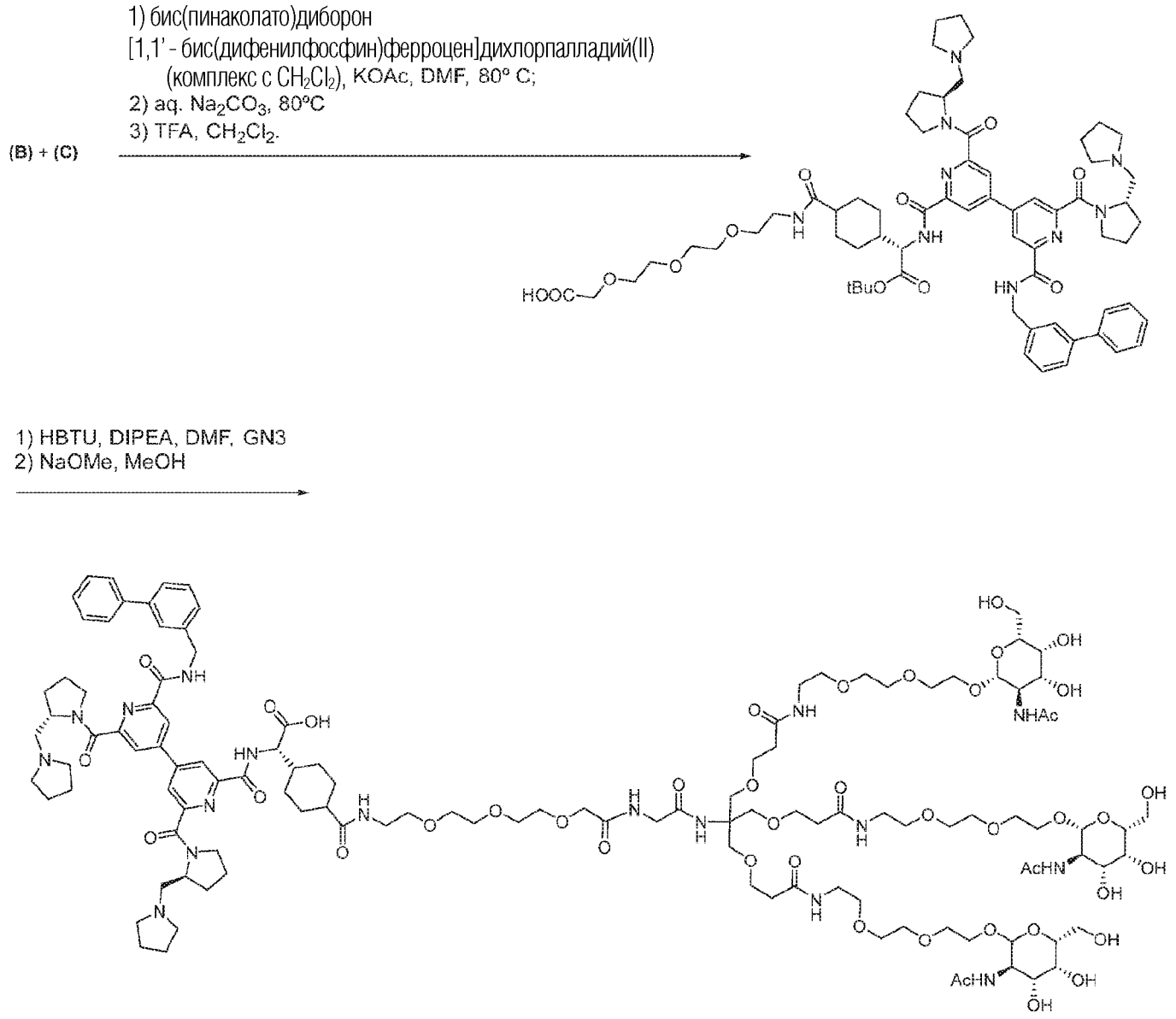
ФИГ. 27O


1) NaH, DMF, 0°
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) Ac2O, Pyr
2) HCl, i-PrOH
3) HBTU, DIPEA, Boc-Ala-OH, DMF
2) аллиловый спирт
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) TsCl, Pyr, 0°
2) NaN3, DMF, 75°
MeOH, THPTA, CuSO4,
вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

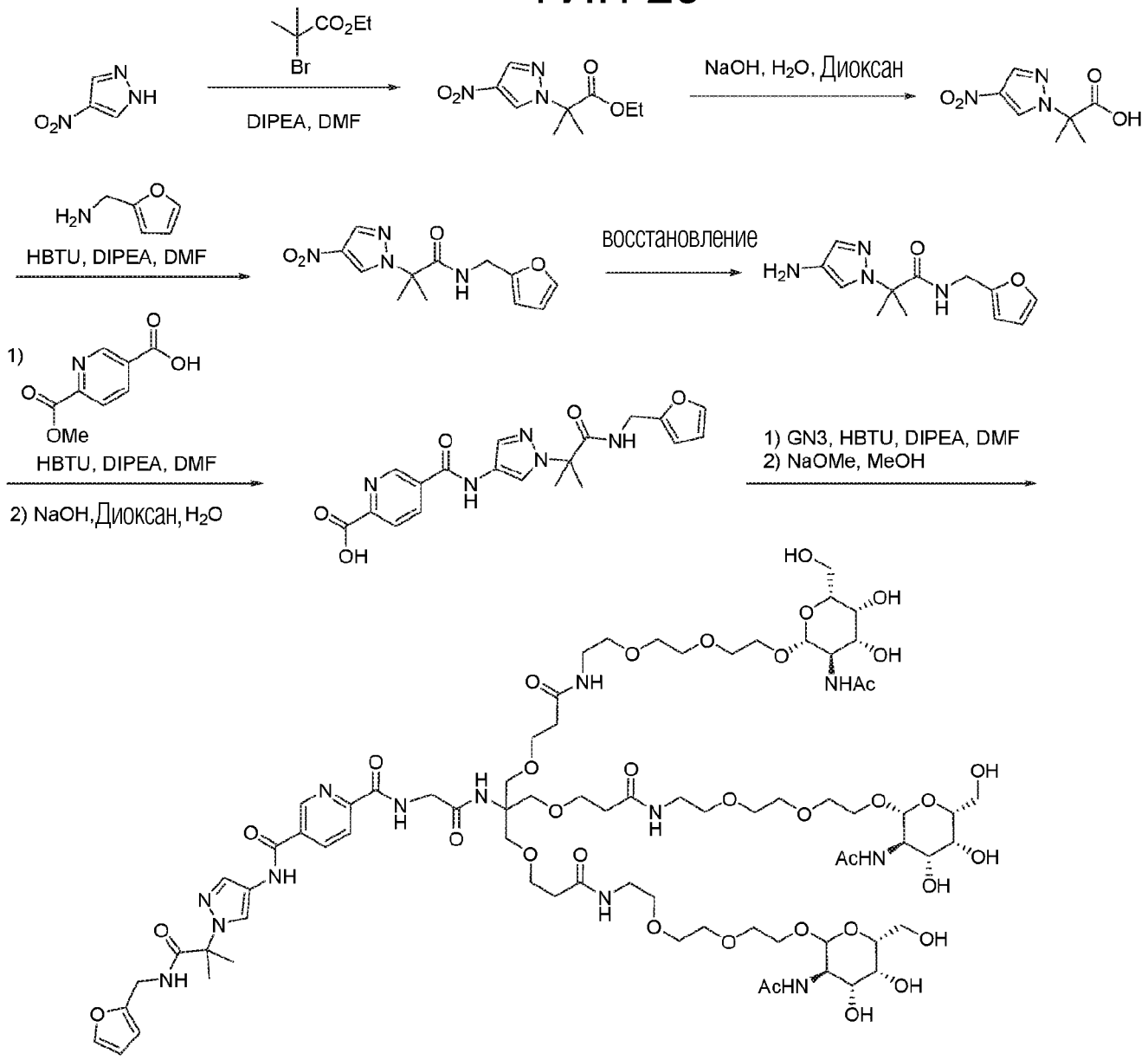
ФИГ. 28А


1) CO, HCl, AlCl3
2) H2, Ru
3) CbzCl, DIPEA
4) OBz, молекулярные сита
1) реагент Джонса
2) оксалилхлорид
1) H2, Pd/C, MeOH
2) HCl, HOtBu, молекулярные сита
(A)
1) оксалилхлорид
2) Et3N, DCM
(B)
1) оксалилхлорид
2)
Et3N, CH2Cl2
(C)

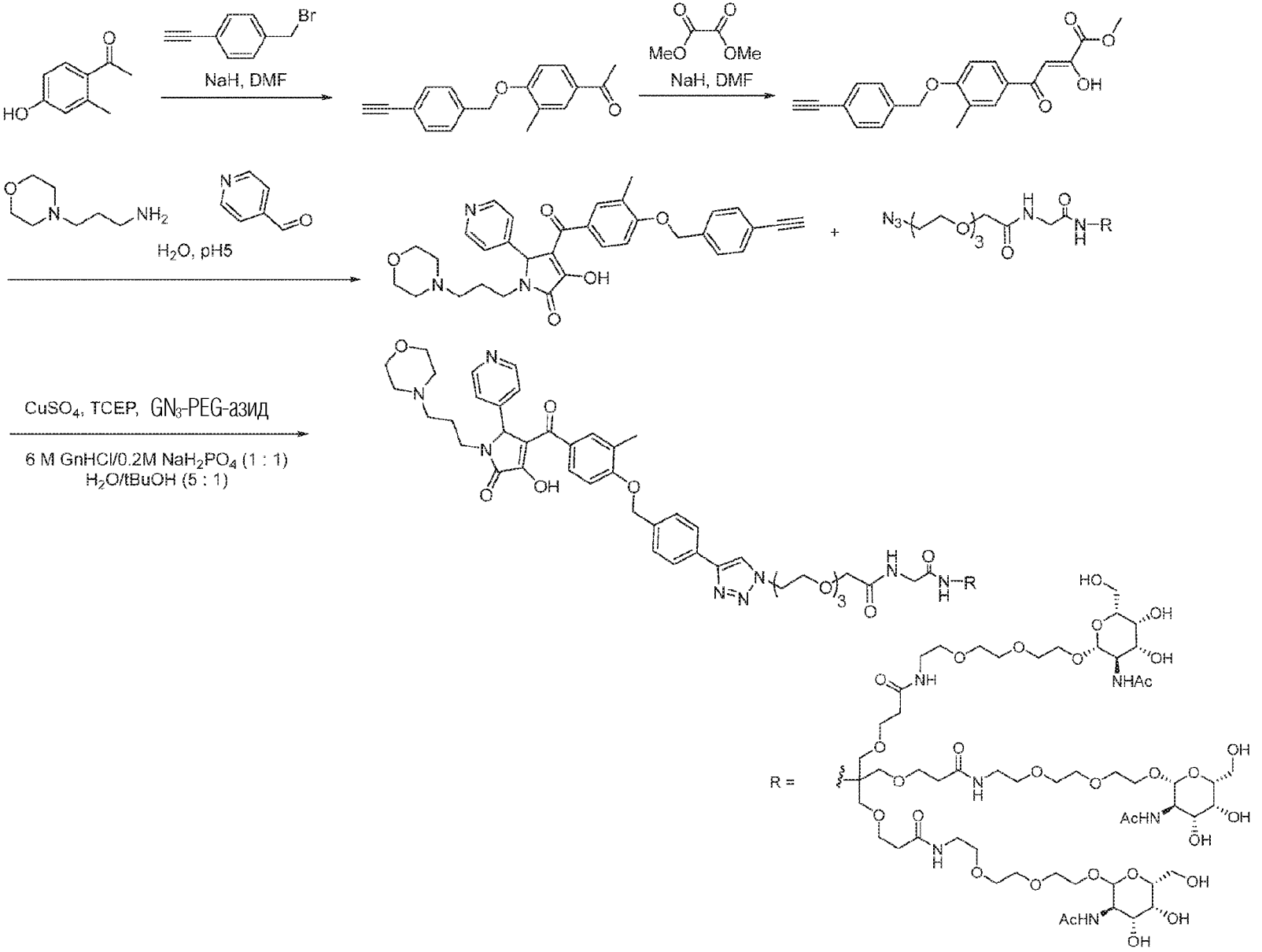
ФИГ. 28B


1) бис(пинаколато)диборон
[1,1' - бис(дифенилфосфин)ферроцен]дихлорпалладий(II)
(комплекс с CH_2Cl_2), KOAc, DMF, 80° C;
2) aq. Na_2CO_3, 80°C
3) TFA, CH_2Cl_2.
(B) + (C)
1) HBTU, DIPEA, DMF, GN3
2) NaOMe, MeOH

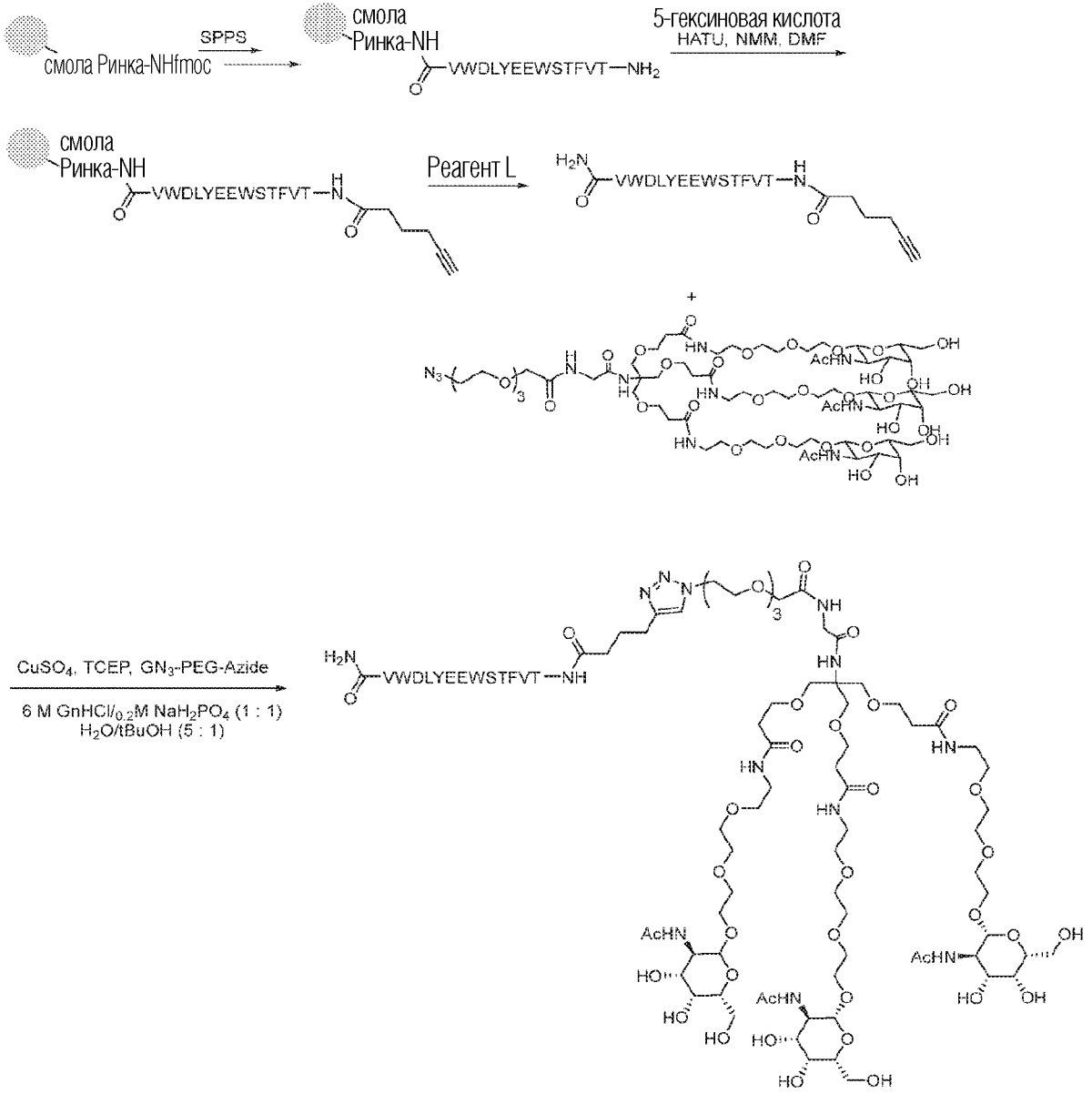
ФИГ. 29


CO2Et
Br
DIPEA, DMF
NaOH, H2O, Диоксан
HBTU, DIPEA, DMF
восстановление
1)
OMe
HBTU, DIPEA, DMF
2) NaOH, Диоксан, H2O
1) GN3, HBTU, DIPEA, DMF
2) NaOMe, MeOH
NHAc
AcHN
AcHN

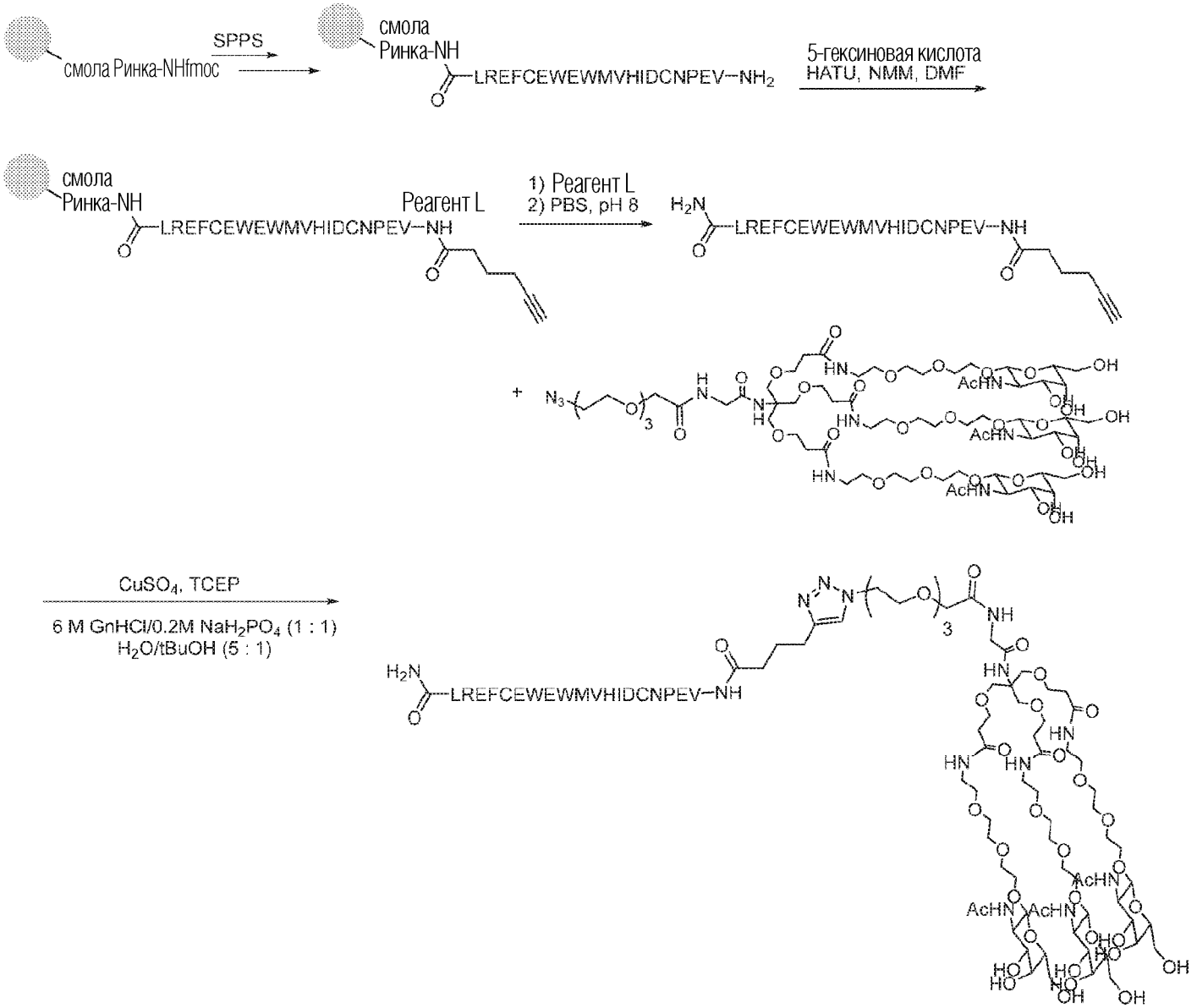
ФИГ. 30


NaH, DMF
NaH, DMF
H2O, pH5
CuSO4, TCEP, GN3-PEG-азид
6 M GnHCl/0.2M NaH2PO4 (1 : 1)
H2O/tBuOH (5 : 1)
R =

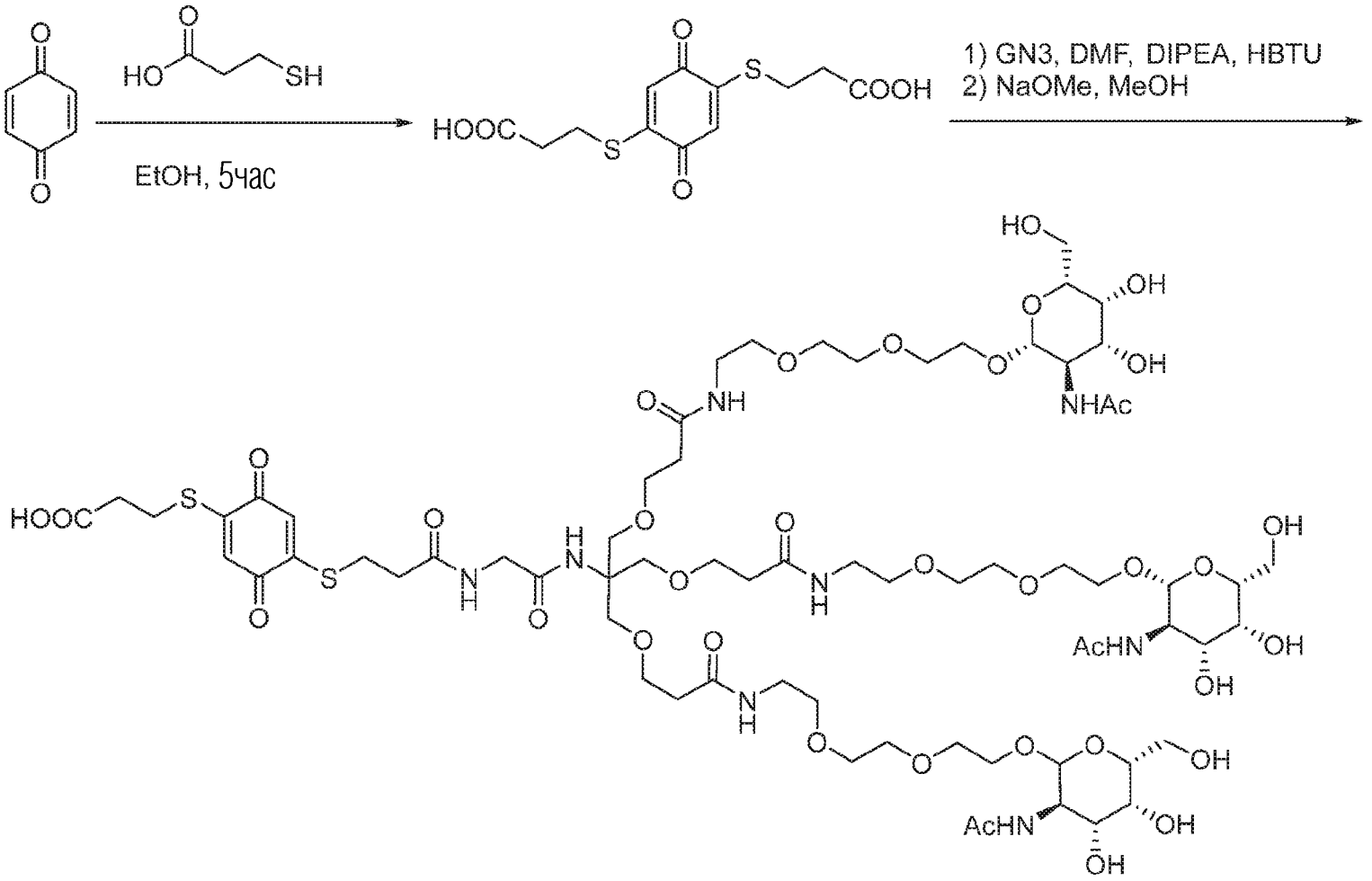
ФИГ. 31


смола Ринка-NHfmoc
SPPS
смола Ринка-NH
VWDLYEEWSTFVT—NH2
5-гексиновая кислота
HATU, NMM, DMF
смола Ринка-NH
VWDLYEEWSTFVT—N
Реагент L
H2N
VWDLYEEWSTFVT—N
+
CuSO4, TCEP, GN3-PEG-Azide
6 M GnHCl/0,2M NaH2PO4 (1 : 1)
H2O/tBuOH (5 : 1)
H2N
VWDLYEEWSTFVT—NH

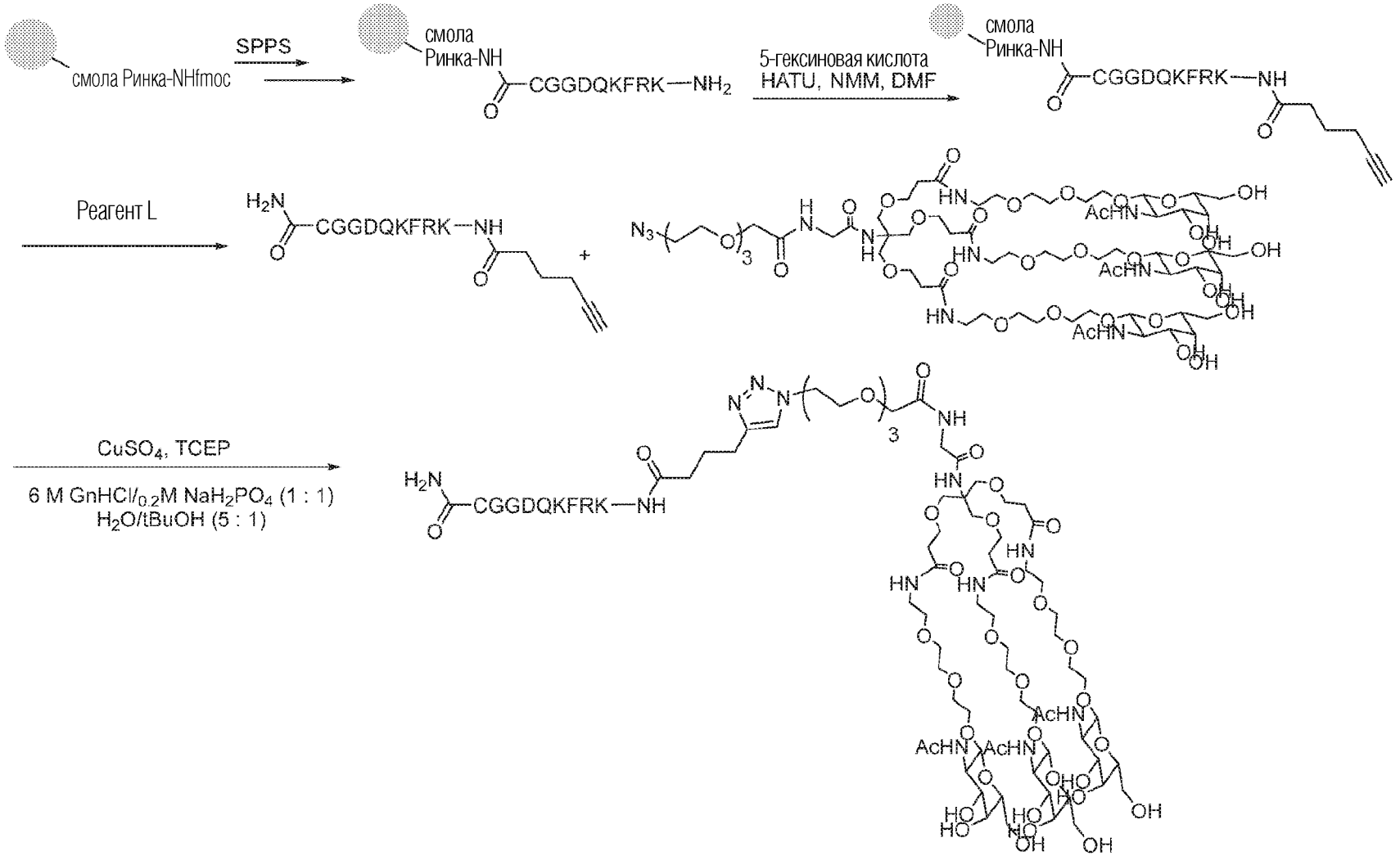
ФИГ. 32


смола Ринка-NHfmoc
SPPS
смола Ринка-NH
LREFCEWEWMVHIDCNPEV–NH2
5-гексиновая кислота
HATU, NMM, DMF
смола Ринка-NH
LREFCEWEWMVHIDCNPEV–NH
Реагент L
1) Реагент L
2) PBS, pH 8
H2N
LREFCEWEWMVHIDCNPEV–NH
CuSO4, TCEP
6 M GnHCl/0.2M NaH2PO4 (1 : 1)
H2O/tBuOH (5 : 1)

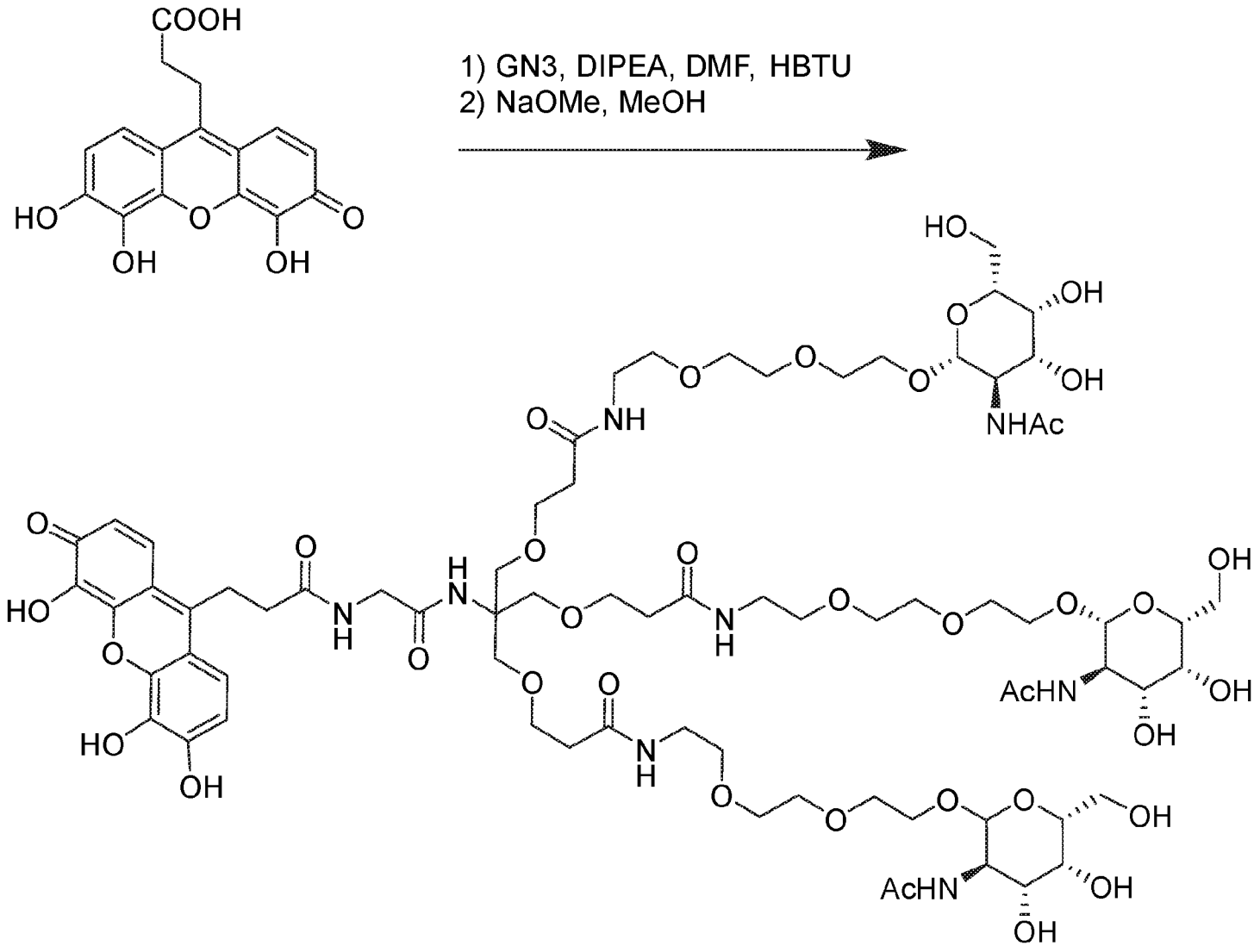
ФИГ. 33


HO
SH
EtOH, 5час
HOOC
S
COOH
1) GN3, DMF, DIPEA, HBTU
2) NaOMe, MeOH
HO
OH
OH
NHAc
NH
HOOC
S
S
N
H
AcHN
OH
OH
AcHN
OH
OH

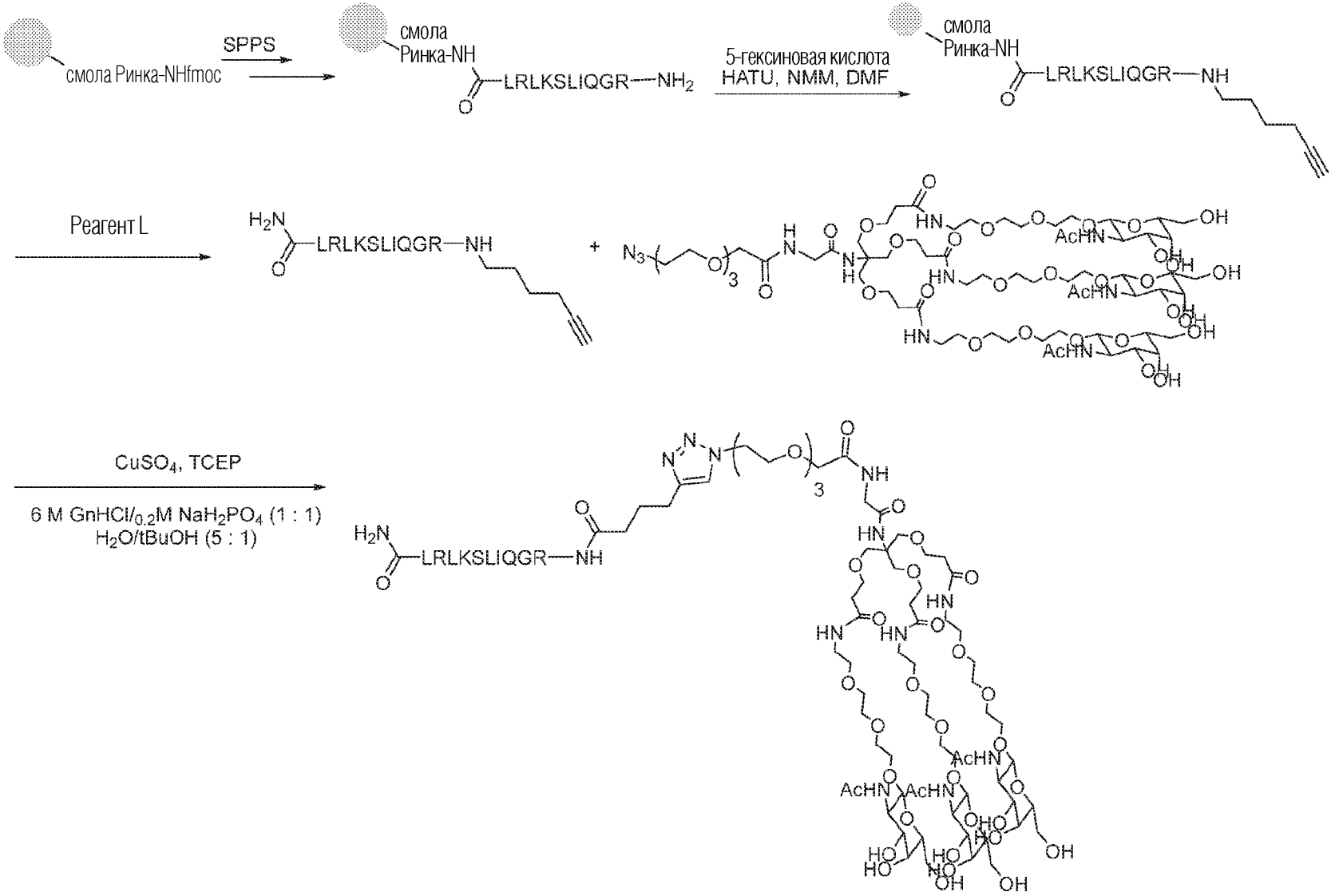
ФИГ. 34


смола Ринка-NHfmoc
SPPS
смола Ринка-NH
CGGDQKFRK—NH2
5-гексиновая кислота
HATU, NMM, DMF
смола Ринка-NH
CGGDQKFRK—NH
Реагент L
H2N
CGGDQKFRK—NH
+
N3
AcHN
OH
CuSO4, TCEP
6 M GnHCl/0.2M NaH2PO4 (1 : 1)
H2O/tBuOH (5 : 1)
H2N
CGGDQKFRK—NH

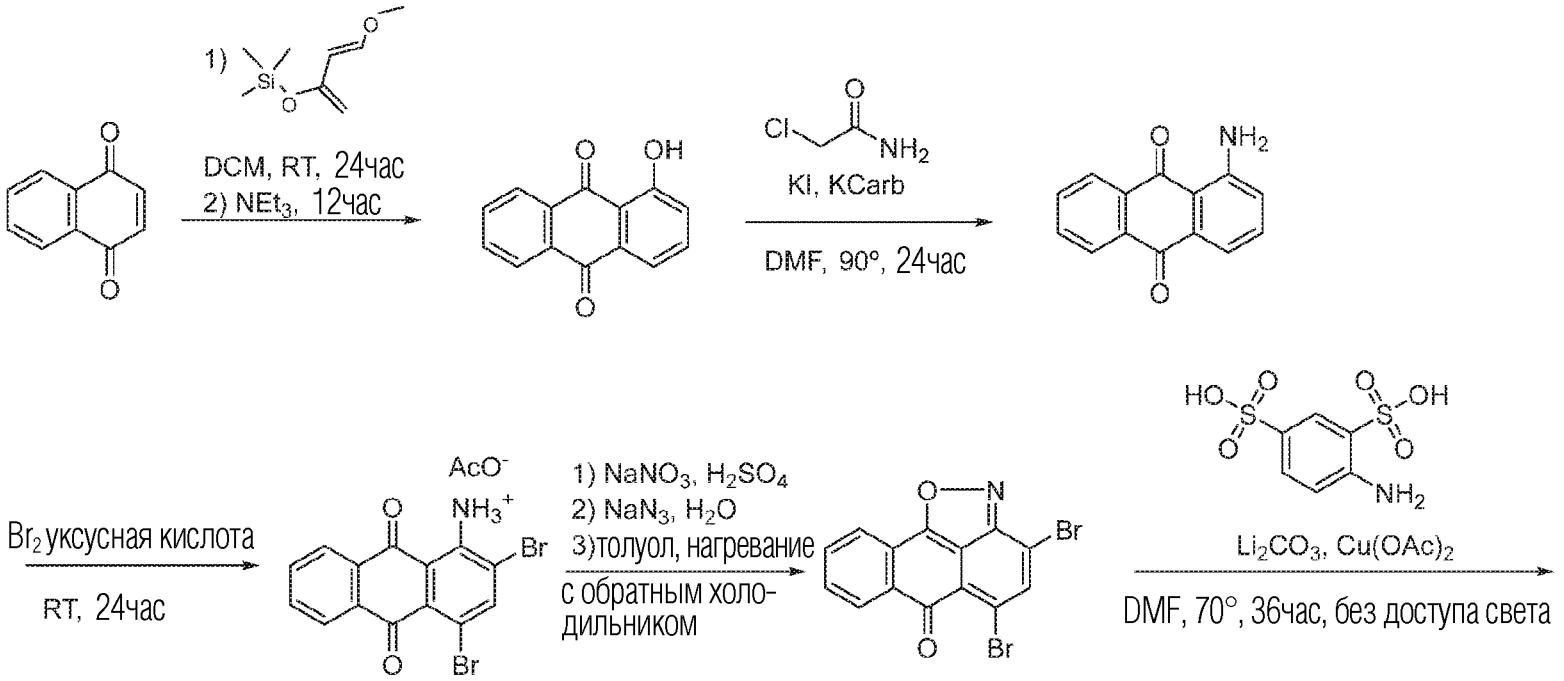
ФИГ. 35


COOH
1) GN3, DIPEA, DMF, HBTU
2) NaOMe, MeOH
HO
OH
OH
O
O
HO
OH
O
O
O
O
NH
NHAc
O
HO
O
HO
OH
O
H
N
O
N
H
O
O
O
O

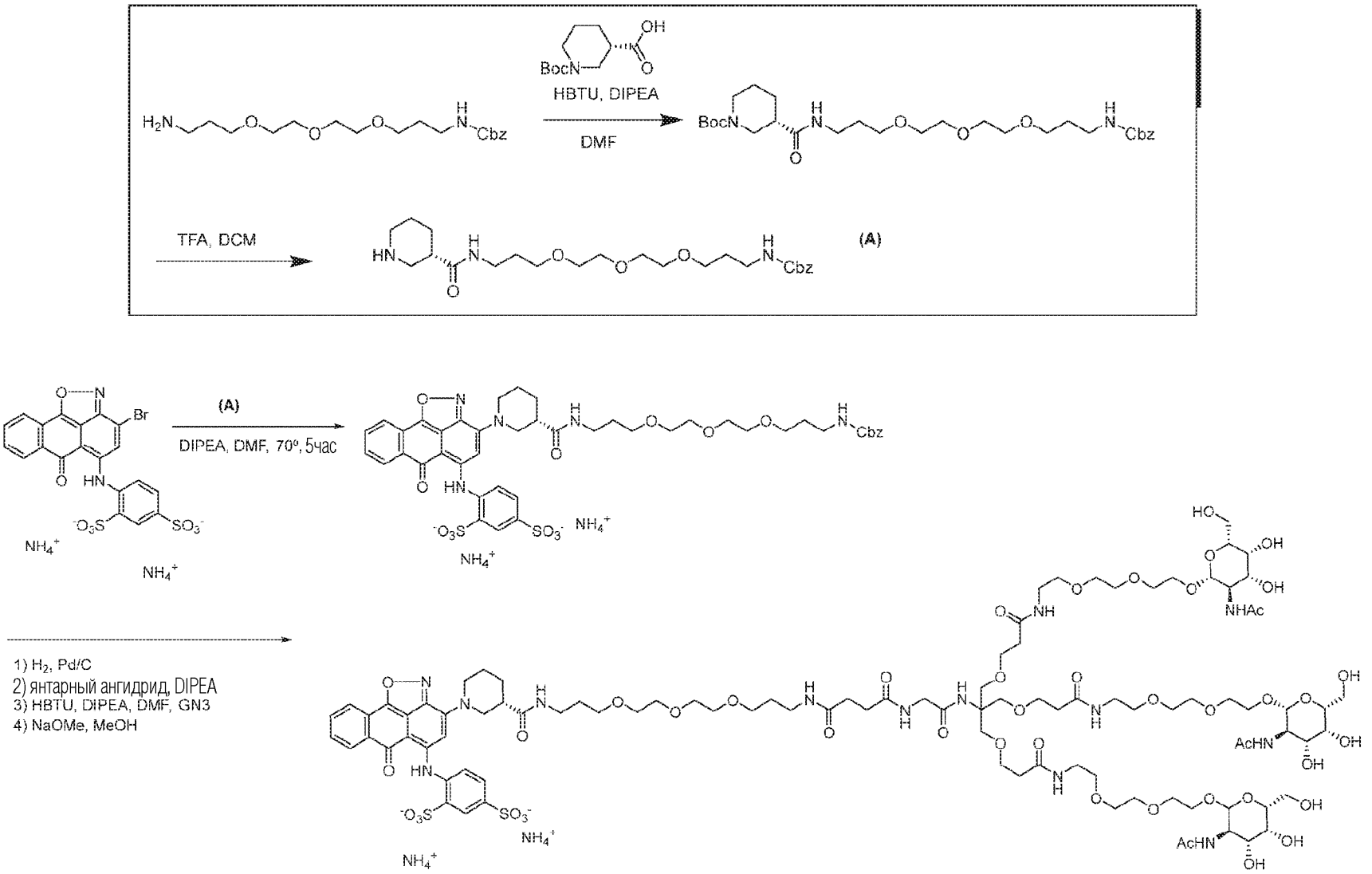
ФИГ. 36


смола Ринка-NHfmoc
SPPS
смола Ринка-NH
LRLKSLIQGR—NH2
5-гексиновая кислота
HATU, NMM, DMF
смола Ринка-NH
LRLKSLIQGR—NH
Реагент L
H2N
LRLKSLIQGR—NH
+
N3
AcHN
OH
CuSO4, TCEP
6 M GnHCl/0.2M NaH2PO4 (1 : 1)
H2O/tBuOH (5 : 1)
H2N
LRLKSLIQGR—NH

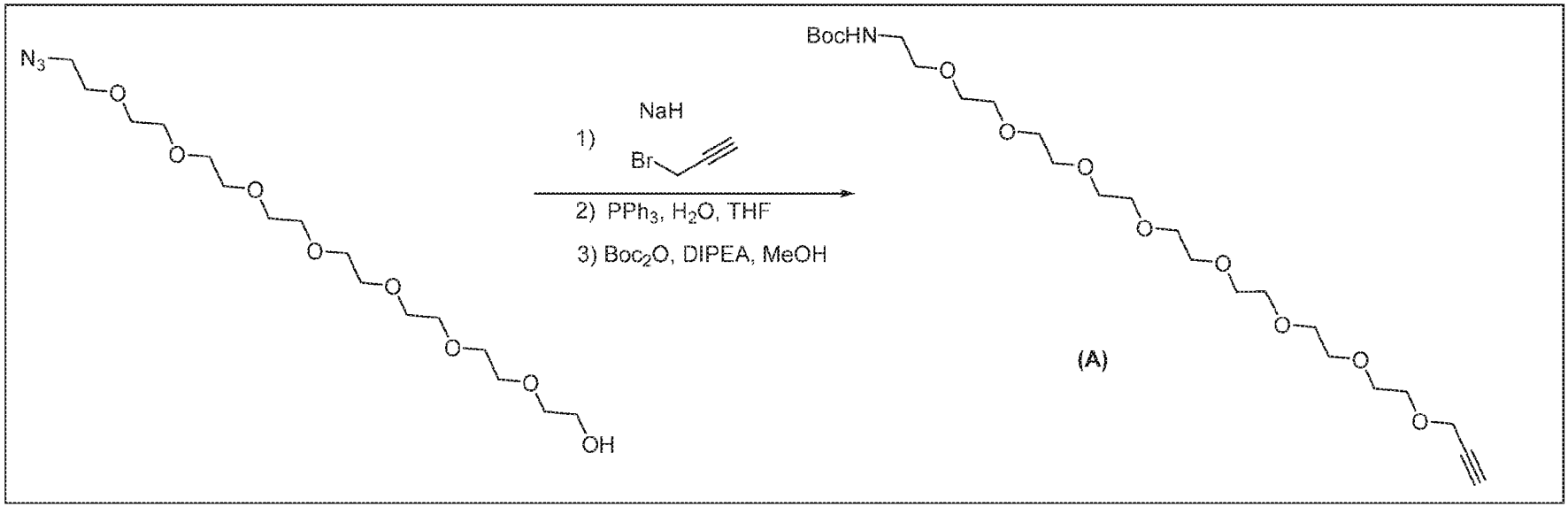
ФИГ. 37А


1)
DCM, RT, 24час
2) NEt3, 12час
OH
Cl
NH2
KI, KCarb
DMF, 90°, 24час
NH2
Br2 уксусная кислота
RT, 24час
AcO-
NH3+
Br
Br
1) NaNO3, H2SO4
2) NaN3, H2O
3)толуол, нагревание
с обратным холо-
дильником
O
N
Br
Br
HO
OH
NH2
Li2CO3, Cu(OAc)2
DMF, 70°, 36час, без доступа света

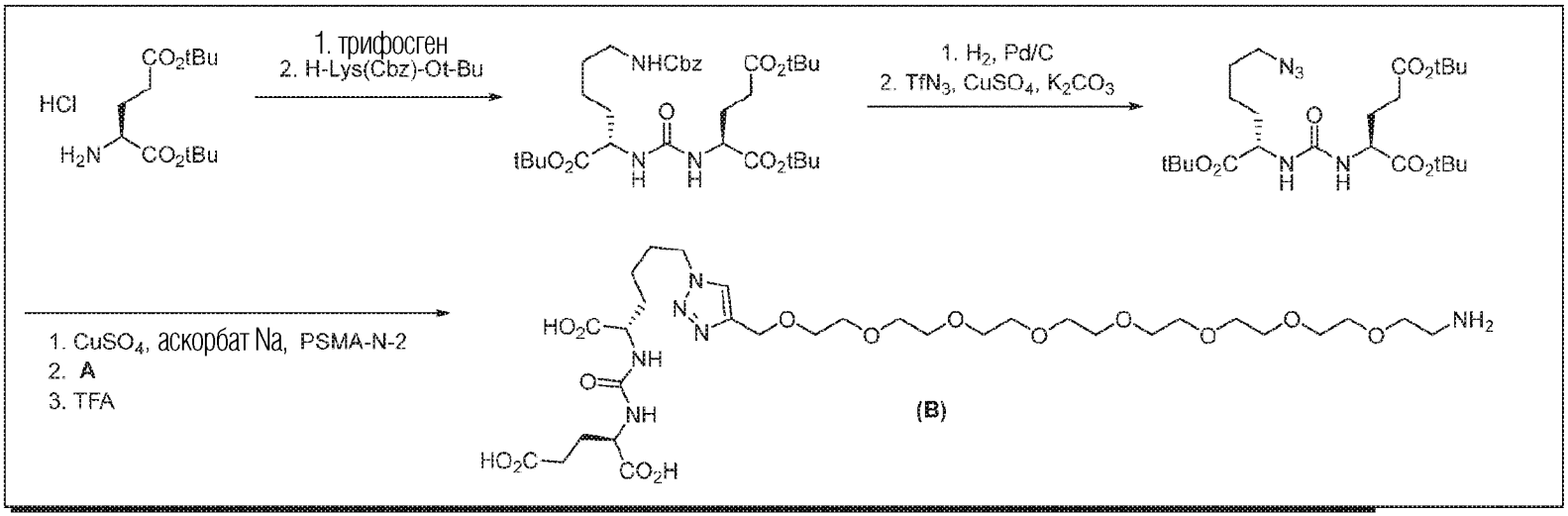
ФИГ. 37B

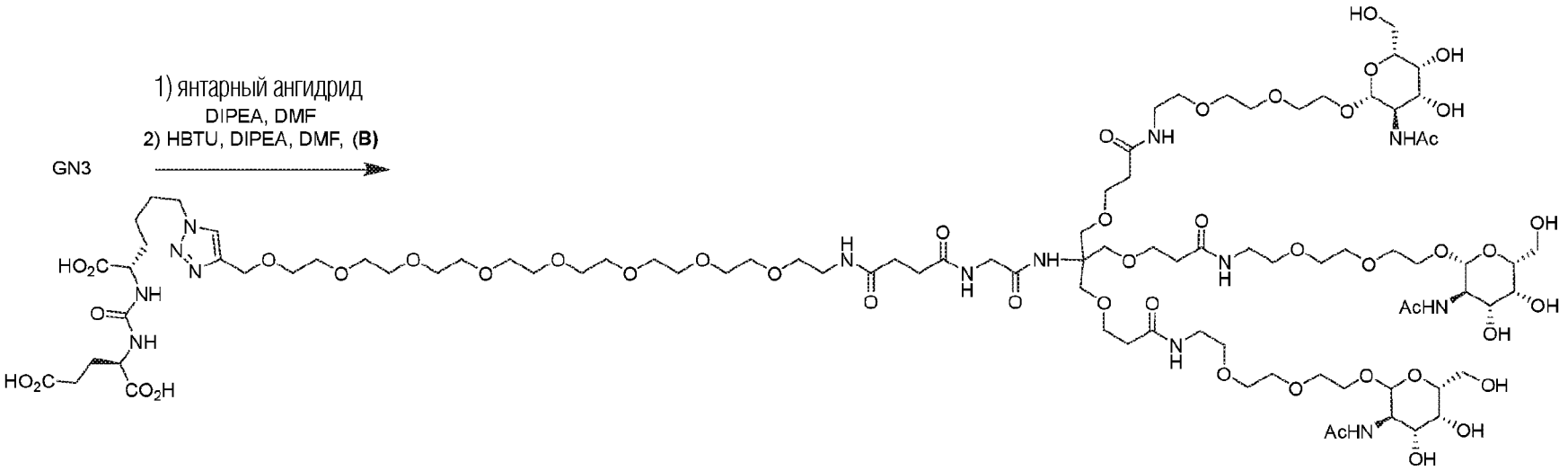

HBTU, DIPEA
DMF
TFA, DCM
(A)
DIPEA, DMF, 70°, 5час
1) H2, Pd/C
2) янтарный ангидрид, DIPEA
3) HBTU, DIPEA, DMF, GN3
4) NaOMe, MeOH

ФИГ. 38А

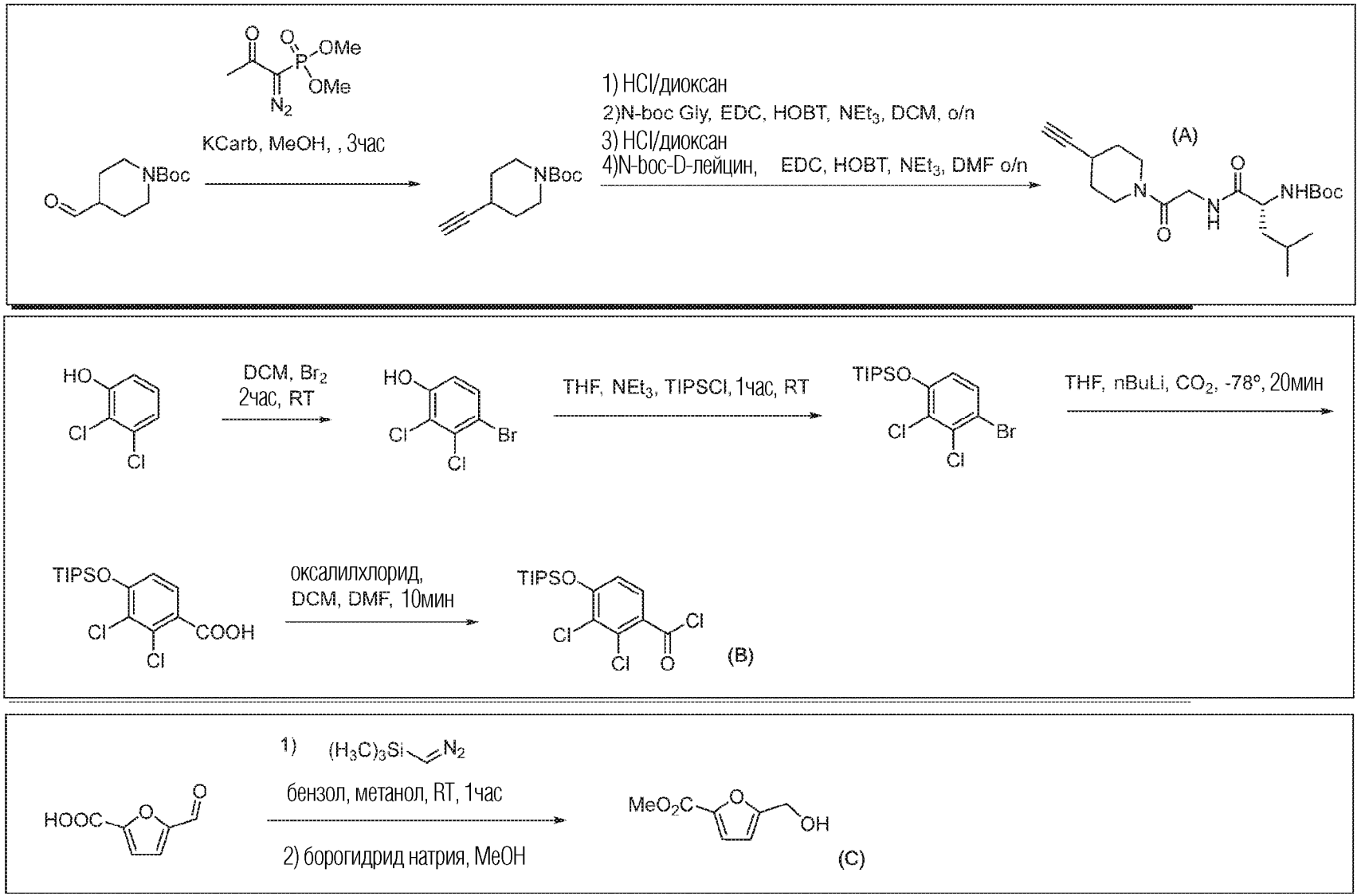


ФИГ. 38B

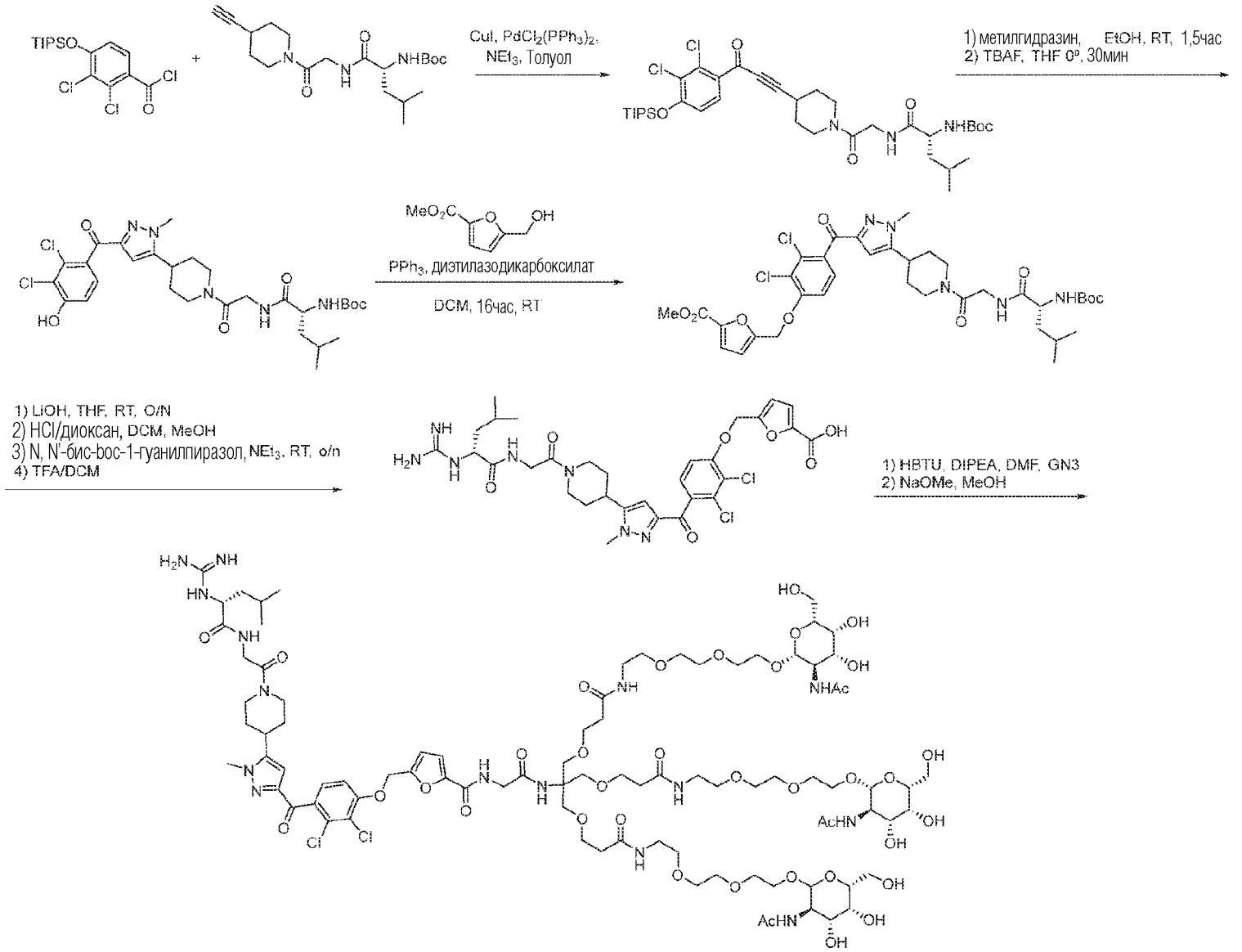

1. трифосген
2. H-Lys(Cbz)-Ot-Bu
1. H2, Pd/C
2. TfN3, CuSO4, K2CO3
1. CuSO4, аскорбат Na, PSMA-N-2
2. A
3. TFA
(B)


1) янтарный ангидрид
DIPEA, DMF
2) HBTU, DIPEA, DMF, (B)
GN3

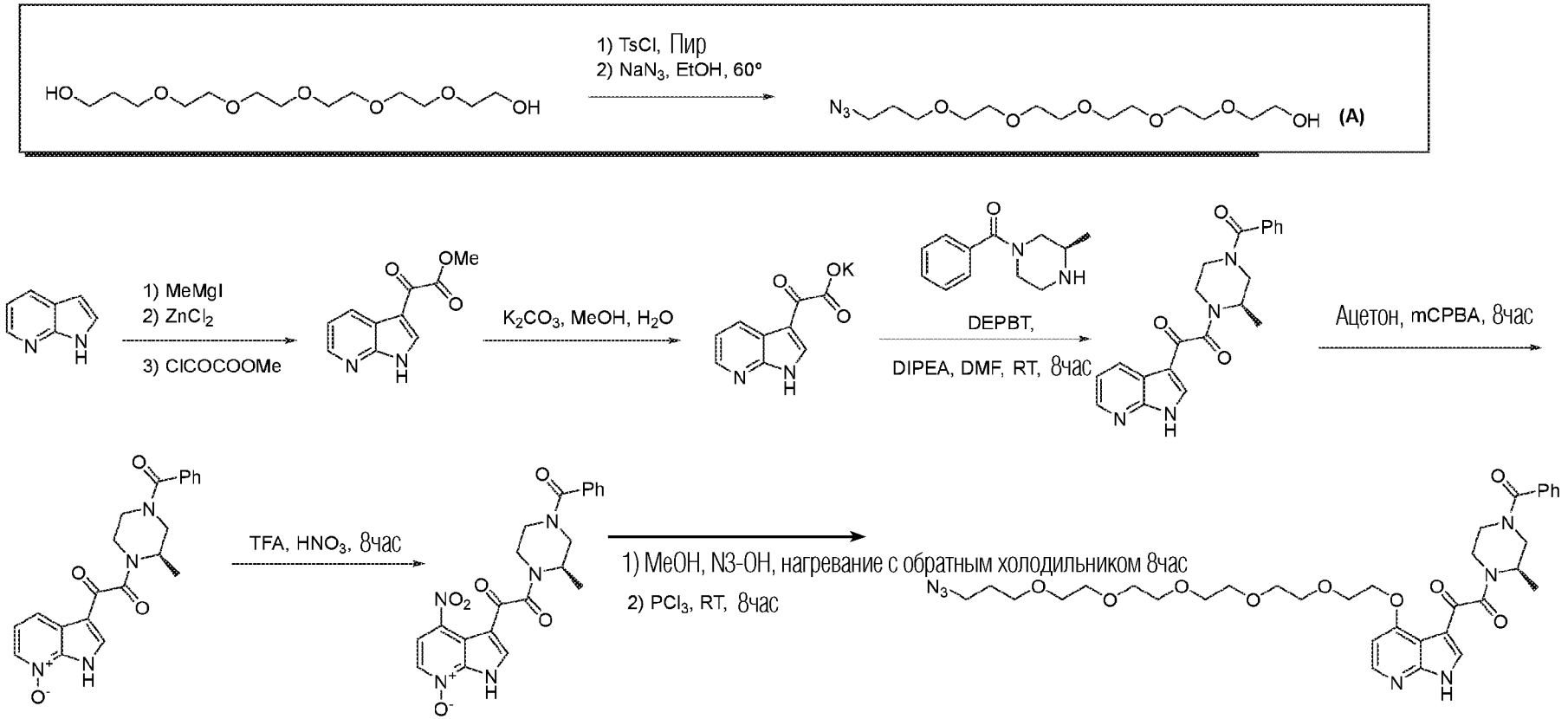
ФИГ. 39А


KCarb, MeOH, , 3час
1) HCl/диоксан
2)N-boc Gly, EDC, HOBT, NEt3, DCM, o/n
3) HCl/диоксан
4)N-boc-D-лейцин, EDC, HOBT, NEt3, DMF o/n
(A)
DCM, Br2
2час, RT
THF, NEt3, TIPSCl, 1час, RT
THF, nBuLi, CO2, -78°, 20мин
оксалилхлорид,
DCM, DMF, 10мин
(B)
1) (H3C)3Si N2
бензол, метанол, RT, 1час
2) борогидрид натрия, MeOH
(C)

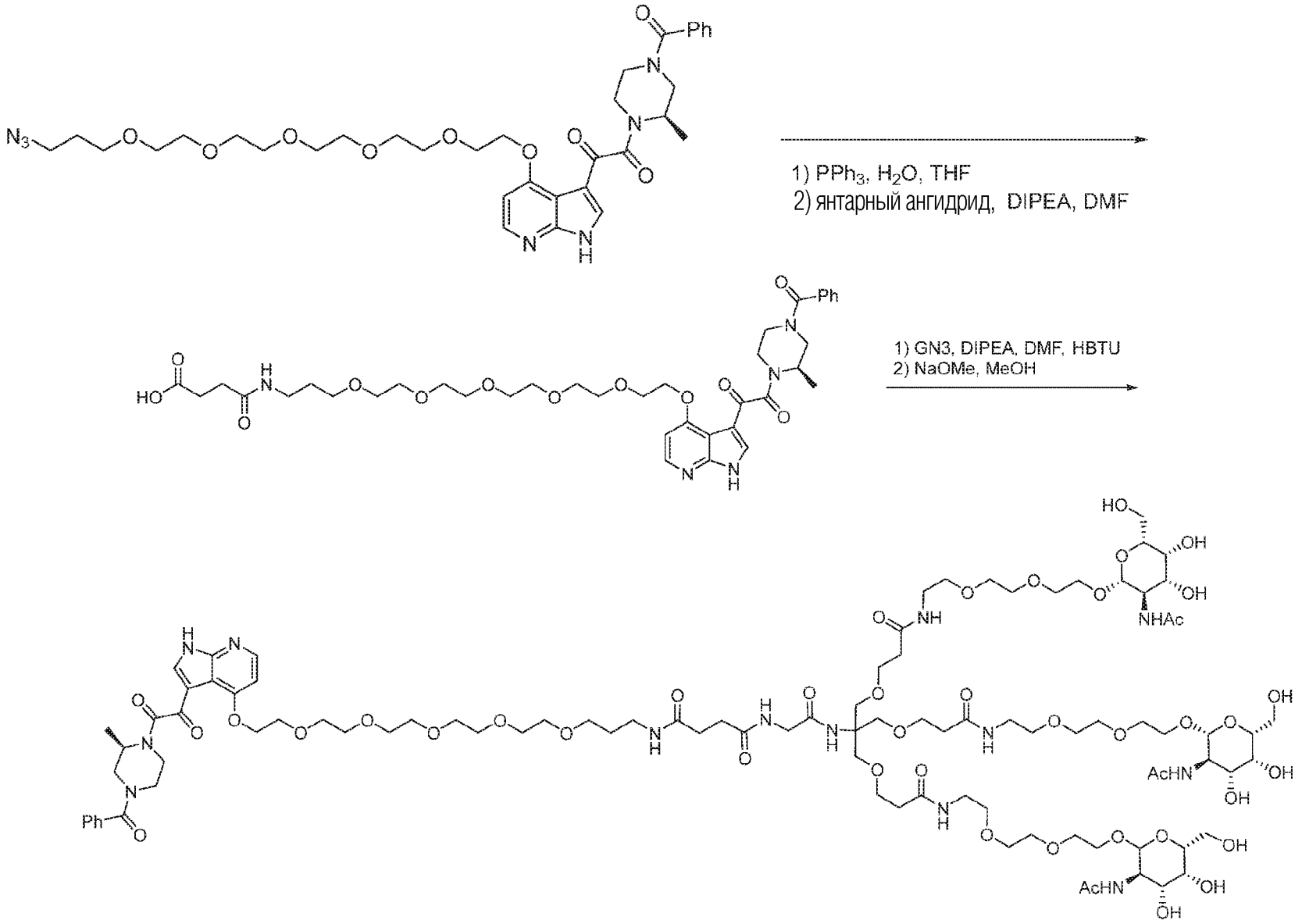
ФИГ. 39B


CuI, PdCl2(PPh3)2, NEt3, Толуол
1) метилгидразин, EtOH, RT, 1,5час
2) TBAF, THF 0°, 30мин
PPh3, диэтилазодикарбоксилат
DCM, 16час, RT
1) LiOH, THF, RT, O/N
2) HCl/диоксан, DCM, MeOH
3) N, N'-бис-boc-1-гуанилпиразол, NEt3, RT, o/n
4) TFA/DCM
1) HBTU, DIPEA, DMF, GN3
2) NaOMe, MeOH

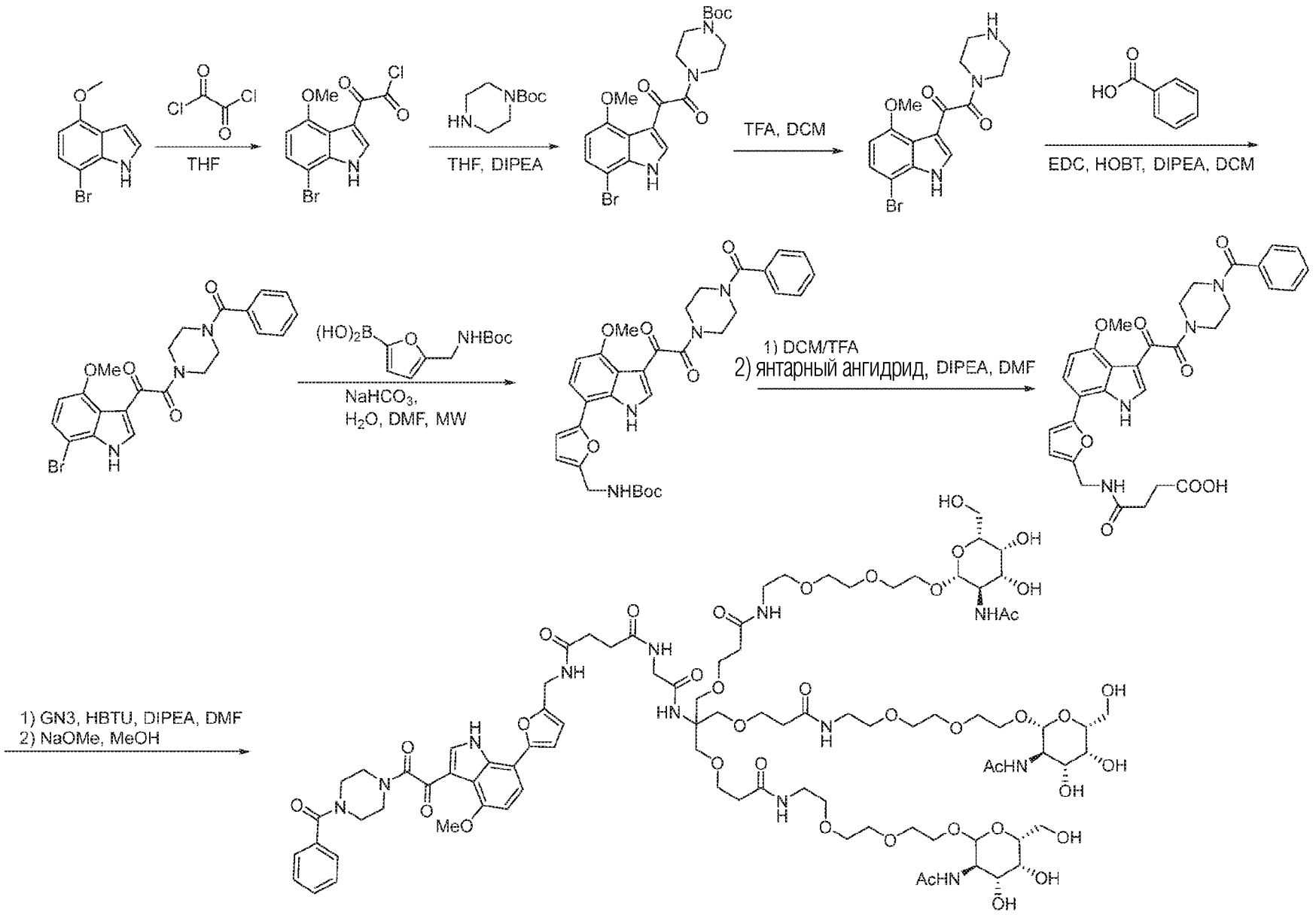
ФИГ. 40А


1) TsCl, Пир
2) NaN3, EtOH, 60°
(A)
1) MeMgI
2) ZnCl2
3) ClCOCOOMe
K2CO3, MeOH, H2O
DEPBT,
DIPEA, DMF, RT, 8час
Ацетон, mCPBA, 8час
TFA, HNO3, 8час
1) MeOH, N3-OH, нагревание с обратным холодильником 8час
2) PCl3, RT, 8час

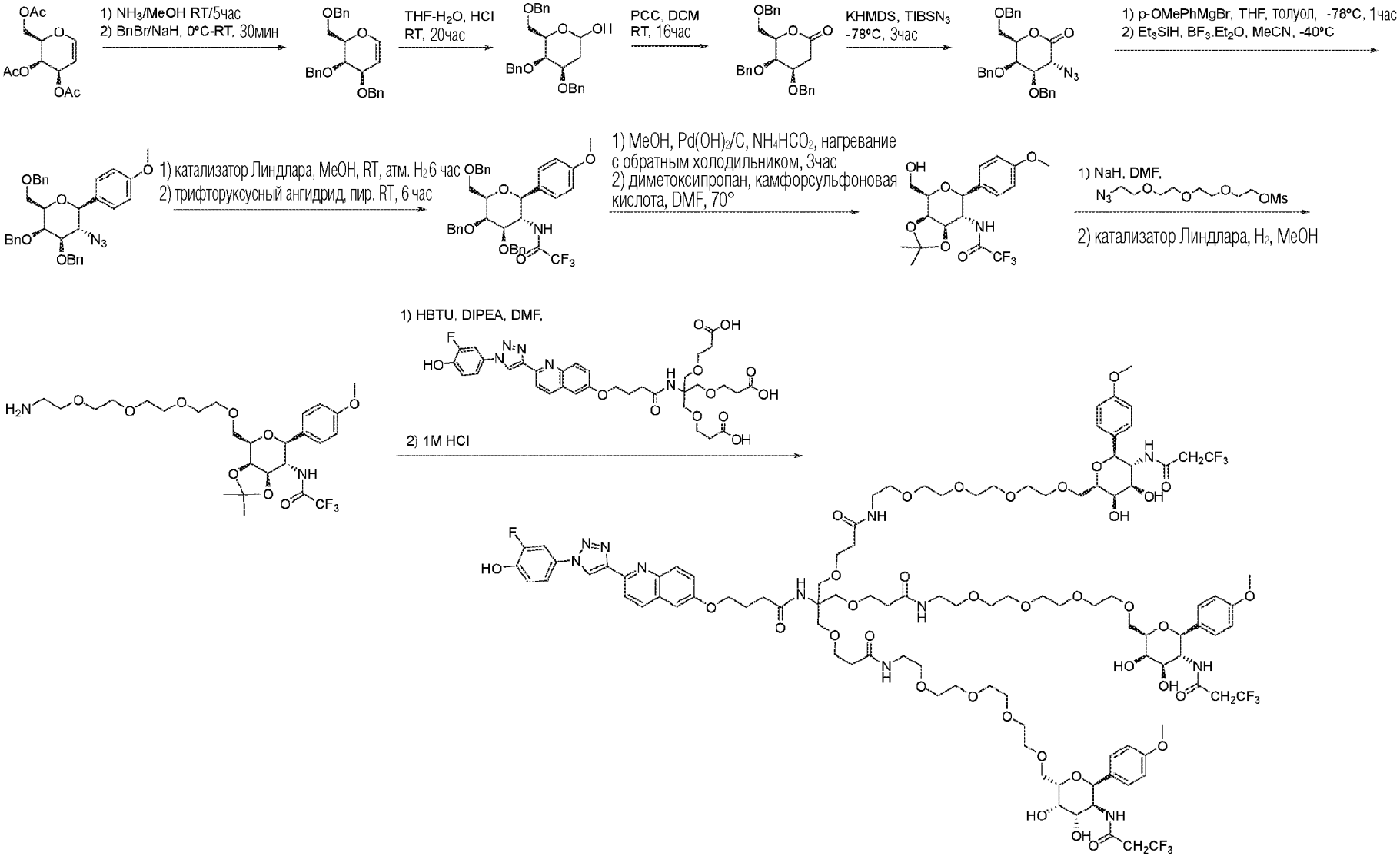
ФИГ. 40B


1) PPh3, H2O, THF
2) янтарный ангидрид, DIPEA, DMF
1) GN3, DIPEA, DMF, HBTU
2) NaOMe, MeOH

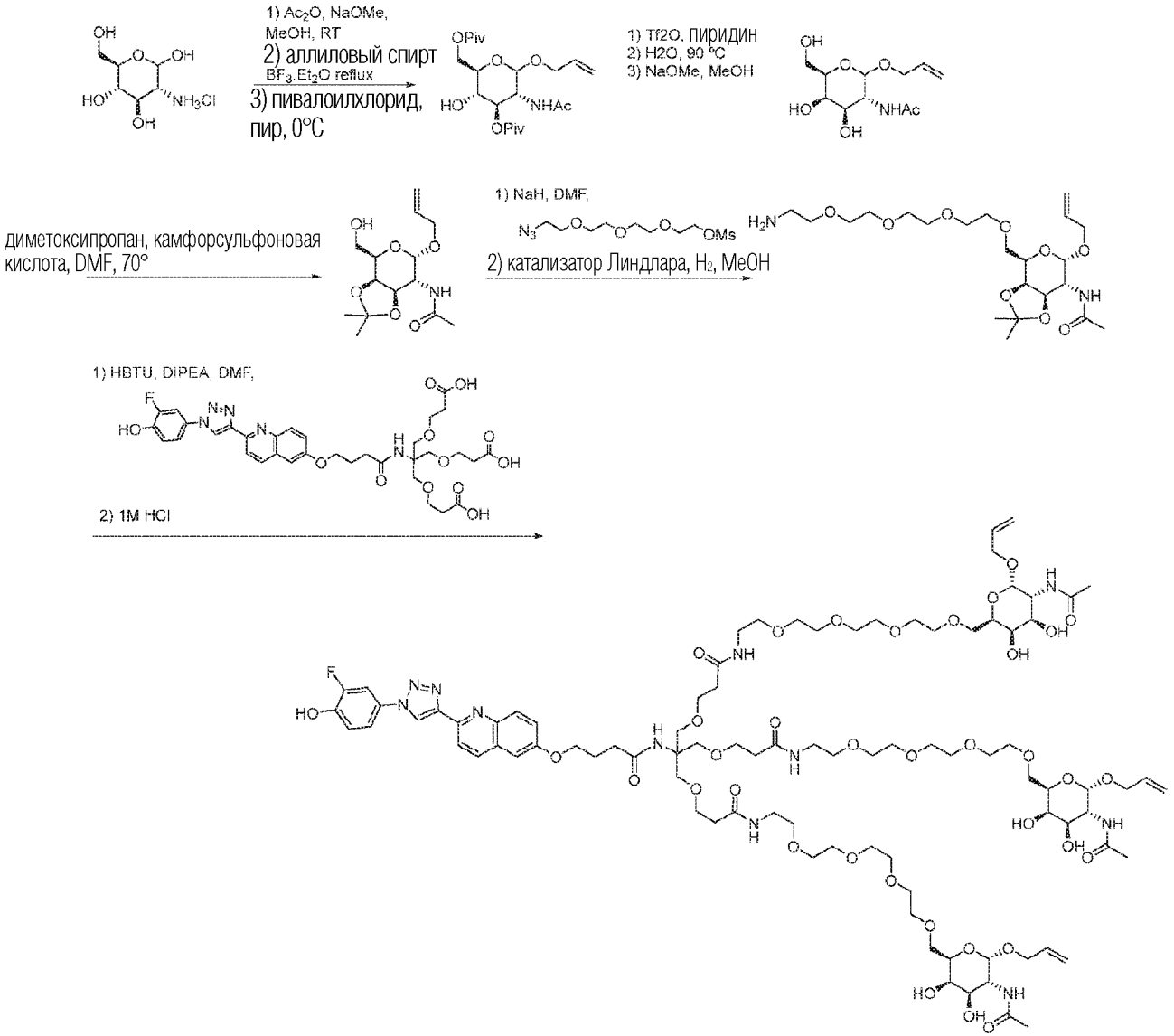
ФИГ. 41


THF
THF, DIPEA
TFA, DCM
EDC, HOBT, DIPEA, DCM
NaHCO3,
H2O, DMF, MW
1) DCM/TFA
2) янтарный ангидрид, DIPEA, DMF
1) GN3, HBTU, DIPEA, DMF
2) NaOMe, MeOH

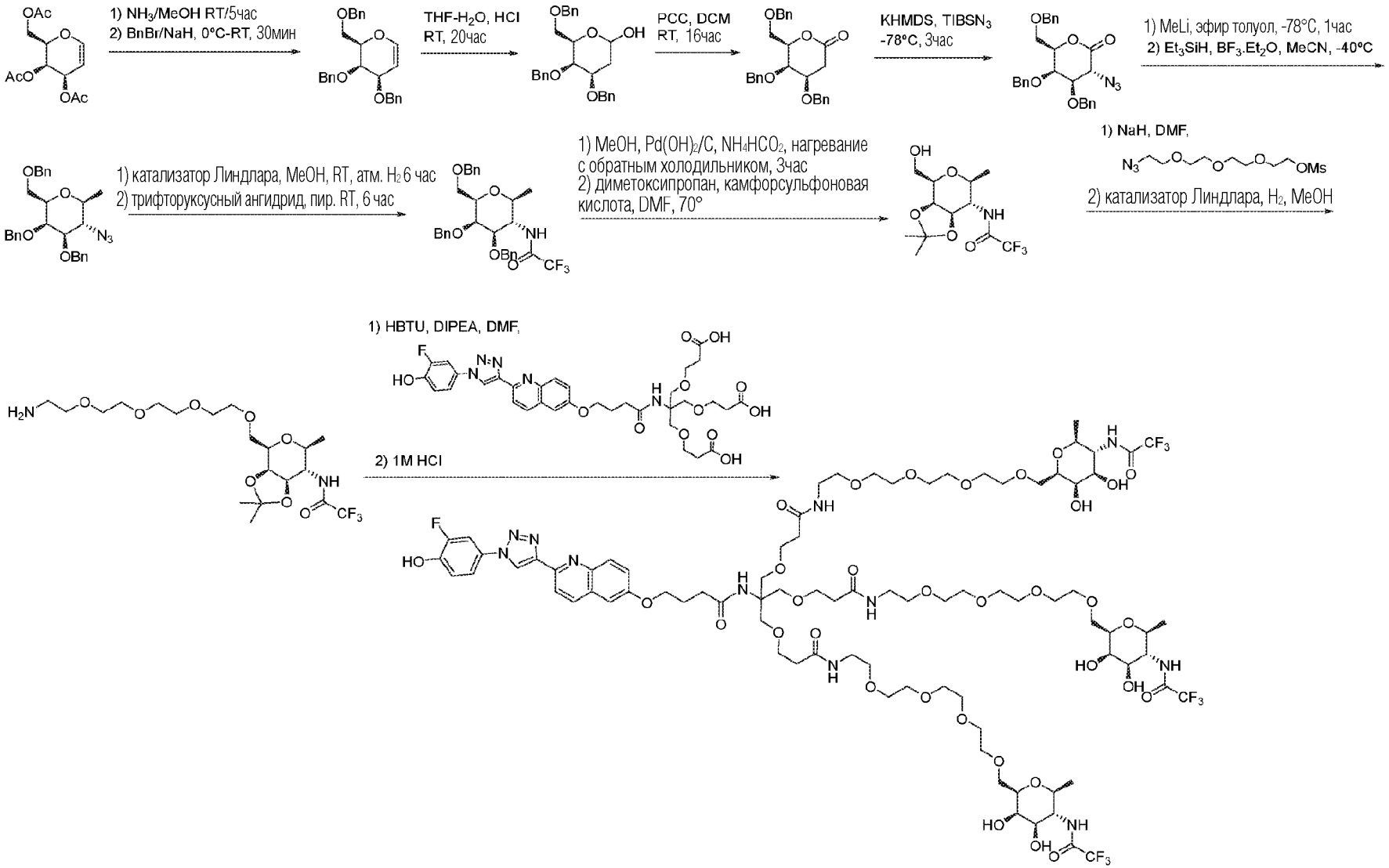
ФИГ. 42


1) NH3/MeOH RT/5час
2) BnBr/NaH, 0°C-RT, 30мин
THF-H2O, HCl
RT, 20час
PCC, DCM
RT, 16час
KHMDS, TIBSN3
-78°C, 3час
1) p-OMePhMgBr, THF, толуол, -78°C, 1час
2) Et3SiH, BF3.Et2O, MeCN, -40°C
1) катализатор Линдлара, MeOH, RT, атм. H2 6 час
2) трифторуксусный ангидрид, пир. RT, 6 час
1) MeOH, Pd(OH)2/C, NH4HCO2, нагревание с обратным холодильником, 3час
2) диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

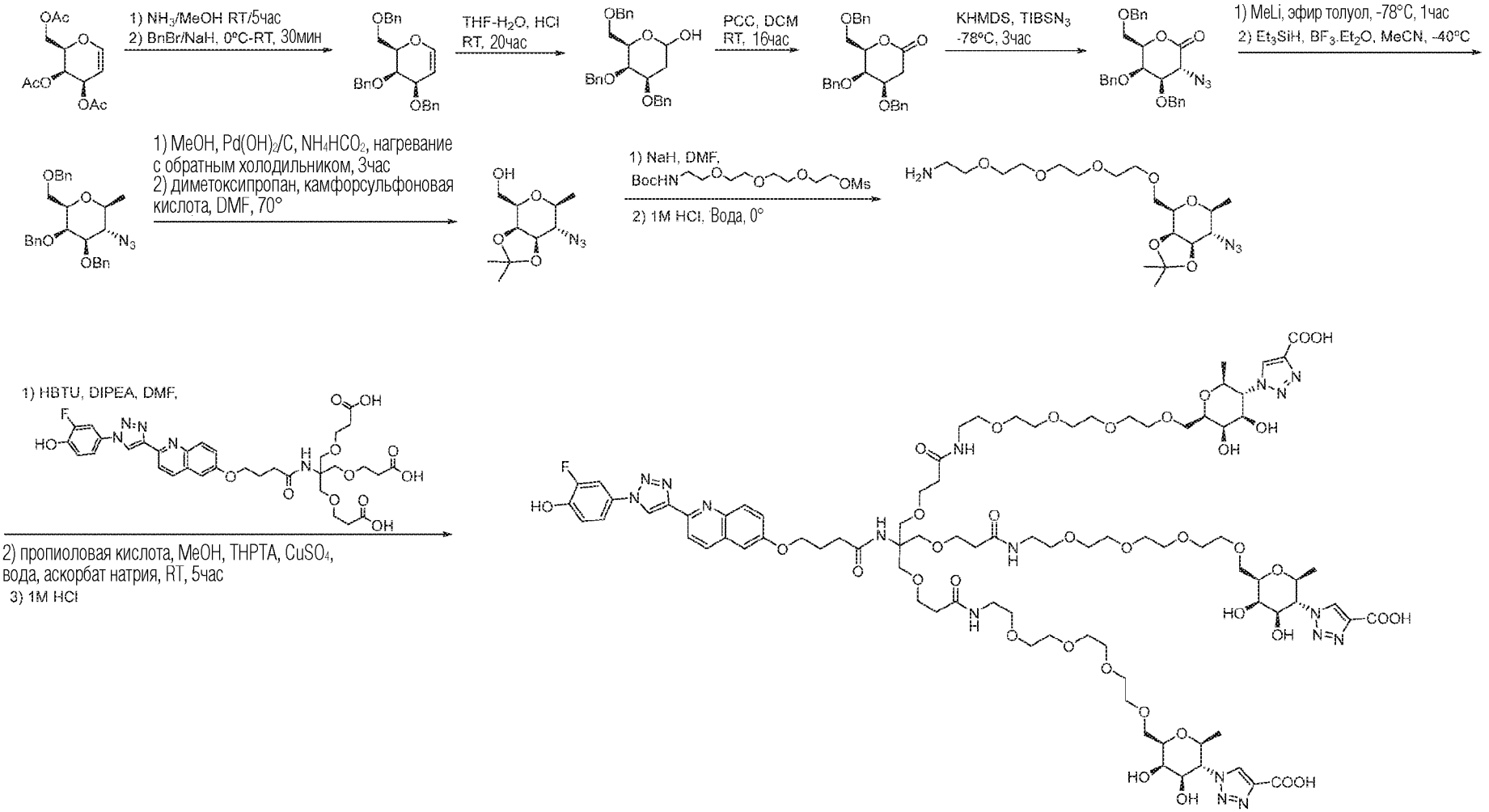
ФИГ. 43


1) Ac2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт BF3.Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, ПИРИДИН
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

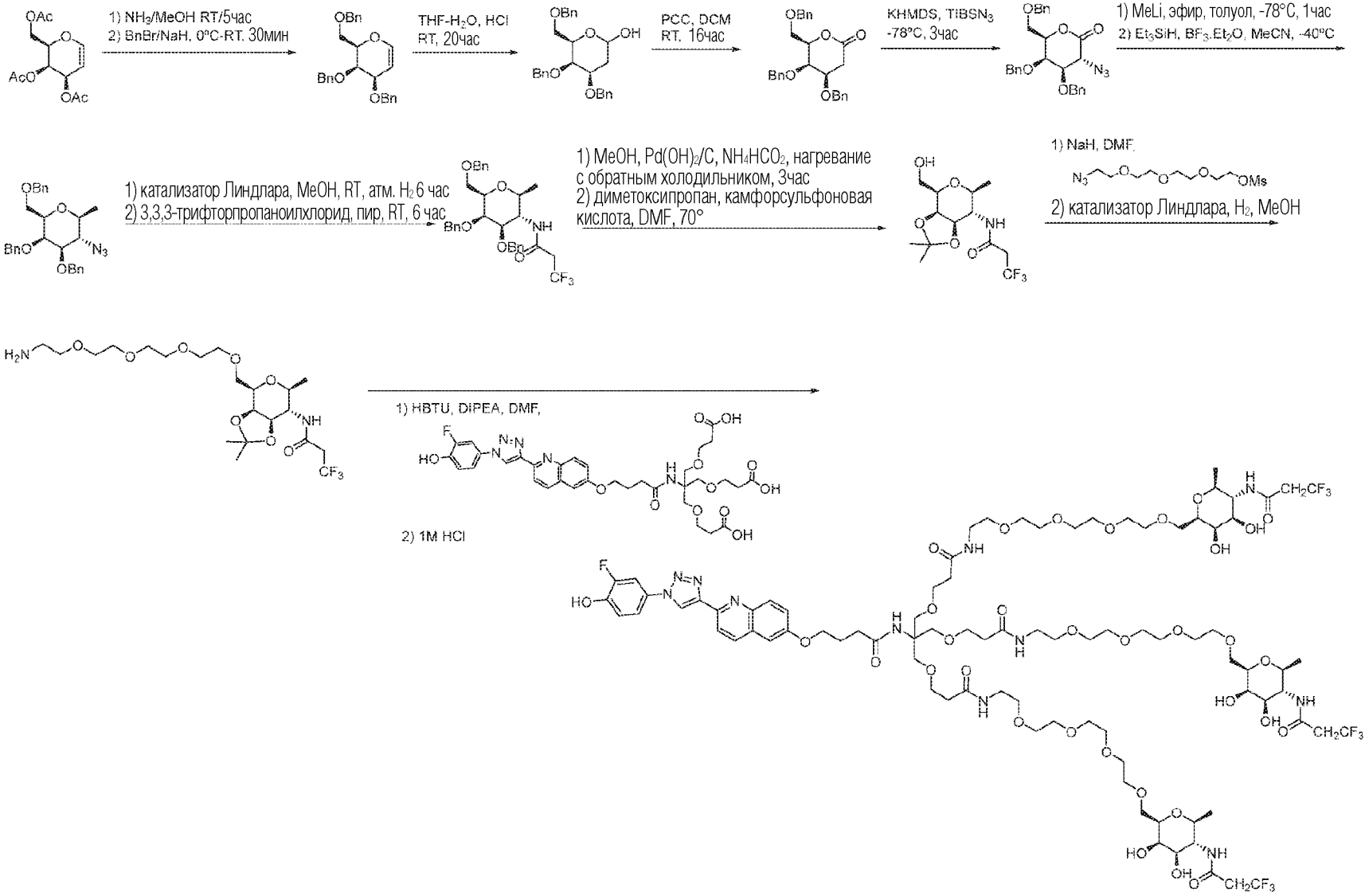
ФИГ. 44


1) NH3/MeOH RT/5час
2) BnBr/NaH, 0°C-RT, 30мин
THF-H2O, HCl
RT, 20час
PCC, DCM
RT, 16час
KHMDS, TIBSN3
-78°C, 3час
1) MeLi, эфир толуол, -78°C, 1час
2) Et3SiH, BF3.Et2O, MeCN, -40°C
1) катализатор Линдлара, MeOH, RT, атм. H2 6 час
2) трифторуксусный ангидрид, пир. RT, 6 час
1) MeOH, Pd(OH)2/C, NH4HCO2, нагревание с обратным холодильником, 3час
2) диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

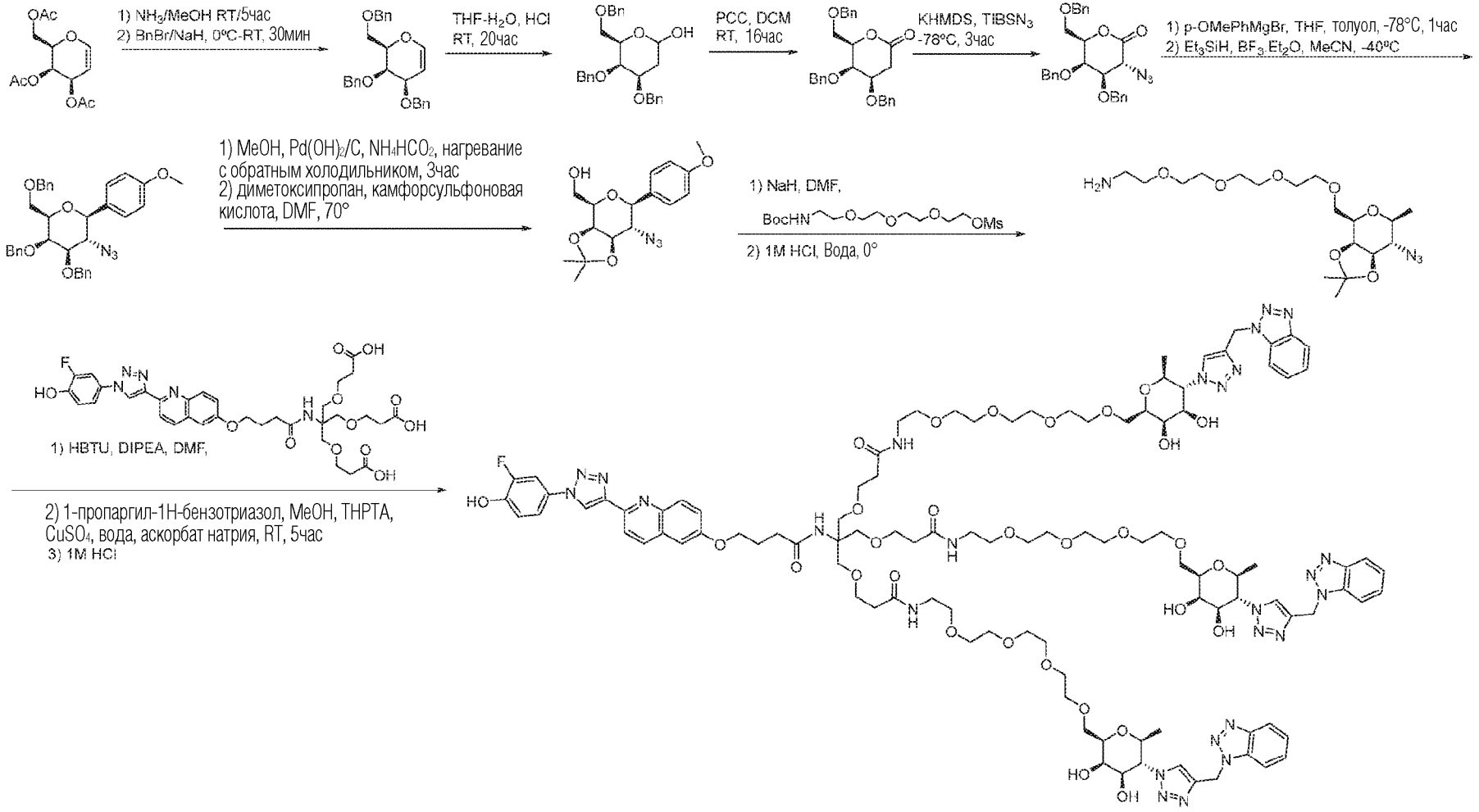
ФИГ. 45


1) NH3/MeOH RT/5час
2) BnBr/NaH, 0°C-RT, 30мин
THF-H2O, HCl
RT, 20час
PCC, DCM
RT, 16час
KHMDS, TIBSN3
-78°C, 3час
1) MeLi, эфир толуол, -78°C, 1час
2) Et3SiH, BF3.Et2O, MeCN, -40°C
1) MeOH, Pd(OH)2/C, NH4HCO2, нагревание с обратным холодильником, 3час
2) диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) 1M HCl, Вода, 0°
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) пропиоловая кислота, MeOH, THPTA, CuSO4, вода, аскорбат натрия, RT, 5час
3) 1M HCl

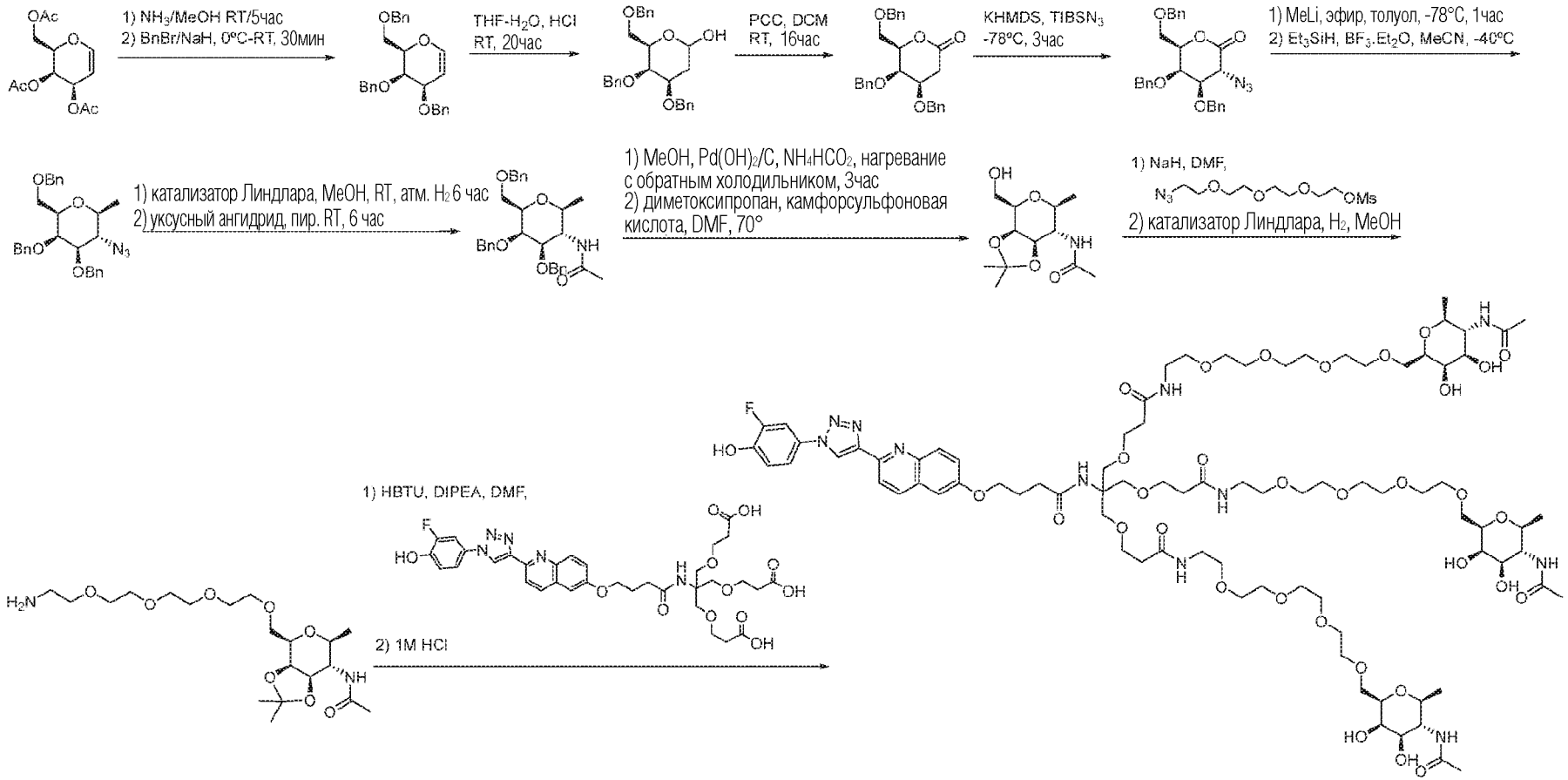
ФИГ. 46


1) NH2/MeOH RT/5час
2) BnBr/NaH, 0°C-RT, 30мин
THF-H2O, HCl
RT, 20час
PCC, DCM
RT, 16час
KHMDS, TIBSN3
-78°C, 3час
1) MeLi, эфир, толуол, -78°C, 1час
2) Et3SiH, BF3.Et2O, MeCN, -40°C
1) катализатор Линдлара, MeOH, RT, атм. H2 6 час
2) 3,3,3-трифторпропаноилхлорид, пир, RT, 6 час
1) MeOH, Pd(OH)2/C, NH4HCO2, нагревание с обратным холодильником, 3час
2) диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) NaH, DMF
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

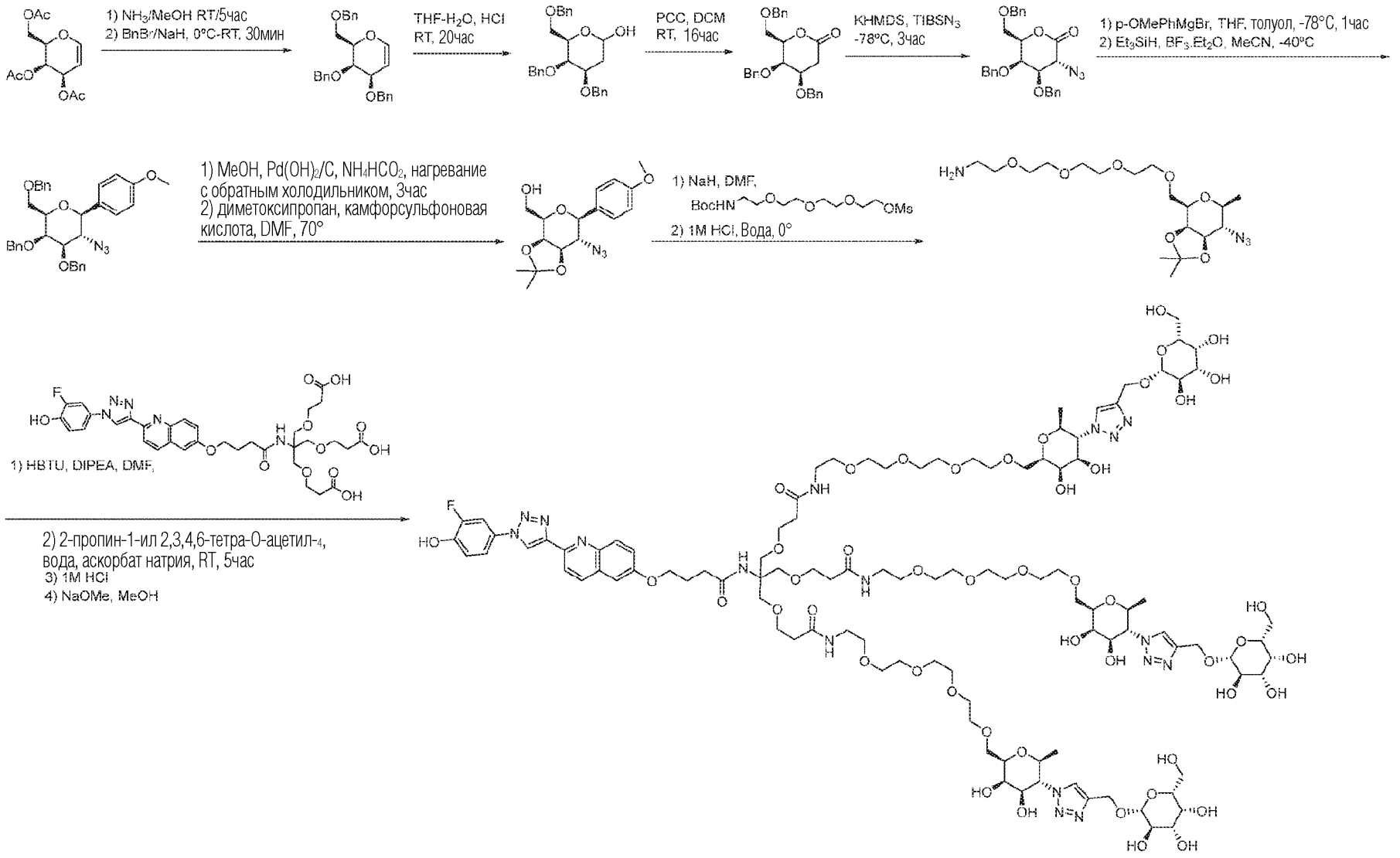
ФИГ. 47


1) NH3/MeOH RT/5час
2) BnBr/NaH, 0°C-RT, 30мин
THF-H2O, HCl
RT, 20час
PCC, DCM
RT, 16час
KHMDS, TIBSN3
-78°C, 3час
1) p-OMePhMgBr, THF, толуол, -78°C, 1час
2) Et3SiH, BF3.Et2O, MeCN, -40°C
1) MeOH, Pd(OH)2/C, NH4HCO2, нагревание с обратным холодильником, 3час
2) диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) 1M HCl, Вода, 0°
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1-пропаргил-1H-бензотриазол, MeOH, THPTA, CuSO4, вода, аскорбат натрия, RT, 5час
3) 1M HCl

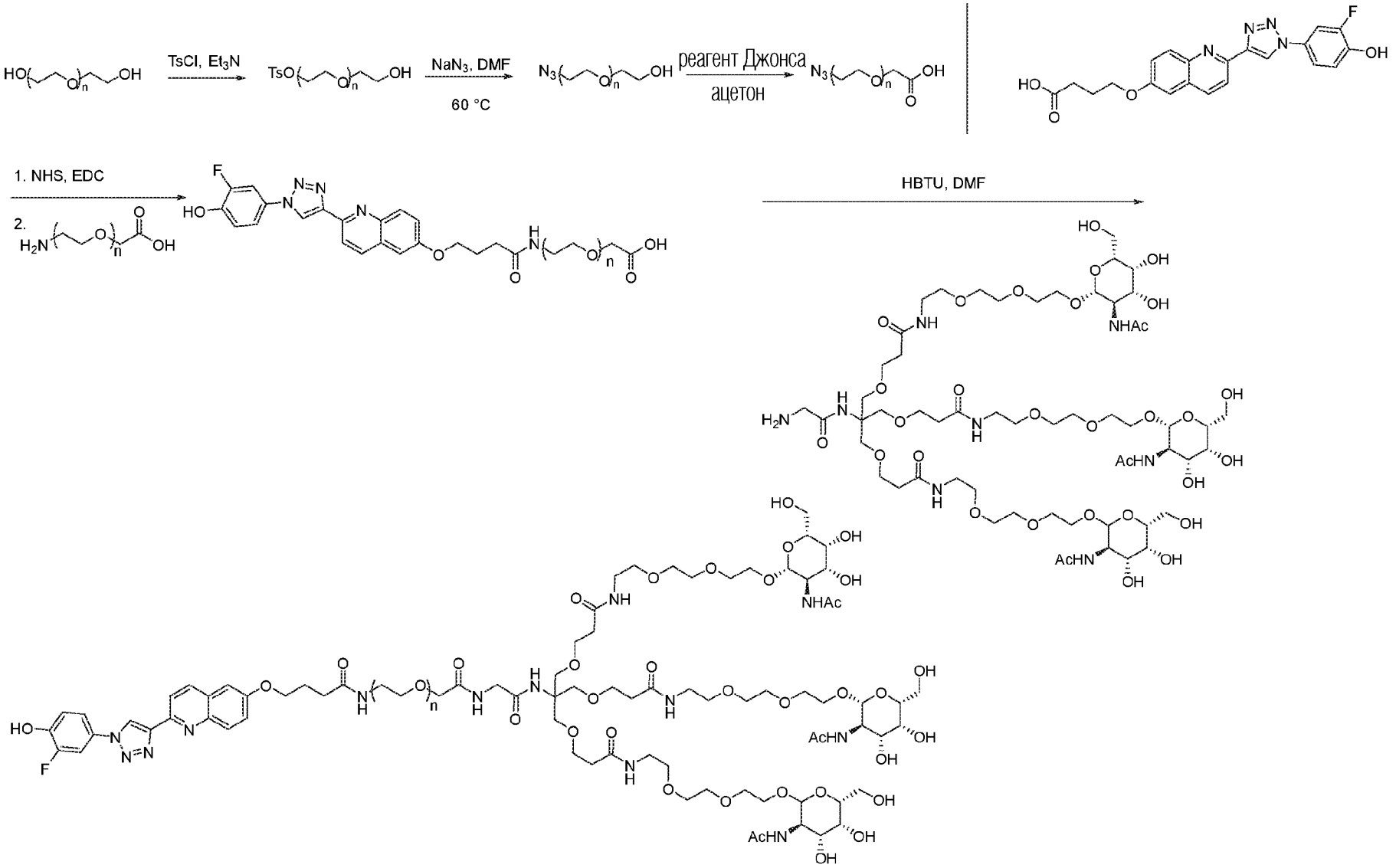
ФИГ. 48


1) NH3/MeOH RT/5час
2) BnBr/NaH, 0°C-RT, 30мин
THF-H2O, HCl
RT, 20час
PCC, DCM
RT, 16час
KHMDS, TIBSN3
-78°C, 3час
1) MeLi, эфир, толуол, -78°C, 1час
2) Et3SiH, BF3.Et2O, MeCN, -40°C
1) катализатор Линдлара, MeOH, RT, атм. H2 6 час
2) уксусный ангидрид, пир. RT, 6 час
1) MeOH, Pd(OH)2/C, NH4HCO2, нагревание
с обратным холодильником, 3час
2) диметоксипропан, камфорсульфоновая
кислота, DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

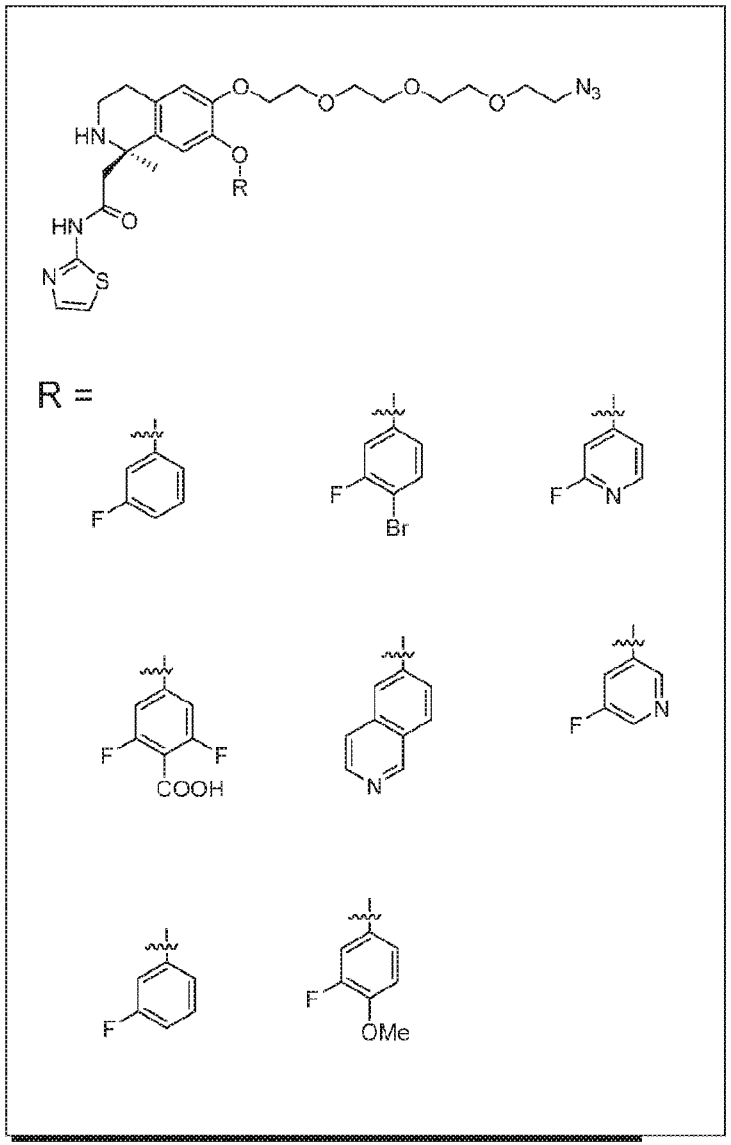
ФИГ. 49

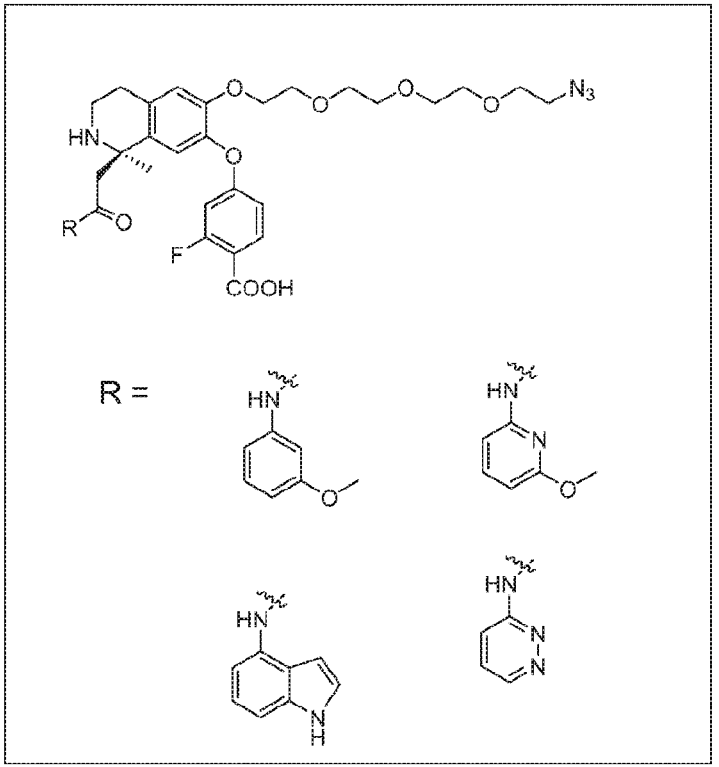

1) NH3/MeOH RT/5час
2) BnBr/NaH, 0°C-RT, 30мин
THF-H2O, HCl
RT, 20час
PCC, DCM
RT, 16час
KHMDS, TIBSN3
-78°C, 3час
1) p-OMePhMgBr, THF, толуол, -78°C, 1час
2) Et3SiH, BF3.Et2O, MeCN, -40°C
1) MeOH, Pd(OH)2/C, NH4HCO2, нагревание
с обратным холодильником, 3час
2) диметоксипропан, камфорсульфоновая
кислота, DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) 1M HCl, Вода, 0°
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 2-пропин-1-ил 2,3,4,6-тетра-O-ацетил-4,
вода, аскорбат натрия, RT, 5час
3) 1M HCl
4) NaOMe, MeOH

ФИГ. 50

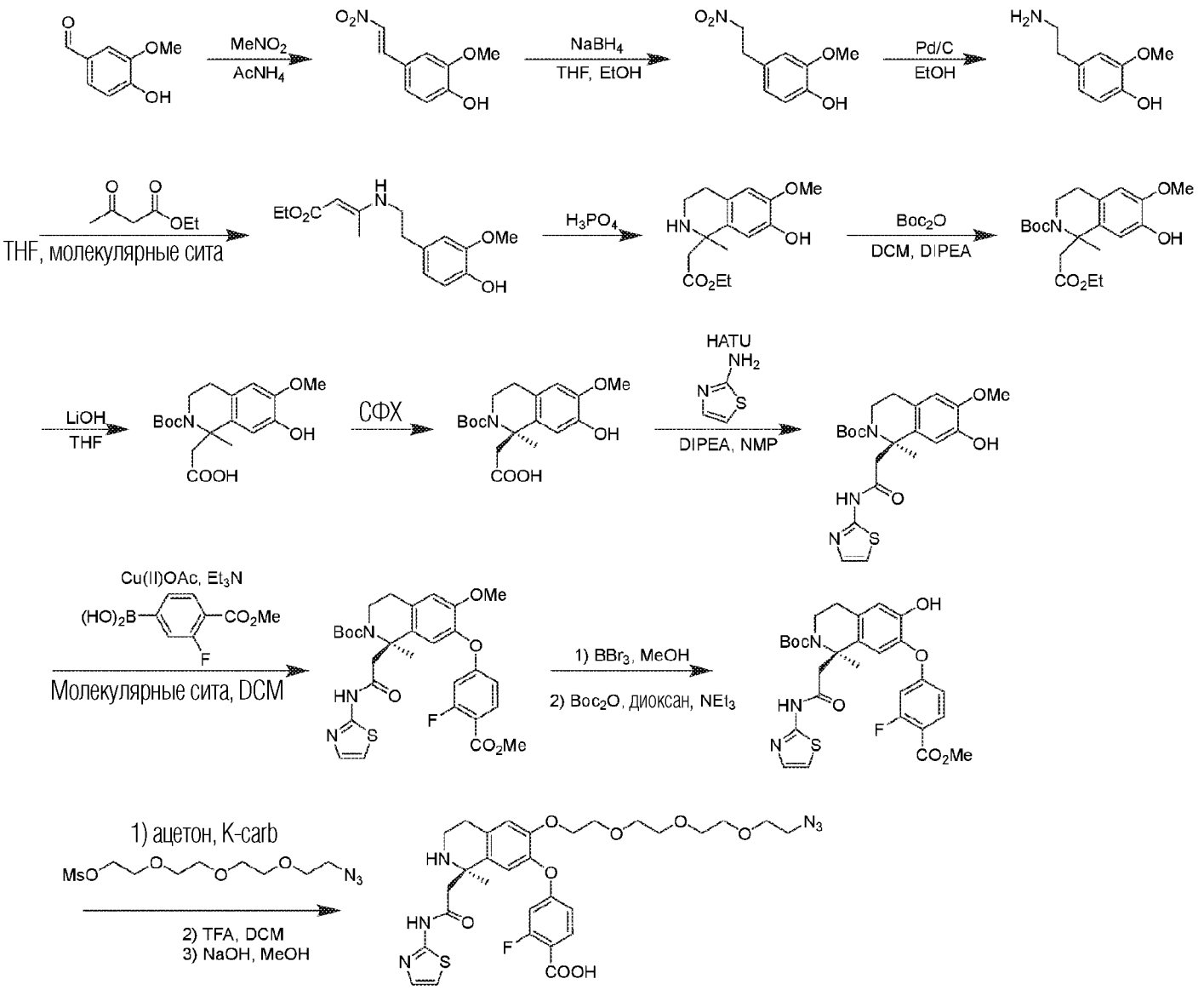

TsCl, Et3N
NaN3, DMF
60 °C
реагент Джонса
ацетон
1. NHS, EDC
2.
HBTU, DMF

ФИГ. 51A

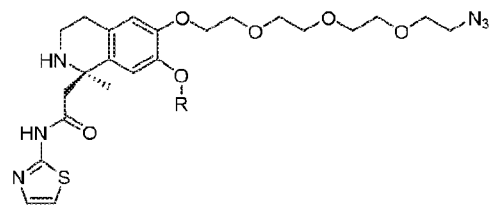

HN
O
R
HN
O
N
S
R =
F
F
Br
F
N
F
F
COOH
N
F
N
F
F
OMe


HN
O
R
O
F
COOH
R =
HN
O
HN
N
O
HN
N
H
HN
N
N

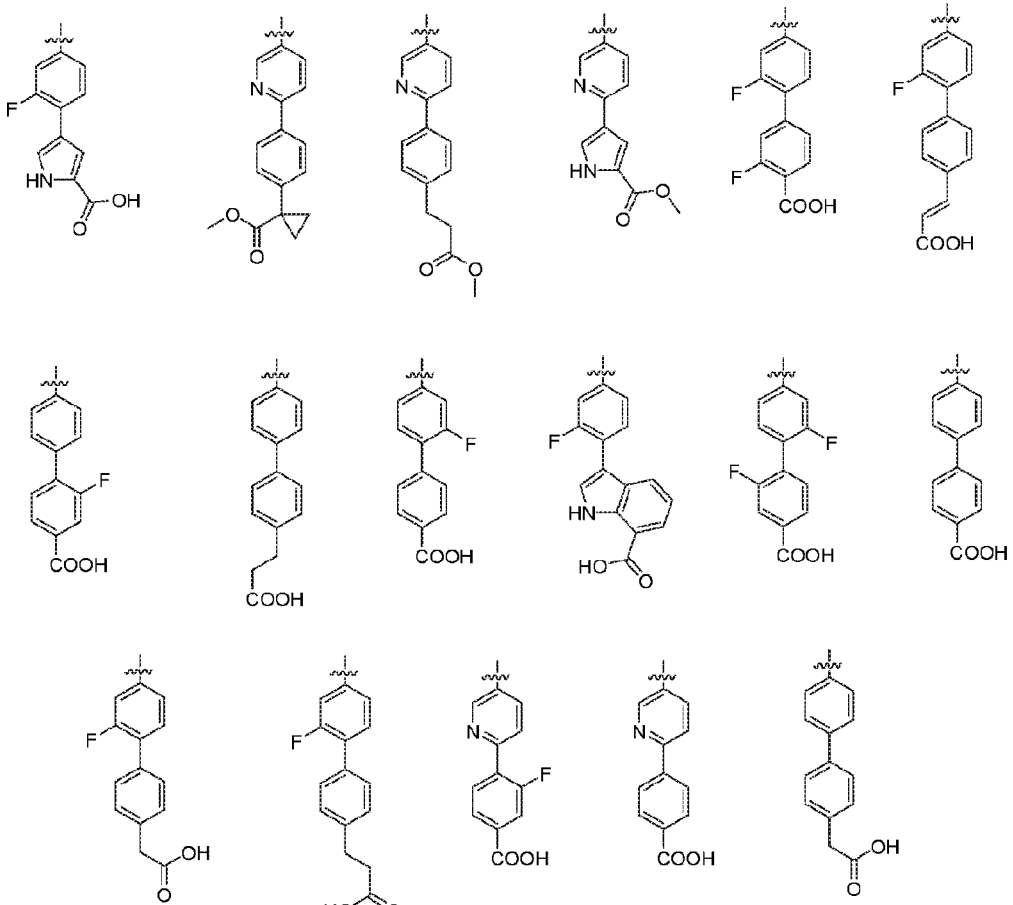
ФИГ. 51B


MeNO2
AcNH4
NaBH4
THF, EtOH
Pd/C
EtOH
THF, молекулярные сита
H3PO4
Boc2O
DCM, DIPEA
LiOH
THF
СФХ
HATU
DIPEA, NMP
Cu(II)OAc, Et3N
Молекулярные сита, DCM
1) BBr3, MeOH
2) Boc2O, диоксан, NEt3
1) ацетон, K-carb
2) TFA, DCM
3) NaOH, MeOH

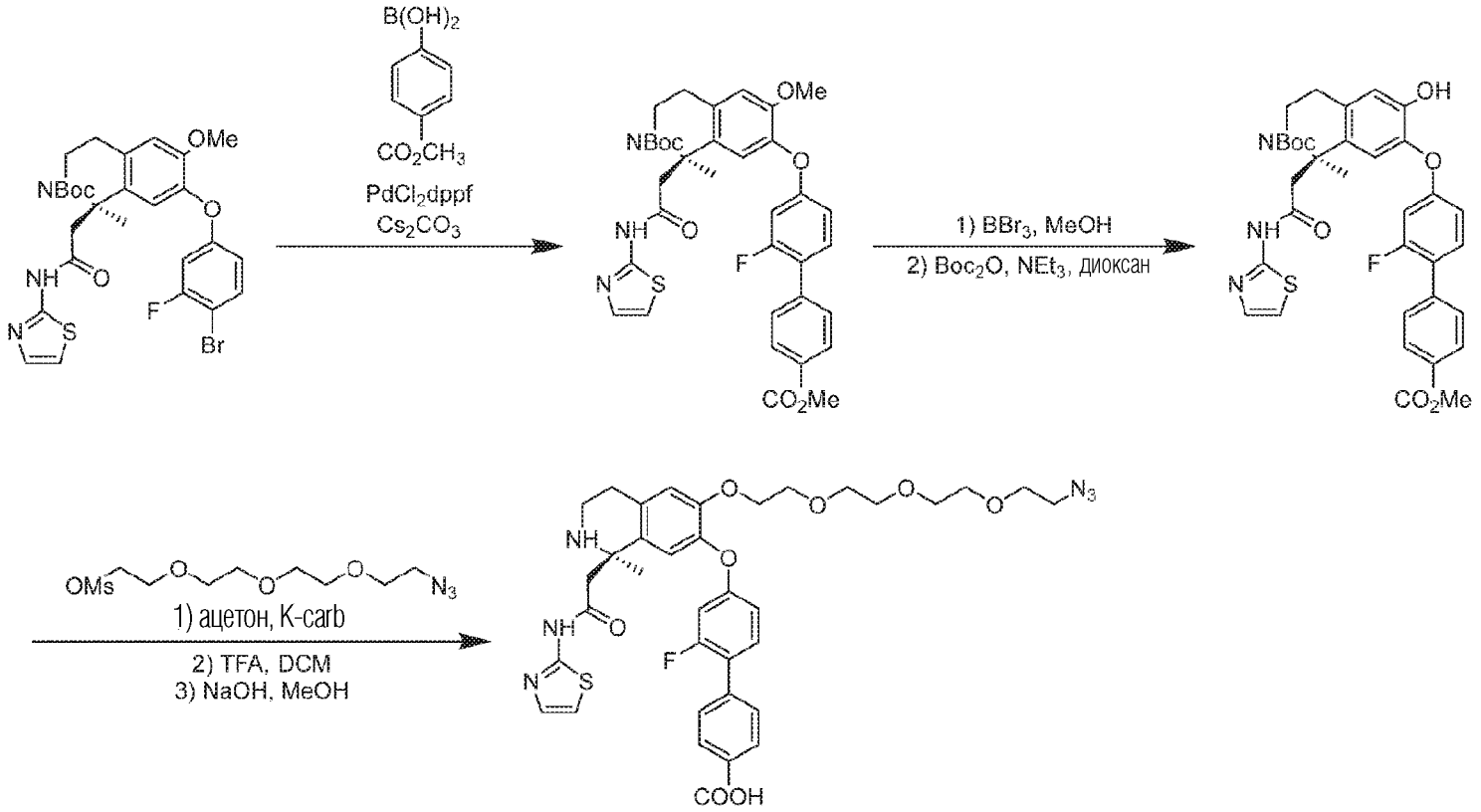
ФИГ. 52А



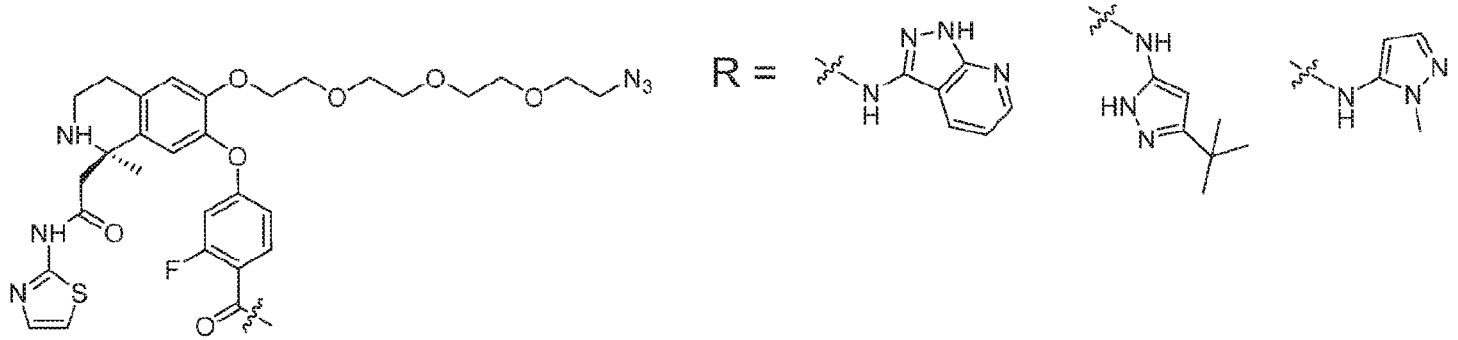
R =



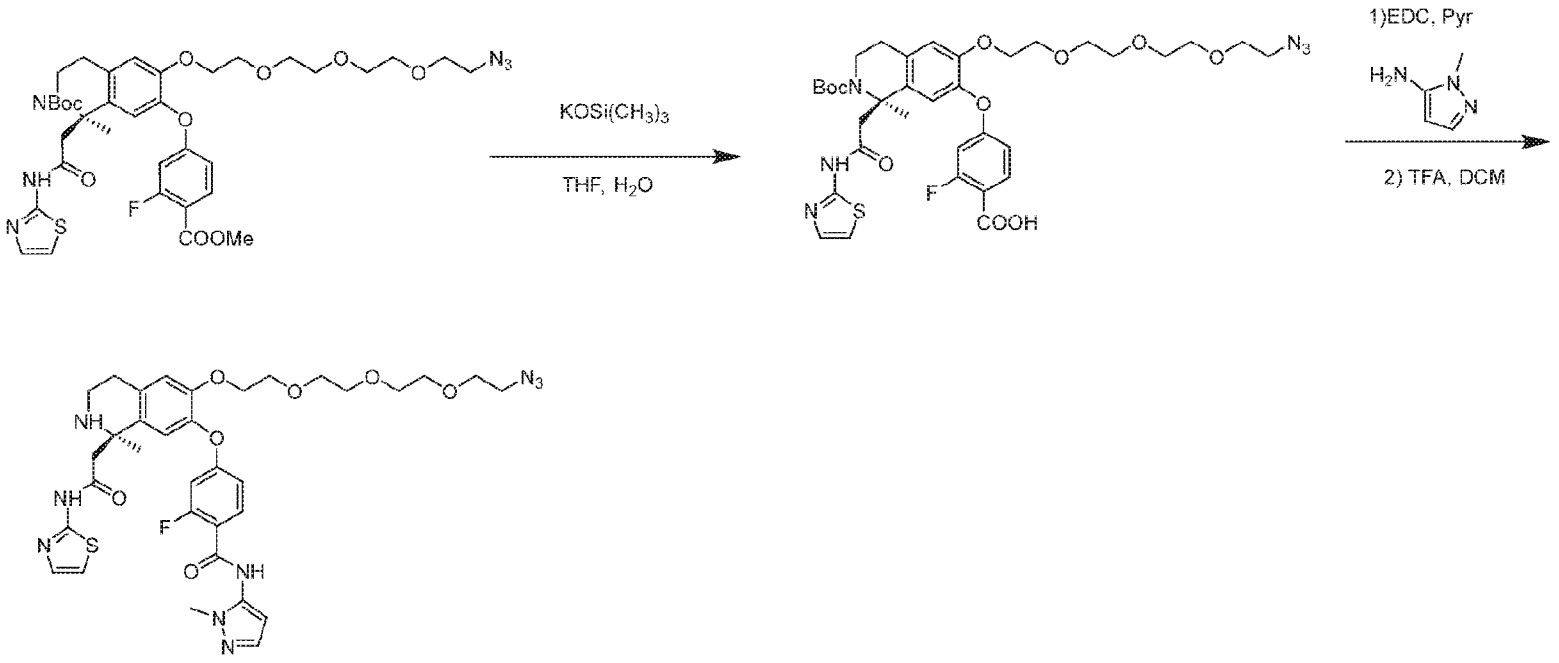
ФИГ. 52B


B(OH)2
CO2CH3
PdCl2dppf
Cs2CO3
OMe
NBoc
NH
O
N
S
F
Br
CO2Me
1) BBr3, MeOH
2) Boc2O, NEt3, диоксан
OH
OMs
N3
1) ацетон, K-carb
2) TFA, DCM
3) NaOH, MeOH
COOH

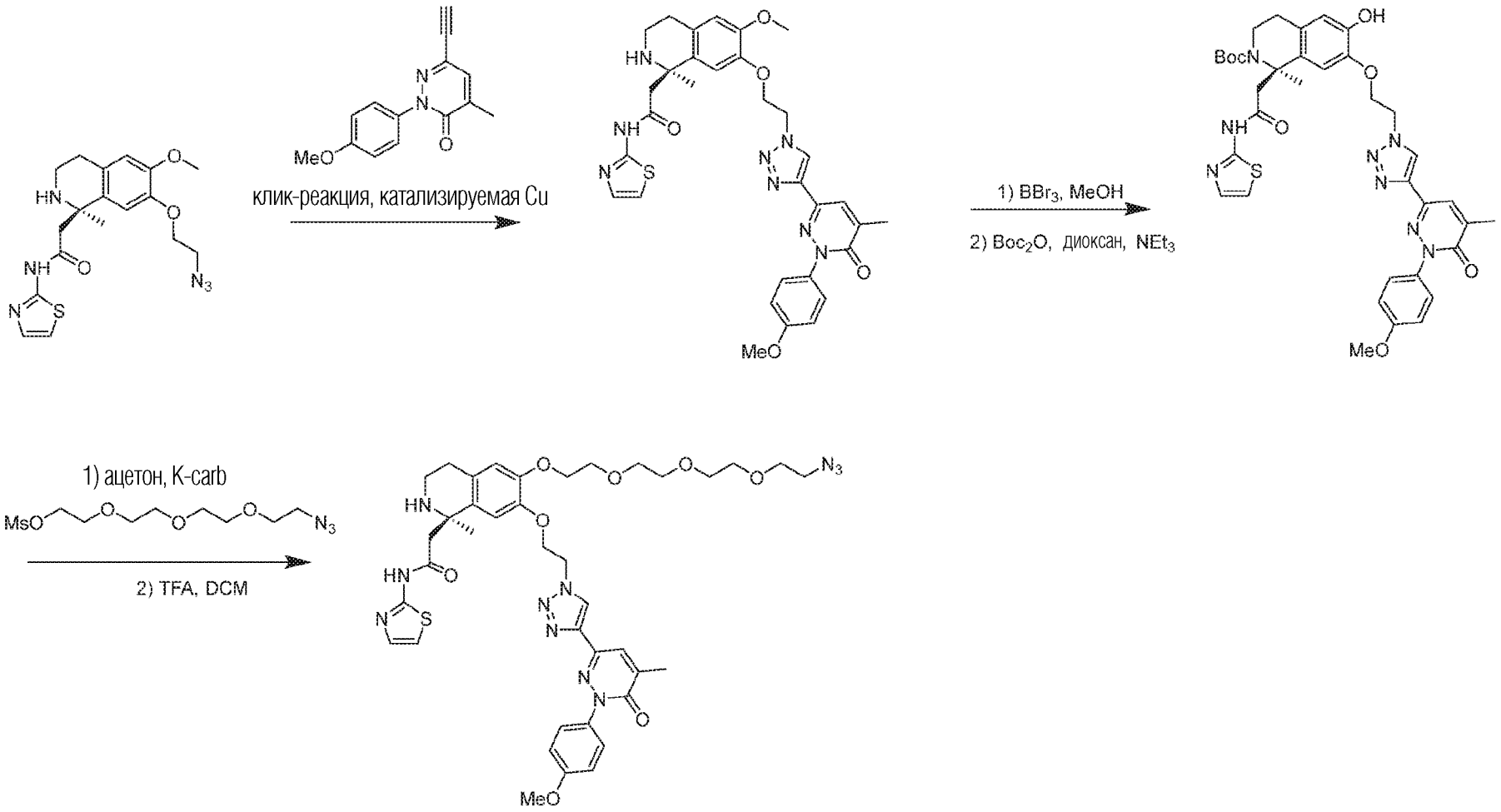
ФИГ. 53A



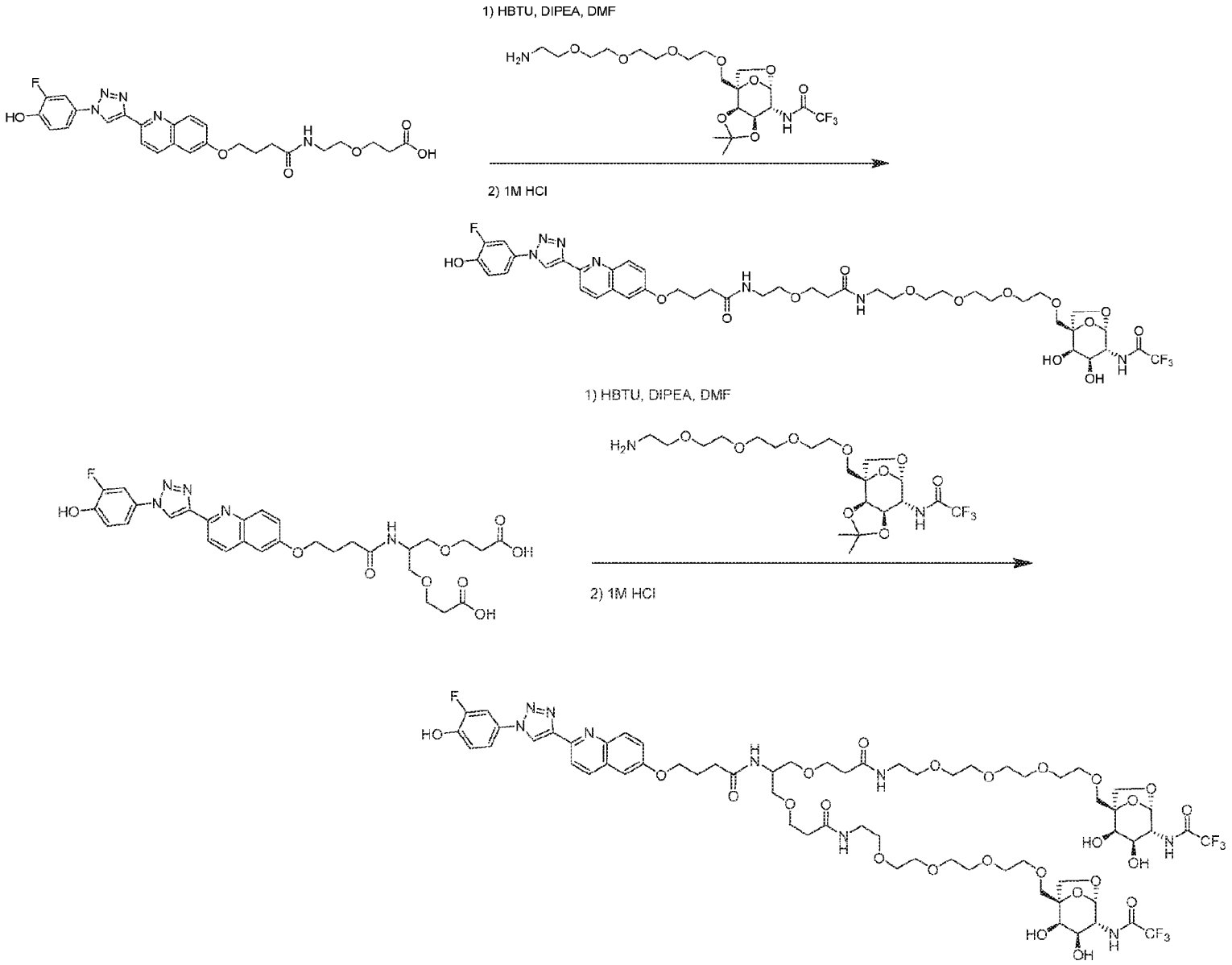
ФИГ. 53B



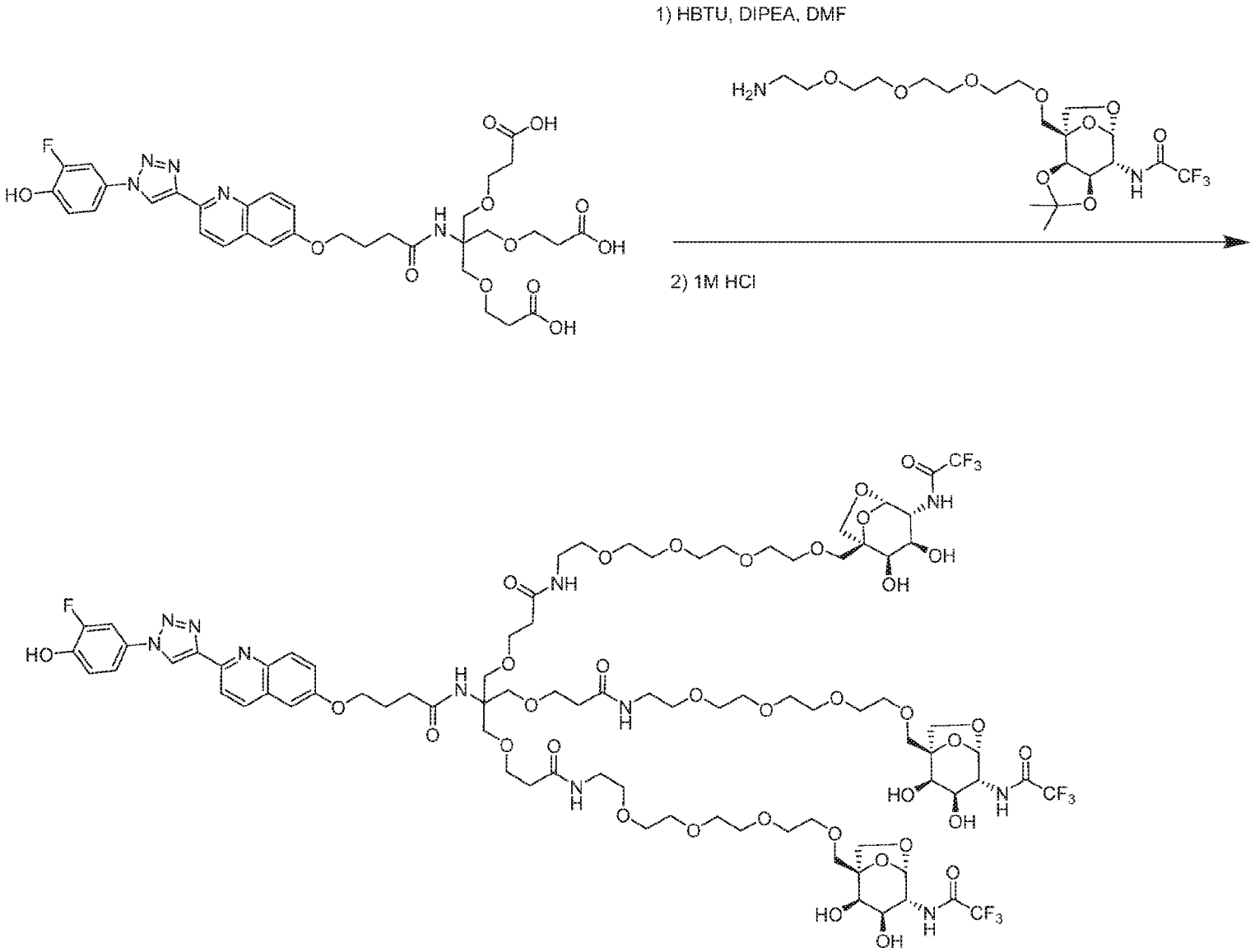
ФИГ. 54


клик-реакция, катализируемая Cu
1) BBr3, MeOH
2) Boc2O, диоксан, NEt3
1) ацетон, K-carb
2) TFA, DCM

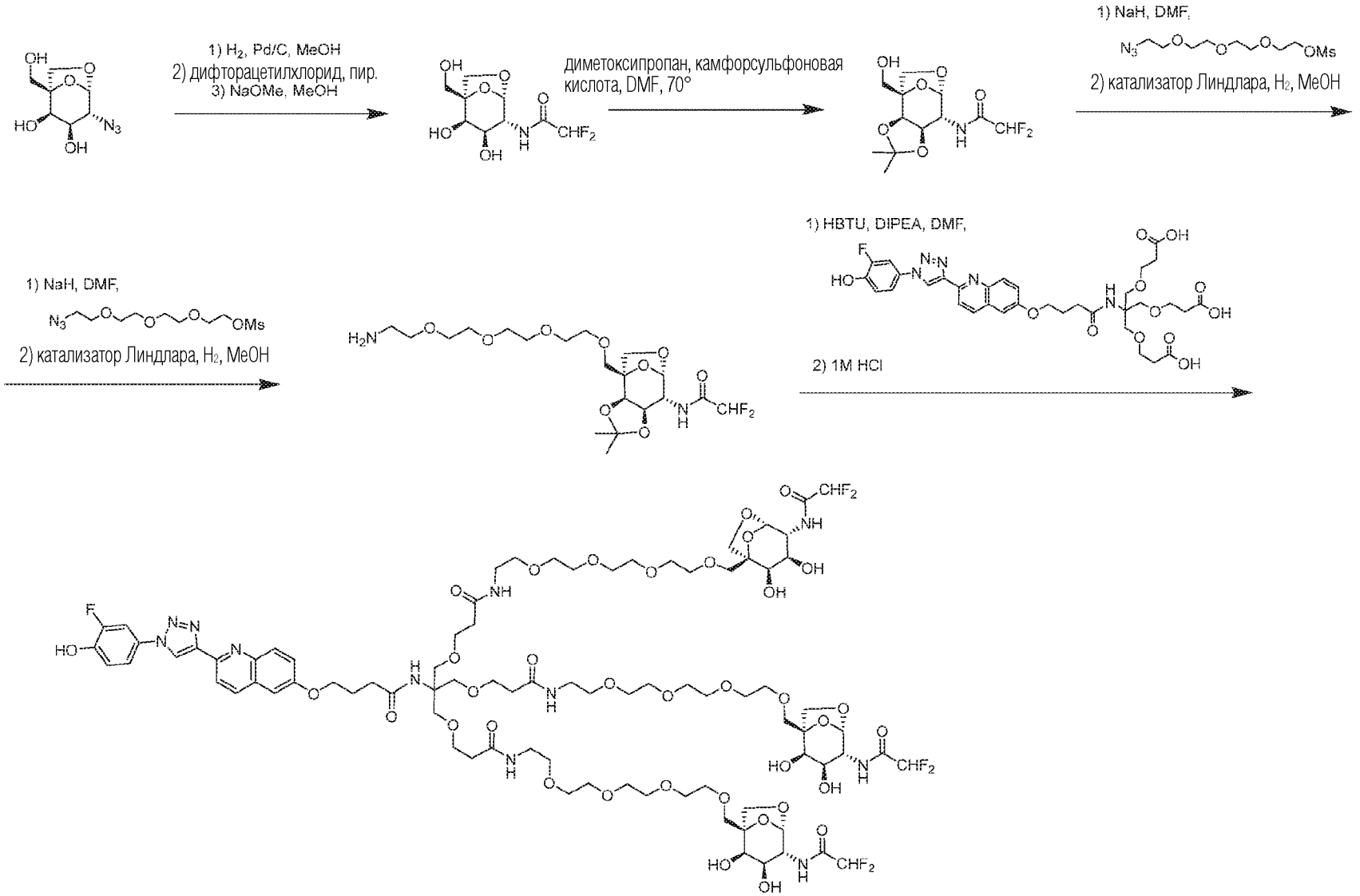
ФИГ. 55А



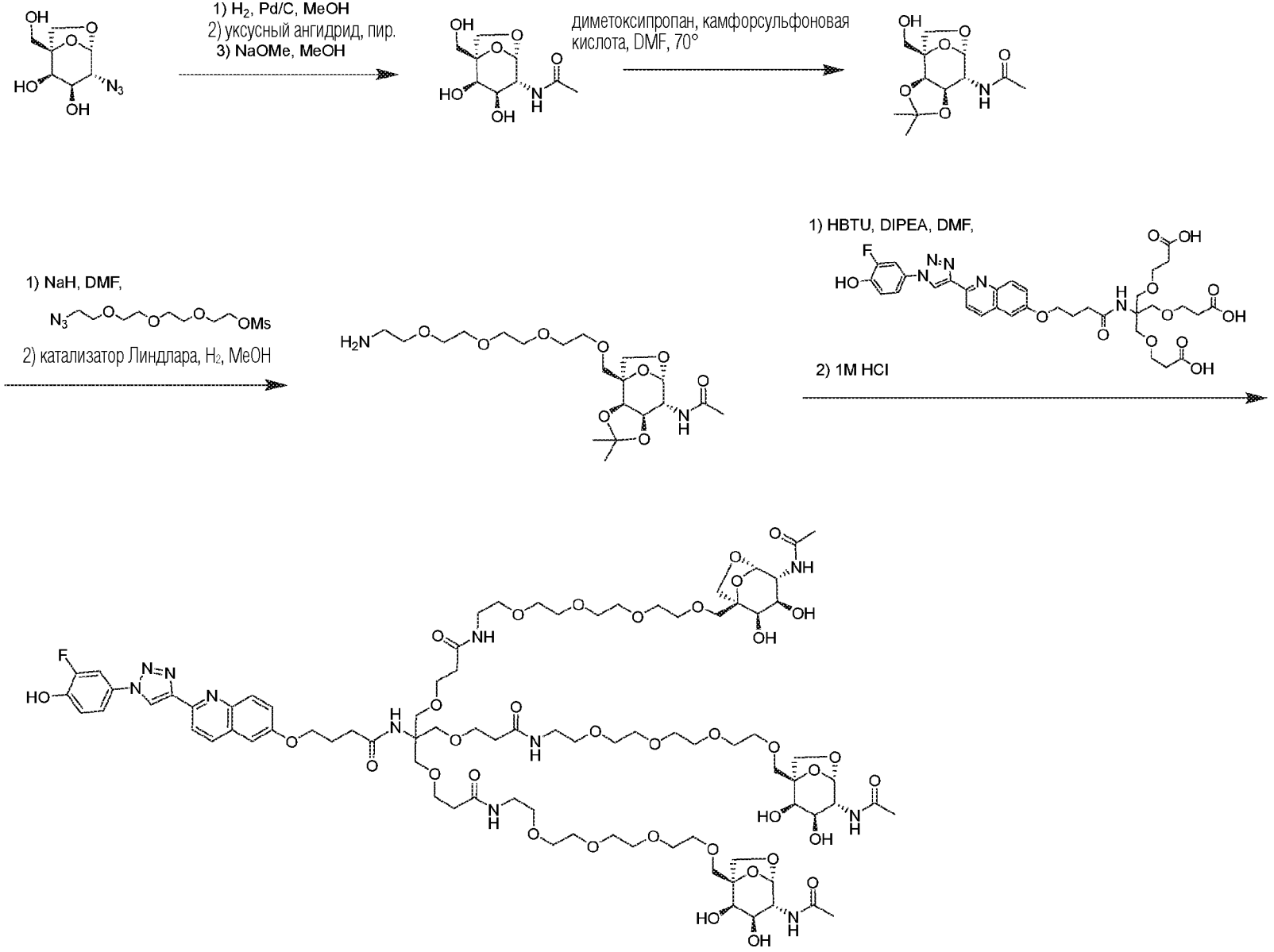
ФИГ. 55B



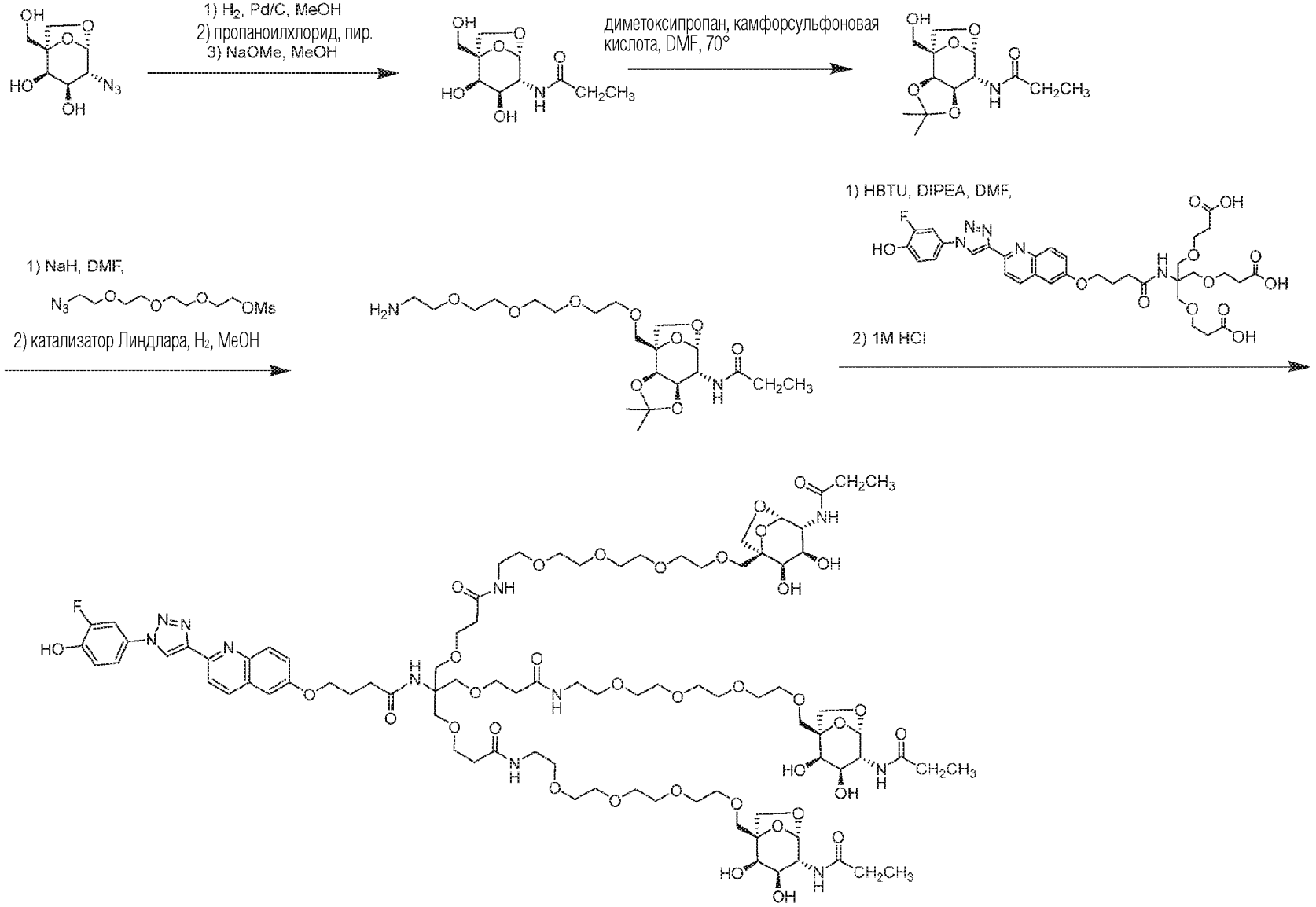
ФИГ. 55C


1) H_2, Pd/C, MeOH
2) дифторацетилхлорид, пир.
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) катализатор Линдлара, H_2, MeOH
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

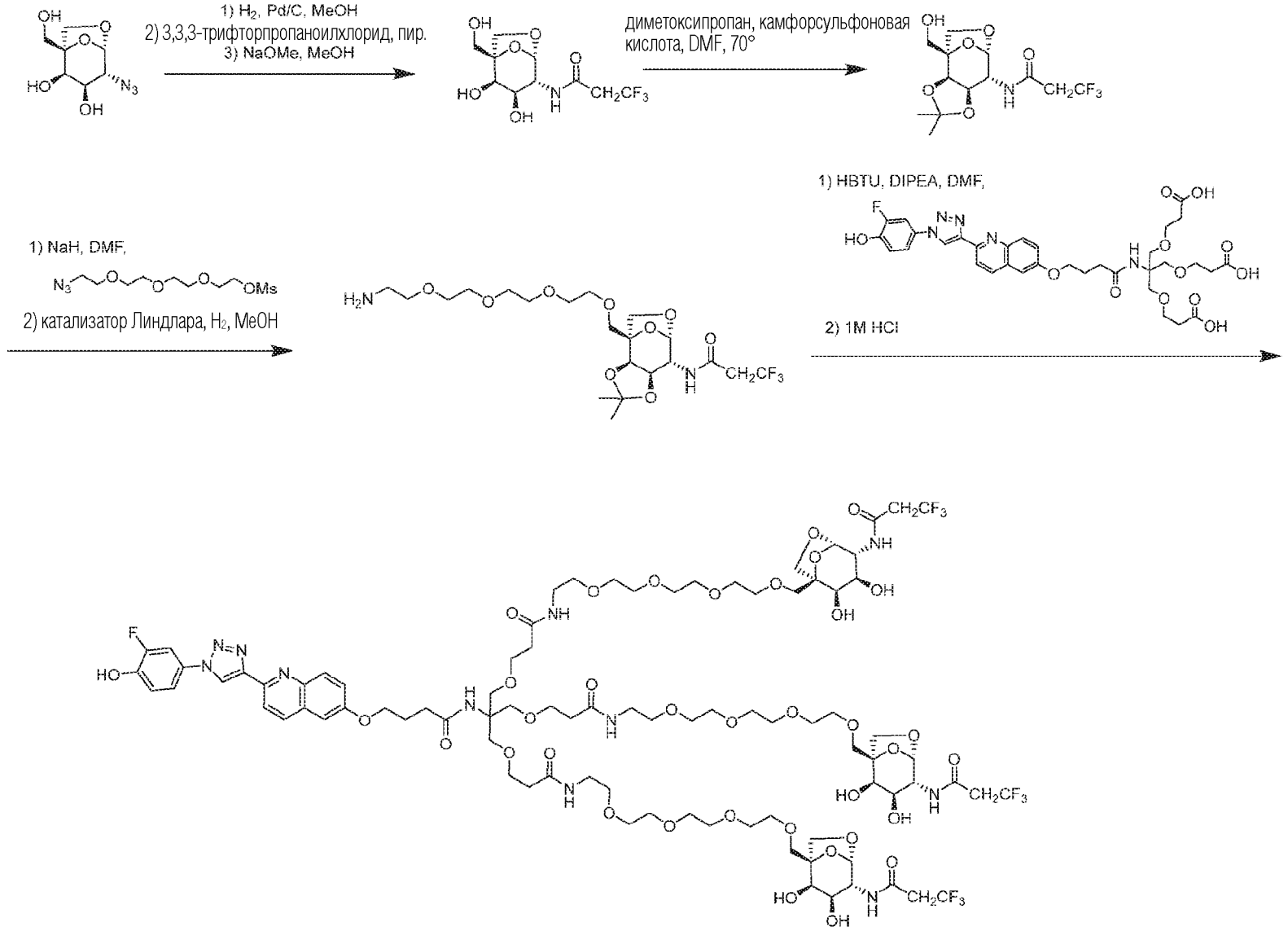
ФИГ. 55D


1) H_2, Pd/C, MeOH
2) уксусный ангидрид, пир.
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) катализатор Линдлара, H_2, MeOH
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

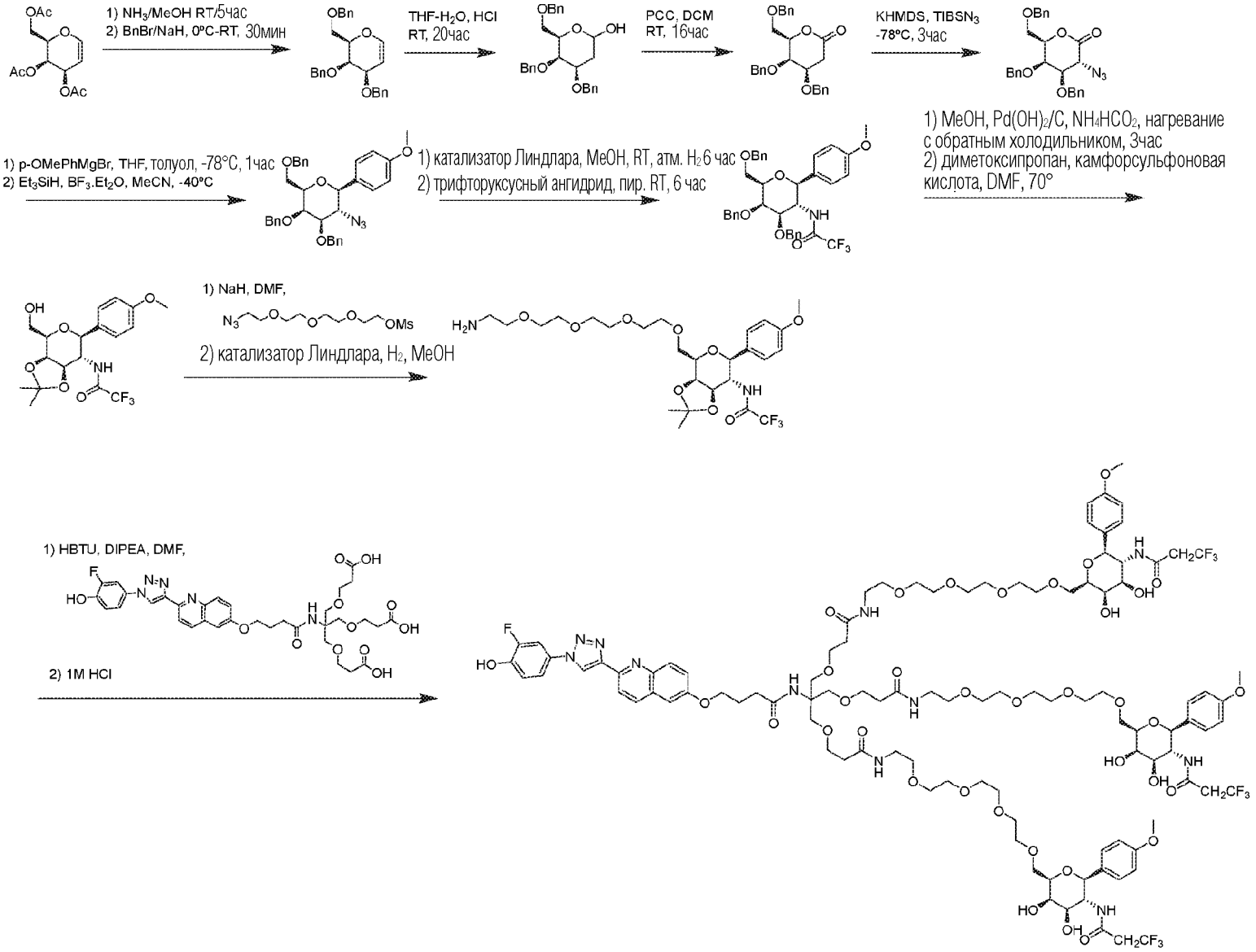
ФИГ. 55E


1) H_2, Pd/C, MeOH
2) пропаноилхлорид, пир.
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) катализатор Линдлара, H_2, MeOH
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

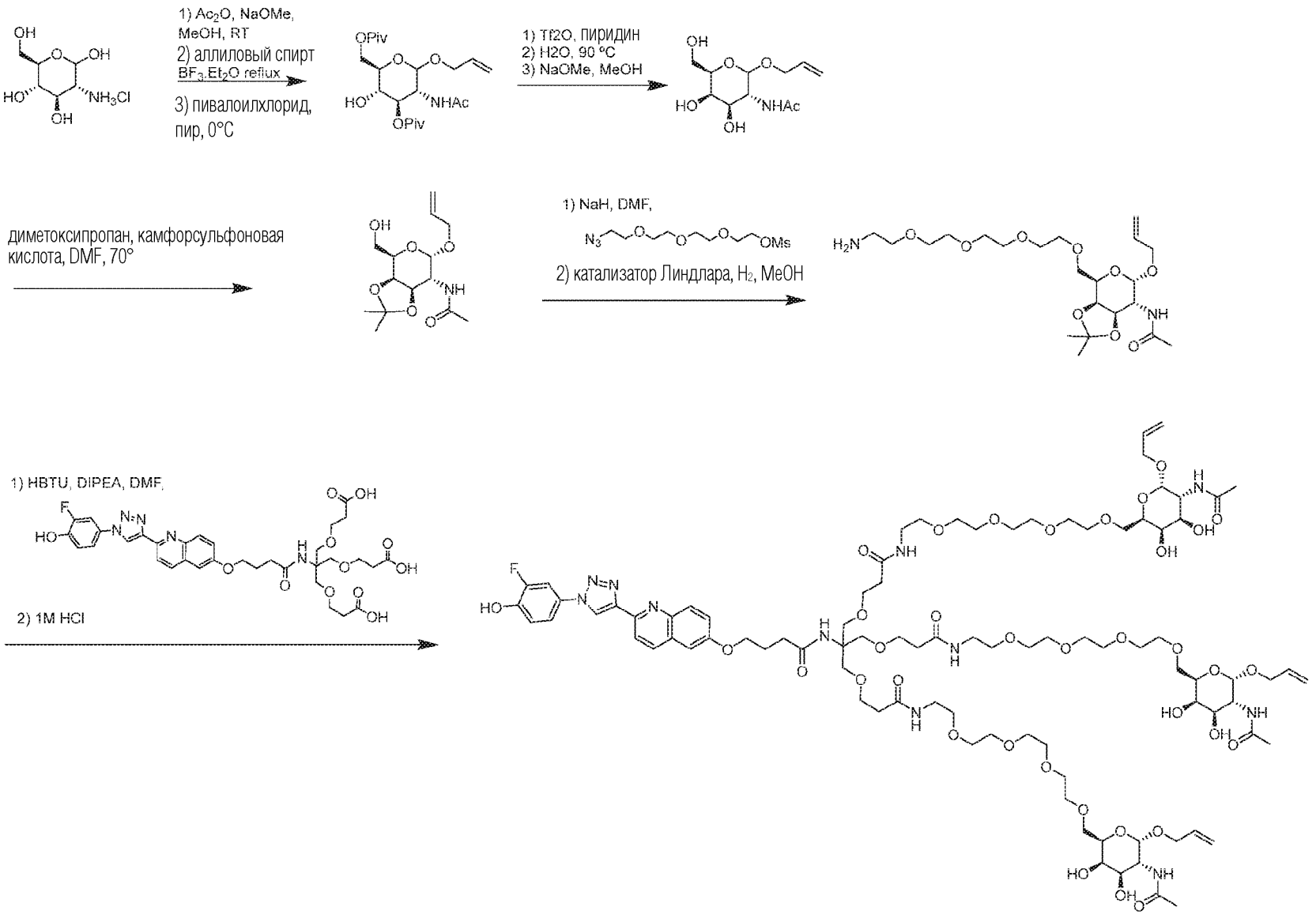
ФИГ. 55E


1) H_2, Pd/C, MeOH
2) 3,3,3-трифторпропаноилхлорид, пир.
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) катализатор Линдлара, H_2, MeOH
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

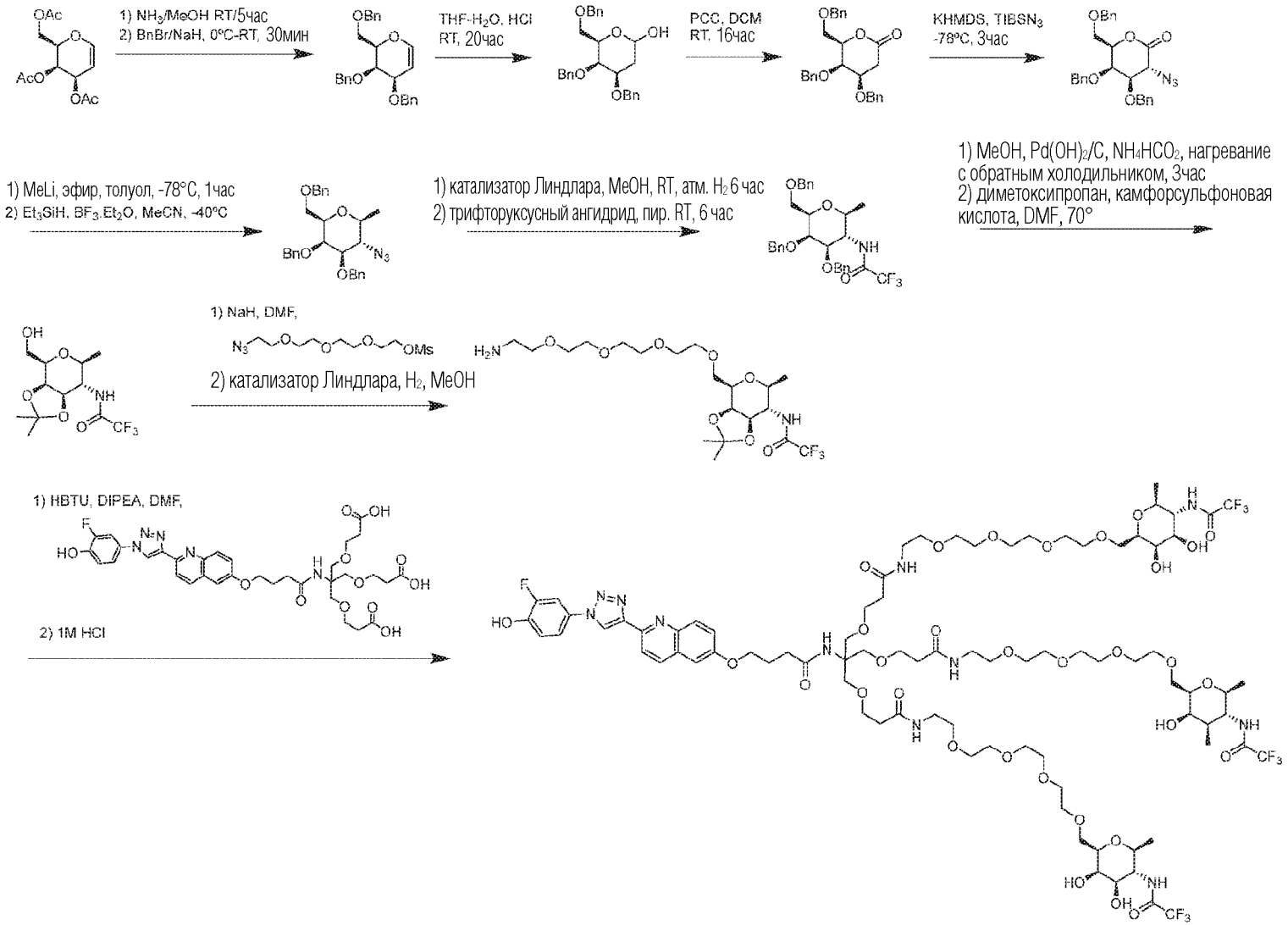
ФИГ. 55G


1) NH3/MeOH RT/5час
2) BnBr/NaH, 0°C-RT, 30мин
THF-H2O, HCl
RT, 20час
PCC, DCM
RT, 16час
KHMDS, TIBSN3
-78°C, 3час
1) p-OMePhMgBr, THF, толуол, -78°C, 1час
2) Et3SiH, BF3.Et2O, MeCN, -40°C
1) катализатор Линдлара, MeOH, RT, атм. H2 6 час
2) трифторуксусный ангидрид, пир. RT, 6 час
1) MeOH, Pd(OH)2/C, NH4HCO2, нагревание с обратным холодильником, 3час
2) диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

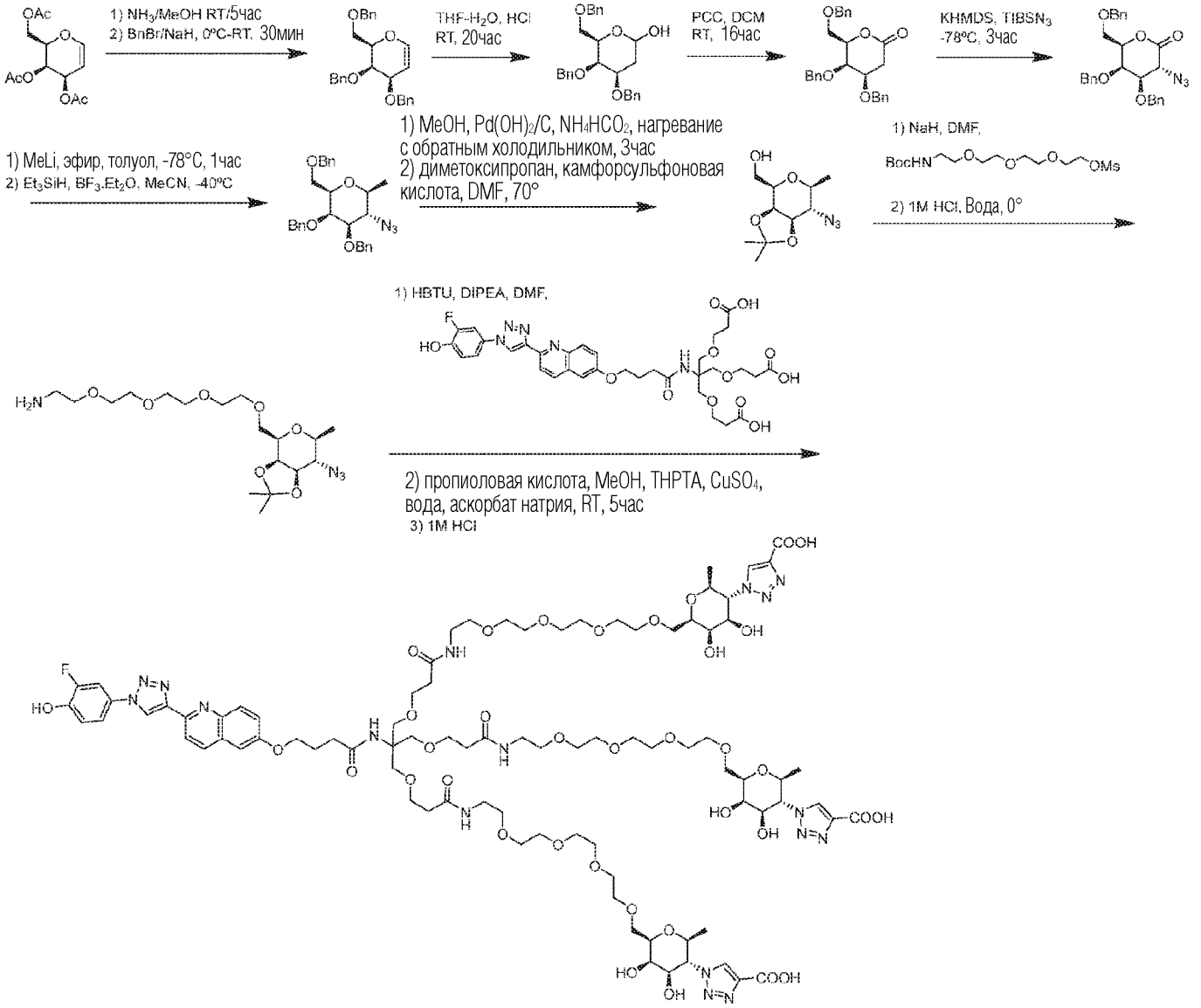
ФИГ. 55H


1) Ac2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт
BF3.Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

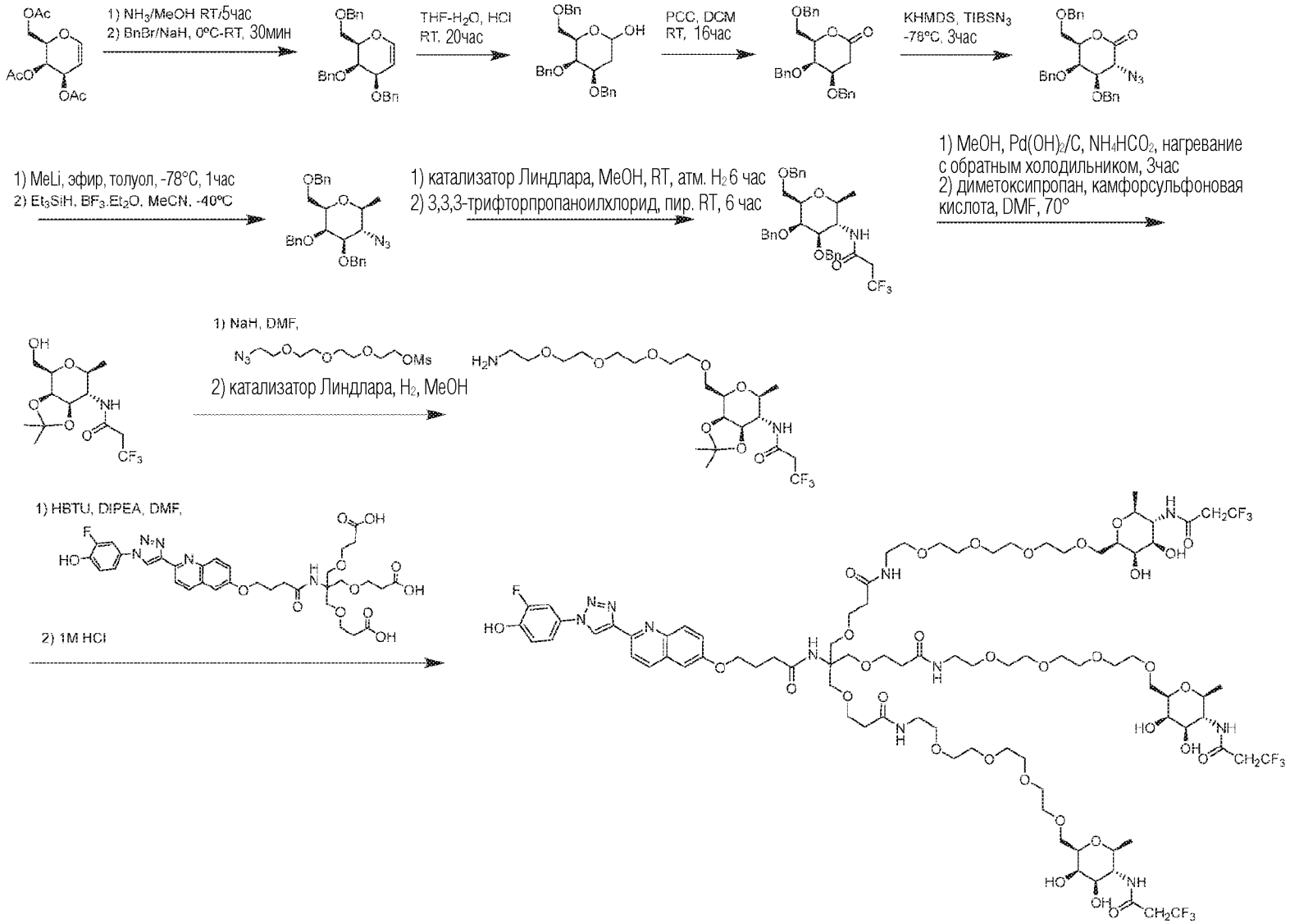
ФИГ. 55I


1) NH3/MeOH RT/5час
2) BnBr/NaH, 0°C-RT, 30мин
THF-H2O, HCl
RT, 20час
PCC, DCM
RT, 16час
KHMDS, TIESN3
-78°C, 3час
1) MeLi, эфир, толуол, -78°C, 1час
2) Et3SiH, BF3.Et2O, MeCN, -40°C
1) катализатор Линдлара, MeOH, RT, атм. H2 6 час
2) трифторуксусный ангидрид, пир. RT, 6 час
1) MeOH, Pd(OH)2/C, NH4HCO2, нагревание с обратным холодильником, 3час
2) диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

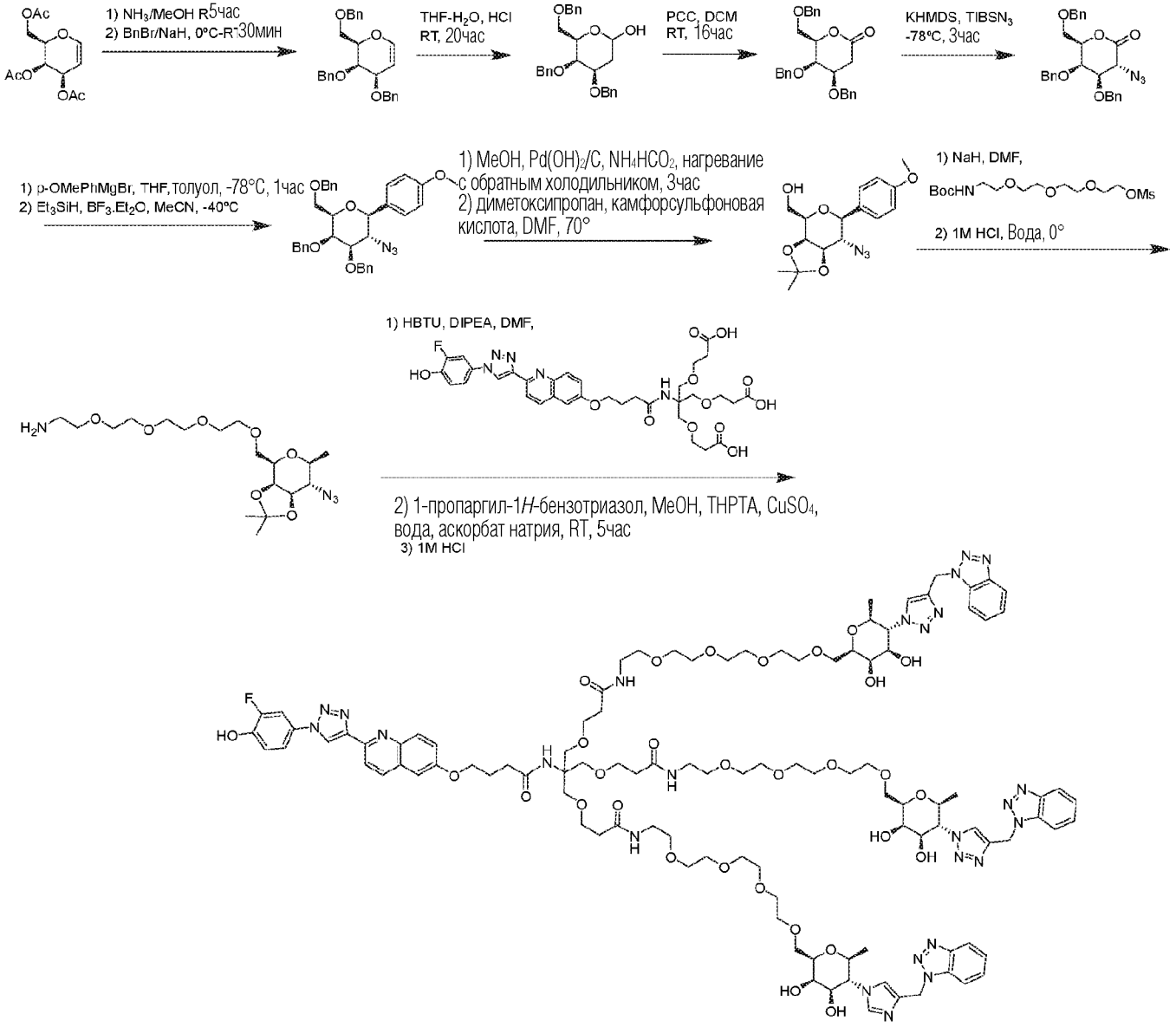
ФИГ. 55J


1) NH3/MeOH RT/5час
2) BnBr/NaH, 0°C-RT, 30мин
THF-H2O, HCl
RT, 20час
PCC, DCM
RT, 16час
KHMDS, TIBSN3
-78°C, 3час
1) MeLi, эфир, толуол, -78°C, 1час
2) Et3SiH, BF3.Et2O, MeCN, -40°C
1) MeOH, Pd(OH)2/C, NH4HCO2, нагревание
с обратным холодильником, 3час
2) диметоксипропан, камфорсульфоновая
кислота, DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) 1M HCl, Вода, 0°
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) пропиоловая кислота, MeOH, THPTA, CuSO4,
вода, аскорбат натрия, RT, 5час
3) 1M HCl

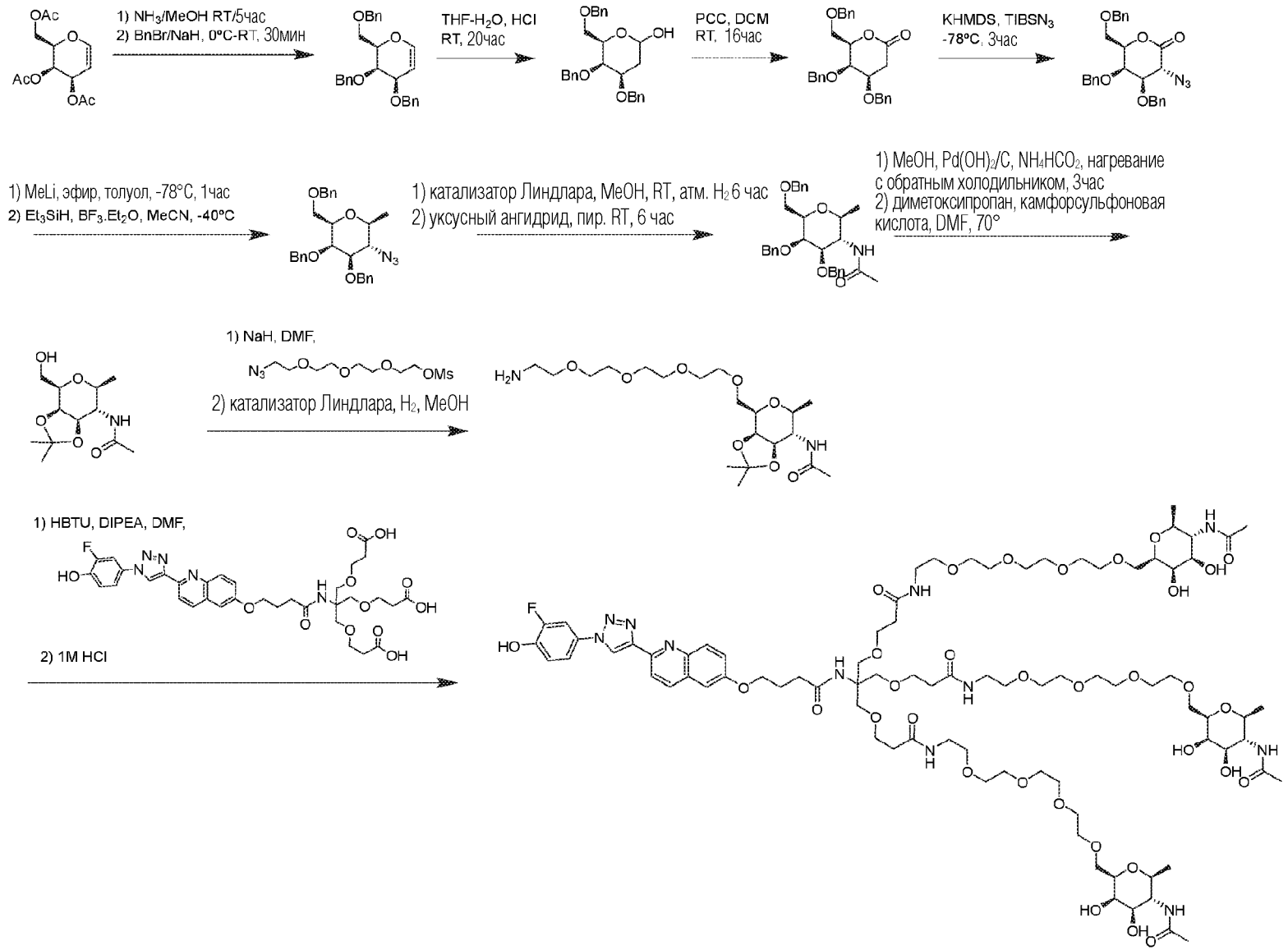
ФИГ. 55K


1) NH3/MeOH RT,5час
2) BnBr/NaH, 0°C-RT, 30мин
THF-H2O, HCl
RT, 20час
PCC, DCM
RT, 16час
KHMDS, TIBSN3
-78°C, 3час
1) MeLi, эфир, толуол, -78°C, 1час
2) Et3SiH, BF3.Et2O, MeCN, -40°C
1) катализатор Линдлара, MeOH, RT, атм. H2 6 час
2) 3,3,3-трифторпропаноилхлорид, пир. RT, 6 час
1) MeOH, Pd(OH)2/C, NH4HCO2, нагревание
с обратным холодильником, 3час
2) диметоксипропан, камфорсульфоновая
кислота, DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

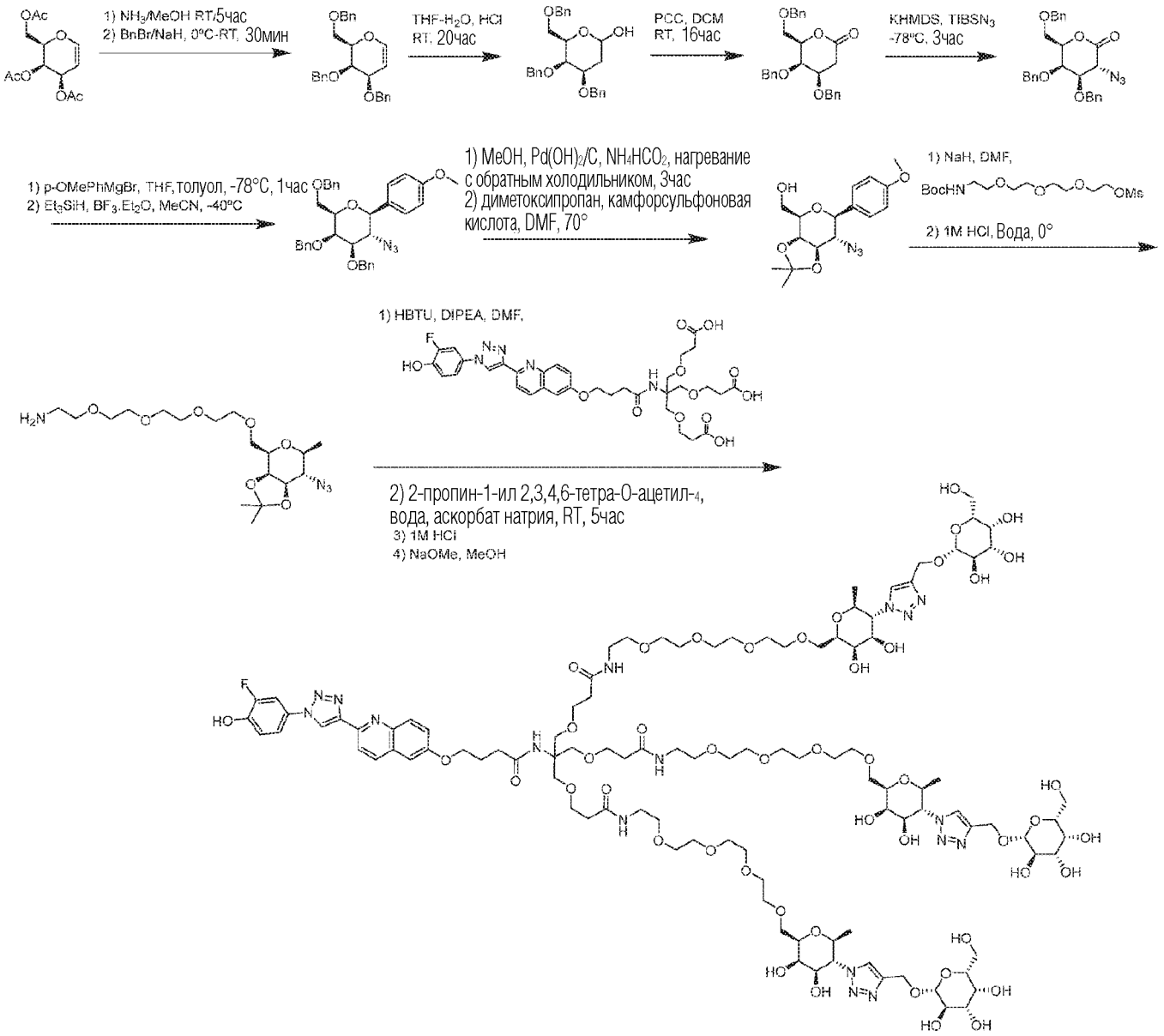
ФИГ. 55L


1) NH3/MeOH R5час
2) BnBr/NaH, 0°C-R.T30мин
THF-H2O, HCl
RT, 20час
PCC, DCM
RT, 16час
KHMDS, TIBSN3
-78°C, 3час
1) p-OMePhMgBr, THF, толуол, -78°C, 1час
2) Et3SiH, BF3.Et2O, MeCN, -40°C
1) MeOH, Pd(OH)2/C, NH4HCO2, нагревание с обратным холодильником, 3час
2) диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) NaH, DMF,
BocHN
OMs
2) 1M HCl, Вода, 0°
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1-пропаргил-1H-бензотриазол, MeOH, THPTA, CuSO4, вода, аскорбат натрия, RT, 5час
3) 1M HCl

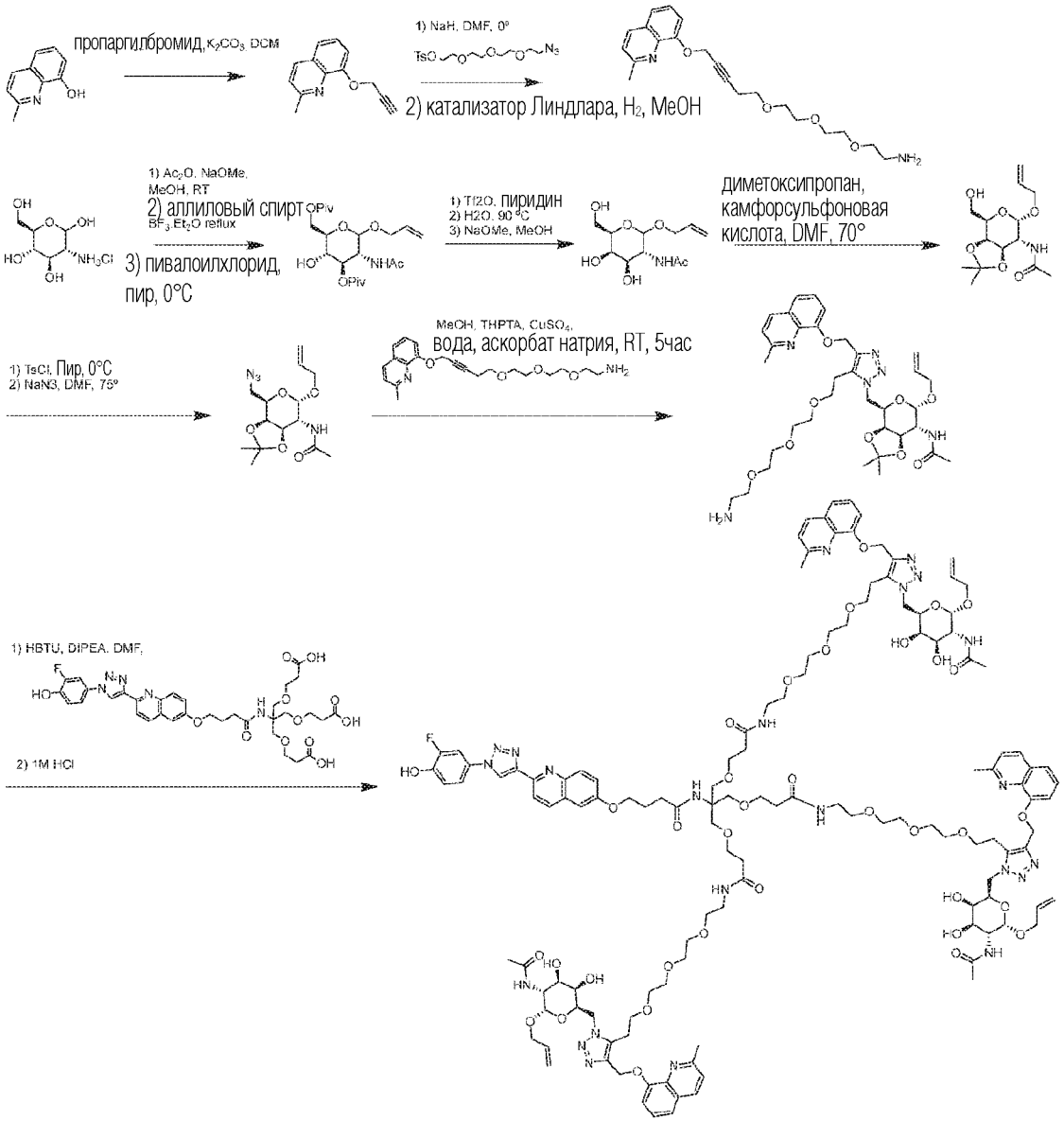
ФИГ. 55M


1) NH3/MeOH RT/5час
2) BnBr/NaH, 0°C-RT, 30мин
THF-H2O, HCl
RT, 20час
PCC, DCM
RT, 16час
KHMDS, TIBSN3
-78°C, 3час
1) MeLi, эфир, толуол, -78°C, 1час
2) Et3SiH, BF3.Et2O, MeCN, -40°C
1) катализатор Линдлара, MeOH, RT, атм. H2 6 час
2) уксусный ангидрид, пир. RT, 6 час
1) MeOH, Pd(OH)2/C, NH4HCO2, нагревание с обратным холодильником, 3час
2) диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

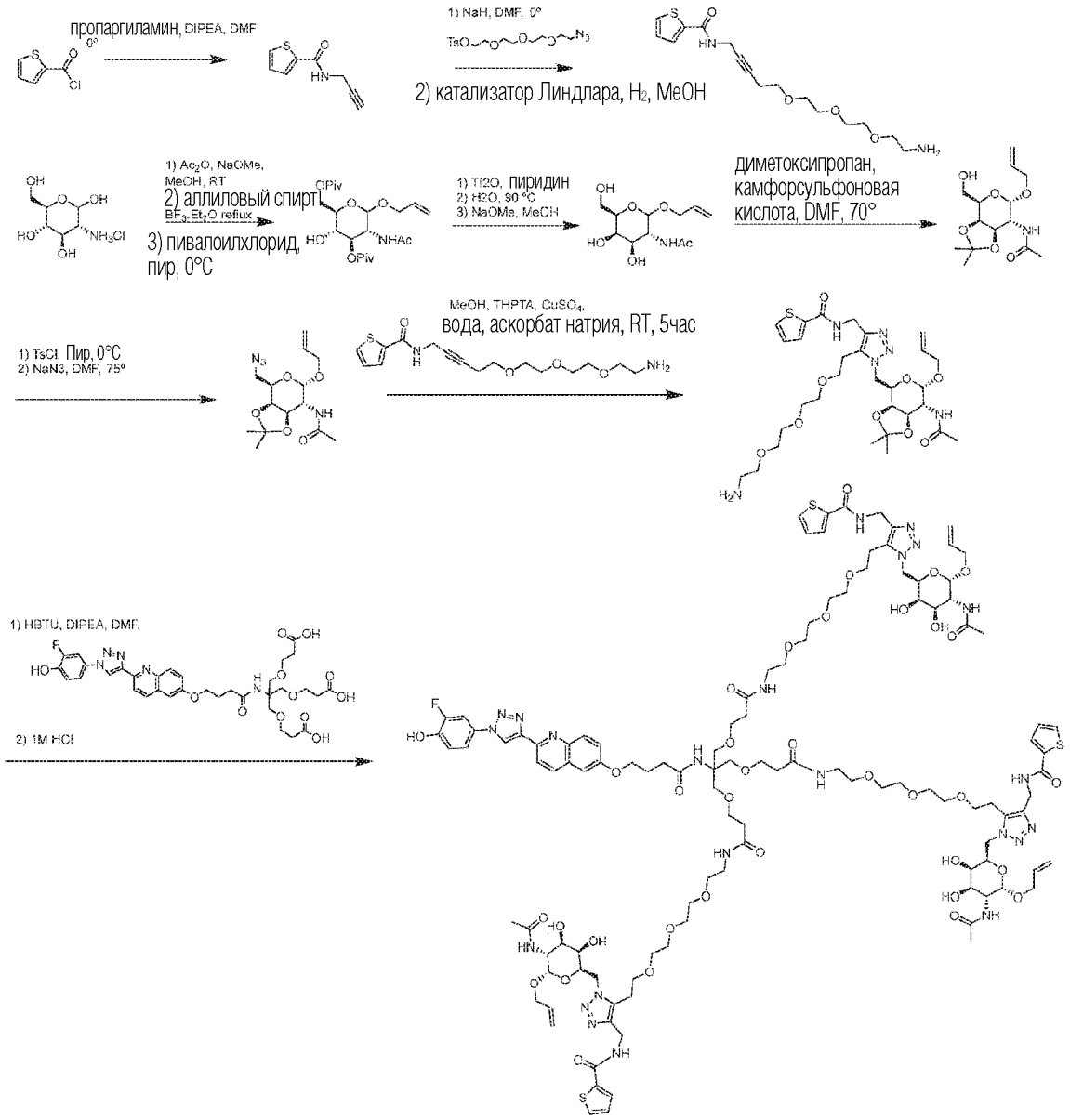
ФИГ. 55N


1) NH3/MeOH RT/5час
2) BnBr/NaH, 0°C-RT, 30мин
THF-H2O, HCl
RT, 20час
PCC, DCM
RT, 16час
KHMDS, TIBSN3
-78°C, 3час
1) p-OMePhMgBr, THF,толуол, -78°C, 1час
2) Et3SiH, BF3.Et2O, MeCN, -40°C
1) MeOH, Pd(OH)2/C, NH4HCO2, нагревание с обратным холодильником, 3час
2) диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) NaH, DMF,
2) 1M HCl, Вода, 0°
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 2-пропин-1-ил 2,3,4,6-тетра-O-ацетил-4,
вода, аскорбат натрия, RT, 5час
3) 1M HCl
4) NaOMe, MeOH

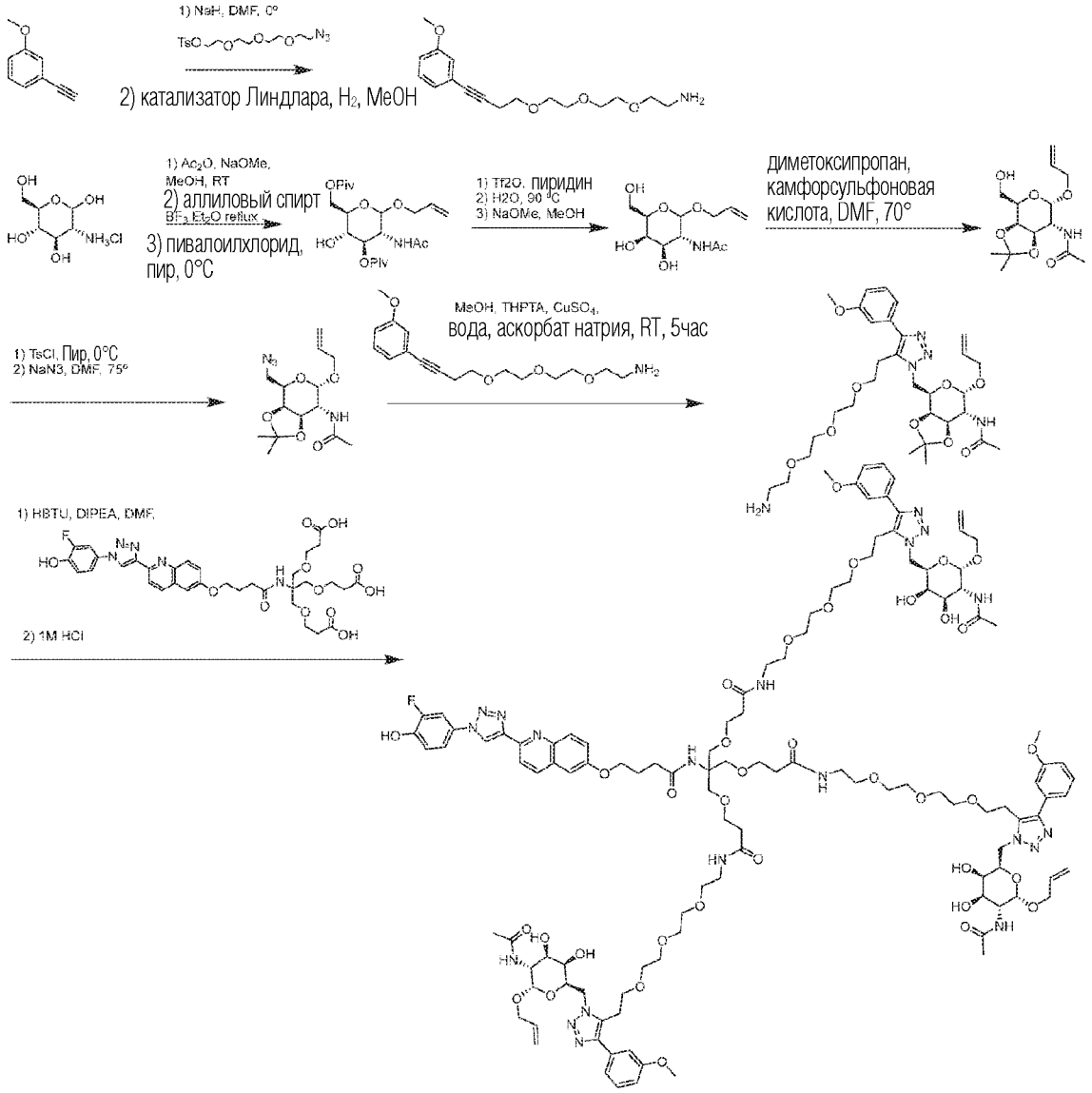
ФИГ. 56А


пропаргилбромид, K_2CO_3, DCM
1) NaH, DMF, 0°
2) катализатор Линдлара, H_2, MeOH
1) Ac_2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт $BF_3.Et_2O$ reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) TsCl, Пир, 0°C
2) NaN3, DMF, 75°
MeOH, THPTA, $CuSO_4$, вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

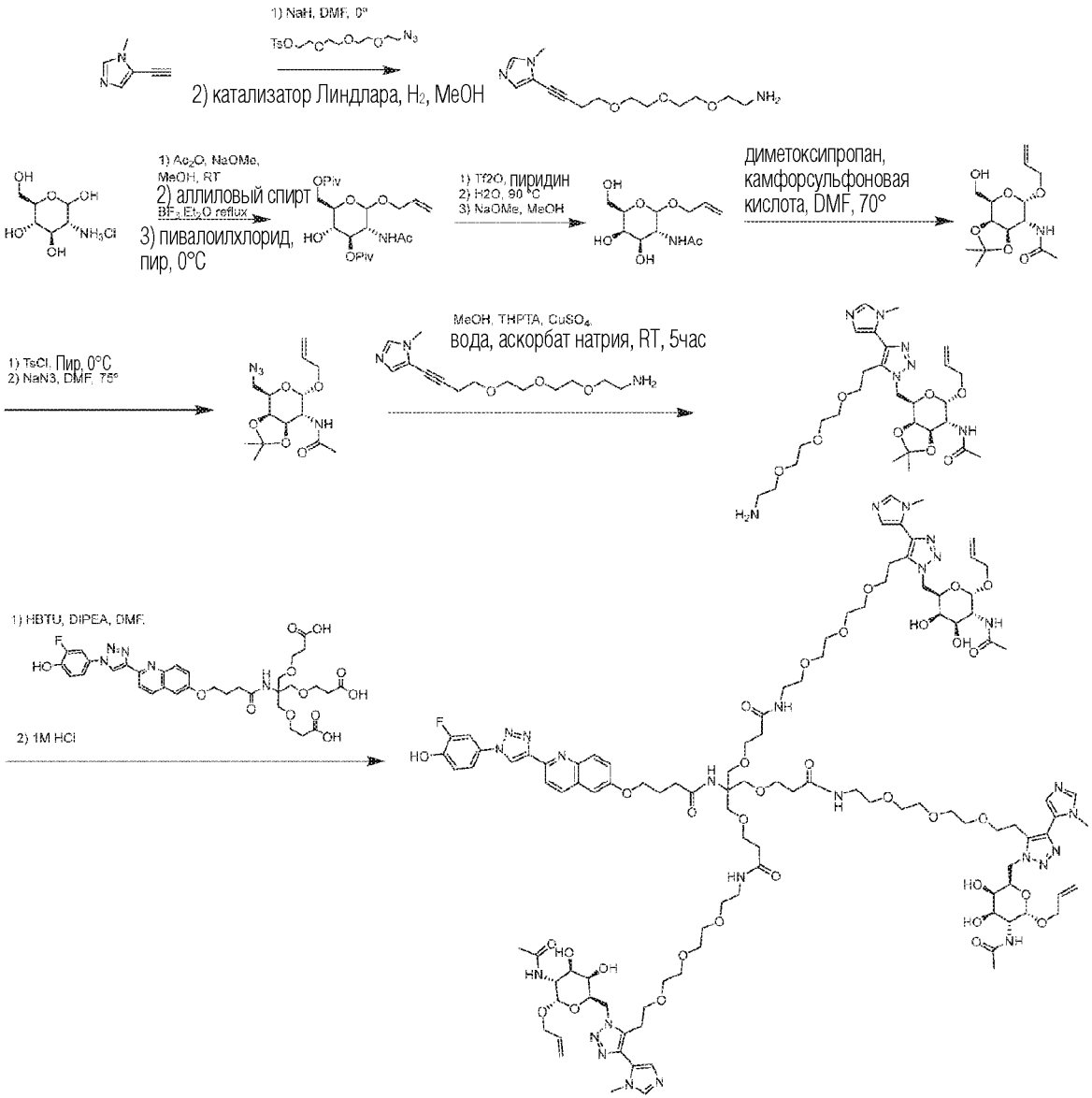
ФИГ. 56B


пропаргиламин, DIPEA, DMF
0°
1) NaH, DMF, 0°
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) Ac2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт
BF3.Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) TsCl, Пир, 0°C
2) NaN3, DMF, 75°
MeOH, THPTA, CuSO4,
вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

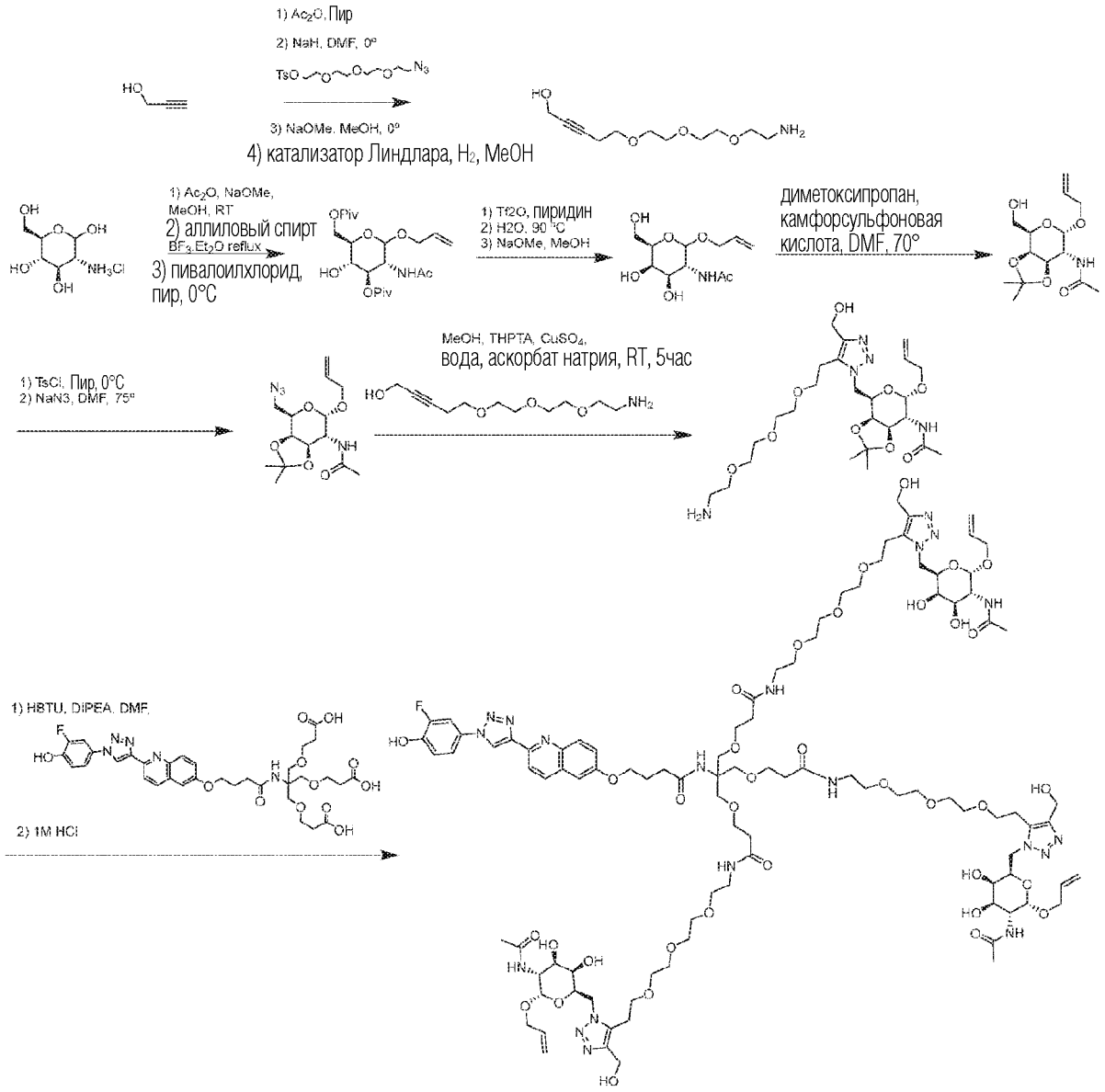
ФИГ. 56C


1) NaH, DMF, 0°
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) Ac2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт BF3.Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, ПИРИДИН
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) TsCl, Пир, 0°C
2) NaN3, DMF, 75°
MeOH, THPTA, CuSO4,
вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

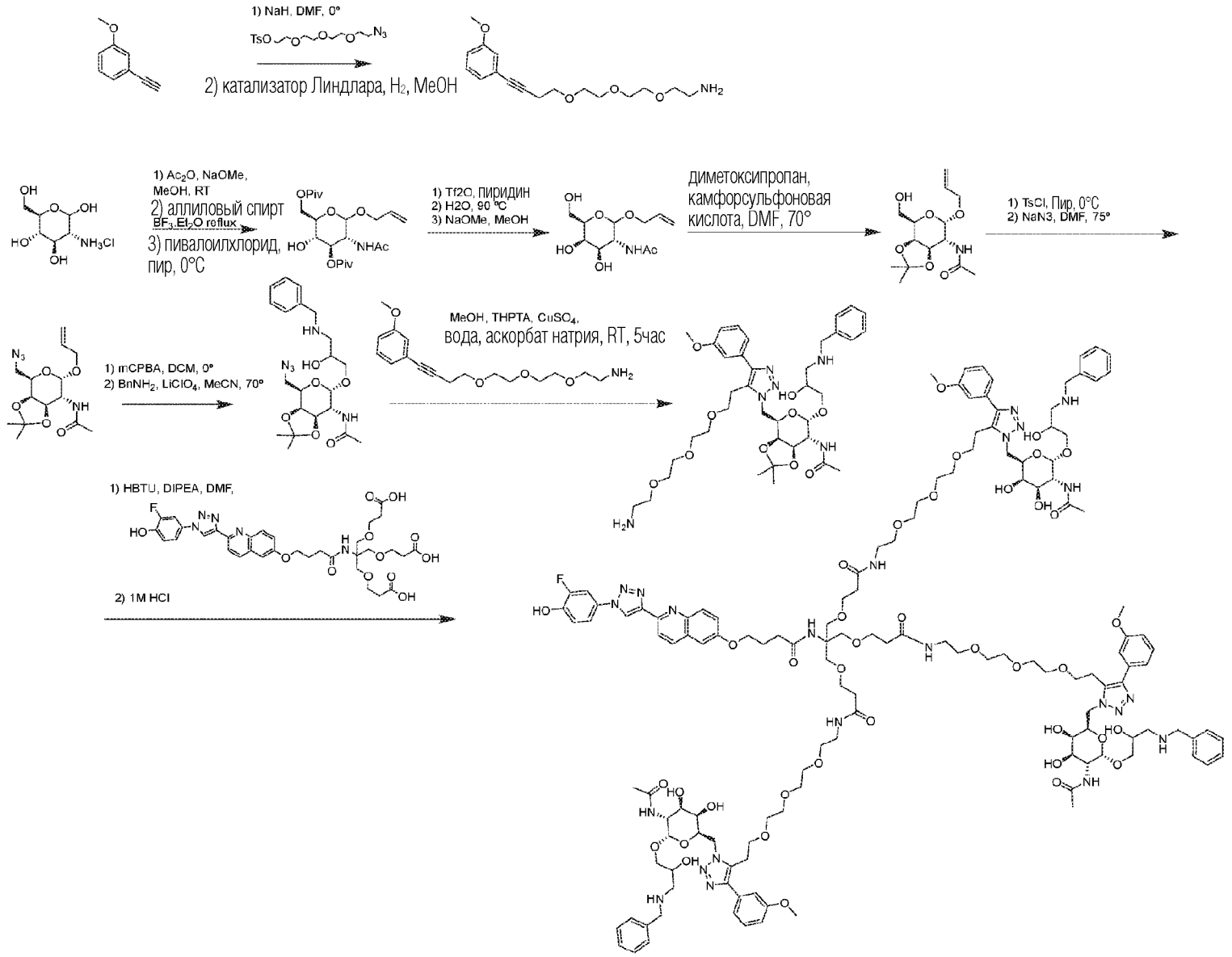
ФИГ. 56D


1) NaH, DMF, 0°
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) Ac2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт BF3.Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) TsCl, Пир, 0°C
2) NaN3, DMF, 75°
MeOH, THPTA, CuSO4,
вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF;
2) 1M HCl

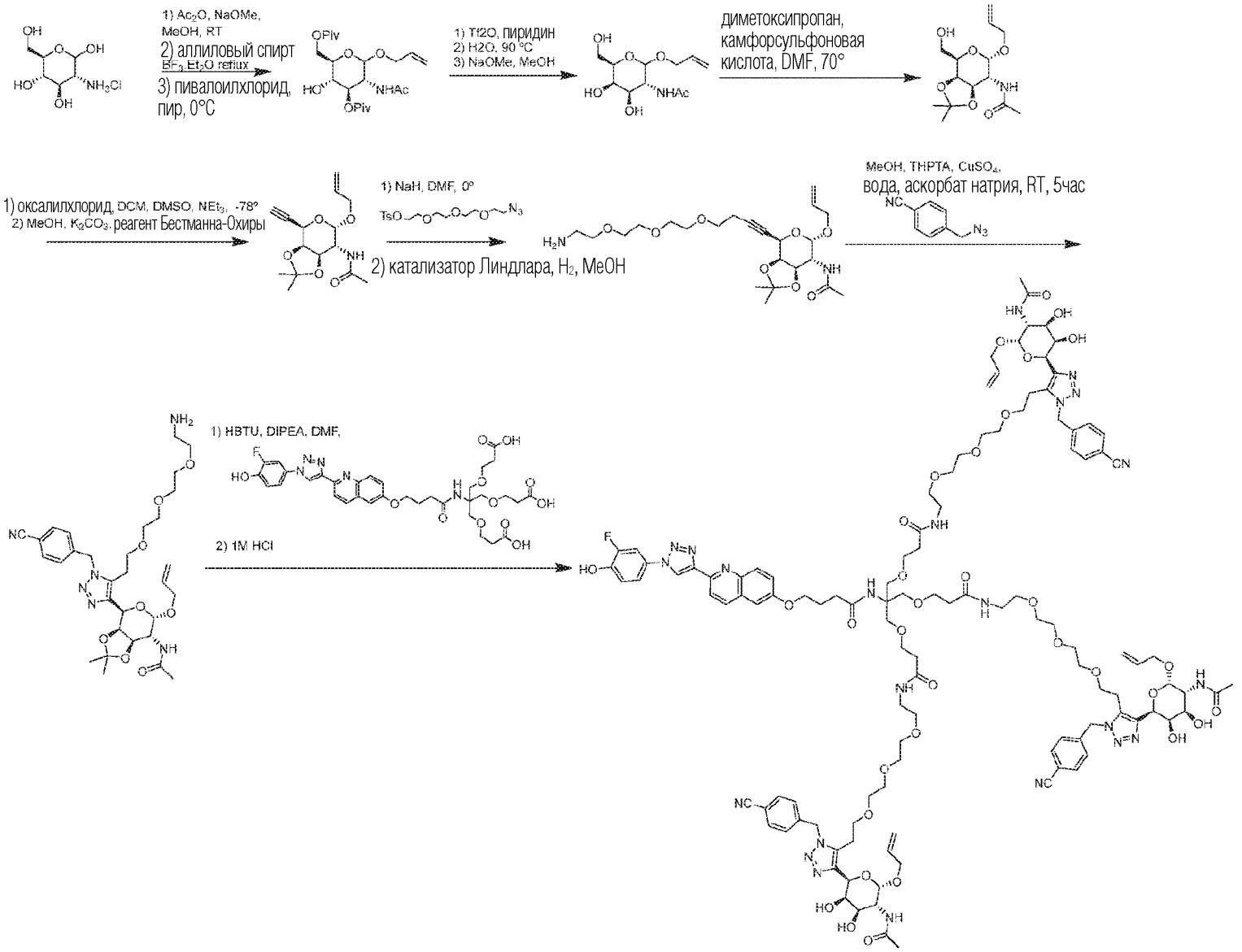
ФИГ. 56E


1) Ac2O, Пир
2) NaH, DMF, 0°
3) NaOMe, MeOH, 0°
4) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) Ac2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт BF3.Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) TsCl, Пир, 0°C
2) NaN3, DMF, 75°
MeOH, THPTA, CuSO4, вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF
2) 1M HCl

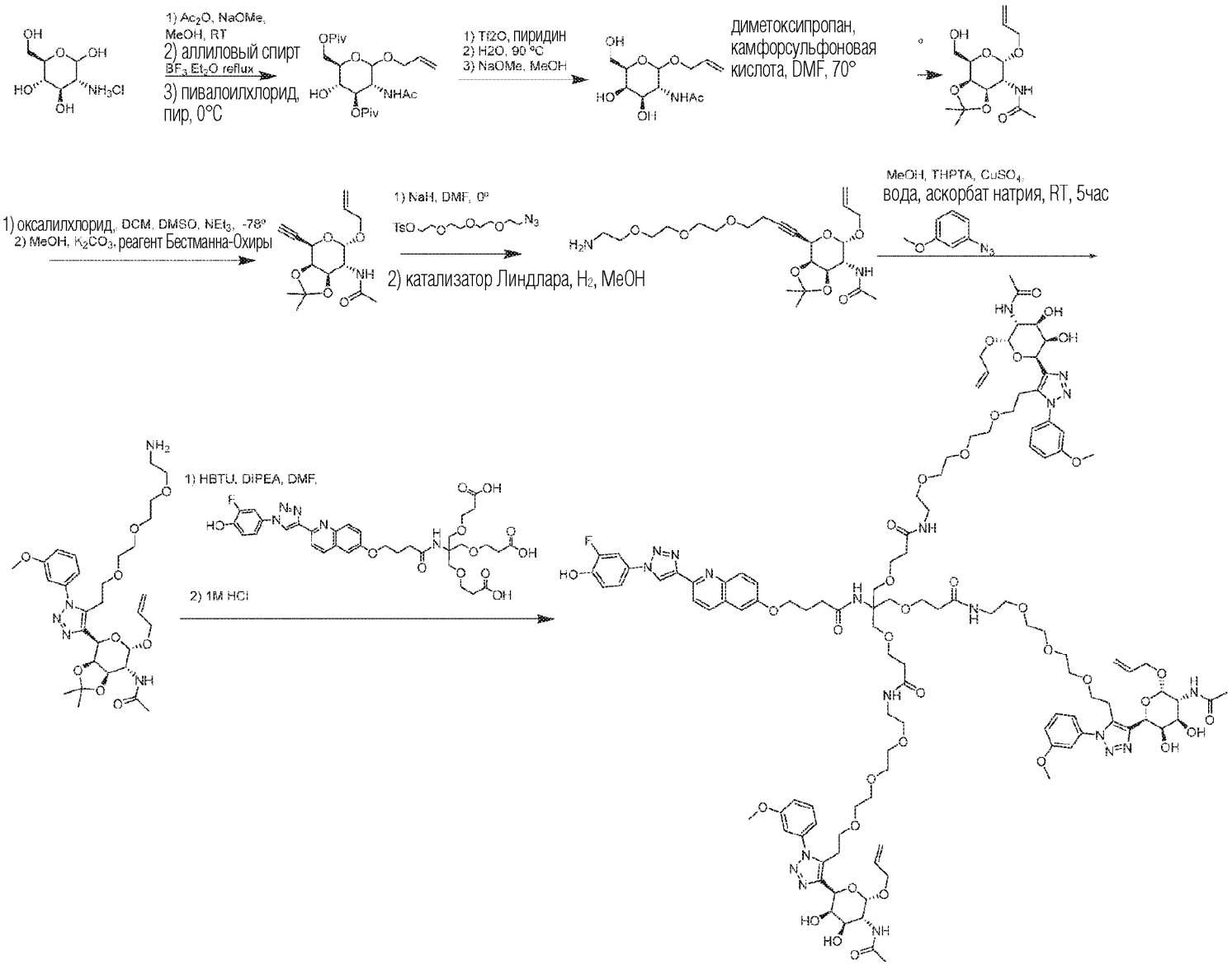
ФИГ. 56F


1) NaH, DMF, 0°
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) Ac2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт BF3.Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) TsCl, Пир, 0°C
2) NaN3, DMF, 75°
1) mCPBA, DCM, 0°
2) BnNH2, LiClO4, MeCN, 70°
MeOH, THPTA, CuSO4,
вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

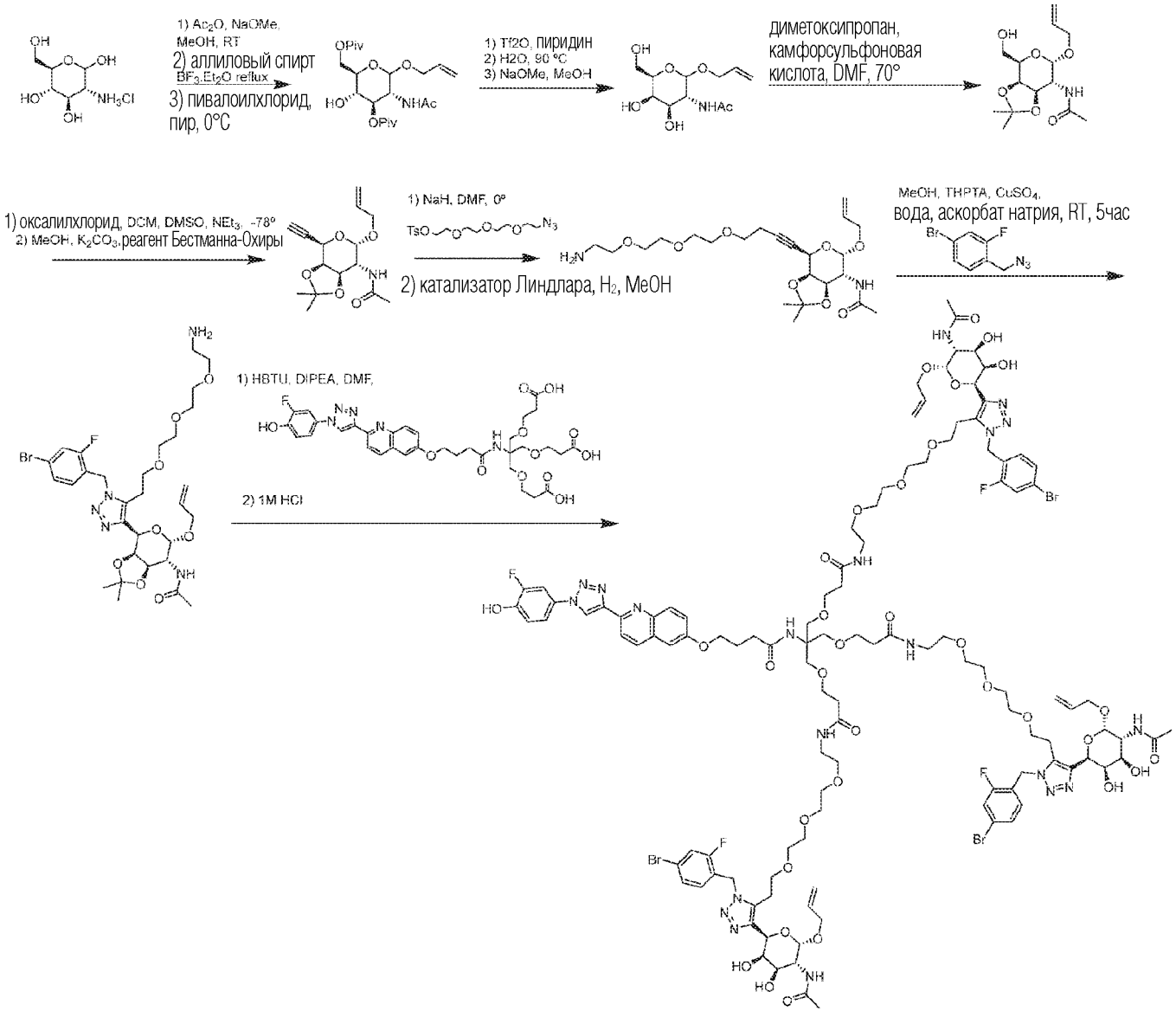
ФИГ. 56G


1) Ac2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт
BF3.Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) оксалилхлорид, DCM, DMSO, NEt3, -78°
2) MeOH, K2CO3, реагент Бестманна-Охиры
1) NaH, DMF, 0°
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
MeOH, THPTA, CuSO4,
вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

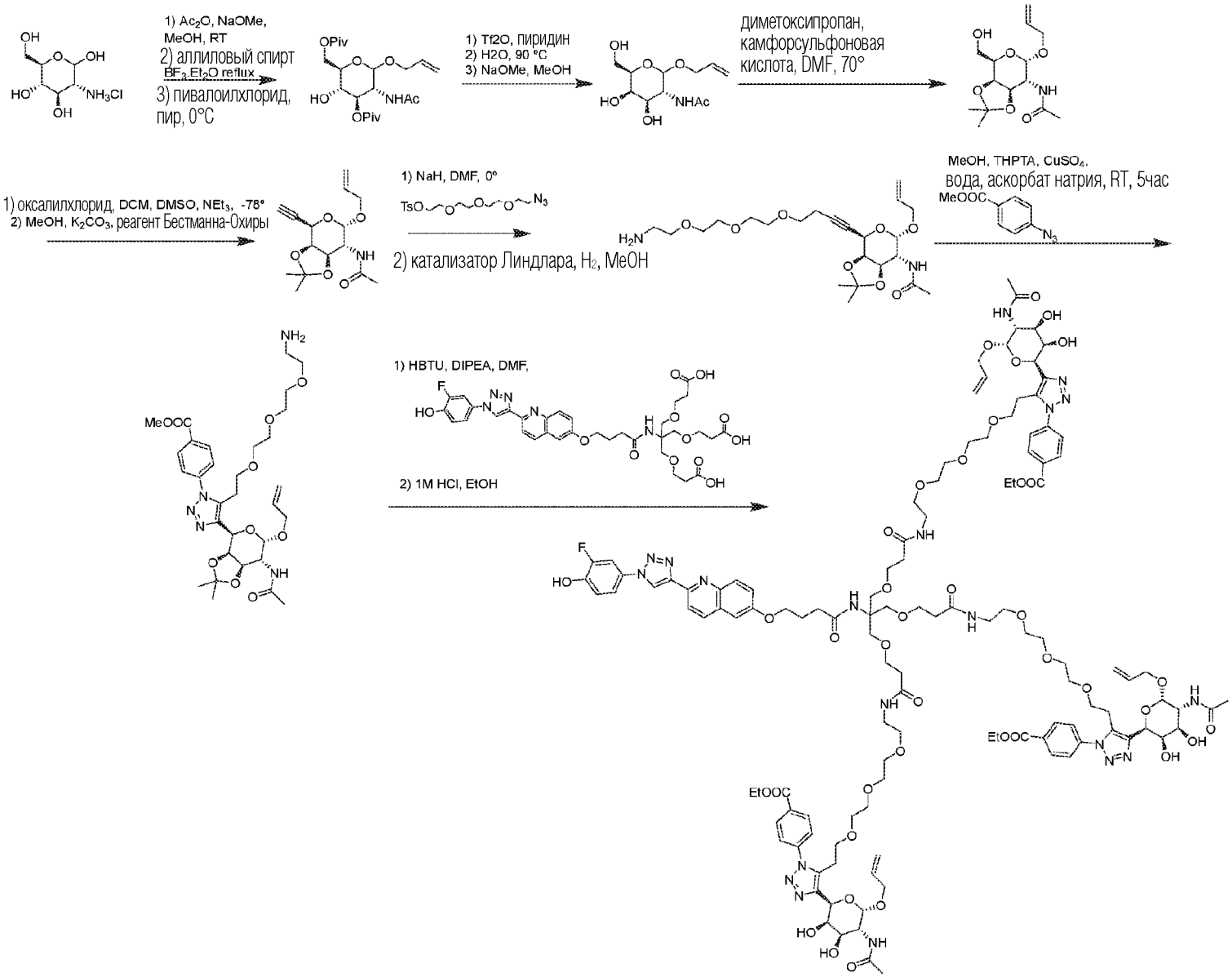
ФИГ. 56H


1) Ac2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт
BF3.Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) оксалилхлорид, DCM, DMSO, NEt3, -78°
2) MeOH, K2CO3, реагент Бестманна-Охиры
1) NaH, DMF, 0°
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
MeOH, THPTA, CuSO4,
вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF
2) 1M HCl

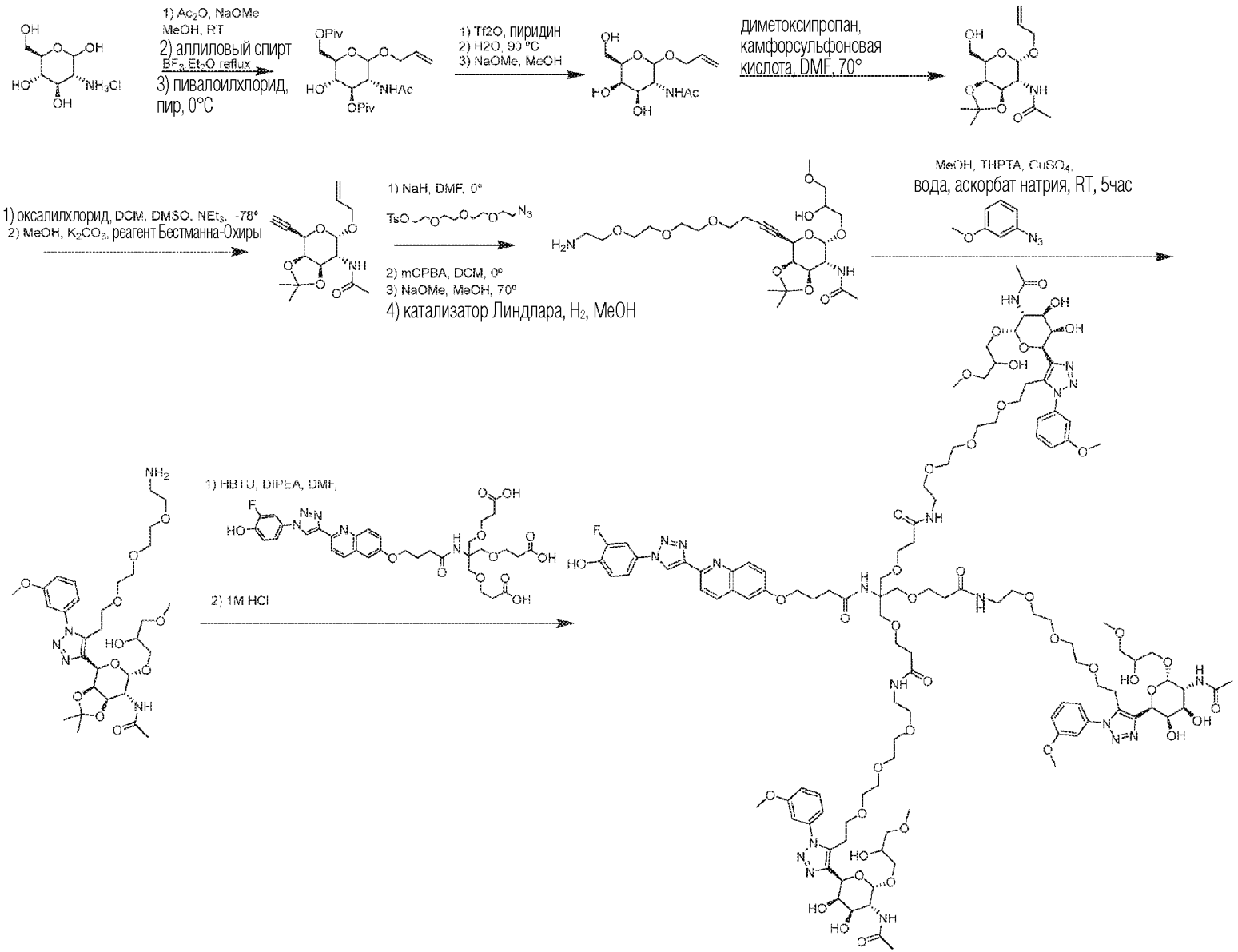
ФИГ. 56I


1) Ac2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт
BF3.Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) оксалилхлорид, DCM, DMSO, NEt3, -78°
2) MeOH, K2CO3, реагент Бестманна-Охиры
1) NaH, DMF, 0°
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
MeOH, THPTA, CuSO4, вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

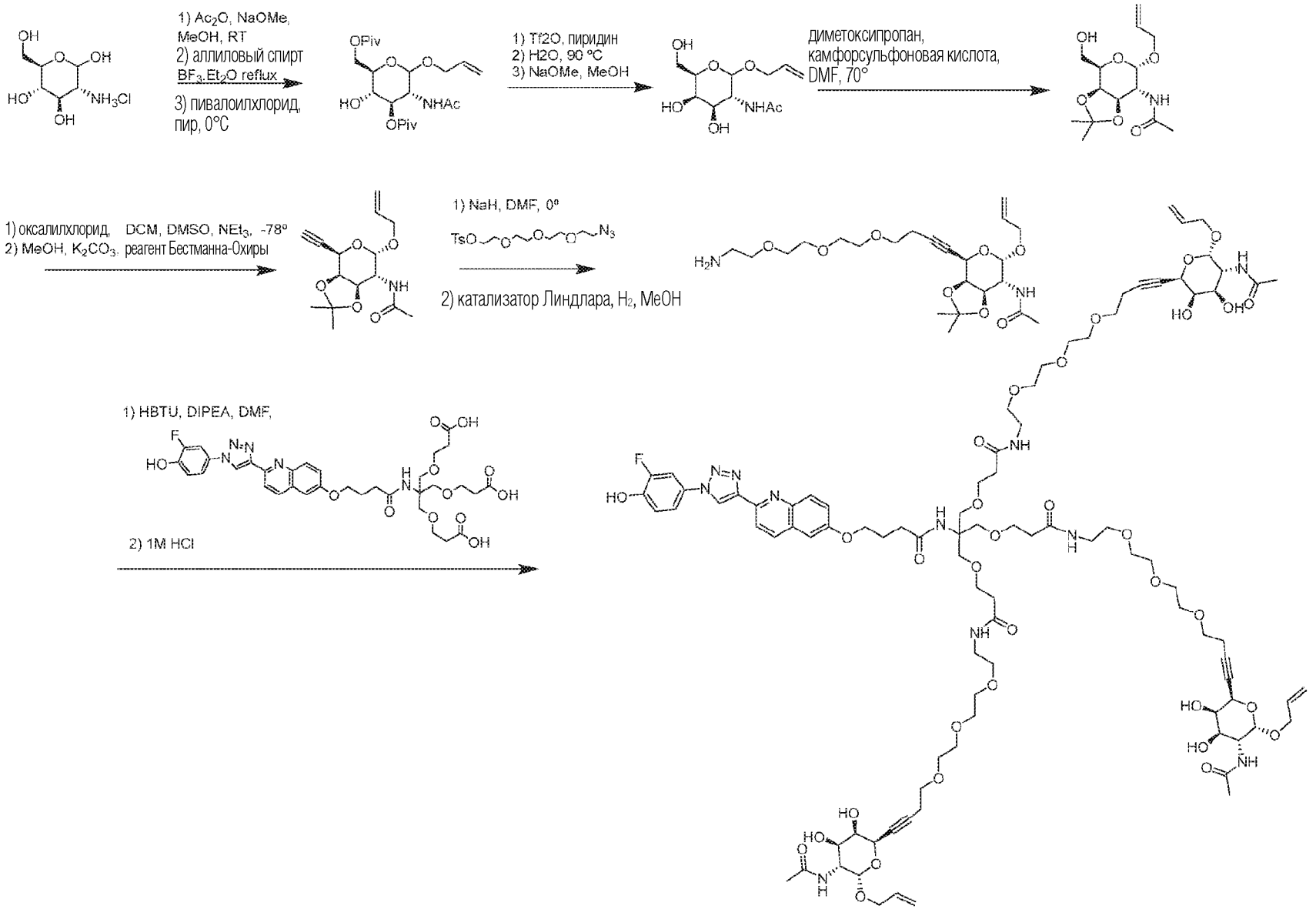
ФИГ. 56J


1) Ac2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт
BF3.Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) оксалилхлорид, DCM, DMSO, NEt3, -78°
2) MeOH, K2CO3, реагент Бестманна-Охиры
1) NaH, DMF, 0°
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
MeOH, THPTA, CuSO4, вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl, EtOH

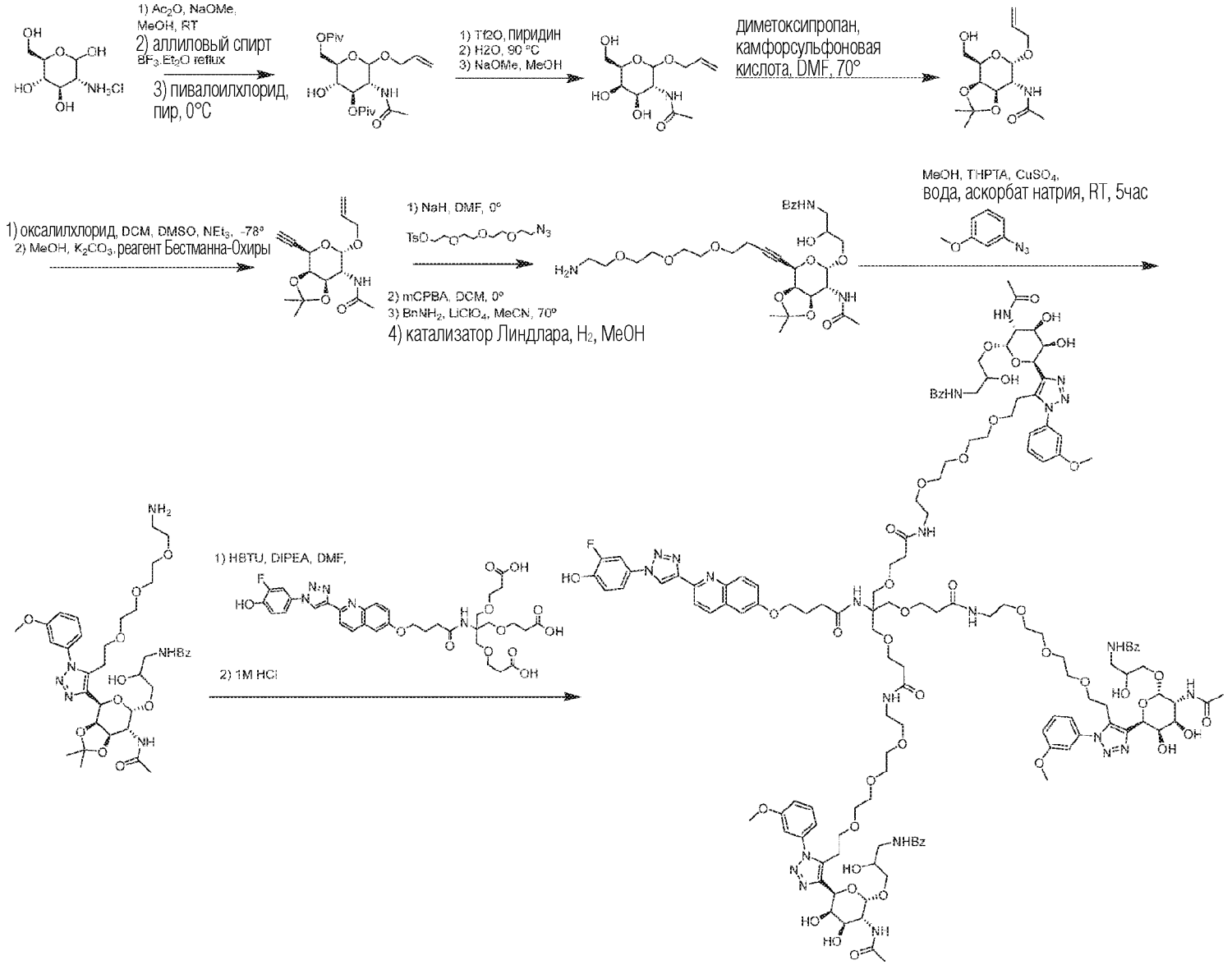
ФИГ. 56K


1) Ac2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт
BF3 Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) оксалилхлорид, DCM, DMSO, NEt3, -78°
2) MeOH, K2CO3, реагент Бестманна-Охиры
1) NaH, DMF, 0°
2) mCPBA, DCM, 0°
3) NaOMe, MeOH, 70°
4) катализатор Линдлара, H2, MeOH
MeOH, THPTA, CuSO4,
вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

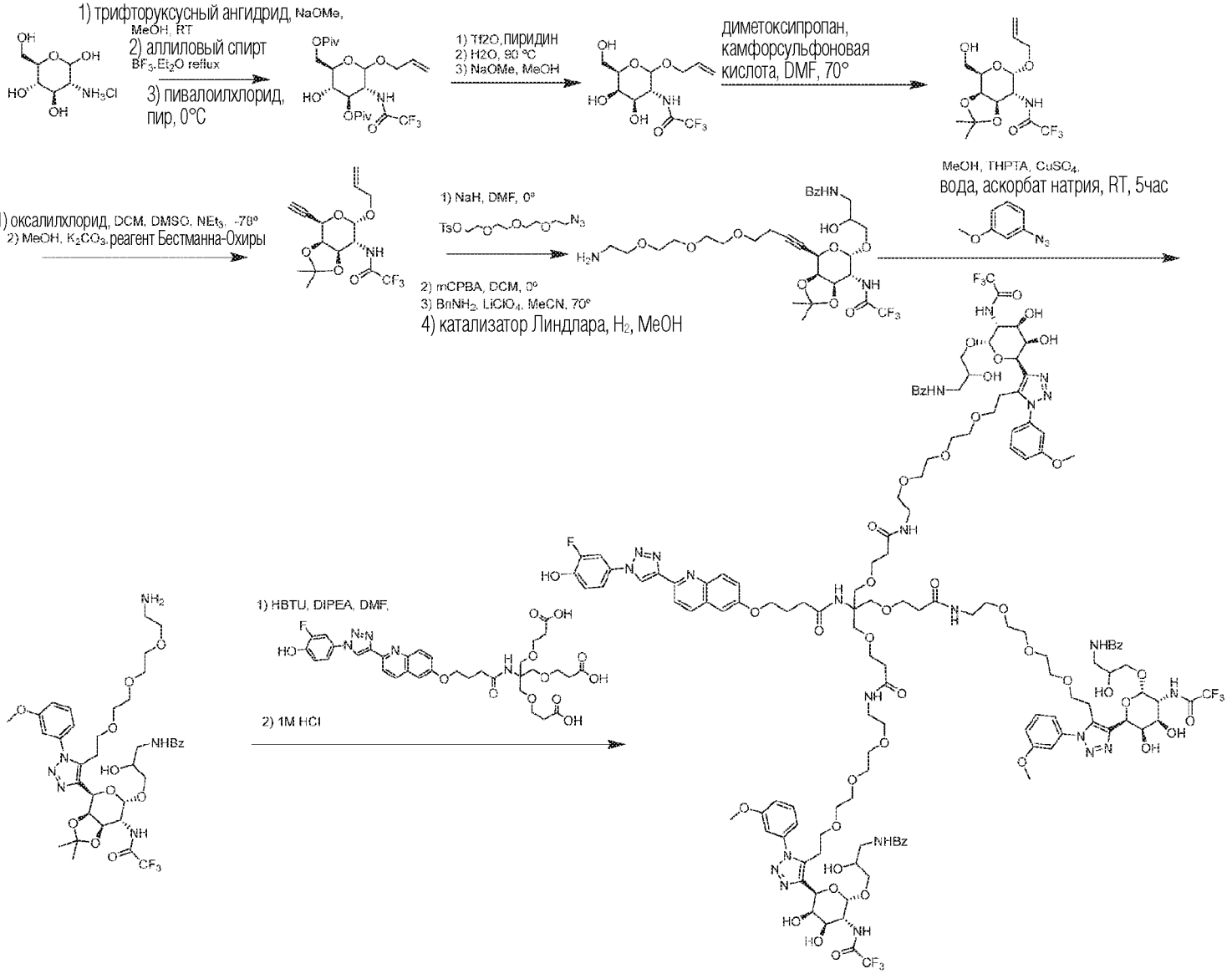
ФИГ. 56L


1) Ac2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт
BF3.Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) оксалилхлорид, DCM, DMSO, NEt3, -78°
2) MeOH, K2CO3, реагент Бестманна-Охиры
1) NaH, DMF, 0°
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

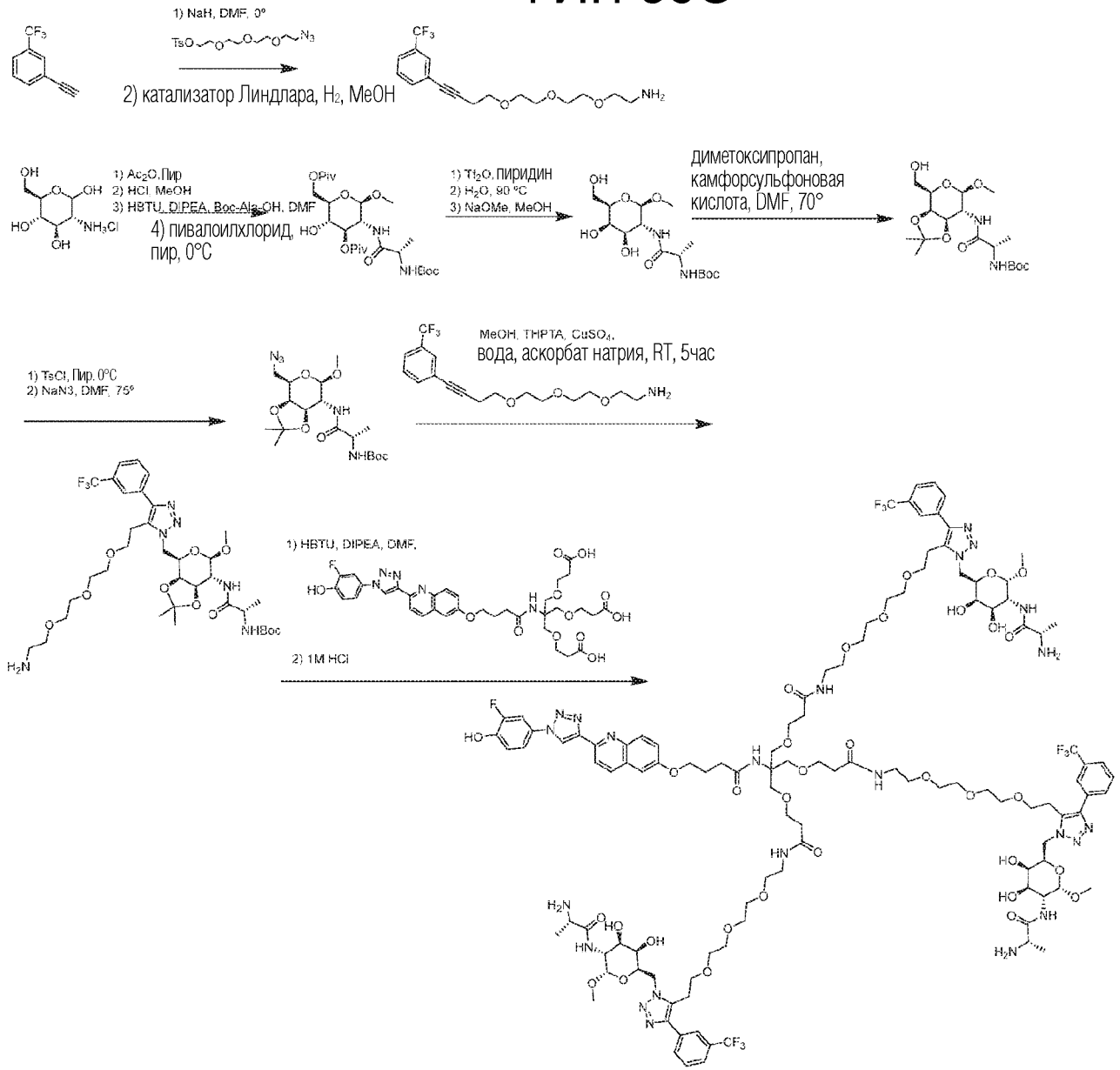
ФИГ. 56M


1) Ac2O, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт
BF3.Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) оксалилхлорид, DCM, DMSO, NEt3, -78°
2) MeOH, K2CO3, реагент Бестманна-Охиры
1) NaH, DMF, 0°
2) mCPBA, DCM, 0°
3) BnNH2, LiClO4, MeCN, 70°
4) катализатор Линдлара, H2, MeOH
MeOH, THPTA, CuSO4,
вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

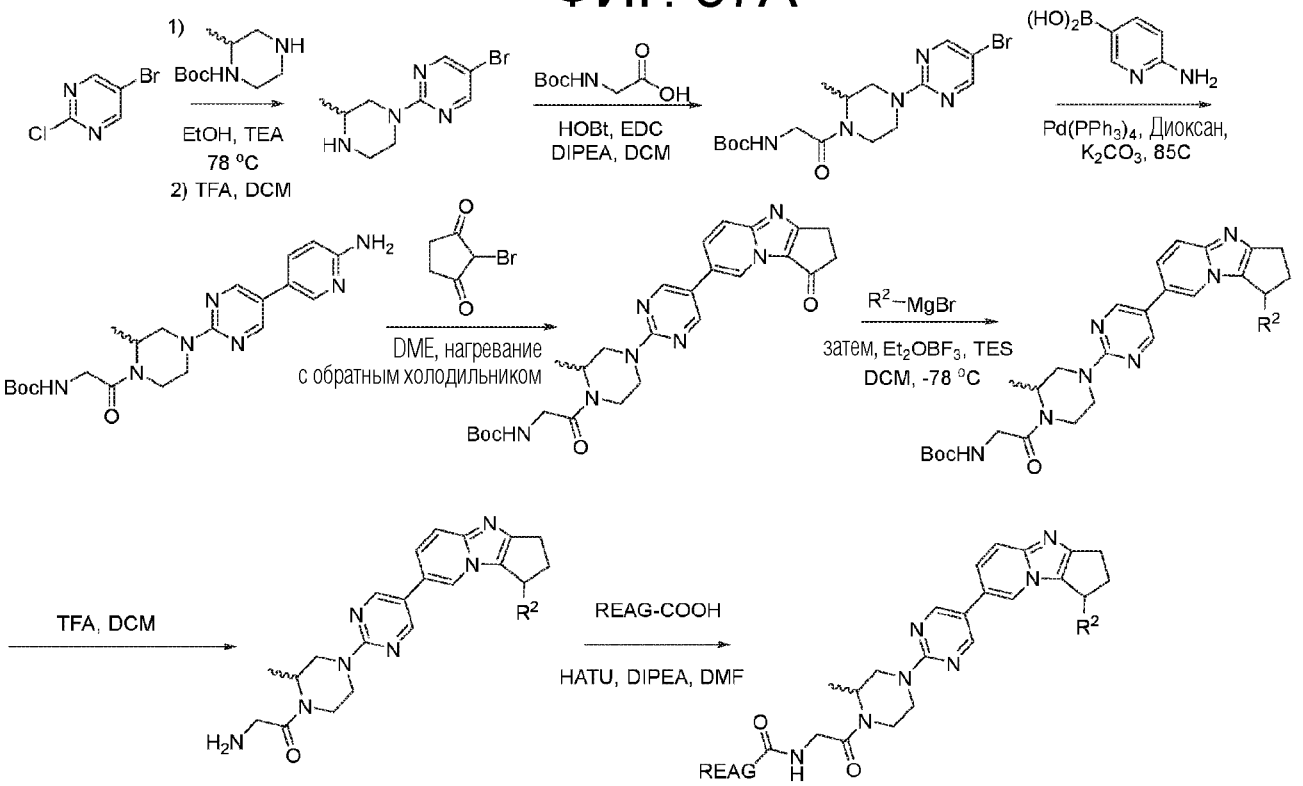
ФИГ. 56N


1) трифторуксусный ангидрид, NaOMe, MeOH, RT
2) аллиловый спирт BF3-Et2O reflux
3) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 90 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) оксалилхлорид, DCM, DMSO, NEt3, -78°
2) MeOH, K2CO3, реагент Бестманна-Охиры
1) NaH, DMF, 0°
2) mCPBA, DCM, 0°
3) BrNH2, LiClO4, MeCN, 70°
4) катализатор Линдлара, H2, MeOH
MeOH, THPTA, CuSO4,
вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

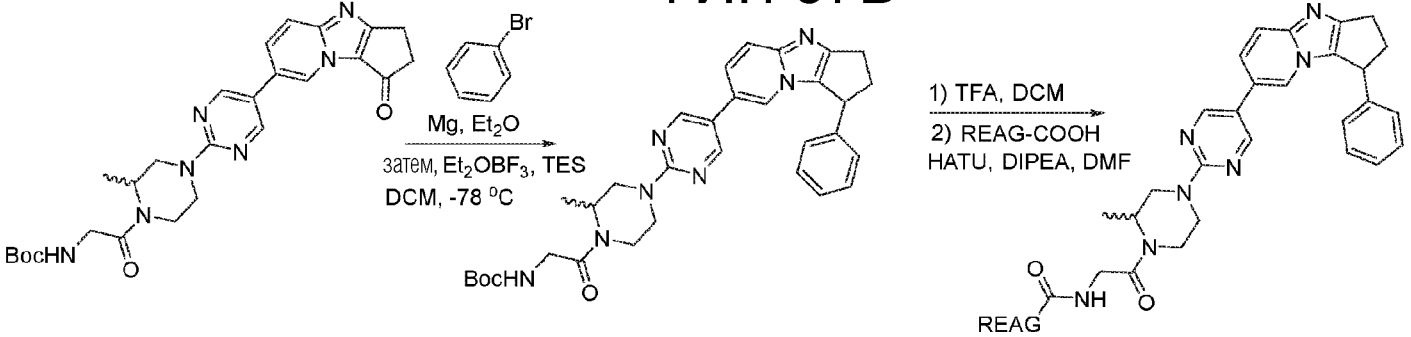
ФИГ. 56O


1) NaH, DMF, 0°
2) катализатор Линдлара, H2, MeOH
1) Ac2O,Пир
2) HCl, MeOH
3) HBTU, DIPEA, Boc-Ala-OH, DMF
4) пивалоилхлорид, пир, 0°C
1) Tf2O, пиридин
2) H2O, 80 °C
3) NaOMe, MeOH
диметоксипропан, камфорсульфоновая кислота, DMF, 70°
1) TsCl, Пир, 0°C
2) NaN3, DMF, 75°
MeOH, THPTA, CuSO4,
вода, аскорбат натрия, RT, 5час
1) HBTU, DIPEA, DMF,
2) 1M HCl

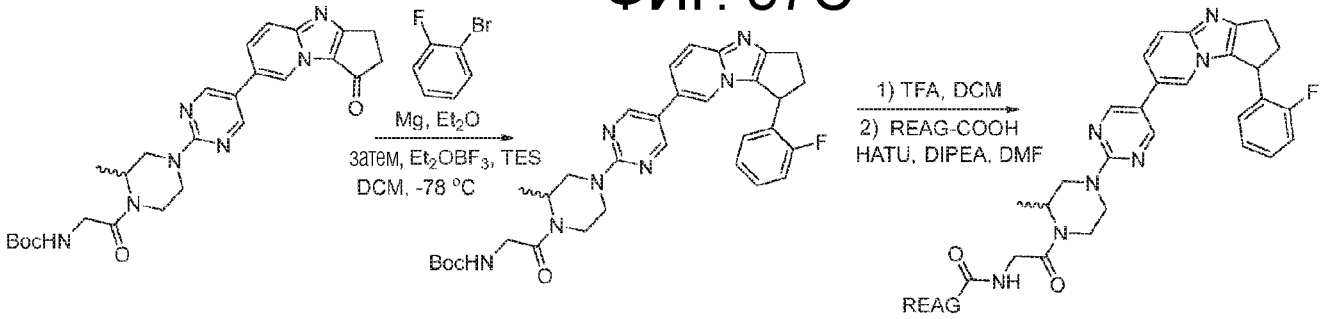
ФИГ. 57A



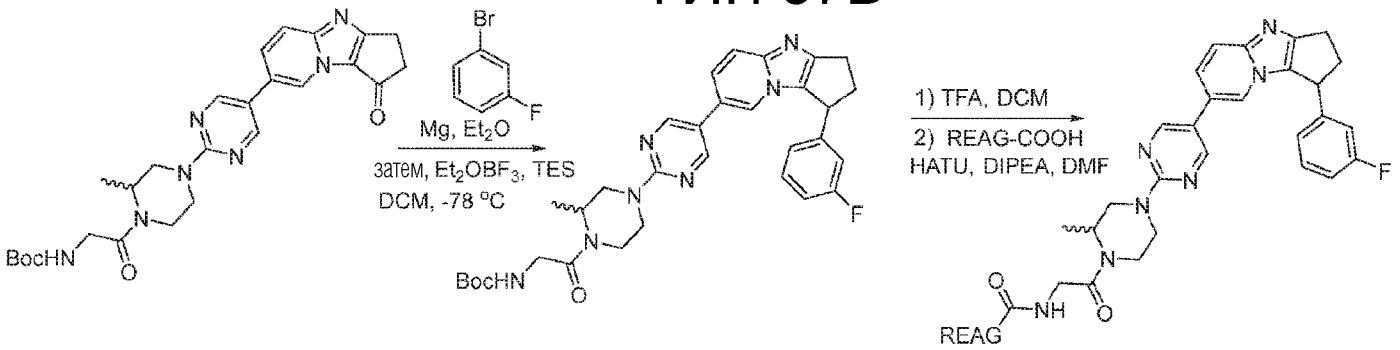
ФИГ. 57B



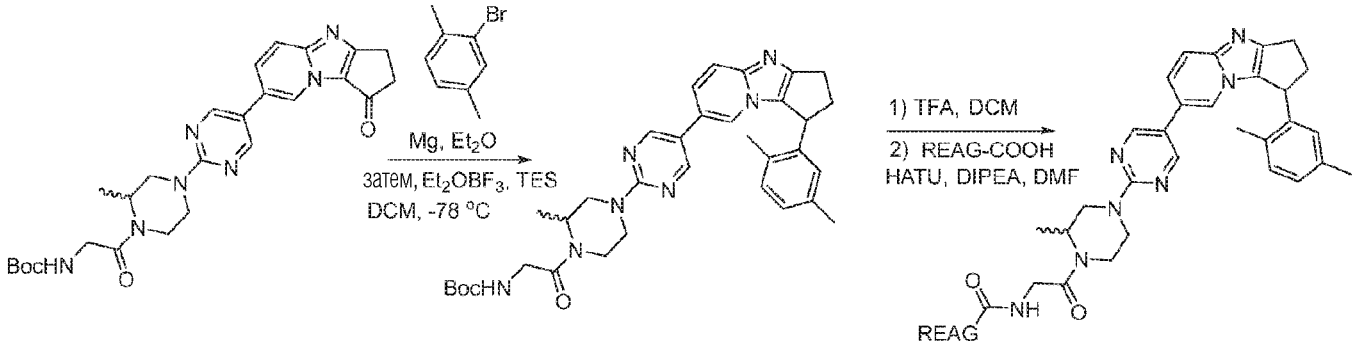
ФИГ. 57C



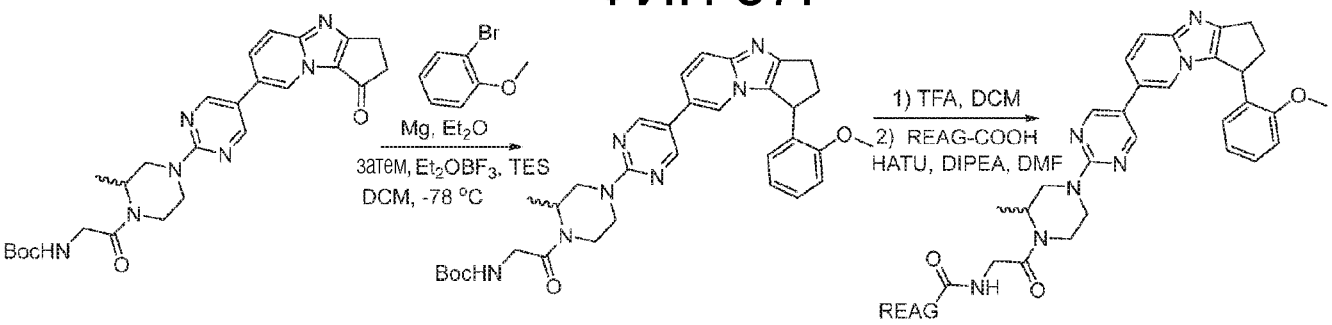
ФИГ. 57D



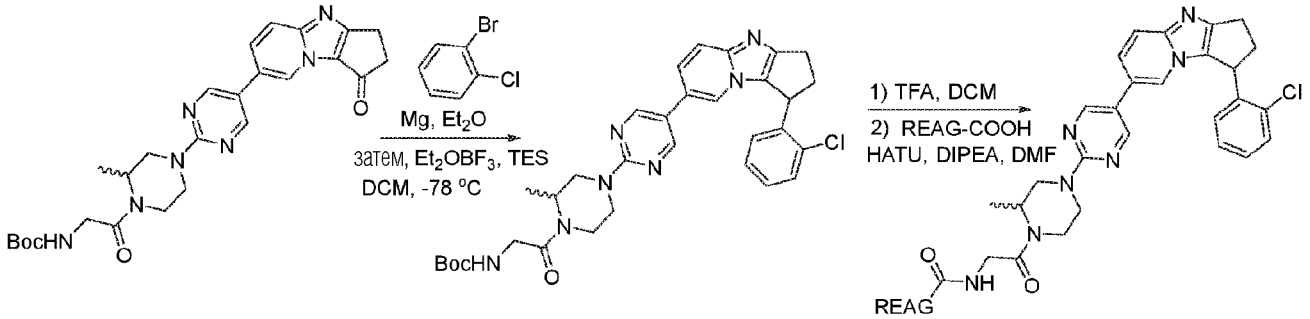
ФИГ. 57E



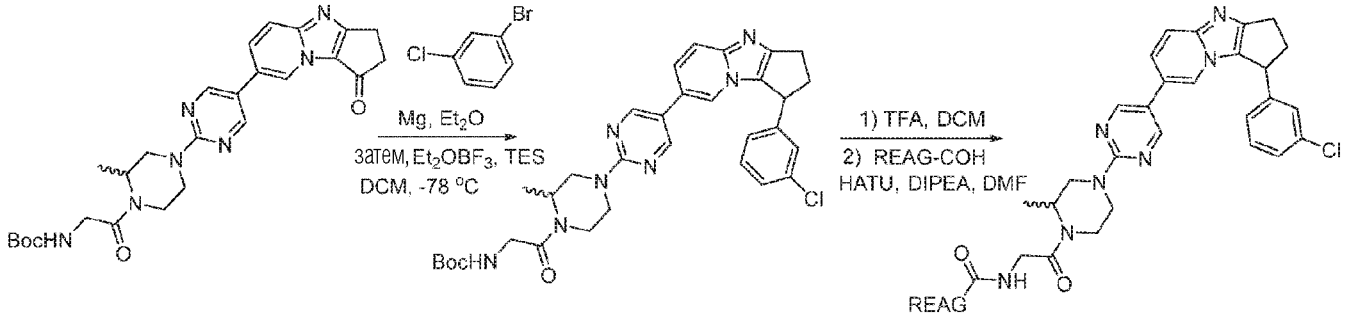
ФИГ. 57F



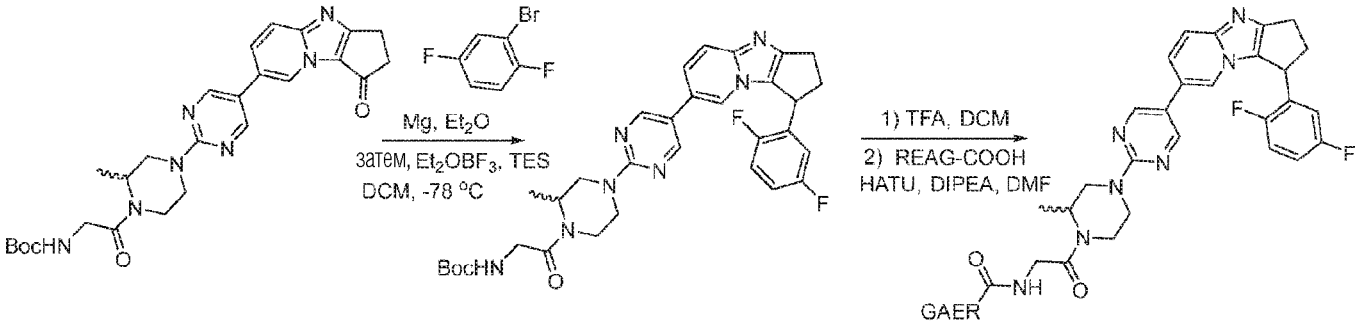
ФИГ. 57G



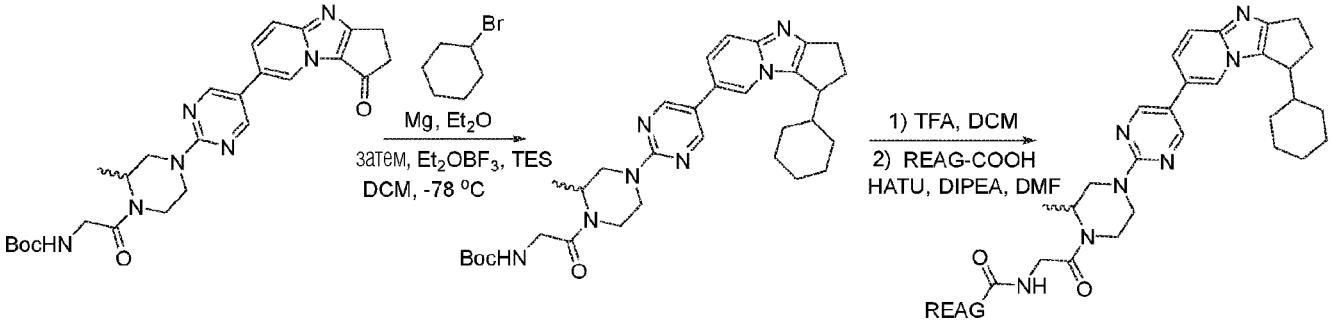
ФИГ. 57H



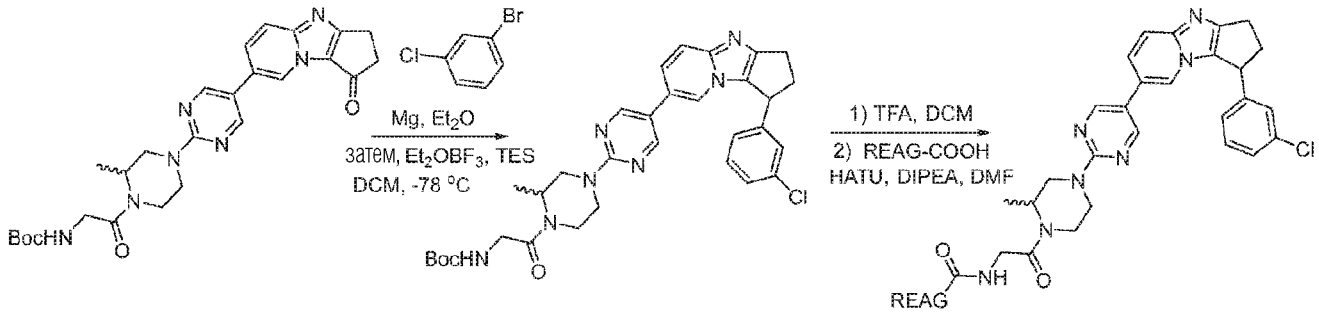
ФИГ. 57I



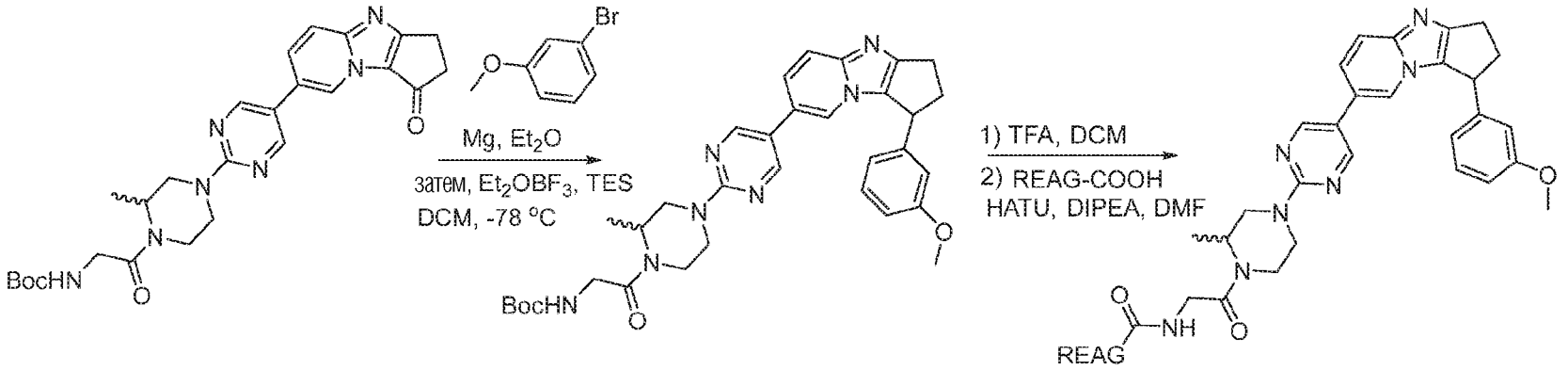
ФИГ. 57J



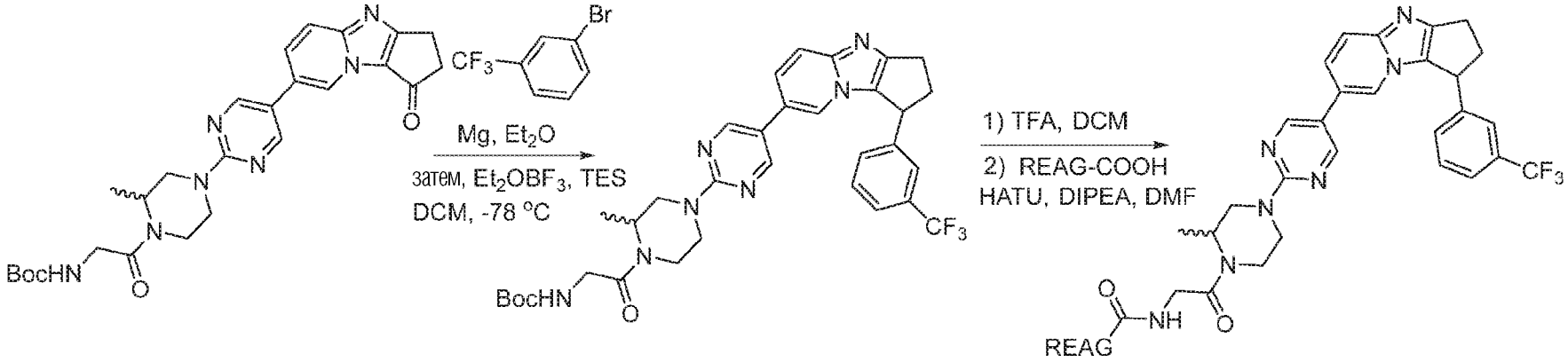
ФИГ. 57K



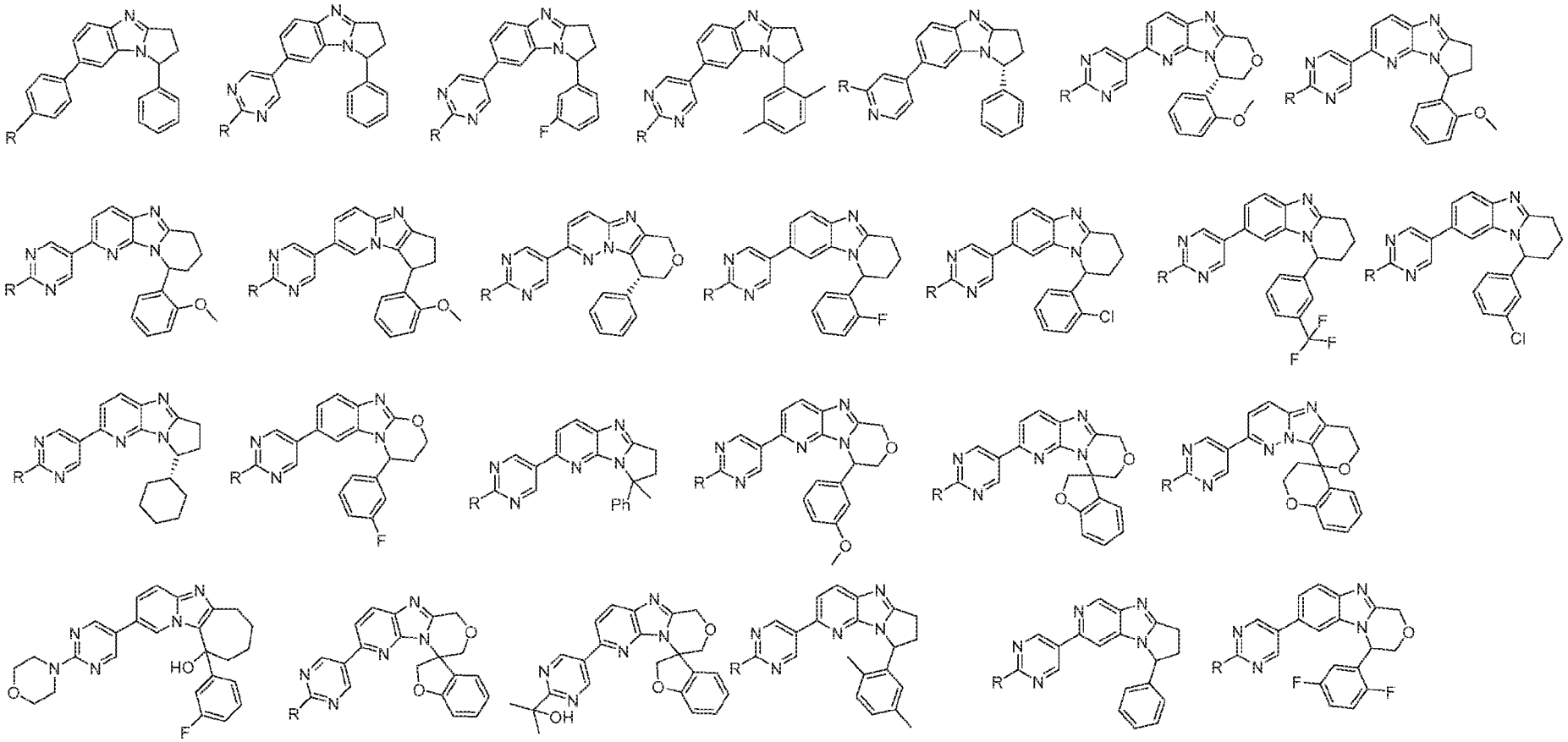
ФИГ. 57L



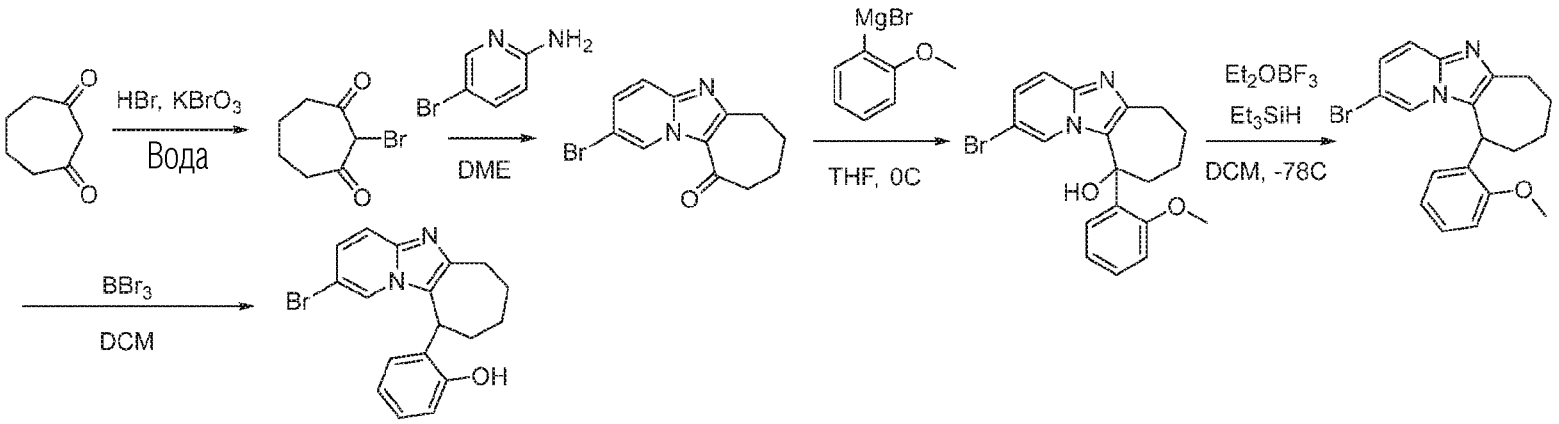
ФИГ. 57M



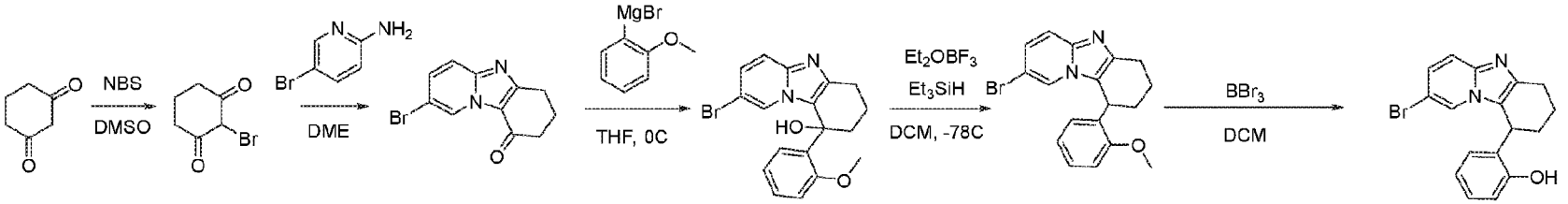
ФИГ. 58



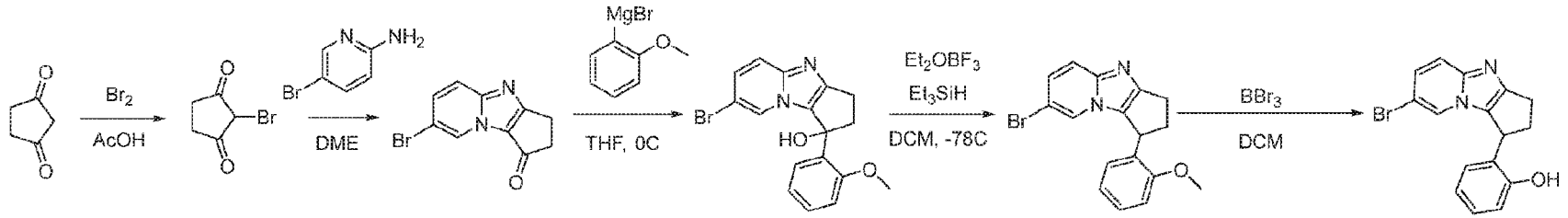
ФИГ. 59


HBr, KBrO3
Вода
DME
MgBr
THF, 0C
Et2OBF3
Et3SiH
DCM, -78C
BBr3
DCM
OR
E.g)
Pd(PPh3)4, Диоксан,
K2CO3, 85C
DME, нагревание
с обратным холодильником

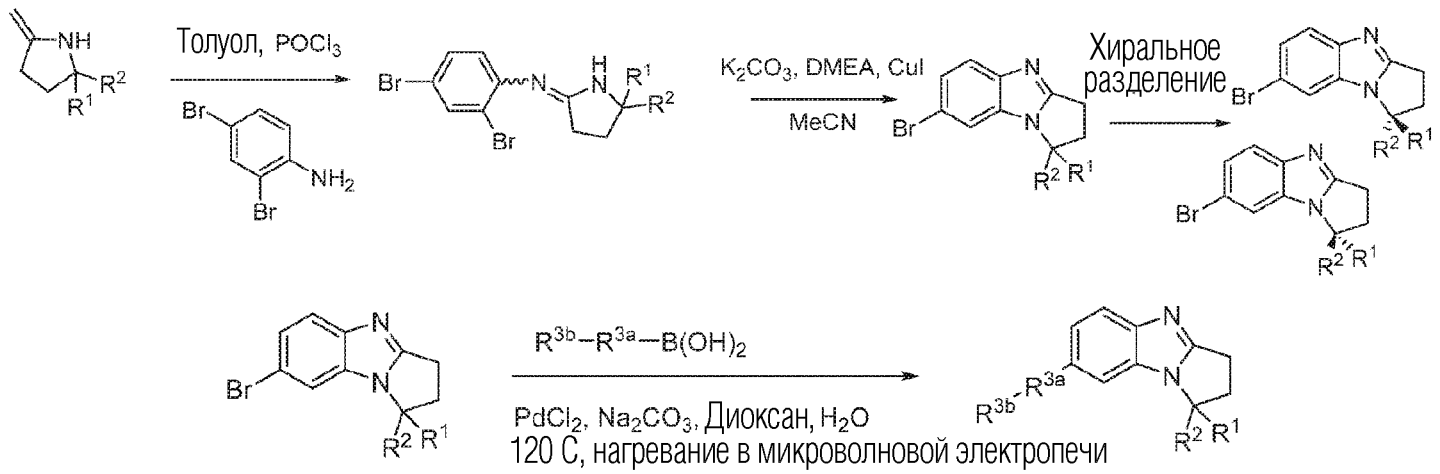
ФИГ. 60



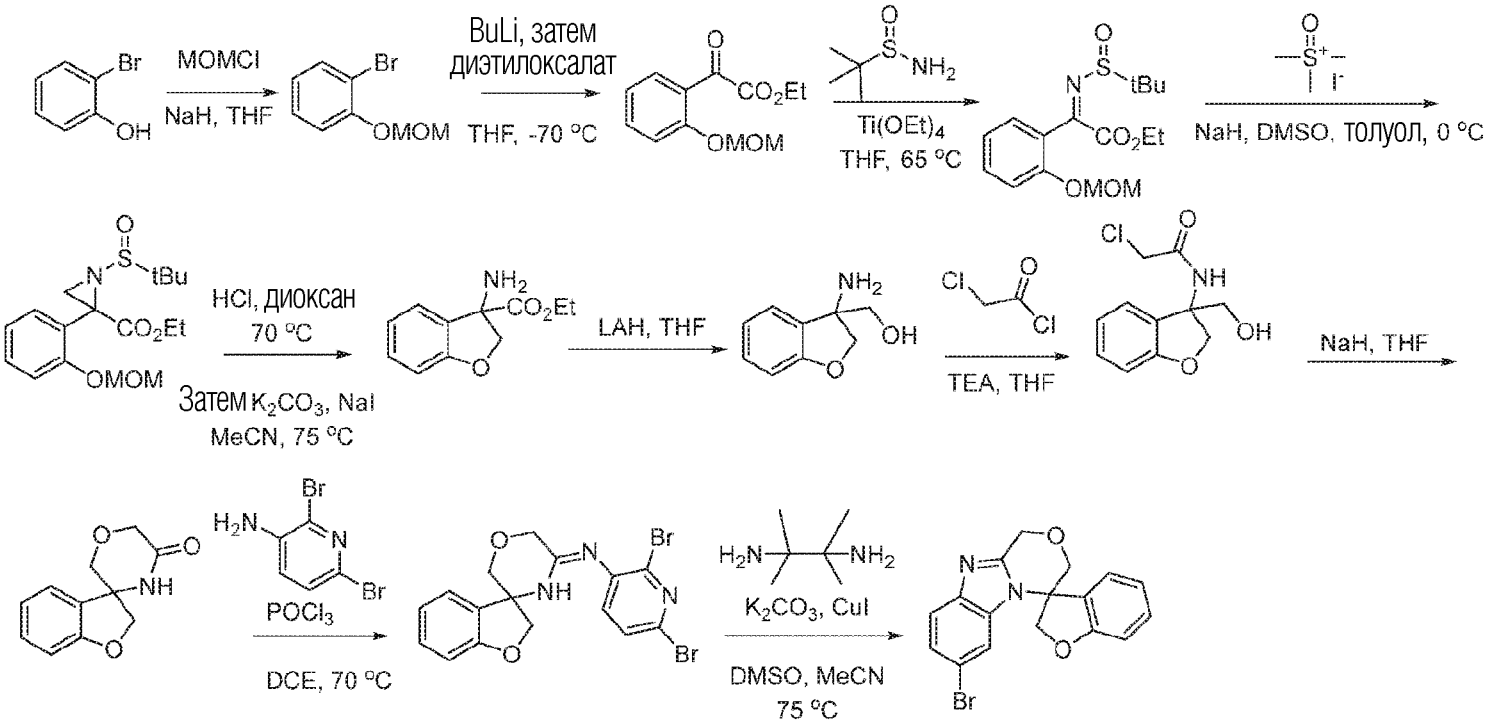
ФИГ. 61



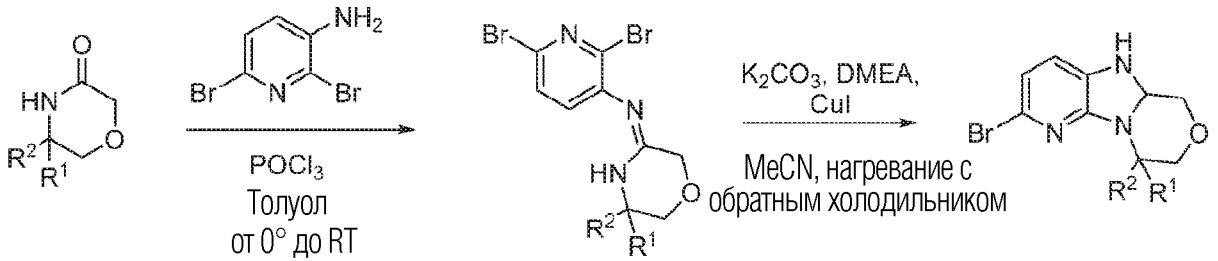
ФИГ. 62



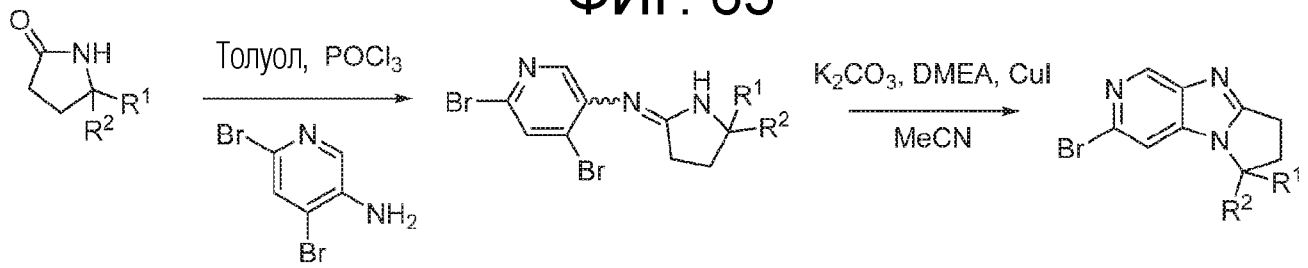
ФИГ. 63


MOMCl
NaH, THF
BuLi, затем
диэтилоксалат
THF, -70 °C
Ti(OEt)4
THF, 65 °C
NaH, DMSO, толуол, 0 °C
HCl, диоксан
70 °C
Затем K2CO3, NaI
MeCN, 75 °C
LAH, THF
TEA, THF
NaH, THF
POCl3
DCE, 70 °C
K2CO3, CuI
DMSO, MeCN
75 °C

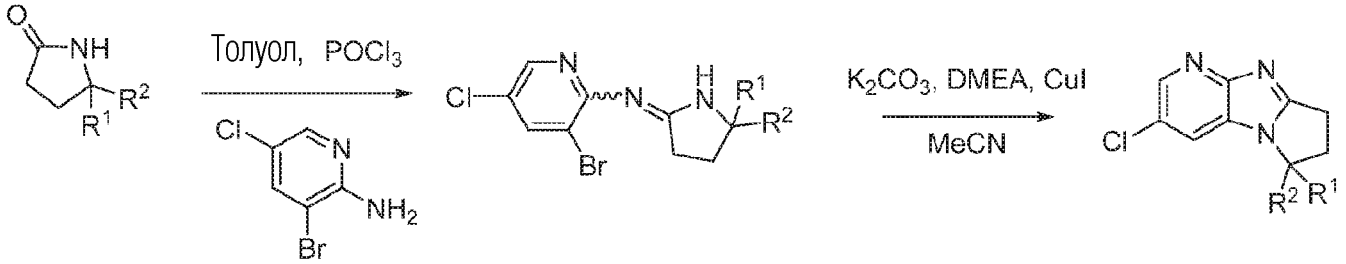
ФИГ. 64


POCl3
Толуол
от 0° до RT
K2CO3, DMEA,
CuI
MeCN, нагревание с
обратным холодильником

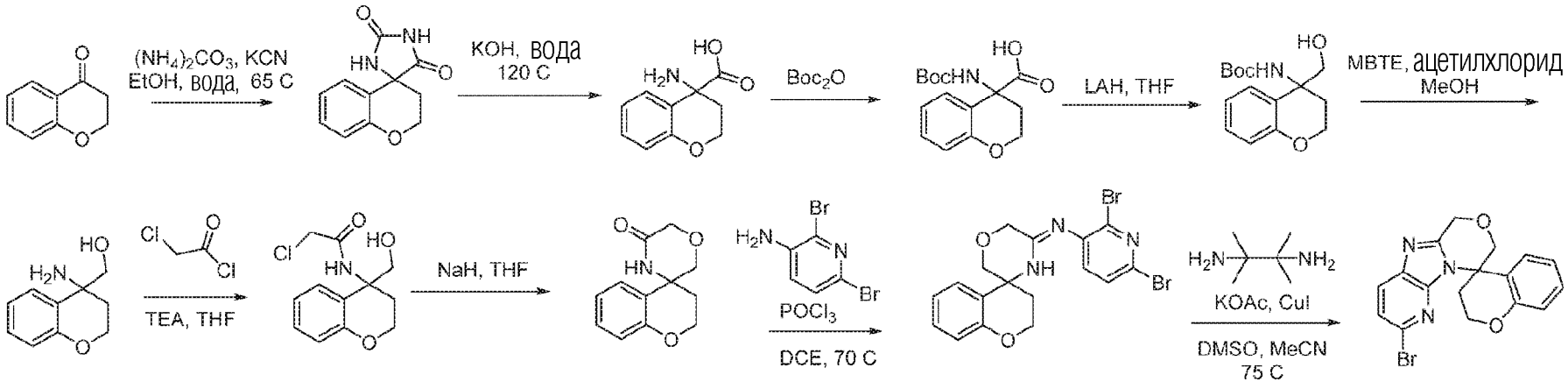
ФИГ. 65



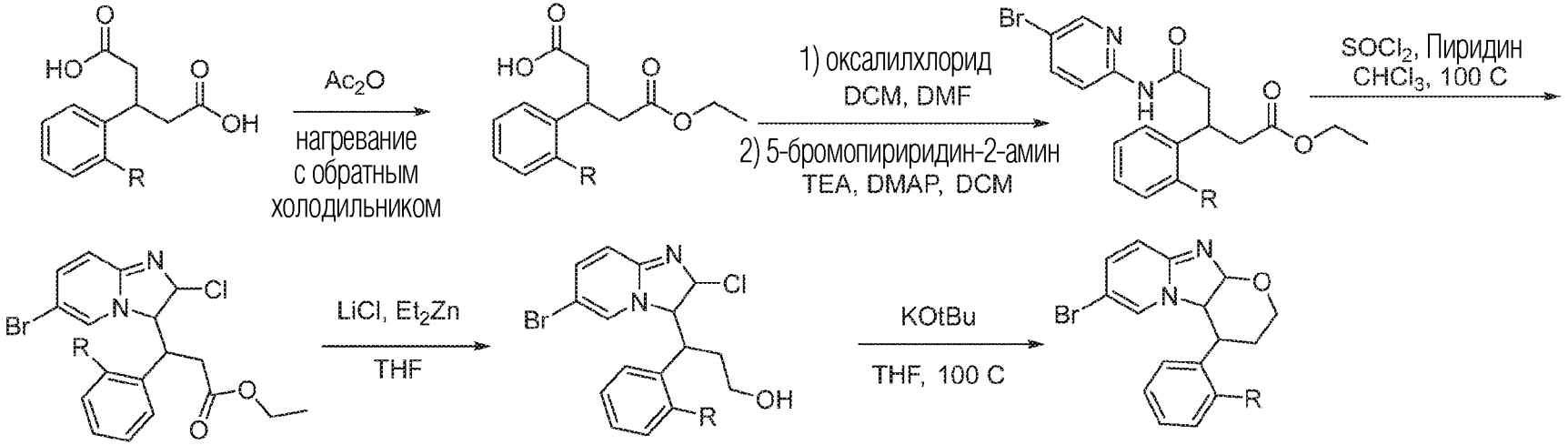
ФИГ. 66



ФИГ. 67



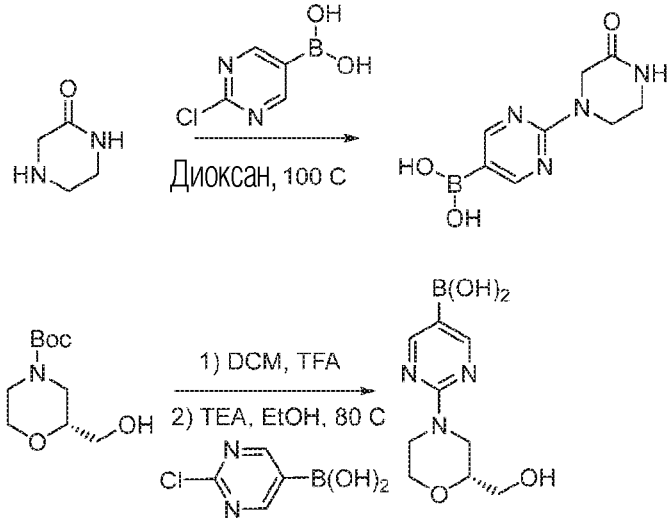
ФИГ. 68



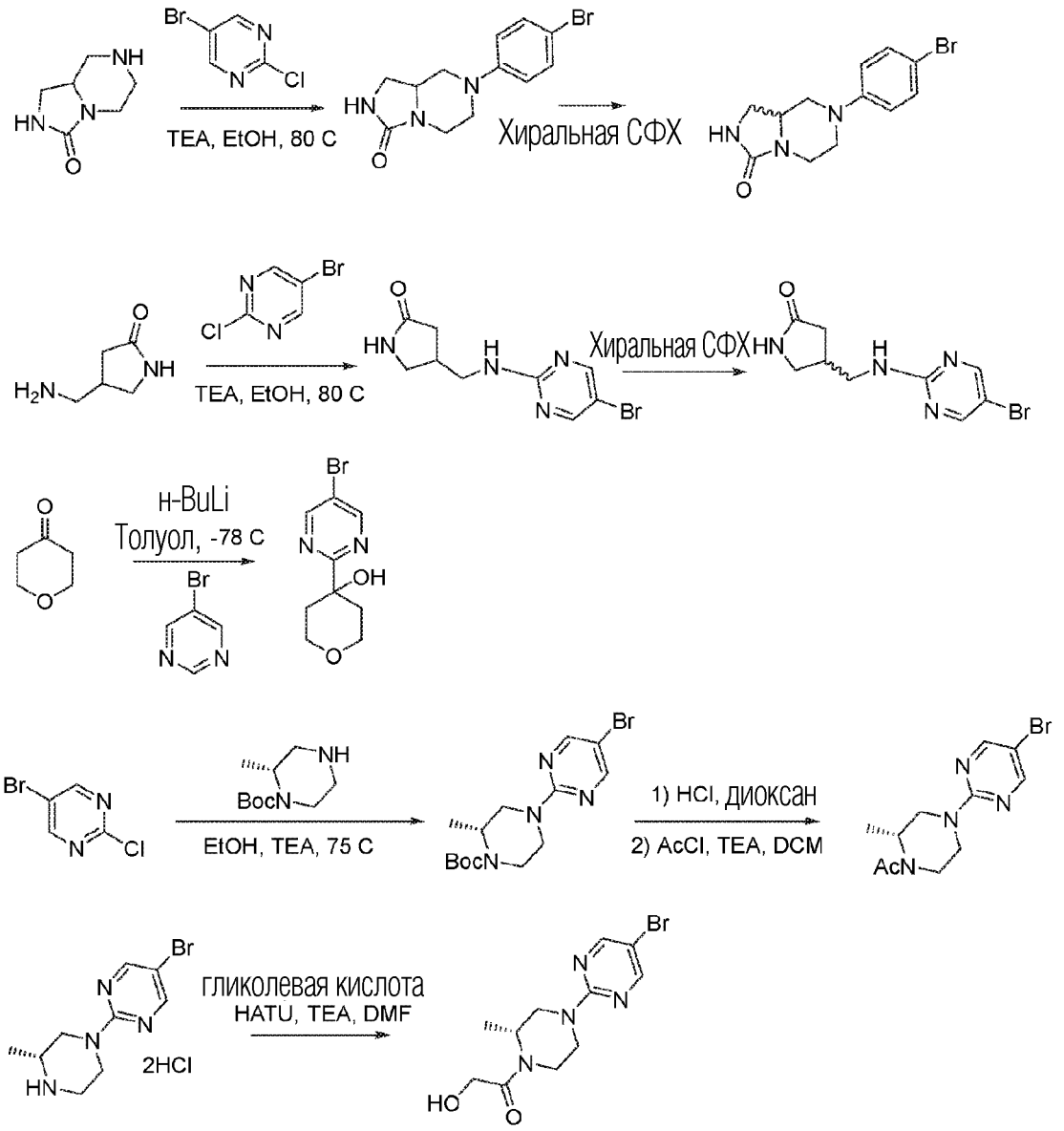
ФИГ. 69



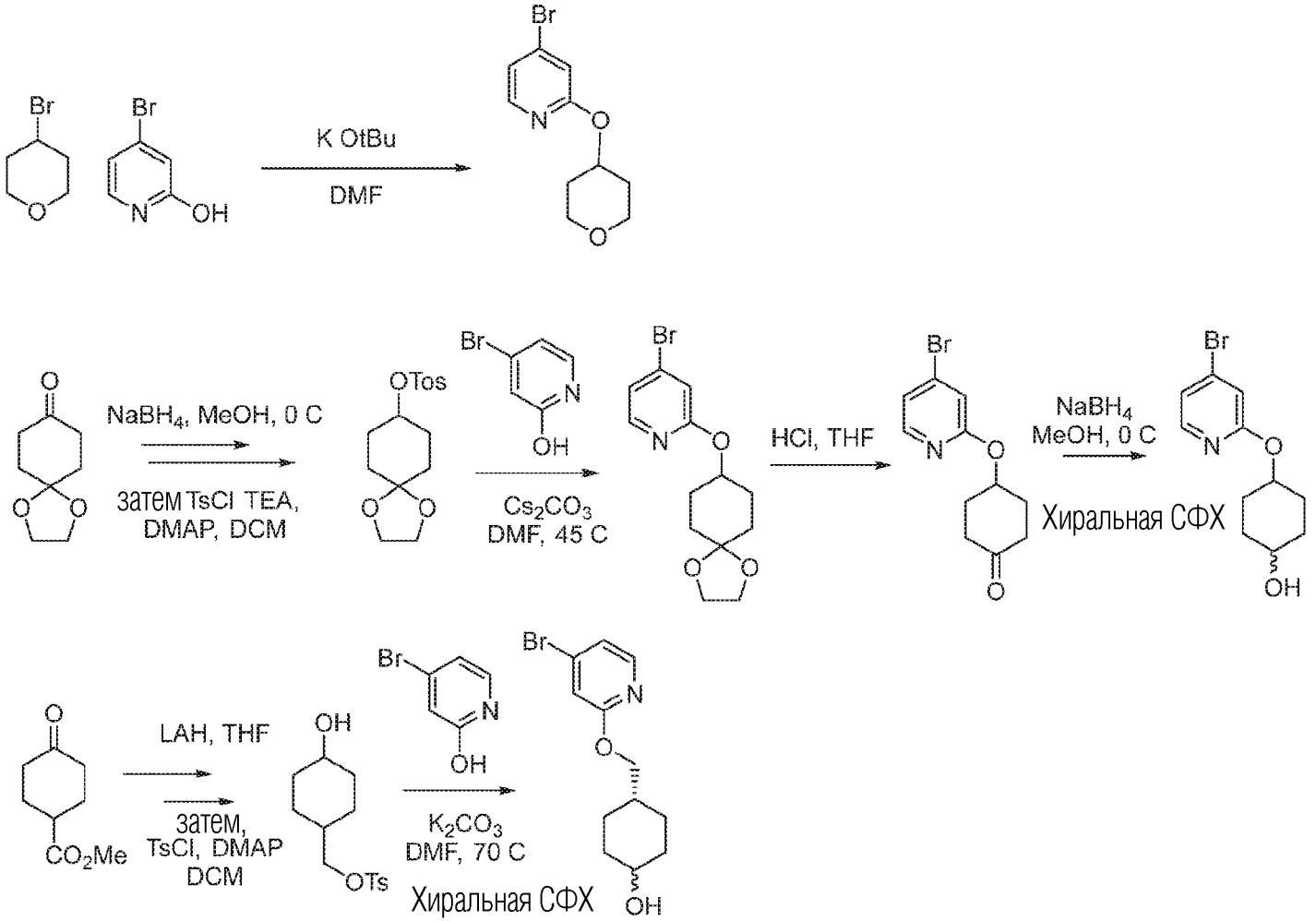
ФИГ. 70A



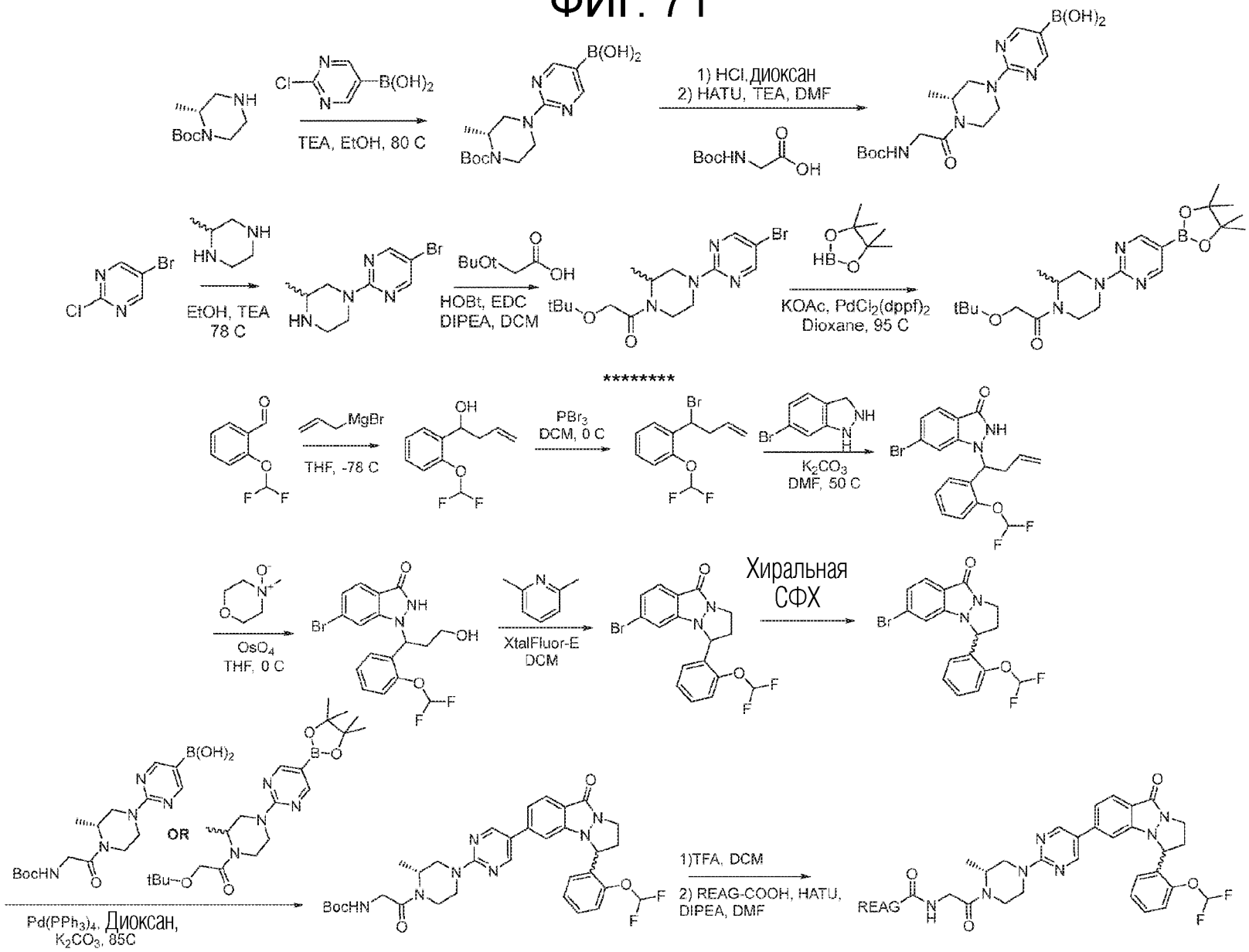
ФИГ. 70B


TEA, EtOH, 80 C
Хиральная СФХ
TEA, EtOH, 80 C
Хиральная СФХ
н-BuLi
Толуол, -78 C
EtOH, TEA, 75 C
1) HCl, диоксан
2) AcCl, TEA, DCM
2HCl
гликолевая кислота
HATU, TEA, DMF

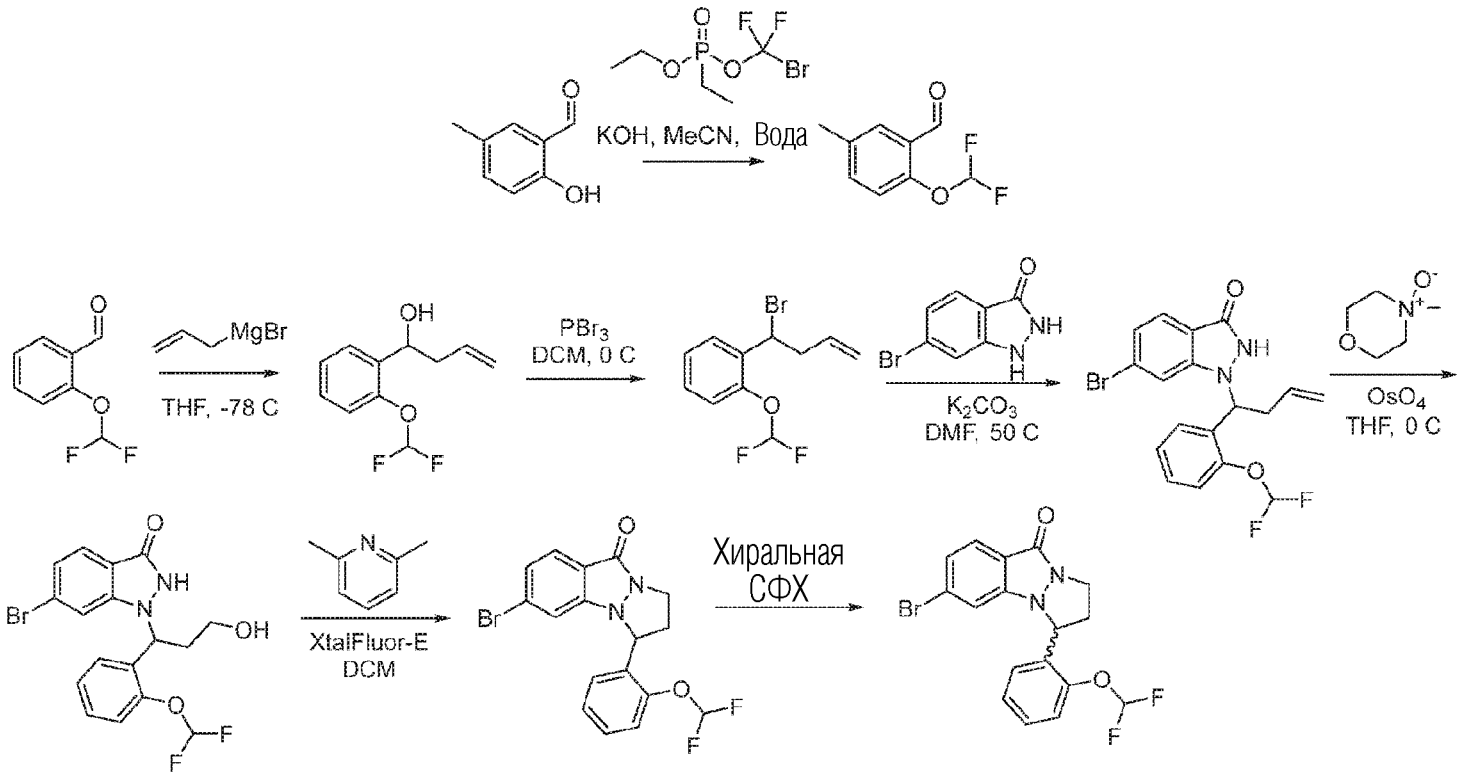
ФИГ. 70C


Br
Br
K OtBu
DMF
Br
N
O
O
O
NaBH4, MeOH, 0 C
затем TsCl TEA,
DMAP, DCM
OTos
Br
N
OH
Cs2CO3
DMF, 45 C
Br
N
O
HCl, THF
Br
N
O
O
NaBH4
MeOH, 0 C
Br
N
O
OH
Хиральная СФХ
O
CO2Me
LAH, THF
затем,
TsCl, DMAP
DCM
OH
OTs
Br
N
OH
K2CO3
DMF, 70 C
Br
N
O
OH
Хиральная СФХ

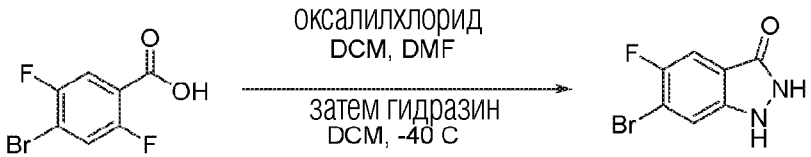
ФИГ. 71


TEA, EtOH, 80 C
1) HCl, Диоксан
2) HATU, TEA, DMF
EtOH, TEA
78 C
HOBt, EDC
DIPEA, DCM
KOAc, PdCl2(dppf)2
Dioxane, 95 C
****
THF, -78 C
PBr3
DCM, 0 C
K2CO3
DMF, 50 C
OsO4
THF, 0 C
XtalFluor-E
DCM
Хиральная
СФХ
OR
Pd(PPh3)4, Диоксан,
K2CO3, 85C
1)TFA, DCM
2) REAG-COOH, HATU,
DIPEA, DMF

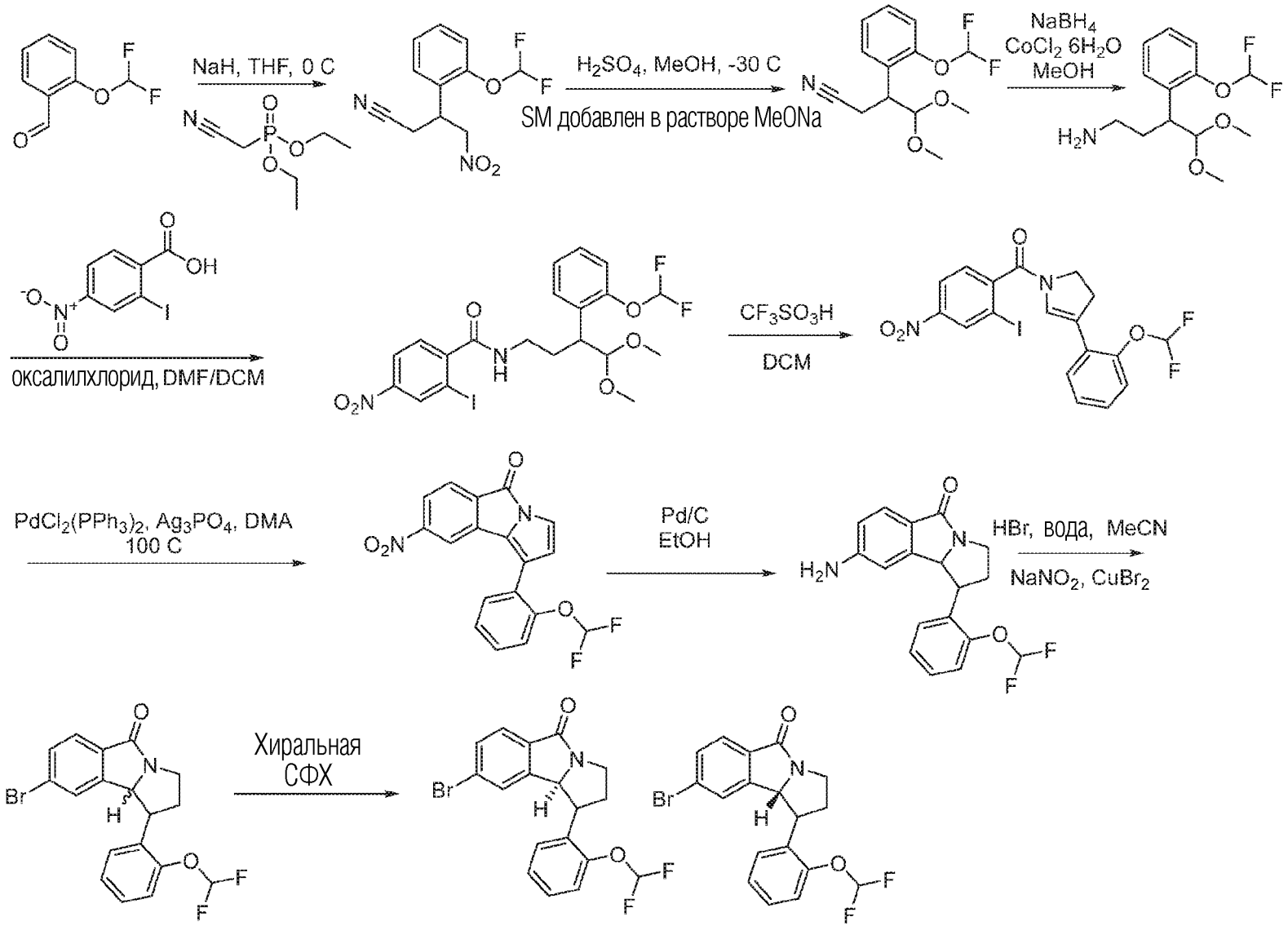
ФИГ. 72



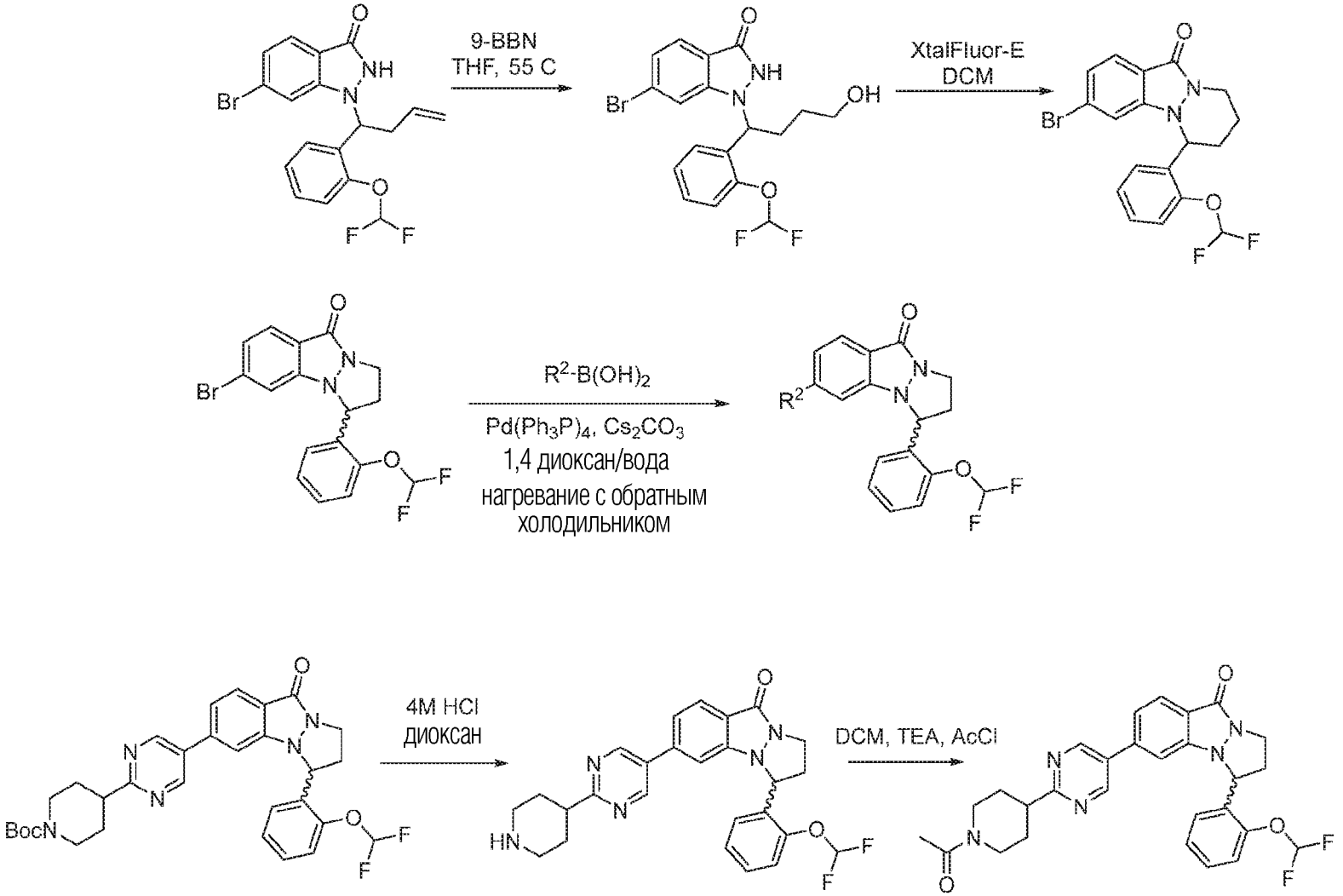
Фторированный аналог может быть получен с использованием исходного материала:



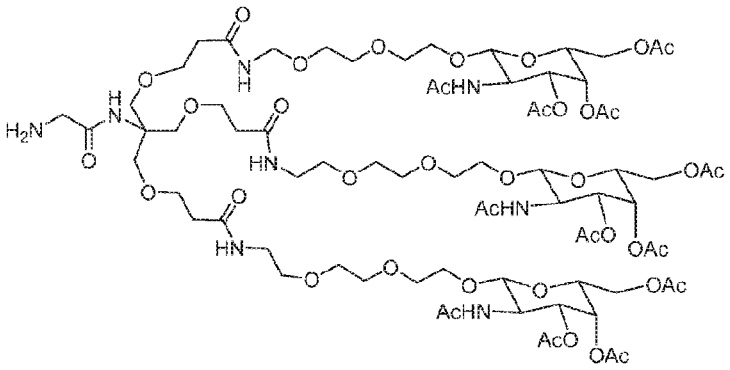
ФИГ. 73


NaH, THF, 0 C
H_2SO_4, MeOH, -30 C
SM добавлен в растворе MeONa
$NaBH_4$
$CoCl_2$ $6H_2O$
MeOH
оксалилхлорид, DMF/DCM
CF_3SO_3H
DCM
$PdCl_2(PPh_3)_2$, Ag_3PO_4, DMA
100 C
Pd/C
EtOH
HBr, вода, MeCN
$NaNO_2$, $CuBr_2$
Хиральная
СФХ

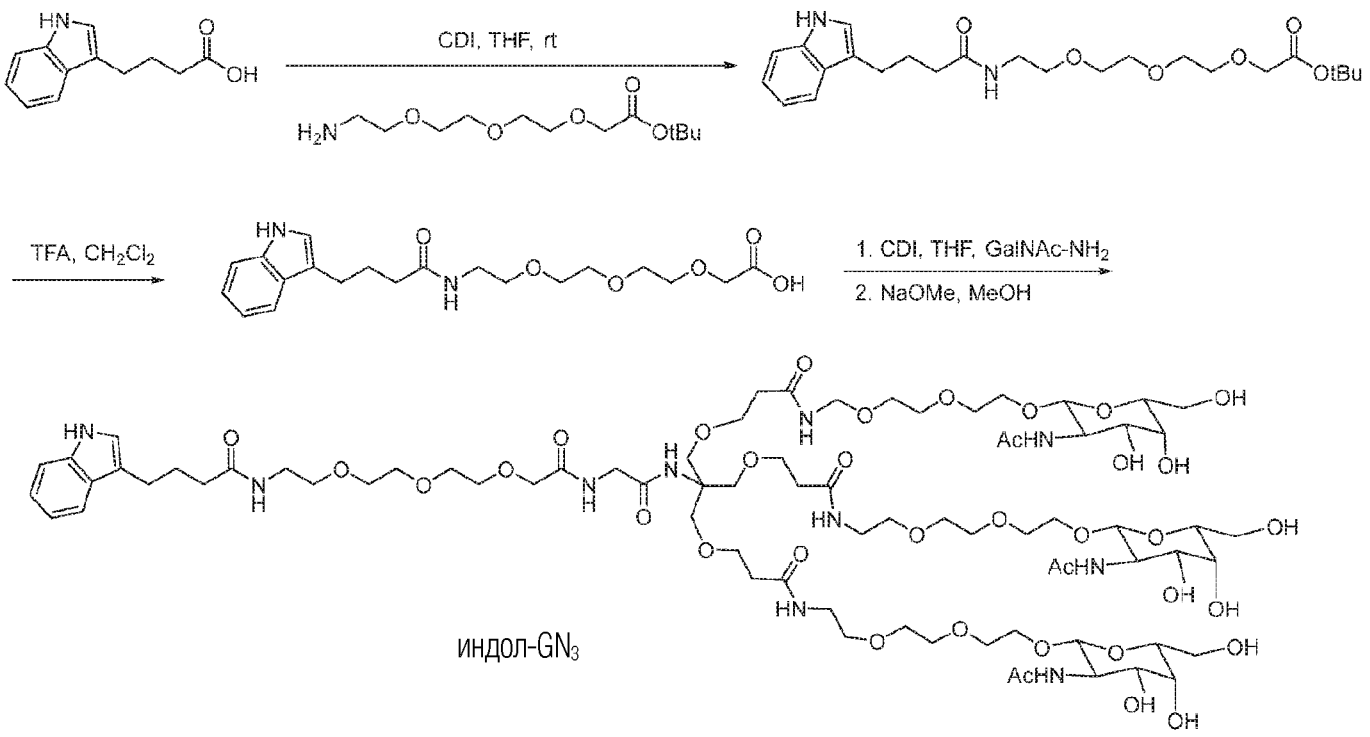
ФИГ. 74


9-BBN
THF, 55 C
XtalFluor-E
DCM
R2-B(OH)2
Pd(Ph3P)4, Cs2CO3
1,4 диоксан/вода
нагревание с обратным холодильником
4M HCl
диоксан
DCM, TEA, AcCl

ФИГ. 75

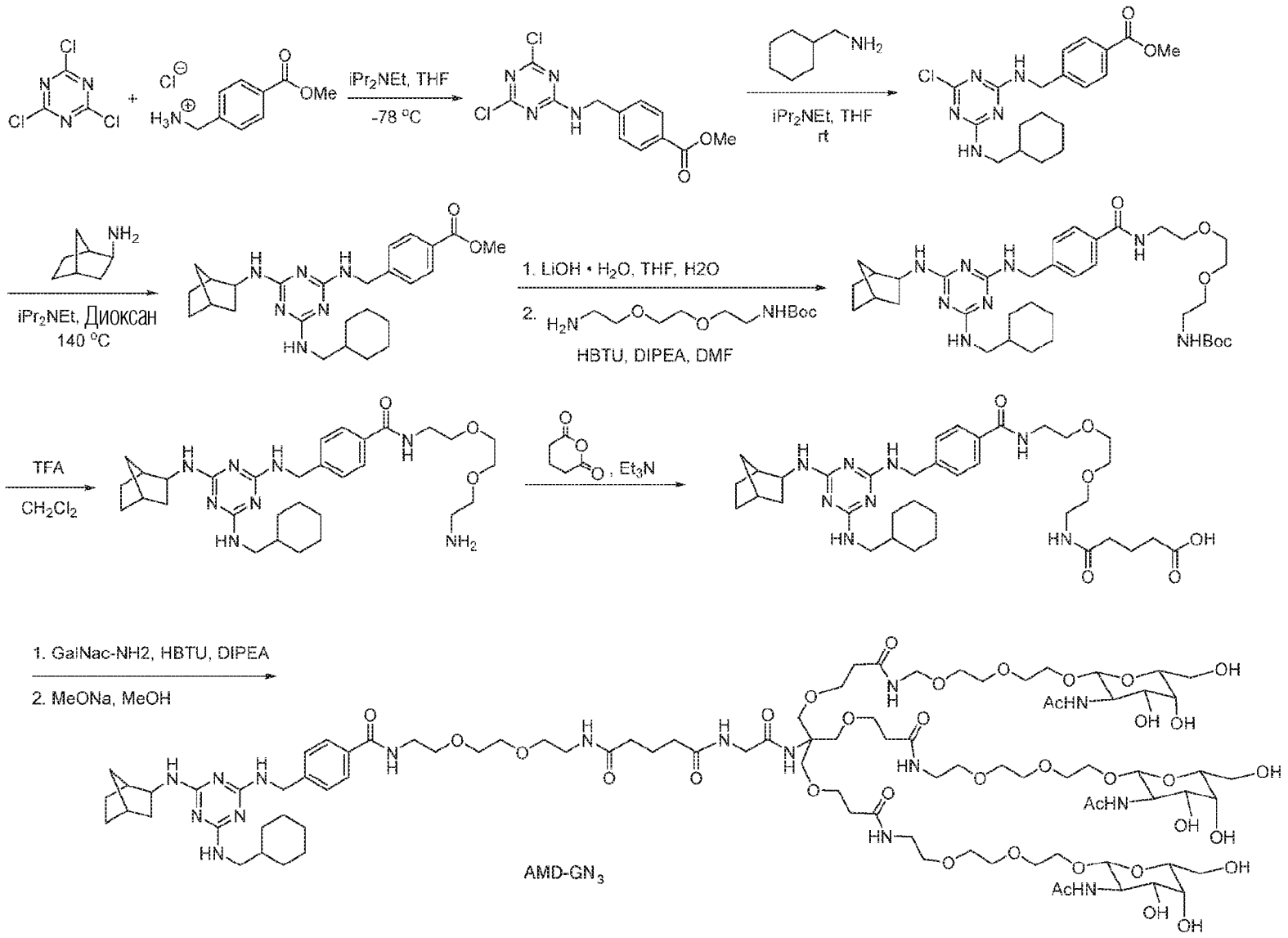


ФИГ. 76

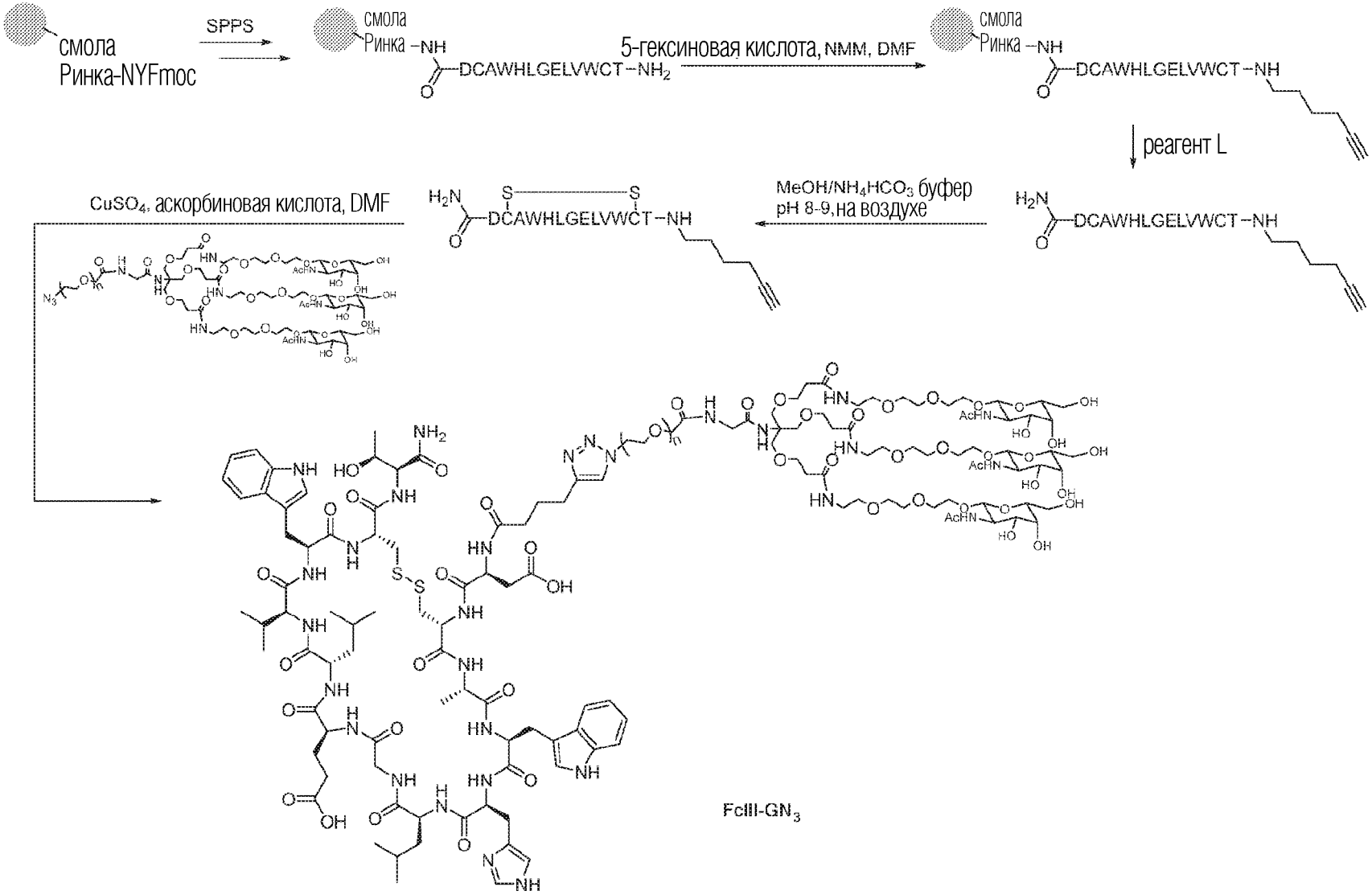


индол-GN_3

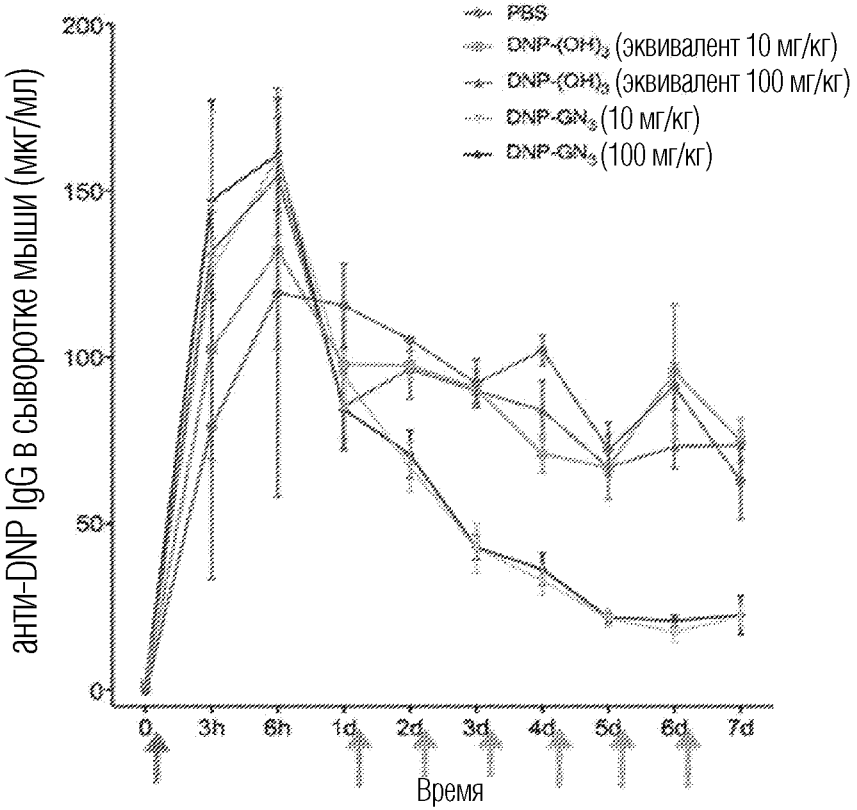
ФИГ. 77


iPr2NEt, THF
-78 °C
iPr2NEt, THF
rt
iPr2NEt, Диоксан
140 °C
1. LiOH • H2O, THF, H2O
2.
HBTU, DIPEA, DMF
TFA
CH2Cl2
, Et3N
1. GalNac-NH2, HBTU, DIPEA
2. MeONa, MeOH
AMD-GN3

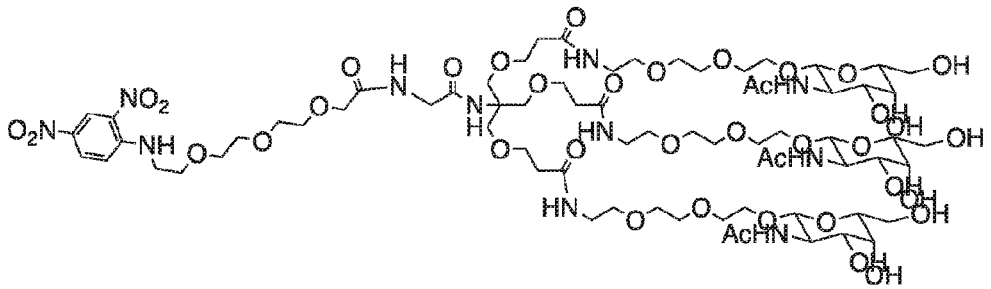
ФИГ. 78


смола Ринка-NYFmoc
SPPS
смола Ринка –NH
DCAWHLGELVWCT–NH2
5-гексиновая кислота, NMM, DMF
смола Ринка –NH
DCAWHLGELVWCT–NH
реагент L
MeOH/NH4HCO3 буфер pH 8-9, на воздухе
DCAWHLGELVWCT–NH
CuSO4, аскорбиновая кислота, DMF
FcIII-GN3

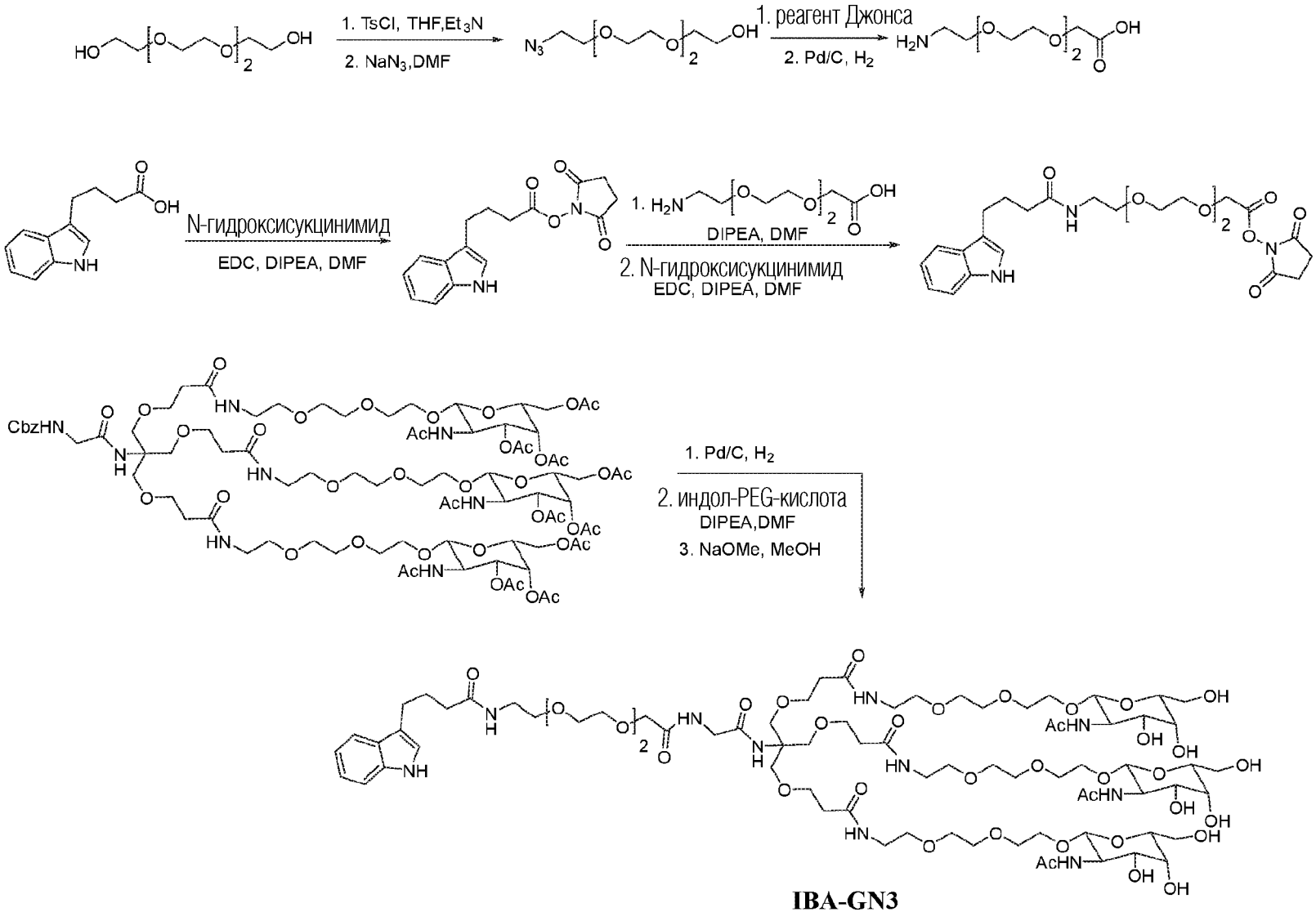
ФИГ. 79A



ФИГ. 79B

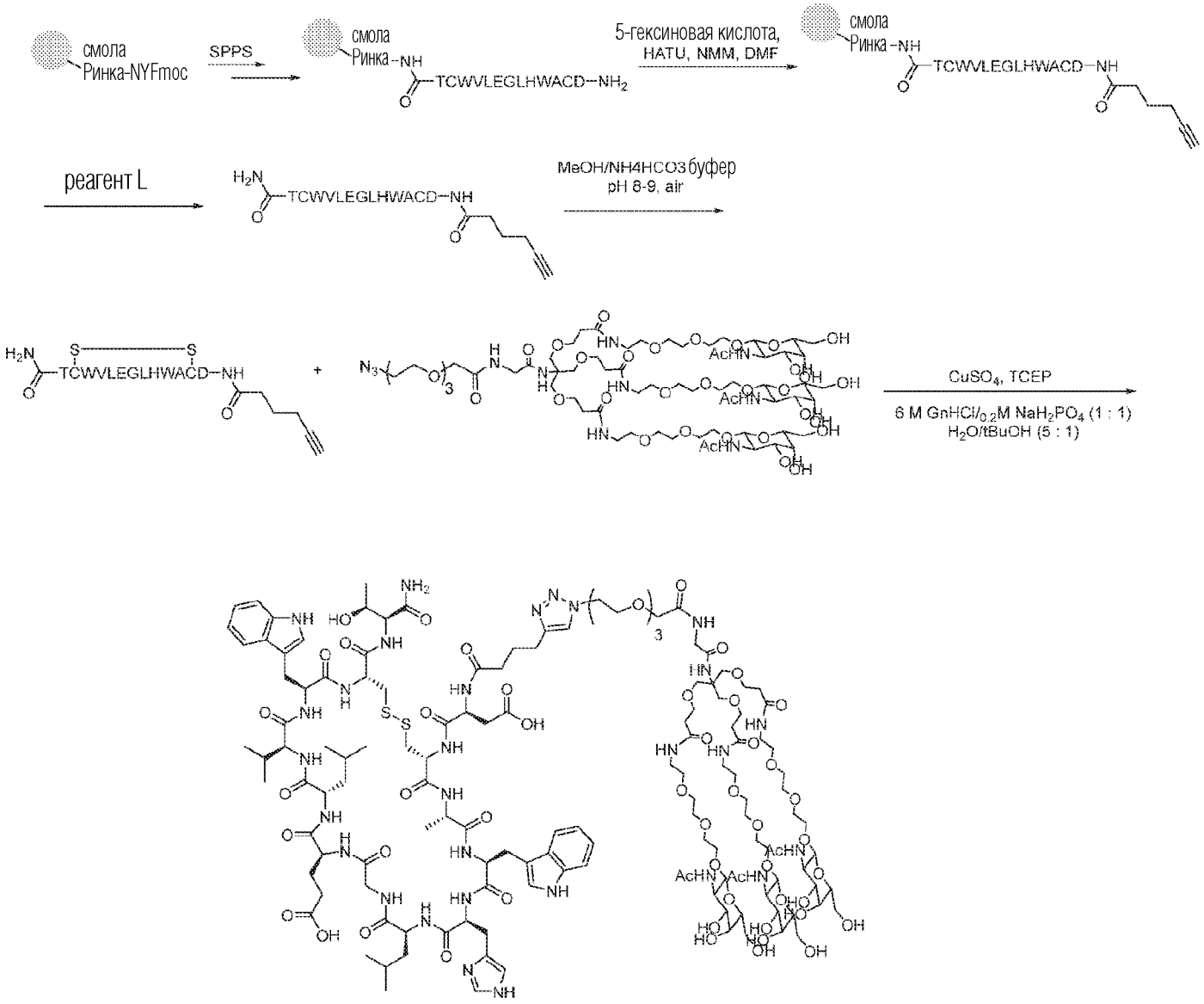


ФИГ. 80

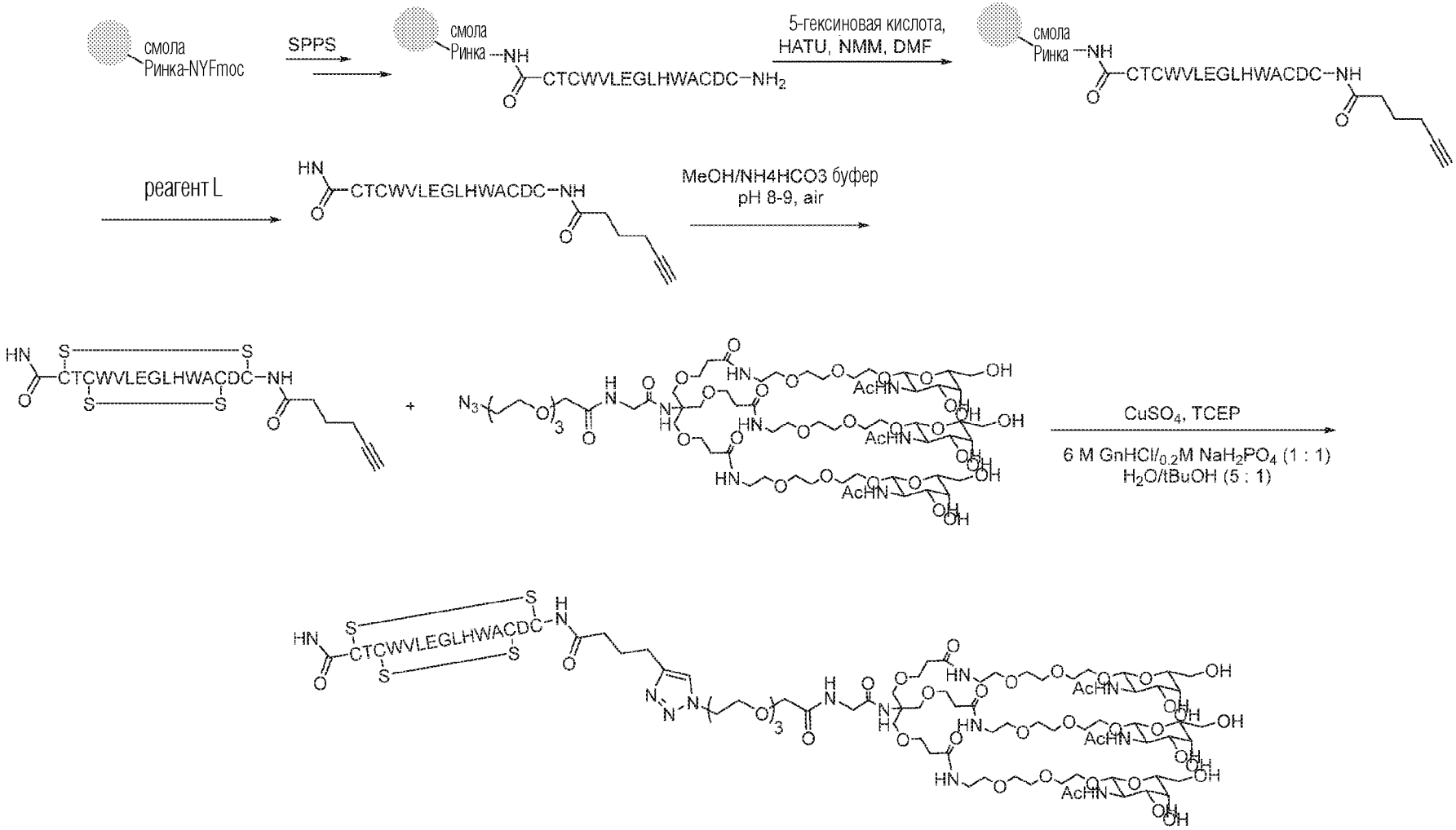


IBA-GN3

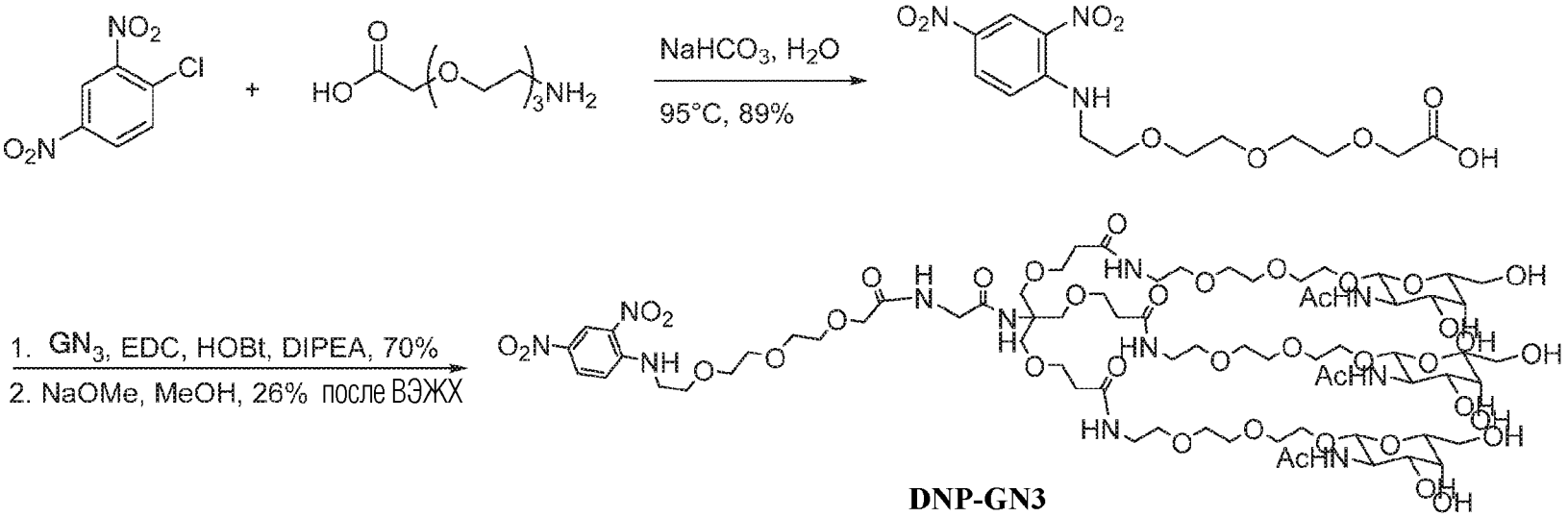
ФИГ. 81


смола Ринка-NYFmoc
SPPS
смола Ринка-NH
TCWVLEGLHWACD-NH2
5-гексиновая кислота, HATU, NMM, DMF
смола Ринка-NH
TCWVLEGLHWACD-NH
реагент L
H2N
TCWVLEGLHWACD-NH
MeOH/NH4HCO3 буфер pH 8-9, air
CuSO4, TCEP
6 M GnHCl/0.2M NaH2PO4 (1 : 1)
H2O/tBuOH (5 : 1)

ФИГ. 82

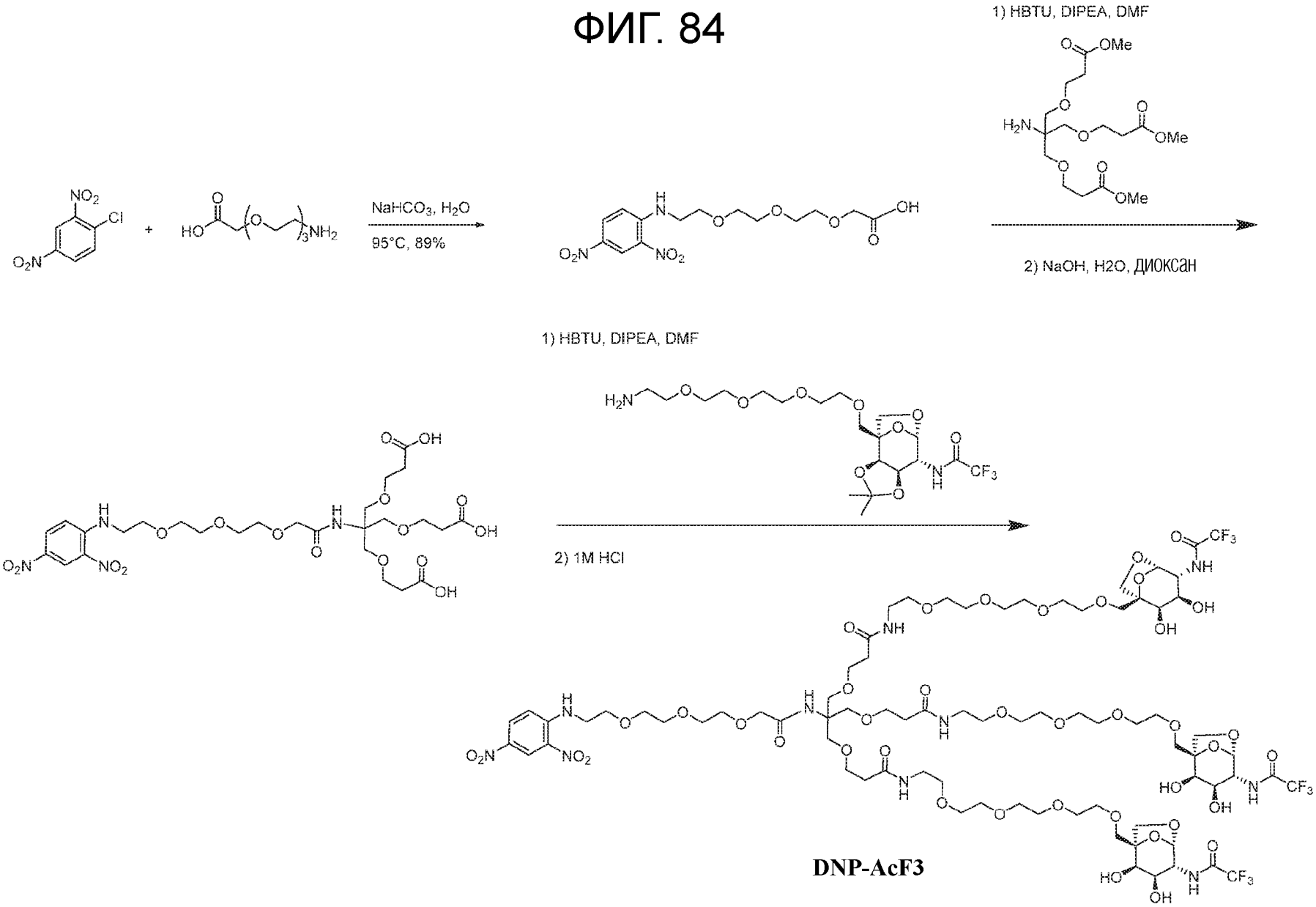

смола
Ринка-NYFmoc
SPPS
смола
Ринка
NH
CTCWVLEGLHWACDC–NH2
5-гексиновая кислота,
HATU, NMM, DMF
смола
Ринка
NH
CTCWVLEGLHWACDC–NH
реагент L
HN
CTCWVLEGLHWACDC–NH
MeOH/NH4HCO3 буфер
pH 8-9, air
HN
S
CTCWVLEGLHWACDC–NH
+
N3
AcHN
OH
CuSO4, TCEP
6 M GnHCl/0,2M NaH2PO4 (1 : 1)
H2O/tBuOH (5 : 1)

ФИГ. 83



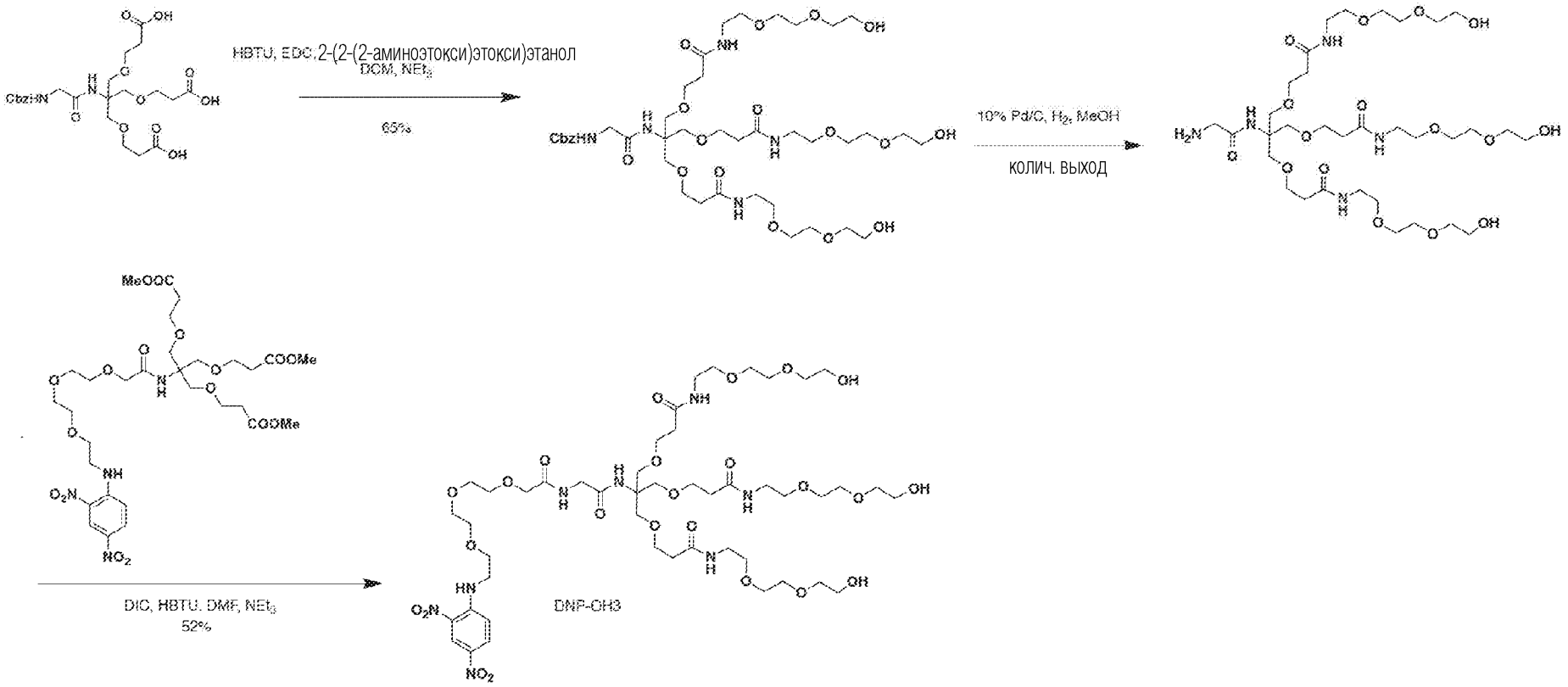
DNP-GN3

ФИГ. 84

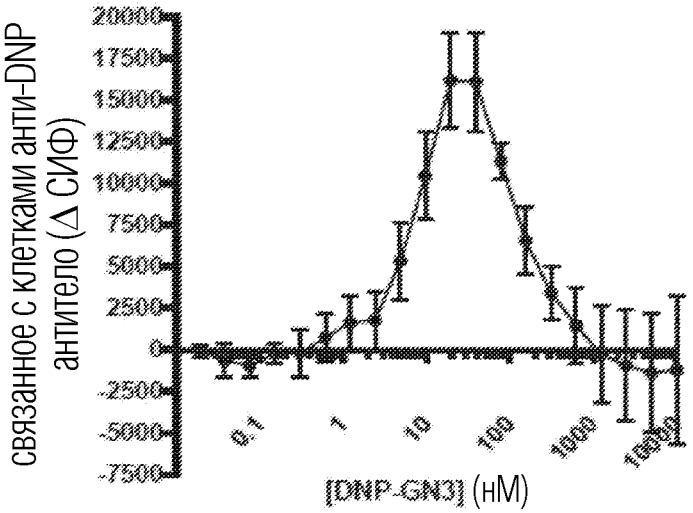


DNP-AcF3

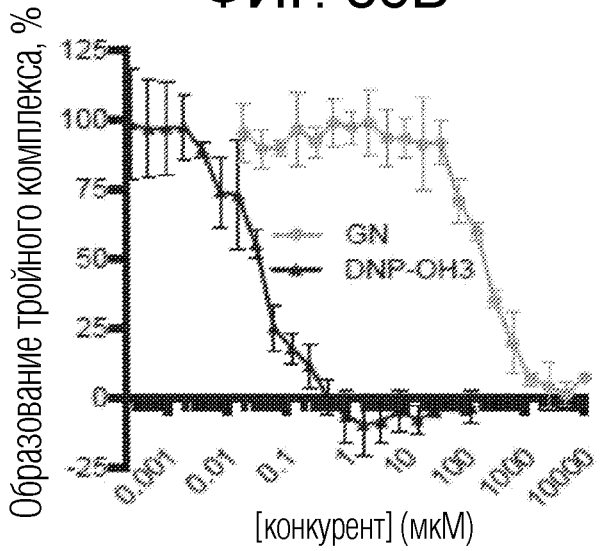
ФИГ. 85


HBTU, EDC, 2-(2-(2-аминоэтокси)этокси)этанол
DCM, NEt3
65%
10% Pd/C, H2, MeOH
КОЛИЧ. ВЫХОД
DIC, HBTU, DMF, NEt3
52%
DNP-OH3

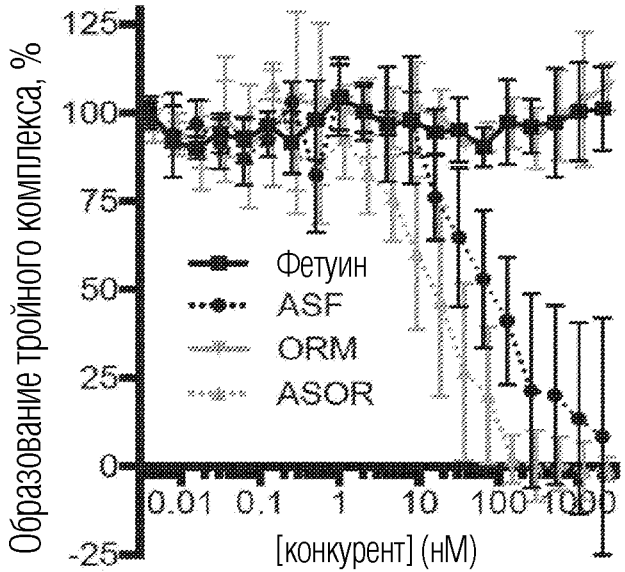
ФИГ. 86A



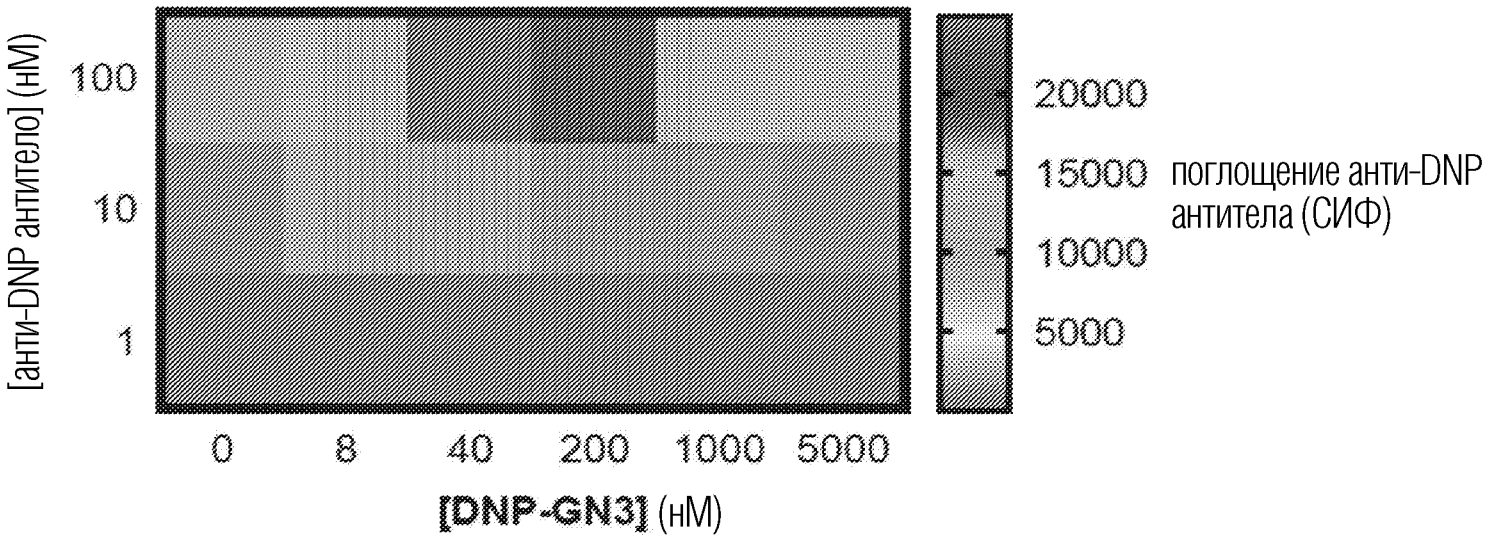
ФИГ. 86B



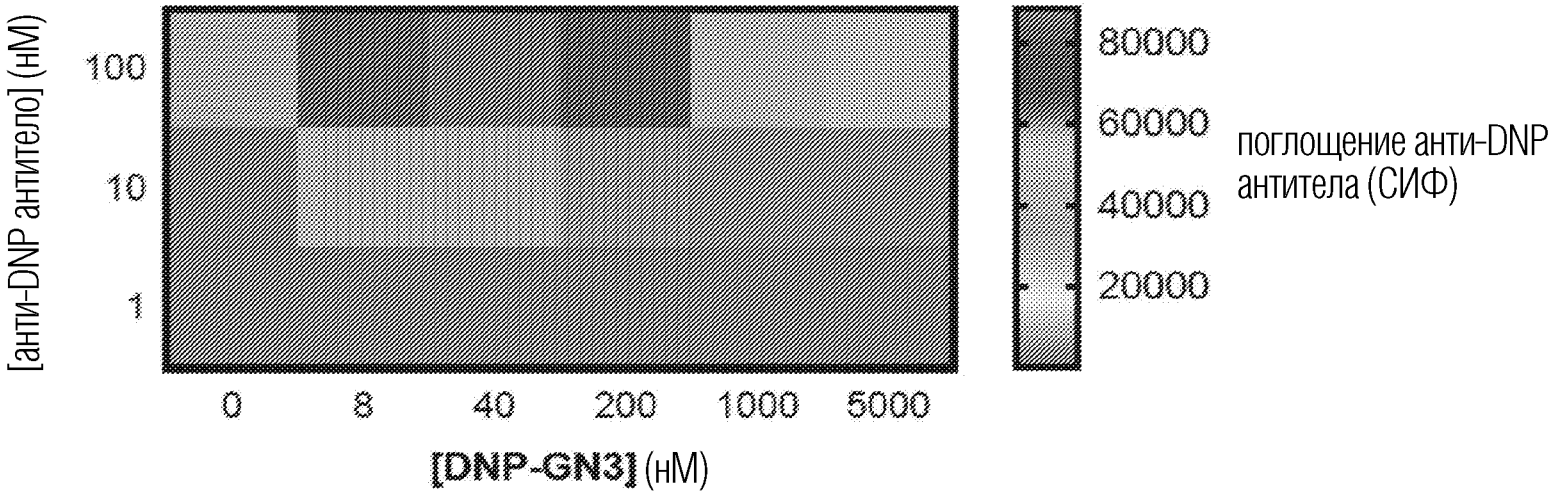
ФИГ. 86C



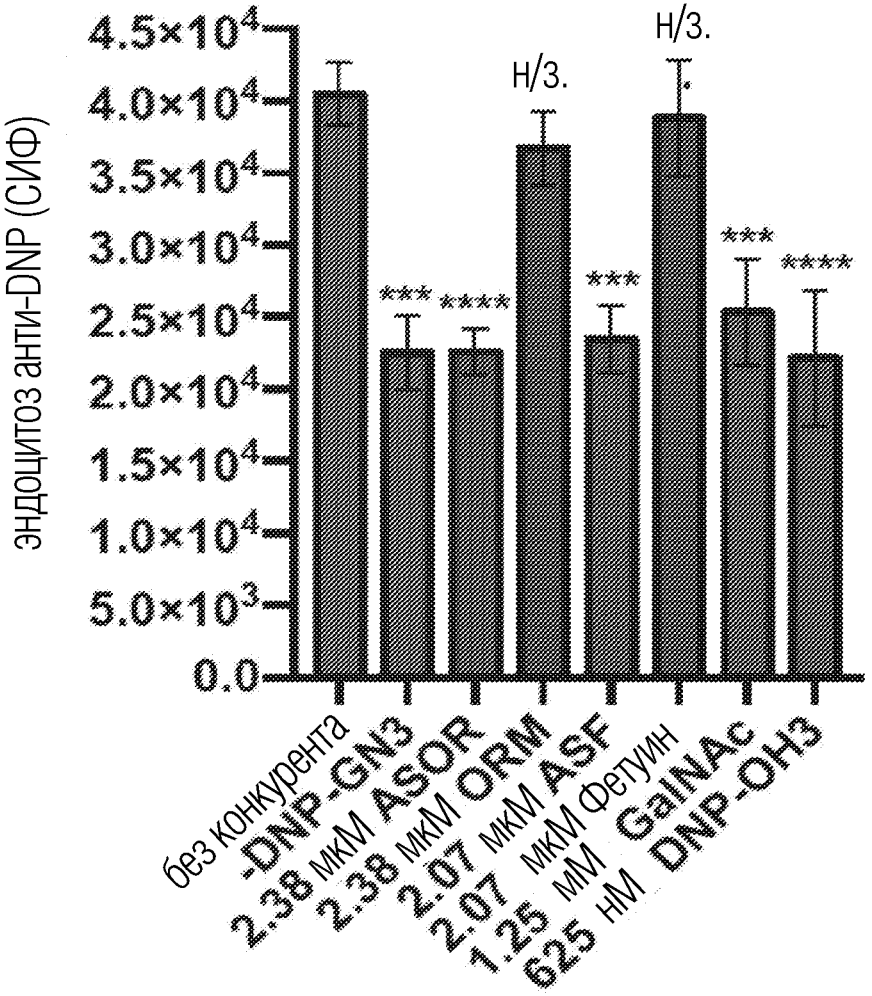
ФИГ. 87A



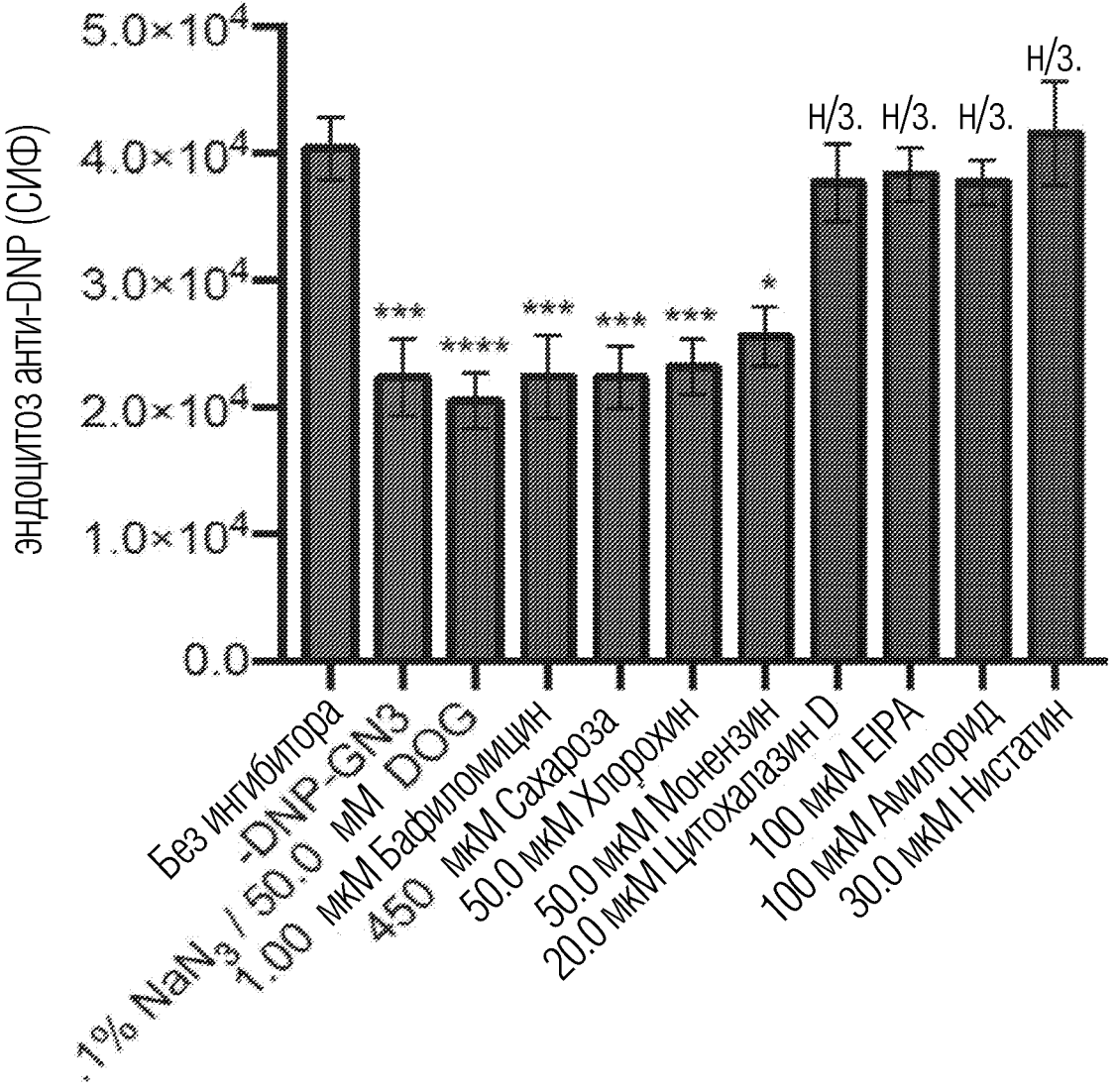
ФИГ. 87B



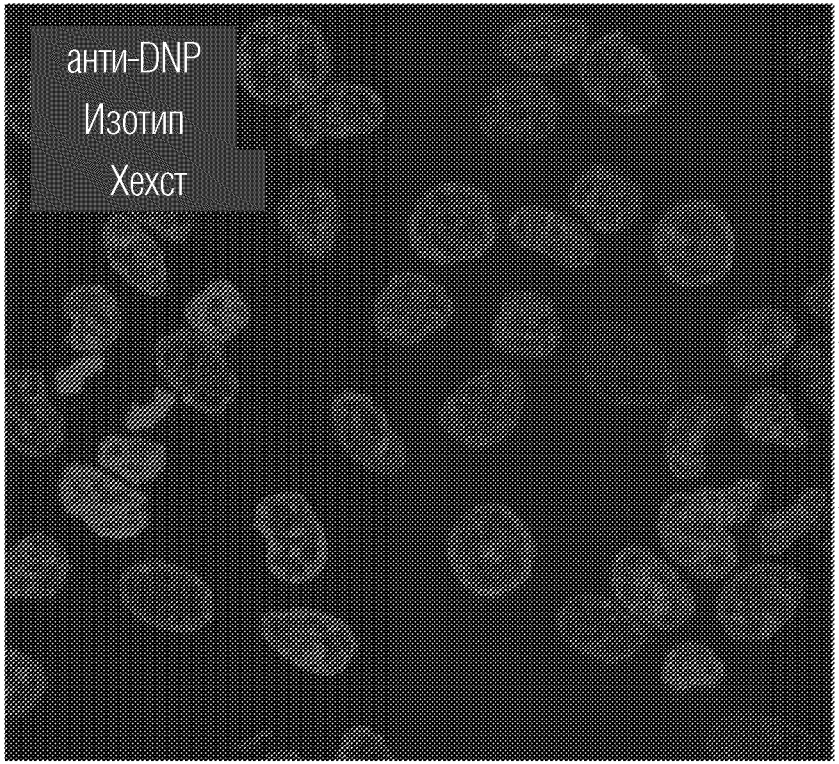
ФИГ. 88


эндоцитоз анти-DNP (СИФ)
4.5×10^4
4.0×10^4
3.5×10^4
3.0×10^4
2.5×10^4
2.0×10^4
1.5×10^4
1.0×10^4
5.0×10^3
0.0
Н/З.
Н/З.
***
****
***
***
****
без конкурента
-DNP-GN3
2.38 мкМ ASOR
2.38 мкМ ORM
2.07 мкМ ASF
2.07 мкМ Фетуин
1.25 мМ GalNAc
625 нМ DNP-OH3

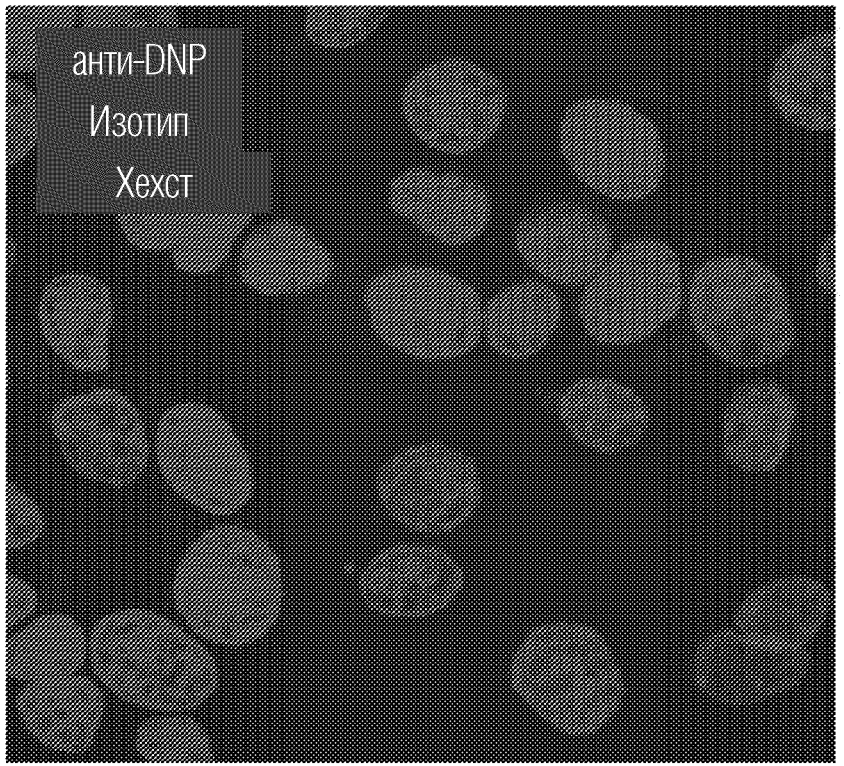
ФИГ. 89


эндоцитоз анти-DNP (СИФ)
5.0×10^4
4.0×10^4
3.0×10^4
2.0×10^4
1.0×10^4
0.0
***
****
***
***
***
*
Н/З.
Н/З.
Н/З.
Н/З.
Без ингибитора
-DNP-GN3
0.1% NaN3 / 50.0 мМ DOG
1.00 мкМ Бафиломицин
450 мкМ Сахароза
50.0 мкМ Хлорохин
50.0 мкМ Монензин
20.0 мкМ Цитохалазин D
100 мкМ EIPA
100 мкМ Амилорид
30.0 мкМ Нистатин

ФИГ. 90

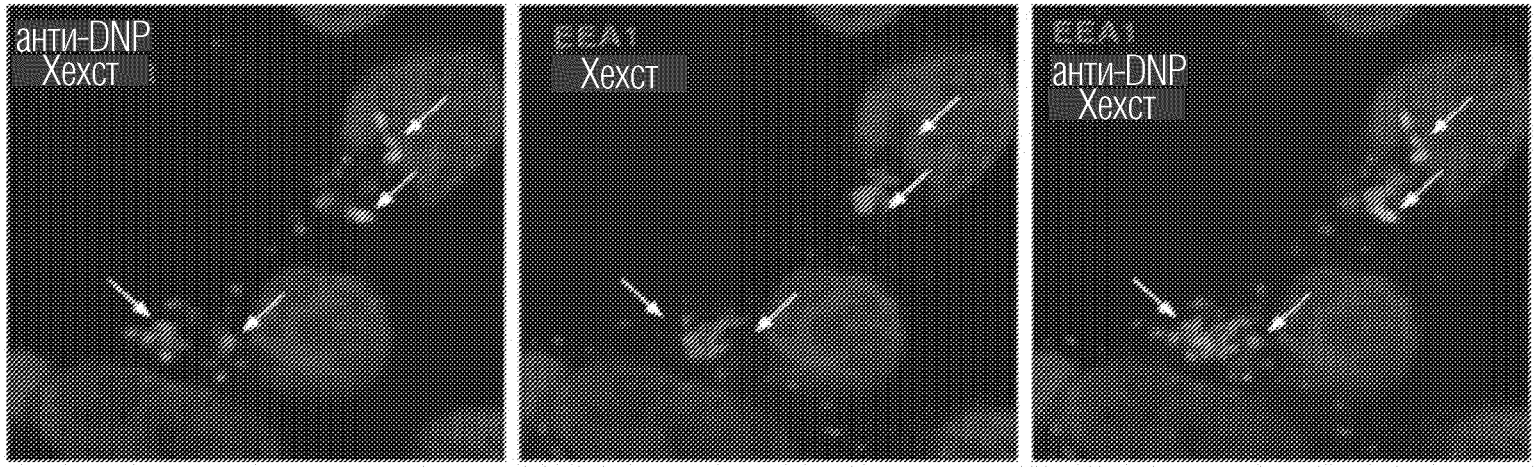


- анти-DNP антитело
+ DNP-GN3
изотипный контроль.

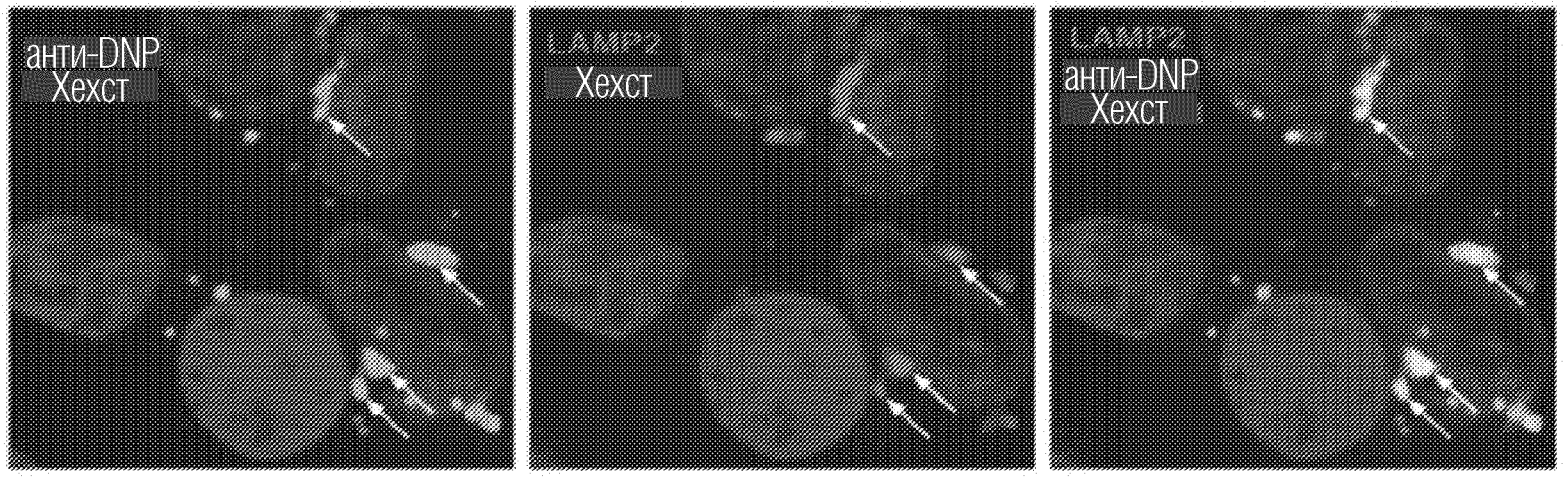


+ анти-DNP антитело
-DNP-MoDE-A
изотипный контроль.

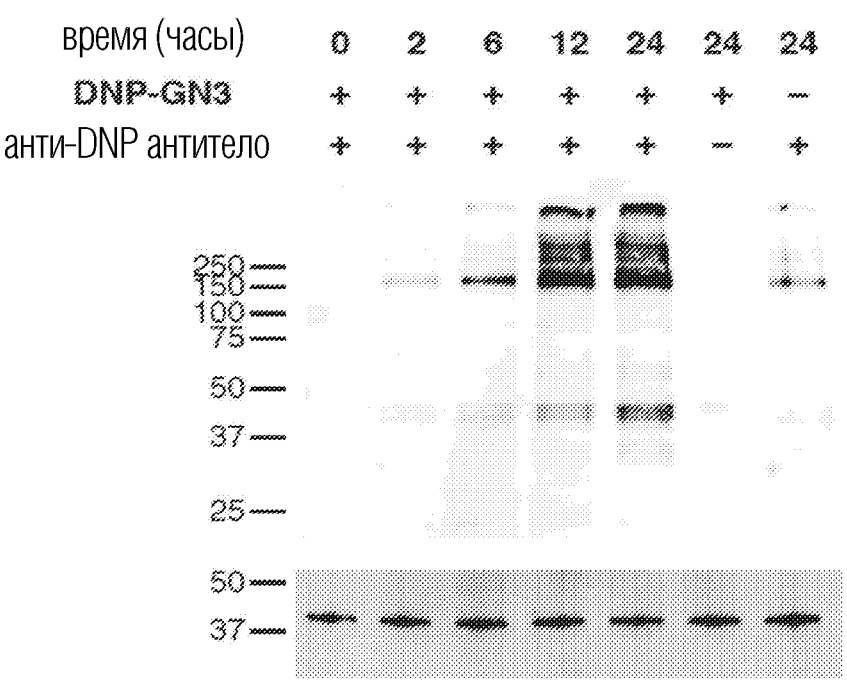
ФИГ. 91A



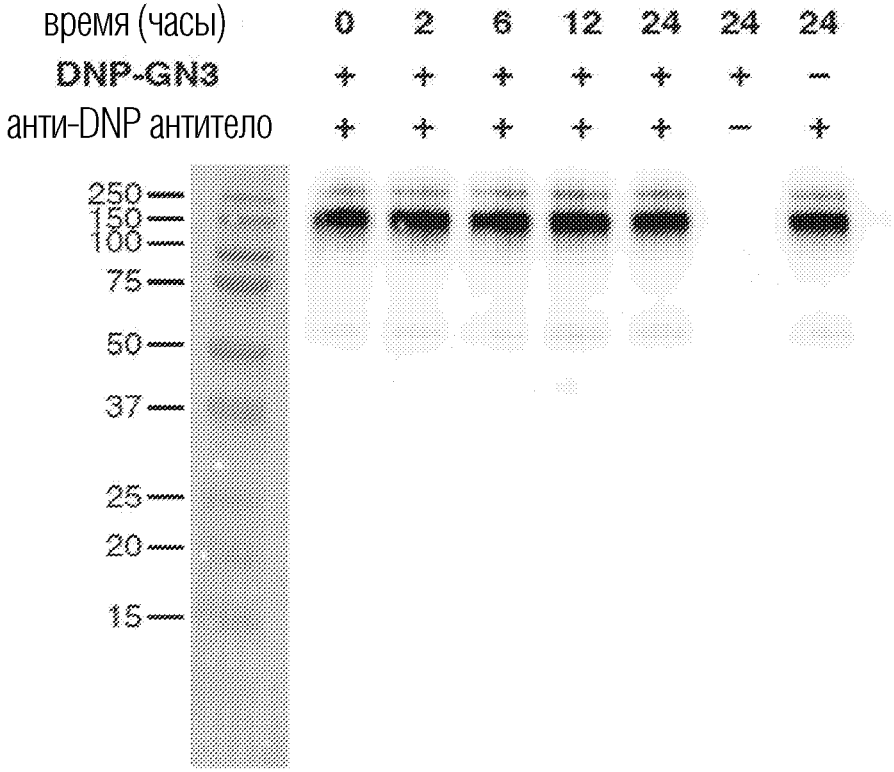
ФИГ. 91B



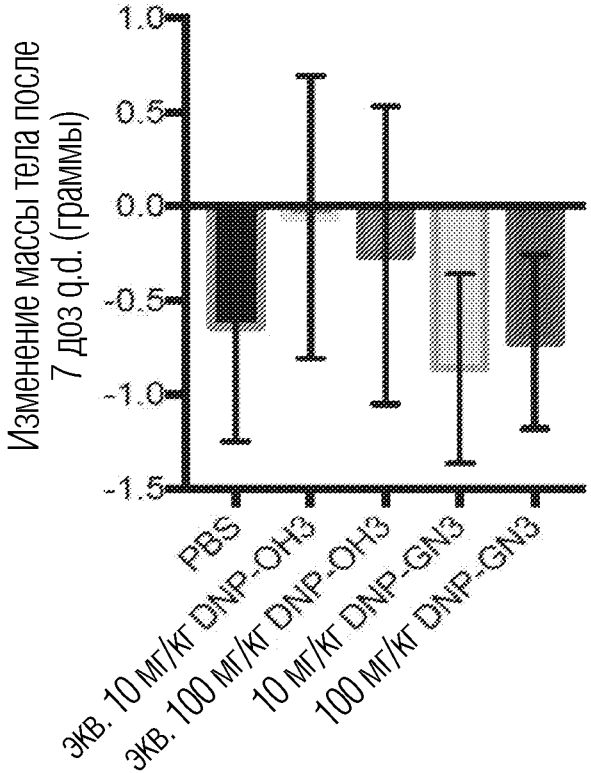
ФИГ. 92A



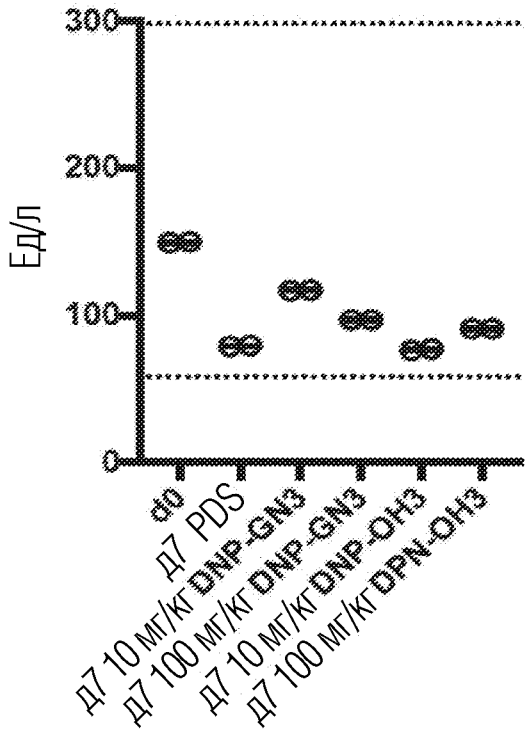
ФИГ. 92B



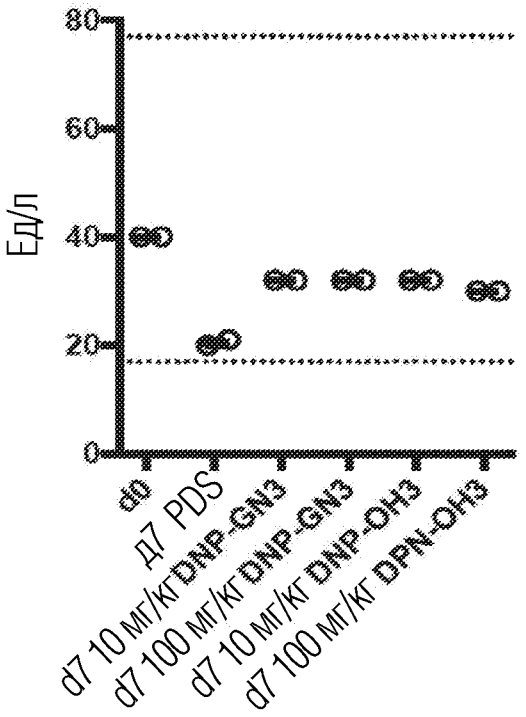
ФИГ. 93A



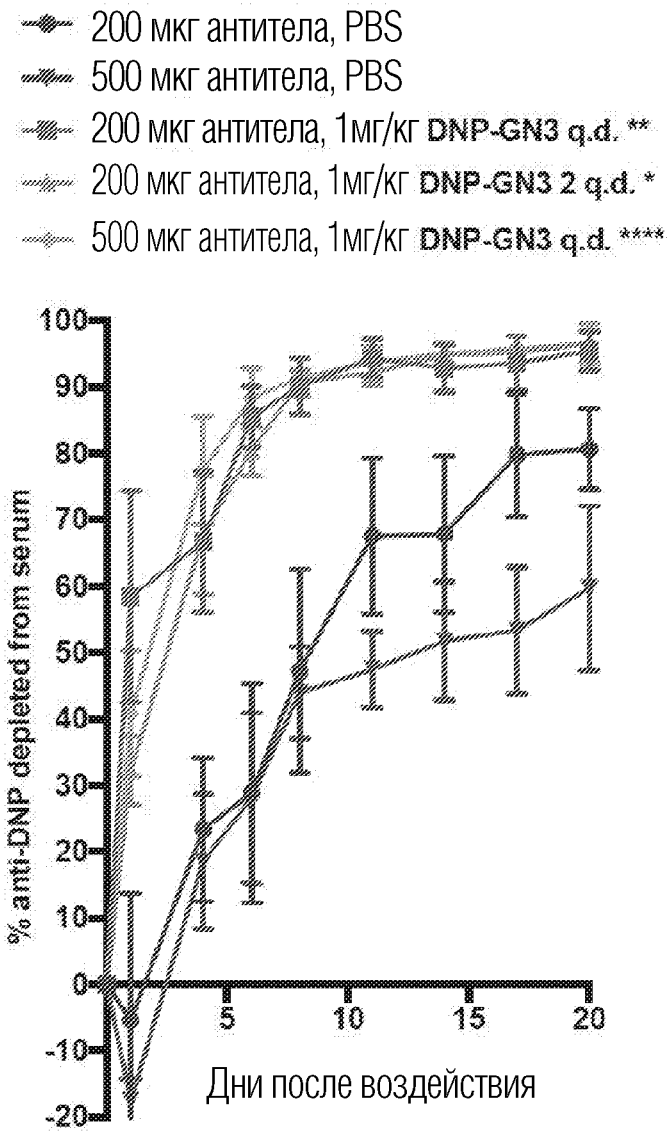
ФИГ. 93B



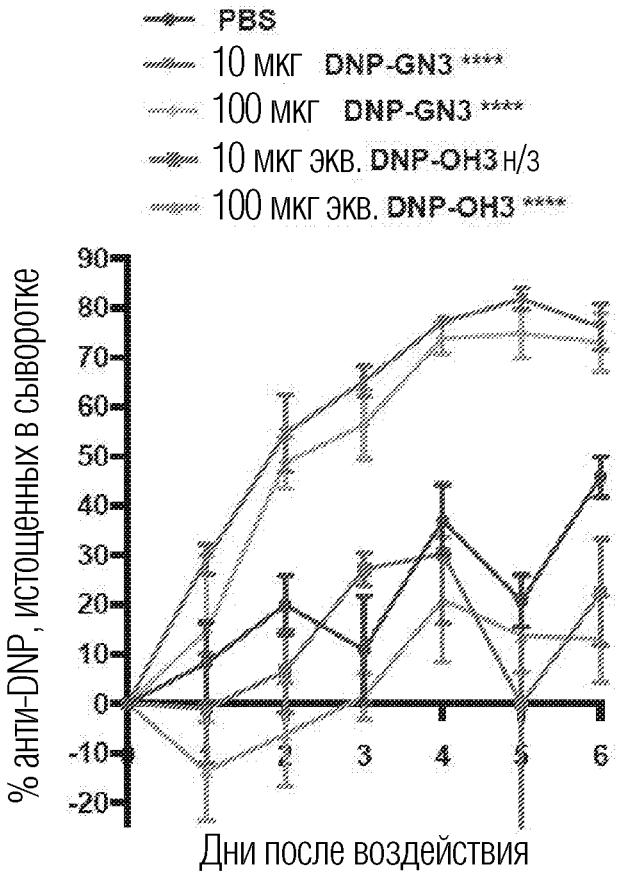
ФИГ. 93C



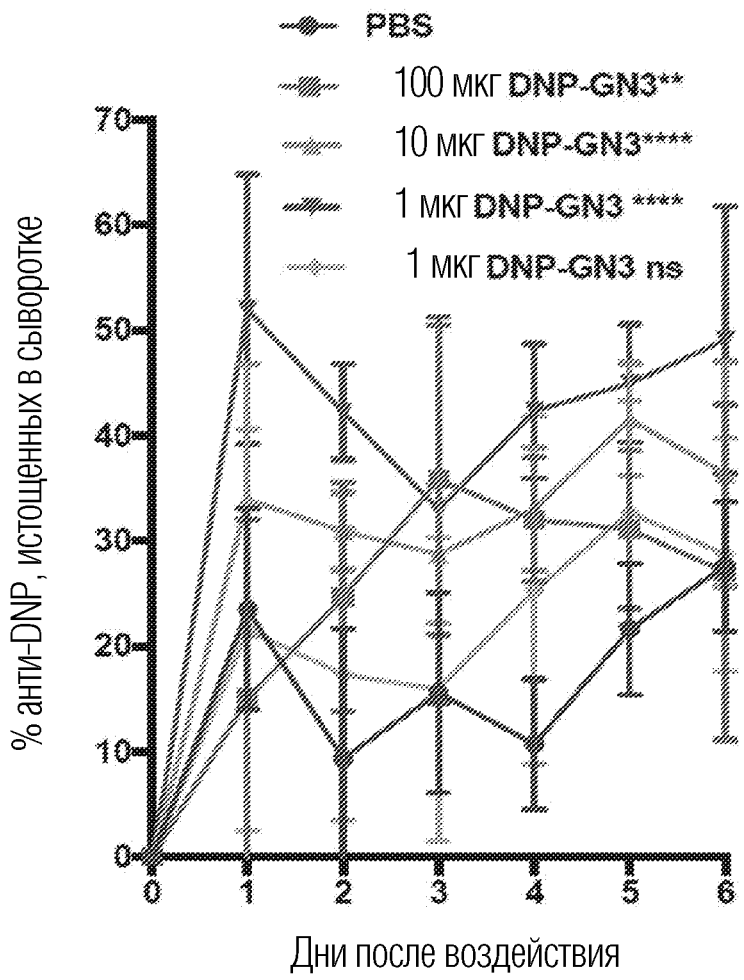
ФИГ. 94


200 мкг антитела, PBS
500 мкг антитела, PBS
200 мкг антитела, 1мг/кг DNP-GN3 q.d. **
200 мкг антитела, 1мг/кг DNP-GN3 2 q.d. *
500 мкг антитела, 1мг/кг DNP-GN3 q.d. ****
% anti-DNP depleted from serum
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-10
-20
5
10
15
20
Дни после воздействия

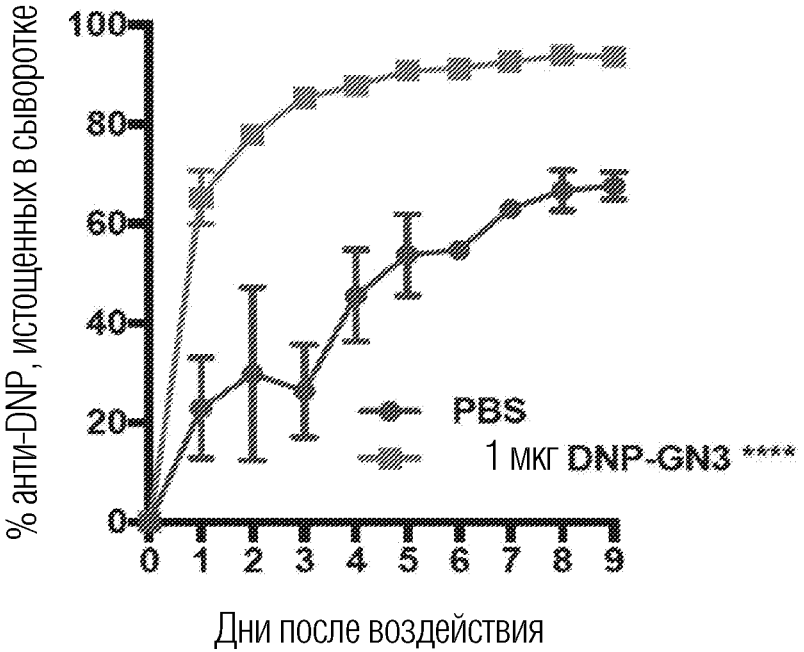
ФИГ. 95


PBS
10 мкг DNP-GN3 ****
100 мкг DNP-GN3 ****
10 мкг экв. DNP-OH3 н/з
100 мкг экв. DNP-OH3 ****
% анти-DNP, истощенных в сыворотке
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-10
-20
3
4
5
6
Дни после воздействия

ФИГ. 96


PBS
100 мкг DNP-GN3**
10 мкг DNP-GN3****
1 мкг DNP-GN3 ****
1 мкг DNP-GN3 ns
% анти-DNP, истощенных в сыворотке
0
10
20
30
40
50
60
70
0
1
2
3
4
5
6
Дни после воздействия

ФИГ. 97


% анти-DNP, истощенных в сыворотке
0
20
40
60
80
100
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
PBS
1 мкг DNP-GN3 ****
Дни после воздействия

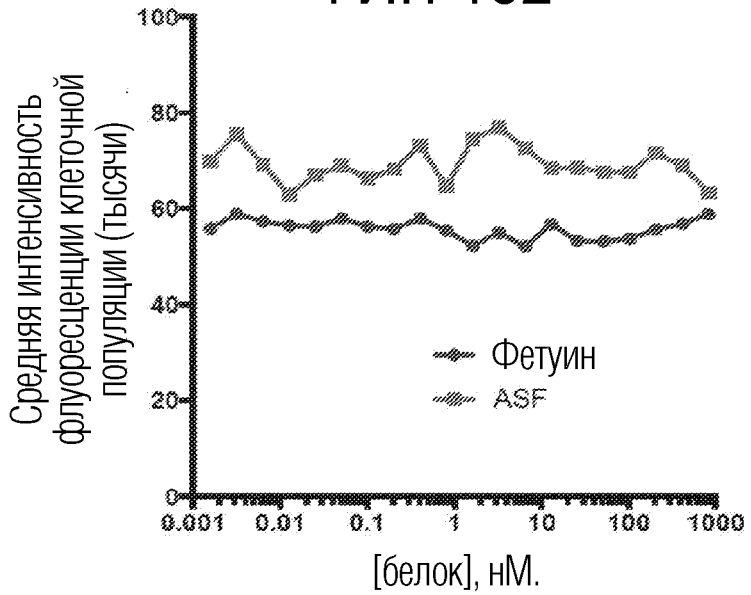
ФИГ. 98

ФИГ. 99

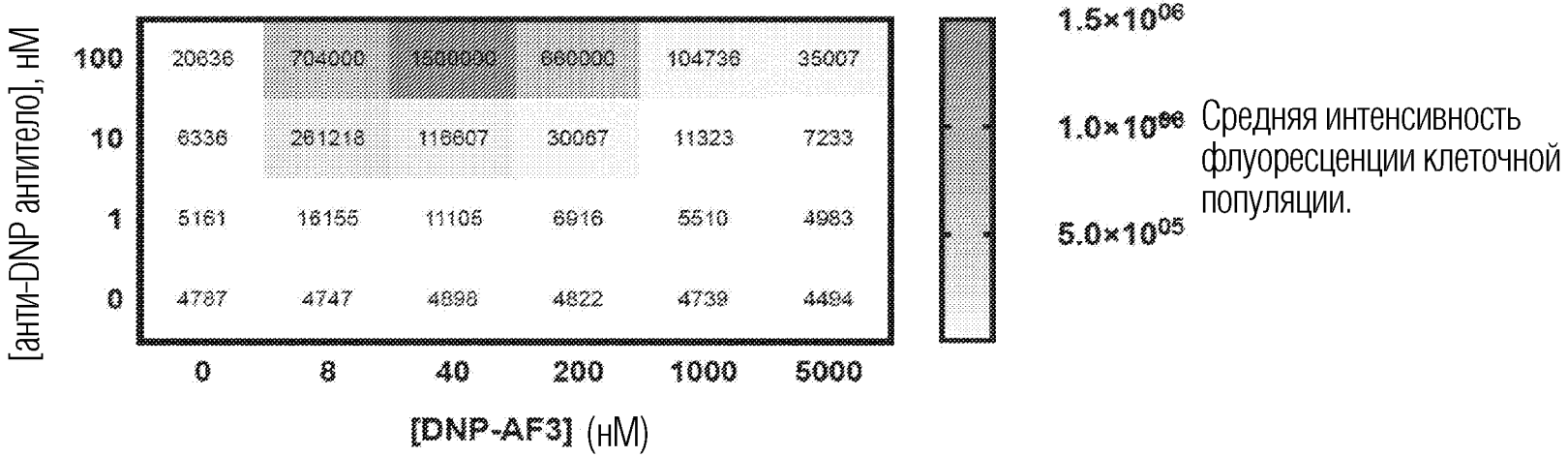
ФИГ. 100

ФИГ. 101

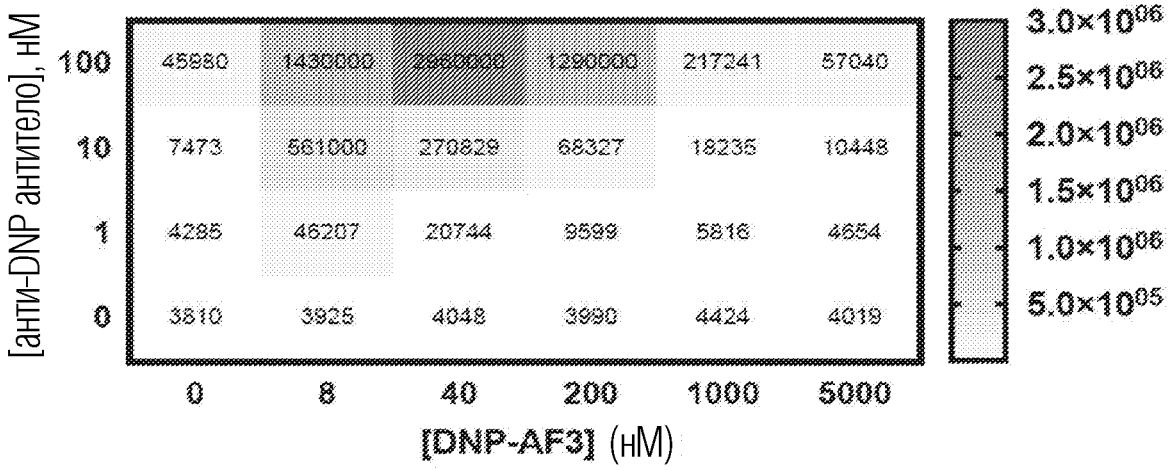
ФИГ. 102



ФИГ. 103А

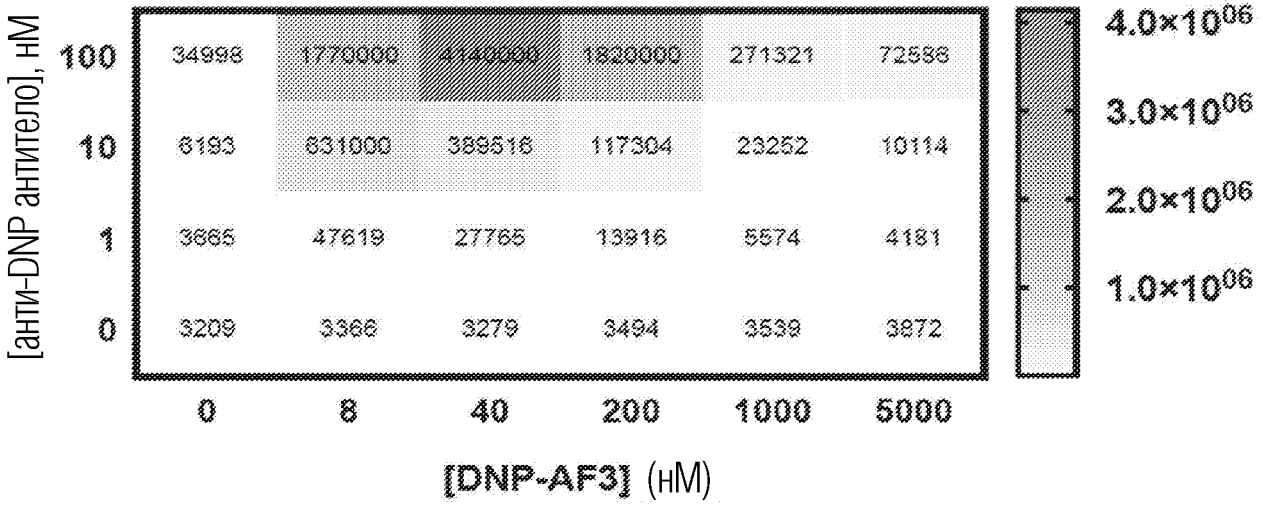


ФИГ. 103B



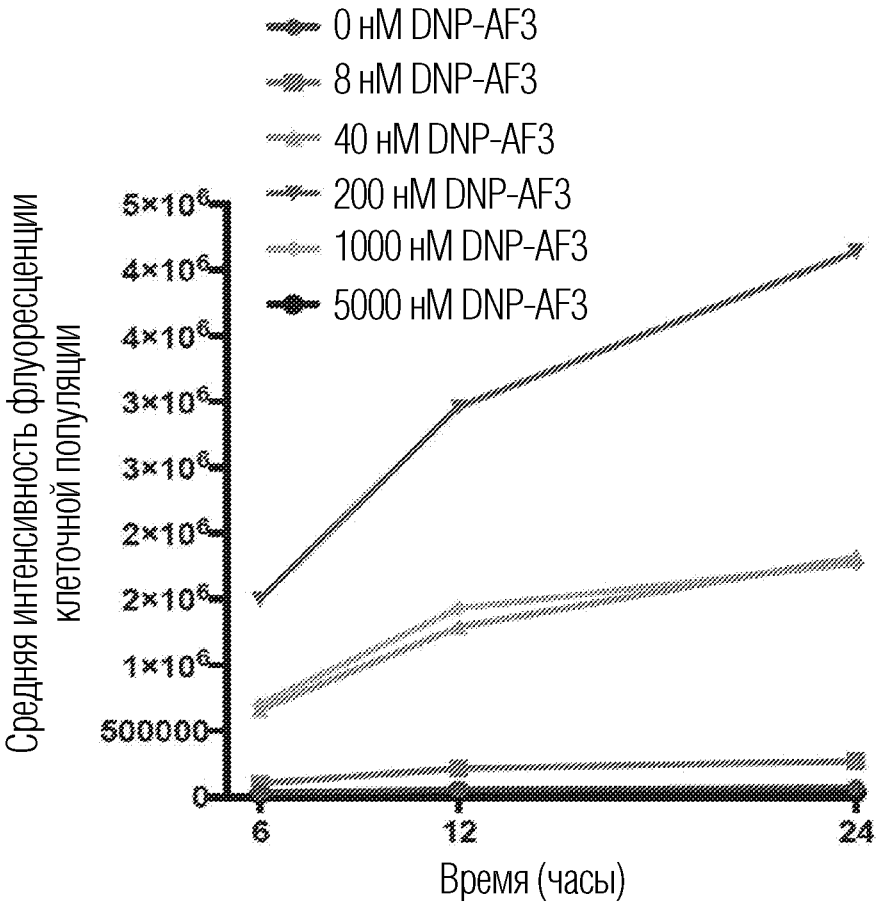
Средняя интенсивность флуоресценции клеточной популяции.

ФИГ. 103C

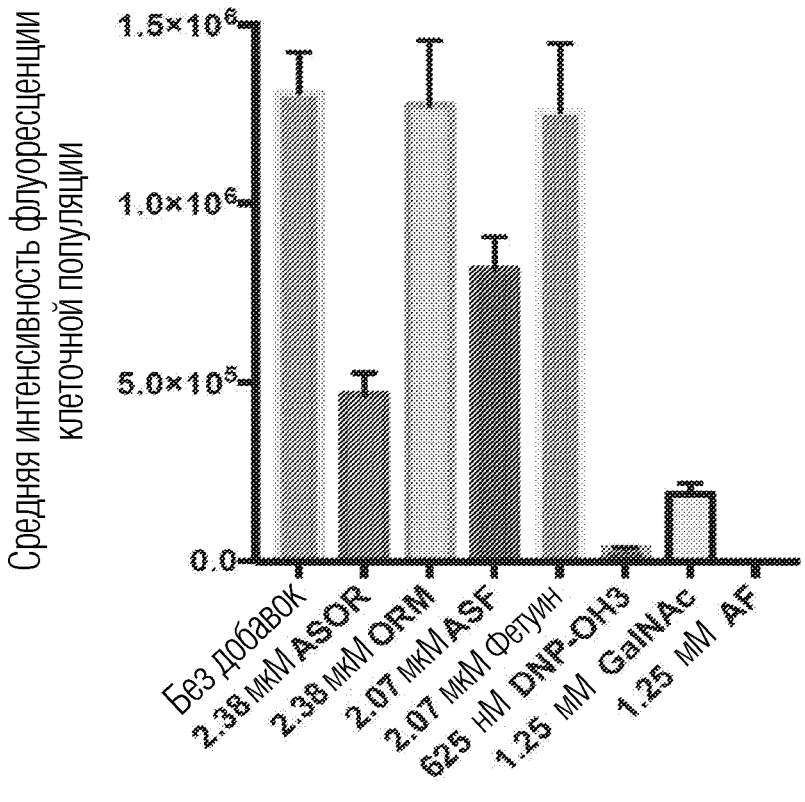


Средняя интенсивность флуоресценции клеточной популяции.

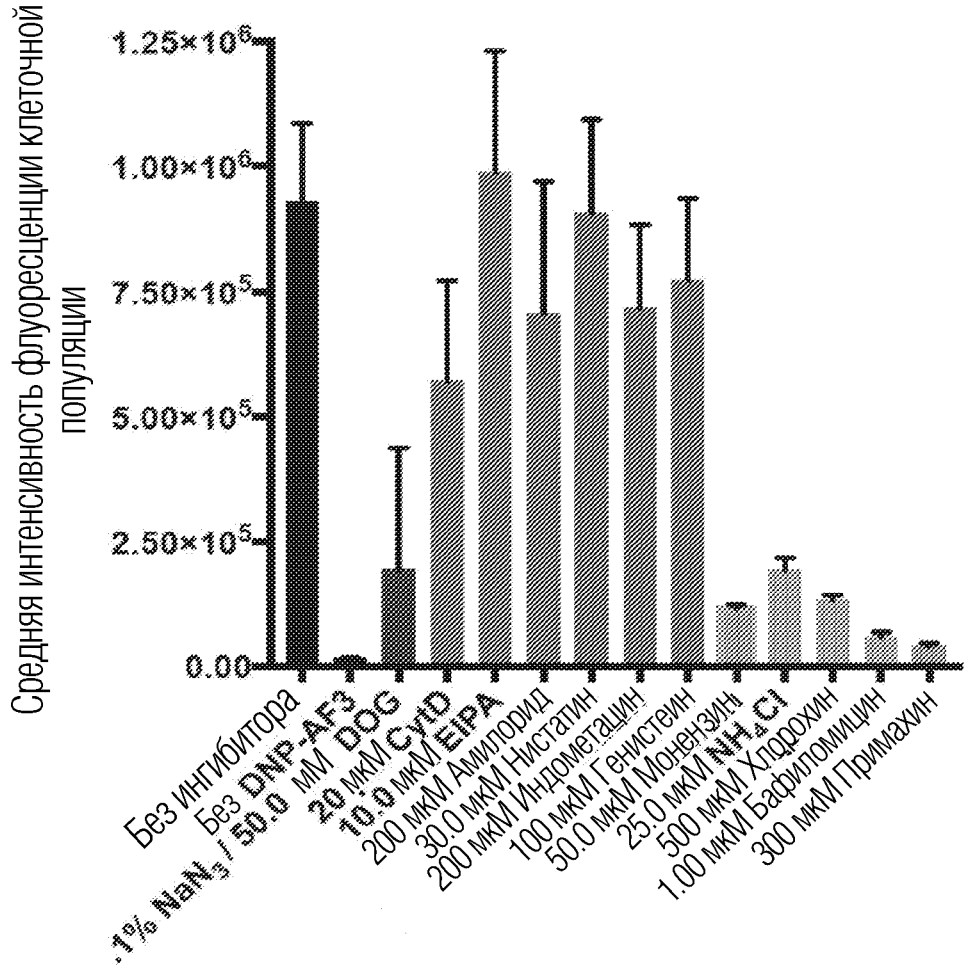
ФИГ. 104



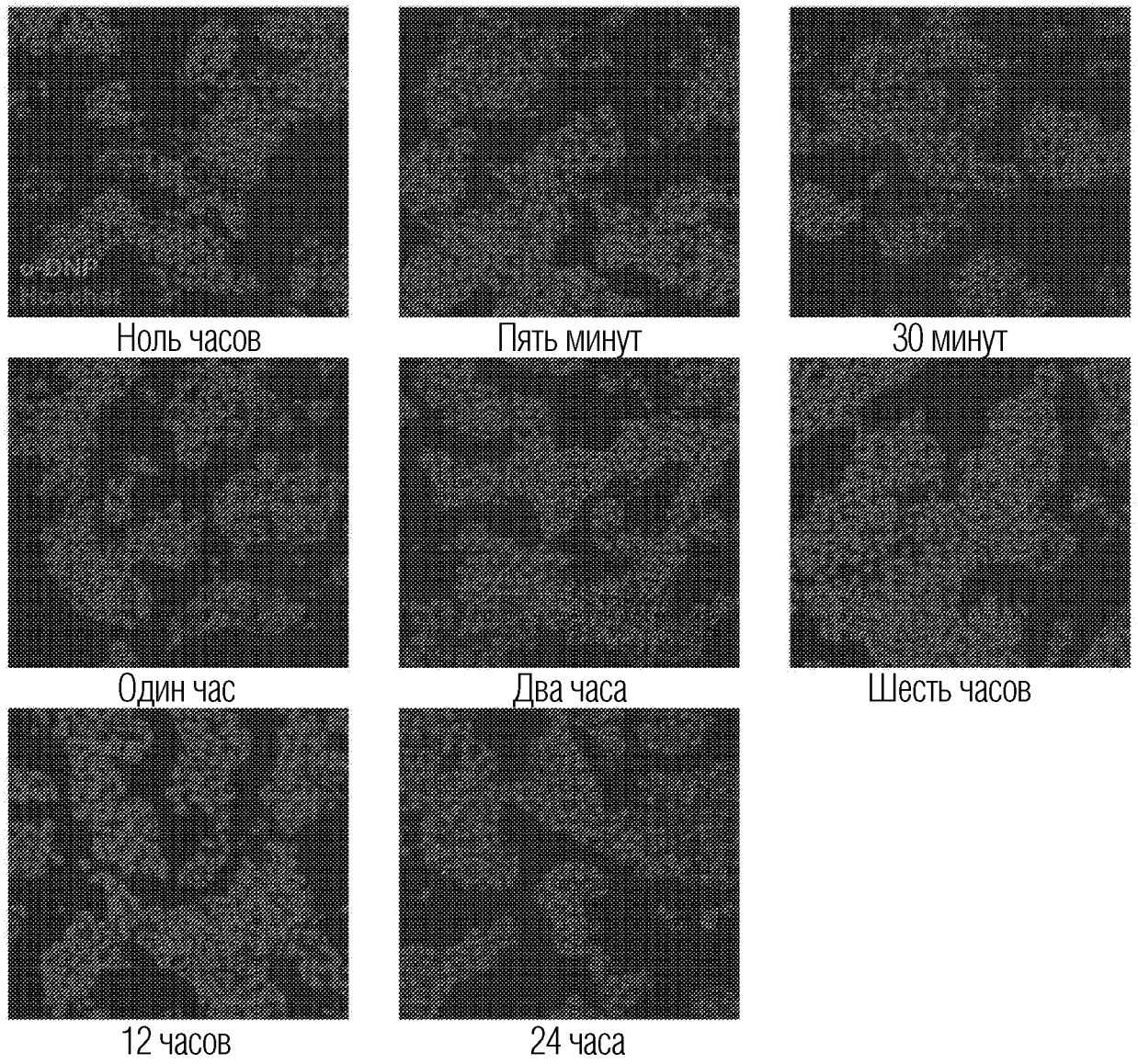
ФИГ. 105



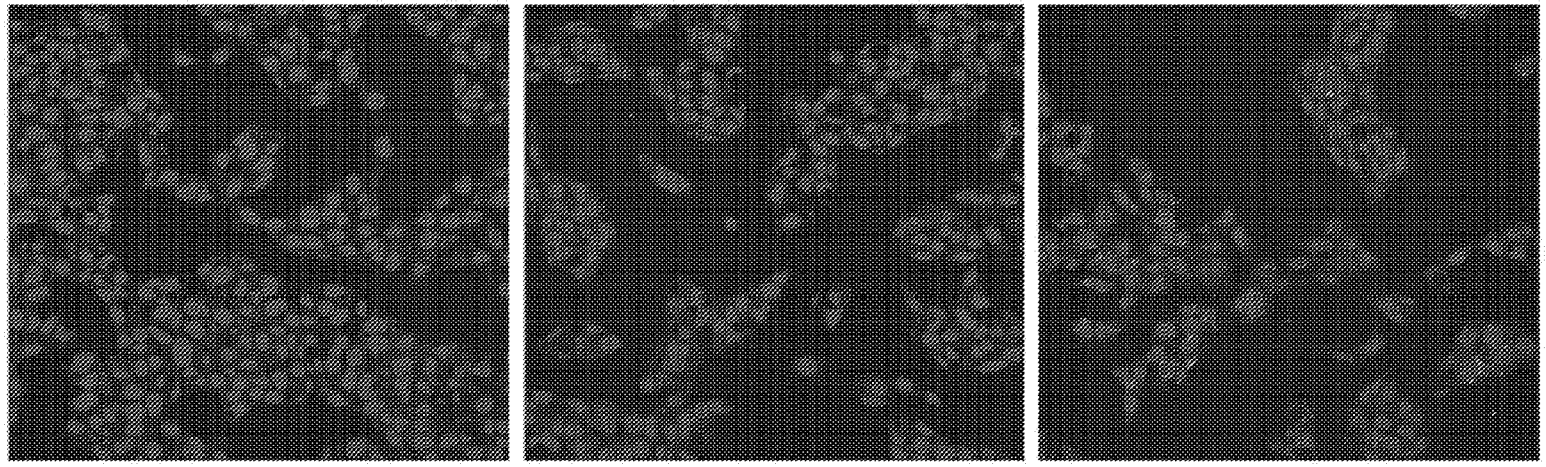
ФИГ. 106


Средняя интенсивность флуоресценции клеточной популяции
1.25×10^6
1.00×10^6
7.50×10^5
5.00×10^5
2.50×10^5
0.00
Без ингибитора
Без DNP-AF3
0.1% NaN3 / 50.0 мМ DOG
20 мкМ CytD
10.0 мкМ EIPA
200 мкМ Амилорид
30.0 мкМ Нистатин
200 мкМ Индометацин
100 мкМ Генистеин
50.0 мкМ Монензин
25.0 мкМ NH4Cl
500 мкМ Хлорохин
1.00 мкМ Бафиломицин
300 мкМ Примахин

ФИГ. 107


Ноль часов
Пять минут
30 минут
Один час
Два часа
Шесть часов
12 часов
24 часа

ФИГ. 108

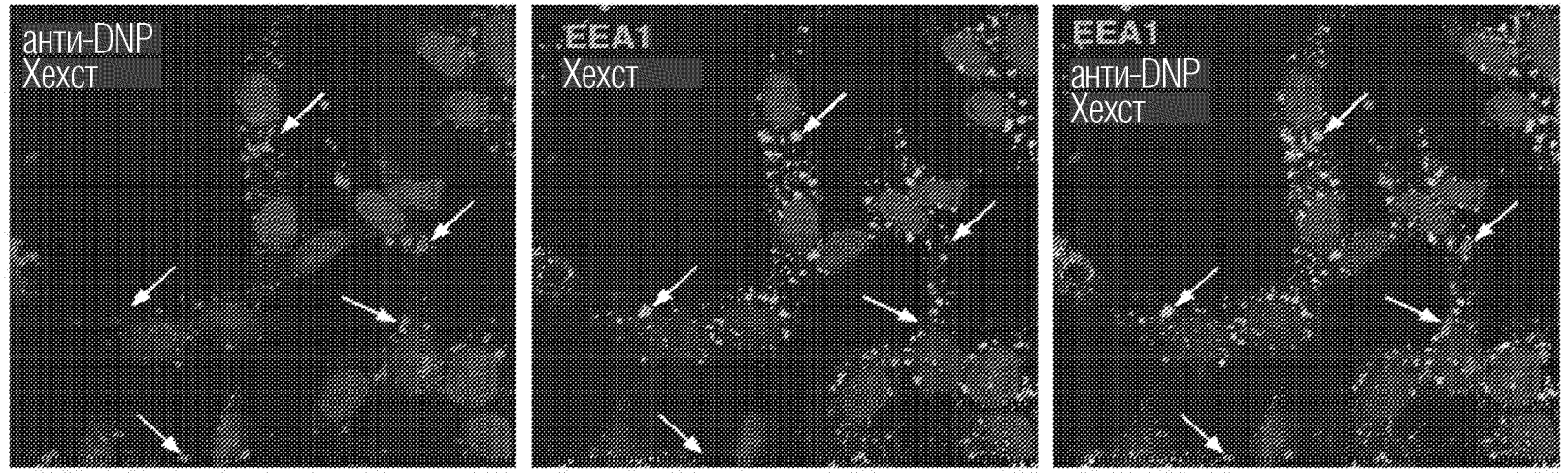


-анти-DNP антитело
+DNP-AF3

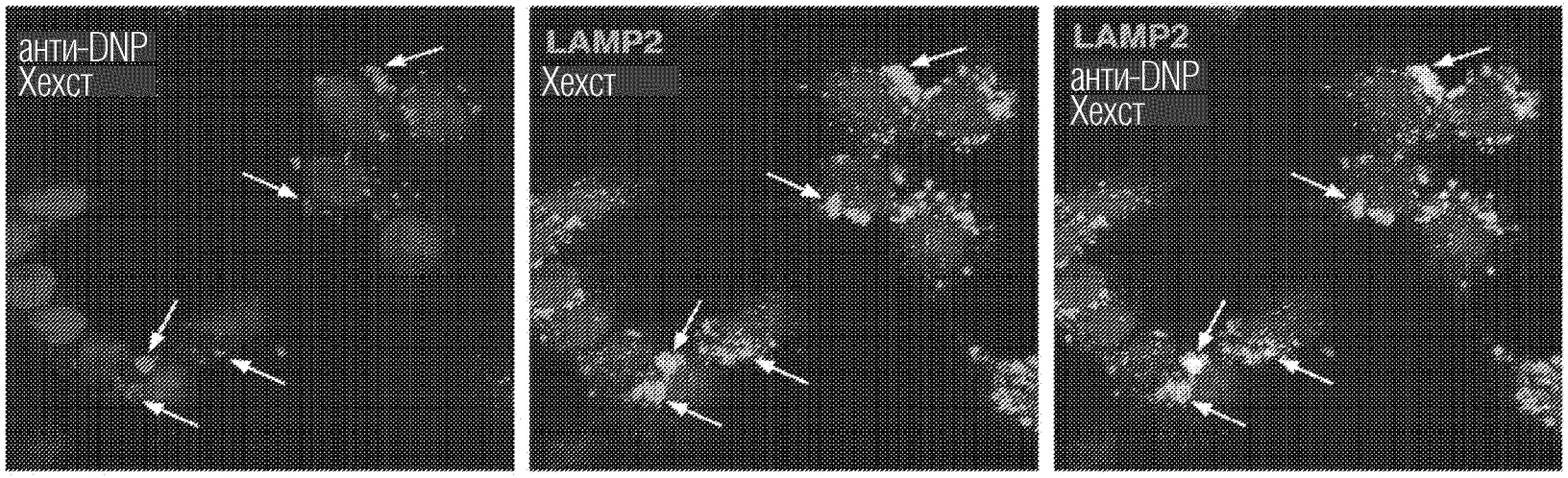
+анти-DNP антитело
-DNP-AF3

+анти-DNP антитело
+DNP-AF3

ФИГ. 109

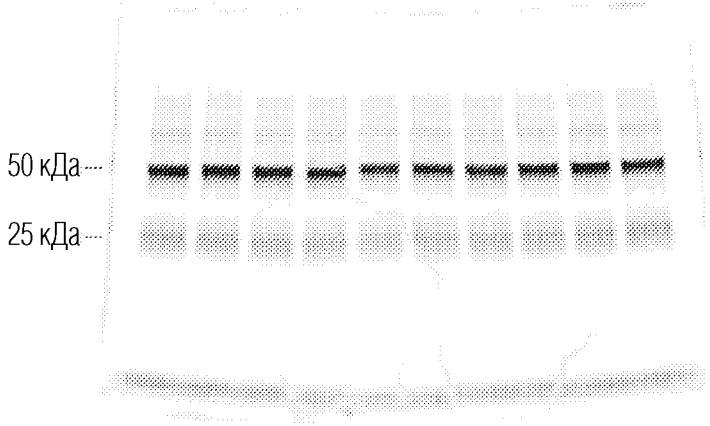


ФИГ. 110



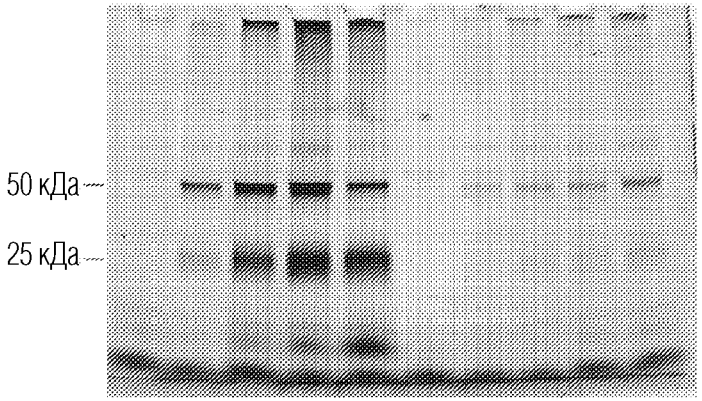
ФИГ. 111

образец	супернатант									
DNP-AF3	+					–				
анти-DNP антитело	+					+				
время (часы)	0	2	6	12	24	0	2	6	12	24

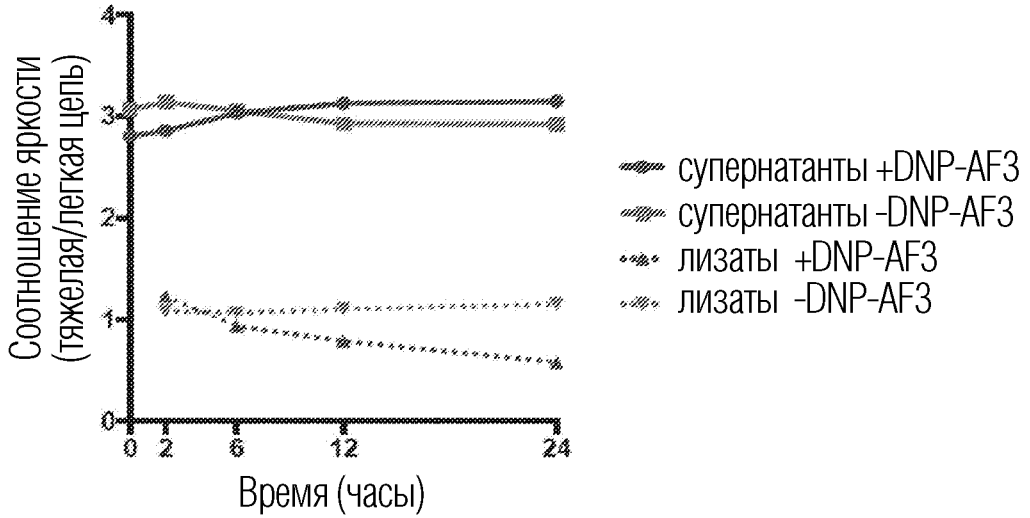


ФИГ. 112

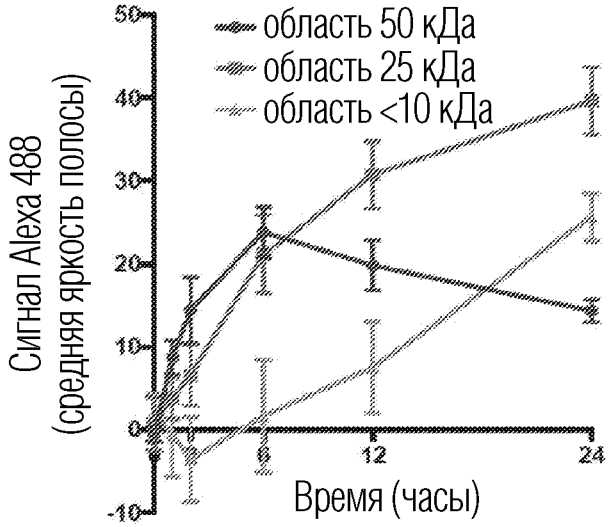
образец	лизат									
DNP-AF3	+					–				
анти-DNP антитело	+					+				
время (часы)	0	2	6	12	24	0	2	6	12	24



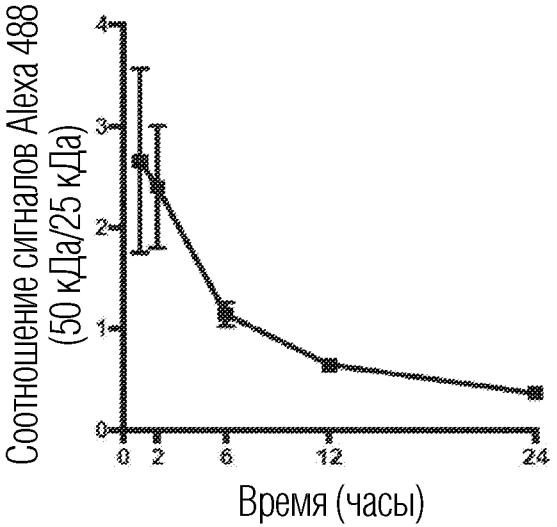
ФИГ. 113



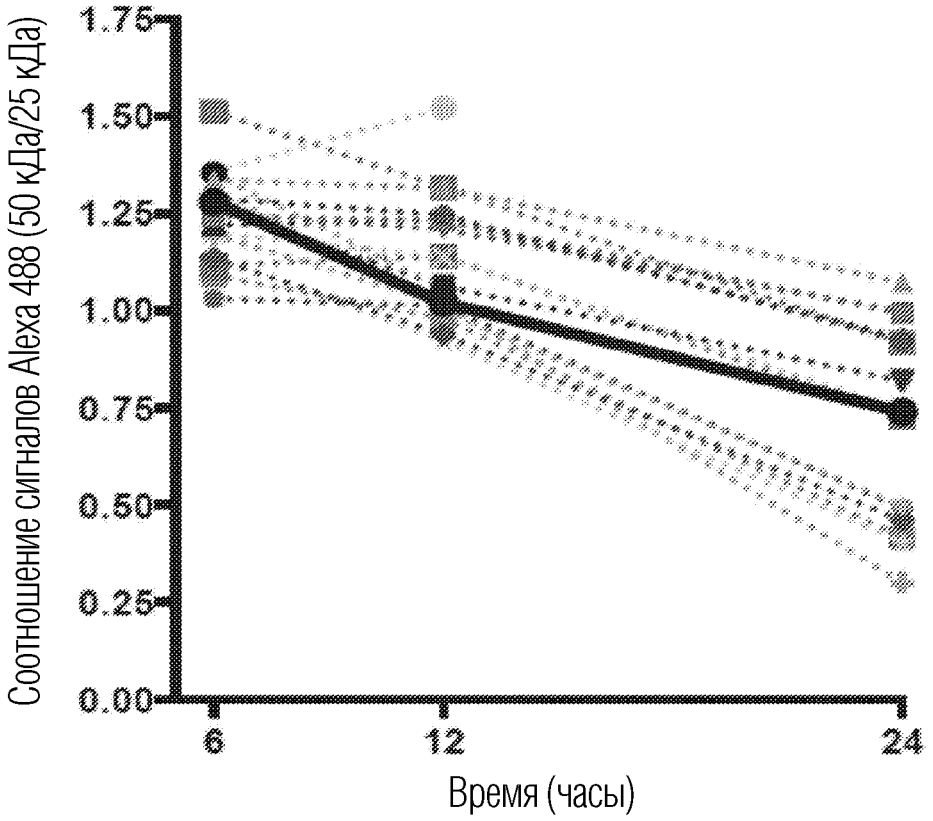
ФИГ. 114



ФИГ. 115

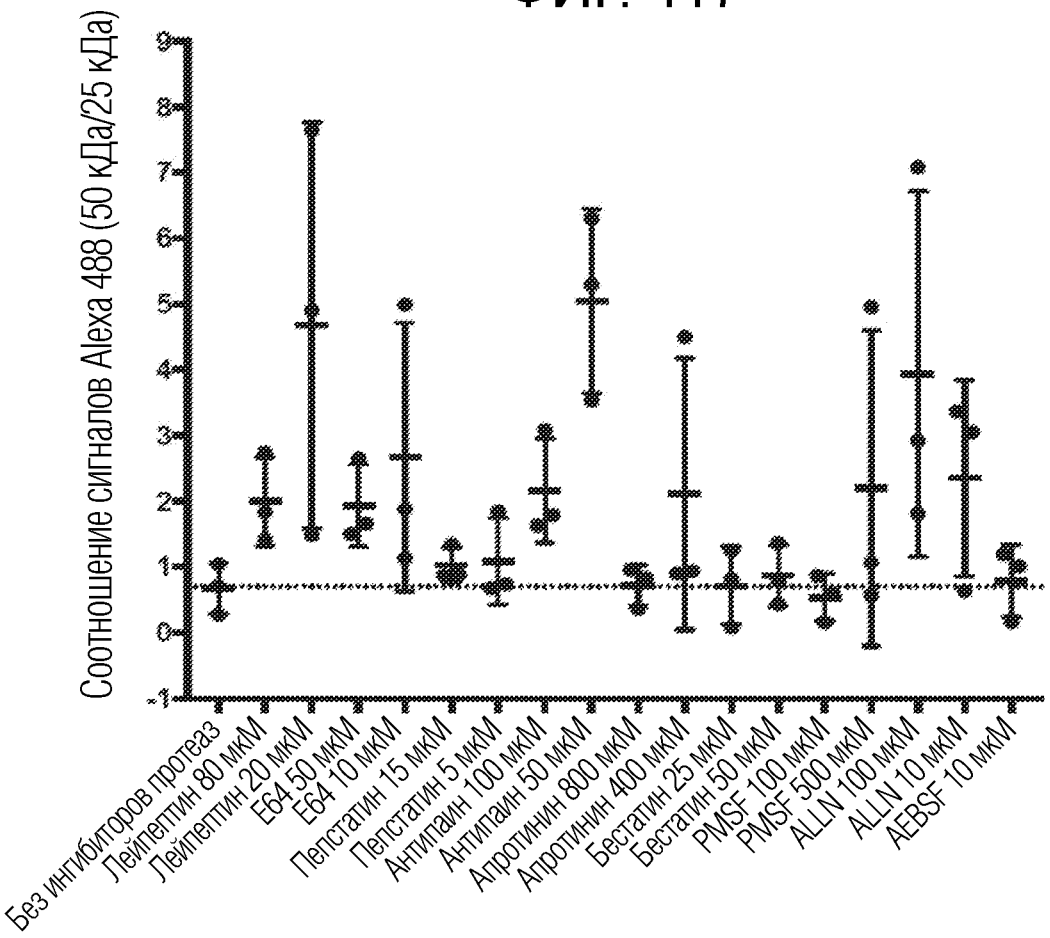


ФИГ. 116

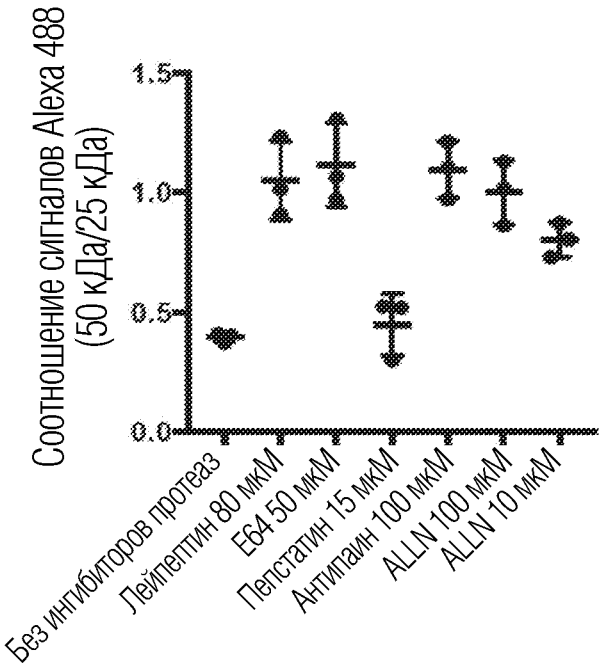


- Без ингибиторов протеаз
- Лейпептин 80 мкМ
- Лейпептин 20 мкМ
- E64 50 мкМ
- E64 10 мкМ
- Пепстатин 15 мкМ
- Пепстатин 5 мкМ
- Антипаин 100 мкМ
- Антипаин 50 мкМ
- Апротинин 800 мкМ
- Апротинин 400 мкМ
- Бестатин 25 мкМ
- Бестатин 50 мкМ
- PMSF 100 мкМ
- PMSF 500 мкМ
- ALLN 100 мкМ
- ALLN 10 мкМ
- AEBSF 10 мкМ

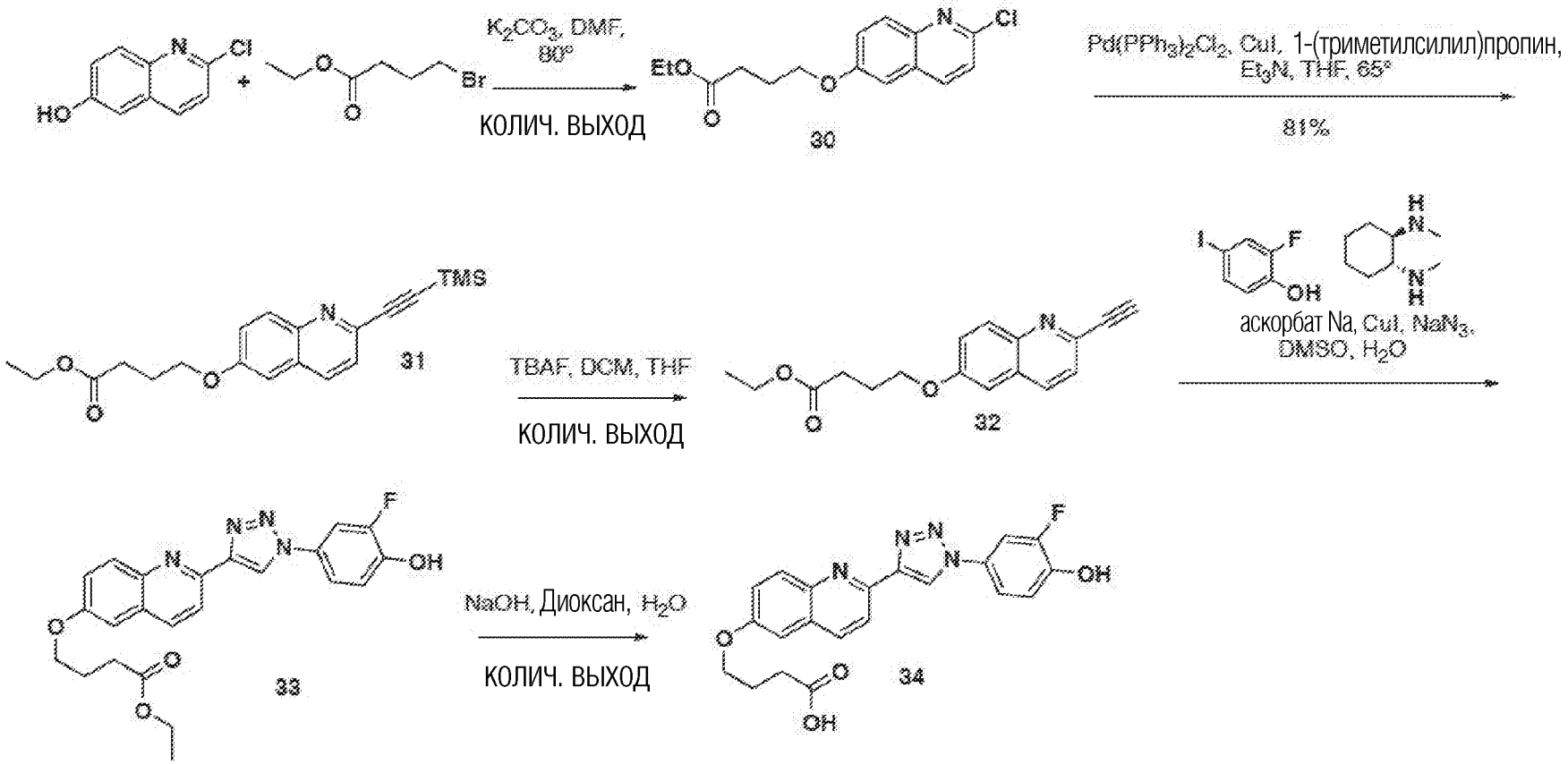
ФИГ. 117



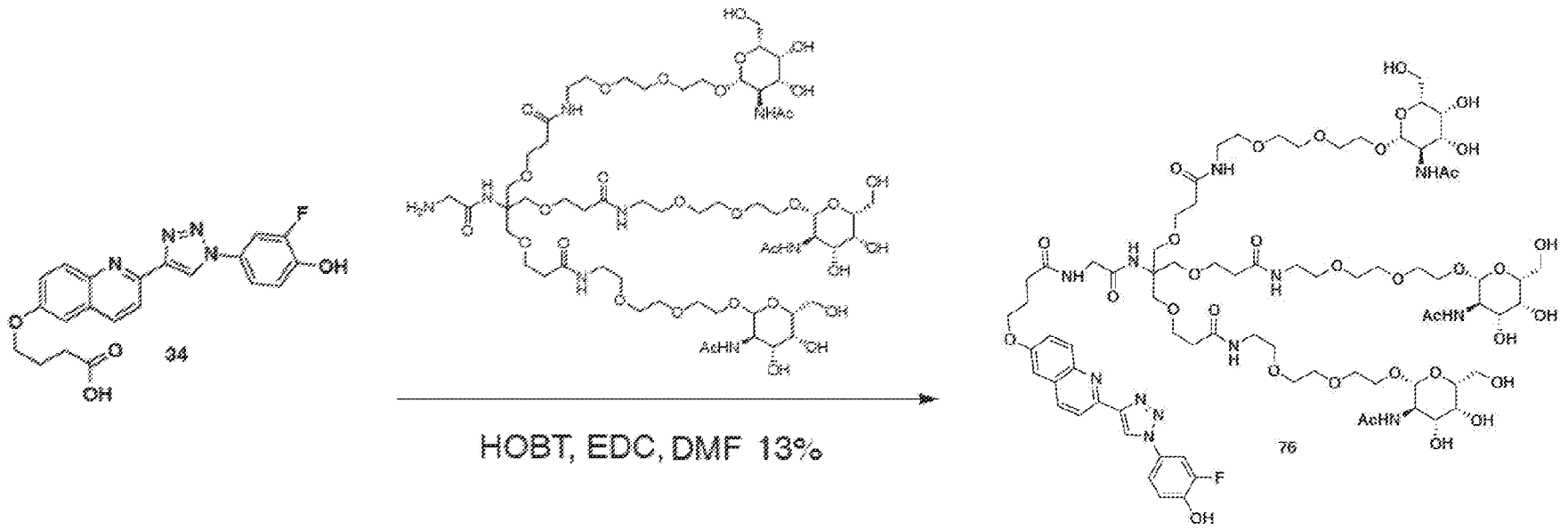
ФИГ. 118



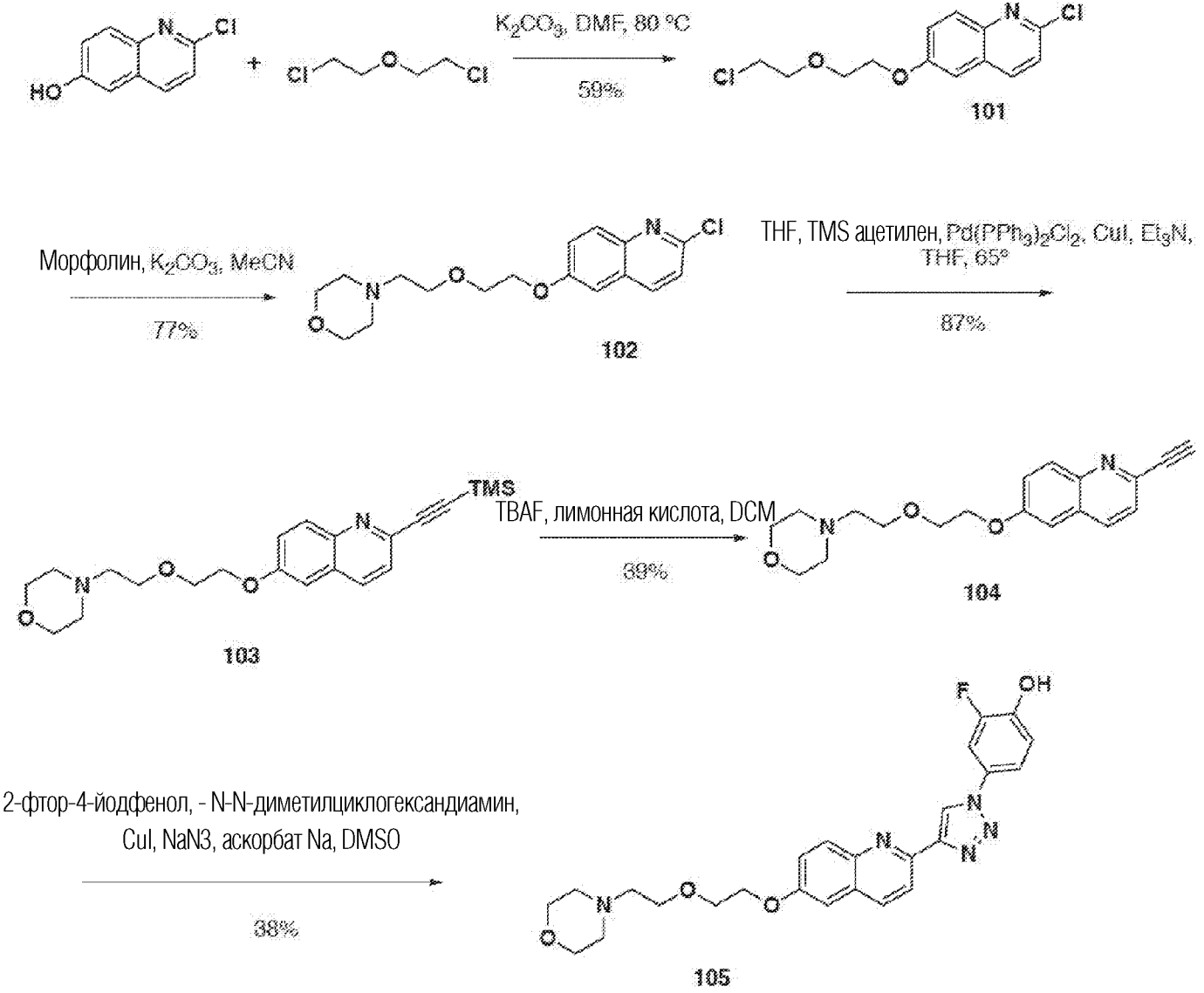
ФИГ. 119A


K2CO3, DMF, 80°
КОЛИЧ. ВЫХОД
30
Pd(PPh3)2Cl2, CuI, 1-(триметилсилил)пропин, Et3N, THF, 65°
81%
31
TBAF, DCM, THF
КОЛИЧ. ВЫХОД
32
аскорбат Na, CuI, NaN3, DMSO, H2O
33
NaOH, Диоксан, H2O
КОЛИЧ. ВЫХОД
34

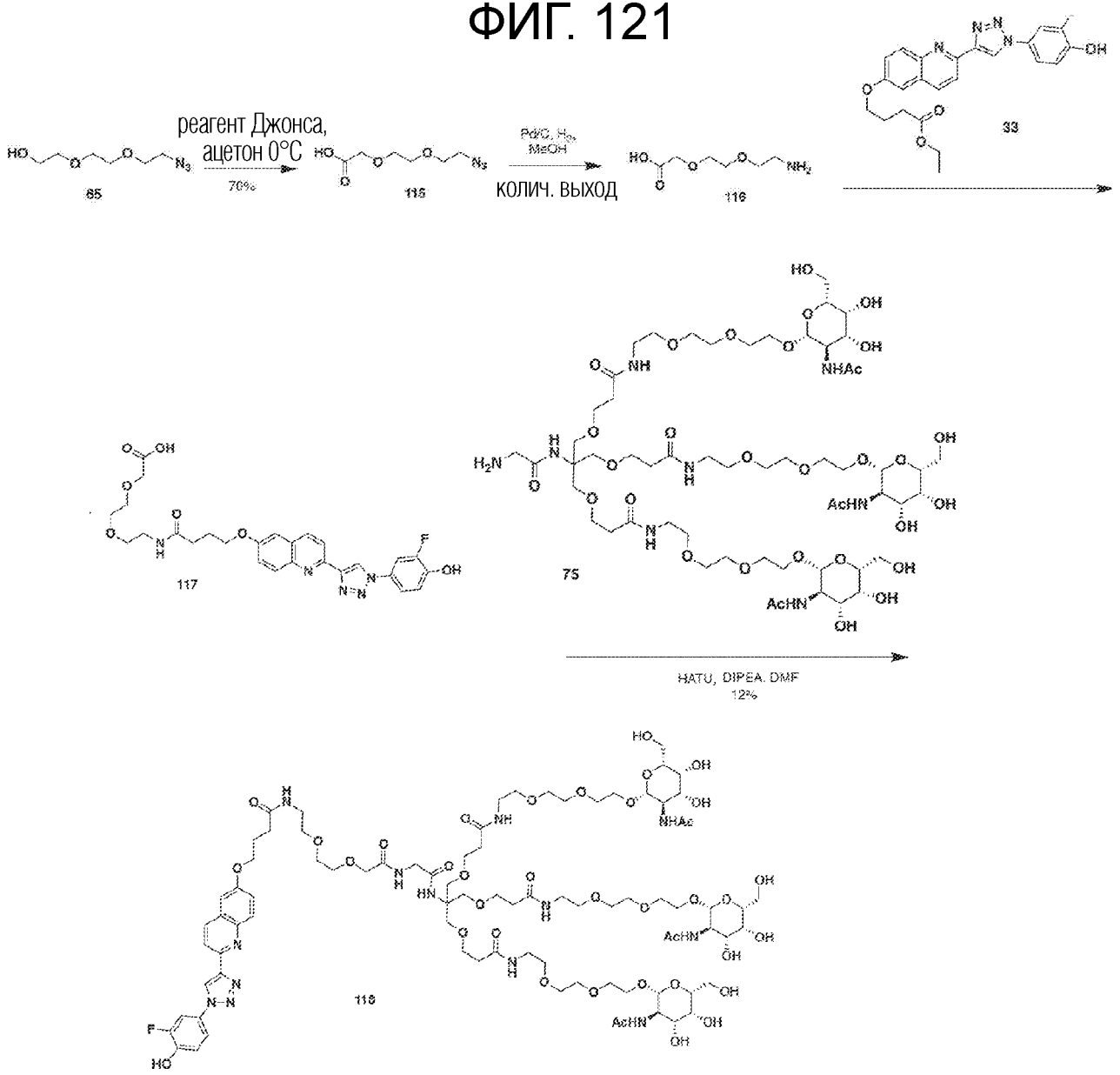
ФИГ. 119B

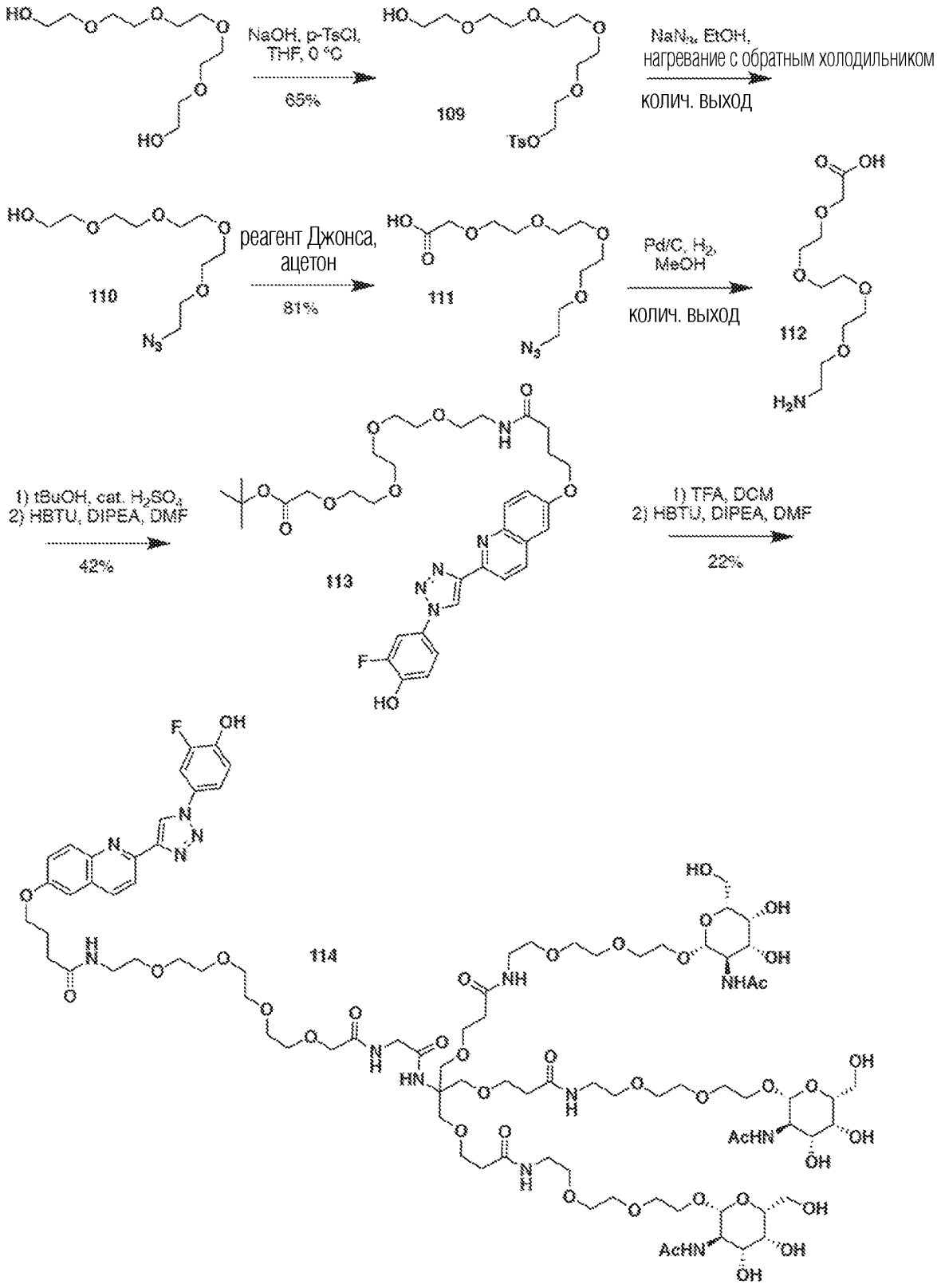


ФИГ. 120


K2CO3, DMF, 80 °C
59%
101
Морфолин, K2CO3, MeCN
77%
102
THF, TMS ацетилен, Pd(PPh3)2Cl2, CuI, Et3N, THF, 65°
87%
103
TBAF, лимонная кислота, DCM
38%
104
2-фтор-4-йодфенол, - N-N-диметилциклогександиамин, CuI, NaN3, аскорбат Na, DMSO
38%
105

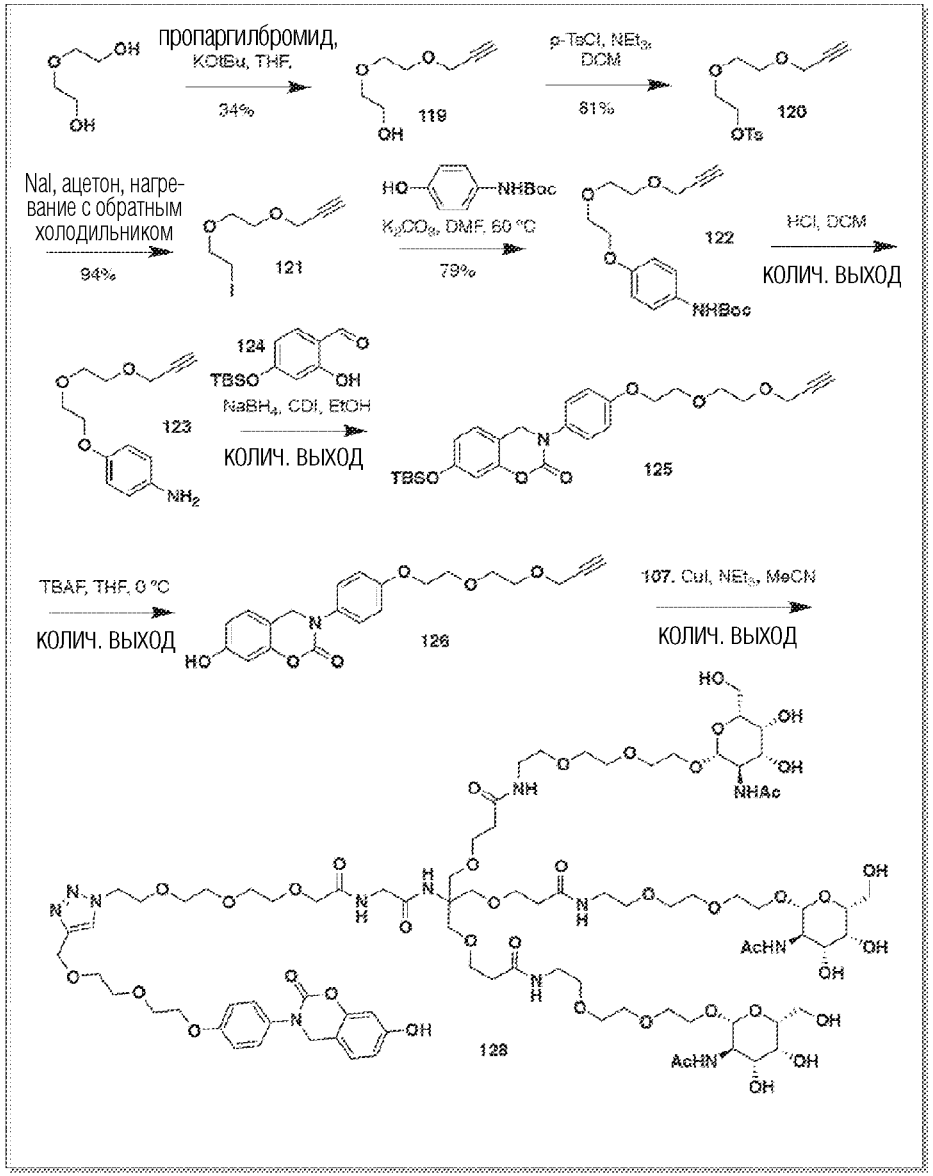
ФИГ. 121

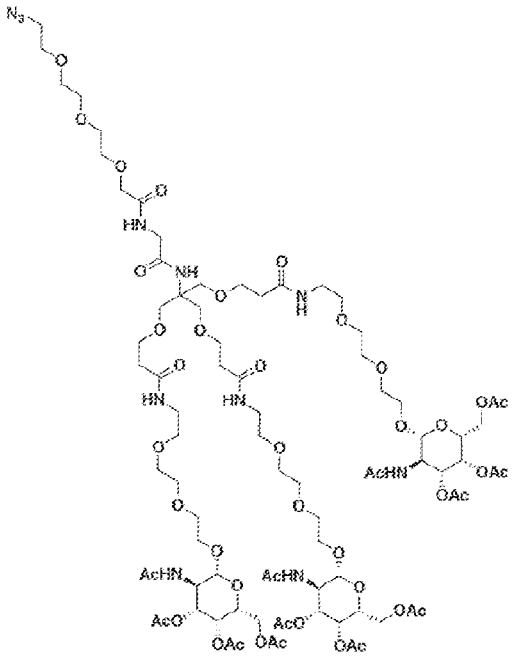

реагент Джонса,
ацетон 0°C
70%
Pd/C, H2
MeOH
КОЛИЧ. ВЫХОД
65
115
116
33
117
75
HATU, DIPEA, DMF
12%
118


NaOH, p-TsCl,
THF, 0 °C
65%
109
NaN3, EtOH,
нагревание с обратным холодильником
КОЛИЧ. ВЫХОД
110
реагент Джонса,
ацетон
81%
111
Pd/C, H2,
MeOH
КОЛИЧ. ВЫХОД
112
1) tBuOH, cat. H2SO4
2) HBTU, DIPEA, DMF
42%
113
1) TFA, DCM
2) HBTU, DIPEA, DMF
22%
114

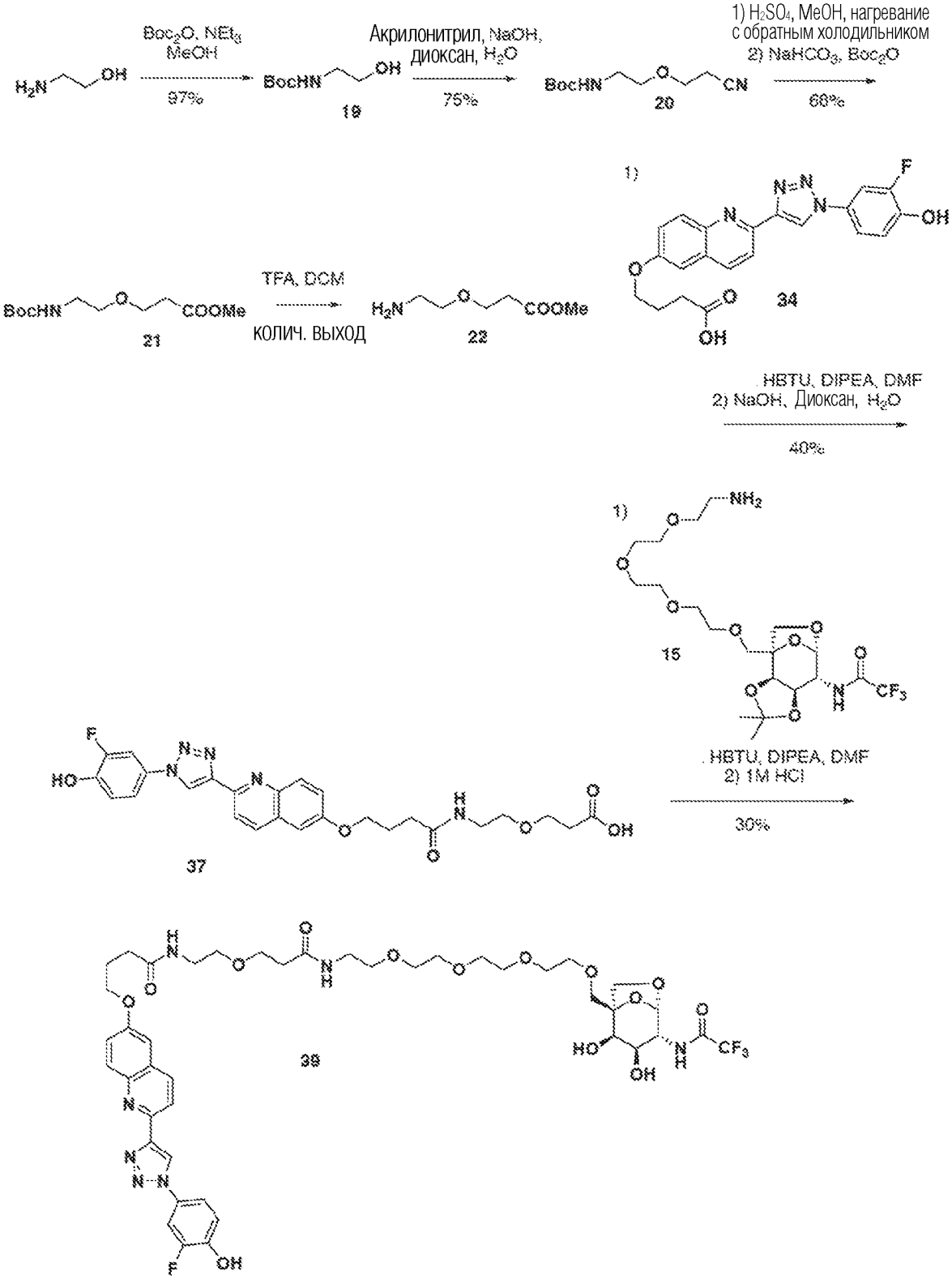
ФИГ. 122

ФИГ. 123

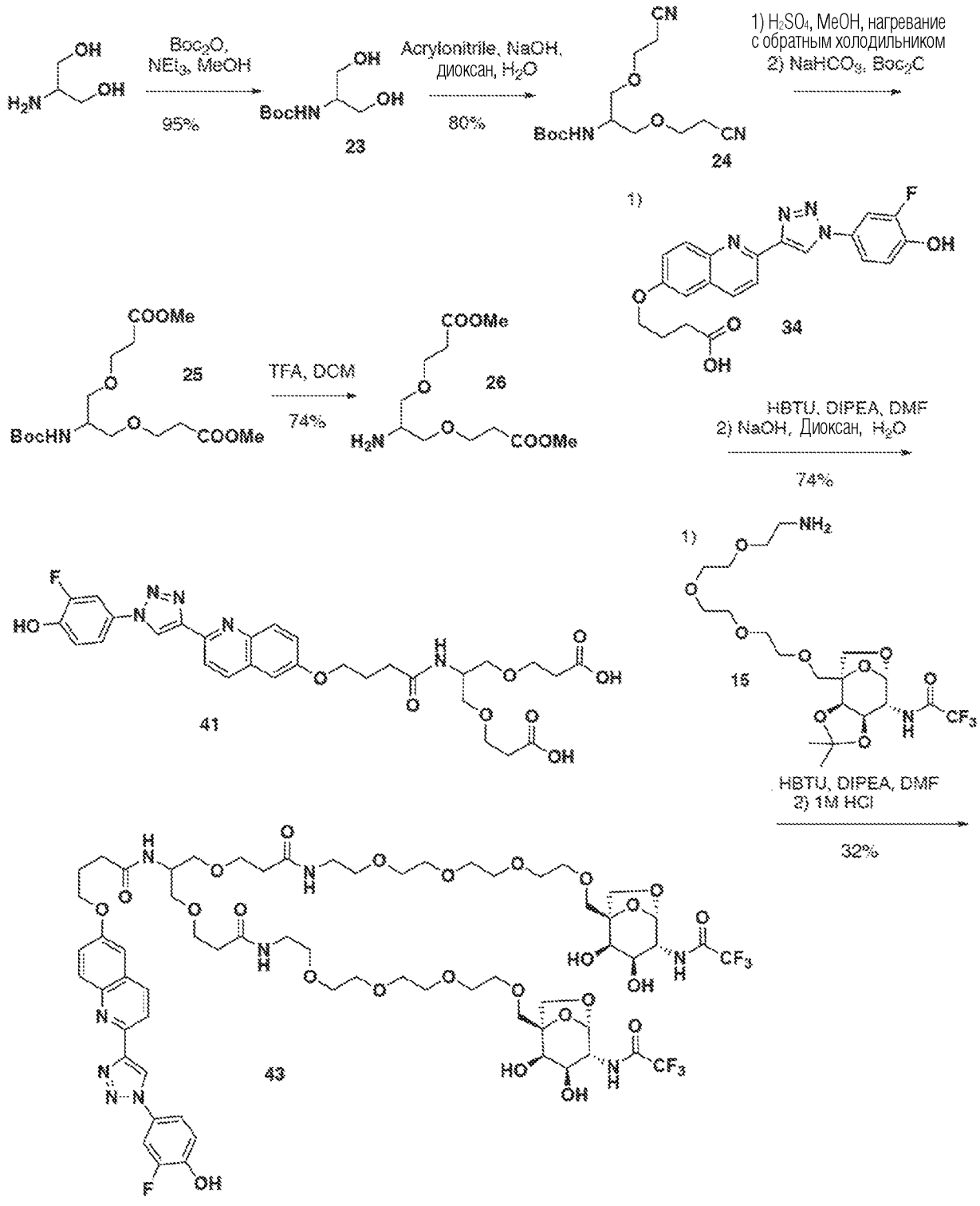




Соединение 107

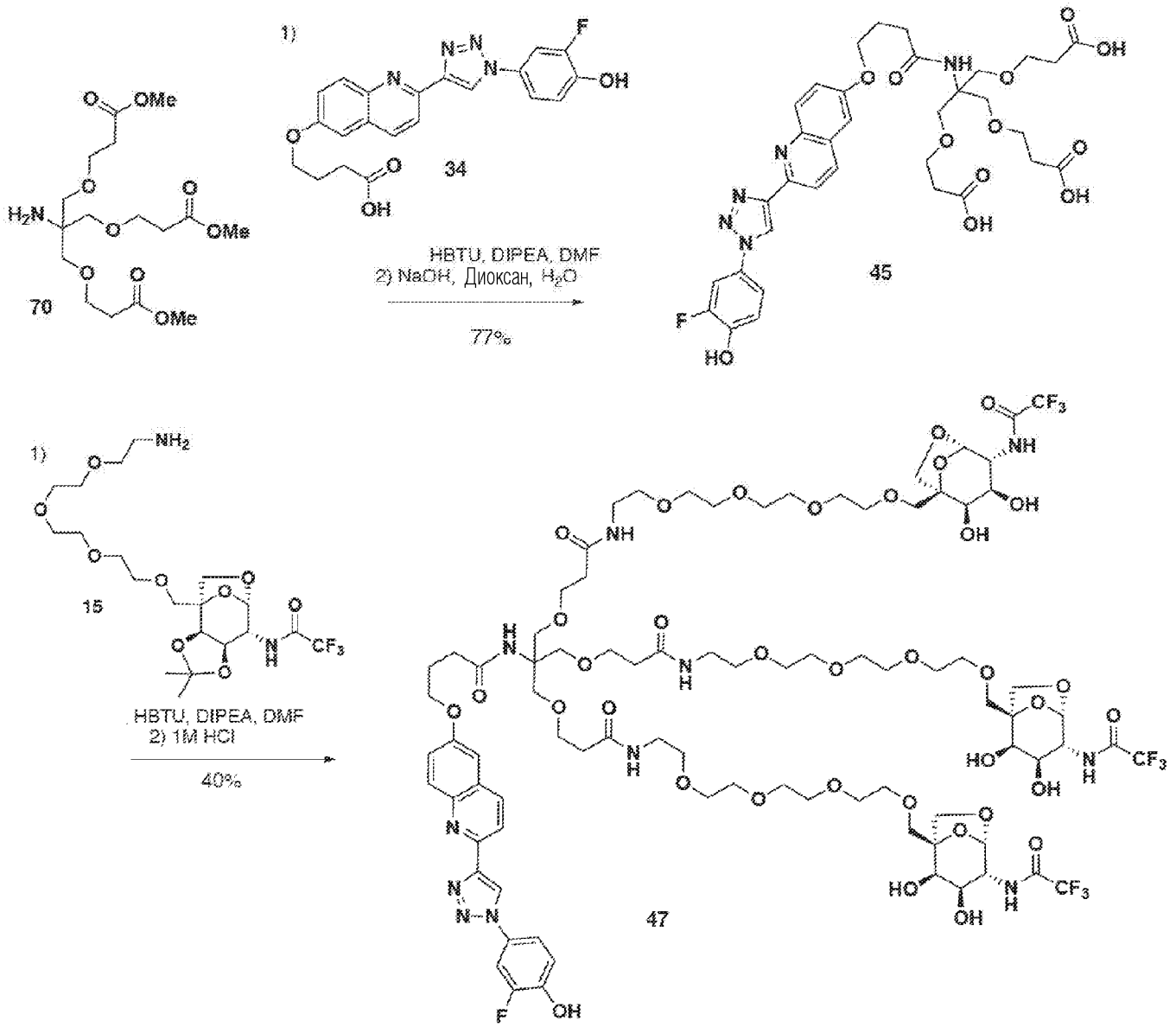

Boc2O, NEt3
MeOH
97%
Акрилонитрил, NaOH,
диоксан, H2O
75%
1) H2SO4, MeOH, нагревание
с обратным холодильником
2) NaHCO3, Boc2O
68%
19
20
TFA, DCM
КОЛИЧ. ВЫХОД
21
22
34
HBTU, DIPEA, DMF
2) NaOH, Диоксан, H2O
40%
15
HBTU, DIPEA, DMF
2) 1M HCl
30%
37
38

ФИГ. 124

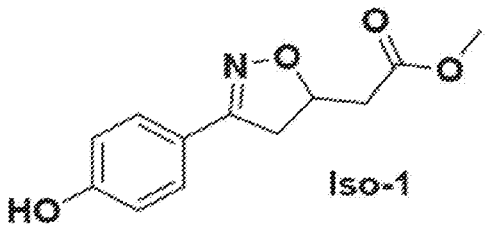

Boc2O, NEt3, MeOH
95%
23
Acrylonitrile, NaOH, диоксан, H2O
80%
24
1) H2SO4, MeOH, нагревание с обратным холодильником
2) NaHCO3, Boc2O
1)
34
25
TFA, DCM
74%
26
HBTU, DIPEA, DMF
2) NaOH, Диоксан, H2O
74%
41
1)
15
HBTU, DIPEA, DMF
2) 1M HCl
32%
43

ФИГ. 125

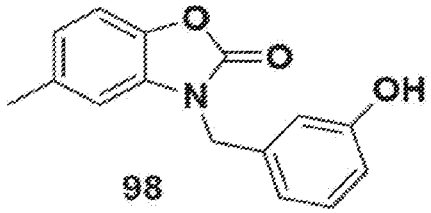
ФИГ. 126


1)
HBTU, DIPEA, DMF
2) NaOH, Диоксан, H2O
77%
70
34
45
1)
HBTU, DIPEA, DMF
2) 1M HCl
40%
15
47

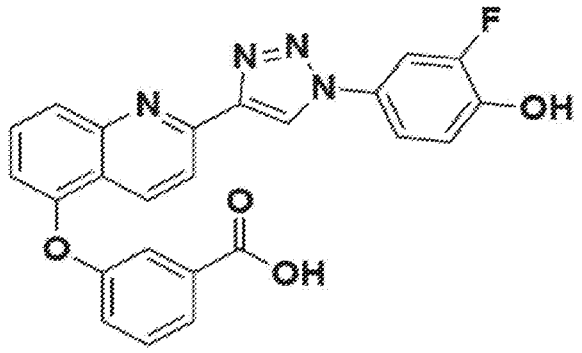
ФИГ. 127



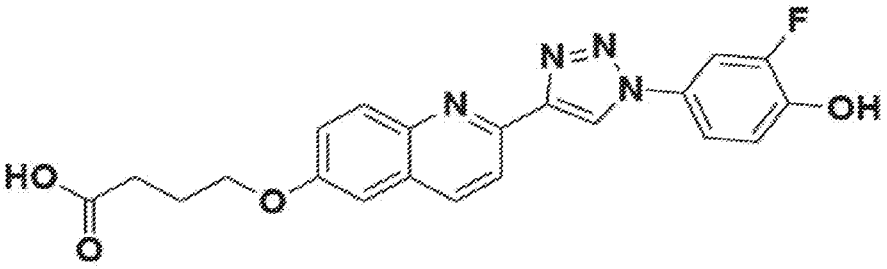
Iso-1



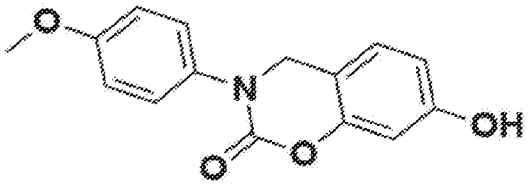
98



305

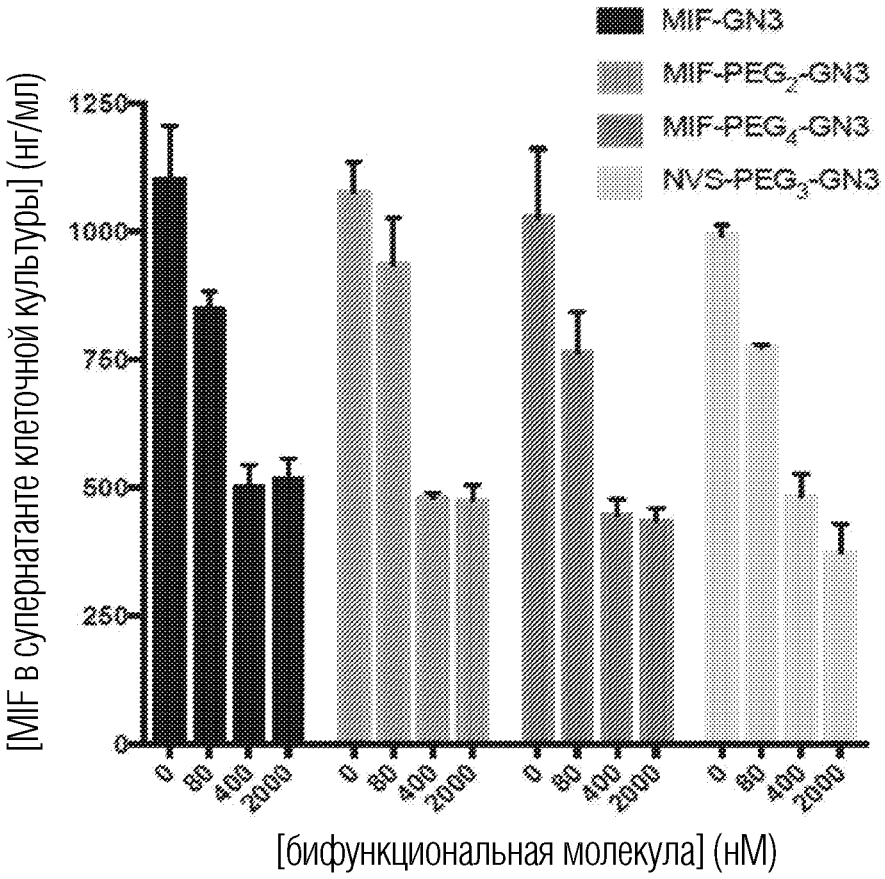


332

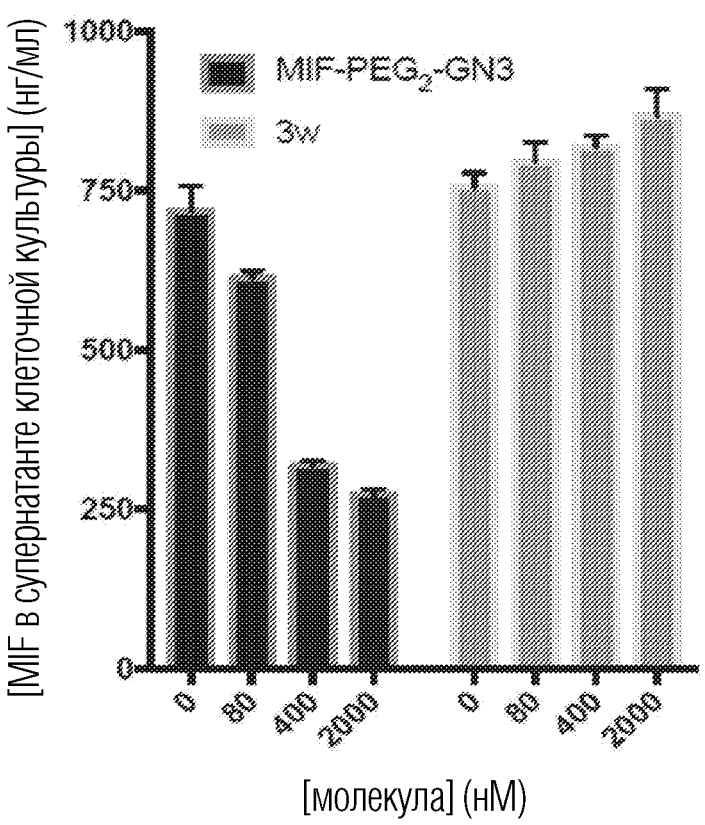


NVS-2

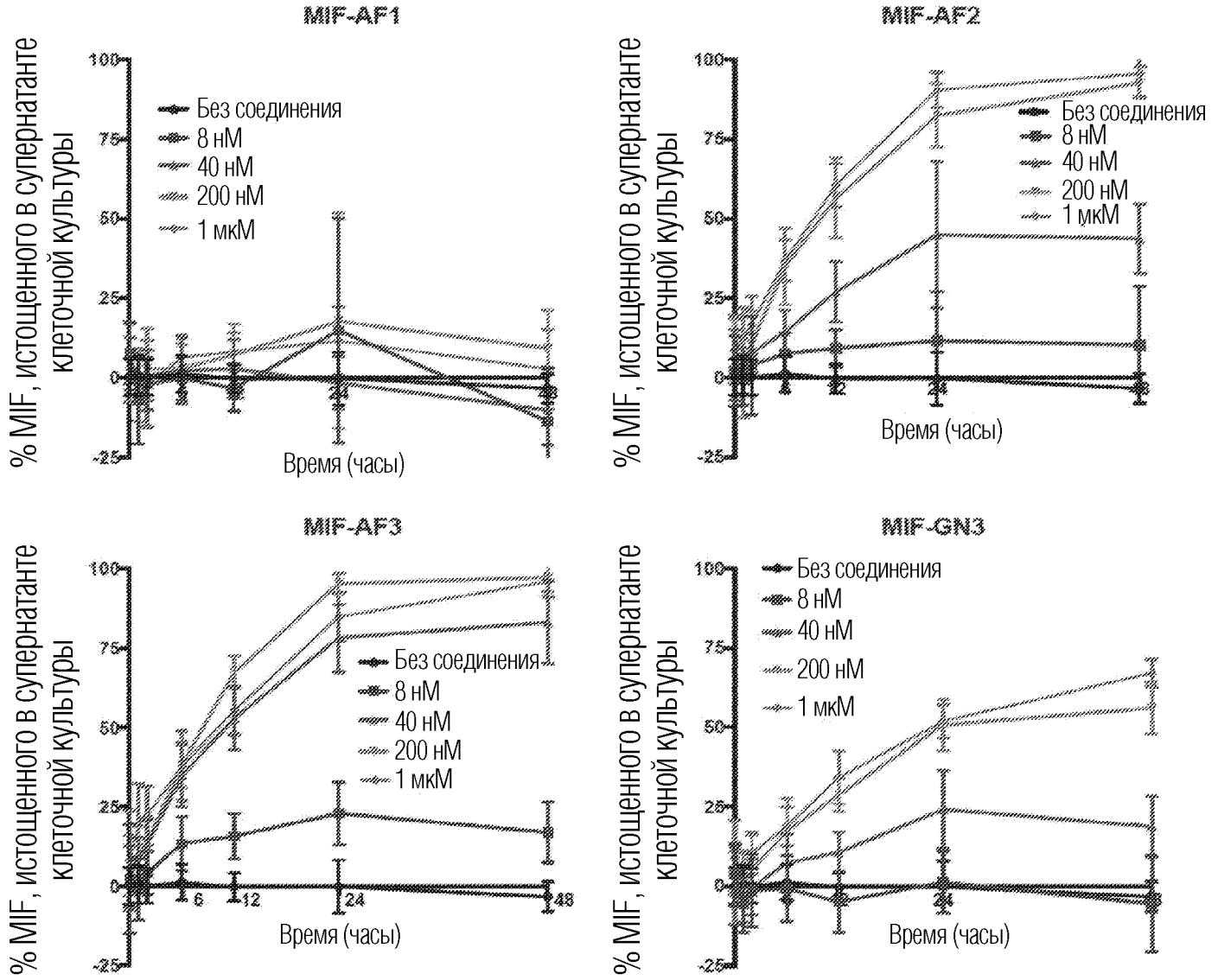
ФИГ. 128A



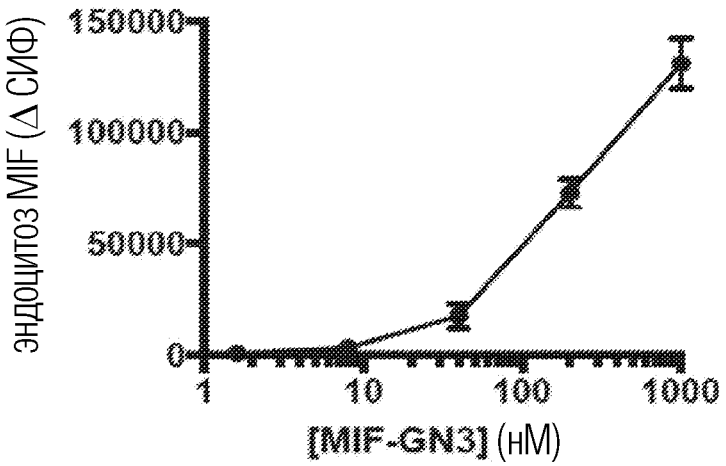
ФИГ. 128B



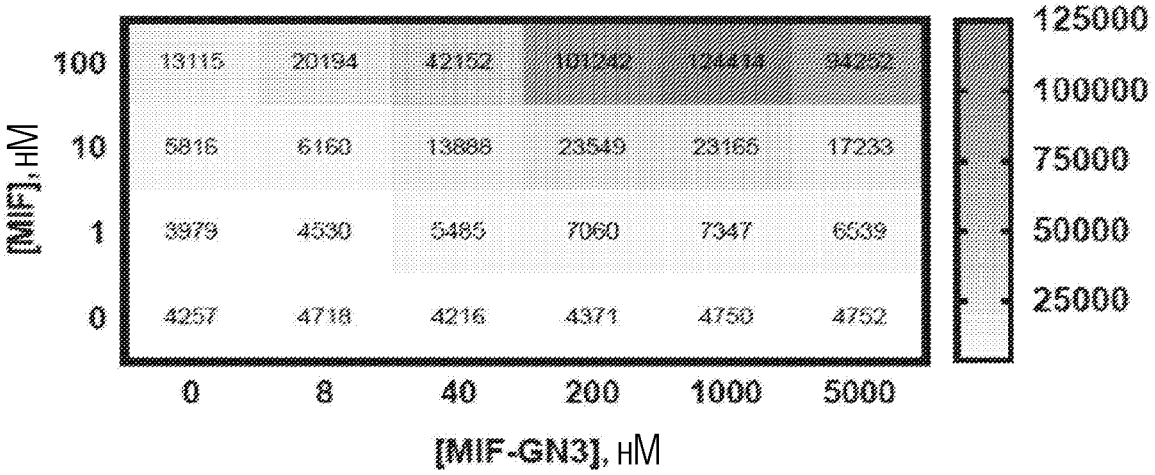
ФИГ. 129


MIF-AF1
% MIF, истощенного в супернатанте клеточной культуры
Время (часы)
Без соединения
8 нМ
40 нМ
200 нМ
1 мкМ
MIF-AF2
MIF-AF3
MIF-GN3

ФИГ. 130

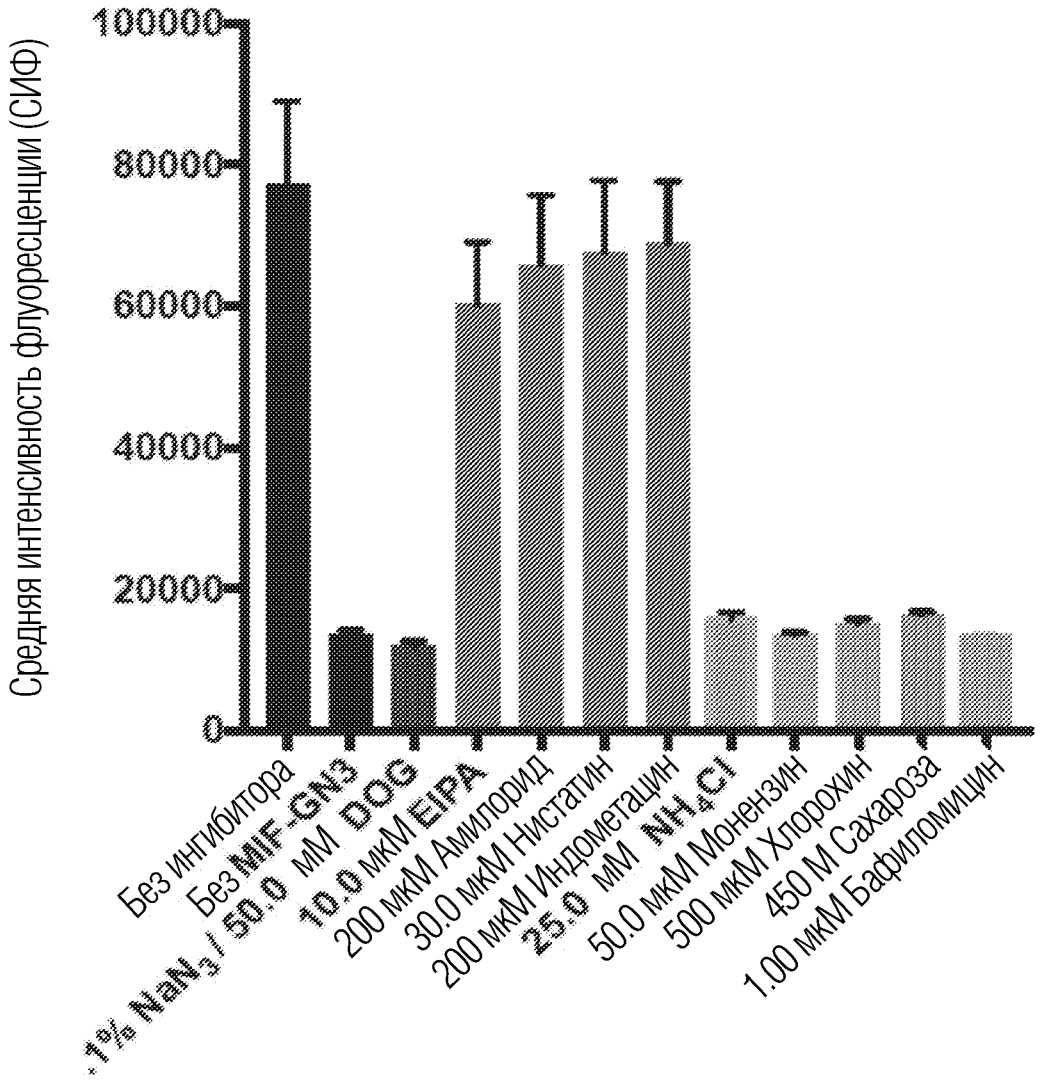


ФИГ. 131

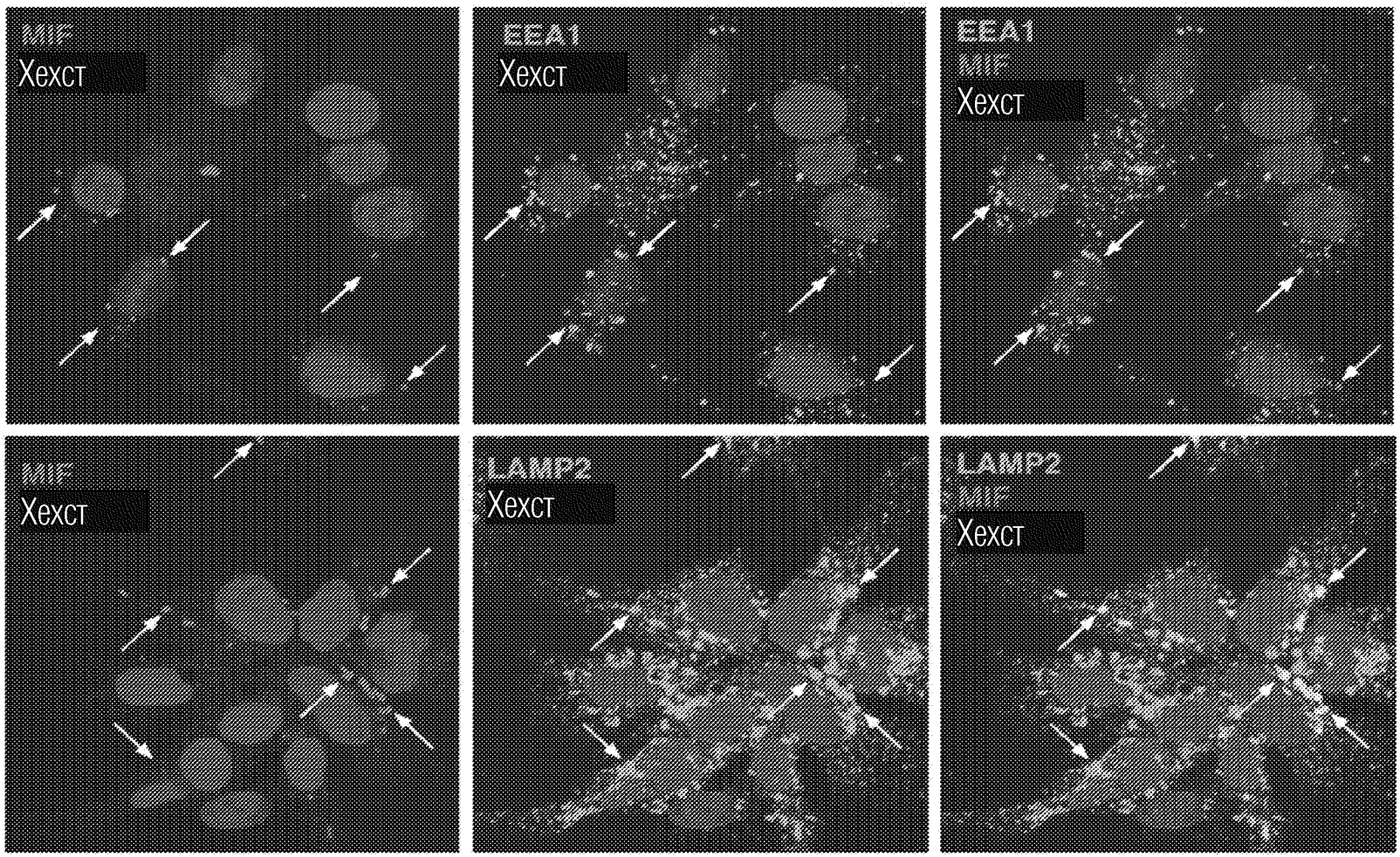


Средняя интенсивность флуоресценции клеточной популяции.

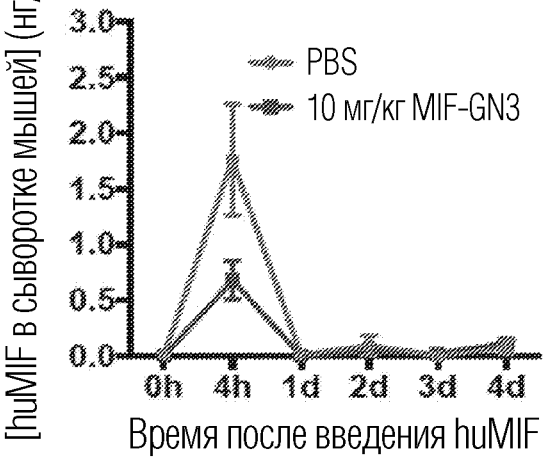
ФИГ. 132


Средняя интенсивность флуоресценции (СИФ)
100000
80000
60000
40000
20000
0
Без ингибитора
Без MIF-GN3
0.1% NaN3 / 50.0 мМ DOG
10.0 мкМ EIPA
200 мкМ Амилорид
30.0 мкМ Нистатин
200 мкМ Индометацин
25.0 мМ NH4Cl
50.0 мкМ Монензин
500 мкМ Хлорохин
450 М Сахароза
1.00 мкМ Бафиломицин

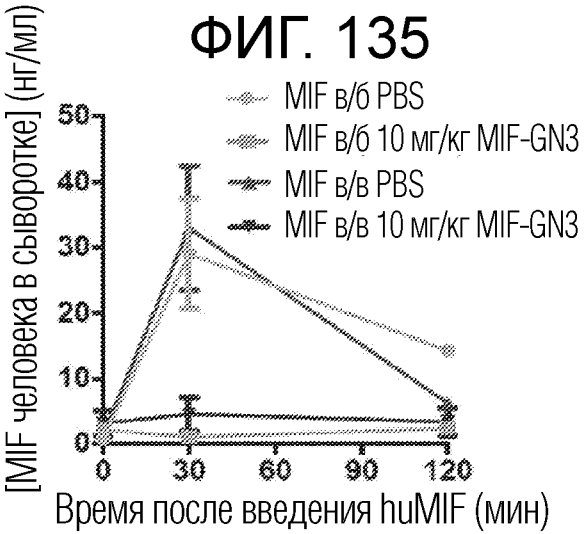
ФИГ. 133


MIF
Хехст
EEA1
Хехст
EEA1
MIF
Хехст
MIF
Хехст
LAMP2
Хехст
LAMP2
MIF
Хехст

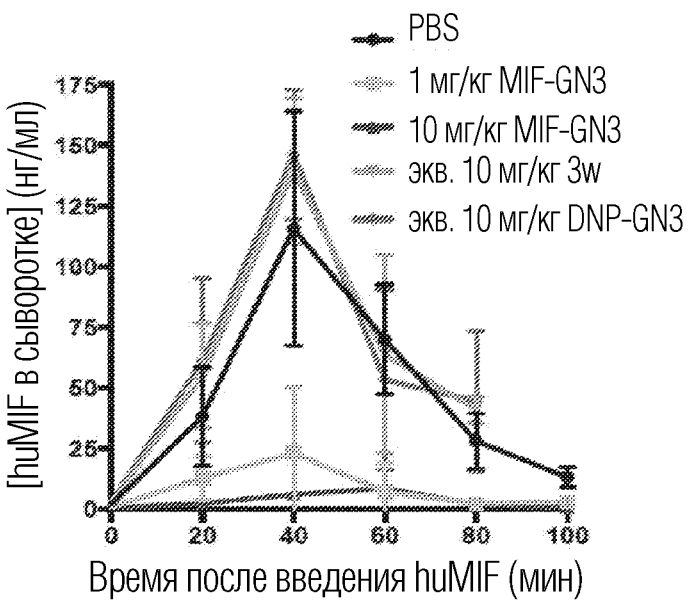
ФИГ. 134

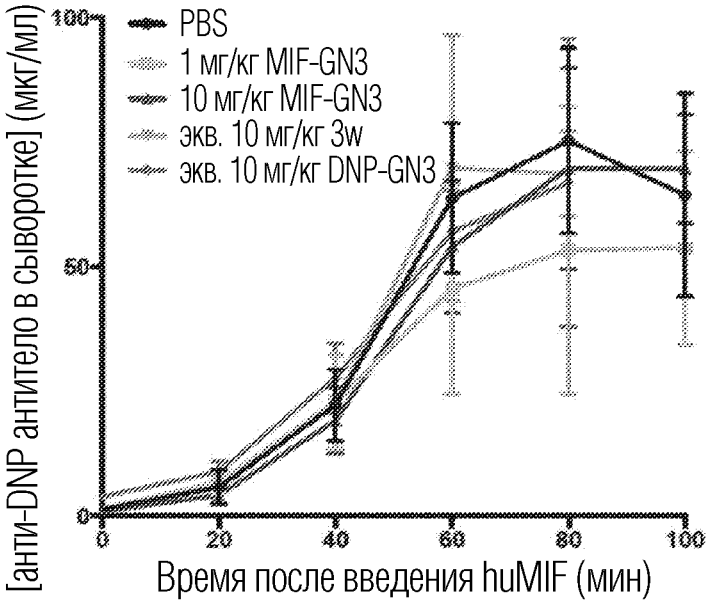


ФИГ. 135

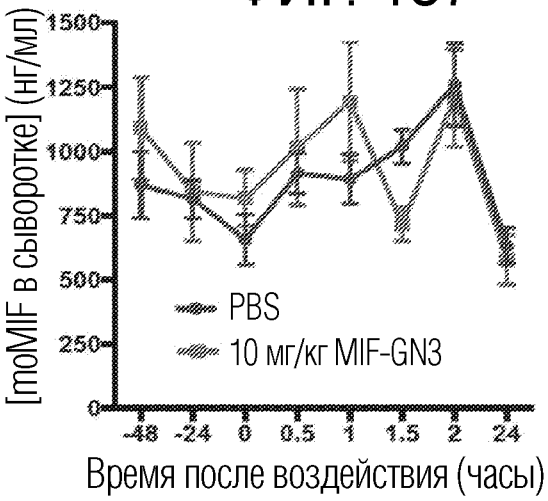


ФИГ. 136

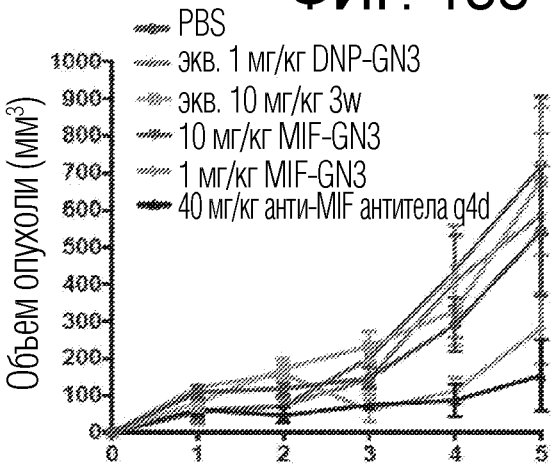




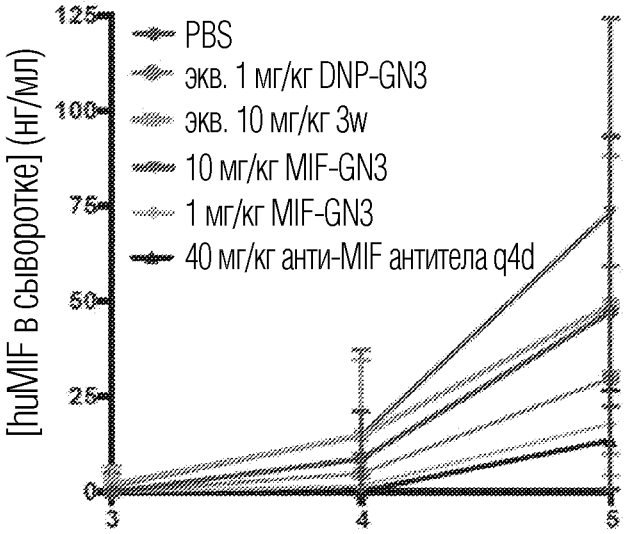
ФИГ. 137



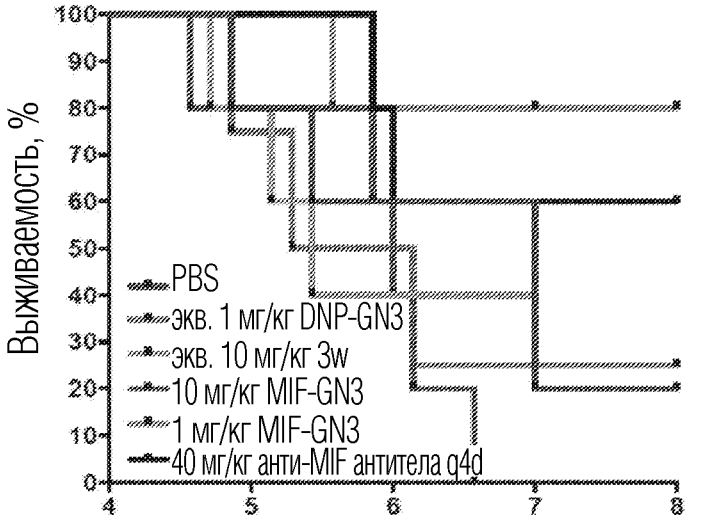
ФИГ. 138

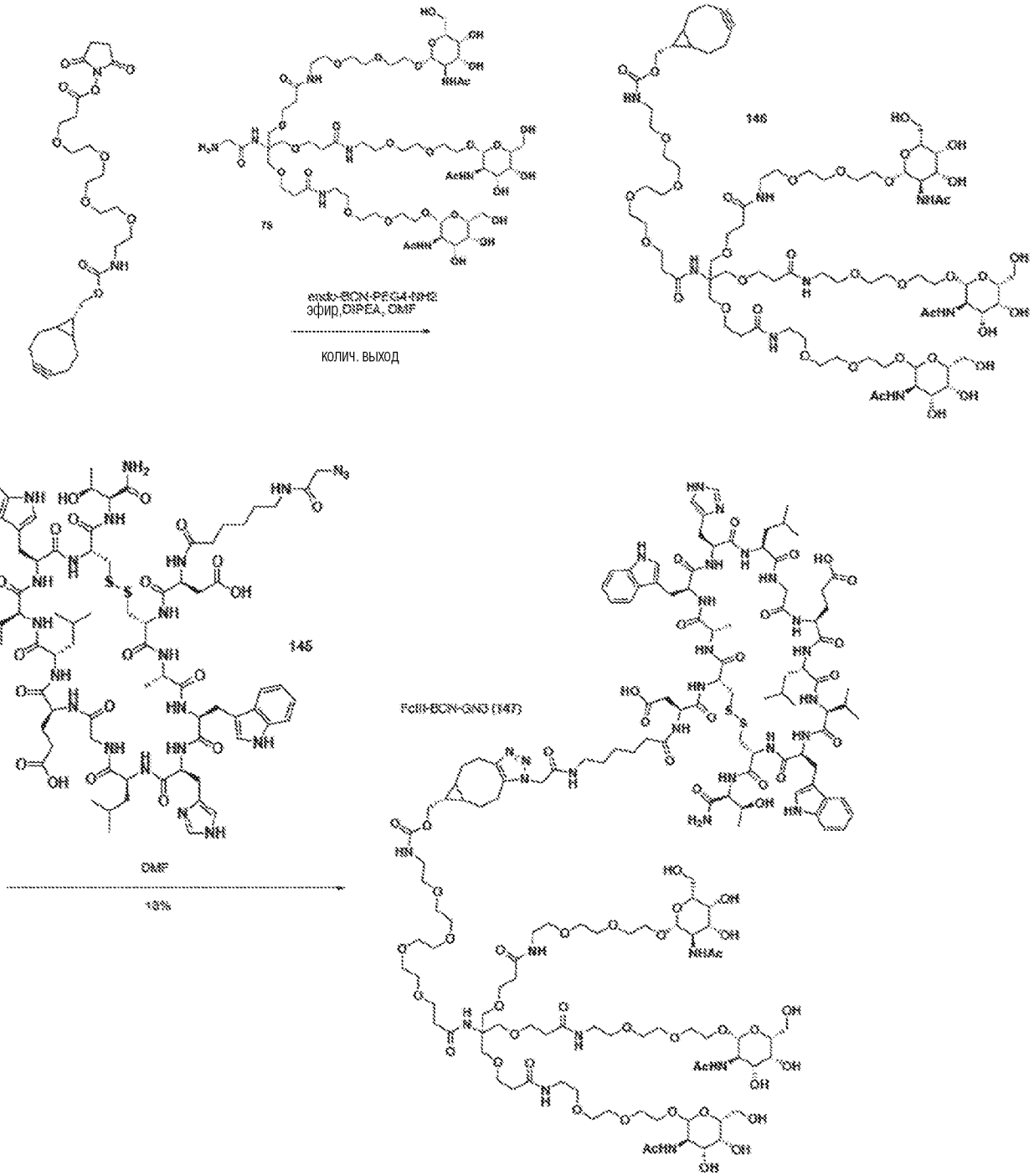


ФИГ. 139



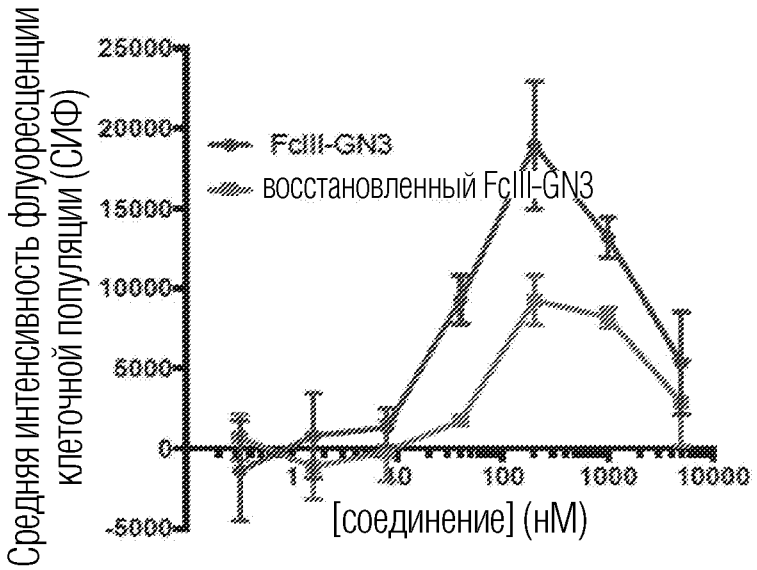
ФИГ. 140



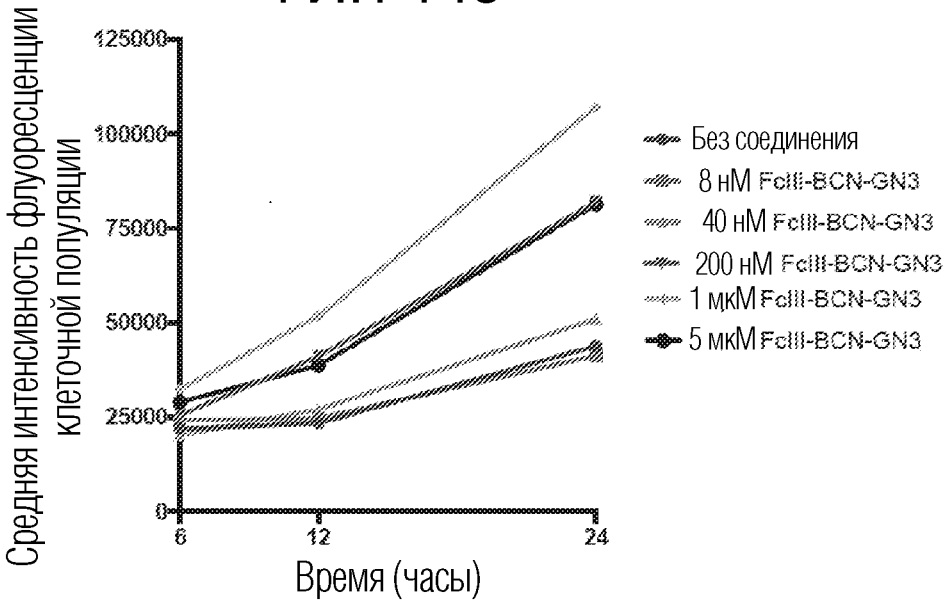


ФИГ. 141

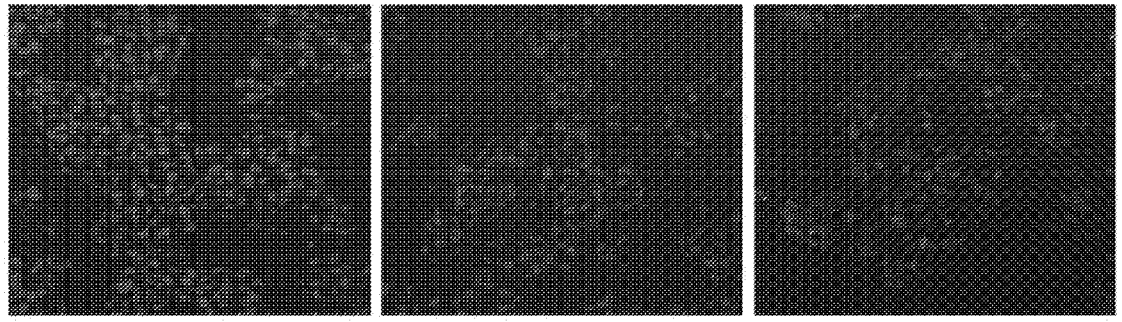
ФИГ. 142



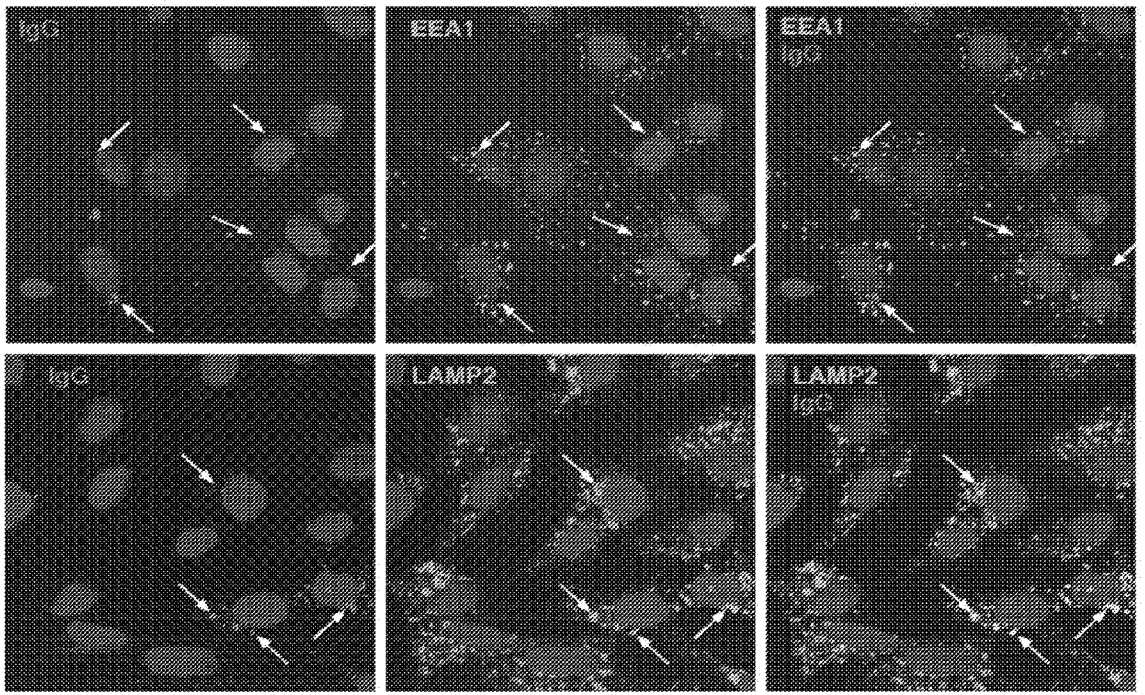
ФИГ. 143



ФИГ. 144



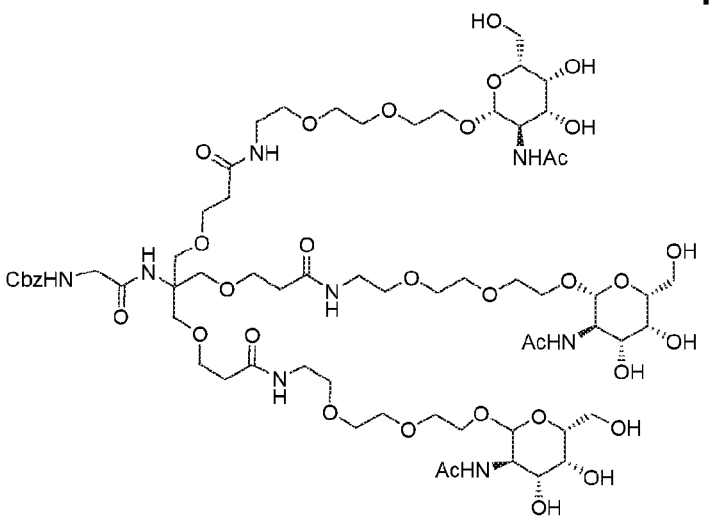
ФИГ. 145



ФИГ. 146А

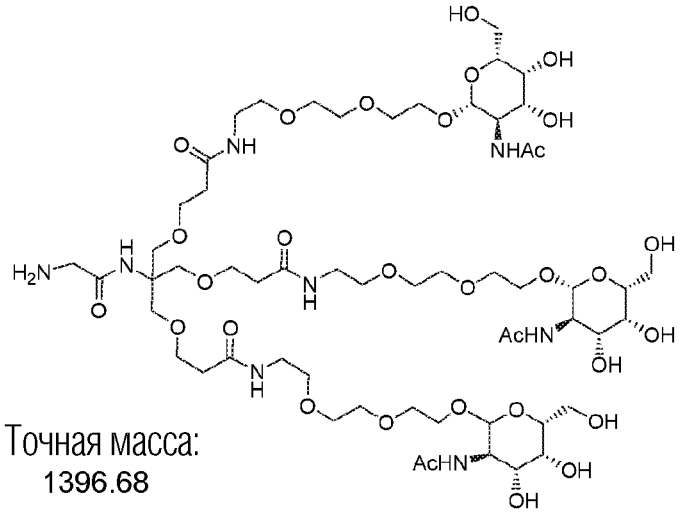
Cl-
N+
N
H
N
O
HN
HN
O
O
HN
S
N
O
O
N
O
S
HN
O
NH
H
N
O
H
N
O
H
N
O
N
H
O
NH
H2N
O
O
NH
S
HN
O
NH
HN
O
OH
O
NH
HN
O
OH
O
NH
HN
O
OH
OH

ФИГ. 146B

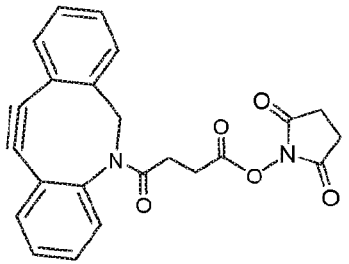


Точная масса: 1530.7175

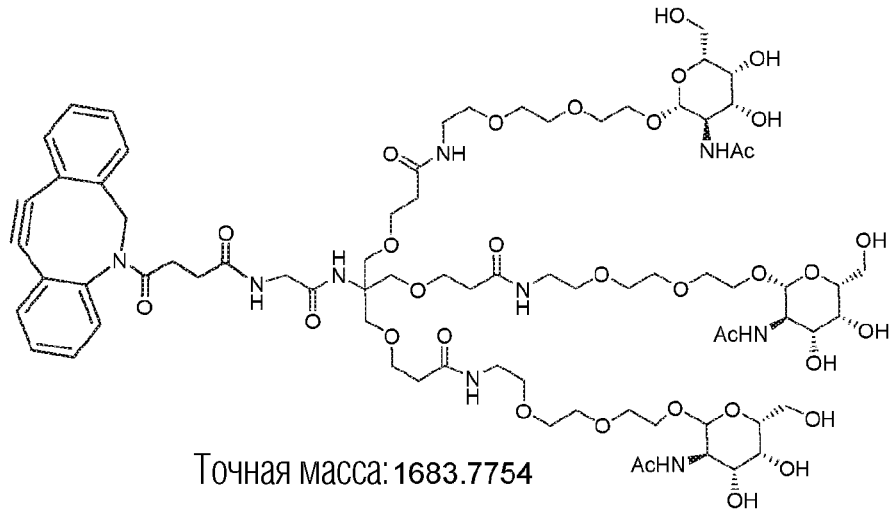
H_2, Pd/C
MeOH



Точная масса:
1396.68



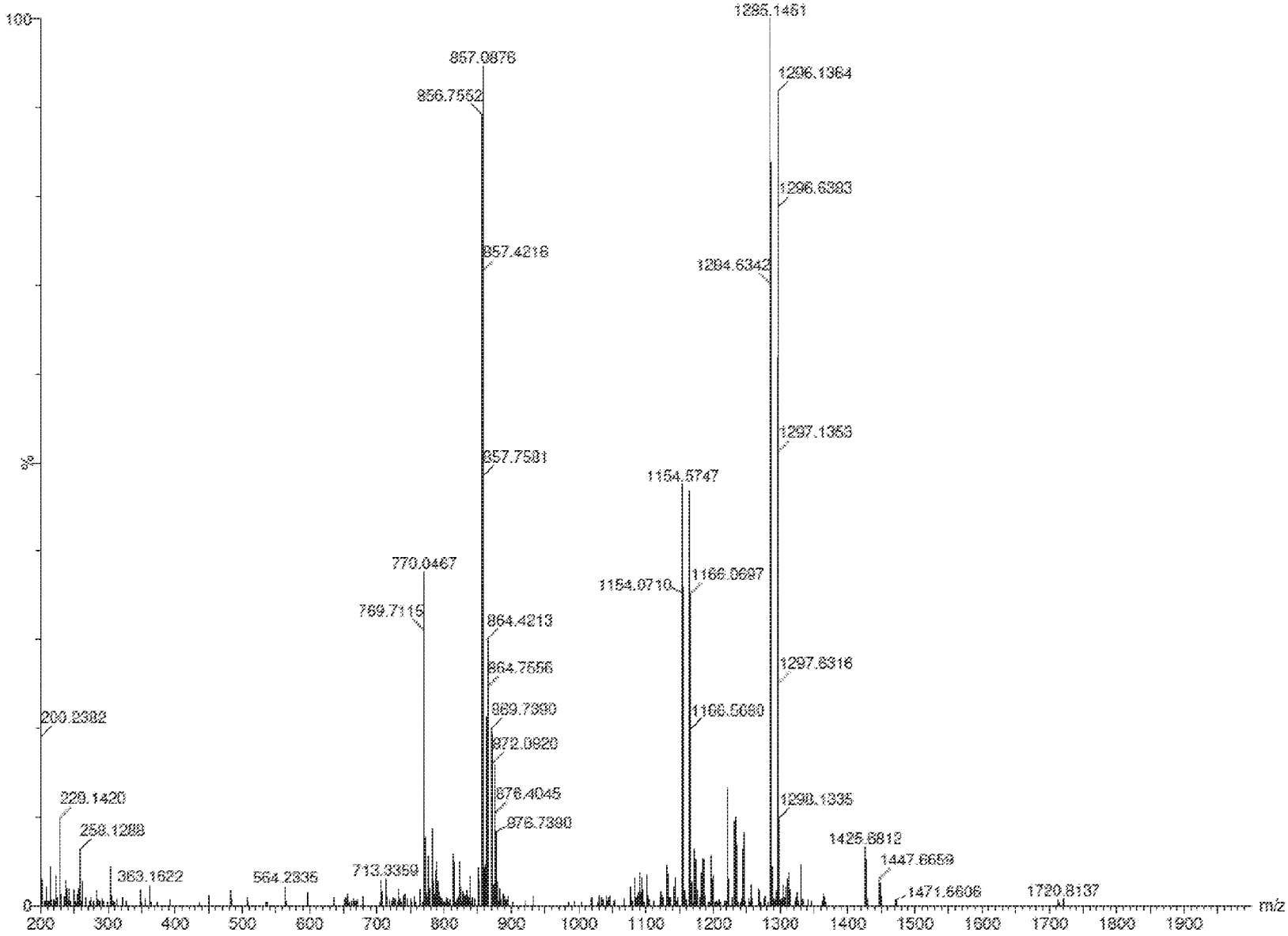
Точная масса: 402.12



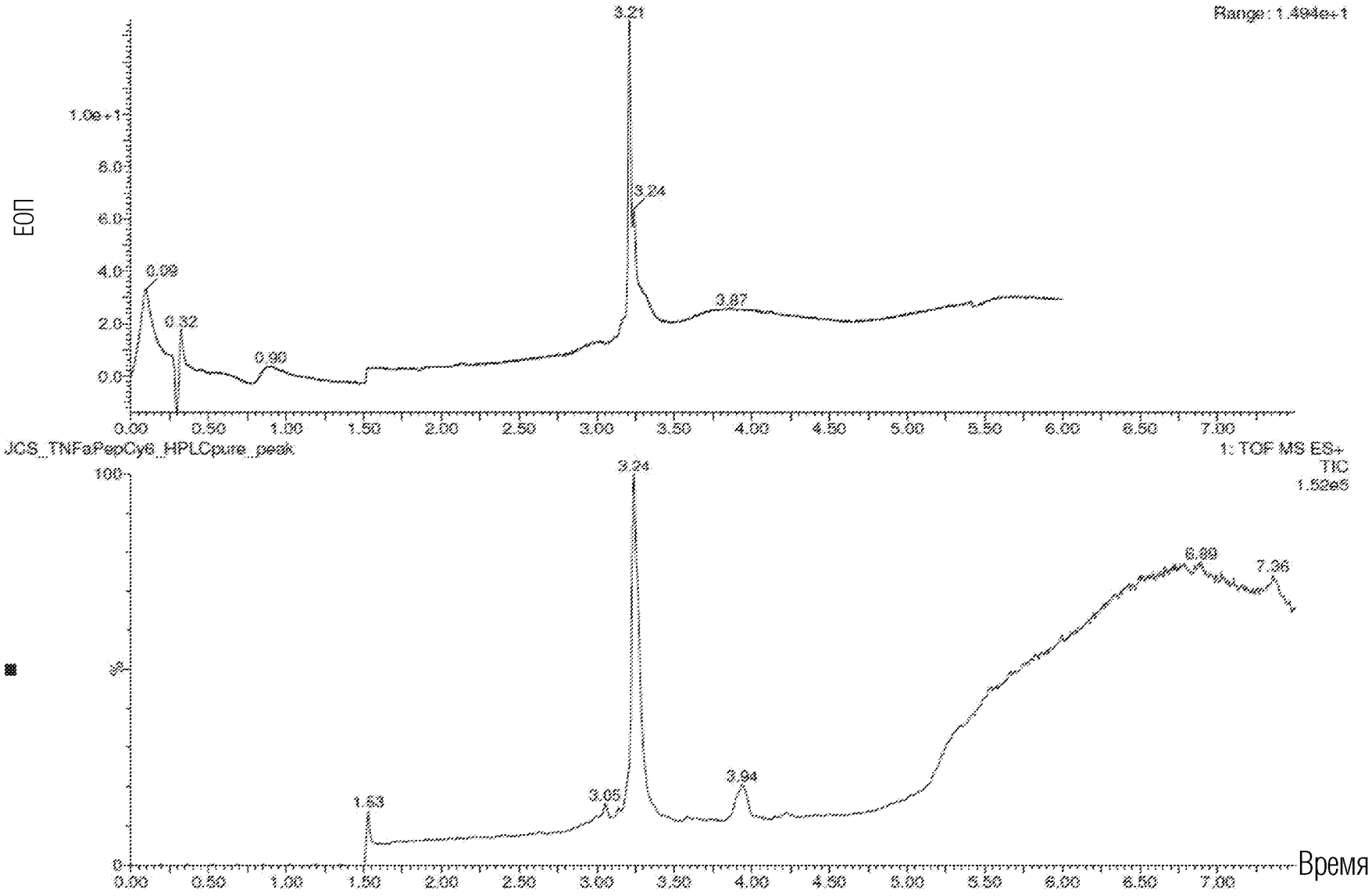
Точная масса: 1683.7754

использовали без очистки

ФИГ. 147А


100
%
0
1295.1451
857.0876
856.7552
1296.1384
1296.6393
857.4218
1294.6342
857.7581
1297.1353
1154.5747
770.0467
1154.0710
1166.0687
769.7115
864.4213
864.7556
1297.6316
869.7590
1166.5080
872.0920
200.2382
876.4045
229.1420
876.7390
1290.1335
258.1288
1425.6812
1447.6659
383.1622
564.2335
713.3359
1471.6606
1720.8137
m/z
200
300
400
500
600
700
800
900
1000
1100
1200
1300
1400
1500
1600
1700
1800
1900

ФИГ. 147В


Range: 1.494e+1
3.21
3.24
3.87
0.09
0.32
0.90
ЕОП
JCS_TNFaPepCy6_HPLCpure_peak
1: TOF MS ES+
TIC
1.52e6
3.24
6.99
7.36
1.63
3.05
3.94
%
Время