



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **129467** (13) **C2**  
(51) МПК (2025.01)  
**C07K 7/06** (2006.01)  
**A61K 38/00**  
**C12N 9/64** (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ  
ДЕРЖАВНА ОРГАНІЗАЦІЯ  
"УКРАЇНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ  
ОФІС ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ ТА ІННОВАЦІЙ"

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

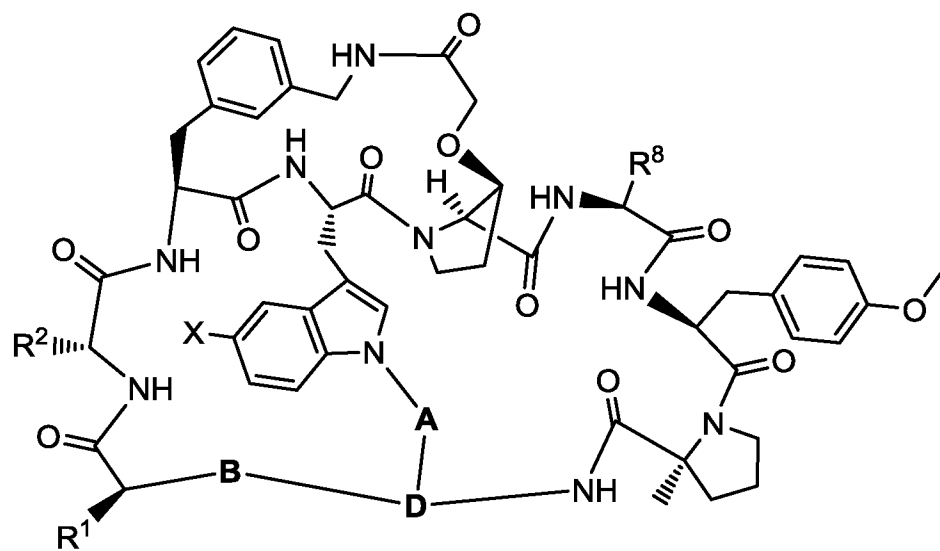
<p>(21) Номер заявки: <b>a 2021 00205</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>20.06.2019</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: <b>08.05.2025</b></p> <p>(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>62/687,913</b></p> <p>(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>21.06.2018</b></p> <p>(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: <b>US</b></p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: <b>21.04.2021, Бюл.№ 16</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: <b>07.05.2025, Бюл.№ 19</b></p> <p>(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: <b>PCT/US2019/038155, 20.06.2019</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Вуд Гарольд Б. (US), Джосієн Губерт Б. (US), Такер Томас Джозеф (US), Керекес Анджела Дон (US), Тун Лін (US), Валджи Аббас М. (US), Наір Анілкумар Дж. (US), Дін Фа-Сян (US), Бьянкі Елізабетта (IT), Бранка Даніла (IT), Ву Ченвей (US), Сюн Юйшен (US), Га Соокгес Ніколь (US), Лю Цзянь (US), Боґа Собгана Бабу (US)</b></p> <p>(73) Володілець (володільці): <b>МЕРК ШАРП ЕНД ДОУМ ЕЛЕЛСІ, 126 East Lincoln Avenue, Rahway, New Jersey 07065, United States of America (US)</b></p> <p>(74) Представник: <b>Бочаров Максим Анатолійович, реєстр. №367</b></p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: <b>NI-YA HE et al. Lowering serum lipids via PCSK9-targeting drugs: current advances and future perspectives// Acta Pharmacologica Sinica, 23.01.2017, vol. 38, no. 3, pages 301-311</b> <b>RAHUL CHAUDHARY et al. PCSK9 inhibitors: A new era of lipid lowering therapy// World Journal of Cardiology, 01.01.2017, vol. 9, no. 2, page 76</b></p>
--	---

## (54) СПОЛУКИ-АНТАГОНІСТИ PCSK9

### (57) Реферат:

Описані сполуки формули I або їхні солі, де A, B, D, X, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> і R<sup>8</sup> є такими, як визначено в даному описі, і ці сполуки мають властивості антагоністів PCSK9. Також описані фармацевтичні складі, що містять сполуки формули I або їхні солі, і способи лікування серцево-судинних захворювань і станів, пов'язаних з активністю PCSK9, наприклад, атеросклерозу, гіперхолестеринемії, коронарної хвороби серця, метаболічного синдрому, гострого коронарного синдрому або родинного серцево-судинного захворювання і кардіометаболічних станів.

UA 129467 C2



формула I

## ПЕРЕХРЕСНЕ ПОСИЛАННЯ НА СПОРІДНЕНУ ЗАЯВКУ

Дана заявка заявляє пріоритет по заявці США № 62/687913, поданій 21 червня 2018 року, яка включена в даний опис як посилання в повному об'ємі.

## РІВЕНЬ ТЕХНІКИ, ДО ЯКОГО НАЛЕЖИТЬ ВИНАХІД

5 Ідентифікація сполук і/або засобів, які є ефективними для лікування серцево-судинних захворювань, є у високій мірі бажаній. У клінічних випробуваннях зниження рівнів LDL-холестерину прямо пов'язане з частотою коронарних нападів; Law et al., 2003 *BMJ* 326:1423-1427. Було виявлено, що помірно довічне зменшення рівнів LDL-холестерину в плазмі корелює зі значним зниженням зустрічальності коронарних нападів; Cohen et al., 2006 *N. Engl. J. Med.* 10 354:1264-1272. Це справедливо навіть в популяціях з високою частотою не пов'язаних з ліпідами серцево-судинних факторів ризику; вище. Таким чином, був би значною мірою корисним керований контроль рівнів LDL-холестерину.

Пропотеїнова конвертаза субтилізін-кексинового типу 9 (що далі означається як "PCSK9"), також відома як нейрональна апоптоз-регульована конвертаза 1 ("NARC-1"), являє собою 15 протеазу К-подібну субтилазу, ідентифіковану як 9-го представник сімейства секреторних субтилаз; див. Seidah et al., 2003 *PNAS* 100:928-933. PCSK9 належить до сімейства конвертаз пробіліків ссавців, серинових протеаз, і містить N-кінцеву сигнальну послідовність, продомен, каталітичний домен і C-кінцевий домен; див. Seidah et al., 2012 *Nat. Rev. Drug Discov.* 11:367-383. Дослідження регуляції транскрипції PCSK9 продемонструвало, що вона регулюється 20 білками, які зв'язують стеринрегульовальні елементи ("SREBP"), як видно для інших генів, залучених до метаболізму холестерину; Maxwell et al., 2003 *J. Lipid Res.* 44:2109-2119, що є типовим для інших генів, залучених до метаболізму ліпопротеїнів; Dubuc et al., 2004 *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 24:1454-1459. Було показано, що статини підвищують експресію PCSK9 аналогічно ефектам зниження рівня холестерину у лікарських засобів; вище. Більше того, було 25 показано, що промотори PCSK9 мають дві консервативні ділянки, залучені до регуляції холестерину: стеринрегульовальний елемент і ділянка Sp1; вище.

Між тим, в ендоплазматичському ретикулумі PCSK9 як його єдина каталітична активність виконує ауторозщеплення між залишками Gln-152 і Ser-153; див. Naureckiene et al., 2003 *Arch. Biochem. Biophys.* 420:55-67; Seidah et al., 2003 *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100:928-933. 30 Продомен залишається міцно пов'язаним з каталітичним доменом в ході подальшого транспорту через транс-мережу Гольджі. Було продемонстровано, що дозрівання за допомогою ауторозщеплення є ключовим для секреції PCSK9 і подальшої позаклітинної функції (див. Benjannet et al., 2012 *J. Biol. Chem.* 287:33745-33755). Таким чином, декілька ліній доказів демонструють, що PCSK9, зокрема, зменшує кількість білка LDLR в печінці і, таким чином, 35 знижує здатність печінки видаляти LDL-холестерин з кровотоку.

Опосередковувана аденовірусом надекспресія PCSK9 в печінці мишей приводить до накопичення циркулюючого LDL-C внаслідок вираженої втрати печінкового білка LDLR без ефекту на дорівнюють мПНК LDLR; Benjannet et al., 2004 *J. Biol. Chem.* 279:48865-48875; Maxwell & Breslow, 2004 *PNAS* 101:7100-7105; Park et al., 2004 *J. Biol. Chem.* 279:50630-50638; і 40 Lalanne et al., 2005 *J. Lipid Res.* 46:1312-1319. Ефект надекспресії PCSK9 на підвищення рівнів LDL-C в кровотоці мишей повністю залежить від експресії LDLR, знову вказуючи на те, що регуляція LDL-C за допомогою PCSK9 опосередковується придушенням білка LDLR. Відповідно до цих даних, миші, позбавлені PCSK9, або у яких мПНК PCSK9 знижена за допомогою антисенсових олігонуклеотидних інгібіторів, мають більш високі дорівнюють білка LDLR в печінці і більш високу здатність до виведення циркулюючого LDL-C; Rashid et al., 2005 *PNAS* 102:5374-5379; і Graham et al., 2007 *J. Lipid Res.* 48(4):763-767. Крім того, зниження рівнів PCSK9 в культивованих гепатоцитах людини за допомогою мПНК також приводить до вищих рівнів білка LDLR і підвищеної здатності поглинати LDL-C; Benjannet et al., 2004 *J. Biol. Chem.* 279:48865-48875; і Lalanne et al., 2005 *J. Lipid Res.* 46:1312-1319. Взяті разом, ці дані вказують на те, що дія 50 PCSK9 приводить до збільшення рівня LDL-C шляхом зниження рівнів білка LDLR.

Ряд мутацій в гені PCSK9 також достовірно асоційований з аутосомно-домінантною гіперхолестеринемією ("ADH"), спадковим порушенням метаболізму, що характеризується вираженим підвищенням рівня частинок ліпопротеїнів низької густини ("LDL") в плазмі, що може 55 приводити до передчасної серцево-судинної недостатності; див. Abifadel et al., 2003 *Nature Genetics* 34:154-156; Timms et al., 2004 *Hum. Genet.* 114:349-353; Leren, 2004 *Clin. Genet.* 65:419-422. Пізніше опубліковане дослідження мутації S127R Abifadel et al., вище, показало, що пацієнти, які мають таку мутацію, демонстрували вищий рівень загального холестерину і аров100 в плазмі, пов'язаний з (1) сверхпродукцией утримуючих аров100 ліпопротеїнів, таких як ліпопротеїн низької густини ("LDL"), ліпопротеїн дуже низької густини ("VLDL") і ліпопротеїн 60 проміжної густини ("IDL"), і (2) асоційованим зниженням кліренсу або конвертування вказаних

ліпопротеїнів; Ouguerram et al., 2004 Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 24:1448-1453.

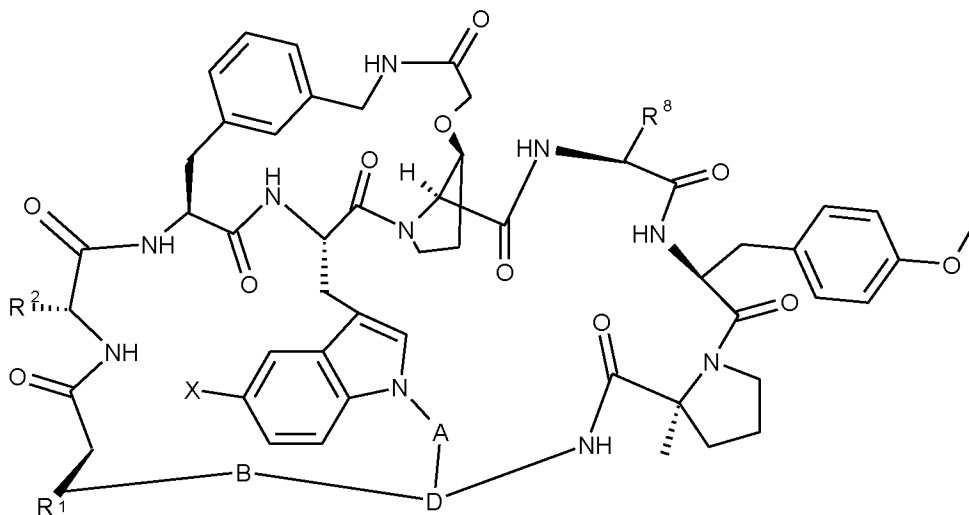
Таким чином, не може бути сумнівів, що PCSK9 відіграє роль в регуляції LDL. Експресія або активація PCSK9 асоційована з підвищеними рівнями в плазмі холестерину LDL, і відповідним інгібуванням або відсутністю експресії PCSK9 асоційовано зі зниженими рівнями холестерину LDL в плазмі. Було виявлено, що знижені дорівнюють холестерину LDL, асоційовані з варіюванням послідовності PCSK9, забезпечують захист проти коронарної хвороби серця; Cohen, 2006 N. Engl. J. Med. 354:1264-1272.

Таким чином, ідентифікація сполук і/або засобів, ефективних для лікування серцево-судинних захворювань, є у високій мірі бажаною, включаючи антагонізм ролі PCSK9 в регуляції LDL, однак, як правило, оскільки PCSK9 циркулює в крові і має помірну афінність зв'язування з рецепторами LDL на клітинній поверхні, попередні спроби використати цей механізм для лікування захворювань, пов'язаних з високими рівнями LDL в сироватці, були сфокусовані на використанні великих біомолекул, наприклад, антитіл. Таким чином, недостатньо публікацій, що відображають активність відносно його мішені, з використанням невеликих пептидів або низькомолекулярних сполук для інгібування PCSK9, див. наприклад, Zhang et al., 2014 J. Biol. Chemistry, 289(2): 942-955. Більше того, існує мало сполук, які можуть бути складені в дозовану форму для перорального шляху введення таких сполук, який є у високій мірі бажаним для забезпечення терапії станів, при яких регуляція активності PCSK9 може відіграти роль.

Даний винахід спрямований на ці інтереси шляхом надання антагоністів PCSK9, які приблизно можна використовувати для інгібування активності PCSK9 і відповідної ролі, яку PCSK9 грає при різних станах, при яких введення антагоніста PCSK9 забезпечує терапію.

#### СУТЬ ВИНАХОДУ

У одному аспекті винахід стосується сполуки формули I:



Формула I,

де:

X являє собою H, F, Cl або Br;

R<sup>1</sup> вибраний з:

(a) -H; або

(b) -(CH<sub>2</sub>)<sub>z</sub>-R<sup>14A</sup>, де: z дорівнює 1-6, і R<sup>14A</sup> являє собою:

(i) -H;

(ii) -NH<sub>2</sub>;

(iii) -N<sup>+</sup>H<sub>3</sub>;

(iv) -N<sup>+</sup>(H<sub>3</sub>C)<sub>3</sub>;

(v) -NH-C(O)-[(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-]<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>R<sup>14B</sup>, де R<sup>14B</sup> являє собою: -NH<sub>2</sub>; -N<sup>+</sup>H<sub>3</sub>; -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> або -N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>;

(vi) -NH-C(O)-[(CH<sub>2</sub>)<sub>y12</sub>-O-]<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>y13</sub>R<sup>14B</sup>, де:

y<sub>12</sub> і y<sub>13</sub> не дорівнюють обидва 2 і незалежно дорівнюють від 2 до 4; і

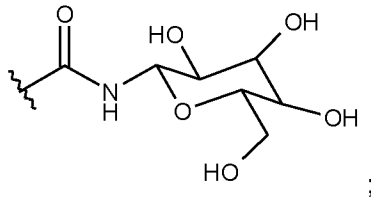
R<sup>14B</sup> являє собою: -NH<sub>2</sub>; -N<sup>+</sup>H<sub>3</sub>; -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; або -N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>;

(vii) -NH-C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>y</sub>R<sup>14C</sup>, де y=1-6 і R<sup>14C</sup> являє собою -O-(CH<sub>2</sub>)<sub>za</sub>-N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, де za дорівнює 3 або 4; і

(viii) -NH-C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>y</sub>R<sup>14C</sup>, де y=1-6 і R<sup>14C</sup> являє собою:

(ai) -O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>;

- (aii)  $-N^+(CH_3)_3$ ; або  
 (aiii) частину формули:



5

$R^2$  вибраний з:

(a)  $-H$ ; і

(b)  $-(CH_2)_z-R^{14A}$ , де:  $z$  дорівнює 1-6, і  $R^{14A}$  вибраний з:

(i)  $-H$ ;

(ii)  $-NH_2$ ;

(iii)  $-N^+H_3$ ;

(iv)  $-N^+(H_3C)_3$ ;

(v)  $-NH-C(O)-[(CH_2)_2-O]_2-(CH_2)_2R^{14B}$ , де  $R^{14B}$  являє собою:  $-NH_2$ ;  $-N^+H_3$ ;  $-N(CH_3)_2$  або  $-N^+(CH_3)_3$ ;

(vi)  $-NH-C(O)-[(CH_2)_{y12}-O]_2-(CH_2)_{y13}R^{14B}$ , де:

$y_{12}$  і  $y_{13}$  не дорівнюють обидва 2 і незалежно дорівнюють від 2 до 4; і

$R^{14B}$  являє собою:  $-NH_2$ ;  $-N^+H_3$ ;  $-N(CH_3)_2$  або  $-N^+(CH_3)_3$ ;

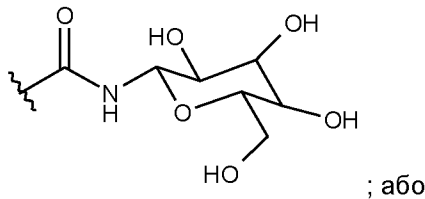
(vii)  $-NH-C(O)-(CH_2)_yR^{14C}$ , де  $y=1-6$  і  $R^{14C}$  являє собою  $-O-(CH_2)_{zb}-N^+(CH_3)_3$ , де  $zb$  дорівнює 3 або 4; і

(viii)  $-NH-C(O)-(CH_2)_yR^{14C}$ , де,  $y=1-6$  і  $R^{14C}$  являє собою:

(ai)  $-O-(CH_2)_2-N^+(CH_3)_3$ ;

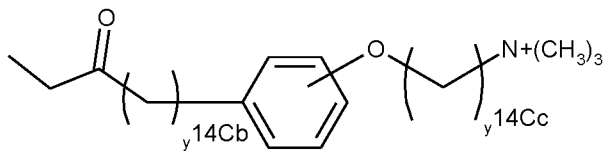
(aii)  $-N^+(CH_3)_2R^{14ca}$ , де  $R^{14ca}$  являє собою  $-CH_3$  або  $-(CH_2)_{1-4}-OCH_3$ ;

(aiii) частину формули:



25

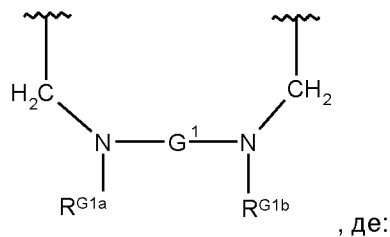
(aiv) частину формули:



30

де  $R^{14Cb}$  і  $R^{14Cc}$  дорівнюють від 1 до 4; або

$R^1$  і  $R^2$  можуть бути зв'язані разом з утворенням частини формули:

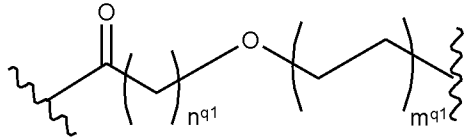


, де:

35

$G^1$ ,  $R^{G1a}$  і  $R^{G1b}$  визначаються таким чином:

(a)  $G^1$  являє собою лінкерну частину формули:



де  $n^{q1}$  дорівнює від 1 до 6,  $m^{q1}$  дорівнює 0, 1 або 2 і разом величини  $n^{q1}$  і  $m^{q1}$  вибрані так, щоб довжина лінкерної частини, яку вони визначають, не перевищувала всього 8 атомів вуглецю і/або кисню, що складають ланцюг, який включає атом вуглецю в ланцюгу, який утворює карбонільну частину;

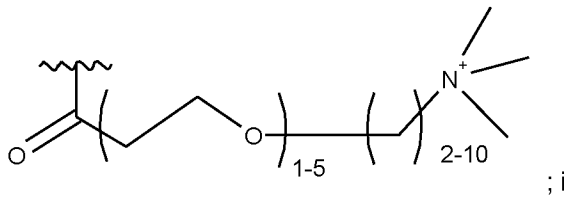
5

$R^{G1a}$  вибраний з: (i) -H; і (ii) алкілу з аж до 4 атомів вуглецю; і

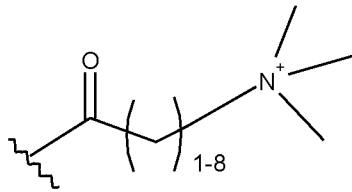
$R^{G1b}$  вибраний з:

(i) частини формули:

10



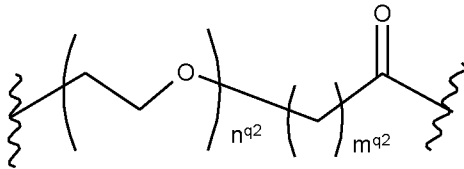
(ii) частини формули:



15

; або

(b)  $G^1$  являє собою лінкерну частину формули:



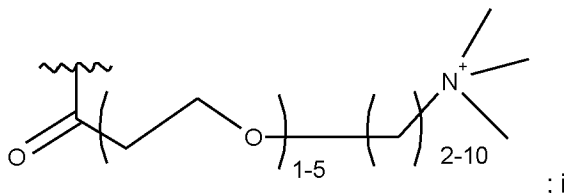
20

де  $n^{q2}$  дорівнює 0, 1 або 2,  $m^{q2}$  дорівнює від 1 до 6, і разом величини  $n^{q2}$  і  $m^{q2}$  вибрані так, щоб довжина лінкерної частини, яку вони визначають, не перевищувала всього 8 атомів вуглецю і/або кисню, що складають ланцюг, який включає атом вуглецю в ланцюгу, який утворює карбонільну частину;

25

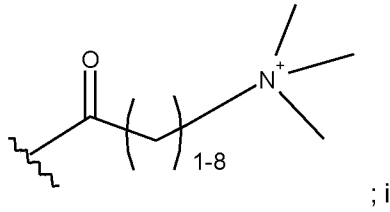
$R^{G1a}$  вибраний з:

(i) частини формули:



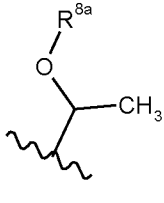
(ii) частини формули:

30



5

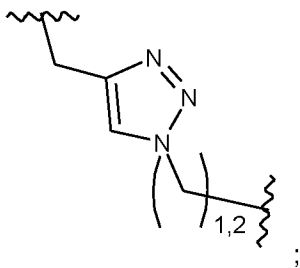
$R^{G1b}$  вибраний з: (i) -H; і (ii) алкілу з аж до 4 атомів вуглецю;  
 $R^8$  являє собою  $-CH_3$  або частину формули:



де  $R^{8a}$  являє собою -H або лінійний, розгалужений або циклічний алкіл з аж до чотирьох атомів вуглецю;

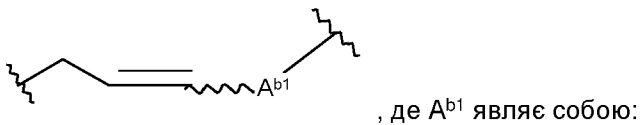
10

A вибраний з:  
 (a) частини формули:



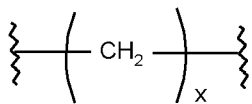
15

(b)  $-CH_2-(CH_2)_y-CH_2-$ , де y дорівнює від 1 до 6;  
 (c) частини формули:



20

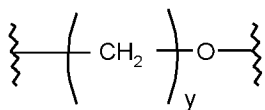
(i) частину формули:



, де x дорівнює від 1 до 6; або

25

(ii) частину формули:



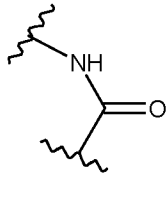
, де y дорівнює від 1 до 5;

(d) частини формули:  $-CH_2-(CH_2)_m-O-(CH_2)_n-$ , де  $m=1-5$ , і  $n=0$  або  $1-4$ ;  
 B являє собою:

30

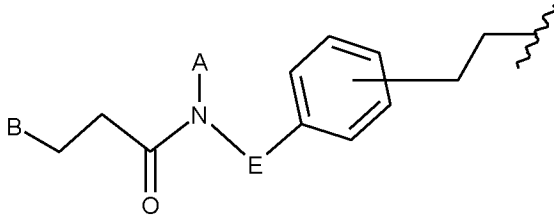
(a) зв'язок;

- (b)  $-(\text{CH}_2)_{1-4}$ ; або  
 (c) частину формули:



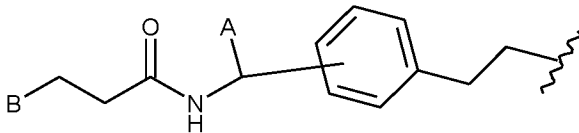
5

- D являє собою:  
 (a) частину формули:



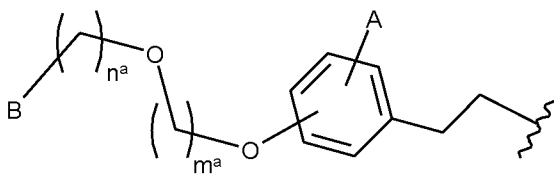
10

- де E являє собою  $-\text{CH}_2-$  або  $-(\text{CH}_2)_{2-4}-\text{O}-$ , і A і B є такими, як визначено вище;  
 (b) частину формули:



15

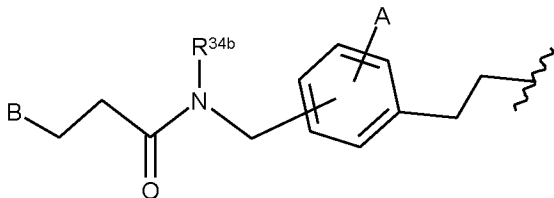
- де A і B є такими, як визначено вище;  
 (c) частину формули:



20

- де  $n^a$  дорівнює 1, 2 або 3,  $m^a$  дорівнює 2, 3 або 4, і  $n^a+m^a$  дорівнює  $\geq 3$ , і де A і B є такими, як визначено вище;

- (d) частину формули:

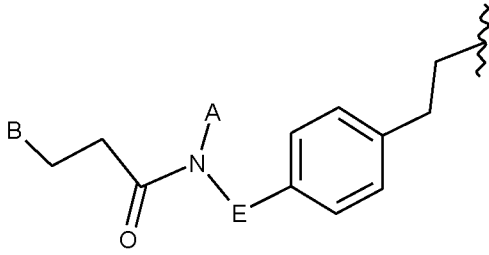


25

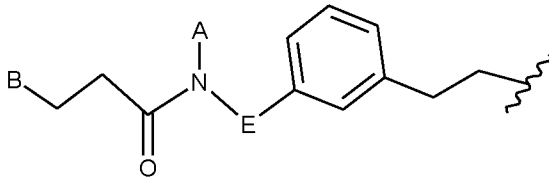
- де  $\text{R}^{34b}$  являє собою  $-\text{H}$  або лінійний розгалужений або циклічний алкіл з аж до чотирьох атомів вуглецю, і A і B є такими, як визначено вище, або будь-якої її фармацевтично прийнятної солі.

30

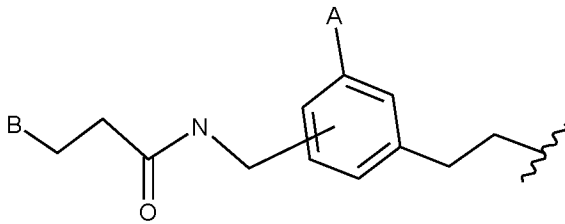
- У наступному варіанті здійснення винахід стосується сполуки формули I, де X являє собою F, або будь-якої її фармацевтично прийнятної солі. У деяких варіантах здійснення переважно, щоб D являв собою частину формули:



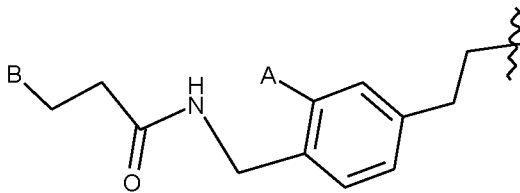
- 5 де Е являє собою  $-\text{CH}_2-$  або  $-(\text{CH}_2)_2\text{-O-}$ , і А і В є такими, як визначено в даному описі.  
У деяких варіантах здійснення переважно, щоб D являв собою частину формули:



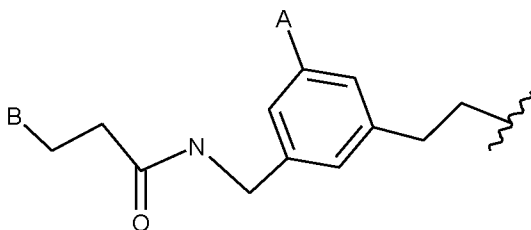
- 10 де Е являє собою  $-\text{CH}_2-$  або  $-(\text{CH}_2)_2\text{-O-}$ , і А і В є такими, як визначено в даному описі.  
У деяких варіантах здійснення переважно, щоб D являв собою частину формули:



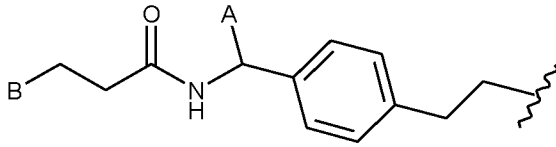
- 15 де А і В є такими, як визначено в даному описі.  
У деяких варіантах здійснення переважно, щоб D являв собою частину формули:



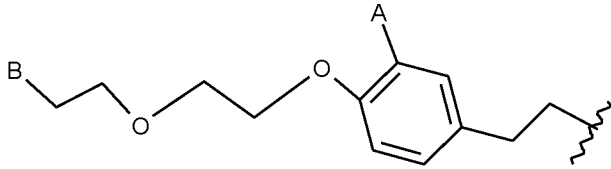
- 20 де А і В є такими, як визначено в даному описі.  
У деяких варіантах здійснення переважно, щоб D являв собою частину формули:



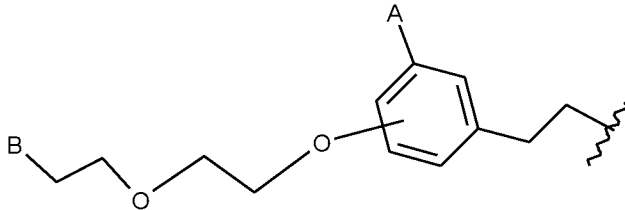
- 25 де А і В є такими, як визначено в даному описі.  
У деяких варіантах здійснення переважно, щоб D являв собою частину формули:



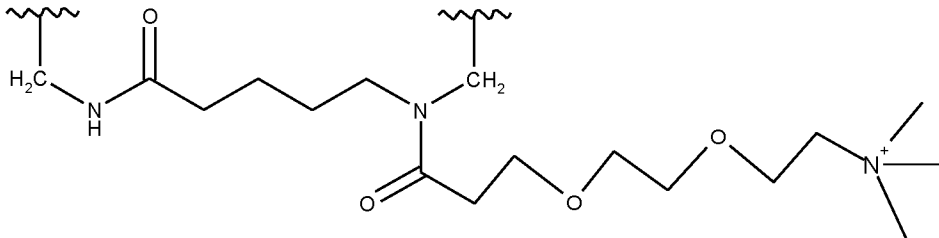
5 де А і В є такими, як визначено в даному описі.  
У деяких варіантах здійснення переважно, щоб D являв собою частину формули:



10 де А і В є такими, як визначено в даному описі.  
У деяких варіантах здійснення переважно, щоб D являв собою частину формули:



15 де А і В є такими, як визначено в даному описі.  
У деяких варіантах здійснення, де R<sup>1</sup> і R<sup>2</sup> з'єднані разом і разом з пептидним кільцем, до якого вони приєднані, утворюють циклічну структуру, переважно, щоб R<sup>1</sup> і R<sup>2</sup> утворювали частину структури:



20 У одному варіанті здійснення даний винахід стосується фармацевтичних композицій, які містять сполуку за винаходом, наприклад, сполуку формули I, і щонайменше один фармацевтичний ексципієнт, переважно композиції, призначеної для перорального введення.

25 У одному аспекті даний винахід стосується способу антагонізму PCSK9 для забезпечення терапії хворобливих станів, пов'язаних з активністю PCSK9, наприклад, атеросклерозу, гіперхолестеринемії, коронарної хвороби серця, метаболічного синдрому, гострого коронарного синдрому або родинного серцево-судинного захворювання і кардіометаболічних станів, шляхом введення індивідууму, який потребує цього, терапевтично ефективної кількості сполуки формули I, або її солі, переважно в формі фармацевтичної композиції.

**ДЕТАЛЬНИЙ ОПИС ВИНАХОДУ**

30 У описі, який йде далі, використовують загальноприйняте представлення структури, і воно включає стереохімічне позначення певних асиметричних вуглецевих центрів.

35 Таким чином, структурне представлення сполук за винаходом включає загальноприйняте стереохімічне позначення для деяких асиметричних вуглецевих центрів, представлених в ілюстративних сполуках. Таким чином, в таких випадках суцільні чорні "клиноподібні" зв'язки означають зв'язки, які виступають з площини зображення, "заштриховані клиноподібні" зв'язки означають зв'язку, низхідні в площину зображення, і "хвиляста" лінія, приєднана до атома вуглецю, що має подвійний зв'язок, вказує на те, що включені можливі як цис-, так і транс-

орієнтації. Як є загальноприйнятим, прості суцільні лінії означають всі просторові конфігурації для зображеного зв'язку. Таким чином, коли відсутнє конкретне стереохімічне позначення, зображення передбачає все стереохімічні і просторові орієнтації структурних ознак.

Як показано в прикладах винаходу і як згадується вище, конкретні асиметричні вуглецеві центри структурно зображають з використанням загальноприйнятого "суцільного клиноподібного" і "пунктирного клиноподібного" представлення зв'язків. Здебільшого абсолютна конфігурація не була визначена для ілюстративних сполук, але була присвоєна аналогічно з конкретними ілюстративними сполуками відомої стереохімічної конфігурації (визначеної за допомогою рентгенівської кристалографії), отриманими з використанням тих же або аналогічних умов реакції і вихідних реагентів і виділеними з використанням тих же умов хроматографії. Таким чином, конкретна вказівка конфігурацій, структурно представлених в даному описі, призначена для ідентифікації конкретних отриманих сполук, які мають надлишок одного конкретного стереоізомера і не обов'язково приводиться в даному описі для затвердження про абсолютне визначення стереохімічної структури вказаної сполуки, якщо немає інших вказівок в наведених даних.

Буде зрозуміло, що, коли отримують ізомерні суміші, отримання індивідуальних стереоізомерів в значних процентах енантіомерного надлишку можна провести, якщо бажано, шляхом розділення суміші з використанням спеціалізованих способів, наприклад, за допомогою хроматографії або кристалізації, або з використанням стереохімічно однорідних вихідних матеріалів для описаного синтезу, або за допомогою стереоселективного синтезу. Необов'язково перед розділенням стереоізомерів можна провести дериватизацію. Розділення суміші стереоізомерів можна провести на проміжній стадії в ході синтезу сполуки формули I, або його можна провести на кінцевому рацемічному продукті.

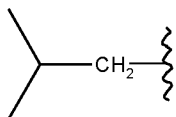
Коли в даному описі вказано, абсолютна стереохімія визначена за допомогою рентгенівської кристалографії кристалічних продуктів або кристалічних проміжних сполук, які дериватизовані, якщо необхідно, реагентом, що містить стереогенний центр відомої конфігурації. Якщо тільки не вказаний конкретний ізомер, сіль, сольват (включаючи гідрати) або сольватована сіль такого рацемата, енантіомера або діастереомера, даний винахід стосується всіх таких ізомерів, а також солей, сольватів (включаючи гідрати) і сольватованих солей таких рацематів, енантіомерів, діастереомерів і їхніх сумішей.

Даний винахід також охоплює ізотопно мічені сполуки за даним винаходом, які структурно ідентичні сполукам, вказаним в даному описі, за винятком того факту, що статистично значущий процент одного або декількох атомів в цій формі сполуки замінений атомами, що мають атомну масу або масове число, відмінні від атомної маси або масового числа найбільш поширеного ізоотопу, що звичайно зустрічається в природі, таким чином, змінюючи природний вміст ізоотопу в сполучі за винаходом. Мається на увазі, що даний винахід включає всі відповідні ізотопні варіанти сполук формули I.

Приклади ізоотопів, які переважно можуть бути включені в сполуки за винаходом, включають ізоотопи водню, вуглецю, азоту, кисню, фосфору, йоду, фтору і хлору, наприклад, але не обмежуючись ними:  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{13}\text{N}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{15}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{18}\text{F}$ , і  $^{36}\text{Cl}$ ,  $^{123}\text{I}$  і  $^{125}\text{I}$ . Буде зрозуміло, що також можуть бути включені інші ізоотопи відомими способами.

Зокрема, певні ізотопно мічені сполуки за винаходом (наприклад, сполуки, що позначаються як  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$  і  $^{14}\text{C}$ ) визнані придатними, що є особливо в аналізах розподілу сполук і/або субстратів в тканинах з використанням різних відомих способів. Крім того, сполуки за винаходом, що охоплюють ізотопну заміну, включають різні ізотопні форми водню (H), включаючи протій ( $^1\text{H}$ ) і дейтерій ( $^2\text{H}$  або D). Протій є переважаючим ізоотопом водню в природі. Збагачення дейтерієм може забезпечити певні терапевтичні переваги, такі як підвищення часу напівжиття in vivo або зменшення необхідного дозування, або може забезпечити сполуку, придатну як стандарт для охарактеризації біологічних зразків. Ізотопно збагачені сполуки формули I можна отримувати без зайвого експериментування загальноприйнятими способами, добре відомими фахівцям в даній галузі або способами, аналогічними способам, описаним в схемах і прикладах даного опису, з використанням відповідних ізотопно збагачених реагентів і/або проміжних сполук.

Коли хвиляста лінія знаходиться на кінці загальноприйнятого зв'язку (на противагу з'єднанню двох атомів в структурі), вона вказує на точку приєднання до структури, наприклад:



вказує на те, що вторинна бутильна частина зв'язана через метиленову групу через зв'язок, на кінці якого знаходиться хвиляста лінія. Коли буквене позначення використовують для позначення частини замісника, тире використовують для вказівки на точку зв'язування з вказаним субстратом, наприклад,  $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2\text{Cl}$  вказує на те, що ацетилхлоридна частина

5

зв'язана через метиленовий фрагмент цієї частини. Коли яка-небудь змінна (наприклад, n, Ra, Rb і т. д.) зустрічається більше одного разу в якому-небудь компоненті або в формулі I, її визначення в кожному випадку є незалежним від її визначення в кожному іншому випадку, якщо немає інших вказівок в місці визначення. Фахівцеві в даній галузі буде зрозуміло, що вибір комбінацій різних замісників, що визначаються в структурному представленні, тобто  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^A$ , здійснюється відповідно до добре відомих принципів з'єднання і стабільності хімічних структур, і комбінації замісників і/або змінних допустимі, тільки якщо такі комбінації приводять до стабільних сполук.

10

"Стабільна" сполука являє собою сполуку, яка може бути отримана і виділена, і чия структура і властивості зберезуться і можуть залишатися по суті незмінними протягом періоду часу, достатнього, щоб дозволити застосування сполуки для цілей, описаних в даному описі (наприклад, терапевтичне введення індивідууму). Сполуки за даним винаходом обмежуються стабільними сполуками, що охоплюються формулою I.

15

Коли яка-небудь змінна або частина виражена в формі діапазону, наприклад  $(-\text{CH}_2)_{1-4}$ , включені обидві межі вказаного діапазону (тобто 1 і 4 в даному прикладі), а також всі цілі числа між ними (тобто 2 і 3 в прикладі).

20

Термін "галоген" включає фтор, хлор, бром і йод, якщо конкретно не вказано в місці згадки.

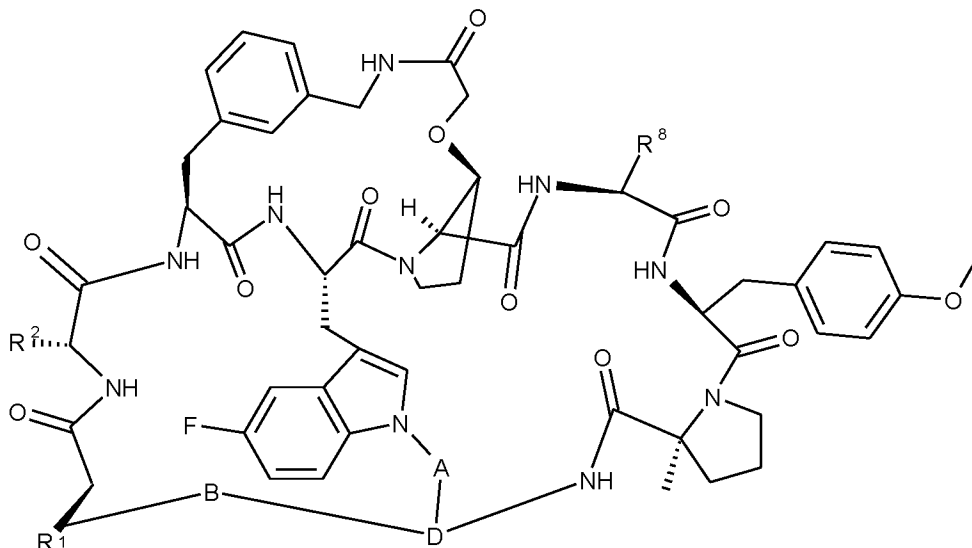
Як використовують в даному описі, термін "індивідууми" (альтернативно "пацієнти") стосується тварини, переважно ссавця, і, зокрема, людини або тварини, що не є людиною, включаючи сільськогосподарських тварин і домашніх тварин, включаючи, але не обмежуючись ними, велику рогату худоба, коней, овець, свиней, кіз, кроликів, кішок, собак і інших ссавців, які потребують лікування. У деяких варіантах здійснення індивідуумом переважно є людина. Як використовують в рамках винаходу, термін "введення" і його варіанти (наприклад, "проведення введення" сполуки) відносно сполуки формули I означає надання сполуки або її фармацевтично прийнятної солі індивідууму, який потребує лікування.

25

Як згадувалося вище, в одному аспекті даний винахід стосується надання сполук формули I або їхніх фармацевтично прийнятних солей, які мають властивості антагоністів функції PCSK9.

30

У одному варіанті здійснення сполуки формули I мають структуру формули IA:



35

Формула IA,

де:

$\text{R}^1$  вибраний з:

(a) -H; або

40

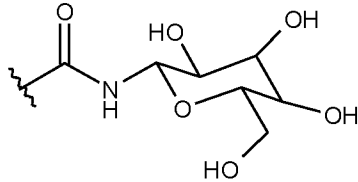
(b)  $-(\text{CH}_2)_z-\text{R}^{14A}$ , де: z дорівнює 1-6, і  $\text{R}^{14A}$  являє собою:

(i) -H;

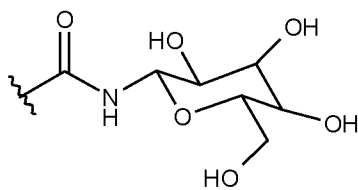
(ii)  $-\text{NH}_2$ ;

(iii)  $-\text{N}^+\text{H}_3$ ;

- (iv)  $-N^+(H_3C)_3$ ;  
 (v)  $-NH-C(O)-[(CH_2)_2-O]_2-(CH_2)_2R^{14B}$ , де  $R^{14B}$  являє собою:  $-NH_2$ ;  $-N^+H_3$ ;  $-N(CH_3)_2$  або  $-N^+(CH_3)_3$ ;  
 (vi)  $-NH-C(O)-[(CH_2)_{y12}-O]_{1-4}-(CH_2)_{y13}R^{14B}$ , переважно  $-NH-C(O)-[(CH_2)_{y12}-O]_2-(CH_2)_{y13}R^{14B}$ , де:  
 5  $y_{12}$  і  $y_{13}$  на дорівнюють обидва 2 і незалежно складають від 2 до 4; і  
 $R^{14B}$  являє собою:  $-NH_2$ ;  $-N^+H_3$ ;  $-N(CH_3)_2$  або  $-N^+(CH_3)_3$ ;  
 (vii)  $-NH-C(O)-(CH_2)_yR^{14C}$ , де  $y=1-6$  і  $R^{14C}$  являє собою  $-O-(CH_2)_{za}-N^+(CH_3)_3$ , де  $za$  дорівнює 3  
 або 4; і  
 (viii)  $-NH-C(O)-(CH_2)_yR^{14C}$ , де  $y=1-6$  і  $R^{14C}$  являє собою:  
 (ai)  $-O-(CH_2)_2-N^+(CH_3)_3$ ;  
 10 (aii)  $-N^+(CH_3)_3$ ; або  
 (aiii) частину формули:

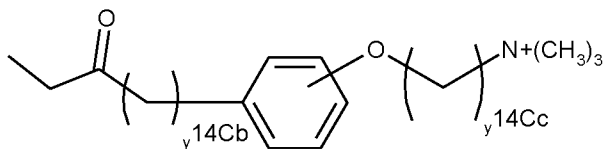


- 15  $R^2$  вибраний з:  
 (a)  $-H$ ; і  
 (b)  $-(CH_2)_z-R^{14A}$ , де  $z$  дорівнює 1-6, і  $R^{14A}$  вибраний з:  
 (i)  $-H$ ;  
 (ii)  $-NH_2$ ;  
 20 (iii)  $-N^+H_3$ ;  
 (iv)  $-N^+(H_3C)_3$ ;  
 (v)  $-NH-C(O)-[(CH_2)_2-O]_{1-4}-(CH_2)_2R^{14B}$ , переважно  $-NH-C(O)-[(CH_2)_2-O]_2-(CH_2)_2R^{14B}$ , де  $R^{14B}$   
 являє собою:  $-NH_2$ ;  $-N^+H_3$ ;  $-N(CH_3)_2$  або  $-N^+(CH_3)_3$ ;  
 (vi)  $-NH-C(O)-[(CH_2)_{y12}-O]_2-(CH_2)_{y13}R^{14B}$ , де:  
 25  $y_{12}$  і  $y_{13}$  на дорівнюють обидва 2 і незалежно складають від 2 до 4; і  
 $R^{14B}$  являє собою  $-NH_2$ ;  $-N^+H_3$ ;  $-N(CH_3)_2$  або  $-N^+(CH_3)_3$ ;  
 (vii)  $-NH-C(O)-(CH_2)_yR^{14C}$ , де  $y=1-6$  і  $R^{14C}$  являє собою  $-O-(CH_2)_{zb}-N^+(CH_3)_3$ , де  $zb$  дорівнює 3  
 або 4; і  
 (viii)  $-NH-C(O)-(CH_2)_yR^{14C}$ , де  $y=1-6$  і  $R^{14C}$  являє собою:  
 30 (ai)  $-O-(CH_2)_2-N^+(CH_3)_3$ ;  
 (aii)  $-N^+(CH_3)_2R^{14Ca}$ , де  $R^{14Ca}$  являє собою  $-CH_3$  або  $-(CH_2)_{1-4}-OCH_3$ ;  
 (aiii) частину формули:

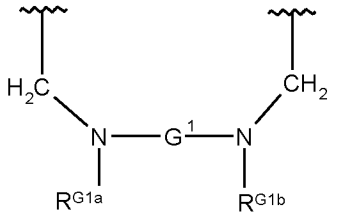


; або

- 35 (aiv) частину формули:

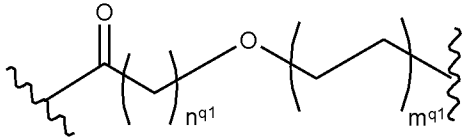


- 40 де  $Y^{14Cb}$  і  $Y^{14Cc}$  дорівнюють 1-4; або  
 $R^1$  і  $R^2$  можуть бути зв'язані разом з утворенням частини формули:



де:  
 $G^1$ ,  $R^{G1a}$  і  $R^{G1b}$  визначаються таким чином:

5 (a)  $G^1$  являє собою лінкерну частину формули:

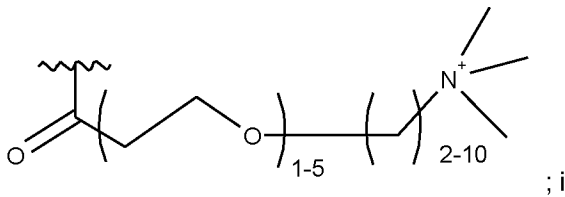


10 де  $n^{q1}$  дорівнює від 1 до 6,  $m^{q1}$  дорівнює 0, 1 або 2 і разом величини  $n^{q1}$  і  $m^{q1}$  вибрані так, щоб довжина лінкерної частини, яку вони визначають, не перевищувала всього 8 атомів вуглецю і/або кисню, що складають ланцюг, який включає атом вуглецю в ланцюгу, який утворює карбонільну частину;

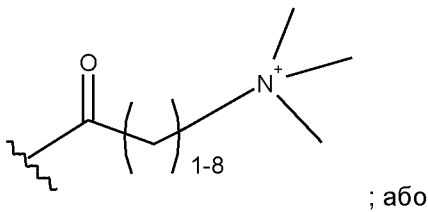
$R^{G1a}$  вибраний з: (i) -H; і (ii) алкілу з аж до 4 атомів вуглецю; і

$R^{G1b}$  вибраний з:

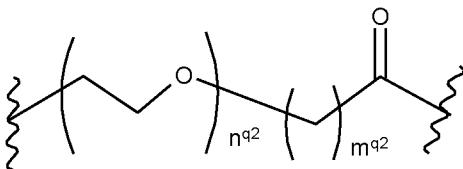
15 (i) частини формули:



20 (ii) частини формули:



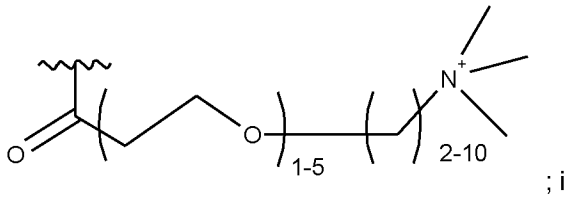
(b)  $G^1$  являє собою лінкерну частину формули:



25 де  $n^{q2}$  дорівнює 0, 1 або 2,  $m^{q2}$  дорівнює від 1 до 6, і разом величини  $n^{q2}$  і  $m^{q2}$  вибрані так, щоб довжина лінкерної частини, яку вони визначають, не перевищувала всього 8 атомів вуглецю і/або кисню, що складають ланцюг, який включає атом вуглецю в ланцюгу, який утворює карбонільну частину;

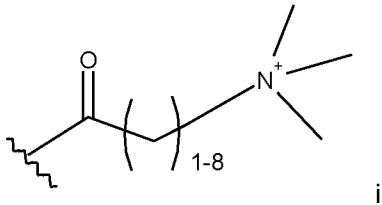
30  $R^{G1a}$  вибраний з:

(i) частини формули:



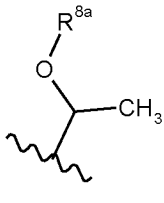
5

(ii) частини формули:



R<sup>G1b</sup> вибраний з: (i) -H; i (ii) алкілу з аж до 4 атомів вуглецю;  
R<sup>8</sup> являє собою -CH<sub>3</sub> або частину формули:

10

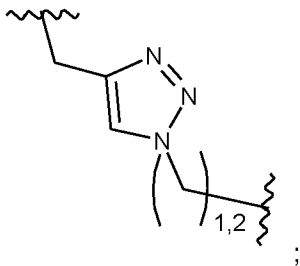


де R<sup>8a</sup> являє собою -H або лінійний, розгалужений або циклічний алкіл з аж до чотирьох атомів вуглецю;

15

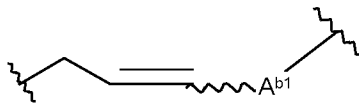
A вибраний з:

(a) частини формули:



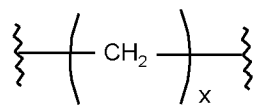
20

(b) -CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>y</sub>-CH<sub>2</sub>-, де y дорівнює від 1 до 6;



(c) частини формули:

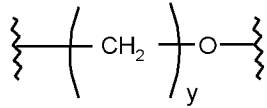
(i) частину формули:



25

, де x дорівнює від 1 до 6; або

(ii) частину формули:

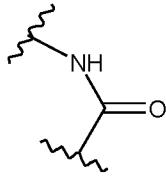


, де у дорівнює від 1 до 5;

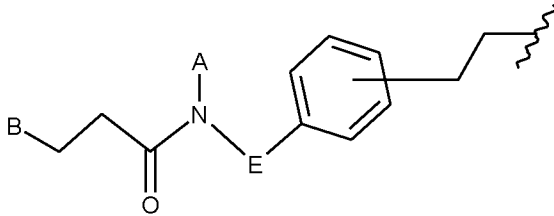
(d) частини формули:  $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_m-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-$ , де  $m=1-5$ , і  $n=0$  або  $1-4$ ;

В являє собою:

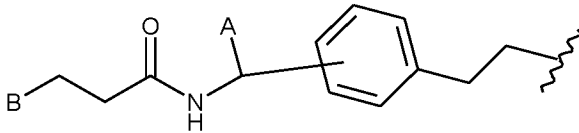
- 5 (a) зв'язок;  
 (b)  $-(\text{CH}_2)_{1-4}$ ; або  
 (c) частину формули:



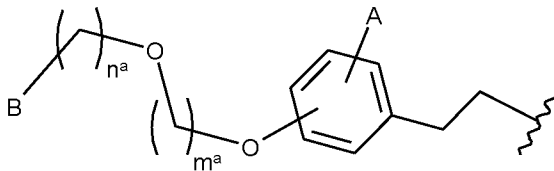
- 10 D являє собою:  
 (a) частину формули:



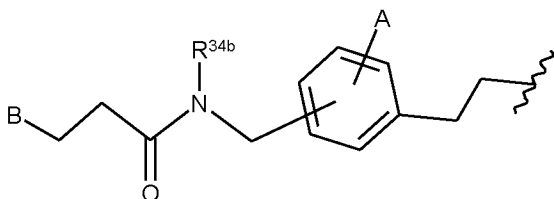
- 15 де E являє собою  $-\text{CH}_2-$  або  $-(\text{CH}_2)_{2-4}-\text{O}-$ , і A і B є такими, як визначено вище;  
 (b) частину формули:



- 20 де A і B є такими, як визначено вище;  
 (c) частину формули:



- 25 де  $n^a$  дорівнює 1, 2 або 3,  $m^a$  дорівнює 2, 3 або 4, і  $n^a+m^a$  дорівнює  $\geq 3$ , і де A і B є такими, як визначено вище;  
 (d) частину формули:



де  $R^{34b}$  являє собою -H або лінійний розгалужений або циклічний алкіл з аж до чотирьох атомів вуглецю, і A і B є такими, як визначено вище, або будь-якої її фармацевтично прийнятної солі.

5 У одному варіанті здійснення сполук формули IA,  $R^1$  являє собою  $-(CH_2)_z-R^{14A}$ , де z дорівнює 1-6, і  $R^{14A}$  являє собою:

- (i) -H;
- (ii)  $-NH_2$ ;
- (iii)  $-N^+H_3$ ; або
- (iv)  $-N^+(H_3C)_3$ ;

$R^2$  являє собою  $-(CH_2)_z-R^{14A}$ , де z дорівнює 1-6, і  $R^{14A}$  вибраний з:

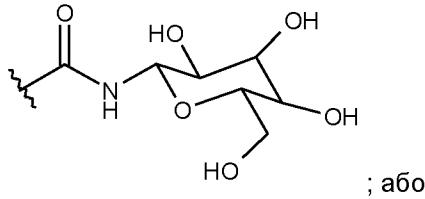
- (i) -H;
- (ii)  $-NH_2$ ;
- (iii)  $-NH-C(O)-[(CH_2)_2-O]_{1-4}-(CH_2)_2R^{14B}$ , переважно  $-NH-C(O)-[(CH_2)_2-O]_2-(CH_2)_2R^{14B}$ , де  $R^{14B}$  являє собою  $-NH_2$ ;  $-N^+H_3$ ;  $-N(CH_3)_2$ ; або  $-N^+(CH_3)_3$ ;
- (iv)  $-NH-C(O)-[(CH_2)_{y12}-O]_2-(CH_2)_{y13}R^{14B}$ , де:

$y_{12}$  і  $y_{13}$  на дорівнюють обидва 2 і незалежно складають від 2 до 4; і

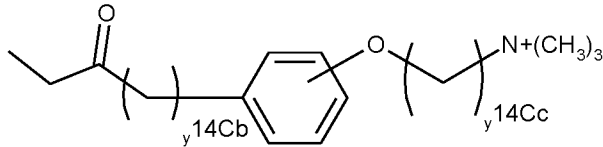
$R^{14B}$  являє собою:  $-NH_2$ ;  $-N^+H_3$ ;  $-N(CH_3)_2$  або  $-N^+(CH_3)_3$ ;

(v)  $-NH-C(O)-(CH_2)_yR^{14C}$ , де  $y = 1-6$  і  $R^{14C}$  являє собою  $-O-(CH_2)_{zb}-N^+(CH_3)_3$ , де  $zb$  дорівнює 3 або 4; і

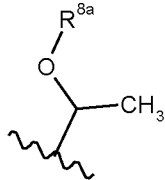
- (vi)  $-NH-C(O)-(CH_2)_yR^{14C}$ , де  $y = 1-6$  і  $R^{14C}$  являє собою:
  - (ai)  $-O-(CH_2)_2-N^+(CH_3)_3$ ;
  - (aii)  $-N^+(CH_3)_2R^{14ca}$ , де  $R^{14ca}$  являє собою  $-CH_3$  або  $-(CH_2)_{1-4}-OCH_3$ ;
  - (aiii) частину формули:



(aiv) частину формули:



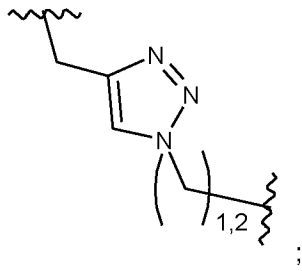
де  $Y^{14Cb}$  і  $Y^{14Cc}$  дорівнюють від 1 до 4; або  $R^8$  являє собою  $-CH_3$  або частину формули:



де  $R^{8a}$  являє собою -H або лінійний, розгалужений або циклічний алкіл з аж до чотирьох атомів вуглецю;

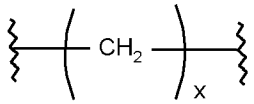
A вибраний з:

(a) частини формули:

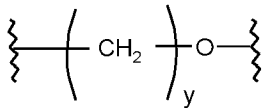


(b)  $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_y-\text{CH}_2-$ , де  $y$  дорівнює від 1 до 6;

5 (c) частини формули: , де  $A^{b1}$  являє собою:  
(i) частину формули:



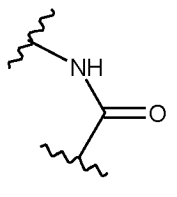
10 де  $x$  дорівнює від 1 до 6; або  
(ii) частину формули:



15 де  $y$  дорівнює від 1 до 5; і  
(d) частину формули:  $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_m-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-$ , де  $m=1-5$ , і  $n=0$  або  $1-4$ ;  
 $V$  являє собою:

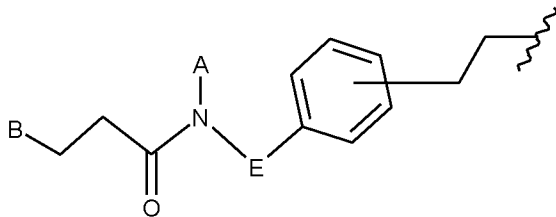
(a)  $-(\text{CH}_2)_{1-4}$ ; або  
(b) частину формули:

20

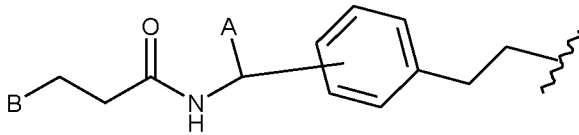


$D$  являє собою:  
(a) частину формули:

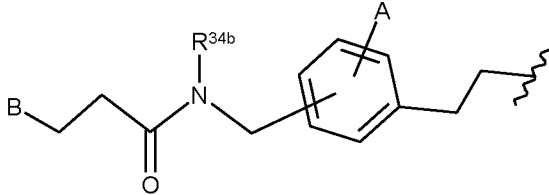
25



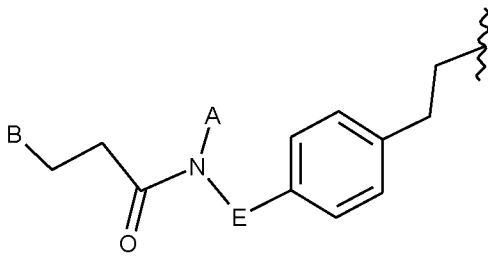
де  $E$  являє собою  $-\text{CH}_2-$  або  $-(\text{CH}_2)_{2-4}-\text{O}-$ , і  $A$  і  $B$  є такими, як визначено вище;  
(b) частину формули:



5 де А і В є такими, як визначено вище; або  
(с) частину формули:

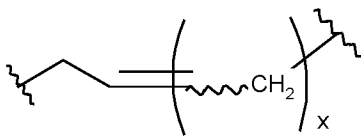


10 де  $R^{34b}$  являє собою -H або лінійну, розгалужену або циклічну алкільну групу з аж до чотирьох атомів вуглецю, і А і В є такими, як визначено вище, або фармацевтично прийнятну сіль будь-якого з них.  
У одному варіанті здійснення сполуки формули IA, D являє собою частину формули:



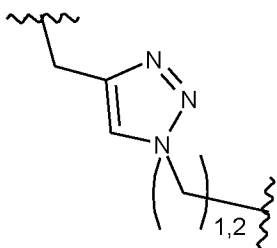
15 де Е являє собою  $-CH_2-$  або  $-(CH_2)_2-O-$ , і А і В є такими, як визначено вище в формулі IA.  
У одному варіанті здійснення сполуки формули IA, А являє собою:  
(a)  $-(CH_2)_6$ ;  
(b) частину формули:

20



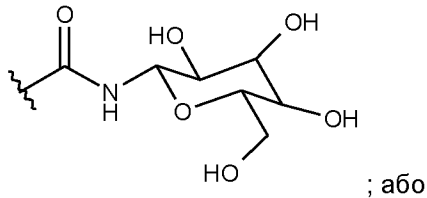
25 де x дорівнює від 1 до 3; або  
(с) частину формули:

25

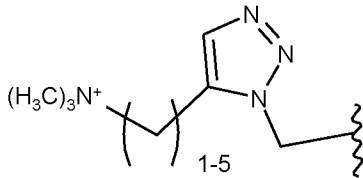


30 У іншому варіанті здійснення сполуки формули IA,  $R^2$  являє собою:  
(a)  $-(CH_2)_z-R^{14A}$ , де z дорівнює 1-6, і  $R^{14A}$  являє собою:  
(a) -H;

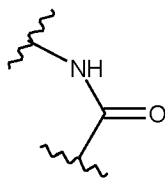
- (b)  $-\text{CH}_3$ ;  
 (c)  $-\text{NH}_2$ ;  
 (d)  $-\text{N}^+\text{H}_3$ ;  
 (e)  $-\text{N}^+(\text{H}_3\text{C})_3$ ;  
 5 (f)  $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-[(\text{CH}_2)_{2-4}-\text{O}]_{2-4}-(\text{CH}_2)_{2-4}\text{R}^{14\text{B}}$ , де  $\text{R}^{14\text{B}}$  являє собою:  $-\text{NH}_2$ ;  $-\text{N}^+\text{H}_3$ ;  $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$  або  $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ ;  
 (g)  $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-[(\text{CH}_2)_y\text{R}^{14\text{C}}]$ , де  $y = 1-6$  і  $\text{R}^{14\text{C}}$  являє собою:  
 (ai)  $-\text{O}-[(\text{CH}_2)_{2-4}-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3]$ ;  
 (aii)  $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ ; або  
 10 (aiii) частину формули:



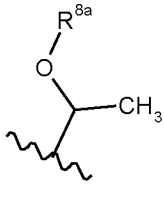
- (b) частину формули  
 15



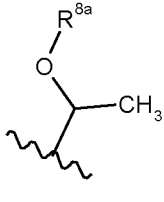
- У наступному варіанті здійснення сполуки формули IA,  $\text{R}^1$  вибраний з:  
 (a)  $-\text{H}$ ;  
 20 (b)  $-(\text{CH}_2)_z-\text{R}^{14\text{A}}$ , де  $z$  дорівнює 1-6, і  $\text{R}^{14\text{A}}$  являє собою:  
 (i)  $-\text{H}$ ;  
 (ii)  $-\text{N}^+\text{H}_3$ ; або  
 Dfdsfdsfdfs  
 (iii)  $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-[(\text{CH}_2)_2-\text{O}]_2-(\text{CH}_2)_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ .  
 25 У іншому варіанті здійснення сполуки формули IA, A являє собою  $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_y-\text{CH}_2-$ , де  $y$  дорівнює 3-5. У наступному варіанті здійснення A являє собою  $-(\text{CH}_2)_6$ .  
 У іншому варіанті здійснення сполуки формули IA, B являє собою частину формули:



- 30 У іншому варіанті здійснення сполуки формули IA,  $\text{R}^1$  являє собою  $-(\text{CH}_2)_z-\text{R}^{14\text{A}}$ , де  $z$  дорівнює 1-6, і  $\text{R}^{14\text{A}}$  являє собою  $-\text{H}$ . У іншому варіанті здійснення сполуки формули IA,  $\text{R}^1$  являє собою  $-(\text{CH}_2)_z-\text{R}^{14\text{A}}$ , де  $z$  дорівнює 1, і  $\text{R}^{14\text{A}}$  являє собою  $-\text{H}$ .  
 У іншому варіанті здійснення сполуки формули IA,  $\text{R}^2$  являє собою  $-(\text{CH}_2)_z-\text{R}^{14\text{A}}$ , де  $z$  дорівнює 1-6, і  $\text{R}^{14\text{A}}$  являє собою  $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_y\text{R}^{14\text{C}}$ , де  $y=1-6$  і  $\text{R}^{14\text{C}}$  являє собою  $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{R}^{14\text{ca}}$ , де  $\text{R}^{14\text{ca}}$  являє собою  $-\text{CH}_3$ .  
 35 У іншому варіанті здійснення сполуки формули IA,  $\text{R}^8$  являє собою частину формули:



де  $R^{8a}$  являє собою -H або лінійний алкіл з аж до чотирьох атомів вуглецю. У наступному варіанті здійснення  $R^8$  являє собою частину формули:

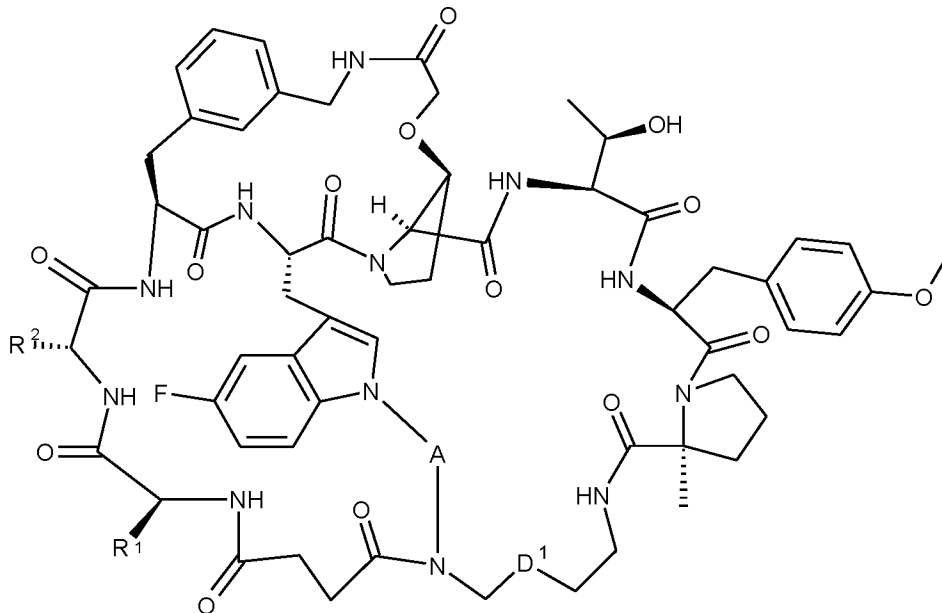


5

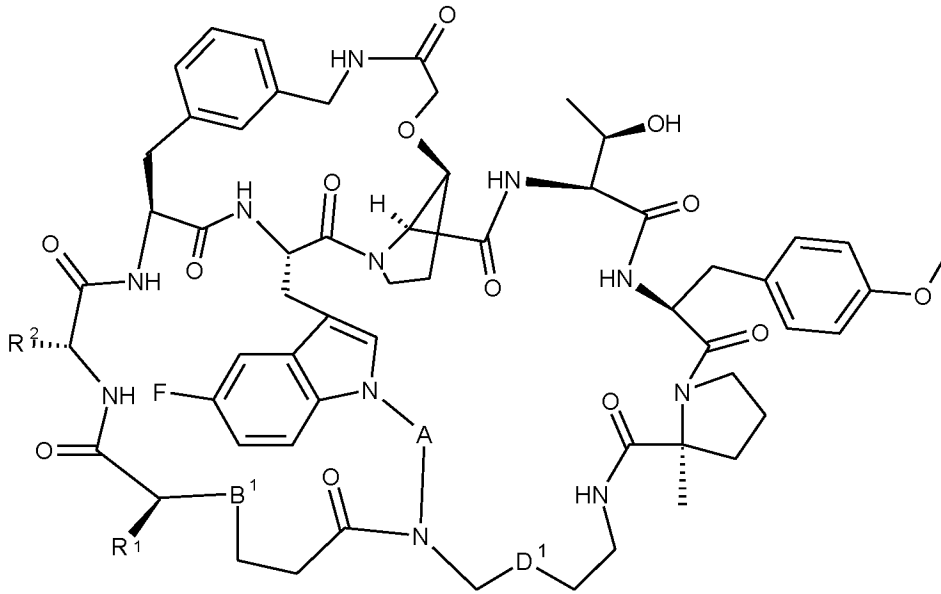
де  $R^{8b}$  являє собою -H,  $-CH_3$  або  $-C(CH_3)_3$ .

У деяких варіантах здійснення переважно, щоб сполуки формули I мали структуру формули II, формули IIA або формули IIE, або їхню формулу фармацевтично прийнятної солі:

10



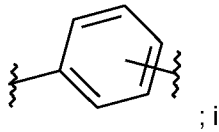
Формула II,



Формула II A,

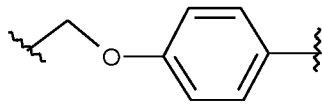
5 де A, R<sup>1</sup> і R<sup>2</sup> є такими, як визначено вище в формулі IA, і B<sup>1</sup> являє собою -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-2</sub>, і D<sup>1</sup> вибраний з:

а) частини формули:



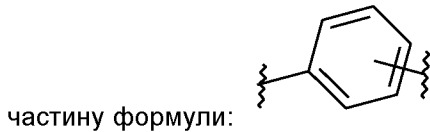
10

б) частини формули:

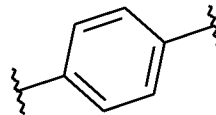


15

У деяких варіантах здійснення формули II або формули II A переважно, щоб D<sup>1</sup> являв собою

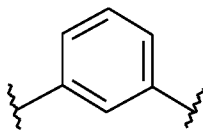


. У деяких варіантах здійснення формули II або формули II A,

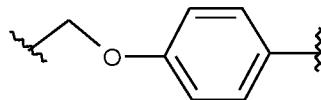


переважно, щоб D<sup>1</sup> являв собою частину формули:

здійснення формули II або формули II A переважно, щоб D<sup>1</sup> являв собою частину формули:



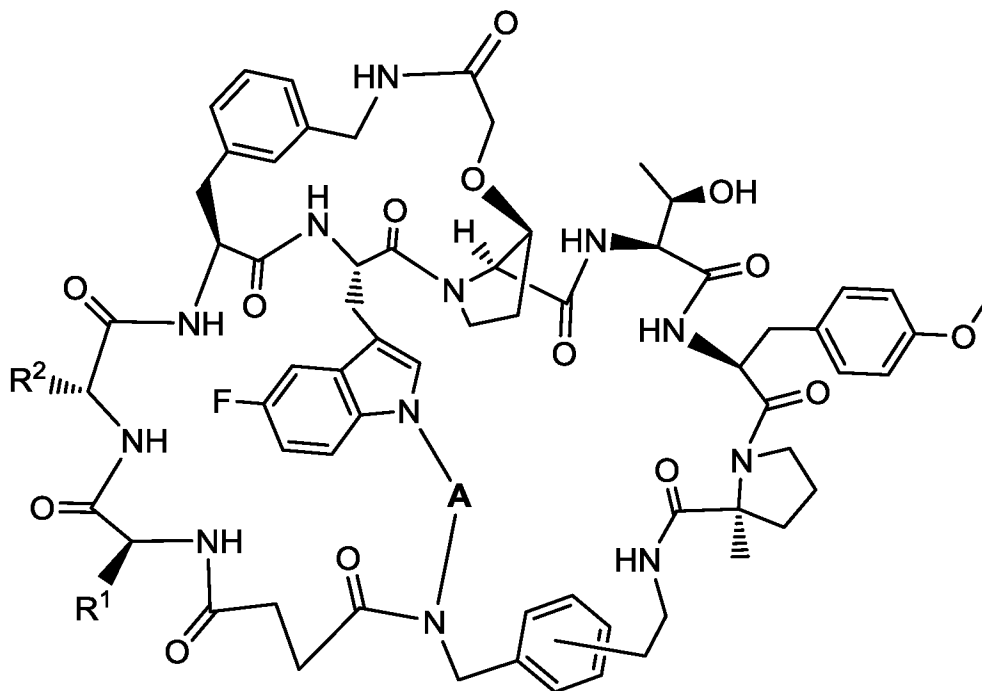
. У деяких варіантах здійснення формули II або формули II A, переважно, щоб



20

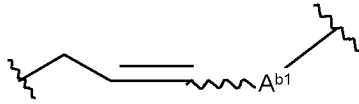
D<sup>1</sup> являв собою частину формули:

;



Формула II E.

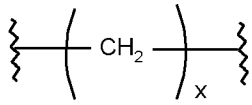
- 5 У деяких варіантах здійснення  $R^1$  вибирають з:
- (a) -H або
- (b)  $-(CH_2)_z-R^{14A}$ , де: z дорівнює 1-6, і  $R^{14A}$  являє собою:
- (i) -H;
- (ii)  $-NH_2$ ;
- 10 (iii)  $-N^+H_3$ ;
- (iv)  $-N^+(H_3C)_3$ ;
- (v)  $-NH-C(O)-[(CH_2)_2-O]_2-(CH_2)_2R^{14B}$  де  $R^{14B}$  являє собою:  $-NH_2$ ;  $-N^+H_3$ ;  $-N(CH_3)_2$  або  $-N^+(CH_3)_3$ ;
- (vi)  $-NH-C(O)-[(CH_2)_{y12}-O]_2-(CH_2)_{y13}R^{14B}$  де:
- 15  $y_{12}$  та  $y_{13}$  обидва не дорівнюють 2 і є незалежно дорівнюють від 2 до 4; і
- $R^{14B}$  являє собою:  $-NH_2$ ;  $-N^+H_3$ ;  $-N(CH_3)_2$  або  $-N^+(CH_3)_3$ ;
- (vii)  $-NH-C(O)-(CH_2)_yR^{14C}$ , де,  $y=1-6$  і  $R^{14C}$  являє собою  $-O-(CH_2)_{3-4}-N^+(CH_3)_3$ ; і
- (viii)  $-NH-C(O)-(CH_2)_yR^{14C}$ , де,  $y=1-6$  і  $R^{14C}$  являє собою:
- (ai)  $-O-(CH_2)_2-N^+(CH_3)_3$ ;
- (aii)  $-N^+(CH_3)_3$ ; або.
- 20 У деяких варіантах здійснення  $R^2$  вибирають з:
- (a) -H; і
- (b)  $-(CH_2)_z-R^{14A}$ , де: z is 1-6, and  $R^{14A}$  is selected from:
- (i) -H;
- (ii)  $-NH_2$ ;
- 25 (iii)  $-N^+H_3$ ;
- (iv)  $-N^+(H_3C)_3$ ;
- (v)  $-NH-C(O)-[(CH_2)_2-O]_2-(CH_2)_2R^{14B}$  де  $R^{14B}$  являє собою:  $-NH_2$ ;  $-N^+H_3$ ;  $-N(CH_3)_2$  або  $-N^+(CH_3)_3$ ;
- (vi)  $-NH-C(O)-[(CH_2)_{y12}-O]_2-(CH_2)_{y13}R^{14B}$  де:
- 30  $y_{12}$  та  $y_{13}$  обидва не дорівнюють 2 і є незалежно дорівнюють від 2 до 4; і
- $R^{14B}$  являє собою:  $-NH_2$ ;  $-N^+H_3$ ;  $-N(CH_3)_2$  або  $-N^+(CH_3)_3$ ;
- (vii)  $-NH-C(O)-(CH_2)_yR^{14C}$ , де,  $y=1-6$  і  $R^{14C}$  являє собою  $-O-(CH_2)_{3-4}-N^+(CH_3)_3$ ; і
- (viii)  $-NH-C(O)-(CH_2)_yR^{14C}$ , де,  $y=1-6$  і  $R^{14C}$  являє собою:
- (ai)  $-O-(CH_2)_2-N^+(CH_3)_3$ ;
- (aii)  $-N^+(CH_3)_2R^{14ca}$ , де  $R^{14ca}$  являє собою  $-CH_3$  або  $-(CH_2)_{1-4}-OCH_3$ ;
- 35 У деяких варіантах здійснення A вибирають з:
- (a)  $-CH_2-(CH_2)_y-CH_2-$ , де y являє собою 1-6;



(b) частину формули:

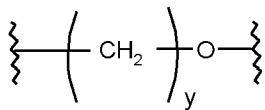
де  $A^{b1}$  являє собою:  
(i) частину формули:

5



де  $x$  дорівнює 1-6; або  
(ii) частину формули:

10



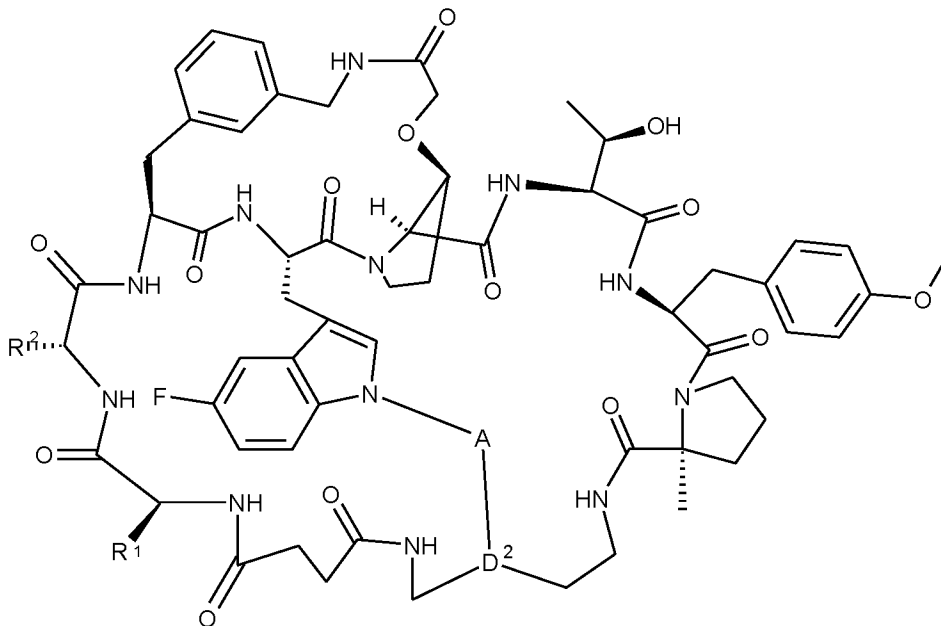
де  $y$  дорівнює 1-5; і

(c) частину формули:  $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_m-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-$ , де  $m=1-5$ , і  $n=0$  або 1-4.

15

У деяких варіантах здійснення сполуки формули I переважно являє собою сполуку формули

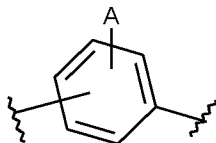
III:



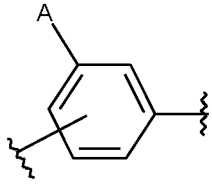
Формула III,

20

де  $A$ ,  $R^1$  і  $R^2$  є такими, як визначено вище в формулі IA, і  $D^2$  являє собою частину формули:

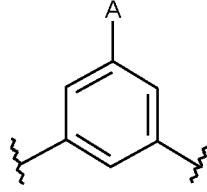


У деяких варіантах здійснення формули III переважно, щоб  $D^2$  являв собою частину



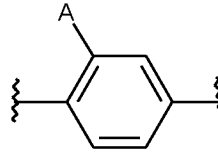
формули:

. У деяких варіантах здійснення формули III переважно, щоб D<sup>2</sup>



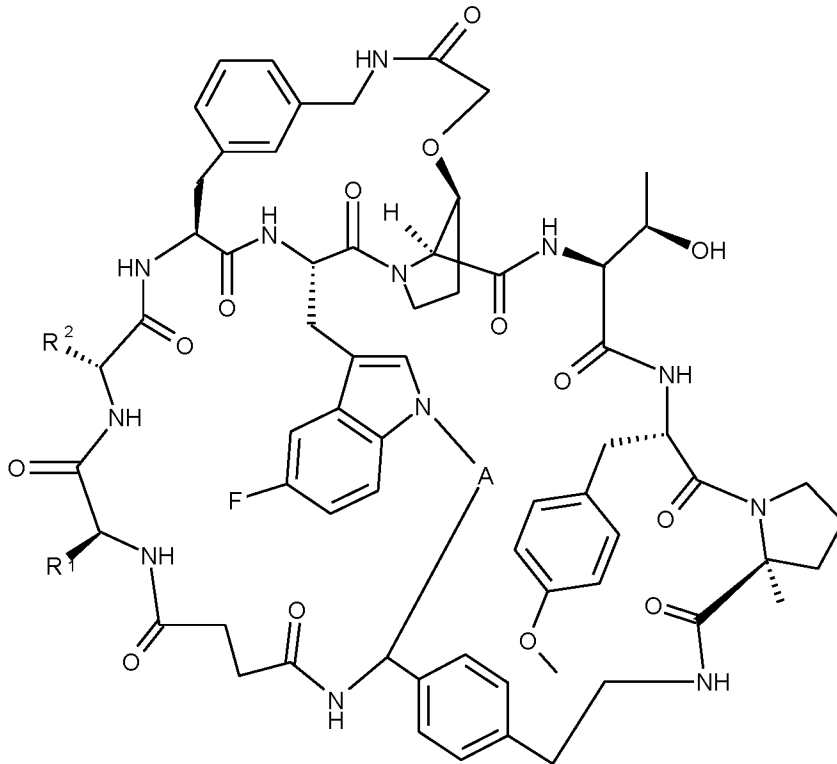
являв собою частину формули:

. У деяких варіантах здійснення формули III



переважно, щоб D<sup>2</sup> являв собою частину формули:

5 IV: У деяких варіантах здійснення сполука формули I переважно являє собою сполуку формули

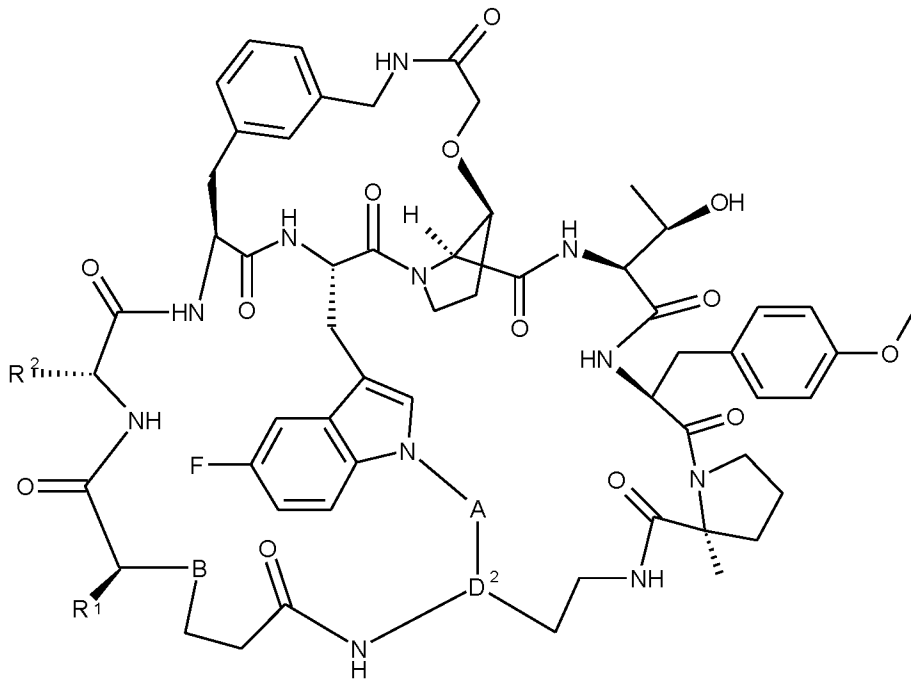


Формула IV,

10

де A, R<sup>1</sup> і R<sup>2</sup> є такими, як визначено вище в формулі IA.

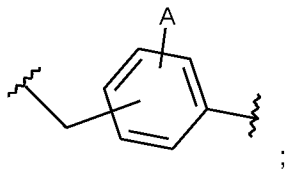
У деяких варіантах здійснення сполука формули I являє собою сполуку формули V:



Формула V,

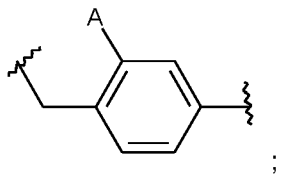
де  
 5 A, B, R<sup>1</sup> і R<sup>2</sup> є такими, як визначено вище в формулі IA; і  
 D<sup>2</sup> являє собою:

(a) частину формули:



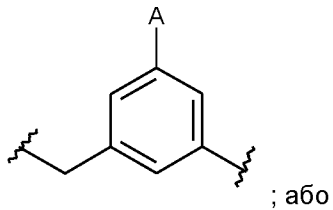
10

(b) частину формули:



15

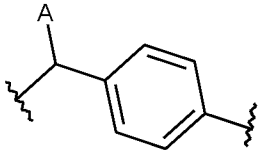
(c) частину формули:



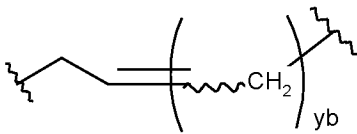
; або

20

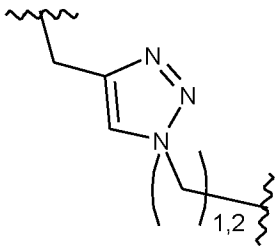
(d) частину формули:



- У деяких варіантах здійснення формули I, формули IA, формули II, формули IIA, формули III, формули IV або формул V, переважно, щоб А являв собою частину формули:  $-(CH_2)_{ya}$ , де  $y_a$  дорівнює від 4 до 6. В деяких варіантах здійснення формули I, формули IA, формули II або формул IIA, переважно, щоб А являв собою частину формули:  $-CH_2-(CH_2)_{m^a}-O-(CH_2)_{n^a}-$ , де  $m^a$  дорівнює 2 або 3 і  $n^a$  дорівнює 0 або 1. В деяких варіантах здійснення формули III, формули IV або формул V, переважно, щоб А являв собою частину формули:  $-CH_2-(CH_2)_{m^a}-O-(CH_2)_{n^a}-$ , де  $m^a$  дорівнює 2 або 4 і  $n^a$  дорівнює 0, 1 або 2. В деяких варіантах здійснення формули I, формули IA, формули II, формули IIA, формули III, формули IV або формул V, переважно, щоб А являв собою частину формули:



- де  $y_b$  дорівнює від 1 до 3. В деяких варіантах здійснення формули I, формули IA, формули II, формули IIA, формули III, формули IV або формул V, переважно, щоб А являв собою частину формули:



- Також в рамках даного винаходу як сполуки формули I передбачаються сполуки Ex-1, Ex-2, Ex-3, Ex-4, Ex-5, Ex-6, Ex-7, Ex-8, Ex-9, Ex-10, Ex-11, Ex-12, Ex-13, Ex-14, Ex-15, Ex-16, Ex-17, Ex-18, Ex-19, Ex-20, Ex-21, Ex-22, Ex-23, Ex-24, Ex-25, Ex-26, Ex-27, Ex-28, Ex-29, Ex-31, Ex-35, Ex-36, Ex-38, Ex-39, Ex-40, Ex-41, Ex-44, Ex-47, Ex-48, Ex-49, Ex-50, Ex-51, Ex-52, Ex-53, Ex-54, Ex-55, Ex-56, Ex-57, Ex-58, Ex-59, Ex-60 і Ex-61, або будь-яка їх фармацевтично прийнятна сіль. Ці сполуки, які описані в таблиці 1, також називають в даному описі "сполуками за винаходом".

Таблица 1

Ex №	Структура	Ex №	Структура
Ex-01		Ex-02	
Ex-03		Ex-04	
Ex-05		Ex-06	

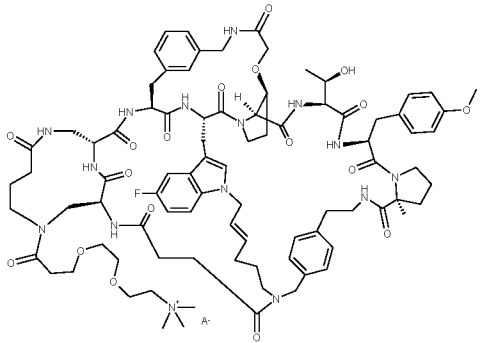
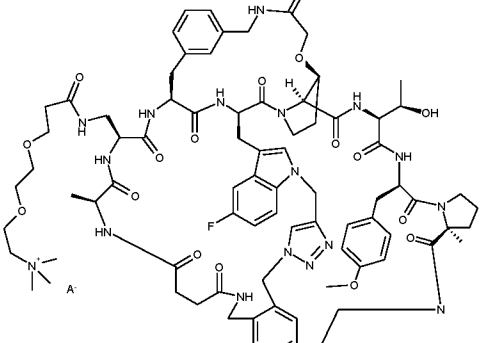
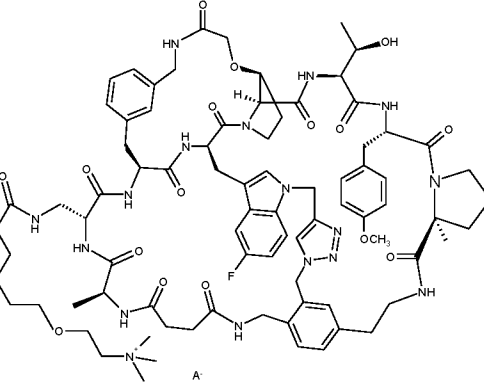
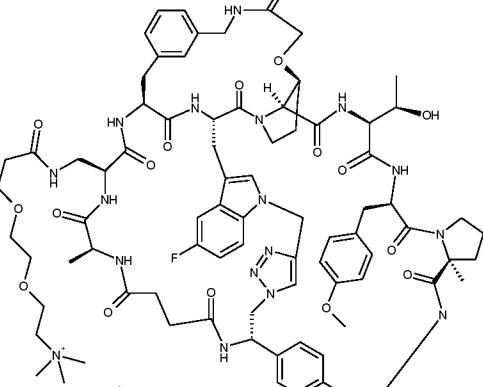
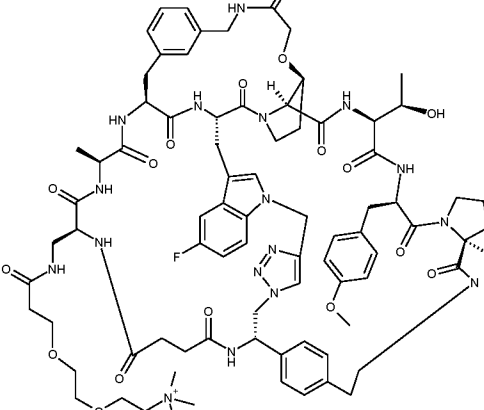
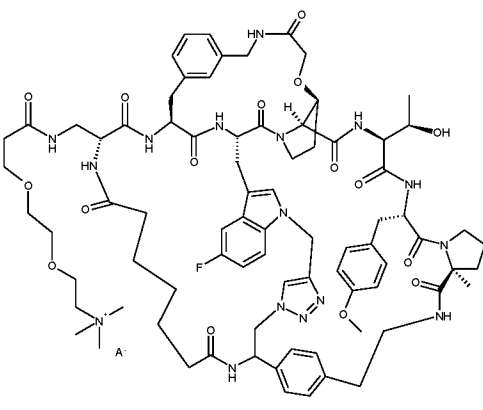
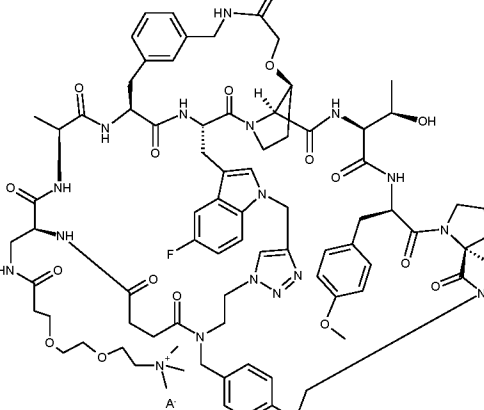
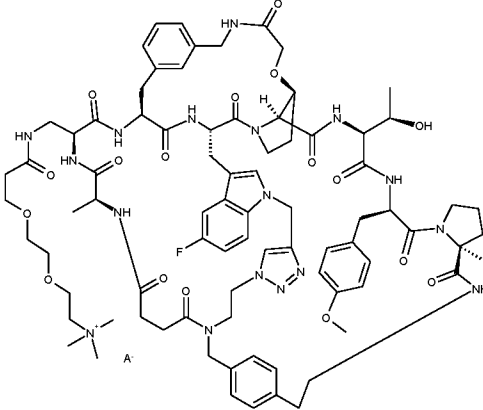
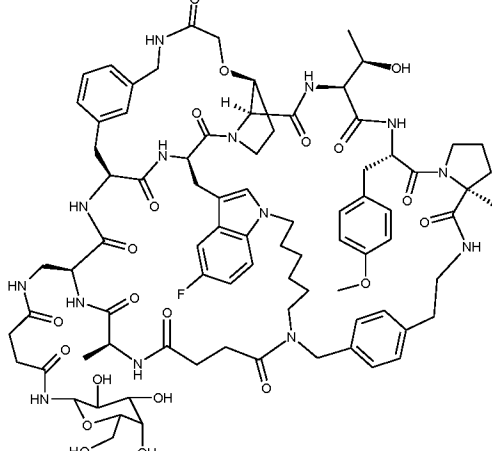
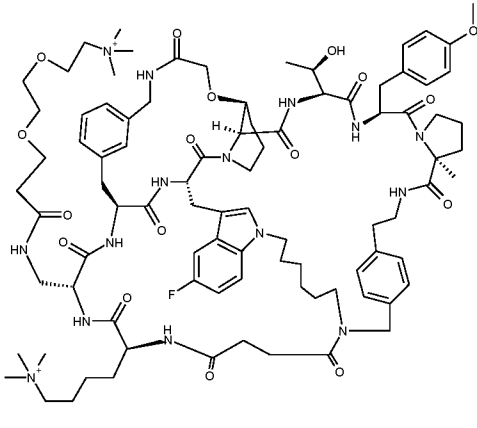
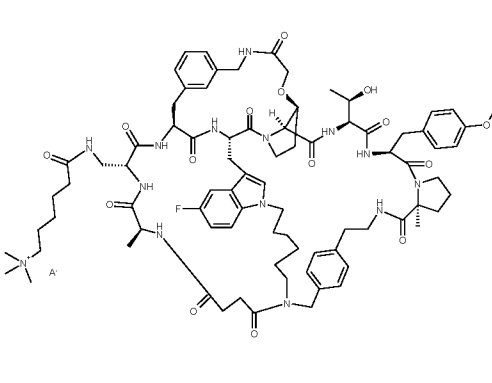
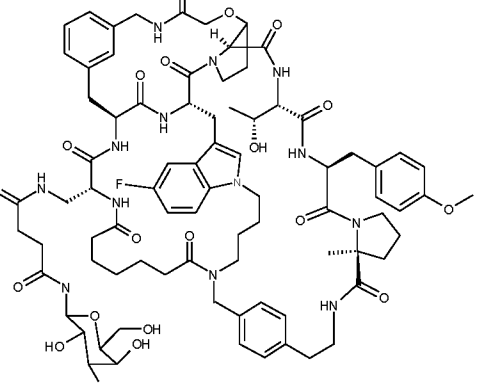
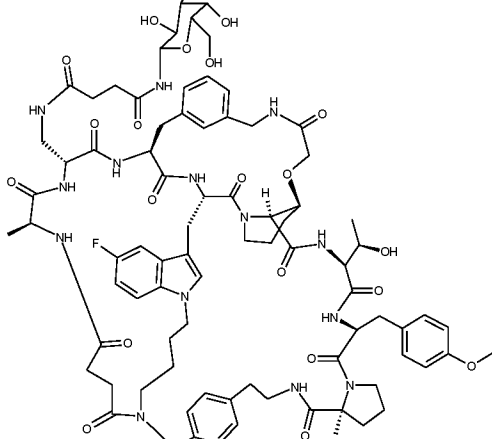
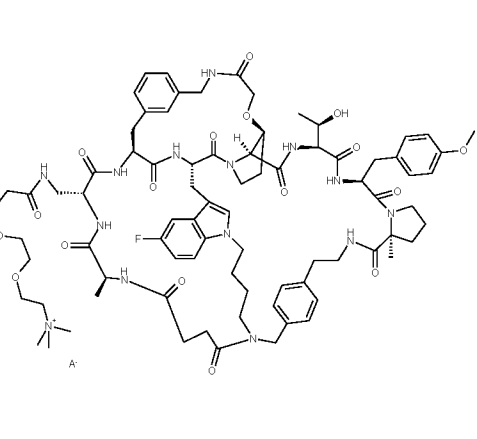
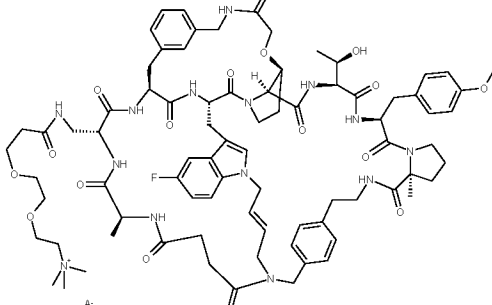
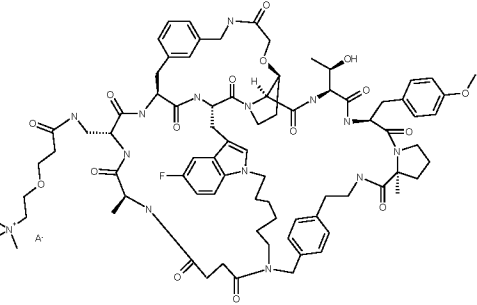
Ex №	Структура	Ex №	Структура
Ex-07		Ex-08	
Ex-09		Ex-10	
Ex-11		Ex-12	
Ex-13		Ex-14	

Таблица 1

Ex №	Структура	Ex №	Структура
Ex-15		Ex-16	
Ex-17		Ex-18	
Ex-19		Ex-20	
Ex-21		Ex-22	

Ex №	Структура	Ex №	Структура
Ex-23		Ex-24	
Ex-25		Ex-26	
Ex-27		Ex-28	
Ex-29		Ex-31	

Ex №	Структура	Ex №	Структура
Ex-35		Ex-36	
Ex-38		Ex-39	
Ex-40		Ex-41	
Ex-44		Ex-47	
Ex-48		Ex-49	

Ex №	Структура	Ex №	Структура
Ex-50		Ex-51	
Ex-52		Ex-53	
Ex-54		Ex-55	
Ex-56		Ex-57	

Ex №	Структура	Ex №	Структура
Ex-58		Ex-59	
Ex-60		Ex-61	

де А<sup>-</sup> являє собою фармацевтично прийнятний аніон.

Термін "сіль(солі)" і його застосування у виразі "фармацевтично прийнятні солі", що використовується в даному описі, включає будь-які з наступних: кислотні солі, утворені з неорганічними і/або органічними кислотами, основні солі, утворені з неорганічними і/або органічними основами, цвітер-іонні і четвертинні комплекси амонію. Солі сполук за винаходом можуть бути отримані способами, відомими середнім фахівцям в даній галузі, наприклад, за допомогою реакції сполуки за винаходом з кількістю кислоти або основи, такою як еквівалентна кількість, в середовищі, такому як середовище, в якому сіль випадає в осад, або у водному середовищі з подальшою ліофілізацією.

Сполуки за винаходом містять трикоординані атоми азоту, наприклад, первинні, вторинні або третинні аміночастини, де, як відомо, одна пара електронів, присутня на атомі азоту, може бути протонувана відповідною кислотою або алкілована відповідним реагентом, наприклад, алкілбромідом, у відповідних умовах реакції, з утворенням тетракоординаного зарядженого азоту, стабілізованого аніоном, що утворюється в процесі, наприклад, іоном галогену або зв'язаною основою. Таким чином, сполуки за винаходом можна отримувати в формі вільної основи або виділяти в формі четвертинного комплексу або сольового комплексу. У деяких випадках, де існує відповідний кислотний протон, ближній до основного азоту, є можливим утворення цвітер-іонного комплексу. Як цей термін використовують в даному описі, солі сполук за винаходом, всі з кислотних солей, утворених з неорганічними і/або органічними кислотами, основних солей, утворених з неорганічними і/або органічними основами, солей, які включають цвітер-іонний елемент, наприклад, де сполука містить як основну частину, наприклад, але не обмежуючись ними, атом азоту, наприклад, амін, піридин або імідазол, і кислотну частину, наприклад, але не обмежуючись ними, карбонову кислоту, і четвертинні комплекси амоній, включені в об'єм сполук за винаходом, описаних в даному описі.

Таким чином, структурне представлення сполук за винаходом або в формі вільної основи, або в формі солі, або в цвітер-іонній формі, або в формі четвертинного амонію, також включають всі інші форми таких сполук, розглянутих вище. Таким чином, один аспект винаходу стосується надання сполук за винаходом в формі фармацевтично прийнятної солі, цвітер-іонного комплексу або четвертинного комплексу амоній. Фахівцям в даній галузі будуть зрозумілі випадки, коли сполуки за винаходом можуть утворювати такі комплекси, включаючи

випадки, де тетракоординований азот може бути кватернізованим або протонуваним і форма зарядженого азоту стабілізована аніоном. Термін "фармацевтично прийнятна сіль" стосується солі (включаючи четверинний комплекс амонію і внутрішню сіль, таку як цвітер-іонний комплекс), яка має ефективність, яка схожа або перевищує ефективність форми вільної основи сполуки, і яка не є біологічно або іншим чином небажаною (наприклад, є ні токсичною, ні іншим чином шкідливою для її реципієнта).

Утворення фармацевтично придатних солей з основних (або кислотних) фармацевтичних сполук описане, наприклад, S. Berge et al., *Journal of Pharmaceutical Sciences* (1977) 66(1) 1-19; P. Gould, *International J. of Pharmaceutics* (1986) 33 201-217; Anderson et al, *The Practice of Medicinal Chemistry* (1996), Academic Press, New York; in *The Orange Book* (Food & Drug Administration, Washington, D.C. на їхньому веб-сайті); і P. Heinrich Stahl, Camille G. Wermuth (Eds.), *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, (2002) Int'l. Union of Pure and Applied Chemistry, pp. 330-331. Ці документи включені в даний опис як посилання.

Даний винахід стосується як форм вільних основ для сполук за винаходом, так і всіх доступних солей, включаючи солі, які є загальноновизнаними як безпечні для застосування для отримання фармацевтичних складів, і солі, які можуть бути отримані фахівцями в даній галузі, а потім класифіковані як "загалом визнані безпечними" для застосування для отримання фармацевтичних складів, які називаються в даному описі "фармацевтично прийнятними солями". Як буде зрозуміло, сполуки в формі вільної основи можна отримувати за допомогою контролю умов виділення сполуки в ході синтезу або за допомогою нейтралізації або іонного обміну з сольових форм сполук за винаходом.

Приклади фармацевтично прийнятних кислотних солей включають, але не обмежуються ними, ацетати, включаючи трифторацетати, адипати, альгірати, аскорбати, аспартати, бензоати, бензолсульфонати, бісульфати, борати, бутирати, цитрати, камфорати, камфорсульфонати, циклопентанпропіонати, диглюконати, додецилсульфати, етансульфонати, фумарати, глюкогептаноати, гліцерофосфати, гемісульфати, гептаноати, гексаноати, гідрохлориди, гідроброміди, гідройодиди, 2-гідроксіетансульфонати, лактати, малеати, метансульфонати, метилсульфати, 2-нафталінсульфонати, нікотинати, нітрат, оксалати, памоати, пектинати, персульфати, 3-фенілпропіонати, фосфати, пікрати, півалати, пропіонати, саліцилати, сукцинати, сульфати, сульфонати (такі як ті, що згадані в даному описі), тартрати, тіоціанати, толуолсульфонати (також відомі як тозилати), ундеканоати і т. п.

Приклади фармацевтично прийнятних основних солей включають, але не обмежуються ними, солі амонію, солі лужних металів, такі як солі натрію, літію і калію, солі лужноземельних металів, такі як солі кальцію і магнію, солі алюмінію, солі цинку, солі з органічними основами (наприклад, органічні аміни), такими як бензатини, діетиламін, дициклогексиламіни, гідрабаміни (утворені з N, N-біс(дегідроабиетил)етилендіаміном), N-метил-D-глюкаміни, N-метил-D-глюкаміді, трет-бутиламіни, піперазин, фенілциклогексиламін, холін, трометамін і солі з амінокислотами, такими як аргінін, лізин і т. п. Основні азотовмісні групи можна конвертувати в іон амонію або кватернізувати засобами, такими як нижчі алкілгалогеніди (наприклад, метил, етил, пропіл і бутилхлориди, броміди і йодиди), діалкілсульфати (наприклад, диметил, діетил, дибутил і діамілсульфати), галогеніди довгого ланцюга (наприклад, децил, лаурил, міристил і стеарилхлориди, броміди і йодиди), аралкілгалогеніди (наприклад, бензил і фенетилброміди) і інші.

Термін "фармацевтично прийнятний аніон" стосується аніону, придатного для утворення фармацевтично прийнятної солі.

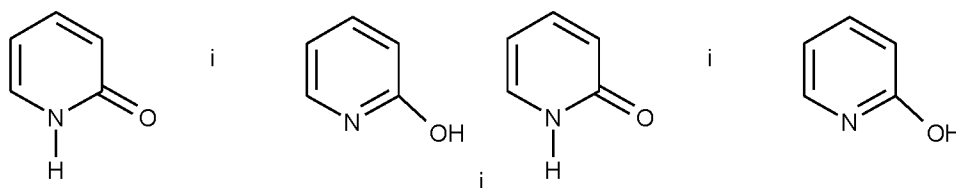
Наступні приклади фармацевтично прийнятних солей, які можна використовувати в рамках даного винаходу, включають, але не обмежуються ними, фторид, хлорид, бромід і йодид.

Як правило, мається на увазі, що солі сполуки являють собою фармацевтично прийнятні солі, що входять в об'єм винаходу.

Терміни "очищений", "в очищеній формі" або "у виділеній і очищеній формі" для сполуки стосуються фізичного стану вказаної сполуки після виділення з процесу синтезу або природного джерела, або їх комбінації. Таким чином, терміни "очищений", "в очищеній формі" або "у виділеній і очищеній формі" для сполуки стосуються фізичного стану вказаної сполуки після отримання в процесі очищення або способами, описаними в даному описі або добре відомими кваліфікованому фахівцеві, і в достатній чистоті для охарактеризації стандартними аналітичними способами, описаними в даному описі або добре відомими кваліфікованому фахівцеві. Сполуки за винаходом включають будь-яку форму сполуки, в тому числі *in situ* в реакційній суміші, а також у виділеній і очищеній формі, отриманій стандартними способами. Також включені полімерні форми сполук за винаходом і їхні сольвати і проліки.

Певні сполуки за винаходом можуть існувати в різних таутомерних формах, наприклад, але

не обмежуються ними, кето/енольні таутомерні форми, таутомерні форми імін-енамін, і, наприклад, гетероароматичні форми, такі як наступні частини:



5

Аналогічним чином, якщо немає інших вказівок, мають на увазі, що надання структурного зображення будь-якої таутомерної форми сполуки, яка демонструє таутомерію, включає всі такі таутомерні форми сполуки. Таким чином, коли сполуки за винаходом, їхні солі і сольвати, і їхні проліки можуть існувати в різних таутомерних формах або в рівновазі серед таких форм, всі такі форми сполуки охоплюються і включені в об'єм винаходу.

10

У іншому аспекті даний винахід стосується фармацевтичних композицій, що містять одну або декілька сполук за винаходом. Як використовують в рамках винаходу, термін "фармацевтична композиція" включає щонайменше одну фармацевтично активну сполуку і щонайменше один ексципієнт і має на увазі, що він охоплює як комбінацію конкретних інгредієнтів в конкретних кількостях, так і будь-який продукт, який є результатом, прямо або опосередковано, комбінування конкретних інгредієнтів в конкретних кількостях.

15

Як буде зрозуміло фахівцям в даній галузі, ексципієнти являють собою будь-який компонент, який адаптує композицію до конкретного шляху введення або полегшує переробку композиції в дозовану форму, самостійно не демонструючи активного фармацевтичного ефекту. Як правило композиції містять більше одного ексципієнта залежно від шляху введення і характеристик активної речовини, що вводиться. Приклади ексципієнтів, які надають композиції властивості, які полегшують зберігання або переробку, включають, але не обмежуються ними, мастильні речовини або добавки для пресування в порошкових лікарських засобах, призначених для таблетування, і стабілізатори емульсії в композиціях, в яких активна речовина присутня в формі емульсії. Прикладами ексципієнтів, які адаптують композицію до бажаного шляху введення, є, наприклад, але не обмежуючись ними, для перорального введення: підсилювачі всмоктування, які сприяють всмоктуванню з шлунково-кишкового тракту, для трансдермального або трансмукозального введення: підсилювачі проникнення, наприклад, підсилювачі проникнення, що використовуються в адгезивному шкірному "пластирі" або композиціях для букального введення.

20

25

Незалежно від функції, яку ексципієнти виконують в композиції, ексципієнти в сукупності називають в даному описі "носієм". Як правило, склади можуть містити аж до приблизно 95 відсотків активної речовини, а решта - носій, хоча можна отримувати склади з іншими співвідношеннями. Як правило, прийнятні фармацевтичні композиції містять прийнятну концентрацію активної речовини, щоб ефективна кількість антагоніста PCSK9 могла бути надана в індивідуальній дозованій формі прийнятної об'єму, виходячи з шляху введення, так щоб вона могла забезпечити терапевтичний сироватковий рівень активної речовини протягом прийнятного періоду часу у індивідуума, якому вводять композицію, і щоб композиція зберігала біологічну активність в ході зберігання при температурі в прийнятному діапазоні протягом прийнятного періоду часу.

35

40

Фармацевтична композиція, як використовують в рамках винаходу, стосується як безтарної композиції, тобто складеного матеріалу, який ще не сформований в індивідуальні дозовані одиниці для введення, так і композиції, що міститься в індивідуальних дозованих одиницях.

45

У той час як композиції за винаходом можна використовувати в безтарній формі, буде зрозуміло, що для більшості застосувань композиції можуть бути включені в дозовану форму, що забезпечує індивідуальні одиниці, придатні для введення пацієнту, причому кожна дозована форма містить кількість вибраної композиції, яка містить ефективну кількість вказаної однієї або декількох сполук формули I. Приклади прийнятних дозованих форм включають, але не обмежуються ними, (i) дозовані форми, адаптовані для перорального введення, наприклад, рідина, гель, порошок, тверда або напівтверда фармацевтична композиція, яка поміщена в капсулу або пресована в таблетку і може містити, крім того, одне або декілька покриттів, які модифікують її властивості вивільнення, наприклад, покриття, які забезпечують відстрочене вивільнення, або склади, які мають властивості пролонгованого вивільнення; (ii) дозовані форми, адаптовані для введення через тканини порожнини рота, наприклад, швидкорозчинна таблетка, пастилка, розчин, гель, саше або голкова матриця, придатна для забезпечення

50

55

введення всередину слизової оболонки; (iii) дозовані форми, адаптовані для введення через слизову оболонку порожнини носа або верхню дихальну порожнину, наприклад, склад розчину, суспензії або емульсії для розпилення в ніс або дихальні шляхи; (iv) дозовані форми, адаптовані для трансдермального введення, наприклад, пластир, крем або гель; (v) дозовані форми, адаптовані для внутрішньошкірного введення, наприклад, мікроголкава матриця; (vi) дозовані форми, адаптовані для внутрішньовенної (в/в) інфузії, наприклад, протягом тривалого періоду, з використанням насоса для в/в інфузій; (vii) дозовані форми, адаптовані для внутрішньом'язового (в/м) введення, наприклад, ін'єкційний розчин або суспензію, і які можуть бути адаптовані для формування депо, що має властивості пролонгованого вивільнення; (viii) дозовані форми, адаптовані для краплинного внутрішньовенного (в/в) введення, наприклад, розчин або суспензію, наприклад, як в/в розчин або концентрат для введення в пакет для в/в вливання з сольовим розчином; (ix) дозовані форми, адаптовані для підшкірного введення, в тому числі протягом пролонгованого періоду часу, за допомогою імплантації стержня або іншого пристрою, з яких сполука дифундує в навколишню тканину і тим самим забезпечує безперервний сироватковий терапевтичний рівень; або (x) дозовані форми, адаптовані для доставки через ректальну або вагінальну слизову оболонку, наприклад, супозиторій.

Фармацевтичні композиції можуть бути твердими, напівтвердими або рідкими. Препарати в твердій, напівтвердій і рідкій формі можуть бути адаптовані до різних способів введення, приклади яких включають, але не обмежуються ними, порошки, дисперговані гранули, мінітаблетки, драже, яке можна використовувати, наприклад, для таблетування, інкапсулювання або прямого введення. Крім того, препарати в рідкій формі включають, але не обмежуються ними, розчини, суспензії і емульсії, які, наприклад, але не виключно, можна використовувати для отримання складів, призначених для прийому всередину, інгаляційного або внутрішньовенного (в/в) введення, наприклад, але не обмежуючись ними, введення за допомогою в/в крапельниці або інфузійного насоса, внутрішньом'язової (IM) ін'єкції, наприклад, болюса, який вивільняється протягом пролонгованого періоду, прямої в/в ін'єкції, або адаптувати для підшкірних шляхів введення.

Інші шляхи введення, які можуть передбачатися, включають інтраназальне введення, або введення на деякі інші слизові оболонки. Склади, отримані для введення на різні слизові оболонки, також можуть включати додаткові компоненти, що адаптують їх для такого введення, наприклад, модифікатори в'язкості.

Хоча в деяких варіантах здійснення композиції, придатні для застосування в твердій дозованій формі, наприклад, таблетка або швидкорозчинний в порожнині рота склад, є переважними для введення сполуки за винаходом або її солі, композиція за винаходом може бути складена для введення за допомогою інших шляхів, згаданих вище. Приклади включають препарати аерозолів, наприклад, придатні для введення за допомогою інгаляції або через слизову оболонку носа, і можуть включати розчини і тверді речовини в формі порошку, які можуть бути в комбінації з фармацевтично прийнятним пропелентом, наприклад, інертним стисненим газом, наприклад, азотом. Також включені препарати в твердій формі, які призначені для конвертування, безпосередньо перед застосуванням, в суспензію або розчин, наприклад, для перорального або парентерального введення. Приклади таких твердих форм включають, але не обмежуються ними, ліофілізовані склади і рідкі склади, адсорбовані на тверде адсорбуюче середовище.

Наприклад, сполуки за винаходом також можуть бути доставлені трансдермальним або трансмукозальним шляхом, наприклад, з рідкої форми, супозиторію, крему, піни, гелю або твердої форми, що швидко розчиняється. Буде зрозуміло, що трансдермальні композиції також можуть мати форму кремів, лосьйонів, аерозолів і/або емульсій і можуть бути надані в одиничній дозованій формі, яка включає трансдермальний пластир, відомий в даній галузі, наприклад, пластир, який включає або матрикс, що містить фармацевтично активну сполуку, або резервуар, який містить тверду або рідку форму фармацевтично активної сполуки.

Приклади фармацевтично прийнятних носіїв і способів виробництва різних композицій, згаданих вище, можуть бути знайдені в A. Gennaro (ed.), Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20<sup>th</sup> Edition, (2000), Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD. Додаткові приклади публікацій, що стосуються складання, можуть бути знайдені в наведених нижче публікаціях. Фармацевтичні композиції можуть бути складені за допомогою будь-якої з ряду стратегій, відомих в даній галузі див., наприклад, McGoff and Scher, 2000 Solution Formulation of Proteins/Peptides: McNally, E.J., ed. Protein Formulation and Delivery. New York, NY: Marcel Dekker; pp. 139-158; Akers & Defilippis, 2000, Peptides and Proteins as Parenteral Solutions. Pharmaceutical Formulation Development of Peptides and Proteins. Philadelphia, PA: Taylor and Francis; pp. 145-177; Akers et al., 2002, Pharm. Biotechnol. 14:47-127.

У іншому аспекті даний винахід стосується способів використання PCSK9-специфічних сполук-антагоністів, описаних в даному описі, для антагонізму функції PCSK9, які додатково описано нижче. Використання терміну "антагонізм" протягом даної заявки стосується надання ураженій тканині(тканинам) речовини, яке надає протилежну дію, інгібує, нейтралізує або скорочує одну або декілька функцій PCSK9 в уражених тканинах. Інгібування або антагонізм одного або декількох асоційованої з PCSK9 функціональних властивостей можуть бути без великих зусиль визначені з використанням методологій, відомих в даній галузі (див., наприклад, Barak & Webb, 1981 J. Cell Biol. 90:595-604; Stephan & Yurachek, 1993 J. Lipid Res. 34:325330; i McNamara et al., 2006 Clinica Chimica Acta 369:158-167), а також методологій, описаних в даному описі. Інгібування або антагонізм можуть забезпечувати зниження активності PCSK9 відносно активності, що спостерігається при відсутності антагоніста або, наприклад, активності, що спостерігається, коли присутній контрольний антагоніст зі сторонньою специфічністю. Переважно, PCSK9-специфічний антагоніст відповідно до даного винаходу є антагоністом функції PCSK9 так, щоб відбувалося зниження щонайменше 10 % вимірюваного параметра, включаючи, але не обмежуючись ними, активність, описану в даному описі, і, більш переважно, зниження вимірюваного параметра щонайменше на 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % і 95 %. Таке інгібування/антагонізм функції PCSK9 є особливо ефективним у випадках, коли функціонування PCSK9 щонайменше частково вносить внесок в конкретний фенотип, захворювання, порушення або стан, які негативно впливають на індивідуума.

У одному аспекті даний винахід стосується способу забезпечення антагонізму активності PCSK9, який включає наведення в контакт клітини, популяції клітин або зразка тканини, які здатні піддаватися впливу PCSK9 (тобто які експресують і/або містять рецептори LDL), з конкретним PCSK9-специфічним антагоністом, описаним в даному описі, в умовах, які дозволяють вказаному антагоністу зв'язуватися з PCSK9, коли він присутній, і інгібувати інгібування за допомогою PCSK9 клітинного поглинання LDL. У деяких варіантах здійснення даний винахід включає такі способи, де клітиною є клітина людини. Додаткові варіанти здійснення даного винаходу включають такі способи, де клітина являє собою клітину миші.

У одному аспекті даний винахід стосується способу забезпечення антагонізму активності PCSK9 у індивідуума, який включає введення індивідууму терапевтично ефективної кількості PCSK9-специфічного антагоніста за даним винаходом. У деяких варіантах здійснення способи забезпечення антагонізму функції PCSK9 призначені для лікування, як визначено в даному описі, PCSK9-асоційованого захворювання, порушення або стану або, альтернативно, для забезпечення терапії захворювання, порушення або стані, при яких були б корисними ефекти антагоністів PCSK9.

Даний винахід, таким чином, охоплює застосування PCSK9-специфічних антагоністів, описаних в даному описі, в різних способах лікування, де є бажаним антагонізм функції PCSK9. Як використовують в рамках винаходу, термін "спосіб лікування" стосується порядку дій, що приводить до зміни щонайменше одного симптому захворювання, який може бути профілактичним або терапевтичним за своєю природою. У деяких варіантах здійснення даний винахід стосується способу лікування стану, який асоційований і/або приписується активності PCSK9, або стану, де функціонування PCSK9 протипоказане для конкретного індивідуума, причому спосіб включає введення індивідууму терапевтично ефективної кількості сполуки формули I, що є антагоністом PCSK9, або її фармацевтично прийнятної солі. У деяких варіантах здійснення стан може являти собою атеросклероз, гіперхолестеринемію, коронарну хворобу серця, метаболічний синдром, гострий коронарний синдром або родинне серцево-судинне захворювання і кардіометаболічні стан, або може являти собою захворювання або стан, при якому активність PCSK9 протипоказана.

Способи лікування відповідно до даного винаходу включають введення індивідууму терапевтично (або профілактично) ефективної кількості PCSK9-специфічного антагоніста за даним винаходом. Використання термінів "терапевтично ефективний" або "профілактично ефективний" відносно кількості стосується кількості, необхідної в передбачуваному дозуванні для досягнення бажаного терапевтичного і/або профілактичного ефекту протягом бажаного періоду часу. Бажаний ефект може являти собою, наприклад, полегшення, пом'якшення, зменшення або усунення щонайменше одного симптому, асоційованого зі станом, що піддається лікуванню. Ці кількості можуть варіюватися, як буде зрозуміло фахівцям в даній галузі, залежно від різних чинників, включаючи, але не обмежуючись ними, хворобливий стан, вік, стать і вагу індивідуума, і здатність PCSK9-специфічного антагоніста індукувати бажаний ефект у індивідуума. Відповідь може бути зареєстрована за допомогою аналізу in vitro, досліджень in vivo на тваринах, що не є людиною, і/або додатково підтверджений в клінічних випробуваннях.

У деяких варіантах здійснення переважно вводити сполуку-антагоніст PCSK9 за винаходом в формі фармацевтичної композиції, як описано в даному описі.

5 Дозування терапевтичних засобів-антагоністів входить в межі здібностей фахівця в даній галузі, див., наприклад, Lederman et al., 1991 Int. J. Cancer 47:659-664; Bagshawe et al., 1991  
 10 Antibody, Immunconjugates and Radiopharmaceuticals 4:915-922, і варіюється, виходячи з ряду чинників, наприклад, але не обмежуючись ними, чинники, згадані вище, включаючи стан пацієнта, ділянку, що піддається лікуванню, шлях введення і бажане лікування, наприклад, профілактику або невідкладне лікування, і т. п. Лікар або ветеринар, що є середнім фахівцем в даній галузі, може без великих зусиль визначити і призначити ефективну терапевтичну кількість антагоніста.

15 Індивідуум може мати потребу або бажати лікування від існуючого захворювання або медичного стану. Як використовують в рамках винаходу, індивідуум, "потребуючий" лікування існуючого стану, охоплює як визначення необхідності медичним фахівцем, так і бажання індивідуума отримати таке лікування. Коли сполука або її сіль надаються в комбінації з іншими активними речовинами, під "введенням" і його варіантами в кожному випадку мається на увазі надання сполуки або її солі і інших речовин спільно або одночасно, або в ході окремого введення протягом періоду часу. Коли засоби в комбінації вводять одночасно, їх можна вводити разом в одній композиції або їх можна вводити окремо. Зрозуміло, що "комбінація" активних речовин може являти собою одну композицію, що містить всі активні речовини, або множину композицій, кожна з яких містить одну або декілька активних речовин. У разі двох активних речовин комбінація може являти собою або єдину композицію, що містить обидві активні речовини, або дві окремих композиції, кожна з яких містить одну з речовин; у разі трьох активних речовин, комбінація може являти собою або одну композицію, що містить всі три речовини, або три окремі композиції, кожна з яких містить одну з речовин, або дві композиції, одна з яких містить дві речовини, а інша містить третю речовину, і т. д.

20 Композиції і комбінації за даним винаходом у прийнятному випадку вводять в ефективних кількостях. Термін "ефективна кількість" означає кількість активної сполуки, достатню для забезпечення антагонізму PCSK9 і, таким чином, для індукції бажаної відповіді (тобто індукція терапевтичної відповіді при лікуванні або керуванні перебігом станів, які асоційовані з або знаходяться під впливом функції PCSK9, включаючи, але не обмежуючись ними, атеросклероз, гіперхолестеринемію, коронарну хворобу серця, метаболічний синдром, гострий коронарний синдром і родинне серцево-судинне захворювання і кардіометаболічні стани у тварини або людини).

35 Фактичне дозування, що використовується може варіюватися залежно від потреб пацієнта і тяжкості стану, що піддається лікуванню. Визначення належного режиму дозування для конкретного стану входить в межі здібностей фахівця в даній галузі, наприклад, як описано в стандартній літературі, наприклад, як описано в "Physicians' Desk Reference" (PDR), наприклад, видання 1996 року (Medical Economics Company, Montvale, NJ 07645-1742, США), Physician's Desk Reference, 56th Edition, 2002 (опублікованому Medical Economics company, Inc. Montvale, NJ 07645-1742), або Physician's Desk Reference, 57th Edition, 2003 (опублікованому Thompson PDR, Montvale, NJ 07645-1742); зміст яких включений в даний опис як посилання. Для зручності загальне добове дозування може бути розділеним і може вводитися частинами протягом доби при необхідності, або може доставлятися безперервно.

45 PCSK9-специфічний антагоніст можна вводити індивідууму будь-яким шляхом введення, відомим в даній галузі, включаючи, але не обмежуючись ними, пероральне введення, введення за допомогою ін'єкції (конкретні варіанти здійснення якого включають внутрішньовенну, підшкірну, внутрішньоочеревинну або внутрішньом'язову ін'єкцію), або введення за допомогою інгаляційного, інтраназального або місцевого введення, або окремо, або в комбінації з іншими засобами, призначеними для сприяння лікуванню індивідуума. PCSK9-специфічний антагоніст також можна вводити за допомогою ін'єкційних пристроїв, шприців-ручок, безголкових пристроїв і систем доставки у вигляді підшкірних пластирів. Шлях введення повинен визначатися з урахуванням ряду чинників, відомих фахівцеві в даній галузі, включаючи, але не обмежуючись ними, бажані фізико-хімічні характеристики лікарського засобу.

55 У комбінації із сполукам формули I можна вводити одну або декілька додаткових фармакологічно активних речовин. Додаткова активна речовина (або речовини) означає фармацевтично активну речовину (або речовини), яка є активною в організмі, включаючи проліки, які конвертуються на фармацевтично активну форму після введення, які відрізняються від сполуки формули I, і також включає вільну кислоту, вільну основу і фармацевтично прийнятні солі вказаних додаткових активних речовин. Як правило, будь-яка прийнятна  
 60 додаткова активна речовина або речовини, включаючи, але не обмежуючись ними,

антигіпертензивні речовини, антиатеросклеротичні речовини, такі як модифікуючі ліпіди сполуки, антидіабетичні речовини і/або речовини проти ожиріння, можна використовувати в будь-якій комбінації зі сполуками формули I в єдиному дозованому складі (комбінація лікарських засобів з фіксованою дозою), або можна вводити індивідууму в одному або декількох окремих дозованих складах, що дозволяє одночасне або послідовне введення активних речовин (спільне введення окремих активних речовин).

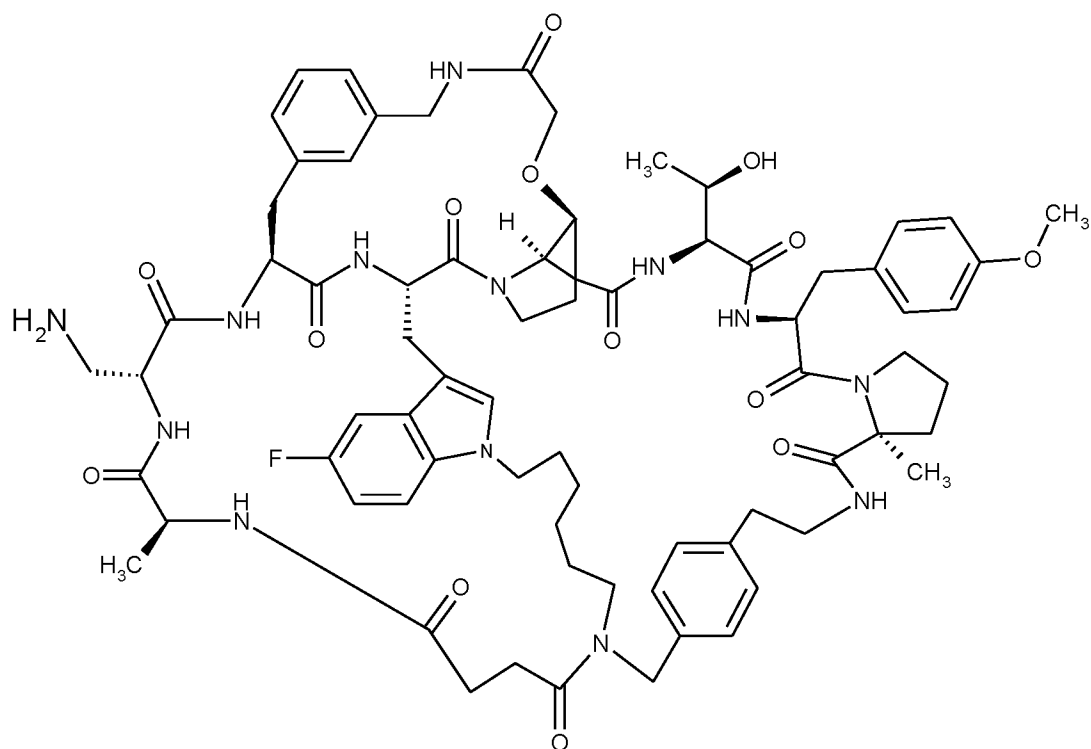
Приклади додаткових активних речовин, які можна використовувати, включають, але не обмежуються ними, інгібітори ангіотензинперетворювального ферменту (наприклад, алацеприл, беназеприл, каптоприл, церонаприл, цилазаприл, делацеприл, еналаприл, еналаприлат, фосиноприл, імідаприл, лізиноприл, мовелтиприл, периндоприл, квінаприл, раміприл, спіраприл, темокаприл або трандолаприл), антагоністи рецепторів ангіотензину II (наприклад, лозартан, тобто COZAAR®, валсартан, кандесартан, олмесартан, телмесартан і будь-які з цих лікарських засобів, що використовуються в комбінації з гідрохлортіазидом, таким як NYZAAR®); інгібітори нейтральних ендопептидаз (наприклад, тірфан і фосфорамідон), антагоністи альдостерону, інгібітори альдостеронсинтази, інгібітори реніну (наприклад, похідні сечовини і ди- і трипептидів (див. патент США № 5116835), амінокислоти і похідні (патенти США 5095119 і 5104869), ланцюги амінокислот, зв'язані непептидними зв'язками (патент США 5114937), похідні ди- і трипептидів, пептидиламінодіоли і пептидил бета-аміноациламінодіолкарбамати, і низькомолекулярні інгібітори реніну (включаючи діолсульфонаміди і сульфініли), N-морфоліно похідні, N-гетероциклічні спирти і піролімідазолони; також похідні пепстатину і фтор- і хлор- похідні статинвмісних пептидів, еналкреїн, RO 42-5892, A 65317, CP 80794, ES 1005, ES 8891, SQ 34017, аліскірен (2(S),4(S),5(S),7(S)-N-(2-карбамоїл-2-метилпропіл)-5-аміно-4-гідрокси-2,7-діізопропіл-8-[4-метокси-3-(3-метоксипропокси)феніл]октанамід геміфумарат) SPP600, SPP630 і SPP635), антагоністи рецепторів ендотеліну, інгібітори фосфодіестерази-5 (наприклад, силденафіл, тадалфіл і варденафіл), судинорозширювальні засоби, блокатори кальцієвих каналів (наприклад, амлодипін, нифедипін, верапаміл, дилтіазем, галопаміл, нілудипін, німодипіні, нікардипін), активатори калієвих каналів (наприклад, нікорандил, пінацидил, кромакалім, міноксидил, априлкалім, лопразолам), діуретики (наприклад, гідрохлортіазид), симпатолітики, бета-адренергічні блокатори (наприклад, пропранолол, атенолол, бізопролол, карведилол, метопролол або метопролол тартрат), альфа-адренергічні блокатори (наприклад, доксазозин, празозин або альфа-метилдопа), центральні альфа-адренергічні агоністи, периферичні судинорозширювальні засоби (наприклад, гідралазін); засоби, які знижують рівень ліпідів, наприклад, інгібітори HMG-CoA редуктази, такі як симвастатин і ловастатин, які випускаються в продаж як ZOCOR® і MEVACOR® в пролікарській формі лактону і функціонують як інгібітори після введення, і фармацевтично прийнятні солі інгібіторів дигідрокси HMG-CoA редуктази кислот з відкритим кільцем, таких як аторвастатин (зокрема, сіль кальцію, що продається як LIPITOR®), розувастатин (зокрема, сіль кальцію, що продається як CRESTOR®), правастатин (зокрема, сіль натрію, що продається як PRAVACHOL®), флувастатин (зокрема, сіль натрію, що продається як LESCOL®), кривастатин і пітавастатин; інгібітор всмоктування холестерину, такий як езетиміб (ZETIA®) і езетиміб в комбінації з будь-якими іншими засобами, які знижують рівень ліпідів, такими як інгібітори HMG-CoA редуктази, описані вище, і, зокрема, з симвастатином (VYTORIN®) або з аторвастатином кальцію; ніацин в формах негайного вивільнення або контрольованого вивільнення і/або з інгібітором HMG-CoA редуктази; агоністи рецепторів ніацину, такі як аципимокс і ацифран, а також часткові агоністи рецепторів ніацину; засоби, які змінюють метаболізм, що включають інсулін і міметики інсуліну (наприклад, інсулін деглудек, інсулін гларгін, інсулін лізпро), інгібітори дипептидилпептидази IV (DPP-4) (наприклад, ситагліптин, алогліптин, омаригліптин, лінагліптин, вілдагліптин); сенсibilізуючі до інсуліну засоби, включаючи (i) агоністи PPAR $\gamma$ , такі як глітазони (наприклад, піоглітазон, AMG 131, MBX2044, мітоглітазон, лобеглітазон, IDR-105, розиглітазон і балаглітазон), і інші ліганди PPAR, включаючи (1) подвійні агоністи PPAR $\alpha/\gamma$  (наприклад, ZYH2, ZYH1, GFT505, чиглітазар, мураглітазар, алеглітазар, соделглітазар і наведглітазар); (2) агоністи PPAR $\alpha$ , такі як похідні фенофібринової кислоти (наприклад, гемфіброзил, клофібрат, ципрофібрат, фенофібрат, безафібрат), (3) селективні модулятори PPAR $\gamma$  (SPPAR $\gamma$ M), (наприклад, такі як ті, що описані в WO 02/060388, WO 02/08188, WO 2004/019869, WO 2004/020409, WO 2004/020408, і WO 2004/066963); і (4) часткові агоністи PPAR $\gamma$ ; (ii) бігуаніди, такі як метформін і його фармацевтично прийнятні солі, зокрема, метформіну гідрохлорид, і його складі з пролонгованим вивільненням, такі як Glumetza™, Fortamet™ і GlucophageXR™; і (iii) інгібітори протейнтірозинфосфатази-1B (PTP-1B) (наприклад, ISIS-113715 і TTP814); інсулін або аналоги інсуліну (наприклад, інсулін детемір, інсулін глулізін, інсулін деглудек, інсулін гларгін, інсулін лізпро і інгаляційні складі кожного з них); лептин і похідні і агоністи лептинів; амілін і аналоги

аміліну (наприклад, прамлітинід); сульфонілсечовинні засоби, що посилюють секрецію інсуліну не на основі сульфонілсечовини (наприклад, толбутамід, глібурид, гліпізид, глімепірид, мітиглілід, меглітиніди, натеглілід і репаглілід); інгібітори  $\alpha$ -глюкозидази (наприклад, акарбоза, воглібоз і міглітол); антагоністи рецепторів глюкагону (наприклад, МК-3577, МК-0893, LY-2409021 і КТ6-971); міметики інкретину, такі як GLP-1, аналоги, похідні і міметики GLP-1; і агоністи рецепторів GLP-1 (наприклад, дулаглутид, семаглутид, албіглутид, ексенатид, ліраглутид, ліксисенатид, таспоглутид, СJC-1131 і ВІМ-51077, включаючи його інтраназальні, трансдермальні і що вводяться раз на тиждень складу); секвестранти жовчних кислот (наприклад, колестилаан, колестимід, колесеваламу гідрохлорид, колестипол, холестирамін і діалкіламіноалкільні похідні зшитого декстрану), інгібітори ацил СоА:холестерин ацилтрансферази (наприклад, авасиміб); сполуки проти ожиріння; засоби, призначені для застосування в запальних станах, такі як аспірин, нестероїдні протизапальні лікарські засоби або NSAID, глюкокортикоїди і селективні інгібітори циклооксигенази-2 або COX-2; активатори глюкокінази (GKA) (наприклад, AZD6370); інгібітори  $11\beta$ -гідроксистероїддегідрогенази типу 1 (наприклад, такі як ті, які описані в патенті США № 6730690, і LY-2523199); інгібітори SETP (наприклад, анацетрапіб, торцетрапіб і евацетрапіб); інгібітори фруктозо-1,6-бісфосфатази (наприклад, такі як ті, які описані в патентах США № 6054587; 6110903; 6284748; 6399782 і 6489476); інгібітори ацетил-СоА карбоксилази-1 або 2 (ACC1 або ACC2); активатори AMP-активованої протеїнкінази (AMPK); інші агоністи зв'язаних з G-білком рецепторів: (i) GPR-109, (ii) GPR-119 (наприклад, MBX2982 і PSN821) і (iii) GPR-40 (наприклад, TAK875); антагоністи SSTR3 (наприклад, такі як ті, які описані в WO 2009/001836); агоністи рецепторів нейромедину U (наприклад, такі як ті, які описані в WO 2009/042053, включаючи, але не обмежуючись ними, нейромедин S (NMS)); модулятори SCD; антагоністи GPR-105 (наприклад, такі як ті, які описані в WO 2009/000087); інгібітори SGLT (наприклад, ASP1941, SGLT-3, емпагліфлозин, дапагліфлозин, канагліфлозин, BI-10773, ертугліфлозин, ремоглофлозин, TS-071, тофогліфлозин, іпрагліфлозин і LX-4211); інгібітори ацил-кофермент А:діацилгліцеринацилтрансферази 1 і 2 (DGAT-1 і DGAT-2); інгібітори синтази жирних кислот; інгібітори ацил-кофермент А:моноацилгліцеринацилтрансферази 1 і 2 (MGAT-1 і MGAT-2); агоністи рецептора TGR5 (також відомі як GPBAR1, BG37, GPCR19, GPR131 і M-BAR); інгібітори клубовокишкового переносника жовчних кислот; PACAP, міметики PACAP, і агоністи рецепторів 3 PACAP; агоністи PPAR; інгібітори протеїнтирозинфосфатази-1В (PTP-1B); антитіла проти IL-1b (наприклад, ХОМА052 і канакінумаб); і бромкриптину мезилат і його складу швидкого вивільнення; або з іншими лікарськими засобами, корисними для лікування вищезазначених станів або порушень, включаючи форми вільної кислоти, вільної основи і фармацевтично прийнятних солей вказаних вище активних сполук, коли це хімічно можливо.

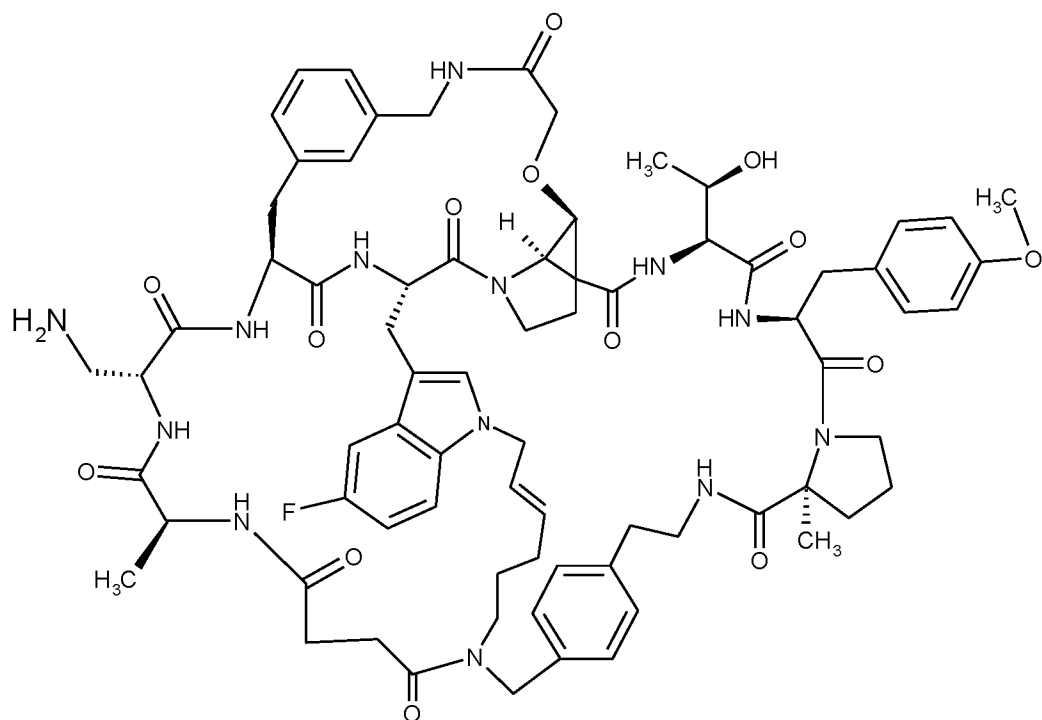
Сполуки за даним винаходом можна без великих зусиль отримувати по наступних схемах і прикладах реакцій або їх модифікаціях, з використанням легко доступних вихідних матеріалів, реагентів і загальноприйнятих методик синтезу. У цих реакціях також можна використовувати відомі варіанти. Для очищення сполук з використанням обернено-фазової хроматографії (або ВЕРХ, або MPLC, як зазначено нижче), використовували колонку С18. Інші способи отримання сполук за винаходом будуть добре зрозумілими фахівцеві в даній галузі з урахуванням наведених нижче схем реакції і прикладів. Скорочені позначення, наведені нижче, можуть використовуватися в ілюстративних схемах і/або прикладах даного опису.

45 ACN являє собою ацетонітрил  
 АсОН являє собою оцтову кислоту  
 АсО $\cdot$ NH $_4$  являє собою ацетат амонію  
 Вос $_2$ О являє собою ди-трет-бутилдикарбонат  
 Вп являє собою бензил  
 ВпВг являє собою бензилбромід  
 50 ВzСl являє собою бензоїлхлорид  
 СBr $_4$  являє собою пербромметан  
 Сbz-Сl являє собою бензилхлорформіат  
 DBU являє собою 1,8-діазабіцикло[5.4.0]уднець-7-ен  
 DCC являє собою дициклогексилкарбодіімід  
 55 DCE являє собою 1,2-дихлоретан  
 DCM являє собою дихлорметан  
 DEA являє собою N,N-діетиламін  
 DIAD являє собою (Е)-діізопропілдіазен-1,2-дикарбоксилат  
 DIEA або DIPEA являє собою N,N-діізопропілетиламін  
 60 DMAP являє собою 4-диметиламінопіридин

- DMF являє собою N,N-диметилформаїд  
 DMSO являє собою диметилсульфоксид  
 EA або EtOAc являє собою етилацетат  
 EtOH являє собою етанол  
 5 Et<sub>2</sub>O являє собою діетиловий ефір  
 Fmoc являє собою флуоренілметилоксикарбонільну захисну групу  
 Fmoc-Cl являє собою (9H-фтор-9-їл)метилкарбонохлоридут  
 Fmoc-Dap(Boc)-OH являє собою N-альфа-(9-флуоренілметилоксикарбоніл)-N-бета-трет-  
 10 бутилоксикарбоніл-D-2,3-діамінопропіонову кислоту  
 Fmoc-Osu являє собою N-гідроксисукцинімідний складний ефір Fmoc  
 HATU являє собою гексафторфосфат 3-оксиду 1-[біс(диметиламіно)метилєн]-1H-1,2,3-  
 триазоло[4,5-b]піридинію  
 ВЕРХ являє собою високоефективну рідинну хроматографію  
 IPA являє собою ізопропіловий спирт  
 15 LiOH являє собою гідроксид літію  
 LC/MS являє собою рідинну хроматографію-мас-спектрометрію  
 Me<sub>3</sub>N являє собою триметиламін  
 MeOH являє собою метанол  
 MPLC являє собою рідинну хроматографію середнього тиску  
 20 MsCl являє собою метансульфонілхлорид  
 NaBH(OAc)<sub>3</sub> являє собою триацетоксиборгїдрид натрію  
 ЯМР являє собою ядерний магнітний резонанс  
 NsCl являє собою 4-нітробензол-1-сульфонілхлорид  
 PE являє собою петролейний ефір  
 25 Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>(HCCl<sub>3</sub>) являє собою аддукт трїс (дїбензіліденацетон)дїпаладїй(0)-хлороформ  
 PPh<sub>3</sub> являє собою трифенїлфосфїн  
 PdCl<sub>2</sub>(dppf) або Pd(II)(dppf)Cl<sub>2</sub> являє собою дїхлор[1,1'-бїс(дїфенїлфосфїно)фероцен]паладїй  
 (II)  
 Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> являє собою аддукт дїхлор[1,1'-бїс(дїфенїлфосфїно)фероцен]паладїй(II)-  
 30 дїхлорметан  
 Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> являє собою тетракїс(трифенїлфосфїн)паладїй  
 PPT<sub>s</sub> являє собою п-толуолсульфонат піридинію  
 [Rh(OAc)<sub>2</sub>]<sub>2</sub> являє собою дїмер ацетату родїю(II)  
 КТ, або к.т., або кт являє собою кїмнатну температуру  
 35 tBuOAc являє собою трет-бутилацетат  
 TEA являє собою триетиламін  
 TFA являє собою трифтороцтову кислоту  
 TFE являє собою тетрафторетїлен  
 THF являє собою тетрагїдрофуран  
 40 Tf<sub>2</sub>O являє собою трифторметансульфонової ангїдрїд  
 Теос-OSu являє собою 2,5-дїоксопіролідїн-1-їл (2-(триметїлсїлїл)етїл)карбонат  
 TBAF являє собою фторїд тетрабутиламонїю  
 TMS являє собою тетраметїлсїлан  
 Каталїзатор Чжань 1В являє собою дїхлор(1,3-бїс(2,4,6-триметїлфенїл)-2-  
 45 їмїдазолїдїнїлїден)((5-((дїметїламіно)сульфонїл)-2-(1-метїлетокси-О)фенїл)метїлен-  
 С)рутенїй(II)  
 [також описуєтьсє як дїхлорїд 1,3-бїс(2,4,6-триметїлфенїл)-4,5-дїгїдроїмїдазол-2-їлїден[2-  
 (їзопропокси)-5-(N, N-дїметїламіносульфонїл)фенїл]метїленрутенїю (II)]  
 ПРИКЛАД 1 Отримання Ex-01 і Ex-51  
 50



Ex-01 (проілюстрована вільна основа)

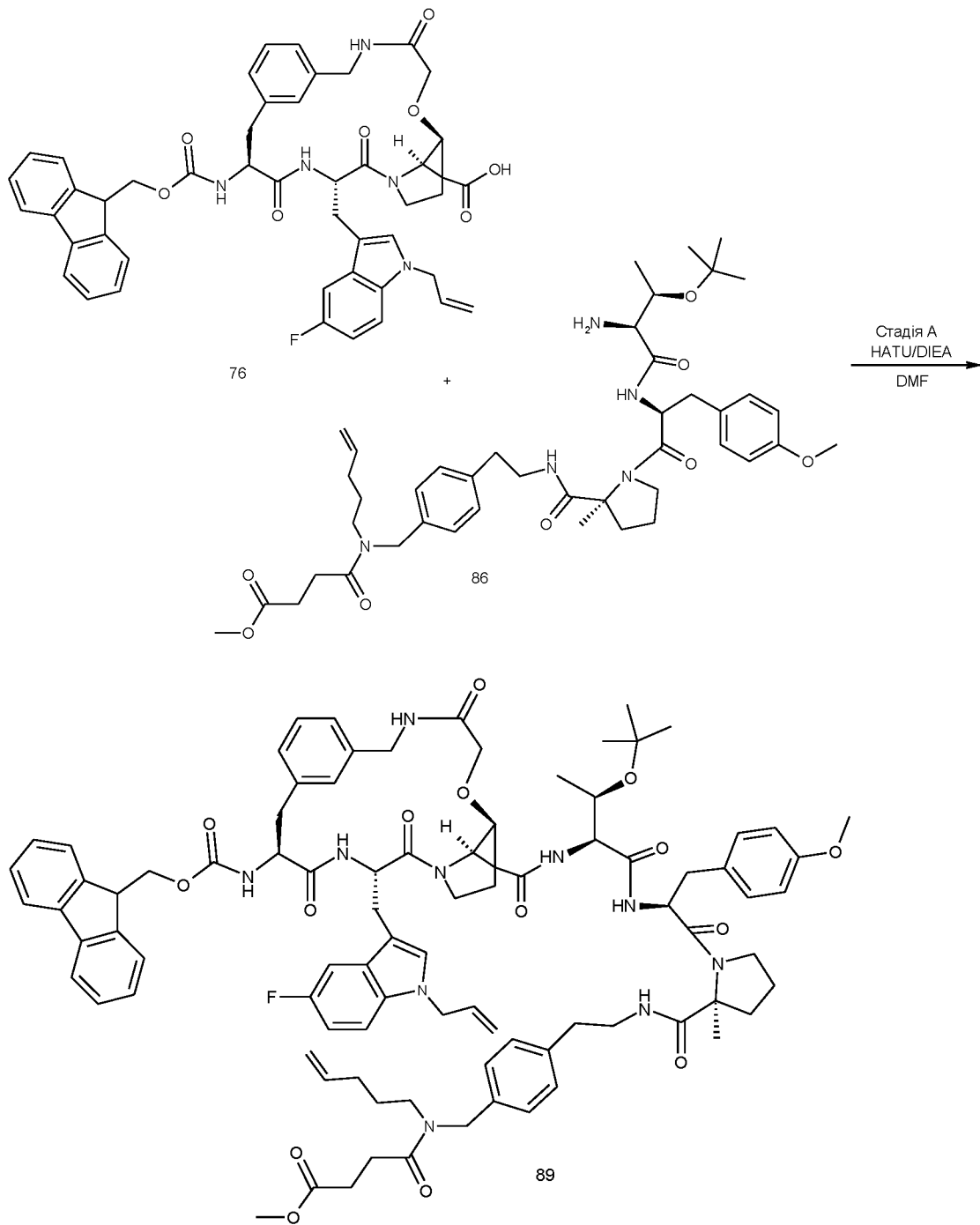


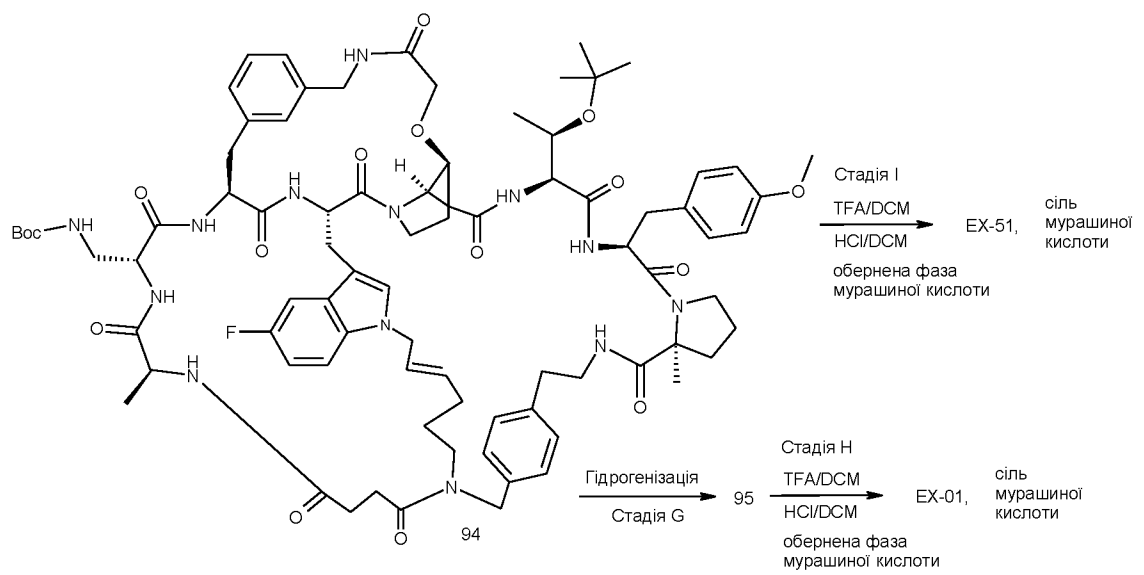
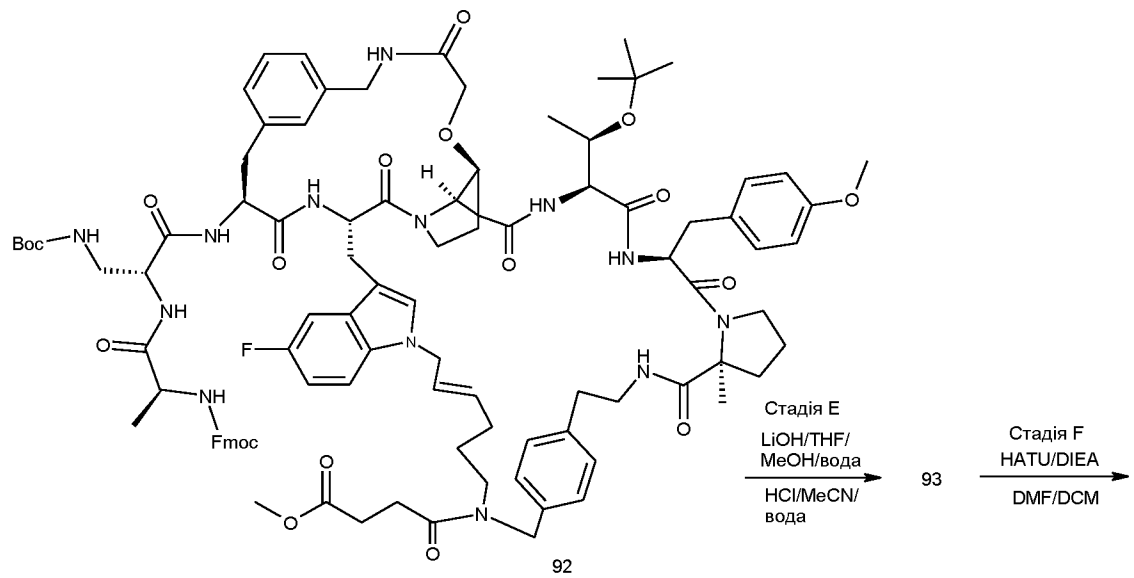
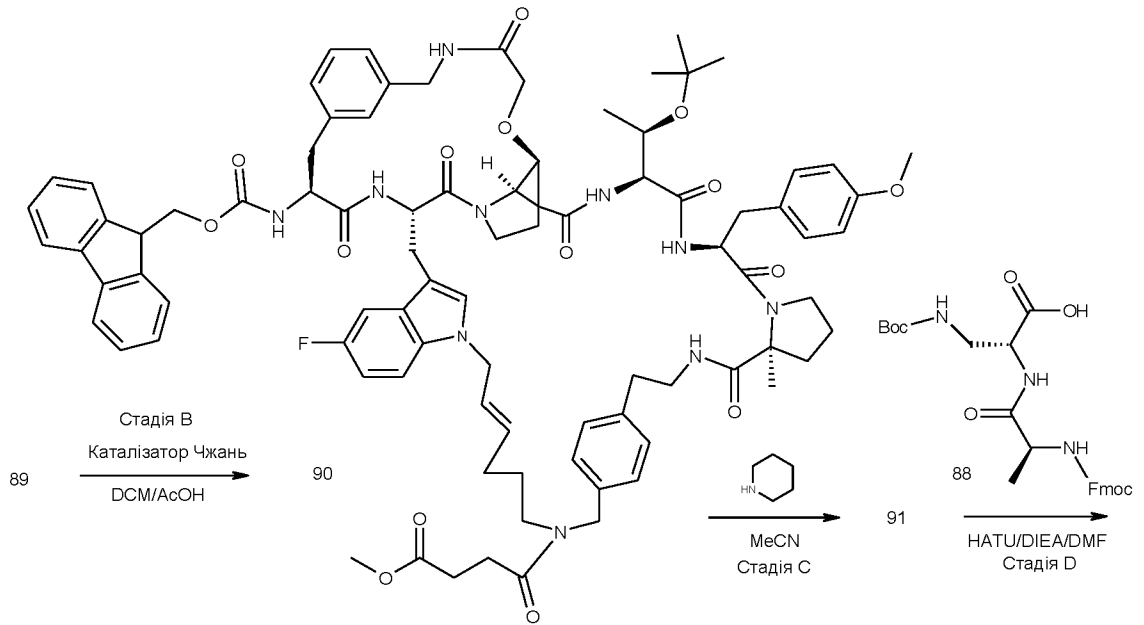
5

Ex-51 (проілюстрована вільна основа)

Форми солей сполук Ex-01 і Ex-51 отримували з проміжних сполук 76 і 86 (спосіб отримання описаний нижче) відповідно до наступної схеми:

10





## Стадія А: Отримання проміжної сполуки 89

До розчину 76 (1,56 г, 1,917 ммоль, отримання описане нижче) і 86 (1,506 г, 1,936 ммоль, отримання описане нижче) в DMF (40 мл) додавали HATU (0,802 г, 2,108 ммоль) і DIEA (0,670 мл, 3,83 ммоль). Отриманий розчин перемішували при к. т. протягом 50 хв., потім розподіляли між EtOAc (300 мл) і розсоллом (100 мл). Органічну фазу промивали розсоллом (2×100 мл), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, концентрували і залишок очищали на колонці на силікагелю з використанням MeOH/DCM як елююючих розчинників з отриманням 89. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 1573,8.

## Стадія В: Отримання проміжної сполуки 90

Розчин 89 (0,68 г, 0,432 ммоль) в DCM (500 мл) і оцтовій кислоті (40 мл) барботували N<sub>2</sub> протягом 20 хв., а потім додавали каталізатор Чжань-1b (0,222 г, 0,302 ммоль). Отриману суміш далі барботували N<sub>2</sub> протягом 20 хв., а потім нагрівали при 55 °C протягом 5 год. Після охолодження до к. т. суміш фільтрували через целіт, фільтрат концентрували і залишок очищали на колонці на силікагелю з використанням MeOH/DCM як елююючих розчинників з отриманням 90 (суміш цис/транс). LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 1545,7.

## Стадія С: Отримання проміжної сполуки 91

До розчину 90 (суміш цис/транс) (65 мг, 0,042 ммоль) в ацетонітрилі (2 мл) додавали піперидин (0,042 мл, 0,420 ммоль). Отриманий розчин перемішували при к. т. протягом 1 год., потім концентрували і залишок розчиняли в ацетонітрилі (4 мл) і знову концентрували. Залишок далі сушили у високому вакуумі 30 хв. з отриманням 91 (суміш цис і транс). LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 1324,0.

## Стадія D: Отримання проміжної сполуки 92

До розчину 91 (суміш цис/транс) (548 мг, 0,414 ммоль) і 88 (227 мг, 0,455 ммоль, отримання описане нижче) в DMF (10 мл) при 0 °C додавали HATU (181 мг, 0,476 ммоль) і DIEA (0,166 мл, 0,952 ммоль). Отриманий розчин перемішували при 0 °C протягом 1 год., і розчин очищали обернено-фазовою MPLC на колонці C18 з використанням ацетонітрилу (0,05 % TFA)/води (0,05 % TFA) як елююючих розчинників з отриманням 92 (суміш цис/транс). LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 1803,5.

## Стадія Е: Отримання проміжної сполуки 93

До розчину 92 (700 мг, 0,388 ммоль) в THF (20 мл), MeOH (6 мл) і воді (6 мл) при 0 °C краплинно додавали 1 Н водний розчин LiOH (3,11 мл, 3,11 ммоль), і отриманий розчин перемішували при 0 °C протягом 23 год. Розчин нейтралізовували додаванням 1 Н HCl до pH 7-8, леткі речовини випарювали, водну фазу підкислювали до pH 5, і суміш очищали обернено-фазовою MPLC на колонці C18 з використанням ацетонітрилу (0,05 % TFA)/води (0,05 % TFA) як елююючих розчинників з отриманням 93 в формі солі TFA. До розчину 93 в формі солі TFA (427 мг, 0,257 ммоль) у воді (70 мл) і ацетонітрилі (70 мл) при 0 °C краплинно додавали 0,1 Н HCl (13,5 мл, 1,350 ммоль), отриманий розчин перемішували при 0 °C протягом 5 хв., а потім ліофілізували з отриманням 93 у вигляді солі HCl. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 1567,1.

## Стадія F: Отримання проміжної сполуки 94

До розчину 93 в формі солі HCl (200 мг, 0,125 ммоль) в DMF (30 мл) додавали HATU (56,9 мг, 0,150 ммоль). Отриманий розчин перемішували при к. т. протягом 30 хв., потім розбавляли DCM (400 мл), а потім додавали DIEA (0,065 мл, 0,374 ммоль). Отриманий розчин перемішували при к. т. протягом 1 год., леткі речовини випаровували на роторному випарнику, і отриманий розчин в DMF очищали обернено-фазовою MPLC з використанням ацетонітрилу (0,05 % TFA)/вода (0,05 % TFA) як елююючих розчинників з отриманням 94. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 1549,2.

## Стадія G: Отримання проміжної сполуки 95

До розчину 94 (14 мг, 9,04 мкмоль) в MeOH (20 мл) додавали 10 % Pd/C (1,924 мг, 1,808 мкмоль) і отриману суміш піддавали гідрогенізації при к. т. через балон H<sub>2</sub> протягом 1 год. Суміш фільтрували через целіт і фільтрат концентрували з отриманням проміжної сполуки 95. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 1550,9.

## Стадія H: Отримання Ex-01

Проміжну сполуку 95, отриману на попередній стадії (26 мг, 0,017 ммоль), розчиняли в DCM (2 мл). До цього розчину додавали TFA (6 мл, 78 ммоль) і отриманий розчин перемішували при к.т. протягом 30 хв., потім концентрували і залишок розчиняли в DCM (3 мл) і обробляли 4 Н HCl в діоксані (0,042 мл, 0,168 ммоль), і знову концентрували з отриманням Ex-01 як неочищений продукт. Неочищену Ex-01 очищали обернено-фазовою ВЕРХ з використанням ацетонітрилу (0,1 % мурашина кислота)/води (0,1 % мурашина кислота) як елююючих розчинників з отриманням форми солі мурашиної кислоти Ex-01. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 1394,4.

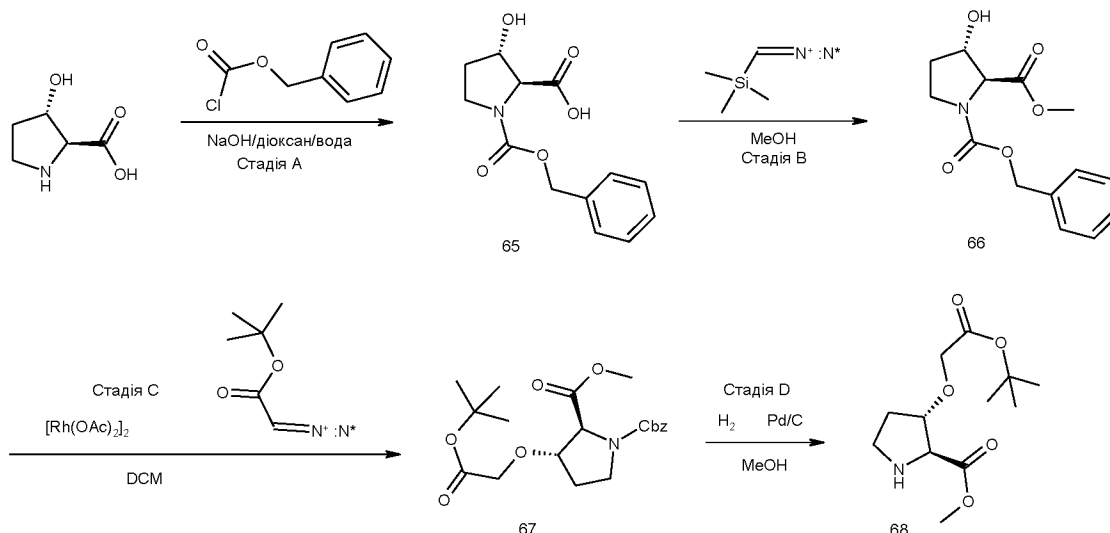
## Стадія I: Отримання Ex-51

До розчину проміжної сполуки 94 (30 мг, 0,019 ммоль) в DCM (2 мл) додавали TFA (4 мл,

51,9 ммоль), і реакційну суміш перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 30 хвилин, а потім концентрували. Залишок розчиняли в DCM (2 мл), обробляли HCl (4 Н в діоксані) (0,048 мл, 0,194 ммоль) і концентрували з отриманням Ex-51 в формі солі HCl. Сполуку очищали обернено-фазовою ВЕРХ з використанням ацетонітрилу (0,1 % мурашина кислота)/води (0,1 % мурашина кислота) як рухомої фази з отриманням форми солі мурашиної кислоти Ex-51. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 1392,0.

Наступні схеми і методики використовували для отримання проміжних сполук 76, 86 і 88, використаних в методиках, описаних вище.

Отримання проміжної сполуки 68, використане для отримання проміжної сполуки 76



Стадія А: Отримання проміжної сполуки 65

До суспензії (2S, 3S)-3-гідроксипіролідін-2-карбонової кислоти (5,32 г, 40,6 ммоль) в діоксані (100 мл) при 0 °С додавали гідроксид натрію (122 мл, 122 ммоль), а потім краплинно додавали бензилхлорформіат (6,50 мл, 44,6 ммоль). Отриману суспензію перемішували при 0 °С протягом 5 год. Після видалення летких речовин водну фазу підкислювали до рН 3, потім розподіляли між 30 % IPA/DCM (200 мл) і розсолем (50 мл), а потім водну фазу далі екстрагували 30 % IPA/DCM (2×100 мл). Об'єднані органічні фази сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і концентрували з отриманням (2S, 3S)-1-((бензилокси)карбоніл)-3-гідроксипіролідін-2-карбонової кислоти (65). LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 266,1.

Стадія В: Отримання проміжної сполуки 66

До розчину 65 (7,48 г, 28,2 ммоль) в MeOH (80 мл) краплинно додавали TMS-діазометан (70,5 мл, 141 ммоль), і отриманий розчин перемішували при к. т. протягом 10 хв., а потім гасили краплинним додаванням оцтової кислоти (приблизно 400 мкл). Розчин концентрували, і залишок очищали на колонці на силікагелю з використанням EtOAc/гексану як елююючих розчинників з отриманням 66. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 280,1.

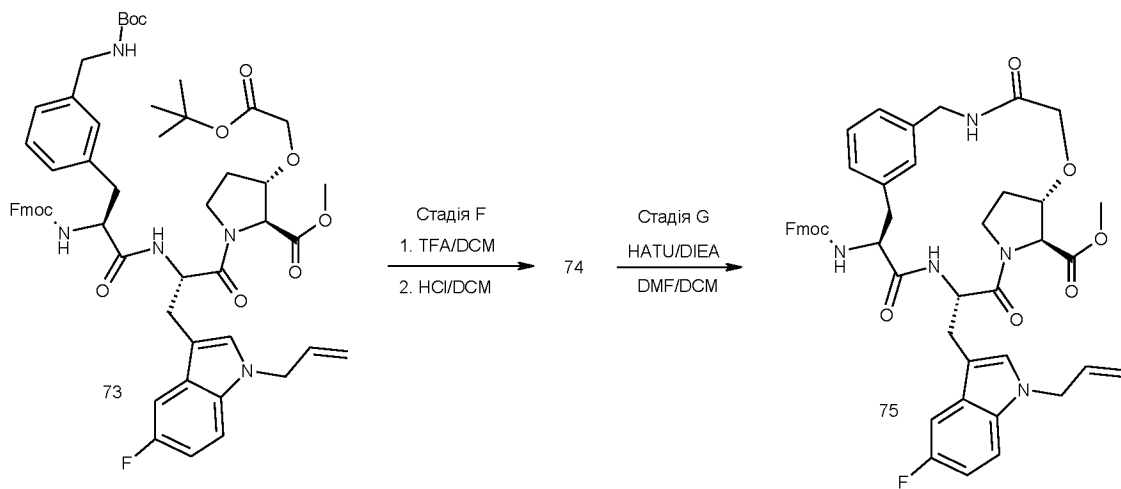
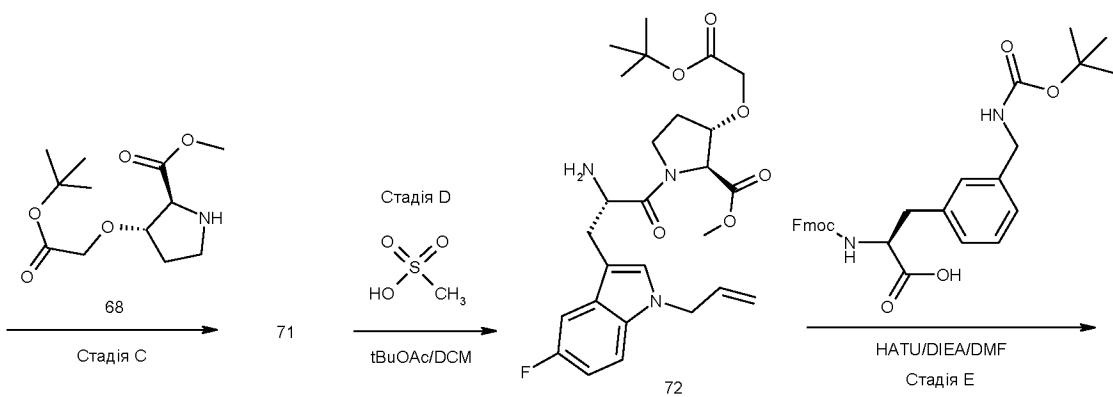
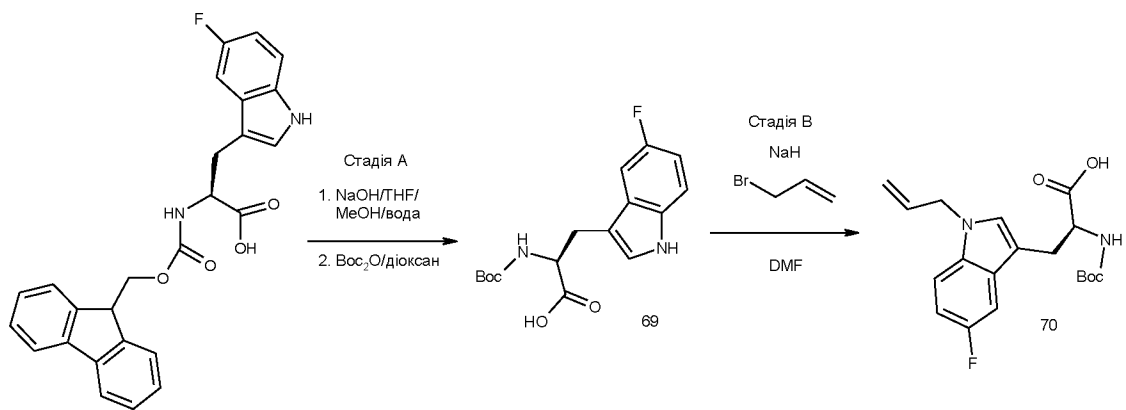
Стадія С: Отримання проміжної сполуки 67

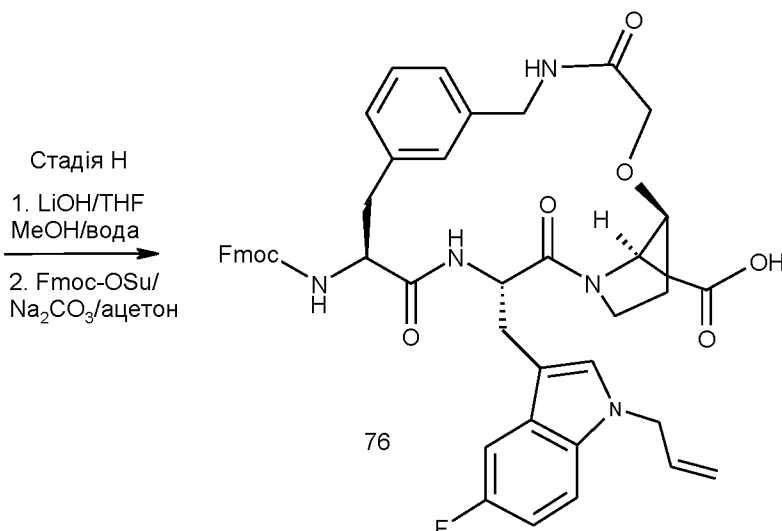
Розчин 66 (4,81 г, 17,22 ммоль) в DCM (200 мл) барботували N<sub>2</sub> протягом 30 хв., а потім додавали димер ацетату родію(ii) (0,761 г, 1,722 ммоль). Суміш охолоджували на крижаній бані і краплинно додавали трет-бутилдїазоацетат (3,58 мл, 25,8 ммоль) при 0 °С. Отриману суміш перемішували при 0 °С протягом 1,5 год. Реакцію гасили додаванням води (100 мл), суміш екстрагували DCM (3×100 мл), об'єднану органічну фазу сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, концентрували і залишок очищали обернено-фазовою MPLC з використанням ацетонітрилу (0,05 % TFA)/води (0,05 % TFA) як елююючих розчинників. Фракцію, що містила продукт, концентрували і водну фазу екстрагували DCM (2×100 мл). Об'єднану органічну фазу сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і концентрували з отриманням 67. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 394,2.

Стадія D: Отримання проміжної сполуки 68

До розчину 67 (3,72 г, 9,46 ммоль) в MeOH (80 мл) додавали 10 % Pd/C (0,805 г, 0,756 ммоль) і отриману суміш піддавали гідрогенізації з використанням балона з H<sub>2</sub> при температурі навколишнього середовища протягом 2 годин, а потім фільтрували через целіт. Фільтрат концентрували з отриманням 68. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 259,9.

Отримання проміжної сполуки 76





Стадія А: Отримання проміжної сполуки 69

До розчину (S)-2-(((9H-флуорен-9-іл)метокси)карбоніл)аміно)-3-(5-фтор-1H-індол-3-іл)пропіонової кислоти (3 г, 6,75 ммоль) в THF (20 мл), MeOH (10 мл) і воді (20,00 мл) при 0 °С додавали NaOH (20,25 мл, 20,25 ммоль) і отриманий розчин перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 4 годин, а потім леткі речовини випарювали. До водної суміші додавали діоксан (50 мл) і воду (20 мл), отриманий розчин охолоджували до 0 °С і до вказаного вище розчину додавали Вос<sub>2</sub>O (1,881 мл, 8,10 ммоль). Отриманий розчин перемішували при 0 °С протягом 3 годин, леткі речовини видаляли і водну фазу екстрагували Et<sub>2</sub>O (3×40 мл), підкислювали до рН 3, потім екстрагували DCM (3×100 мл), а потім 30 % IPA/DCM (2×80 мл). Об'єднану органічну фазу сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і концентрували з отриманням 69. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 322,9.

Стадія В: Отримання проміжної сполуки 70

До розчину 69 (2,079 г, 6,45 ммоль) в DMF (40 мл) при 0 °С додавали 60 % NaH в гексані (0,568 г, 14,19 ммоль) і отриманий розчин перемішували при 0 °С протягом 50 хв., а потім краплинно додавали алілбромід (1,172 мл, 13,54 ммоль). Отриманий розчин перемішували при 0 °С протягом 1,5 год., а потім гасили додаванням 1 Н HCl (приблизно 3,68 мл). Потім розчин розподіляли між EtOAc (200 мл) і водою (100 мл), органічну фазу промивали розсоллом (2×100 мл), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, концентрували і залишок очищали на колонці на силікагелю з використанням MeOH/DCM як елююючих розчинників з отриманням 70. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 363,0.

Стадія С: Отримання проміжної сполуки 71

До розчину 70 (2,239 г, 6,18 ммоль) і 68 (1,842 г, 7,11 ммоль) в DMF (30 мл) додавали HATU (2,82 г, 7,41 ммоль) і DIEA (2,59 мл, 14,83 ммоль), і отриманий розчин перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 1 години. Суміш розподіляли між EtOAc (200 мл) і розсоллом (100 мл), органічну фазу промивали розсоллом (3×100 мл), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, концентрували і залишок очищали на колонці на силікагелю з використанням EtOAc/гексану як елююючих розчинників з отриманням 71. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 604,2.

Стадія D: Отримання проміжної сполуки 72

До розчину 71 (2,83 г, 4,69 ммоль) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 мл) і tBuOAc (30 мл) при 0 °С додавали метансульфонову кислоту (1,218 мл, 18,75 ммоль), і отриманий розчин перемішували при 0 °С протягом 16,5 год., а потім при температурі навколишнього середовища протягом 2,5 год. Розчин (72) використовували безпосередньо на наступній стадії. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 504,2.

Стадія E: Отримання проміжної сполуки 73

До розчину (S)-2-(((9H-флуорен-9-іл)метокси)карбоніл)аміно)-3-(3-((трет-бутоксикарбоніл)аміно)метил)феніл)пропіонової кислоти (2,66 г, 5,16 ммоль) в DMF (10 мл) додавали HATU (1,961 г, 5,16 ммоль) і DIEA (5,32 мл, 30,5 ммоль), і отриманий розчин перемішували при к. т. протягом 30 хв., а потім додавали до розчину 72, отриманого як описано вище, на крижаній бані. Отриманий розчин перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 1 години. Леткі речовини випаровували на роторному випарнику, і залишок очищали обернено-фазовою MPLC з використанням ацетонітрилу (0,05 % TFA)/води (0,05 % TFA) як елююючих розчинників. Зібрані фракції концентрували на роторному випарнику з отриманням 73. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 1002,1.

Стадія F: Отримання проміжної сполуки 74

До розчину 73 (3,235 г, 3,23 ммоль) в DCM (4 мл) додавали TFA (7,46 мл, 97 ммоль), і отриманий розчин перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 1 години, а потім концентрували. Залишок розчиняли в DCM (10 мл), обробляли 4 Н HCl в діоксані (3,23 мл, 12,91 ммоль), потім концентрували і залишок розчиняли в ацетонітрилі (100 мл)/воді (50 мл) і ліофілізували з отриманням 74. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 846,1.

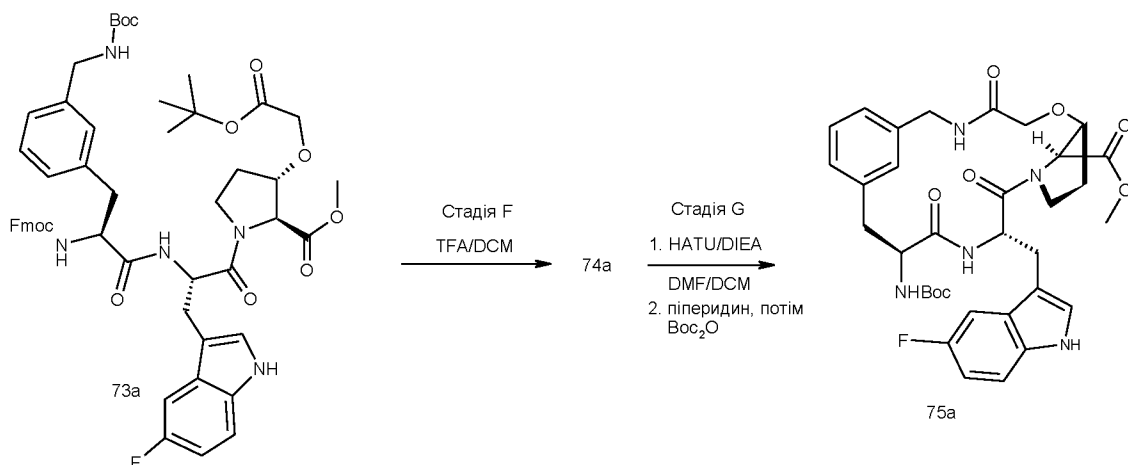
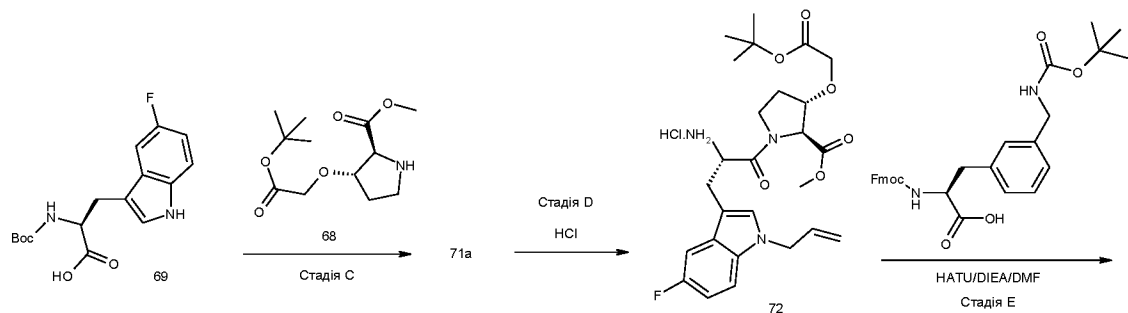
Стадія G: Отримання проміжної сполуки 75

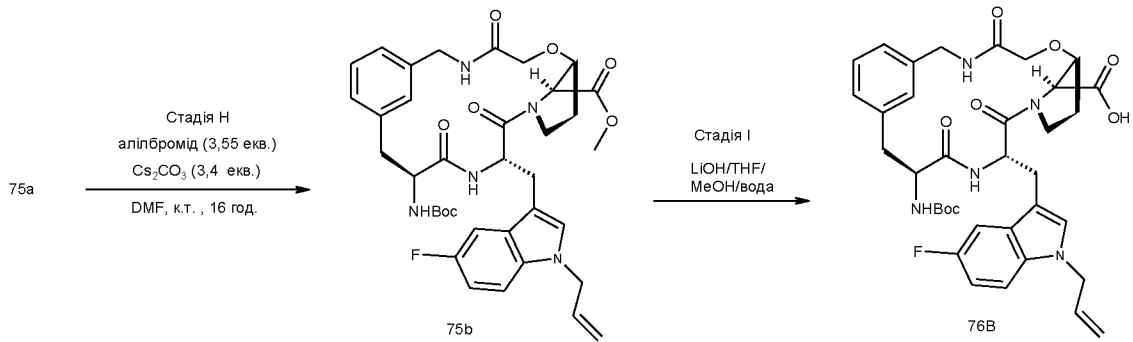
До розчину 74 (2,85 г, 3,23 ммоль) в DMF (45 мл) додавали HATU (1,474 г, 3,88 ммоль), і отриманий розчин перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 30 хв., потім розбавляли DCM (600 мл), а потім краплинно додавали DIEA (1,692 мл, 9,69 ммоль). Отриманий розчин перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 1 години. Розчин концентрували і залишок очищали обернено-фазовою MPLC на колонці C18 з використанням ацетонітрилу (0,05 % TFA)/води (0,05 % TFA) як елююючих розчинників. Фракції, що містили продукт, концентрували, і водний шар розподіляли між DCM (200 мл) і насич. NaHCO<sub>3</sub> (200 мл). Водну фазу екстрагували DCM (2×100 мл) і об'єднану органічну фазу сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і концентрували з отриманням 75. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 828,1.

Стадія H: Отримання проміжної сполуки 76

До розчину 75 (1,93 г, 2,331 ммоль) в THF (60 мл), MeOH (30 мл) і воді (20 мл) при 0 °C краплинно додавали 1 Н водний LiOH (9,9 мл, 9,90 ммоль) і отриманий розчин перемішували при 0 °C протягом 16 год., а потім гасили додаванням HCl (1 Н, 9,9 мл). Леткі речовини випаровували на роторному випарнику і до вказаного вище розчину при 0 °C додавали ацетон (60 мл), карбонат натрію (0,371 г, 3,50 ммоль) і Fmoc-Osu (0,802 г, 2,378 ммоль). Отриманий розчин перемішували при 0 °C протягом 6 год., леткі речовини випарювали на роторному випарнику, водну фазу підкислювали до pH 4, а потім екстрагували 30 % IPA/DCM (3×100 мл). Об'єднану органічну фазу сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, концентрували і залишок очищали на колонці на силікагелю з використанням MeOH/DCM як елююючих розчинників з отриманням 76. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 814,2.

Альтернативний спосіб отримання проміжної сполуки 75b і проміжної сполуки 76b з нього:





Слідували в основному загальній методиці, описаній вище для отримання проміжної сполуки 75, за винятком того, що стадію В виключали, а також включали кінцеву стадію G, що замінює захисну групу Fmoc захисною групою Boc, таким чином, отримуючи проміжну сполуку 75a. Методики для 75a і 76B описані нижче.

Стадія С: Отримання проміжної сполуки 71a

До розчину 69 (5,00 г, 15,5 ммоль) в DMF (40,0 мл) при -50 °С додавали 68, HATU (5,90 г, 15,5 ммоль) і DIEA (4,01 г, 31,0 ммоль), і реакційну суміш перемішували при -50 °С протягом 3 год. Кінцевий розчин гасили водою (5 мл), концентрували при зниженому тиску, і залишок очищали обернено-фазовою колонковою хроматографією на C18 (елюювання градієнтом ацетонітрил/вода+0,01 % бікарбонат амонію) з отриманням 71a. LCMS (ESI): обчислено для C<sub>28</sub>H<sub>38</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>8</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 564,3, знайдено 564,2.

Стадія D: Отримання проміжної сполуки 72a

До розчину 2 Н HCl в діоксані (100 мл) і THF (100 мл) при к. т. додавали 71a (8,40 г, 14,9 ммоль) і реакційну суміш перемішували протягом 5 год. Кінцевий розчин концентрували при зниженому тиску з отриманням 72a. LCMS (ESI): обчислено для C<sub>23</sub>H<sub>31</sub>ClFN<sub>3</sub>O<sub>6</sub> [M - HCl+H]<sup>+</sup>: 464,2, знайдено 464,3.

Стадія E: Отримання проміжної сполуки 73a

До розчину 72a (800 мг, 1,60 ммоль) в DMF (10,0 мл) при -50 °С додавали (S)-2-(((9H-флуорен-9-іл)метокси)карбоніл)аміно)-3-(3-(((трет-бутоксикарбоніл)аміно)метил)феніл)пропіонову кислоту (827 мг, 1,60 ммоль), HATU (608 мг, 1,60 ммоль) і DIEA (620 мг, 4,80 ммоль) і суміш перемішували при -50 °С протягом 3 год. Отриманий розчин розбавляли водою (50 мл), і водний шар екстрагували EtOAc (3×100 мл). Об'єднаний органічний шар промивали розсоллом, сушили над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрували. Фільтрат концентрували при зниженому тиску і залишок очищали за допомогою колонкової хроматографії на силікагелю (елююванні градієнтом 1%-60% EtOAc в PE) з отриманням 73a. LCMS (ESI): обчислено для C<sub>53</sub>H<sub>60</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>11</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 962,4, знайдено 962,6.

Стадія F: Отримання проміжної сполуки 74a

До розчину 73a (3,00 г, 3,12 ммоль) в DCM (15,0 мл) при к. т. додавали TFA (15,0 мл) і реакційну суміш перемішували протягом 1 год. при кімнатній температурі. Отриманий розчин концентрували при зниженому тиску, а потім спільно упарювали з толуолом і DCM з отриманням 74a. LCMS (ESI): обчислено для C<sub>46</sub>H<sub>45</sub>F<sub>4</sub>N<sub>5</sub>O<sub>11</sub> [M - TFA+H]<sup>+</sup>: 806,3, знайдено 806,7.

Стадія G: Отримання проміжної сполуки 75a

До розчину 74a (4,00 г, 4,35 ммоль) в DMF (150 мл) при к. т. додавали HATU (1,65 г, 4,35 ммоль) і реакційний розчин перемішували протягом 0,5 год. Розчин розбавляли DCM (450 мл) і DIEA (1,69 г, 13,1 ммоль), а потім перемішували при к. т. протягом 3 год. Отриманий розчин гасили водою (5 мл), концентрували при зниженому тиску і залишок очищали обернено-фазовою колонковою хроматографією на C18 (елююванні градієнтом ацетонітрил/вода+0,05 % TFA) з отриманням Fmoc-захищеного проміжної сполуки. LCMS (ESI): обчислено для C<sub>44</sub>H<sub>42</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>8</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 788,3, знайдено 788,9.

До розчину Fmoc-захищеного проміжної сполуки, описаної безпосередньо вище (200 мг, 0,250 ммоль), в DCM (5,00 мл) при к. т. додавали піперидин (1,25 мл) і реакційний розчин перемішували протягом 1 год. Кінцевий розчин концентрували при зниженому тиску і залишок очищали за допомогою колонкової хроматографії на силікагелю (елюювання градієнтом 0 %-5 % MeOH в DCM) з отриманням проміжної сполуки у вигляді аміну. LCMS (ESI): обчислено для C<sub>29</sub>H<sub>32</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>6</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 566,2, знайдено 566,3.

До розчину проміжної сполуки у вигляді аміну, описаного безпосередньо вище (2,86 г, 5,06 ммоль) в THF (30,0 мл) і воді (30,0 мл) при к. т. додавали Boc<sub>2</sub>O (2,21 г, 10,1 ммоль) і бікарбонат

натрію (1,70 г, 20,2 ммоль) і реакційну суміш перемішували протягом 3 год. Кінцевий розчин розбавляли водою (50 мл) і екстрагували EtOAc (3×100 мл). Об'єднаний органічний шар промивали розсолем (3×100 мл), сушили над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрували. Фільтрат концентрували при зниженому тиску і залишок очищали за допомогою колонкової хроматографії на силікагелю (елюювання градієнтом 0 %-5 % MeOH в DCM) з отриманням 75a. LCMS (ESI): обчислено для C<sub>34</sub>H<sub>40</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>8</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 666,3, знайдено 666,5; <sup>1</sup>H-ЯМР (300 МГц, CD<sub>3</sub>OD) δ 7,35-7,08 (м, 6H), 6,95-6,79 (м, 2H), 5,01-4,91 (м, 1H), 4,72-4,56 (м, 2H), 4,45-4,38 (м, 1H), 4,45-4,38 (м, 5H), 3,69 (с, 3H), 3,32-2,92 (м, 5H), 2,14-1,82 (м, 2H), 1,47 (с, 9H).

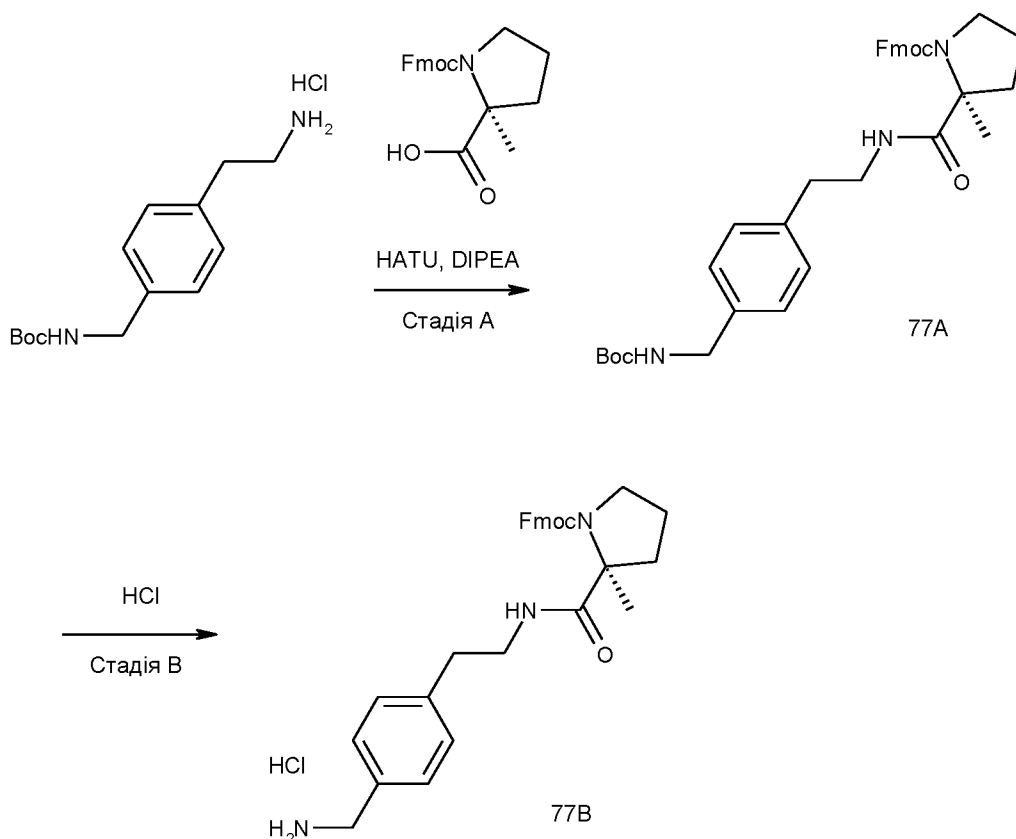
Стадія H: Отримання проміжної сполуки 75b

До розчину 75a (0,665 г, 0,99 ммоль) в DMF (0,5 мл) додавали Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1,11 г, 3,40 ммоль) і 3-бромпроп-1-ен (0,43 г, 3,55 ммоль) при 0 °С. Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 16 годин і переливали в 5 мл розчини 50 % насич. розсіл/10 % лимонна кислота, а потім екстрагували етилацетатом (2×20 мл). Органічний шар промивали розсолем (3×20 мл), сушили над безводним MgSO<sub>4</sub> і фільтрували. Фільтрат концентрували при зниженому тиску. Залишок очищали за допомогою колонкової хроматографії на силікагелю, елюючи градієнтом 1 %-5 % MeOH в DCM. Фракції, що містили проміжну сполуку 75b, об'єднували і концентрували з отриманням вказаної в заголовку сполуки. LCMS (ESI): обчислено для C<sub>37</sub>H<sub>44</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>8</sub> [M+H]<sup>+</sup>: 706,3, знайдено 706,3.

Стадія I: Отримання проміжної сполуки 76B

Гідроліз 75b за допомогою LiOH відповідав умовам, схожим з умовами, описаними для отримання проміжної сполуки 93, з отриманням 76B.

Отримання проміжної сполуки 77B

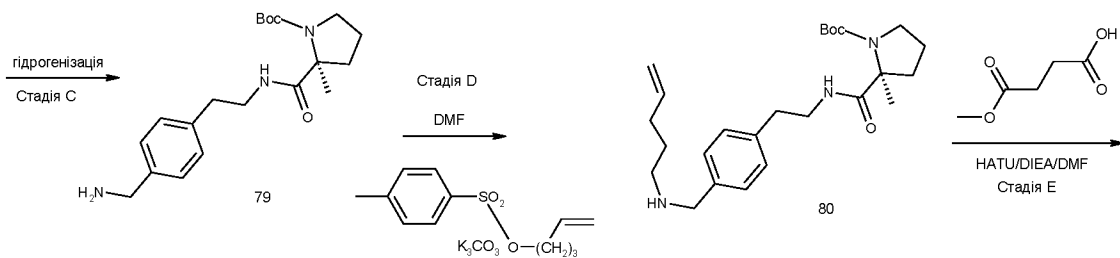
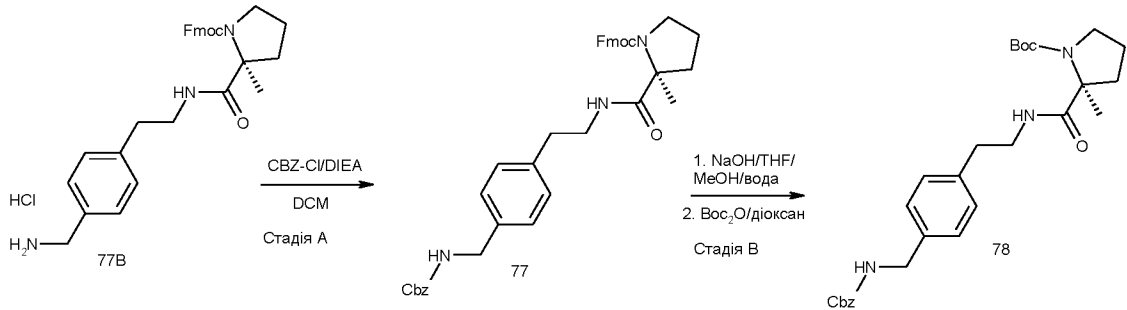


Стадія A: Отримання проміжної сполуки 77A

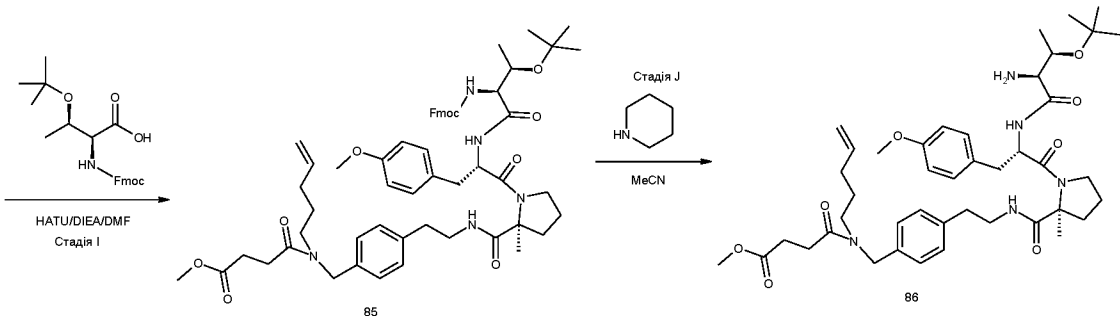
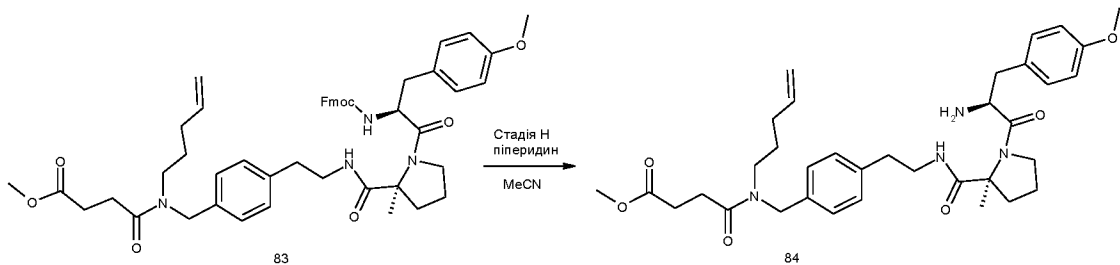
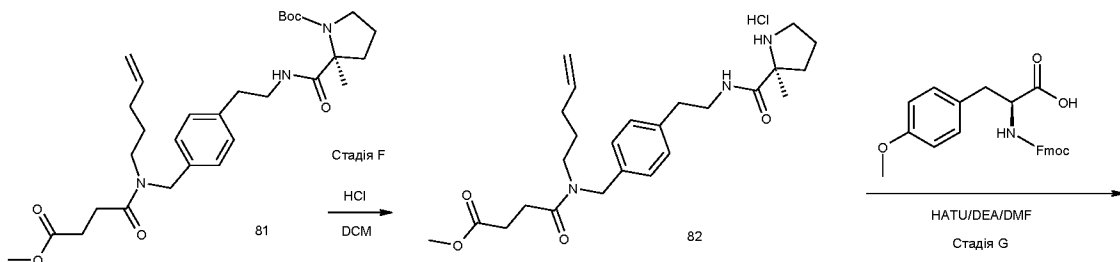
До розчину (S)-1-(((9H-флуорен-9-іл)метокси)карбоніл)-2-метилпіролідин-2-карбонової кислоти (6,16 г, 17,54 ммоль) і гідрохлориду трет-бутил 4-(2-аміноетил)бензилкарбамату (5,03 г, 17,54 ммоль) в DMF (140 мл) при 0 °С додавали HATU (8,00 г, 21,05 ммоль) і DIPEA (9,16 мл, 52,6 ммоль), а потім реакційній суміші дозволяли нагрітися до к. т. і перемішували протягом 2 год. Кінцеву суміш розбавляли водою, екстрагували EtOAc, промивали розсолем, сушили над MgSO<sub>4</sub> і фільтрували. Фільтрат концентрували і залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елюючи градієнтом 0-60 % EtOAc в гексані) з отриманням 77A. MS (ESI): m/z (M+H)<sup>+</sup> 584,5.

Стадія В: Отримання проміжної сполуки 77В  
 До розчину 77А (8,92 г, 15,28 ммоль) в DCM (40 мл) додавали 4 Н НСІ в діоксані (15,28 мл, 61,1 ммоль), і отриманий розчин перемішували при к. т. протягом ночі. Суміш концентрували з отриманням 77В. MS (ESI): m/z (M+H)<sup>+</sup> 484,3.

5 Отримання проміжної сполуки 86



10



15

Стадія А: Отримання проміжної сполуки 77  
 До розчину гідрохлориду (S)-(9H-флуорен-9-іл)метил 2-((4-(амінометил)фенетил)карбамоїл)-2-метилпіролідін-1-карбоксилату (77В) (5,87 г, 11,29 ммоль)

в DCM (140 мл) при 0 °С краплинно додавали DIEA (5,91 мл, 33,9 ммоль) і CBZ-Cl (1,726 мл, 11,85 ммоль), і отриманий розчин перемішували при 0 °С протягом 4 год. Реакційний розчин розподіляли між водою (200 мл) і DCM (200 мл), водну фазу екстрагували DCM (100 мл), об'єднану органічну фазу сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, і залишок очищали на колонці на силікагелю з використанням EtOAc/гексану як елююючих розчинників з отриманням 77. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 618,3.

5 Стадія В: Отримання проміжної сполуки 78

До розчину 77 (5,56 г, 9,00 ммоль) в THF (100 мл), воді (50 мл) і MeOH (30 мл) додавали 1 Н водний розчин NaOH (45,0 мл, 45,0 ммоль), і отриманий розчин перемішували при к. т. протягом 2 год. Леткі речовини випаровували і до водного розчину додавали діоксан (200 мл) і Vos<sub>2</sub>O (2,508 мл, 10,80 ммоль) в діоксані (20 мл). Отриману суміш перемішували при температурі від 0 °С до к. т. протягом ночі. Леткі речовини випаровували на роторному випарнику, і водну фазу екстрагували DCM (3×150 мл). Об'єднану органічну фазу сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, концентрували і залишок очищали на колонці на силікагелю з використанням суміші EtOAc/гексан як елююючих розчинників з отриманням 78. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 496,2.

10 Стадія С: Отримання проміжної сполуки 79

До розчину 78 (4,04 г, 8,15 ммоль) в MeOH (100 мл) додавали 10 % Pd/C (0,867 г, 0,815 ммоль), і отриману суміш піддавали гідрогенізації через балон з H<sub>2</sub> при к. т. протягом 1,5 год. Суміш фільтрували через целіт і фільтрат концентрували з отриманням 79. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 362,2.

15 Стадія D: Отримання проміжної сполуки 80

До розчину 79 (2,58 г, 7,14 ммоль) в DMF (15 мл) додавали пент-4-ен-1-ілу 4-метилбензолсульфонат (0,858 г, 3,57 ммоль) і K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1,973 г, 14,27 ммоль), і отриману суміш нагрівали при 80 °С протягом 6 год. Після охолодження до к. т. суміш фільтрували і фільтрат очищали обернено-фазовою MPLC з використанням ацетонітрилу (0,05 % TFA)/ води (0,05 % TFA) як елююючих розчинників з отриманням продукту у вигляді солі TFA, який далі розподіляли між DCM (100 мл) і 1 Н водним розчином NaOH (50 мл). Водну фазу далі екстрагували DCM (2×50 мл), об'єднану органічну фазу сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, і концентрували з отриманням 80. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 430,3.

20 Стадія E: Отримання проміжної сполуки 81

До розчину 80 (0,95 г, 2,211 ммоль) в DMF (15 мл) додавали 4-метокси-4-оксобутанову кислоту (0,321 г, 2,433 ммоль), HATU (1,009 г, 2,65 ммоль) і DIEA (0,927 мл, 5,31 ммоль), і отриманий розчин перемішували при к. т. протягом 1 год. Розчин розподіляли між EtOAc (200 мл) і розсоллом (100 мл), органічну фазу промивали розсоллом (2×100 мл), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, концентрували і залишок очищали на колонці на силікагелю з використанням EtOAc/гексану як елююючих розчинників з отриманням 81. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 544,2.

25 Стадія F: Отримання проміжної сполуки 82

До розчину 81 (1,165 г, 2,143 ммоль) в DCM (12 мл) додавали HCl (4 Н в діоксані) (5,36 мл, 21,43 ммоль). Отриманий розчин перемішували при к. т. протягом 3 год. і суміш концентрували з отриманням 82. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 444,2.

30 Стадія G: Отримання проміжної сполуки 83

До розчину 82 (1,003 г, 2,089 ммоль) в DMF (20 мл) додавали Fmoc-L-Tyr(Me)-OH (0,959 г, 2,298 ммоль), HATU (0,914 г, 2,403 ммоль) і DIEA (1,095 мл, 6,27 ммоль), і отриманий розчин перемішували при к. т. протягом 50 хв. Розчин розподіляли між EtOAc (200 мл) і розсоллом (100 мл), органічну фазу промивали розсоллом (2×100 мл), об'єднану органічну фазу сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, концентрували і залишок очищали на колонці на силікагелю з використанням EtOAc/гексану як елююючих розчинників з отриманням 83. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 843,4.

35 Стадія H: Отримання проміжної сполуки 84

До розчину 83 (1,63 г, 1,934 ммоль) в ацетонітрилі (10 мл) додавали піперидин (0,574 мл, 5,80 ммоль) і отриманий розчин перемішували при к. т. протягом 1 год., а потім концентрували. Залишок ресуспендували в ацетонітрилі (20 мл) і знову концентрували, цикл повторювали один раз, і залишок далі сушили у високому вакуумі з отриманням 84. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 621,3.

40 Стадія I: Отримання проміжної сполуки 85

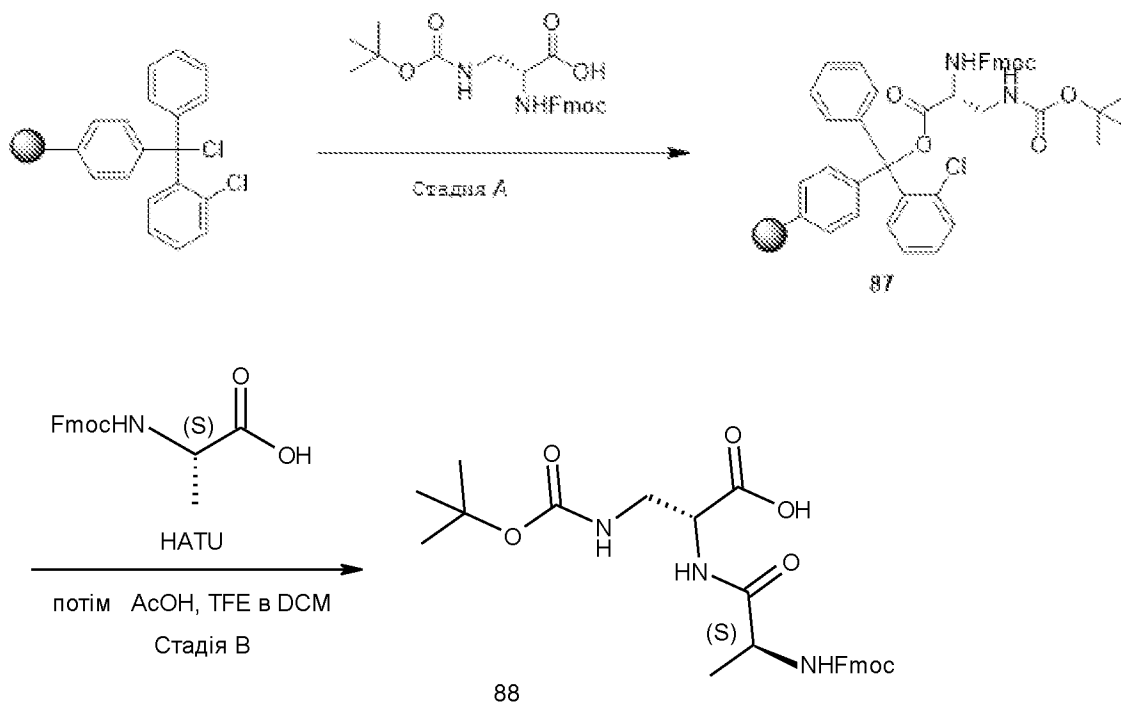
До розчину 84 (1,2 г, 1,933 ммоль) в DMF (15 мл) додавали Fmoc-L-Thr(tBu)-OH (0,922 г, 2,320 ммоль), HATU (0,919 г, 2,416 ммоль) і DIEA (0,844 мл, 4,83 ммоль), і отриманий розчин перемішували при к. т. протягом 1 год. Розчин розподіляли між EtOAc (200 мл) і розсоллом (100 мл), органічну фазу промивали розсоллом (2×100 мл), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, концентрували і залишок очищали на колонці на силікагелю з використанням EtOAc/гексану як елююючих розчинників з отриманням 85. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 1000,2.

45 Стадія J: Отримання проміжної сполуки 86

60 До розчину 85, отриманого на попередній стадії (1,94 г, 1,940 ммоль) в ацетонітрилі (20 мл)

додавали піперидин (0,960 мл, 9,70 ммоль), і отриманий розчин перемішували при к. т. протягом 30 хв., а потім концентрували. Залишок перерозчиняли в DCM/ацетонітрилі (1:1, 20 мл), потім знову концентрували, цикл повторювали один раз, і залишок сушили у високому вакуумі з отриманням 86. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 778,3.

5 Отримання проміжної сполуки 88



10

Стадія А - Синтез проміжної сполуки 87

До 2-хлор-2-хлортритил смоли 1-1,5 ммоль/г (7,0 г, 1-1,5 ммоль/г) додавали сухий DCM (45 мл). Смолу струшували протягом 20 хв., а потім додавали половину 0,17 N DIPEA в DCM (3,67 мл, 21,00 ммоль), Fmoc-D-Dap(BOC)-OH (3,28 г, 7,70 ммоль), а потім іншу частину 0,17 N DIPEA в DCM (3,67 мл, 21,00 ммоль). Смолу струшували при кімнатній температурі протягом ночі, обполіскували DCM і сушили. Потім смолу гасили 5 % DIPEA і 10 % MeOH в DCM (80 мл), струшували протягом 2 год., потім фільтрували, обполіскуючи DCM (3x), DMF (3x) і DCM (3x), а потім сушили у вакуумі з отриманням смоли 87, яку використовували як є на наступній стадії.

15

Стадія В - Синтез проміжної сполуки 88

Зі смоли 87 (4,5 г, 2,475 ммоль) вручну видаляли захисну групу з використанням 5 % піперидину в DMF (30 мл) протягом 30 хв., фільтрували, повторно обробляли 5 % піперидином в DMF (30 мл) протягом додаткових 30 хв., фільтрували, а потім обполіскували DMF і DCM і сушили. Потім до смоли вручну приєднували Fmoc-Ala-OH (1,541 г, 4,95 ммоль), HATU (1,694 г, 4,46 ммоль) і DIPEA (1,729 мл, 9,90 ммоль) в DMF (30 мл) протягом 2 год., потім фільтрували, обполіскуючи DMF і DCM, а потім сушили. Потім смолу обробляли 10 % AcOH і TFE в DCM (60 мл) протягом 90 хв., фільтрували і фільтрат концентрували з отриманням 88. LC/MS: [2M+H]<sup>+</sup> = 995,01.

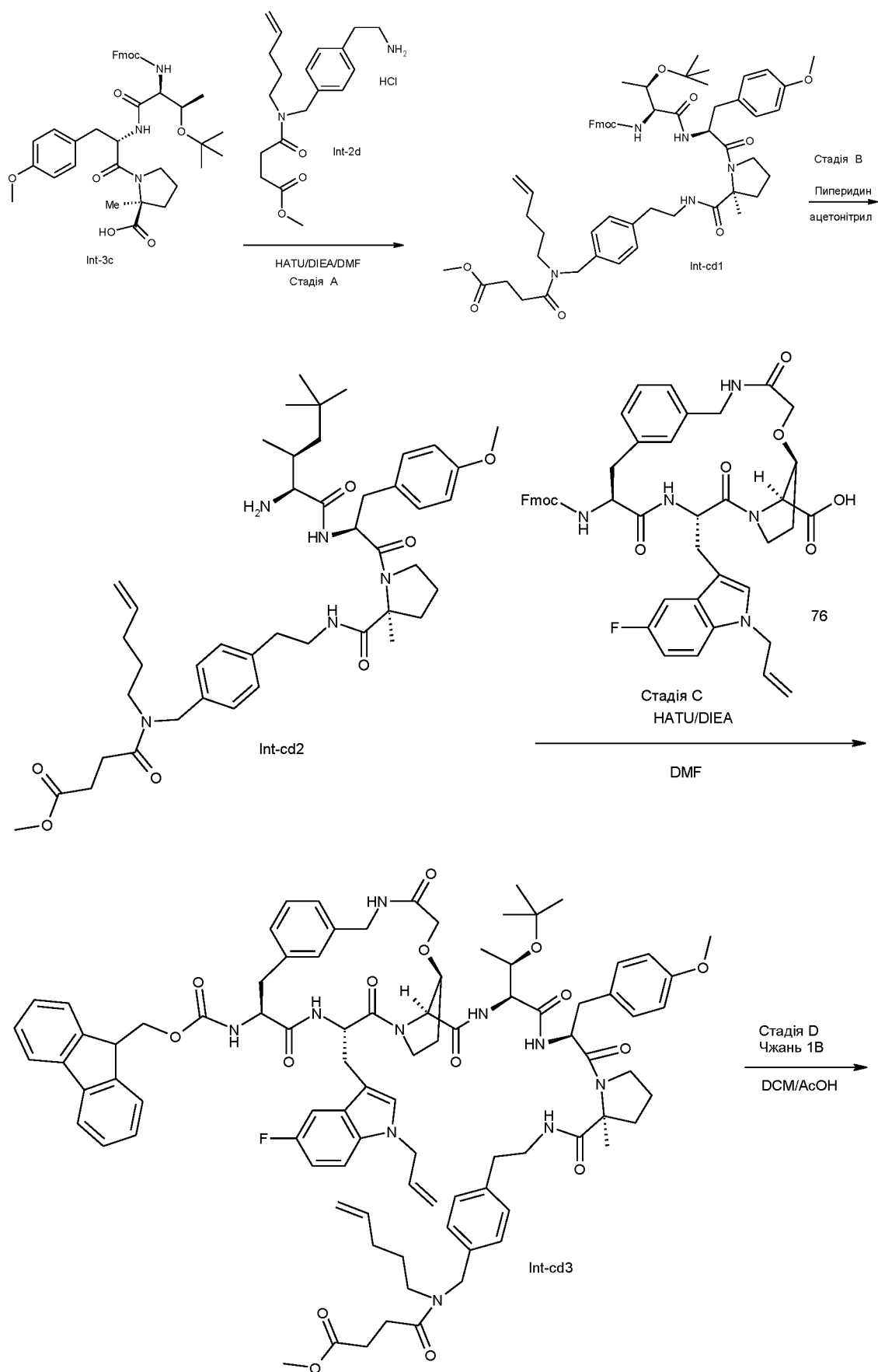
20

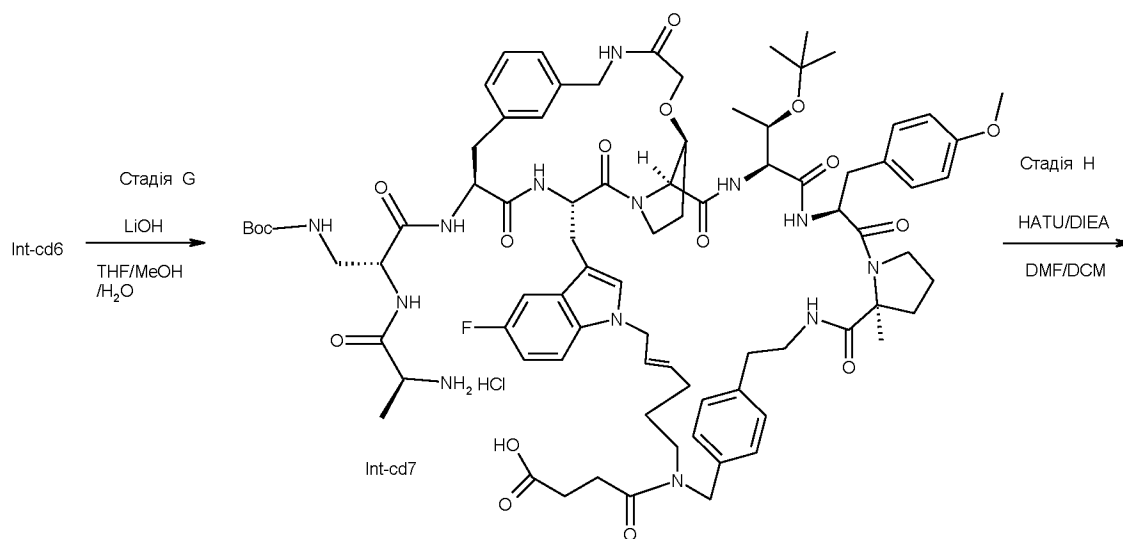
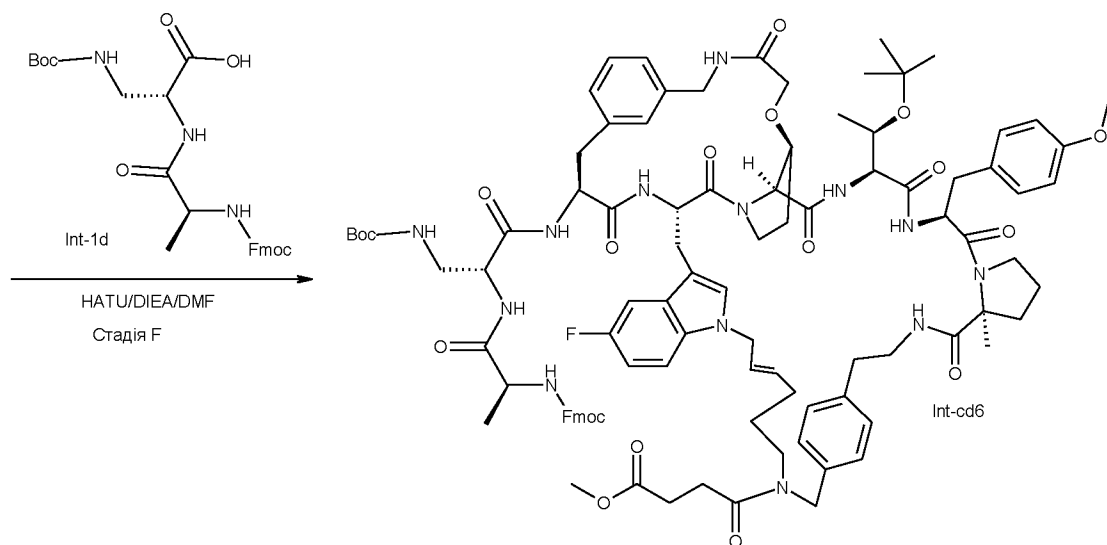
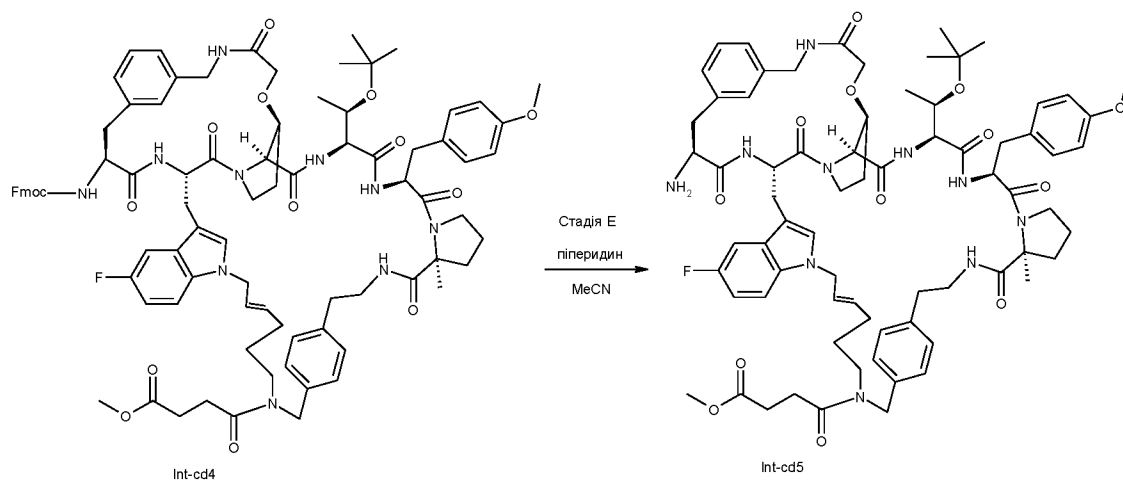
25

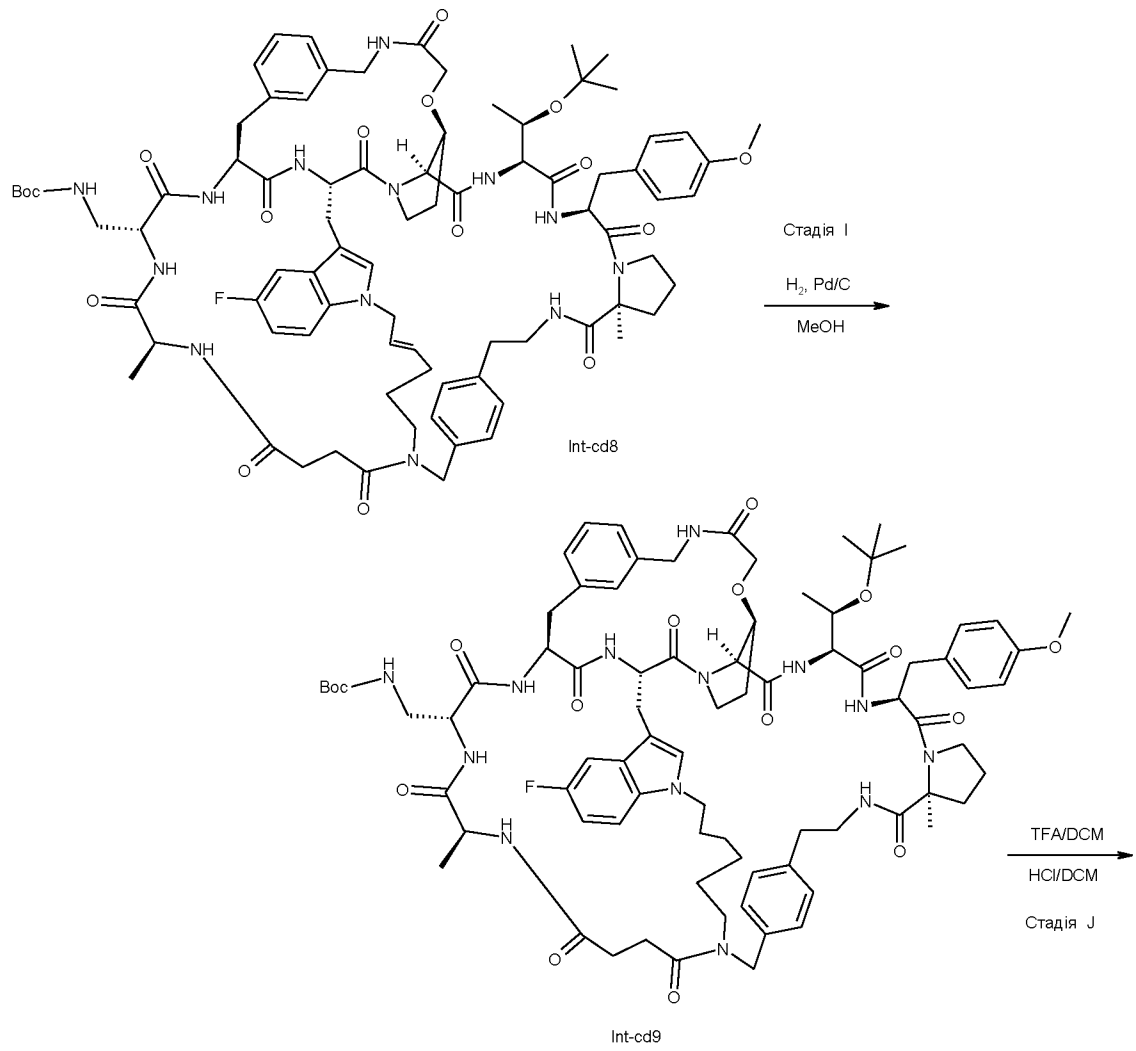
Приклад 1А - Альтернативний синтез Ex-01 і отримання Ex-25 з нього:

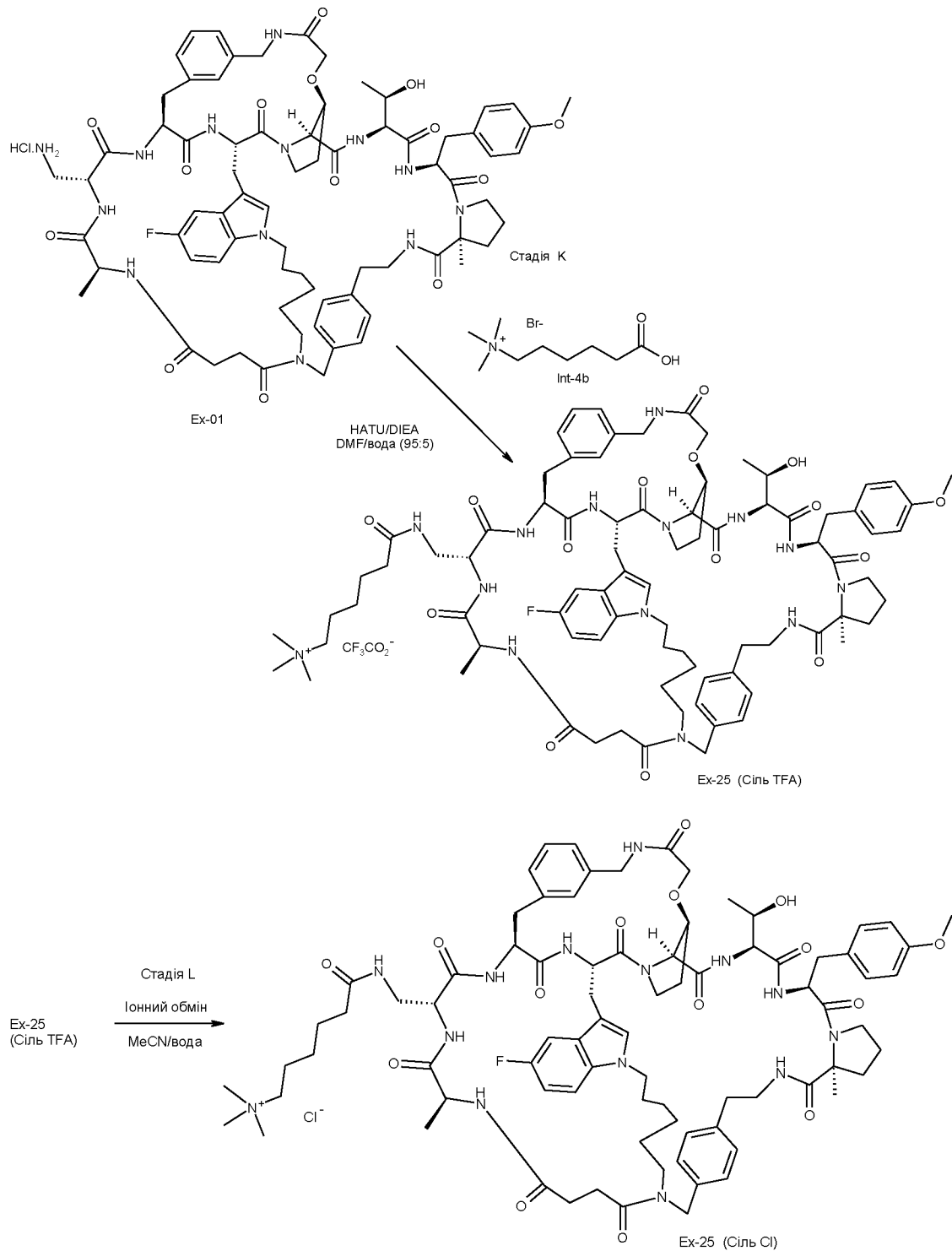
Сполуку Ex-01, вказану вище, можна отримувати альтернативним способом, і з Ex-01 можна отримувати сполуку Ex-25, відповідно до наступної схеми:

30









5 Стадія А - Синтез проміжної сполуки Int-cd1

До розчину Int-3с (синтез з проміжної сполуки 107, описаного нижче) (7,09 г, 10,33 ммоль) в DMF (45 мл) при 0 °С додавали Int-2d (3,63 г, 9,84 ммоль, отримання описане нижче) і HATU (3,74 г, 9,84 ммоль), а потім DIPEA в DMF (6,87 мл, 39,4 ммоль), і суміші дозволяли нагрітися до кімнатної температури і перемішували протягом 1 год. Суміш гасили при 0 °С розсолем і екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні фракції промивали розсолем, сушили над MgSO<sub>4</sub>, фільтрували і концентрували у вакуумі. Залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елюючи градієнтом від 1 % до 80 % етилацетату в петролейному ефірі) з отриманням Int-cd1. LC/MS: [M+1]<sup>+</sup> = 1000,5.

10 Стадія В - Синтез проміжної сполуки Int-cd2

15 До розчину Int-cd1 (3,48 г, 3,48 ммоль) в ацетонітрилі (50 мл) додавали піперидин (1,72 мл,

17,40 ммоль), і отриманий розчин перемішували при к. т. протягом 3 год. Суміш концентрували, залишок перерозчиняли в DCM/ацетонітрилі (1:1, 20 мл), знову концентрували, і залишок сушили у вакуумі з отриманням Int-cd2 як неочищений продукт. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>=778,5.

Стадія С - Синтез проміжної сполуки Int-cd3

5 До розчину 76 (отримання представлено в прикладі 1, вище) (2,45 г, 3,01 ммоль) і Int-cd2 (2,69 г, 3,46 ммоль) в DMF (70 мл) при 0 °C додавали HATU (1,37 г, 3,61 ммоль), а потім DIEA (1,05 мл, 6,02 ммоль). Отриманий розчин перемішували при к. т. протягом 50 хв., потім розподіляли між EtOAc (500 мл) і розсолем (200 мл). Органічну фазу промивали розсолем (2×200 мл), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, концентрували і залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елююючи градієнтом 1 %-5 % MeOH в DCM) з отриманням Int-cd3. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>=1574,7.

Стадія D - Синтез проміжної сполуки Int-cd4

15 Розчин Int-cd3 (1,91 г, 1,21 ммоль) в DCM (1500 мл) і оцтовій кислоті (30 мл) кімнатної температури барботували з N<sub>2</sub> протягом 30 хв., а потім додавали каталізатор Чжань-1В (0,445 г, 0,607 ммоль). Отриману суміш далі барботували при кімнатній температурі N<sub>2</sub> протягом 30 хв., а потім нагрівали при 55 °C протягом 5 год. Після охолодження до к. т. суміш фільтрували через целіт, фільтрат концентрували, і залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елююючи градієнтом 1 %-5 % MeOH в DCM) з отриманням Int-cd4 (як суміш цис- і транс-олефінів). LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>=1546,8.

20 Стадія E - Синтез проміжної сполуки Int-cd5

До розчину Int-cd4 (суміш цис- і транс-олефінів) (5,49 г, 3,55 ммоль) в DCM (20 мл) і ацетонітрилі (50 мл) додавали піперидин (1,76 мл, 17,8 ммоль). Отриманий розчин перемішували при к. т. протягом 2 год., потім концентрували і залишок суспендували в ацетонітрилі (20 мл) і знову концентрували. Потім залишок сушили у вакуумі з отриманням Int-cd5 (як суміш цис- і транс-олефінів) у вигляді неочищеної суміші. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>=1323,8.

Стадія F - Синтез проміжної сполуки Int-cd6

30 До розчину Int-cd5 (суміш цис- і транс-олефінів) (4,70 г, 3,55 ммоль) і Int-1d (2,21 г, 4,44 ммоль, отримання описане нижче) в DMF (70 мл) при 0 °C додавали HATU (1,76 г, 4,62 ммоль) і DIEA (1,55 мл, 8,88 ммоль). Отриманий розчин нагрівали до кімнатної температури і перемішували протягом 1 год., а потім розподіляли між EtOAc (300 мл) і розсолем (200 мл). Водну фазу екстрагували EtOAc (200 мл), фазу EtOAc об'єднували і промивали розсолем (3×200 мл), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, концентрували і залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елююючи градієнтом 1 %-5 % MeOH в DCM) з отриманням Int-cd6 (як суміш цис- і транс-олефінів). LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>= 1802,8.

35 Стадія G - Синтез проміжної сполуки Int-cd7

40 До розчину Int-cd6 (як суміш цис- і транс-олефінів) (5,41 г, 3,00 ммоль) в THF (100 мл), MeOH (30 мл) і воді (30 мл) при 0 °C краплинно додавали 1 N водний розчин LiOH (24,0 мл, 24,0 ммоль), і отриманий розчин перемішували при 0 °C протягом 3 год. Суміш нейтралізували при 0 °C додаванням 1 N HCl, леткі речовини випаровували, і водний шар нейтралізували до pH 5 за допомогою 1 N HCl. Потім суміш заморожували і ліофілізували, і залишок очищали колонковою хроматографією на C18 (елююючи градієнтом ацетонітрил (0,05 % TFA)/вода (0,05 % TFA)) з отриманням Int-cd7 (як суміш цис- і транс-олефінів) в формі солі TFA. До отриманим таким чином Int-cd7, сіль TFA, (як суміш цис- і транс-олефінів) в ацетонітрилі (750 мл) і воді (450 мл) краплинно додавали при 0 °C 0,1 N водний розчин HCl (150 мл, 15,00 ммоль), потім отриманий розчин перемішували при 0 °C протягом 5 хв., заморожували і ліофілізували з отриманням Int-cd7 в формі солі HCl (як суміш цис- і транс-олефінів). LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>=1566,6.

Стадія H - Синтез проміжної сполуки Int-cd8

50 До розчину Int-cd7, сіль HCl, отриманого на попередній стадії, (1,01 г, 0,630 ммоль) в DMF (50 мл) і DCM (1300 мл) додавали DIEA (0,330 мл, 1,890 ммоль) і HATU (0,287 г, 0,756 ммоль). Отриманий розчин перемішували при к. т. протягом 2 год., леткі речовини випаровували, і залишок розподіляли між EtOAc (400 мл) і розсолем (200 мл). Водну фазу екстрагували EtOAc (300 мл), об'єднані органічні шари промивали розсолем (3×100 мл), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, концентрували, і залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елююючи градієнтом 1 %-10 % MeOH в DCM) з отриманням Int-cd8 (як суміш цис- і транс-олефінів). LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>=1548,8.

55 Стадія I - Синтез проміжної сполуки Int-cd9

60 До розчину Int-cd8, отриманого на попередній стадії (1,22 г, 0,788 ммоль) в MeOH (100 мл) додавали 10 % Pd/C (0,645 г, 0,607 ммоль), і отриману суміш гідрогенізували при температурі навколишнього середовища з використанням балона з H<sub>2</sub> протягом 7 годин. Через 7 годин реакційну суміш фільтрували через целіт, фільтрат концентрували, і залишок очищали

колонковою хроматографією на силікагелю (елюючи градієнтом 1 %-10 % MeOH в DCM) з отриманням Int-cd9. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>=1550,9.

Стадія J - Синтез сполуки Ex-01 в формі солі HCl

5 До розчину Int-cd9 (1,14 г, 0,735 ммоль) в DCM (6 мл) додавали TFA (12 мл, 156 ммоль), і отриманий розчин перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 30 хв. Потім суміш концентрували і залишок розчиняли в DCM (20 мл) і толуол (20 мл). Отриману суміш концентрували, і залишок перерозчиняли в DCM (20 мл) і обробляли HCl (4 Н в діоксані) (0,919 мл, 3,68 ммоль). Отриману суміш концентрували з отриманням продукту у вигляді твердої речовини. Цей твердий продукт перерозчиняли в ацетонітрилі (200 мл) і воді (100 мл), і до описаного вище розчину при 0 °С краплинно додавали 1 Н водний розчин HCl (3,68 мл, 3,68 ммоль). Отриманий розчин перемішували при 0 °С протягом 2 хв., потім заморожували і ліофілізували з отриманням Ex-01 в формі солі HCl. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>=1394,7.

Стадія K - Синтез сполуки прикладу Ex-25 в формі солі TFA

15 До розчину Ex-01, сіль HCl (870 мг, 0,608 ммоль) і Int-4b (170 мг, 0,669 ммоль, отримання описане нижче) в DMF (1,2 мл) і воді (0,6 мл) додавали HATU (254 мг, 0,669 ммоль) і DIEA (425 мкл, 2,433 ммоль). Отриманий розчин перемішували при к. т. протягом 1 год., а потім гасили додаванням 1,2 мл води. Суміш фільтрували і фільтрат очищали колонковою хроматографією на C18 (елюючи градієнтом ацетонітрил (0,05 % TFA)/вода (0,05 % TFA)) з отриманням Ex-25 в формі солі TFA. LC/MS: M<sup>+</sup>= 1550,6.

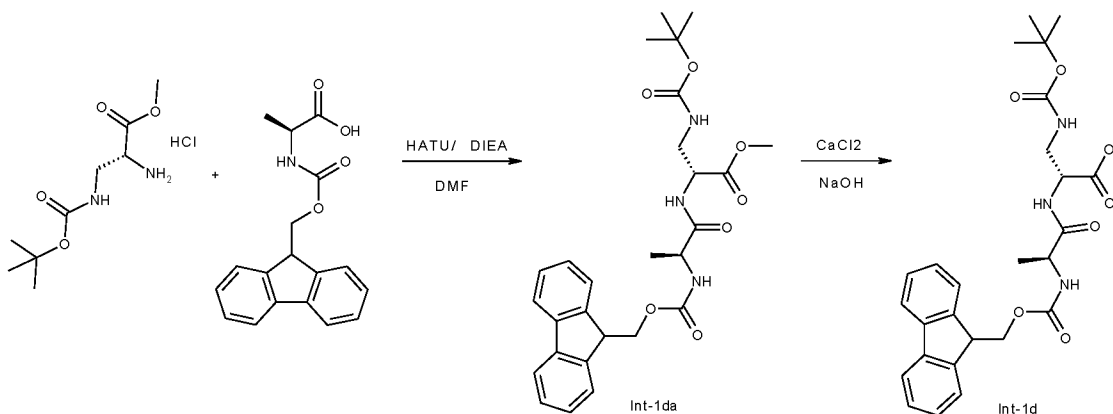
20 Стадія L - Отримання сполуки прикладу Ex-25 в формі солі Cl

Дві колонки наповнювали 73,6 г іонообмінної смоли AG MP-1 в формі хлориду (каталожний номер # 141-1841 BIO-RAD), всього по 36,8 г смоли в кожній колонці. Кожну колонку промивали водою (2×80 мл), а потім 20 % ацетонітрилом у воді (2×100 мл). У дві колонки зі смолою рівномірно завантажували розчин Ex-25, сіль TFA, отриманого на попередній стадії (737 мг, 0,443 ммоль) в 20 % ацетонітрилі у воді (100 мл), потім в кожній колонці проводили елювання 20 % ацетонітрилом у воді (130 мл). Елюенти об'єднуювали, заморожували і ліофілізували з отриманням Ex-25 в формі хлориду. LC/MS: M<sup>+</sup> = 1550,6.

Нижче йде опис ряду проміжних сполук, які ефективно використовувати в синтезі Ex-01 і Ex-25, описаному вище.

30 Отримання проміжної сполуки Int-1d

Проміжну сполуку Int-1d отримували з вихідних матеріалів за наступною схемою:



35 Стадія A - Синтез Int-1da

До розчину D-Dap(Вос)-OMe, сіль HCl (4,10 г, 16,10 ммоль), Fmoc-Ala-OH (5,01 г, 16,10 ммоль) і HATU (6,43 г, 16,90 ммоль) в DMF (40 мл) при 0 °С додавали DIPEA (7,03 мл, 40,2 ммоль), і суміш перемішували при 0 °С протягом 2 год., а потім тримали в холодильнику протягом ночі. Суміш гасили при кімнатній температурі водою і екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні фракції промивали половинним розсоллом, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фільтрували і концентрували у вакуумі. Залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елюючи градієнтом гексан/EtOAc) з отриманням Int-1da. LC/MS: [M+H]<sup>+</sup>= 512,3.

Стадія B - Синтез Int-1d

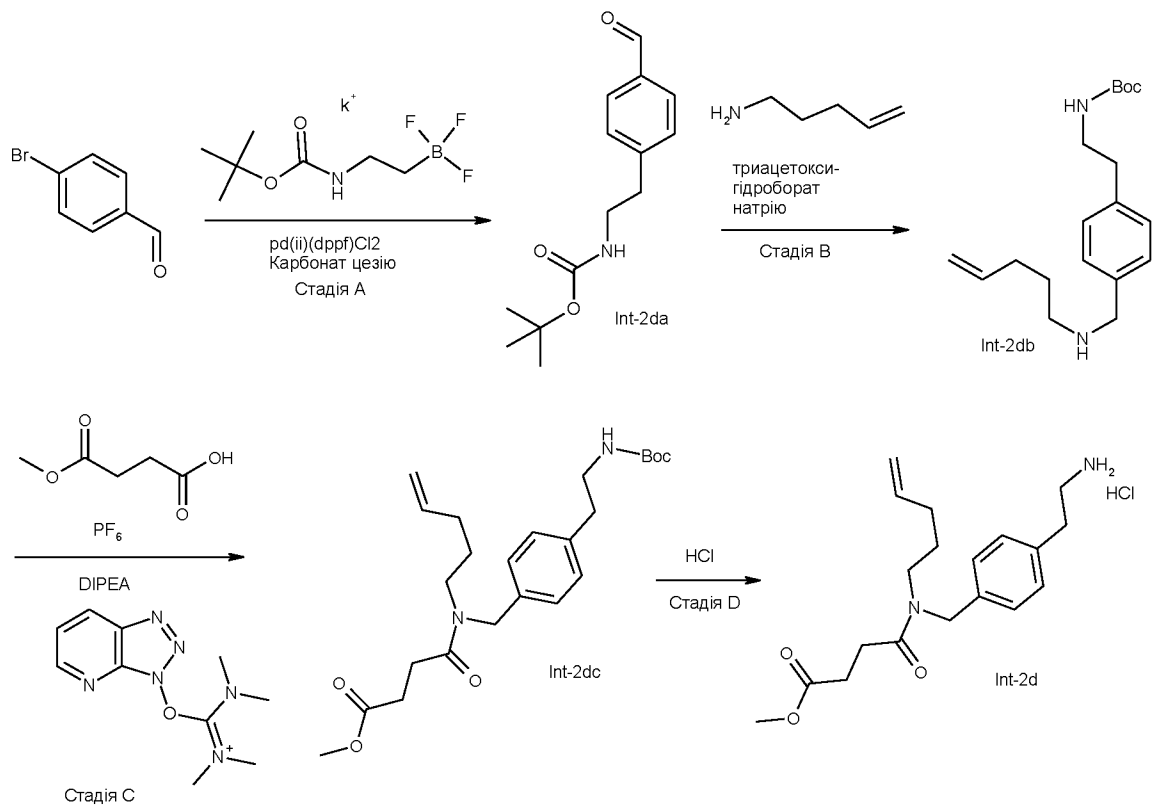
45 До розчину Int-1da (8,03 г, 15,70 ммоль) і 0,8 Н хлориду кальцію (19,62 мл, 15,70 ммоль) у воді (40 мл) і 2-пропанолі (120 мл) при кімнатній температурі додавали твердий гідроксид натрію (0,691 г, 17,27 ммоль). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Суміш концентрували, підкислювали 0,5 Н до pH ~2 (~40 мл), екстрагували три рази EtOAc, промивали розсоллом, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і концентрували. Залишок очищали колонковою

хроматографією на C18 (елюючи градієнтом ацетонітрил/вода+0,1 % TFA) з отриманням Int-1d. LC/MS:  $[M+H]^+ = 498,25$ .

Отримання проміжної сполуки Int-1d описане вище для отримання Ex-01 і Ex-25. Ця частина молекули може бути описана як "лінкер", який циклізує нижче пептидне кільце у вище пептидне кільце. Замість Int-1d можна використовувати інший схожий "лінкер" шляхом варіювання спейсеру, використаного для синтезу, включаючи, але не обмежуючись ними, використання Dар і D-Ala.

Отримання проміжної сполуки Int-2d

Проміжну сполуку Int-2d, придатну як "лінкер" для отримання сполук за винаходом, отримували за наступною схемою:



15

Стадія А - Синтез Int-2da

Розчин 4-бромбензалдегіду (15,00 г, 81 ммоль), трет-бутил N-[2-(трифторборануїдил)етил]карбамат калію (20,97 г, 84 ммоль), карбонат цезію (52,8 г, 162 ммоль) і комплекс дихлорид 1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен-паладію(II)-дихлорметан (Pd(II)(dppf)Cl<sub>2</sub>, 1,99 г, 2,43 ммоль) в дегазованому толуолі (250 мл) і воді (85 мл) нагрівали до 76 °C і перемішували протягом ночі. Суміш гасили при кімнатній температурі напівнасиченим водним хлоридом амонію і екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні фракції промивали розсоллом, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фільтрували і концентрували у вакуумі. Залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елюючи градієнтом DCM/EtOAc) з отриманням Int-2da. LC/MS:  $(M-56+1)^+ = 193,0$ .

25

Стадія В - Синтез Int-2db

До розчину Int-2da (12,9 г, 51,7 ммоль) і пент-4-ен-1-аміну (6,61 г, 78 ммоль) в DCM (120 мл) і AcOH (3 мл) при кімнатній температурі на водяній бані порційно додавали триацетоксигідроборат натрію (32,9 г, 155 ммоль) і суміш перемішували протягом 30 хв. Реакційну суміш повільно гасили при 0 °C 3 мл води, переливали в 1 N NaOH (500 мл), перемішували протягом 15 хв., а потім екстрагували DCM, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і концентрували. Залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елюючи градієнтом DCM/MeOH) з отриманням Int-2db. LC/MS:  $(M+1)^+ = 319,2$ .

30

Стадія С - Синтез Int-2dc

До розчину Int-2db (8,48 г, 20,77 ммоль) і 4-метокси-4-оксобутанової кислоти (3,02 г, 22,85 ммоль) в DMF (40 мл) додавали HATU (9,48 г, 24,92 ммоль) і DIPEA (8,71 мл, 49,8 ммоль). Отриманий розчин перемішували при кімнатній температурі протягом 1 години, потім гасили

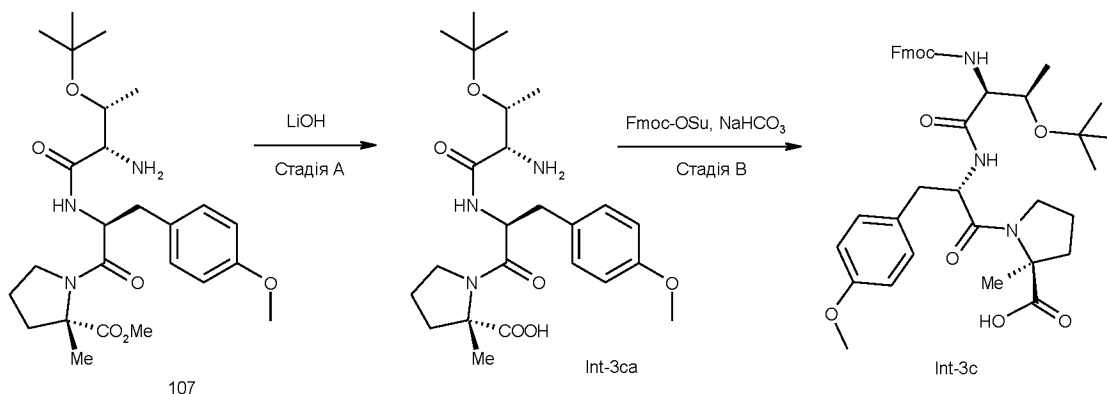
35

насиченим водним розчином  $\text{NaHCO}_3$  (10 мл). Суміш розподіляли між  $\text{EtOAc}$  (500 мл) і насиченим водним розчином  $\text{NaHCO}_3$  (200 мл), органічну фазу промивали розсоллом ( $3 \times 200$  мл), сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , концентрували і залишок очищали на колонці на силікагелю (елюючи градієнтом гексан/ $\text{EtOAc}$ ) з отриманням Int-2dc. LC/MS:  $(\text{M}+1)^+ = 433,4$ .

5 Стадія D - Синтез Int-2d

До розчину Int-2dc (2,9 г, 6,70 ммоль) в  $\text{DCM}$  (15 мл) додавали 4 М  $\text{HCl}$  в діоксані (10 мл) при кімнатній температурі. Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 1 год. Суміш концентрували при зниженому тиску з отриманням гідрохлориду метил 4-((4-(2-аміноетил)бензил)(пент-4-ен-1-іл)аміно)-4-оксобутаноату (Int-2d). LC/MS  $[\text{M}-\text{HCl}+\text{H}]^+ = 333,3$ .

10 Отримання Int-3c з 107, використаного для синтезу Ex-01 і Ex-25, описаного вище  
Проміжну сполуку Int-3c отримували за наступною схемою:



15 Стадія A - Синтез Int-3ca

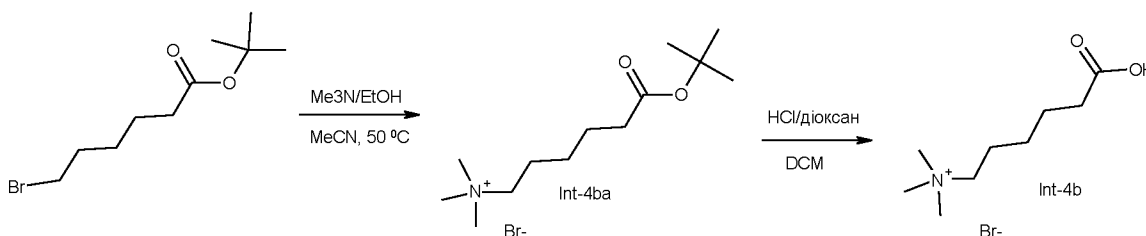
До розчину 107 (отримання якого описане в описі синтезу 109 і яке далі використовувалося для проміжної сполуки 116, яку використовували в синтезі Ex-53, Ex-54 і Ex-55 в прикладі 3 нижче) (10,34 г, 21,65 ммоль) в  $\text{THF}$  (100 мл) при кімнатній температурі, додавали 2 Н моногідрат гідроксиду літію (43,3 мл, 87 ммоль) і суміш нагрівали до  $45^\circ\text{C}$  і перемішували протягом ночі з отриманням Int-3ca як неочищений розчин. LC/MS:  $(\text{M}+1)^+ = 464,3$ . Реакційну суміш охолоджували до  $0^\circ\text{C}$  і обробляли 1 М  $\text{HCl}$  (40 мл). Суміш безпосередньо використовували для наступної стадії.

20 Стадія B - Синтез Int-3c

До неочищеного Int-3ca, отриманого на попередній стадії, додавали  $\text{NaHCO}_3$  (1,725 г, 20,54 ммоль) і  $\text{Fmoc-OSu}$  (3,81 г, 11,30 ммоль) при  $0^\circ\text{C}$ . Реакційну суміш перемішували при  $0^\circ\text{C}$  протягом 2 год., обробляли 1 М  $\text{HCl}$  (20,5 мл) і екстрагували етилацетатом ( $2 \times 200$  мл). Об'єднані органічні шари промивали розсоллом ( $2 \times 100$  мл) і сушили над безводним сульфатом натрію, фільтрували і концентрували при зниженому тиску. Залишок очищали за допомогою колонкової хроматографії на силікагелю, елюючи градієнтом 2 %-5 %  $\text{MeOH}$  в  $\text{DCM}$ , з отриманням Int-3c. LC/MS:  $(\text{M}+1)^+ = 686,4$ .

25 Отримання проміжної сполуки Int-4b

Проміжну сполуку Int-4b отримували за наступною схемою:



35 Стадія A - Синтез Int-4ba з трет-бутил-3-(2-гідроксіетокси)пропаноату

До розчину трет-бутил 3-(2-гідроксіетокси)пропаноату (500,0 мг, 2,63 ммоль) в  $\text{DCM}$  (2 мл) додавали  $\text{CBr}_4$  (1395 мг, 4,21 ммоль) і  $\text{PPh}_3$  (965 мг, 3,68 ммоль) при  $0^\circ\text{C}$ . Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 2 год. Отриману суміш концентрували при зниженому тиску і залишок очищали за допомогою колонкової хроматографії на силікагелю, елюючи градієнтом 1 %-15 % етилацетату в петролейному ефірі. Фракції, що містили бажаний продукт, об'єднували і концентрували з отриманням трет-бутил 6-бромгексаноату. Отриманим таким

чином розчин трет-бутил 6-бромгексаноату (5 г, 19,91 ммоль) в ацетонітрилі (10 мл) обробляли триметиламіном (13,56 мл, 59,7 ммоль) і отриманий розчин нагрівали при 50 °С протягом ночі. Розчин концентрували з отриманням Int-4ba. LC/MS: M+= 230,3.

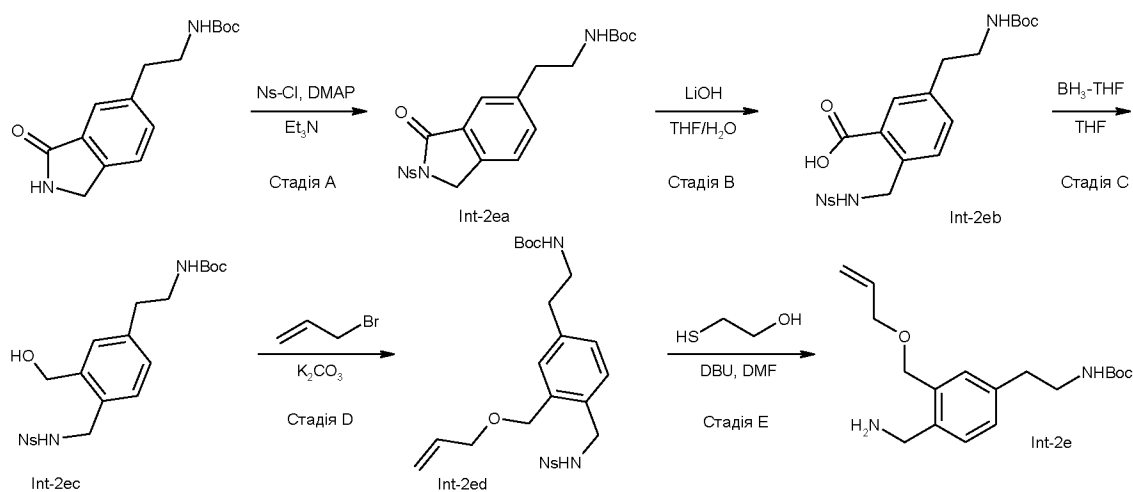
Стадія В - Синтез Int-4b

5 До розчину Int-4ba (6,8 г, 21,92 ммоль) в DCM (6 мл) додавали 4 Н НСІ в діоксані (27,4 мл, 110 ммоль), і отриманий розчин перемішували при к. т. протягом 3 год. Потім суміш концентрували з отриманням Int-4b. LC/MS: M+= 174,3.

Отримання проміжної сполуки Int-2d описане вище для отримання Ex-01 і Ex-25. Ця частина молекули може бути описана як "лінкер", який циклізує нижче пептидне кільце, що має замісники R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> і R<sup>8</sup>. Замість Int-2d можна використовувати інший схожий "лінкер". Нижче наведений опис інших "лінкерів", які можуть бути використані для отримання сполук прикладів за винаходом, описаних в даному описі.

Отримання проміжної сполуки Int-2e

15 Проміжну сполуку Int-2e, придатну як "лінкер" для отримання сполук за винаходом, отримували за наступною схемою:



20 Стадія А - Синтез проміжної сполуки Int-2ea

До розчину трет-бутил (2-(3-оксоізоіндолін-5-іл)етил)карбамату (1,60 г, 5,79 ммоль) в DCE (20 мл) додавали NsCl (1,93 г, 8,69 ммоль), триетиламін (1,76 г, 17,4 ммоль) і DMAP (0,141 г, 1,16 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 14 год. при 40 °С. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і концентрували при зниженому тиску. Залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елюючи 1 %-40 % градієнтом EtOAc в PE) з отриманням Int-2ea. LC/MS: (M+Na)<sup>+</sup>= 484,4.

Стадія В - Синтез проміжної сполуки Int-2eb

30 До розчину Int-2ea (11,3 г, 24,5 ммоль) в THF (100 мл) і води (100 мл) додавали LiOH (1,76 г, 73,5 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 5 год. при 25 °С, потім отриманий розчин доводили до рН 4~5 за допомогою НСІ (1 М). Розчин екстрагували EtOAc і об'єднані органічні шари промивали розсолем, сушили над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрували. Фільтрат концентрували при зниженому тиску і залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елюючи градієнтом 1 %-6 % MeOH в DCM) з отриманням Int-2eb. LC/MS: (M+Na)<sup>+</sup>= 502,2.

35 Стадія С - Синтез проміжної сполуки Int-2ec

40 До розчину Int-2eb (1,70 г, 3,55 ммоль) в THF (8 мл) додавали боргідрид (0,147 г, 10,6 ммоль) при 0 °С. Реакційну суміш перемішували протягом 14 год. при 25 °С, потім отриманий розчин концентрували при зниженому тиску. Залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елюючи градієнтом 1 %-50 % EtOAc в PE) з отриманням Int-2ec. LC/MS: (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>= 483,2.

Стадія D - Синтез проміжної сполуки Int-2ed

45 До розчину Int-2ec (4,50 г, 9,67 ммоль) в DMF (150 мл) додавали K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2,01 г, 14,5 ммоль) і 3-бромпроп-1-ен (1,41 г, 11,6 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 5 год. при кімнатній температурі, потім розбавляли водою і екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні шари промивали розсолем, сушили над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрували. Фільтрат концентрували при зниженому тиску і залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елюючи

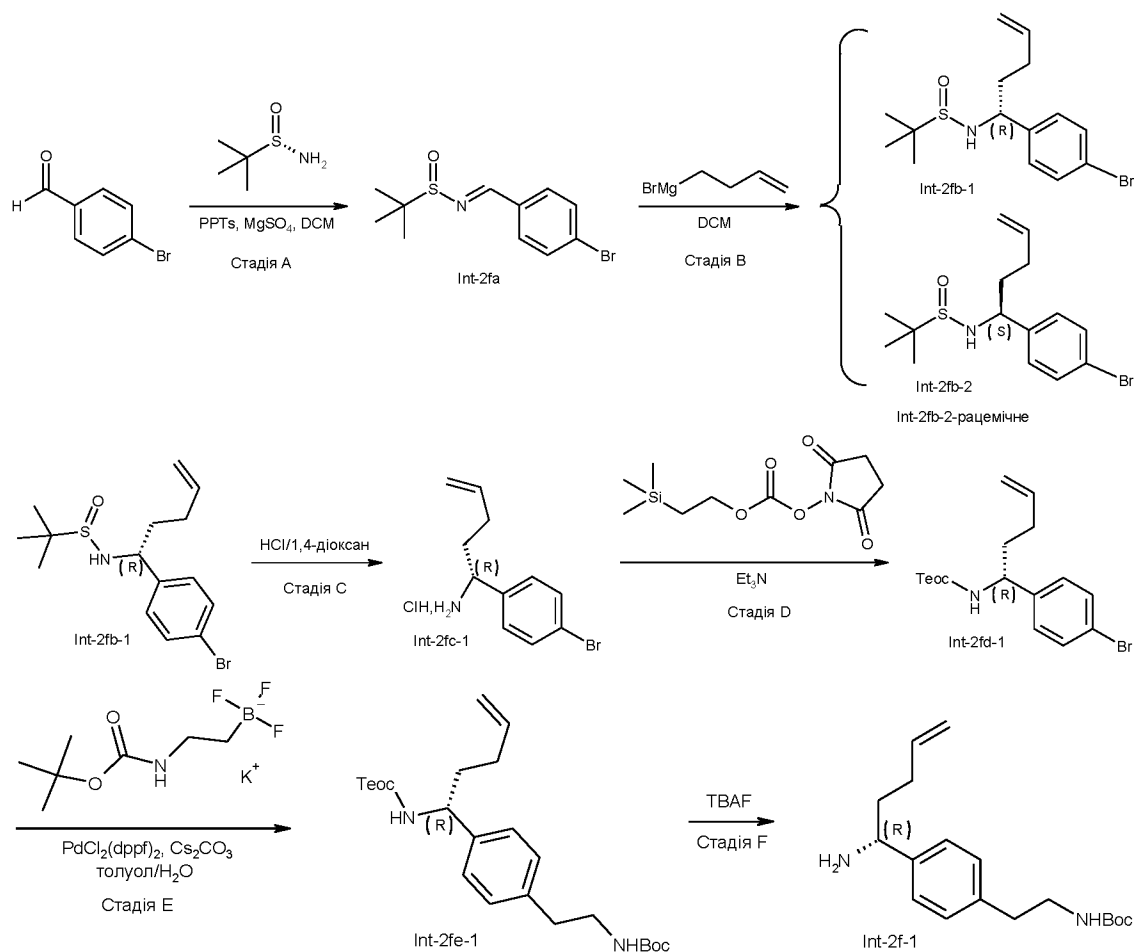
градієнтом 1 %-50 % EtOAc в PE) з отриманням Int-2ed. LC/MS: (M+H)<sup>+</sup>:= 506,2.

Стадія Е - Синтез проміжної сполуки Int-2e

До розчину Int-2ed (4,50 г, 8,90 ммоль) в DMF (35 мл) додавали DBU (1,35 г, 8,90 ммоль) і 2-меркаптоетанол (2,08 г, 26,7 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 14 год. при кімнатній температурі, а потім очищали колонковою хроматографією на C18 (колонок: 330 г; рухома фаза А: вода/0,05 % TFA, рухома фаза В: АСN; швидкість потоку: 85 мл/хв.; градієнт: від 10 % В до 20 % В протягом 15 хв., від 20 % В до 45 % В протягом 15 хв., детектор: УФ 210 нм; Rt=20 хв.) з отриманням Int-2e. LC/MS: (M+H)<sup>+</sup>:= 321,2. <sup>1</sup>H-ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,21-7,13 (м, 2H), 7,10-7,01 (м, 1H), 5,96-5,79 (м, 1H), 5,30-5,09 (м, 2H), 4,58 (с, 2H), 3,84 (с, 2H), 3,43-3,19 (м, 4H), 2,76 (т, J=7,1 Гц, 2H), 1,41 (с, 9H).

Отримання проміжної сполуки Int-2f-1

Проміжну сполуку Int-2f-1, придатну як "лінкер" для отримання сполук за винаходом, отримували відповідно до наступної схеми:



Стадія А - Синтез проміжної сполуки Int-2fa

До розчину 4-бромбензальдегіду (20,0 г, 108 ммоль), (S)-2-метилпропан-2-сульфінамід (12,5 г, 103 ммоль), MgSO<sub>4</sub> (130 г, 1081 ммоль) в DCM (225 мл) додавали піридин 4-метилбензолсульфонат (1,35 г, 5,40 ммоль) під захистом азотом. Цю суміш перемішували при 25 °С протягом 72 год., потім отриманий розчин фільтрували, і фільтрат концентрували при зниженому тиску. Отриманий залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елюючи градієнтом 1 %-15 % EtOAc в PE) з отриманням Int-2fa. LC/MS: (M+H)<sup>+</sup>:= 287,9, 289,9.

Стадія В - Синтез проміжної сполуки Int-2fb (рацемат) і розділення на енантіомери Int-2fb-1 і Int-2fb-2

До розчину Int-2fa (20,0 г, 65,9 ммоль) в сухому DCM (200 мл) повільно додавали бромід бут-3-ен-1-илмагнію (15,7 г, 99 ммоль) при -48 °С під захистом азотом. Суміш перемішували при -48 °С протягом 2 год., потім гасили насиченим водним розчином NH<sub>4</sub>Cl (400 мл) і екстрагували DCM. Об'єднані органічні шари промивали розсолон, сушили над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрували. Фільтрат концентрували при зниженому тиску і отриманий залишок (що містить

рацемічну суміш Int-2fb) очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елюючи градієнтом 1 %-35 % EtOAc в PE) з отриманням Int-2fb-1 і Int-2fb-2. LC/MS: (M+H)<sup>+</sup>= 344,0, 346,0.

Стадія С - Синтез проміжної сполуки Int-2fc-1

До розчину HCl (100 мл, 4 Н в 1,4-діоксані) при кімнатній температурі додавали Int-2fb-1 (17,0 г, 46,9 ммоль). Реакційний розчин перемішували протягом 1 год., а потім концентрували при зниженому тиску з отриманням Int-2fc-1. LC/MS: (M+H-Cl)<sup>+</sup>= 240,0, 242,0.

Стадія D - Синтез проміжної сполуки Int-2fd-1

До розчину Int-2fc-1 (8,20 г, 28,2 ммоль) і Теос-OSu (8,03 г, 31,0 ммоль) в 1,4-діоксані (200 мл) додавали TEA (8,55 г, 84 ммоль) при 25 °С. Цю суміш перемішували протягом 2 годин, потім гасили водою і екстрагували петролейним ефіром (PE). Об'єднані органічні шари концентрували при зниженому тиску і залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елюючи градієнтом 1 %-10 % EtOAc в PE) з отриманням Int-2fd-1. LC/MS: (M+Na+CH<sub>3</sub>CN)<sup>+</sup>= 447,3, 449,3.

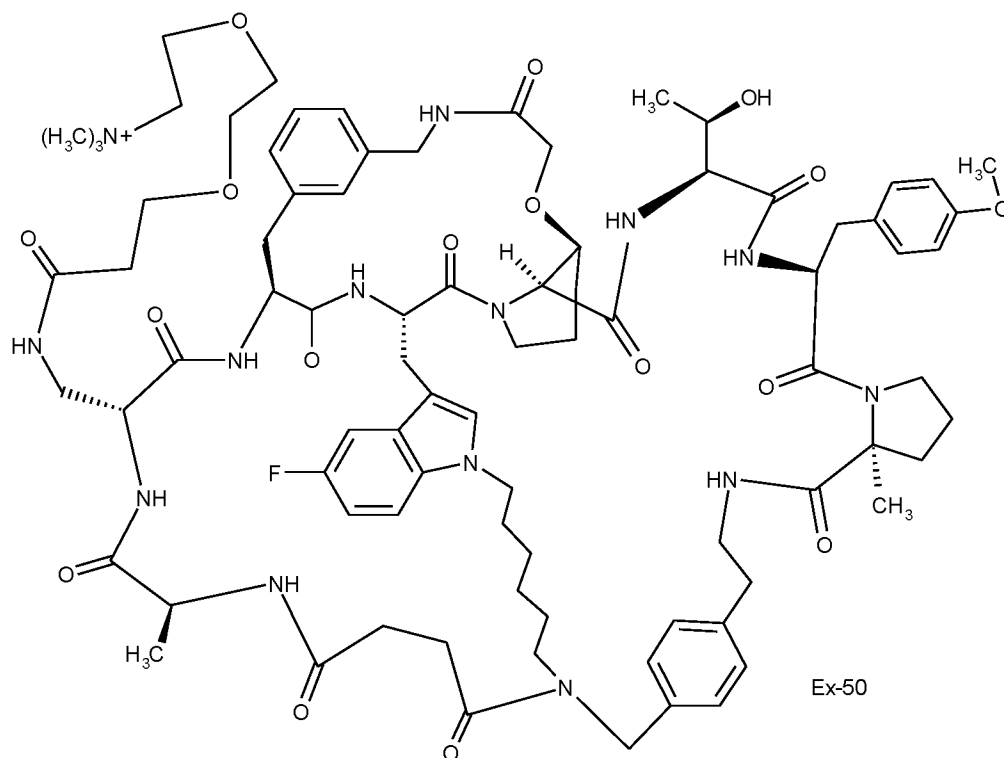
Стадія E - Синтез проміжної сполуки Int-2fe-1

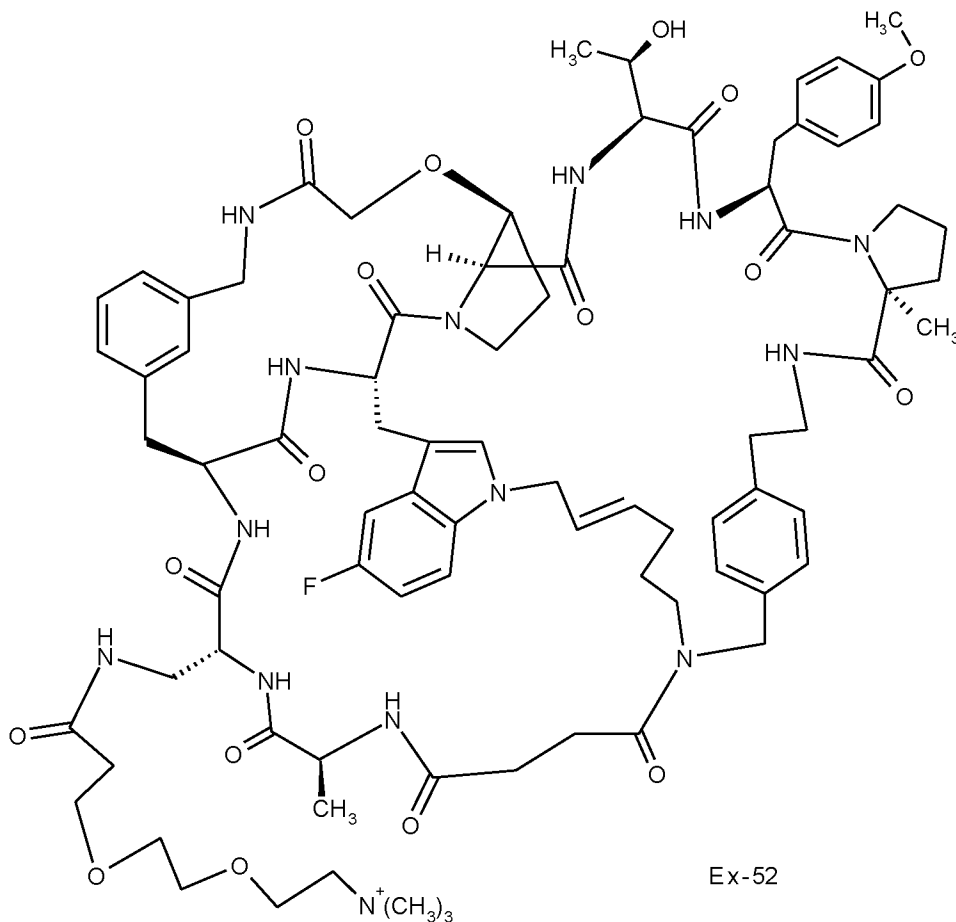
До розчину Int-2fd-1 (15,1 г, 37,3 ммоль), (2-((трет-бутоксикарбоніл)аміно)етил)трифторборату калію (18,7 г, 74,6 ммоль), Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (36,5 г, 112 ммоль) в толуолі (285 мл) і воді (95 мл) додавали PdCl<sub>2</sub>(dppf) (1,37 г, 1,87 ммоль) під захистом азотом. Суміш перемішували при 80 °С протягом 40 год. Отриманий розчин гасили водою і екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні шари сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрували. Фільтрат концентрували при зниженому тиску і залишок очищали колонковою хроматографією над силікагелем (елюючи градієнтом 1 %-40 % EtOAc в PE) з отриманням Int-2fe-1. LC/MS: (M+Na)<sup>+</sup>= 471,4.

Стадія F - Синтез проміжної сполуки Int-2f-1

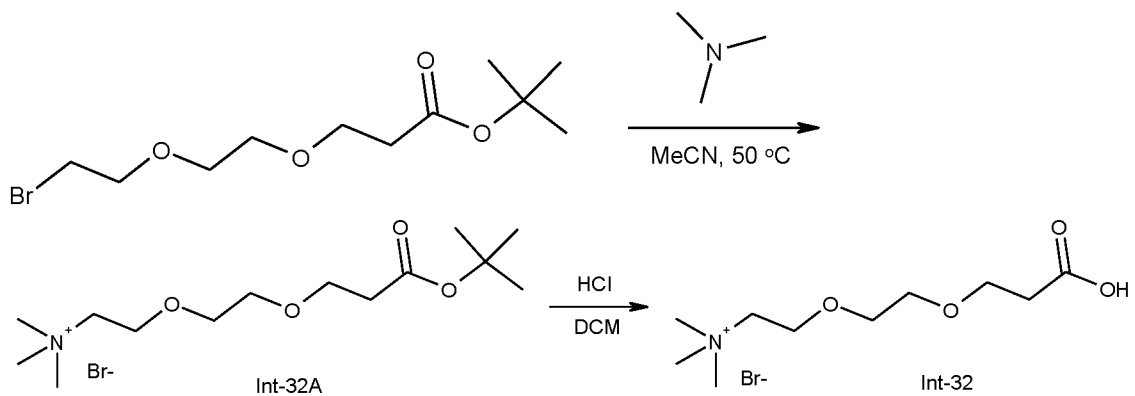
До розчину Int-2fe1 (10,6 г, 22,4 ммоль) в THF (100 мл) додавали 1 Н TBAF в THF (44,9 мл, 44,9 ммоль). Цю суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 16 год., а потім гасили водою і екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні шари промивали розсоллом, сушили над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і фільтрували. Фільтрат концентрували при зниженому тиску і залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елюючи градієнтом 1 %-70 % EtOAc в PE), а потім колонковою хроматографією на C18 (колонок: 330 г; рухома фаза А: вода (10 мм NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>), рухома фаза В: ACN; швидкість потоку: 80 мл/хв.; градієнт: від 10 % В до 10 % В протягом 10 хв., від 20 % В до 45 % В протягом 10 хв., від 45 % В до 70 % В протягом 20 хв., детектор: УФ 210 нм; Rt=25 хв.) з отриманням Int-2f-1. LC/MS: (M+H)<sup>+</sup>= 305,1. <sup>1</sup>H-ЯМР (300 МГц, CD<sub>3</sub>OD) δ 7,27-7,16 (м, 4H), 5,85-5,75 (м, 1H), 5,00-4,85 (м, 2H), 3,79 (т, J=7,0 Гц, 1H), 3,32-3,21 (м, 2H), 2,75 (т, J=7,4 Гц, 2H), 2,98-1,72 (м, 4H), 1,42 (с, 9H).

ПРИКЛАД 2 Отримання Ex-50 і Ex-52





5 Сполуку Ex-50 отримували відповідно до схеми, наведеної нижче, із сполуки Ex-01, отримання якої описане в даному описі в прикладі 1, за допомогою реакції його у відповідних умовах з проміжною сполукою Int 32, отриманою за наступною схемою:



10 Стадія А: Отримання проміжної сполуки Int-32A

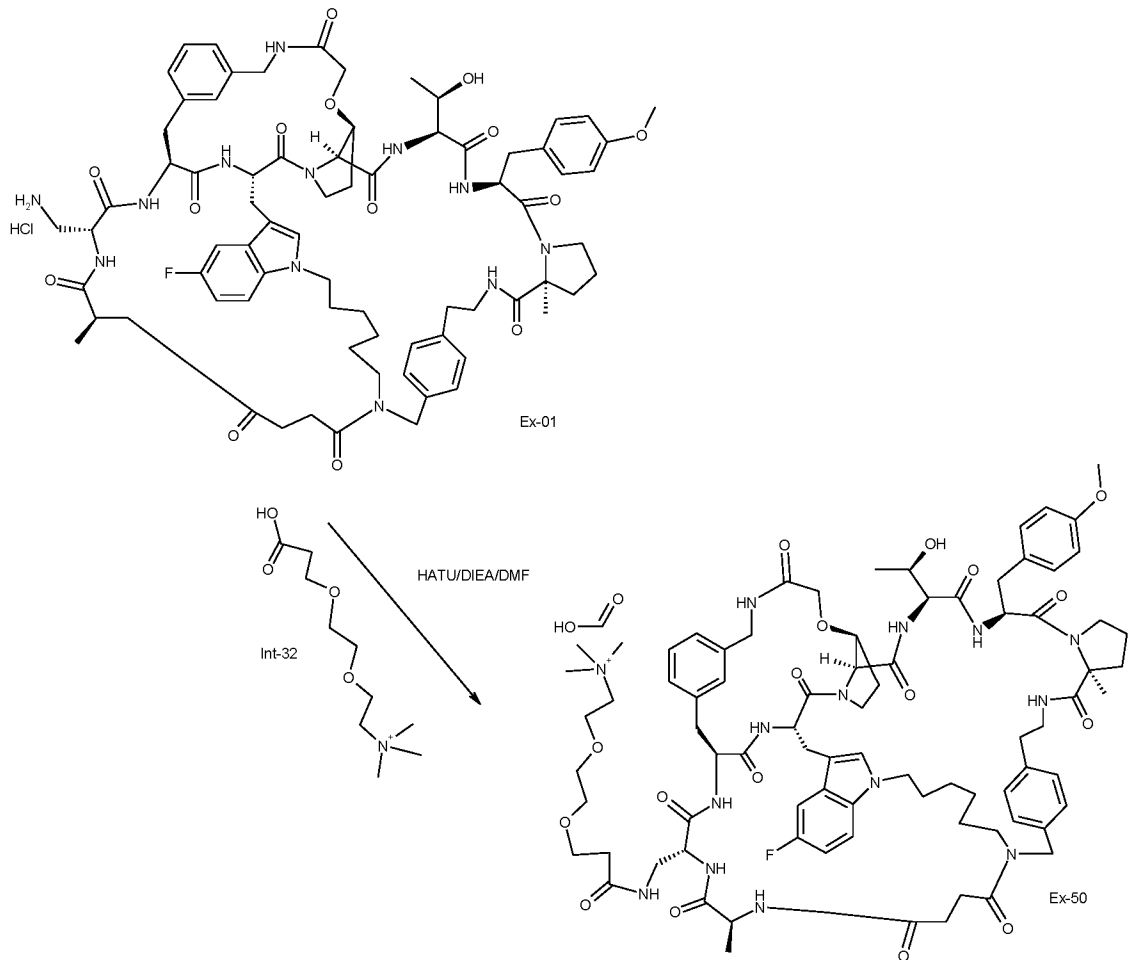
До розчину трет-бутил 3-(2-(2-брометокси)етокси)пропаноату (5 г, 16,82 ммоль) в ацетонітрилі (10 мл) додавали триметиламін (33 % в етанолі, 11,46 мл, 50,5 ммоль) і отриманий розчин нагрівали при 50 °С протягом ночі. Розчин концентрували з отриманням броміду 2-(2-(3-(трет-бутокси)-3-оксопропокси)етокси)-N, N, N-триметилетанамінію (Int 32A). LC/MS: (M)<sup>+</sup>: 276,5.

15 Стадія В: Отримання проміжної сполуки Int-32

До розчину броміду 2-(2-(3-(трет-бутокси)-3-оксопропокси)етокси)-N, N, N-триметилетанамінію (Int-32A) (5,99 г, 16,81 ммоль) в DCM (20 мл) додавали HCl (4 N в діоксані) (21,01 мл, 84 ммоль), і отриманий розчин перемішували при к. т. протягом ночі. Розчин концентрували з отриманням броміду 2-(2-(2-карбоксіетокси)етокси)-N, N, N-триметилетанамінію (Int-32). LC/MS: (M)<sup>+</sup>: 220,1.

20

## Отримання сполуки прикладу Ex-50



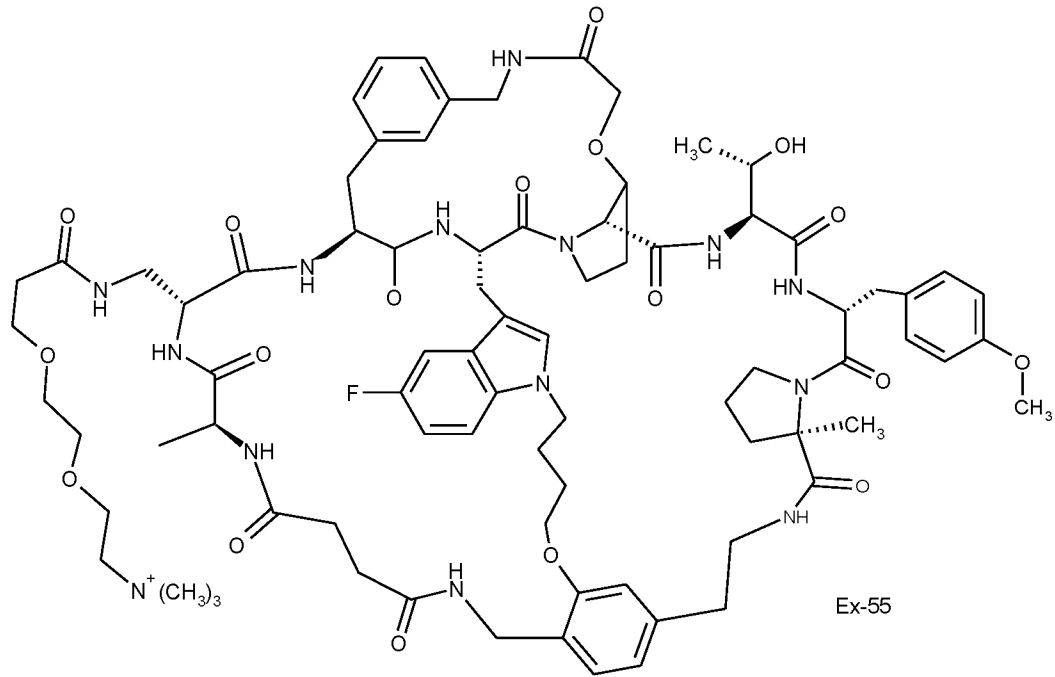
- 5 До розчину Ex-01 (неочищений) (17,4 мг, 0,012 ммоль) і броміду 2-(2-(2-карбоксіетокси)етокси)-N, N, N-триметилетанамінію (Int-32) (4,49 мг, 0,015 ммоль) в DMF (2 мл) додавали HATU (5,69 мг, 0,015 ммоль) і DIEA (6,54 мкл, 0,037 ммоль), і отриманий розчин перемішували при к. т. протягом 50 хв., а потім очищали обернено-фазовою ВЕРХ з використанням ацетонітрилу (0,1 % мурашина кислота)/вода (0,1 % мурашина кислота) як рухомої фази з отриманням Ex-50. LC/MS: M+ = 1596,3.

## Отримання сполуки прикладу Ex-52

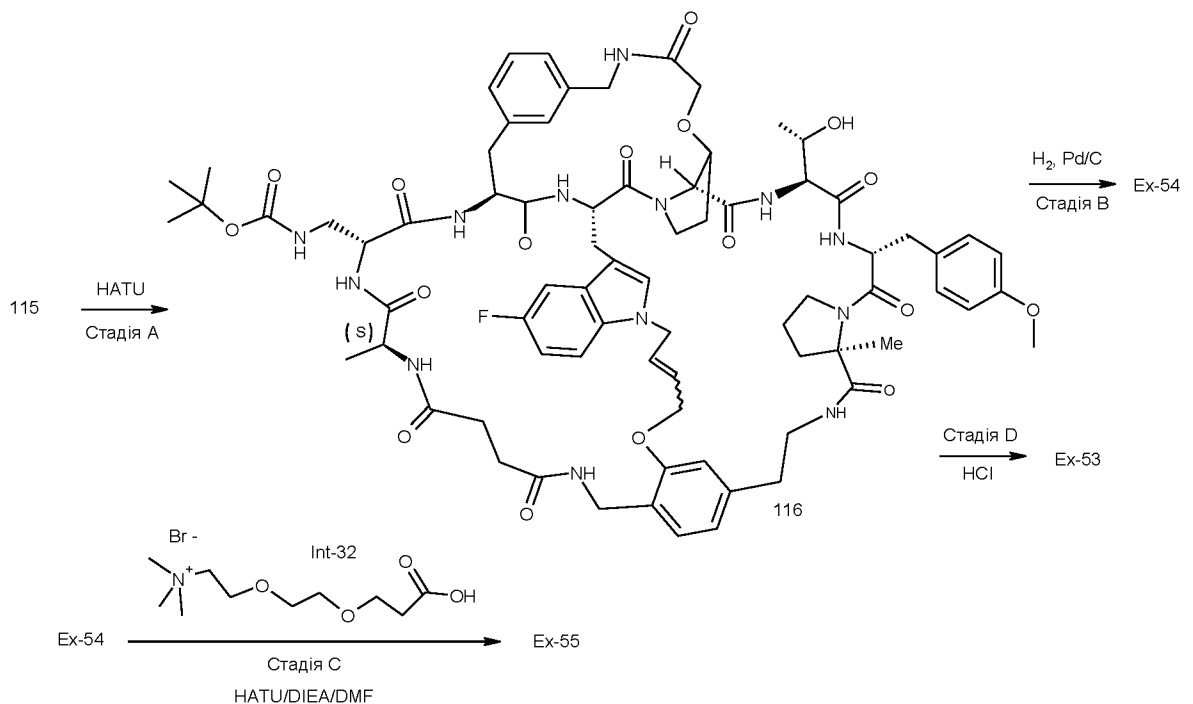
Сполуку Ex-52 отримували аналогічно отриманню сполуки Ex-50, але з використанням Ex-51 замість Ex-01. Ex-52 очищали з використанням обернено-фазової ВЕРХ відповідно до способів, описаних в даному описі. LC/MS: M+ = 1593,8.

- 15 ПРИКЛАД 3 Отримання Ex-53, Ex-54 і Ex-55





5 Сполуку Ex-53, Ex-54 і Ex-55 отримували аналогічно отриманню сполук, описаних вище, з проміжної сполуки 115 (отримання описане нижче), відповідно до наступних схем і опису синтезу:



10 Стадія А - Синтез проміжної сполуки 116

До розчину 115 (66,3 мг, 0,044 ммоль) в DMF (1,5 мл), DCM (10 мл) і воді (0,5 мл) при 0 °С додавали DIPEA (0,030 мл, 0,173 ммоль), а потім HATU (18,50 мг, 0,049 ммоль) і суміш перемішували протягом 30 хв. Суміш концентрували у вакуумі і безпосередньо очищали колонковою хроматографією на C18 (30 г, елюючи ацетонітрилом+0,05 % TFA/вода+0,05 % TFA від 90:10 до 40:60) з отриманням 116 як суміші E- і Z-ізомерів, а також 116 як очищені фракції E- або Z-ізомери. LC/ MS (основний ізомер) LC/MS: M+ = 1481,19; LC/MS (мінорний ізомер): LC/MS: M+ = 1480.

15

## Стадія В - Синтез сполуки Ex-54

Розчин 116 (25,1 мг, 0,017 ммоль) і Pd-C 10 % (3,61 мг, 3,39 мкмоль) в MeOH (10 мл) гідрогенізували при 1 атм. протягом 1 год. Реакційну суміш фільтрували через целіт і концентрували. Залишок обробляли DCM/TFA 1:1 протягом 30 хв., потім концентрували, обробляли 4 Н HCl в діоксані (100 мкл), а потім концентрували з отриманням Ex-54 в формі солі HCl. LC/MS: M+ = 1383,44.

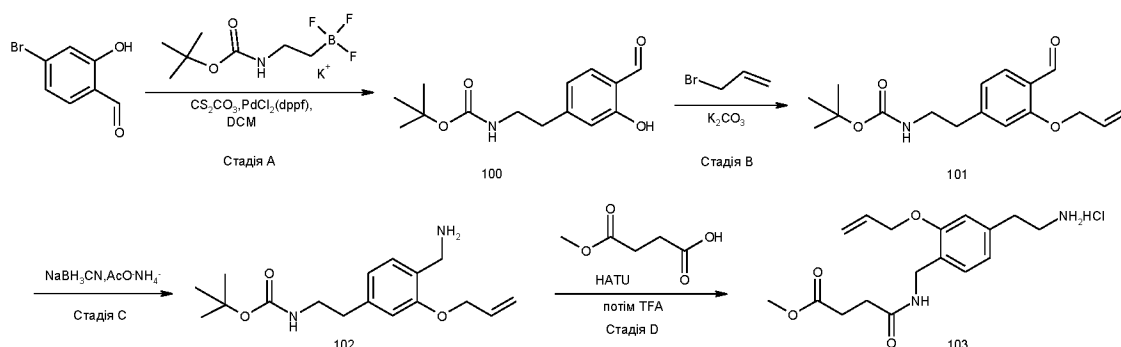
## Стадія С - Синтез сполуки Ex-55

Сполуку прикладу Ex-55 отримували в формі формиату з Ex-54 способом, ідентичним способу, описаному в прикладі 2 для синтезу сполуки Ex-50. LC/MS: M+ = 1583,69.

## Стадія D - Синтез сполуки Ex-53

Сполуку прикладу Ex-53 отримували в формі солі HCl з проміжної сполуки 116 способом, ідентичним способу, описаному в прикладі 1 для синтезу сполуки Ex-51. LC/MS: M+ = 1381,33.

Отримання проміжних сполук, необхідних для надання проміжної сполуки 115, з якої в кінцевому результаті отримують сполуку Ex-53, Ex-54 і Ex-55, описане на схемах і способах синтезу нижче для отримання проміжної сполуки 103.



## Стадія А - Синтез проміжної сполуки 100

Розчин 4-бром-2-гідроксибензальдегіду (3,00 г, 14,92 ммоль), трет-бутил N-[2-трифторбораніудил)етил]карбамату калію (3,82 г, 15,22 ммоль), карбонату цезію (17,02 г, 52,2 ммоль) і комплексу дихлорид 1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероценпаладій(ii)-дихлорметан (0,611 г, 0,746 ммоль) в дегазованому толуолі (45 мл) і воді (15 мл) нагрівали до 75 °C і перемішували протягом ночі. Суміш гасили при кімнатній температурі напівнасиченим водним розчином бікарбонату натрію і екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні фракції промивали розсоллом, сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрували і концентрували у вакуумі. Залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елюючи сумішшю гексан/EtOAc від 99:1 до 60:40) з отриманням 100. LC/MS: (M-55)<sup>+</sup> = 210,25.

## Стадія В - Синтез проміжної сполуки 101

До розчину 100 (1,70 г, 6,41 ммоль) і алілброміду (0,832 мл, 9,61 ммоль) в DMF (10 мл) при кімнатній температурі додавали карбонат калію (1,328 г, 9,61 ммоль) і суміш нагрівали при 50 °C і перемішували протягом 1 год. Суміш гасили при кімнатній температурі напівнасиченим водним розчином бікарбонату натрію і екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні фракції промивали розсоллом, сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрували і концентрували у вакуумі. Залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елюючи сумішшю гексан/EtOAc від 99:1 до 70:30) з отриманням 101. LC/MS: (M-55)<sup>+</sup> = 250,29.

## Стадія С - Синтез проміжної сполуки 102

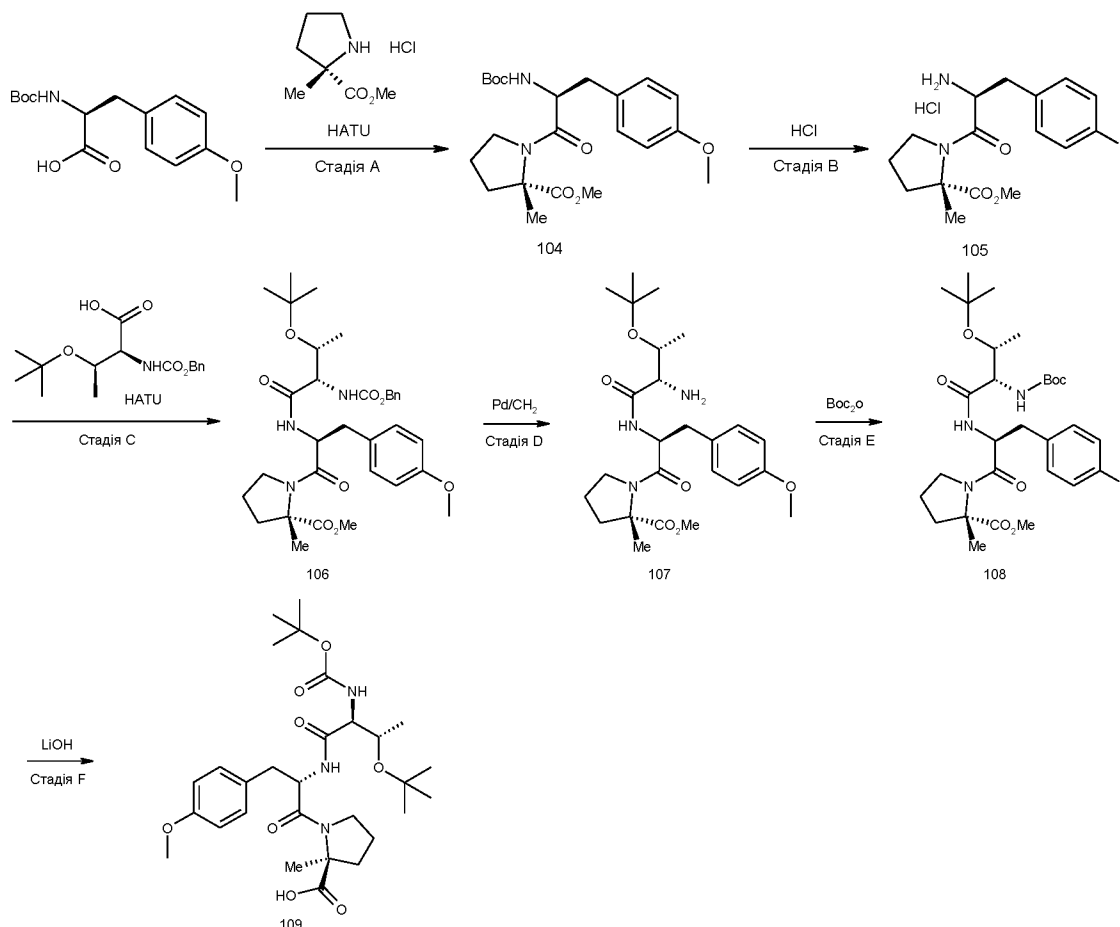
До розчину 101, отриманого на попередній стадії (1,76 г, 5,76 ммоль), молекулярних сит 4 Å (2 г) і ацетату амонію (4,44 г, 57,6 ммоль) в MeOH (100 мл) при кімнатній температурі додавали ціаноборгідрид натрію (0,380 г, 6,05 ммоль) і суміш струшували протягом ночі. Суміш концентрували, гасили при кімнатній температурі водою і екстрагували DCM. Об'єднані органічні фракції сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрували і концентрували у вакуумі. Залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елюючи DCM/MeOH від 99:1 до 30:70) з отриманням 102. LC/MS: (2M+H)<sup>+</sup> = 613,56.

## Стадія D - Синтез проміжної сполуки 103

До розчину 102 (220 мг, 0,718 ммоль) і монометилового ефіру янтарної кислоти (114 мг, 0,862 ммоль) в DMF (4 мл) при кімнатній температурі додавали HATU (300 мг, 0,790 ммоль) і DIPEA (0,314 мл, 1,795 ммоль) і суміш перемішували протягом 30 хв. Суміш гасили при кімнатній температурі насиченим водним розчином бікарбонату натрію і екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні фракції промивали розсоллом, сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрували і

концентрували у вакуумі. Залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елюючи сумішшю гексан/EtOAc від 99:1 до 30:70) з отриманням проміжної сполуки, яке обробляли 20 % TFA в DCM протягом 1 год. Реакційну суміш концентрували, а потім обробляли 4 Н HCl (1,5 мл) і концентрували з отриманням 103. LC/MS: (M+H)<sup>+</sup> = 321,29.

5 Отримання проміжної сполуки 109



10 Стадія А - Синтез проміжної сполуки 104

До перемішаного розчину гідрохлориду метил (S)-2-метилпіролідін-2-карбоксилату (7,00 г, 39 ммоль) і (S)-2-((трет-бутоксикарбоніл)аміно)-3-(4-метоксифеніл)пропіонової кислоти (12,08 г, 40,9 ммоль) в DMF (100 мл) при 0 °С додавали DIPEA (17,01 мл, 97,0 ммоль), а потім HATU (19,26 г, 50,7 ммоль). Отриманій суміші дозволяли нагрітися до кімнатної температури і перемішували протягом ночі. Реакційну суміш гасили 10 % водним розчином LiCl і екстрагували EtOAc. Органічний екстракт промивали 10 % водним розчином LiCl і сушили над MgSO<sub>4</sub>. Розчинник видаляли при зниженому тиску і залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елюючи сумішшю гексан/EtOAc від 80:20 до 40:60) з отриманням 104.

20 Стадія В - Синтез проміжної сполуки 105

До розчину 104 (16,4 г, 39,0 ммоль) в EtOAc (100 мл) додавали 4 Н HCl в діоксані (48,8 мл, 195 ммоль). Отриману суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 18 год. і концентрували при зниженому тиску з отриманням 105, яку використовували на наступній стадії без подальшого очищення.

25 Стадія С - Синтез проміжної сполуки 106

До розчину 105 (13,2 г, 37,0 ммоль) і N-((бензилокси)карбоніл)-O-(трет-бутил)-L-треоніну (18,15 г, 37,0 ммоль) в DMF при 0 °С додавали DIPEA (16,15 мл, 92 ммоль), а потім HATU (18,28 г, 48,1 ммоль). Отриманій суміші дозволяли нагрітися до кімнатної температури і перемішували протягом ночі. Реакційну суміш гасили 10 % водним розчином LiCl і екстрагували EtOAc. Органічний екстракт промивали 10 % водним розчином LiCl і сушили над MgSO<sub>4</sub>. Розчинник видаляли при зниженому тиску і залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елюючи сумішшю гексан/EtOAc від 80:20 до 40:60) з отриманням 106.

30 Стадія D - Синтез проміжної сполуки 107

До розчину 106 (16,5 г, 27,0 ммоль) в MeOH додавали завис 10 % Pd/C і суміш гідрогенізували при 20 фунт./кв. дюйм протягом 4 год. Реакційну суміш фільтрували через целіт і концентрували при зниженому тиску. Потім неочищений продукт перерозчиняли в DCM і розчин фільтрували через 2-мкм фільтр і концентрували з отриманням 107.

5 Стадія E - Синтез проміжної сполуки 108

До розчину 107 (3,2 г, 6,70 ммоль) в DCM додавали DIPEA (1,52 мл, 8,71 ммоль), а потім ди-трет-бутилдикарбонат (1,90 г, 8,71 ммоль). Отриману суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 2 год., а потім концентрували при зниженому тиску. Залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елюючи сумішшю гексан/EtOAc від 100:0 до 40:60) з отриманням 108.

10

Стадія F - Синтез проміжної сполуки 109

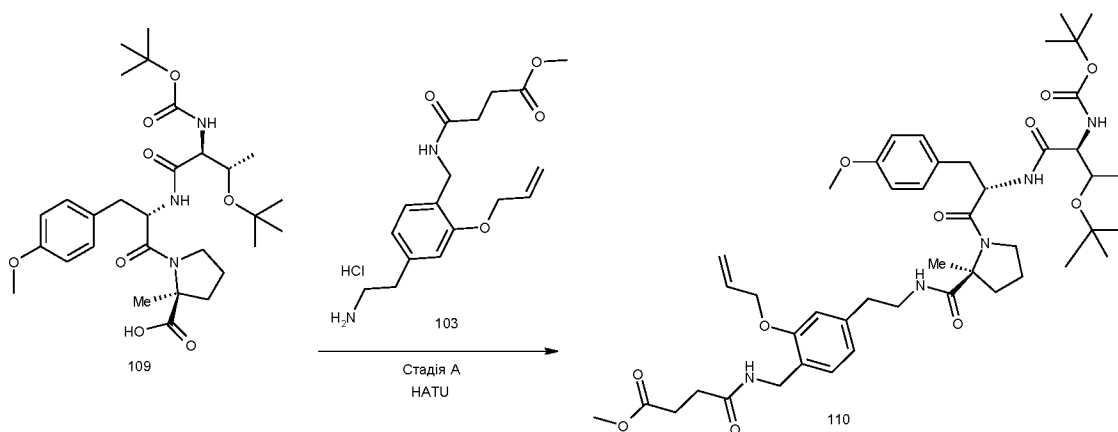
Розчин 108 (1,43 г, 2,475 ммоль) і 1 N водний розчин LiOH (9,90 мл, 9,90 ммоль) в THF (15 мл) і MeOH (15 мл) нагрівали при 45 °C і перемішували протягом 4 год., а потім при 32 °C протягом 48 год. Реакційну суміш концентрували, гасили при 0 °C 0,5 M водним розчином хлористоводневої кислоти до pH ~2-3 і екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні фракції сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фільтрували і концентрували у вакуумі. Залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елюючи сумішшю гексан/EtOAc-EtOH від 99:1 до EtOAc-EtOH 3:1) з отриманням 109. LC/MS: (M+H)<sup>+</sup> = 564,49.

15

Отримання проміжних сполук з 110 по 115

20

Стадія A - Синтез проміжної сполуки 110

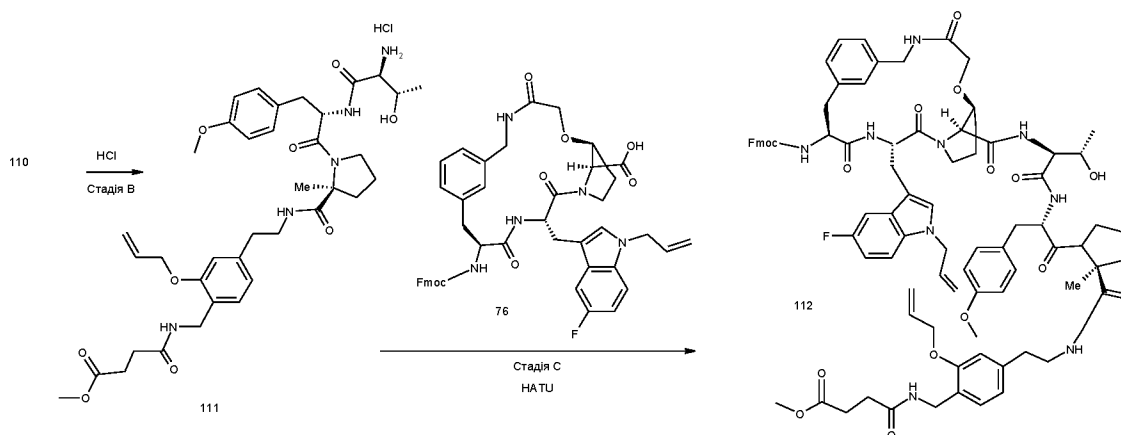


25

Розчин 109 (217 мг, 0,385 ммоль), HATU (133 мг, 0,350 ммоль) і DIPEA (0,245 мл, 1,400 ммоль) в DMF (2,5 мл) обробляли 103 (217 мг, 0,385 ммоль) при 0 °C і суміші дозволяли нагрітися до кімнатної температури і перемішували протягом 30 хв. Суміш гасили при 0 °C насиченим водним розчином бікарбонату натрію і екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні фракції промивали розсоллом, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фільтрували і концентрували у вакуумі. Залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елюючи сумішшю гексан/EtOAc-EtOH 3:1 від 99:1 до EtOAc-EtOH 3:1) з отриманням 110. LC/MS: (M+H)<sup>+</sup> = 866,21.

30

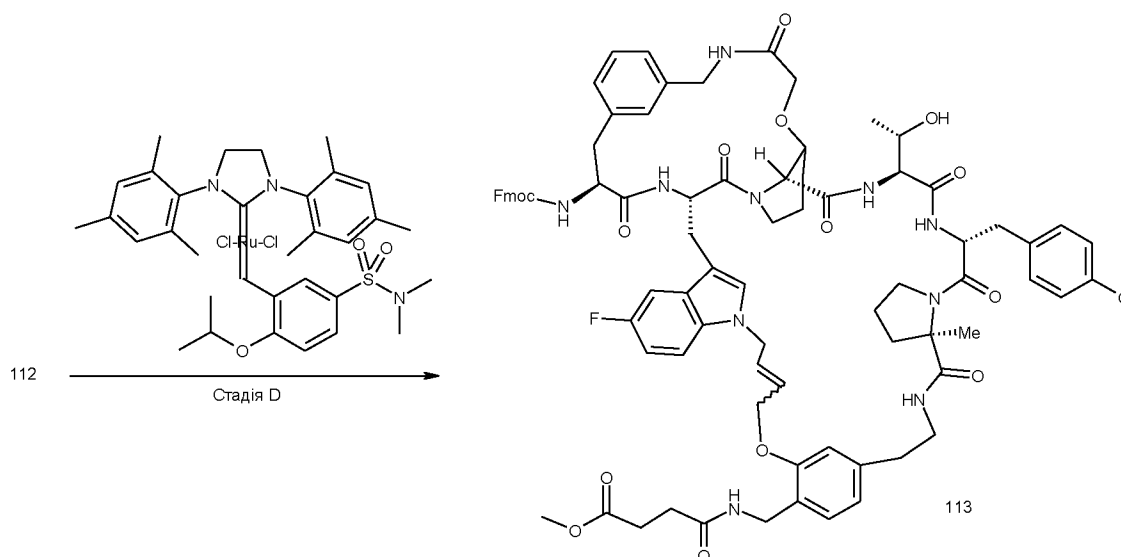
Стадії B і C - Синтез проміжних сполук 111 і 112



До розчину 110 (249 мг, 0,288 ммоль) в DCM (1 мл) при кімнатній температурі додавали 4 Н HCl в діоксані (0,359 мл, 1,438 ммоль) і суміш перемішували протягом 6 год., а потім концентрували з отриманням 111. LC/MS: (M+H)<sup>+</sup> = 710,19.

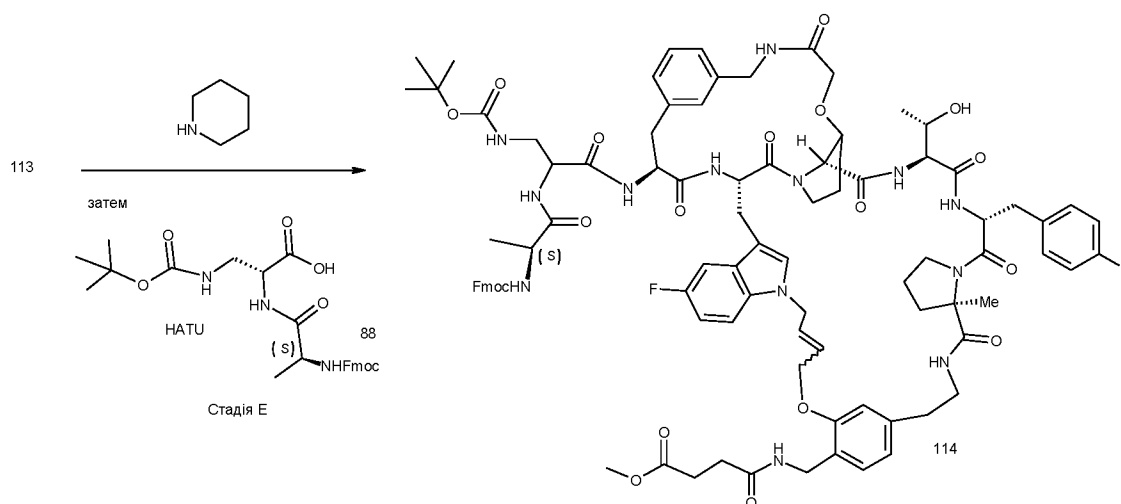
До розчину 111 (219 мг, 0,293 ммоль) і 76 (232 мг, 0,285 ммоль) в DMF (3 мл) і воді (0,15 мл) при 0 °С додавали DIPEA (0,128 мл, 0,734 ммоль) і HATU (123 мг, 0,323 ммоль), і суміш перемішували протягом 30 хв. Суміш гасили при 0 °С розсолем і екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні фракції сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фільтрували і концентрували у вакуумі. Залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елюючи сумішшю гексан/EtOAc-EtOH 3-1 від 99:1 до 30:70, а потім DCM/MeOH від 99:1 до 70:30) з отриманням 112. LC/MS: (M+H)<sup>+</sup> = 1506,11.

Стадія D - Синтез проміжної сполуки 113



До розчину 112 (173 мг, 0,115 ммоль) в DCM (180 мл) і AcOH (15 мл), дегазованому азотом протягом 30 хв., додавали каталізатор Чжань (59,0 мг, 0,080 ммоль), і суміш нагрівали при 50 °С і перемішували протягом 3 год. Суміш фільтрували через целіт, промивали DCM, а потім концентрували у вакуумі. Залишок очищали колонковою хроматографією на силікагелю (елюючи DCM/MeOH від 99:1 до 80:20) з отриманням 113 як суміші E- і Z-ізомерів. LC/MS (основний ізомер): (M)<sup>+</sup> = 1477,80; LC/MS (мінорний ізомер): (M)<sup>+</sup> = 1478,28.

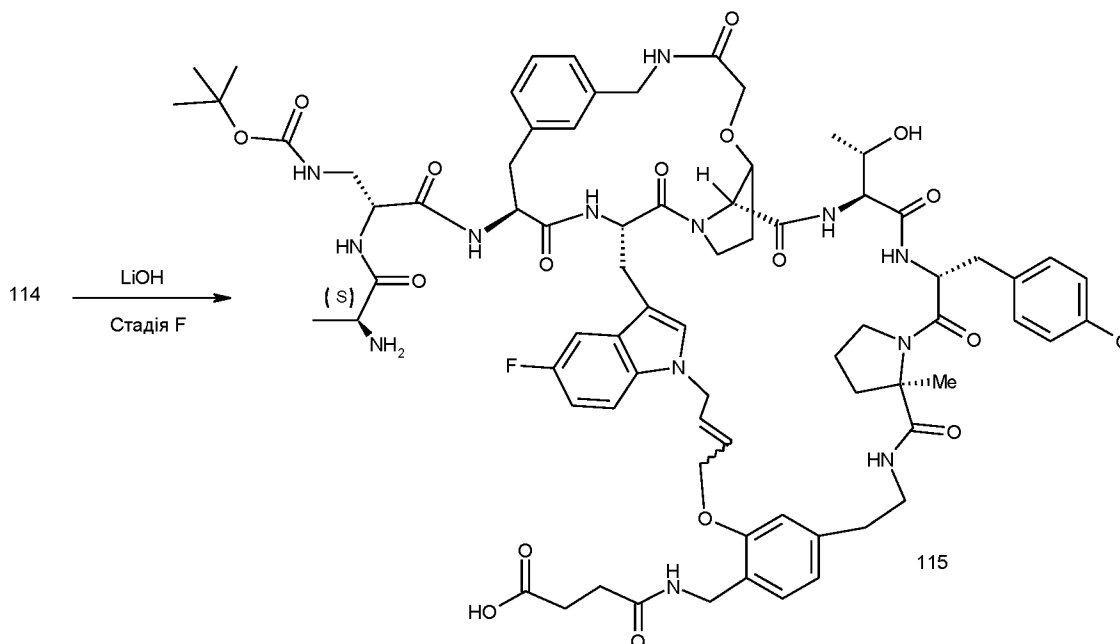
Стадія E - Синтез проміжної сполуки 114



До розчину 113 (141 мг, 0,095 ммоль) в ацетонітрилі (2 мл) додавали піперидин (0,066 мл, 0,668 ммоль) і суміш перемішували протягом 45 хв. Суміш концентрували у вакуумі, спільно упарювали з ацетонітрилом три рази з отриманням неочищеного матеріалу. До завису того неочищеного матеріалу (119 мг, 0,095 ммоль) і проміжної сполуки 88 (52,0 мг, 0,105 ммоль) в DMF (2 мл) і воді (0,1 мл) при 0 °С додавали HATU (39,7 мг, 0,105 ммоль) і DIPEA (0,037 мл,

0,209 ммоль) і суміш перемішували протягом 30 хв. Суміш очищали колонковою хроматографією на C18 (елюючи ацетонітрилом+0,05 % TFA/вода +0,05 % TFA від 90:10 до 30:70) з отриманням 114 як суміші E- і Z-ізомерів. Основний ізомер LC/MS: (M)<sup>+</sup> = 1735,28; LC/MS (мінорний ізомер): (M)<sup>+</sup> = 1735,25.

5 Стадія F - Синтез проміжної сполуки 115



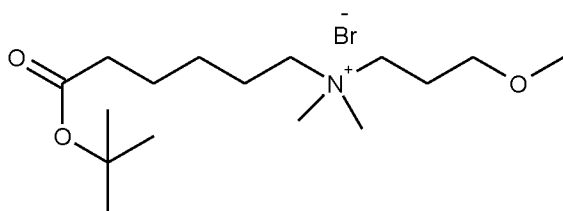
10 До розчину 114 (134 мг, 0,077 ммоль) в THF (1,5 мл) і MeOH (1,5 мл) при 0 °C краплинно додавали 1 N водний LiOH (0,386 мл, 0,386 ммоль) і суміш перемішували протягом 2 год. Реакційну суміш краплинно обробляли при 0 °C 0,5 N HCl до pH~7, концентрували з органічних розчинників, а потім завис розчиняли ~1 мл DMF і прямо очищали колонковою хроматографією на C18 (елюючи ацетонітрилом+0,05 % TFA/вода+0,05 % TFA від 90:10 до 50:50) з отриманням 115 як суміші E- і Z-ізомерів. Основний ізомер LC/MS: (M)<sup>+</sup> = 1498,71; LC/MS (мінорний ізомер): (M)<sup>+</sup> = 1499,48.

15 Як описано вище для отримання Ex-50 з Ex-01, і Ex-55 з Ex-54 за допомогою реакції їхнього аміду R<sup>2</sup> у відповідних вихідних сполуках з кислотним попередником замісника, можна використовувати наступні проміжні сполуки в аналогічних реакціях з отриманням придатних сполук за винаходом.

20 Синтез попередників замісників R<sup>1</sup>/R<sup>2</sup>:

Отримання хлориду 5-карбокси-N-(3-метоксипропіл)-N, N-диметилпентан-1-амінію (проміжна сполука Z-1a)

Стадія A: отримання проміжної сполуки Z-1

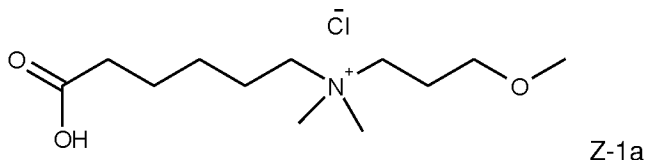


25

Z-1

30 До перемішаного розчину трет-бутил 6-(диметиламіно)гексаноату (300 мг, 1,393 ммоль) в ацетонітрилі (1 мл) додавали 1-бром-3-метоксипропан (853 мг, 5,57 ммоль). Реакційну суміш перемішували при 50 °C протягом 16 год. Отриману суміш концентрували при зниженому тиску з отриманням Z-1. LC/MS: (M-Br)<sup>+</sup> = 288,4. <sup>1</sup>H-ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 3,76-3,47 (м, 6H), 3,38 (д, J=28,9 Гц, 9H), 2,25 (т, J=7,2 Гц, 2H), 2,12-1,95 (м, 2H), 1,87-1,55 (м, 4H), 1,45 (с, 11H).

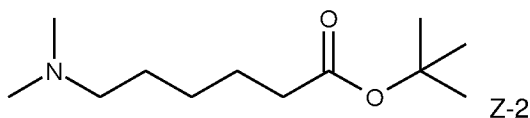
Стадія B: Синтез проміжної сполуки Z-1a



До перемішаного розчину Z-1 (460 мг, 1,249 ммоль) в DCM (0,5 мл) додавали 4 М НСІ в діоксані (2 мл) при кімнатній температурі. Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 4 год. і концентрували при зниженому тиску. Залишок перерозчиняли в DCM (5 мл) і концентрували при зниженому тиску з отриманням проміжної сполуки Z-1a. LC/MS: (M-Cl)<sup>+</sup> = 232,3.

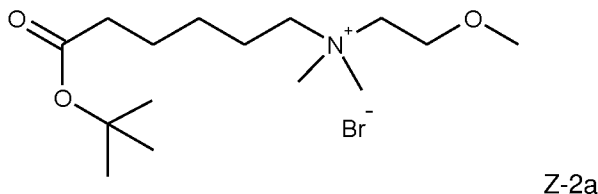
Отримання проміжної сполуки Z-2b

Стадія А: отримання проміжної сполуки Z-2



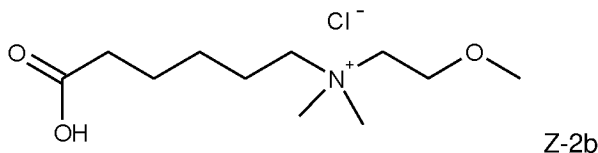
До перемішаного розчину трет-бутил 6-бромгексаноату (1,0 г, 3,98 ммоль) в THF (10 мл) додавали диметиламін (2 М в THF) (7,96 мл, 15,93 ммоль). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 16 год. Отриману суміш концентрували при зниженому тиску і залишок очищали за допомогою колонкової хроматографії на силікагелю, елюючи градієнтом 1 %-15 % MeOH в DCM. Фракції, що містили бажаний продукт, об'єднували і концентрували з отриманням Z-2. LC/MS: (M+H)<sup>+</sup> = 216,2. <sup>1</sup>H-ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 2,35-2,17 (м, J=8,5, 6,5 Гц, 10H), 1,67-1,47 (м, 4H), 1,45 (с, 9H), 1,42-1,23 (м, 2H).

Стадія В: отримання проміжної сполуки Z-2a



До перемішаного розчину Z-2 (250 мг, 1,161 ммоль) в ACN (1 мл) додавали 1-бром-2-метоксетан (645 мг, 4,64 ммоль). Реакційну суміш перемішували при 50 °С протягом 16 год. Отриману суміш концентрували при зниженому тиску з отриманням Z-2a. LC/MS: (M-Br)<sup>+</sup> = 274,3. <sup>1</sup>H-ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 4,02-3,80 (м, 4H), 3,70-3,54 (м, 2H), 3,42 (д, J=13,0 Гц, 9H), 2,24 (т, J=7,2 Гц, 2H), 1,85-1,75 (м, 2H), 1,72-1,55 (м, 2H), 1,44 (с, 11H).

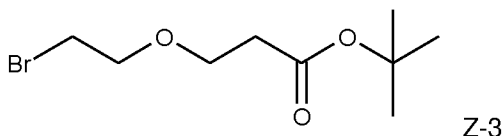
Стадія С: отримання проміжної сполуки Z-2b



До перемішаного розчину Z-2a (450 мг, 1,270 ммоль) в DCM (0,5 мл) додавали 4 М НСІ в діоксані (2 мл) при кімнатній температурі. Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 4 год. і концентрували при зниженому тиску. Залишок перерозчиняли в DCM (5 мл) і концентрували при зниженому тиску з отриманням Z-2b. LC/MS: (M-Cl)<sup>+</sup> = 218,3.

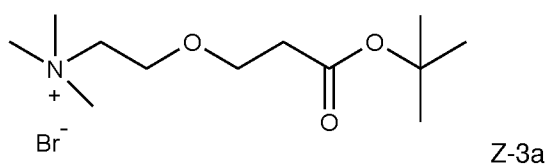
Отримання проміжної сполуки Z-3b

Стадія А: отримання проміжної сполуки Z-3



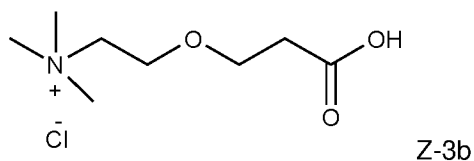
До розчину трет-бутил 3-(2-гідроксіетокси)пропаноату (500,0 мг, 2,63 ммоль) в DCM (2 мл) додавали  $\text{CBr}_4$  (1395 мг, 4,21 ммоль) і  $\text{PPh}_3$  (965 мг, 3,68 ммоль) при 0 °С. Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 2 год. Отриману суміш концентрували при зниженому тиску і залишок очищали за допомогою колонкової хроматографії на силікагелю, елюючи градієнтом 1 %-15 % ЕА в РЕ. Фракції, що містили бажаний продукт, об'єднували і концентрували з отриманням Z-3.  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3,78 (дт,  $J=11,1, 6,3$  Гц, 4H), 3,47 (т,  $J=6,3$  Гц, 2H), 2,53 (т,  $J=6,4$  Гц, 2H), 1,48 (с, 9H).

Стадія В: Синтез проміжної сполуки Z-3а



До перемішаного розчину трет-бутил 3-(2-брометокси)пропаноату Z-3 (450 мг, 1,778 ммоль) в ACN (2 мл) додавали триметиламін (955 мг, 5,33 ммоль) (33 %Wt, в EtOH). Реакційну суміш перемішували при 50 °С протягом 16 год. Отриману суміш концентрували при зниженому тиску з отриманням Z-3а. LC/MS:  $(\text{M}-\text{Br})^+ = 322,3$ .  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  5,32 (с, 1H), 4,04-3,94 (м, 4H), 3,73 (т,  $J=5,7$  Гц, 2H), 3,50 (с, 10H), 2,50 (т,  $J=5,7$  Гц, 2H), 1,44 (с, 9H).

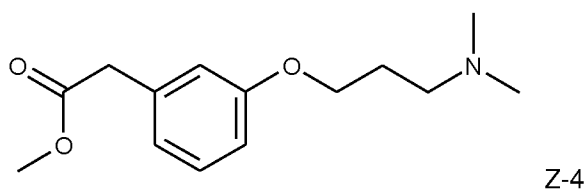
Стадія С: Синтез проміжної сполуки Z-3b



До розчину Z-3а (550 мг, 1,761 ммоль) в DCM (0,6 мл) додавали 4 М HCl в діоксані (2,5 мл) при кімнатній температурі. Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 4 год. Отриману суміш концентрували при зниженому тиску і залишок перерозчиняли в DCM (3 мл) і толуолі (3 мл). Потім суміш концентрували при зниженому тиску з отриманням Z-3b. LC/MS:  $(\text{M}-\text{Cl})^+ = 176,2$ .

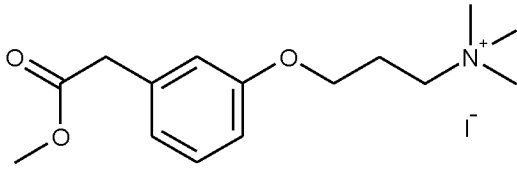
Отримання проміжної сполуки Z-4b

Стадія А: отримання проміжної сполуки Z-4



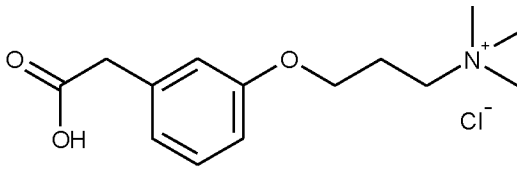
До розчину DIAD (1,755 мл, 9,03 ммоль) в THF (30 мл) додавали  $\text{Ph}_3\text{P}$  (2,368 г, 9,03 ммоль). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 10 хв., потім до розчину додавали метил 2-(3-гідроксифеніл)ацетат (1,0 г, 6,02 ммоль) і 3-(диметиламіно)пропан-1-ол (0,931 г, 9,03 ммоль). Суміш перемішували при 50 °С протягом 1 год. Отриманий розчин концентрували при зниженому тиску і залишок очищали за допомогою колонкової хроматографії на силікагелю, елюючи градієнтом 1 %-10 % MeOH в DCM. Фракції, що містили бажаний продукт, об'єднували і концентрували з отриманням Z-4. LC/MS:  $(\text{M}+\text{H})^+ = 252,2$ .  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,23-7,18 (м, 1H), 6,82 (тд,  $J=8,7, 4,1$  Гц, 3H), 4,01 (т,  $J=6,4$  Гц, 2H), 3,69 (с, 3H), 3,59 (с, 2H), 2,46 (т,  $J=7,3$  Гц, 2H), 2,27 (с, 6H), 1,97 (дт,  $J=7,9, 6,5$  Гц, 2H).

Стадія В: Отримання проміжної сполуки Z-4а



Z-4a

- 5 До розчину Z-4 (600 мг, 2,268 ммоль) в ACN (12 мл) додавали MeI (1,288 г, 9,07 ммоль). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 1 год. Отриманий розчин концентрували при зниженому тиску з отриманням Z-4a. LC/MS: (M-I)<sup>+</sup> = 266,2.  
Стадія С: Отримання проміжної сполуки Z-4b



Z-4b

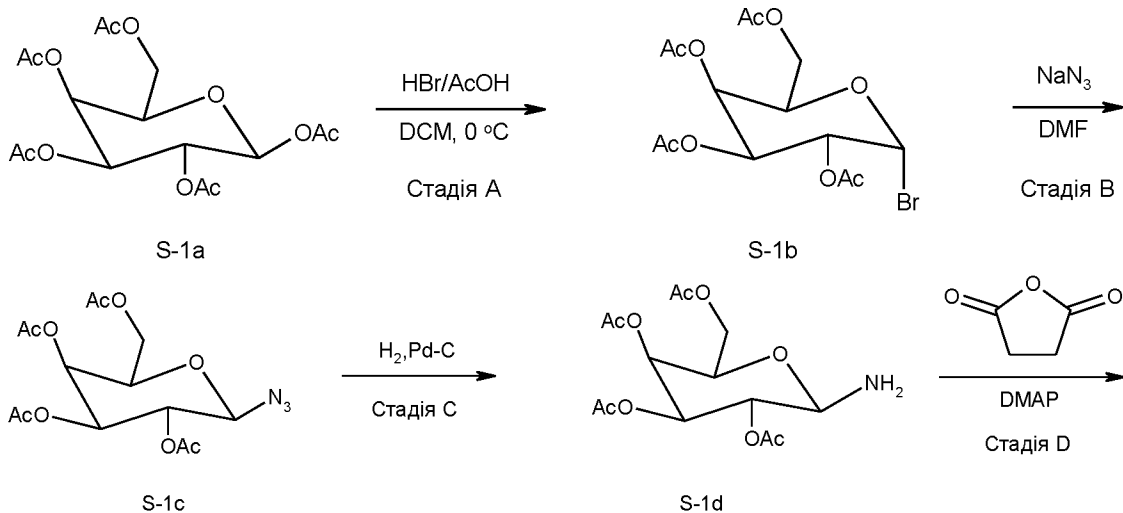
10

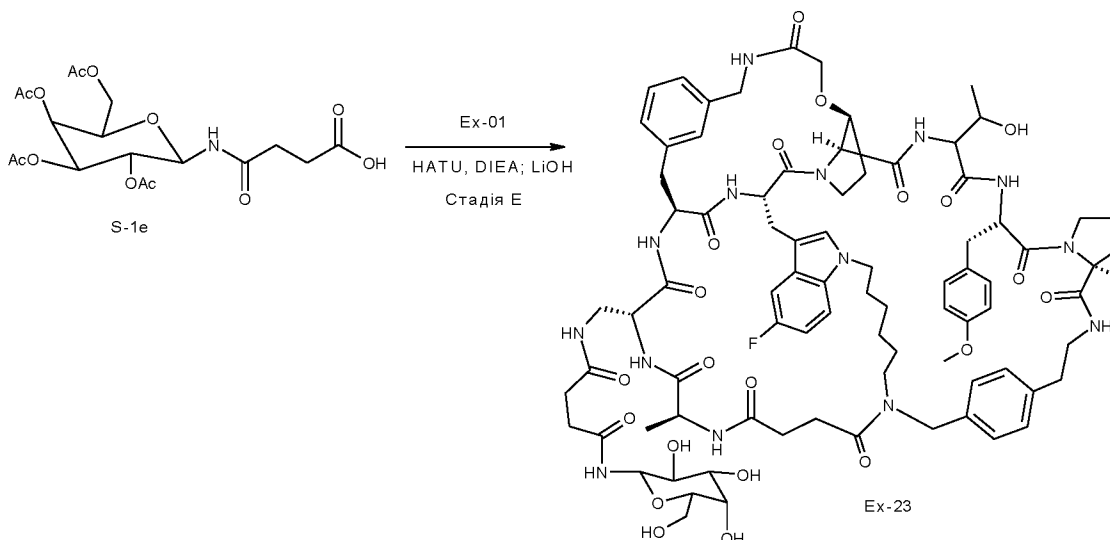
До розчину Z-4a (800 мг, 1,729 ммоль) в THF (12 мл) додавали 2 M LiOH (1,729 мл, 3,46 ммоль). Цю суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 2 год. Величину рН розчину доводили до 4 за допомогою HCl (1 M) і розчин концентрували при зниженому тиску. Неочищений продукт очищали обернено-фазовою хроматографією на C18 (рухома фаза А: вода, рухома фаза В: ACN; швидкість потоку: 60 мл/хв.; градієнт: від 1 % В до 25 % В протягом 25 хв.; від 25 % В до 95 % В протягом 15 хв.; від 95 % В до 95 % В протягом 10 хв.) з отриманням Z-4b. LC/MS: (M-Cl)<sup>+</sup> = 252,2. <sup>1</sup>H-ЯМР (300 МГц, CD<sub>3</sub>OD): δ 7,21 (т, J=7,9 Гц, 1H), 6,95-6,75 (м, 3H), 4,12 (т, J=5,7 Гц, 2H), 3,63-3,50 (м, 4H), 3,18 (с, 9H), 2,35-2,20 (м, 2H).

15

ПРИКЛАД 4 Отримання Ex-23

20





Стадія А: Отримання проміжної сполуки S-1b

5 (2S, 3R, 4S, 5S, 6R)-6-(ацетоксиметил)тетрагідро-2H-піран-2,3,4,5-тетраіліттетраацетат S-1a (5 г, 12,81 ммоль) додавали до розчинника 48 % HBr (7,25 мл, 64,0 ммоль) в AcOH і DCM (40 мл) при 0 °C і суміш перемішували при 0 °C протягом 1 години. Реакційну суміш переливали в насичений водний розчин гідрокарбонату натрію, охолоджений на льоду, і суміш екстрагували DCM (3×60 мл). Органічний шар промивали розсоллом, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фільтрували і концентрували, а потім неочищений продукт очищали флеш-хроматографією на силікагелю (елююючи 0~30 % EtOAc/PE) з отриманням S-1b.

10 Стадія В: Отримання проміжної сполуки S-1c

До розчину S-1b (4,5 г, 10,94 ммоль) в сухому DMF (45 мл) додавали азид натрію (0,854 г, 13,13 ммоль) і реакційну суміш перемішували при 18 °C протягом 30 хв. Реакційну суміш розбавляли водою (30 мл) і екстрагували EtOAc (3×80 мл). Органічний шар сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і упарювали до сухого стану. Неочищений продукт очищали флеш-хроматографією на силікагелю (елююючи 0~30 % EtOAc/PE) з отриманням S-1c. До розчину S-1b (4,5 г, 10,94 ммоль) в сухому DMF (45 мл) додавали азид натрію (0,854 г, 13,13 ммоль) і реакційну суміш перемішували при 18 °C протягом 30 хв. Реакційну суміш розбавляли водою (30 мл) і екстрагували EtOAc (3×80 мл). Органічний шар сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і упарювали до сухого стану. Неочищений продукт очищали флеш-хроматографією на силікагелю (елююючи 0~30 % EtOAc/PE) з отриманням S-1c.

Стадія С: Отримання проміжної сполуки S-1d

25 До розчину S-1c (3,15 г, 8,44 ммоль) в EtOH (60 мл) додавали 10 % Pd-C (0,898 г, 0,844 ммоль). Реакційну ємність продували повітрям і заповнювали H<sub>2</sub> при 50 фунт/кв. дюйм (345 кПа). Реакційну суміш перемішували при 18 °C протягом 5 год. Реакційну суміш розбавляли EtOAc, фільтрували через целіт і концентрували з отриманням S-1d, яку використовували для наступної стадії.

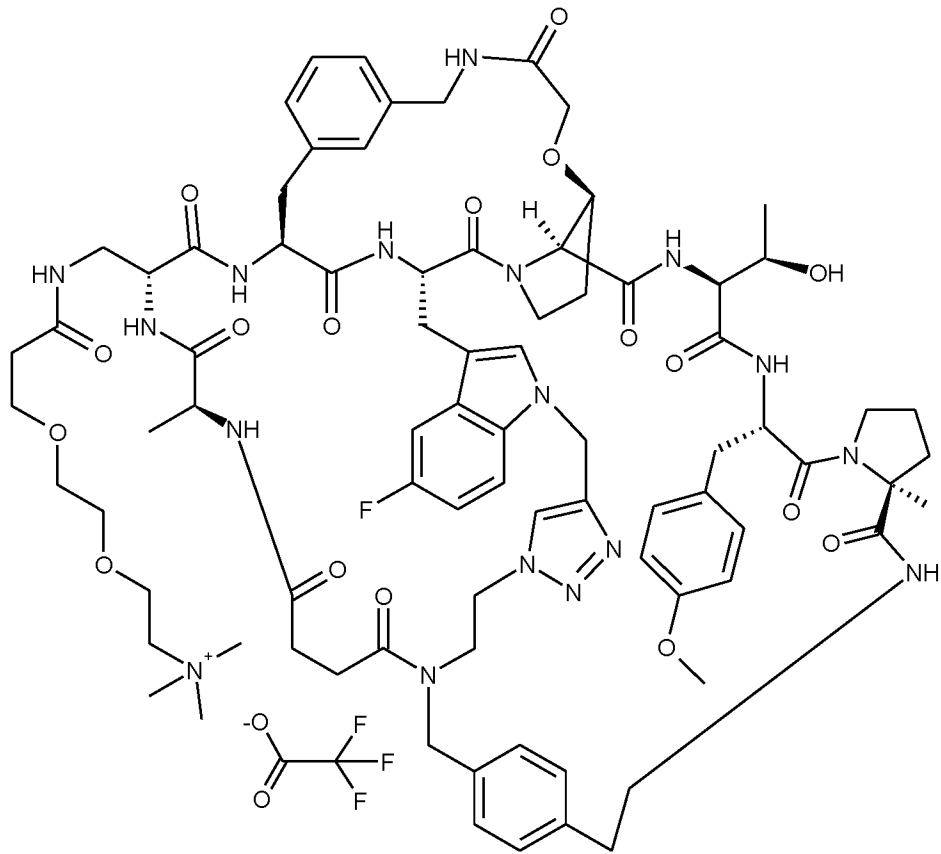
Стадія D: Отримання проміжної сполуки S-1e

30 До розчину S-1d (2,34 г, 6,74 ммоль) в безводному THF (20 мл) додавали дигідрофуран-2,5-діон (0,742 г, 7,41 ммоль) і Et<sub>3</sub>N (0,939 мл, 6,74 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 3 год. до повного витрачення вихідного матеріалу, а потім упарювали. Отриманий неочищений продукт очищали флеш-хроматографією на силікагелю (елююючи 0~10 % DCM/MeOH) з отриманням S-1e. MS (ESI): m/z (M+H)<sup>+</sup> 448,1. <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ: 6,48 (д, J=9,04 Гц, 1H), 5,43 (с, 1H), 5,24 (т, J=8,93 Гц, 1H), 5,07-5,17 (м, 2H), 4,08-4,18 (м, 2H), 4,04 (кв, J=6,69 Гц, 1H), 2,72-2,84 (м, 1H), 2,58-2,69 (м, 2H), 2,43-2,53 (м, 2H), 2,15 (с, 3H), 2,06 (с, 3H), 2,04 (с, 4H), 2,00 (с, 3H).

Стадія E: Отримання Ex-23

40 До розчину Ex-01 (300 мг, 0,215 ммоль) і S-1e (115 мг, 0,258 ммоль) в DMF (8 мл) і воді (0,4 мл) додавали DIEA (0,150 мл, 0,860 ммоль) і HATU (98 мг, 0,258 ммоль) і отриманий розчин перемішували при к. т. протягом 1 год. Реакційну суміш краплинно гасили 1 N LiOH (2,58 мл, 2,58 ммоль), отриманий розчин перемішували при к. т. протягом 2 год., а потім фільтрували і фільтрат очищали на колонці C18 обернено-фазовою ВЕРХ з використанням градієнта 29-34 % ацетонітрилу (0,05 % TFA) у воді (0,05 % TFA) з отриманням Ex-23. LC/MS: [M+1]<sup>+</sup> = 1657,1.

ПРИКЛАД 5 Отримання Ex-14

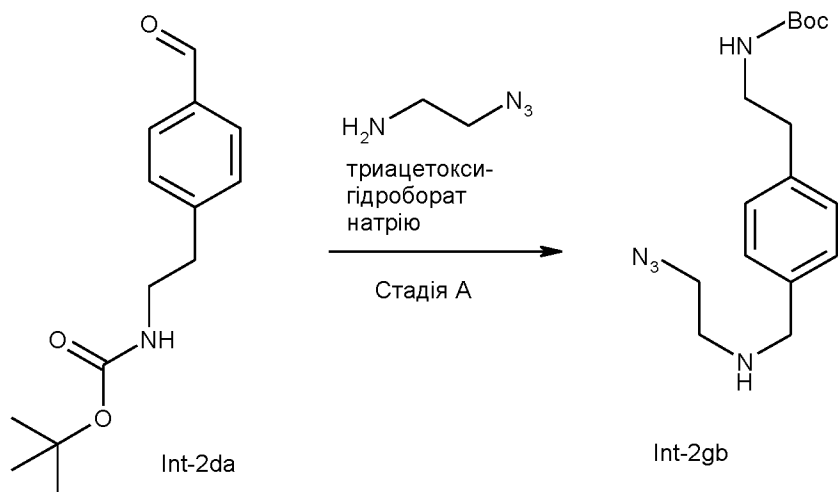


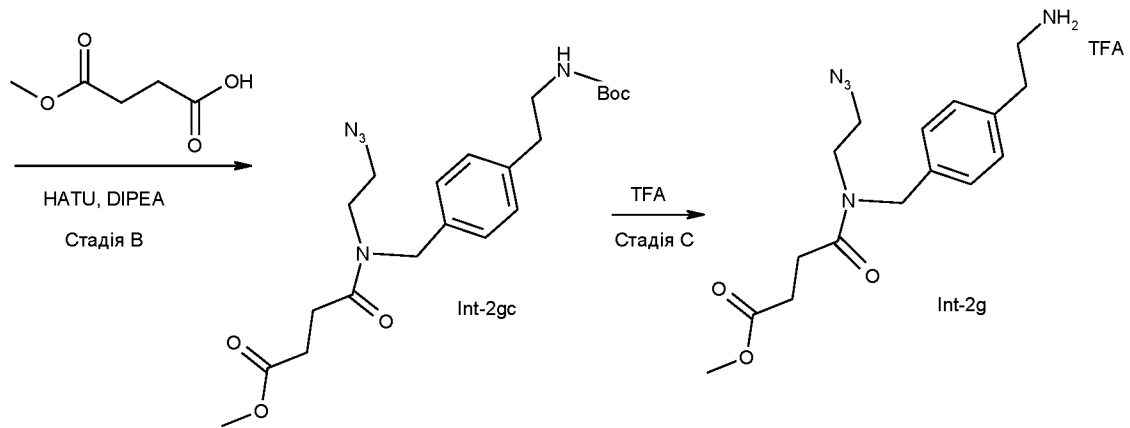
Ex-14

5      Сполуку Ex-14 отримували способом, аналогічним способом, описаним в прикладі 1, але з використанням різних "лінкерів" і альтернативних стадій синтезу. Синтез цих "лінкерів", альтернативні стадії і основна зборка описані нижче.

Отримання проміжної сполуки Int-2g

10      Проміжну сполуку Int-2g, придатну як "лінкер" для отримання сполук за винаходом, отримували за наступною схемою:





#### Стадія А - Синтез Int-2gb

До розчину Int-2da (0,5 г, 2 ммоль) і 2-азидоетанаміну, HCl (0,246 г, 2 ммоль) в THF (16 мл) при кімнатній температурі на водяній бані порційно додавали триацетоксигідроборат натрію (1,06 г, 5 ммоль) і суміш перемішували протягом 2 год. Реакційну суміш повільно гасили насиченим водним розчином NaHCO<sub>3</sub>, а потім екстрагували DCM і промивали розсоллом. Об'єднані органічні шари сушили над MgSO<sub>4</sub> і концентрували з отриманням Int-2gb. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>= 320,3.

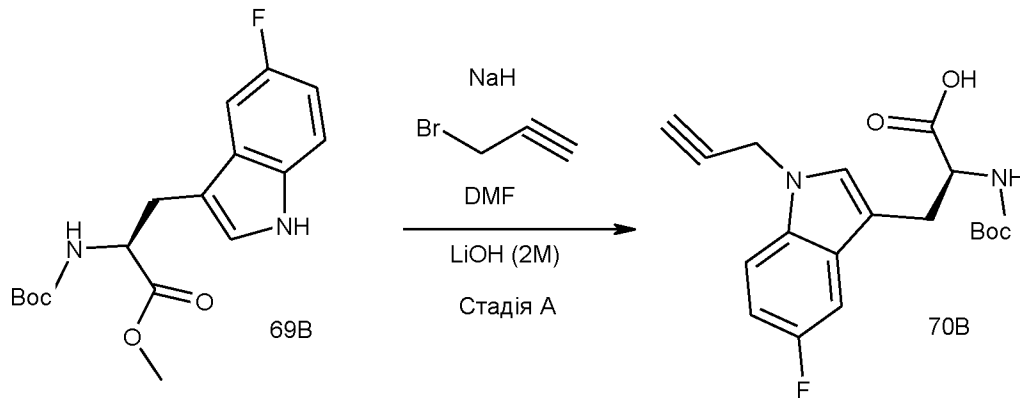
#### Стадія В - Синтез Int-2gc

До розчину Int-2gb (0,64 г, 2 ммоль) і монометилсукцинату (0,3 г, 2,3 ммоль) в DMF (4 мл) і DCM (8 мл) додавали HATU (0,914 г, 2,4 ммоль) і DIPEA (0,7 мл, 4,01 ммоль) при -15 °С. Отриманий розчин перемішували при -15 °С протягом 2 годин, потім гасили водою і концентрували. Залишок очищали обернено-фазовою хроматографією на C18 (елюючи сумішшю ацетонітрил/вода+0,1 % TFA) з отриманням Int-2gc. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>= 434,3.

#### Стадія С - Синтез Int-2g

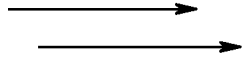
До розчину Int-2gc (0,52 г, 1,2 ммоль) в DCM (9 мл) додавали TFA (3 мл, 38,9 ммоль) при кімнатній температурі. Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 2 год. Суміш концентрували при зниженому тиску з отриманням Int-2g. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>= 334,3.

Отримання проміжних сполук 70B і 76C

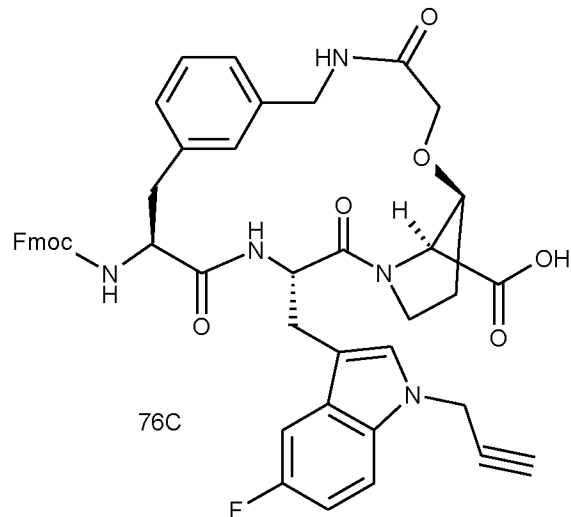


те ж, що і для проміжної  
сполуки 76

Стадія С-Н



Стадія В



Стадія А - Синтез проміжної сполуки 70В

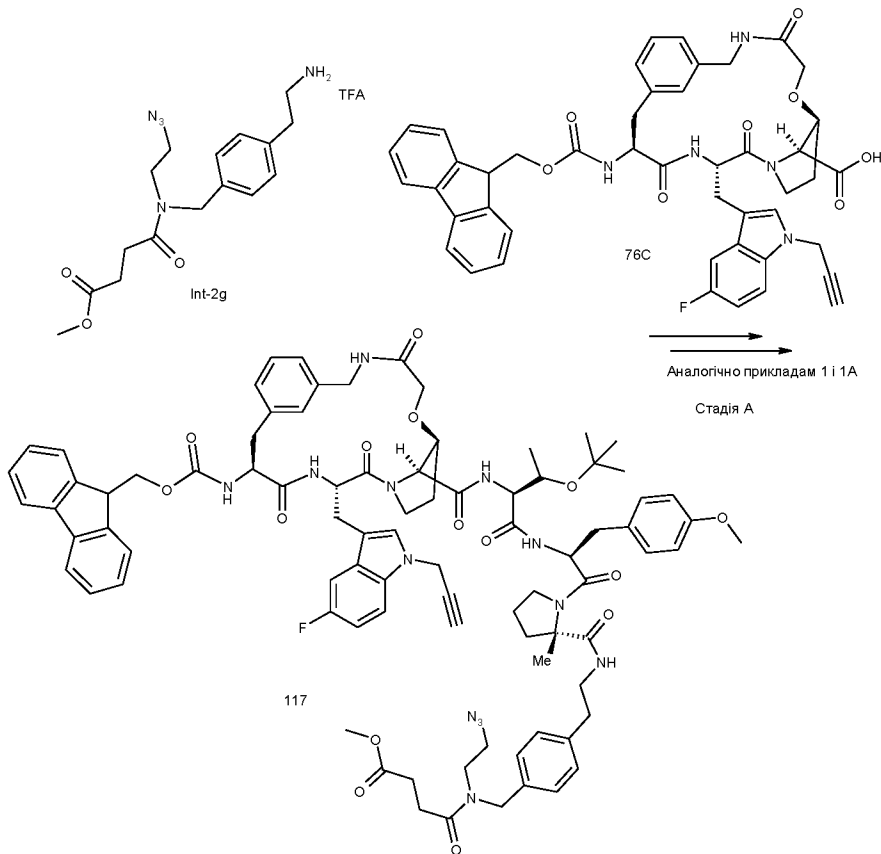
5 До розчину 69В (1,5 г, 4,46 ммоль) в DMF (17,8 мл) при 0 °С додавали 95 % NaH (0,141 г, 5,56 ммоль), і отриманий розчин перемішували при 0 °С протягом 20 хв., а потім краплинно додавали 3-бромпроп-1-ін (80 % в толуолі) (0,596 мл, 5,35 ммоль). До отриманого розчину краплинно додавали водний розчин гідроксиду літію (2 М) (3345 мкл, 6,69 ммоль). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 2 год., фільтрували і очищали обернено-фазовою ВЕРХ (елюючи сумішшю ацетонітрил/вода+0,1 % TFA) з отриманням 70В.  
10 LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 361,0, (M+Na)<sup>+</sup>: 383,0.

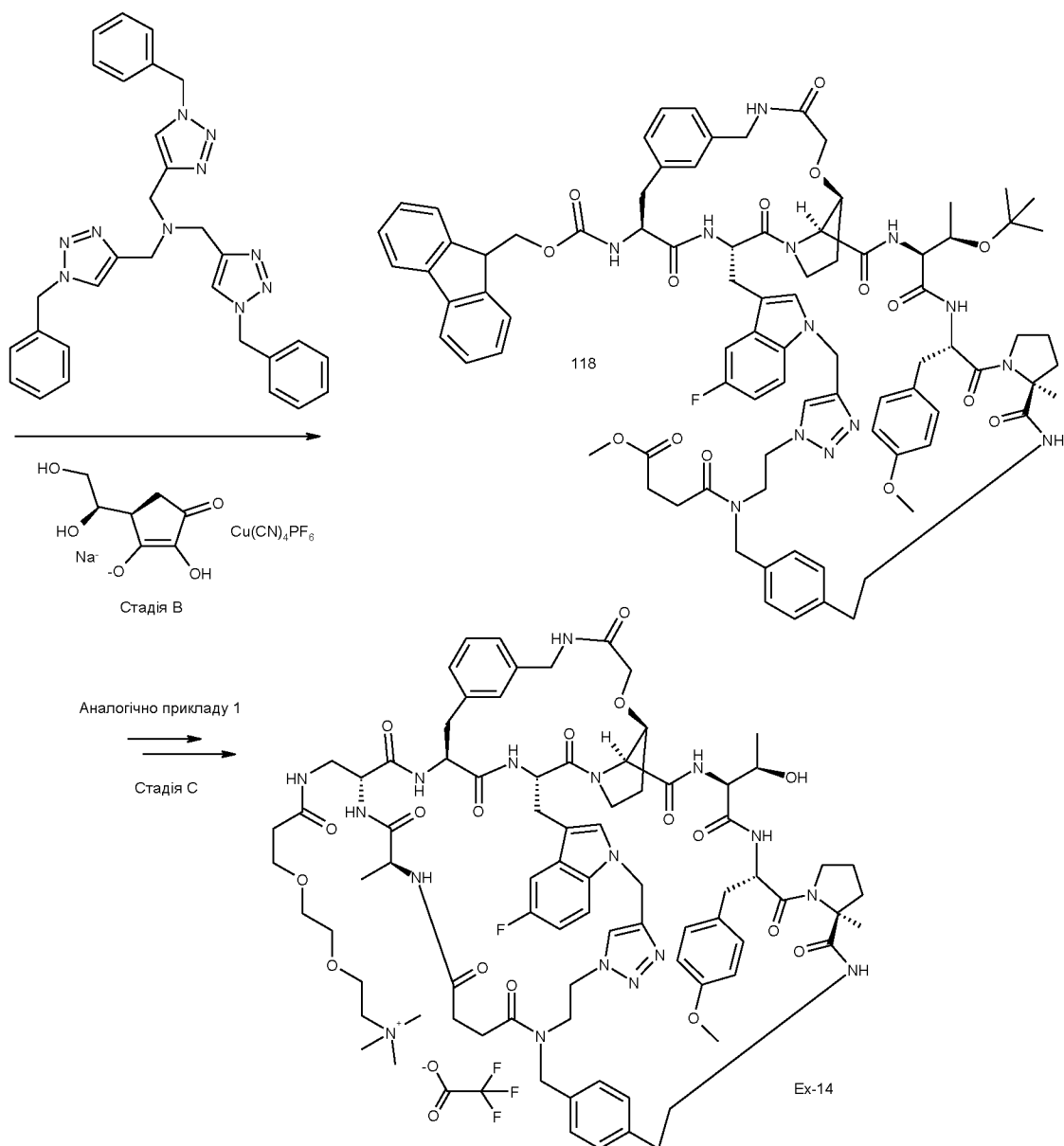
Стадія В - Синтез проміжної сполуки 76С

Конвертування 70В на проміжну сполуку 76С проводили по методиках, аналогічним методиках, описаних для отримання проміжної сполуки 76, стадії С-Н. LC/MS: [M+1]<sup>+</sup> = 812,16.

Зборка в сполуку прикладу Ex-14:

15





Стадія А - Синтез проміжної сполуки 117

- 5 Проміжну сполуку 117 отримували з проміжних сполук Int-2g і 76С відповідно до методик, аналогічних методикам, описаним в прикладі 1 і 1А. Більш конкретно, Int-2g функціоналізували за допомогою тих же реагентів і методик, що і для отримання проміжної сполуки 77В, стадії А-В, далі розробляли наступні методики для отримання проміжної сполуки 86, стадії G-J, а потім в кінці проводили зв'язування з проміжною сполукою 76С відповідно до методик отримання сполуки прикладу 1А, стадії В-С, з отриманням 117. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 1573,36.

Стадія В - Синтез проміжної сполуки 118

- 15 Гексафторфосфат тетракіс(ацетонітрил)міді(І) (51,6 мг, 0,138 ммоль), тріс[(1-бензил-1h-1,2,3-триазол-4-іл)метил]амін (73,4 мг, 0,138 ммоль) і аскорбат натрію (137 мг, 0,692 ммоль) в суміші BuOH (185,00 мл)/вода (93 мл) барботували азотом, а потім нагрівали до 50 °С. У реакційну суміш додавали проміжну сполуку 117 (435,3 мг, 0,277 ммоль) як тверду речовину. Через 1 год. реакційну суміш обробляли водним буфером при рН 4 і екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні шари упарювали і залишок очищали обернено-фазовою хроматографією (елюючи градієнтом з ацетонітрилу/води + 0,1 % мурашина кислота) з отриманням проміжної сполуки 118. LC/MS: (M+1)<sup>+</sup>: 1573,2.

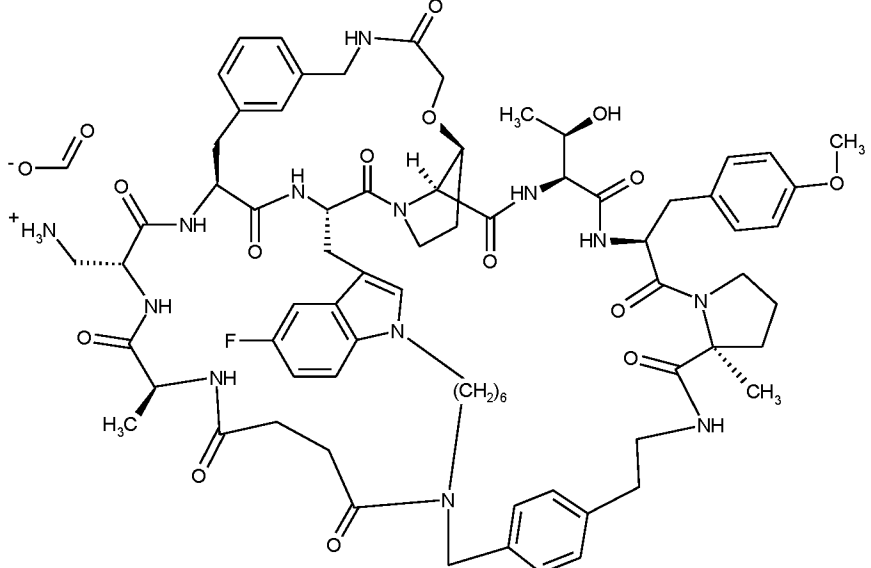
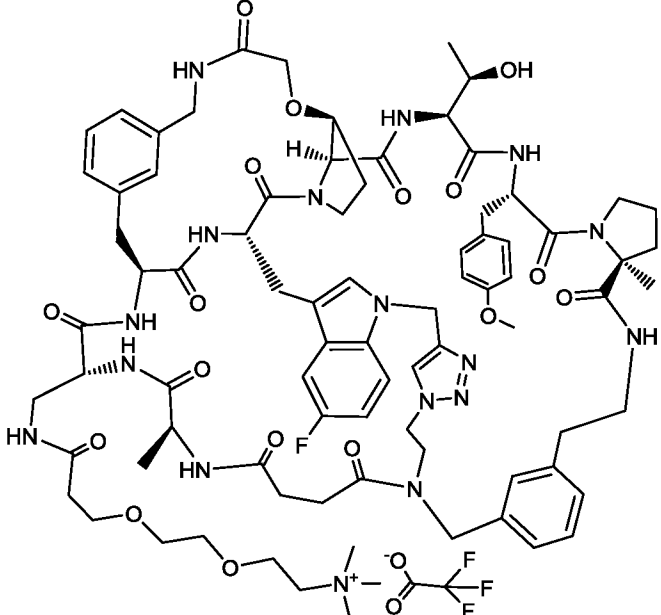
- 20 Стадія С - Синтез Ex-14

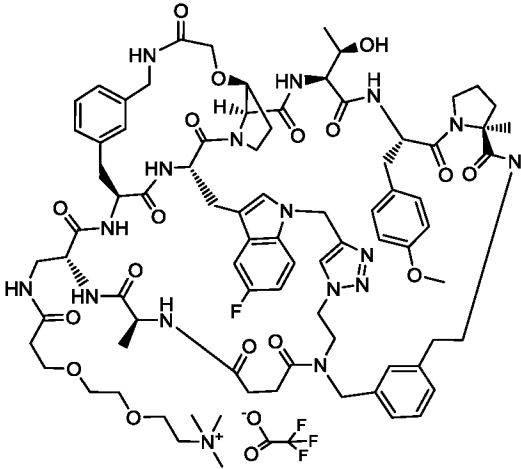
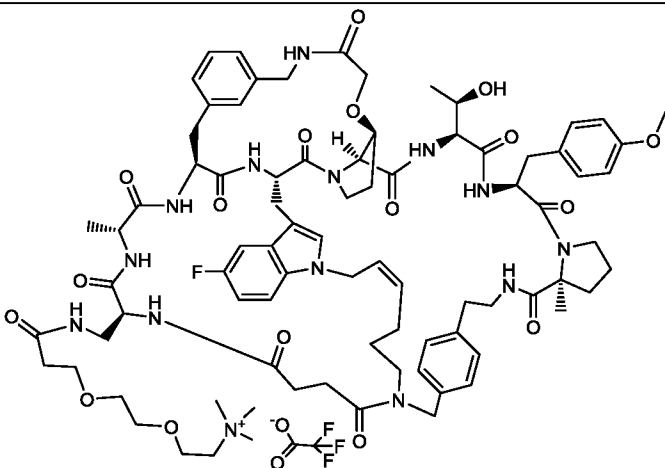
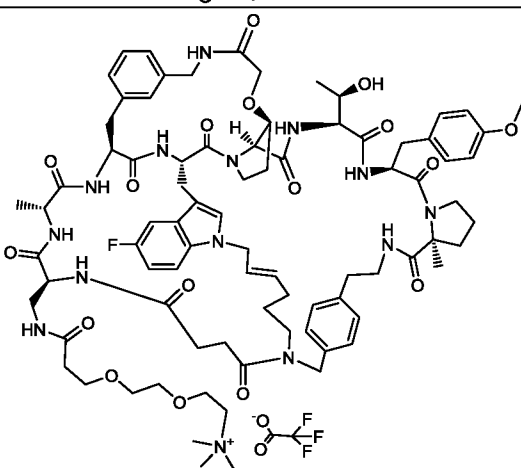
Синтез сполуки прикладу Ex-14 проводили з проміжної сполуки 118 відповідно до методик, аналогічних методикам, описаним в прикладі 1, включаючи використання альтернативних

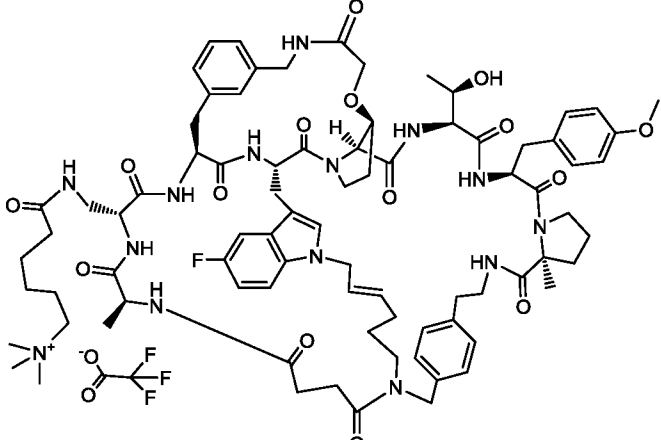
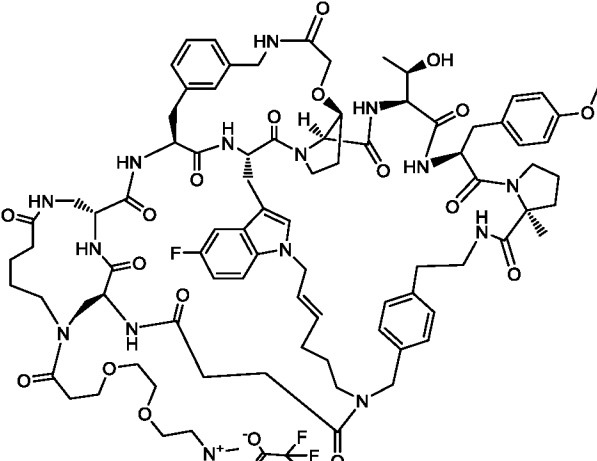
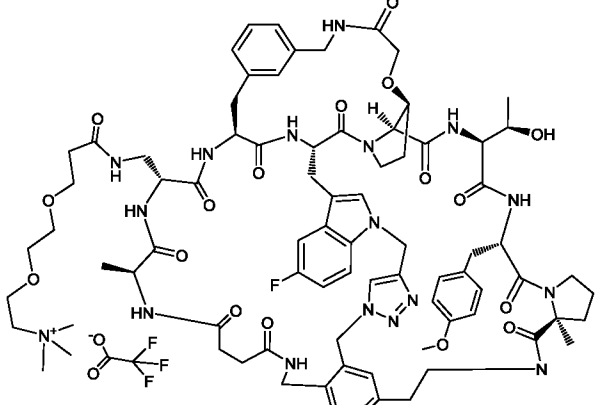
спейсерів для зборки. LC/MS:  $[M+1]^+ = 1621,01$ .

- 5 З використанням схем синтезу, описаних вище, і як буде зрозуміло, в деяких випадках з відповідним заміщенням певних проміжних сполук, включаючи використання альтернативних спейсерів, відомих фахівцям в даній галузі, отримання яких може бути описане вище, отримували наступні сполуки за винаходом, наведені в таблиці 2 нижче. Крім того, також в даній заявці можуть бути описані альтернативні сольові форми сполук за даним винаходом:

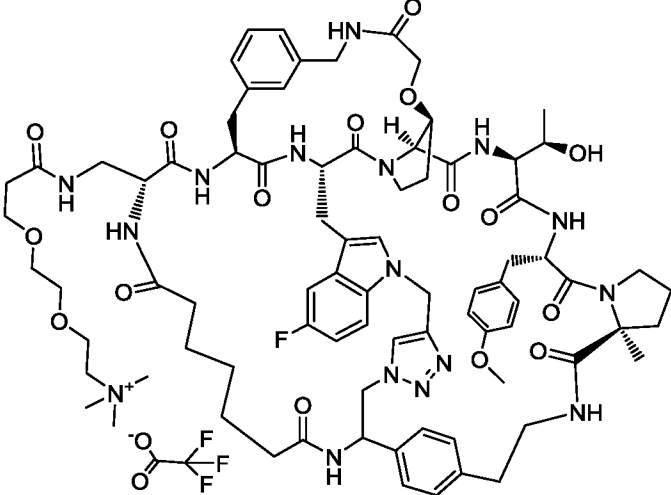
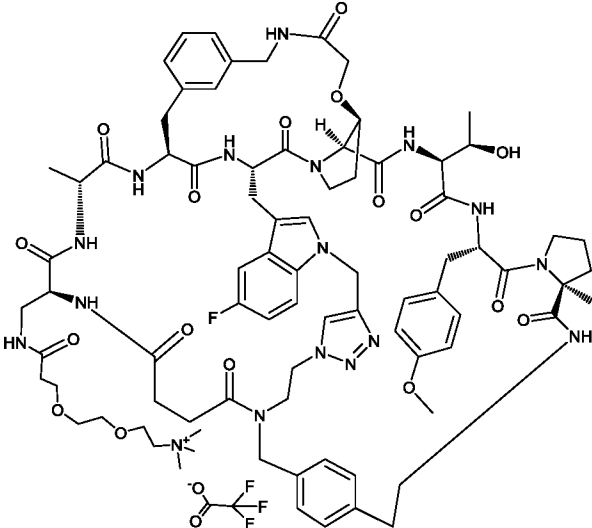
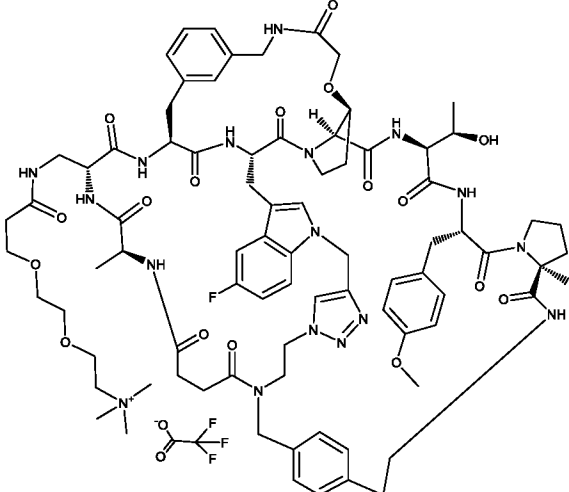
Таблиця 2

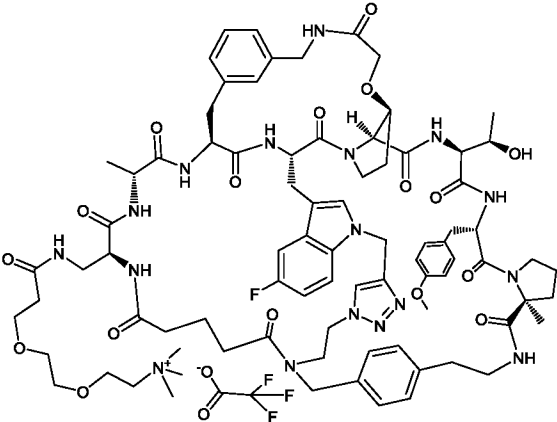
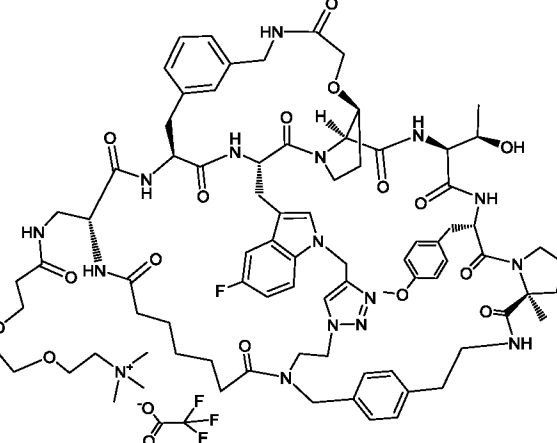
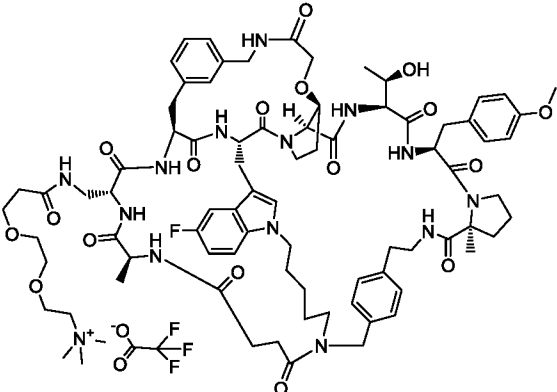
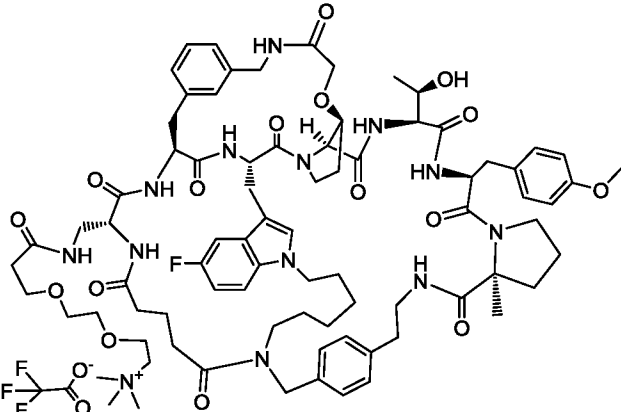
Ex- №	Структура	LC/MS: (M) <sup>+</sup>
Ex-01, Сіль АСОН		1394,4
Ex-02, сіль TFA		1622,12

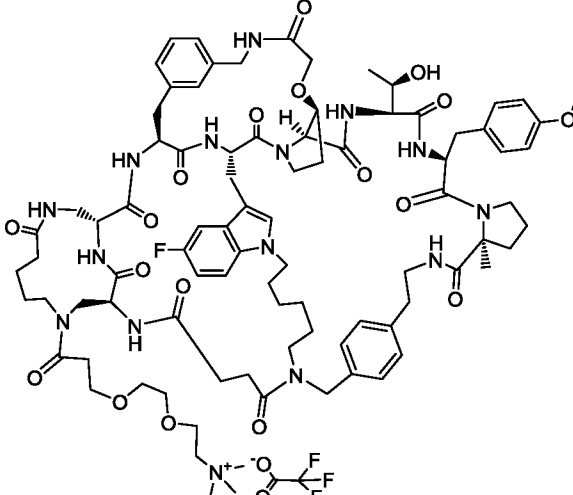
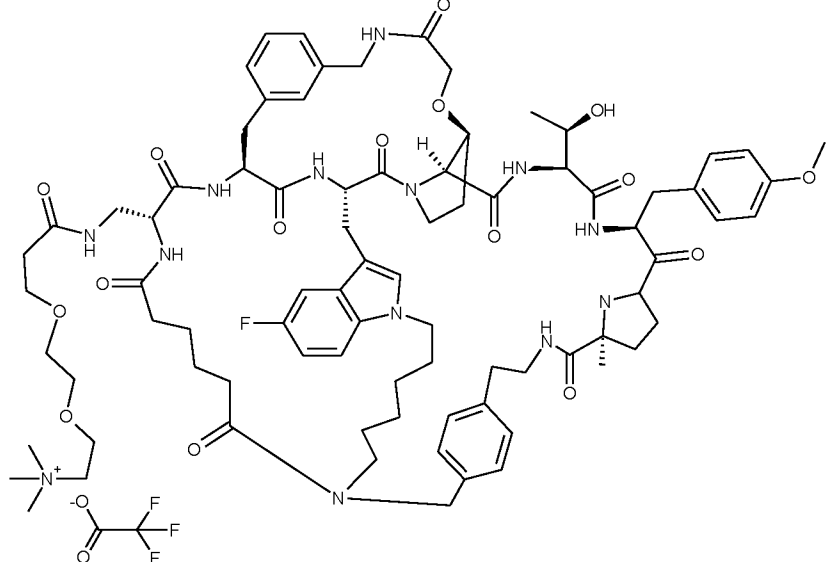
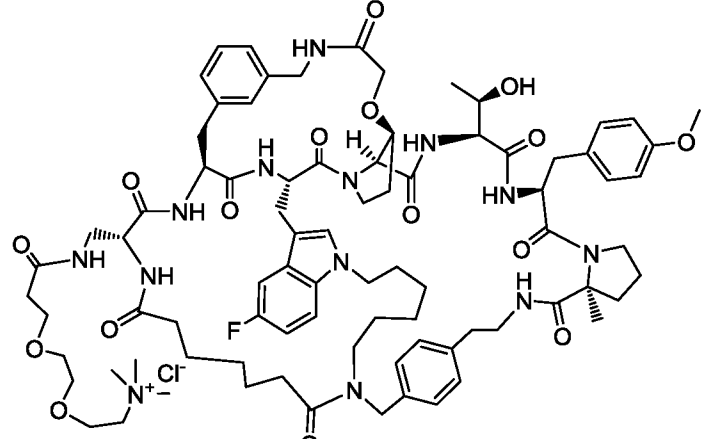
Ex- №	Структура	LC/MS: (M) <sup>+</sup>
Ex-03, сіть TFA		1622,06
Ex-04, сіть TFA		1595,04
Ex-05, сіть TFA		1594,54

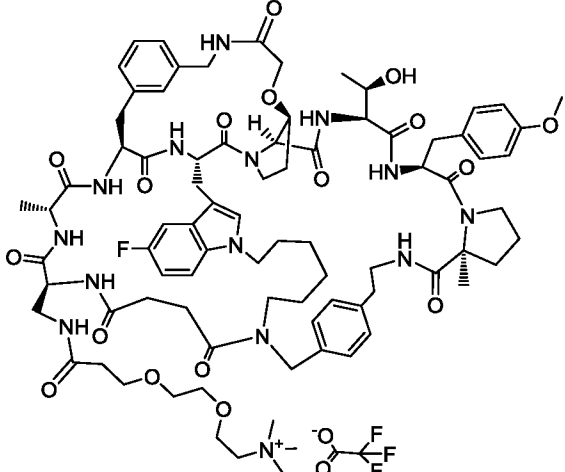
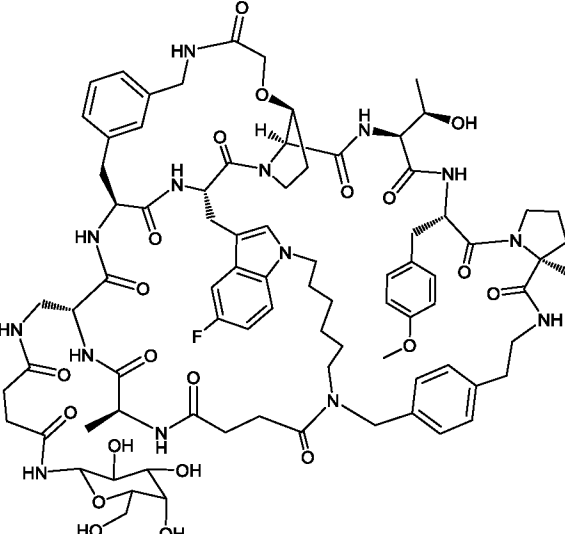
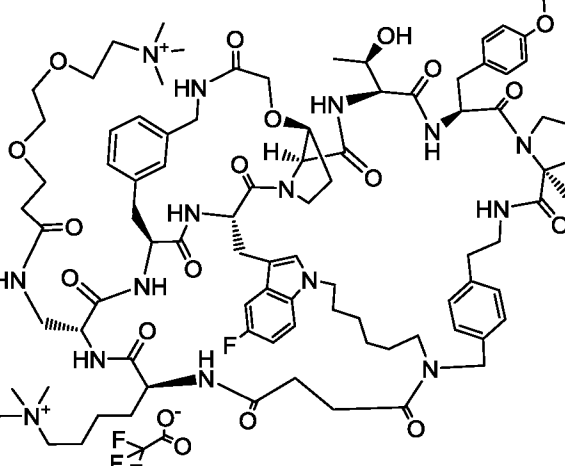
Ex- №	Структура	LC/MS: (M) <sup>+</sup>
Ex-06, сіть TFA		1549,44
Ex-07, сіть TFA		1692,66
Ex-08, сіть TFA		1608,46

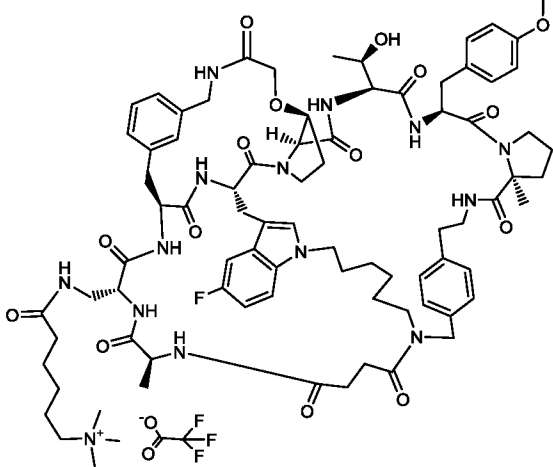
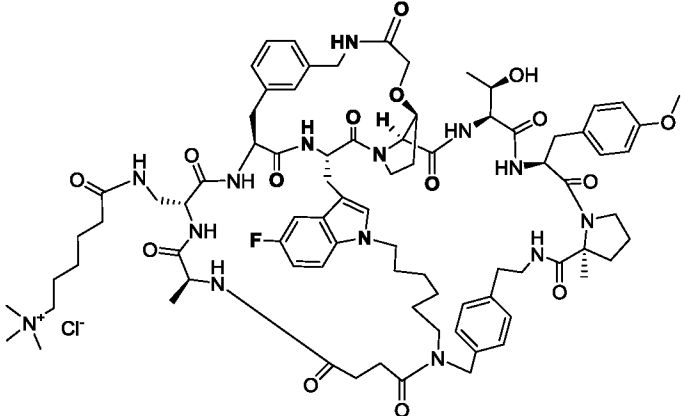
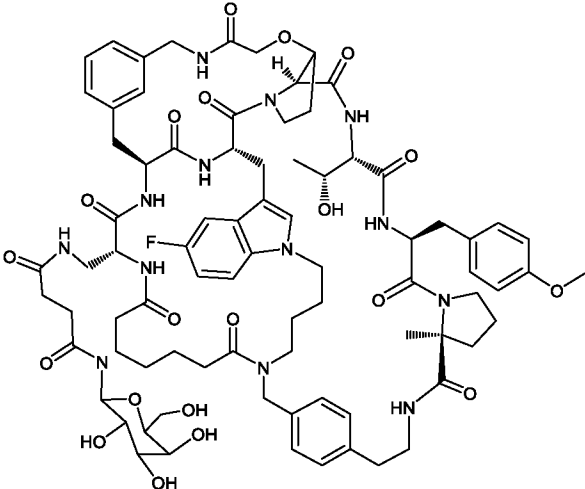


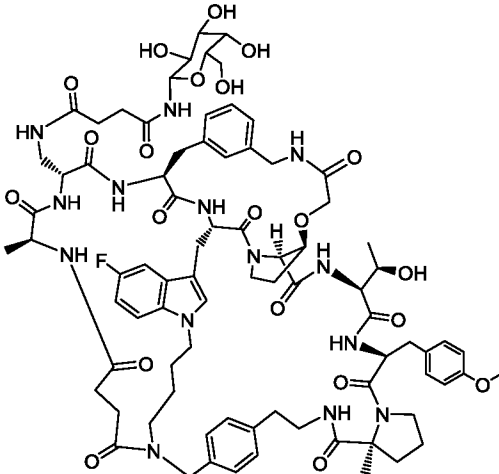
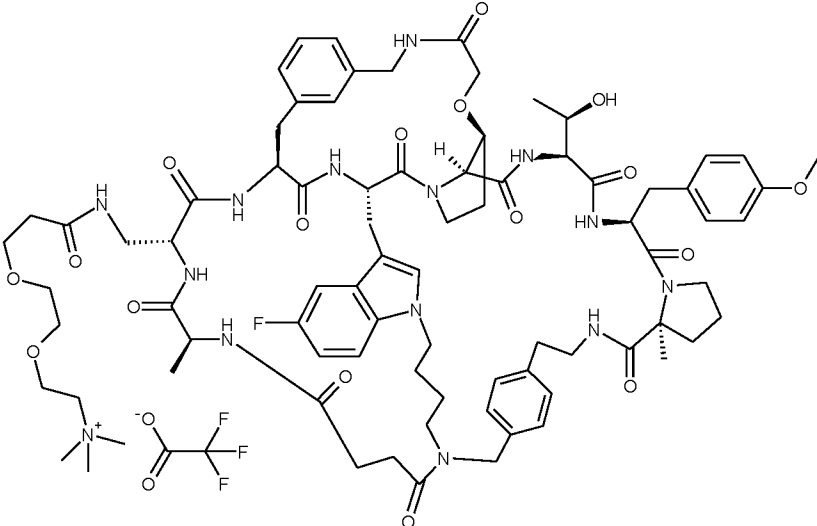
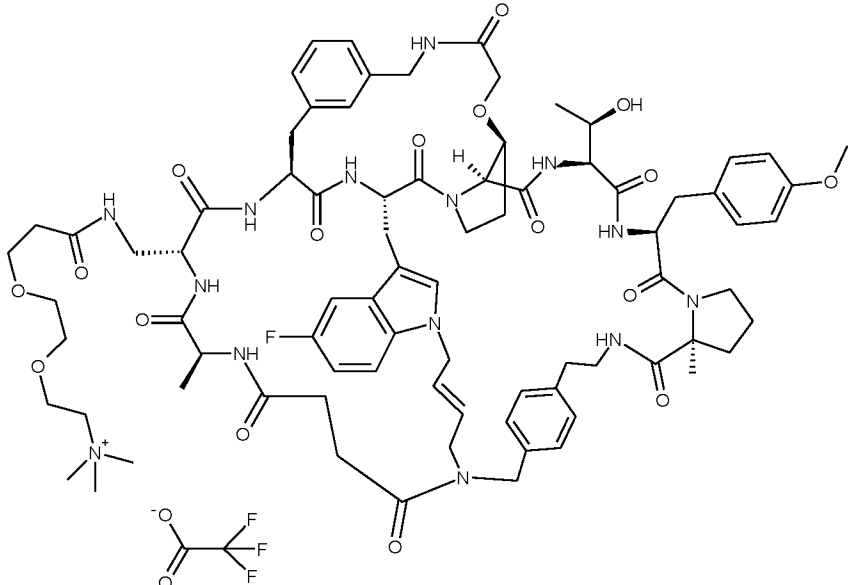
Ex- №	Структура	LC/MS: (M) <sup>+</sup>
Ex-12, сіть TFA	 <p>The structure of Ex-12 is a large, complex cyclic peptide derivative. It features a central core with multiple side chains, including a trifluoroacetate group (CF<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>) and a dimethylammonium cation (N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>). The molecule is highly branched and contains several amide bonds and a hydroxyl group.</p>	1579,54
Ex-13, сіть TFA	 <p>The structure of Ex-13 is a large, complex cyclic peptide derivative, similar to Ex-12 but with a different side chain configuration. It features a central core with multiple side chains, including a trifluoroacetate group (CF<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>) and a dimethylammonium cation (N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>). The molecule is highly branched and contains several amide bonds and a hydroxyl group.</p>	1621,74
Ex-14, сіть TFA	 <p>The structure of Ex-14 is a large, complex cyclic peptide derivative, similar to Ex-12 and Ex-13 but with a different side chain configuration. It features a central core with multiple side chains, including a trifluoroacetate group (CF<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>) and a dimethylammonium cation (N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>). The molecule is highly branched and contains several amide bonds and a hydroxyl group.</p>	1622,28

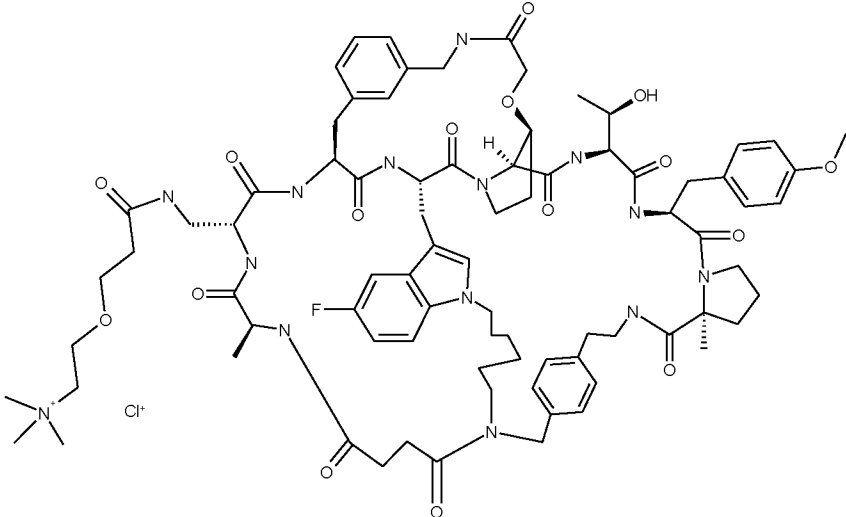
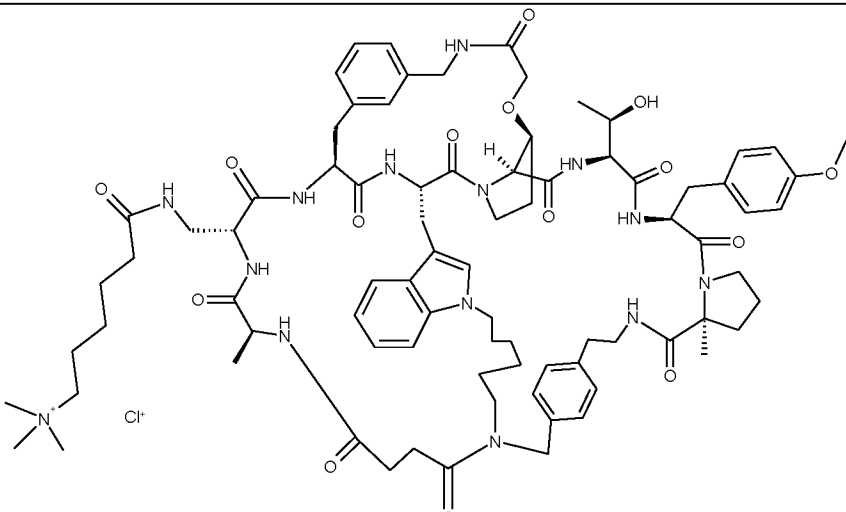
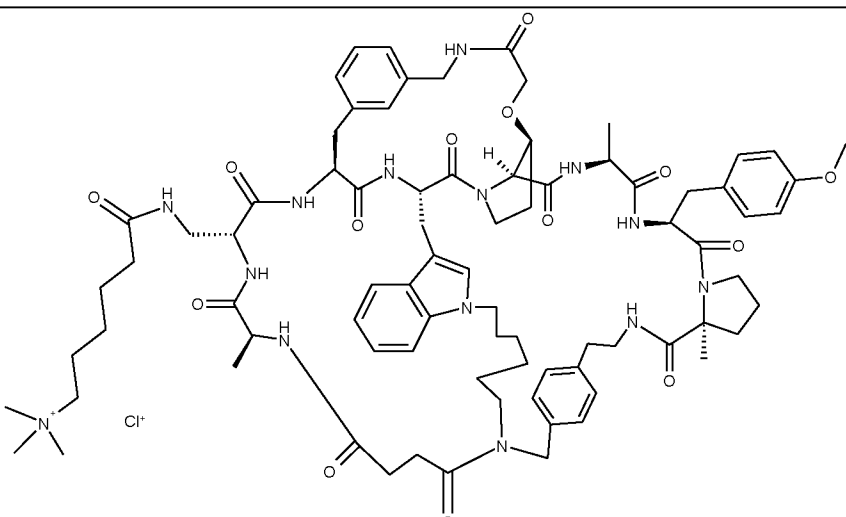
Ex- №	Структура	LC/MS: (M) <sup>+</sup>
Ex-15, сіть TFA		1636,54
Ex-16, сіть TFA		1592,52
Ex-17, сіть TFA		1582,68
Ex-18, сіть TFA		1539,75

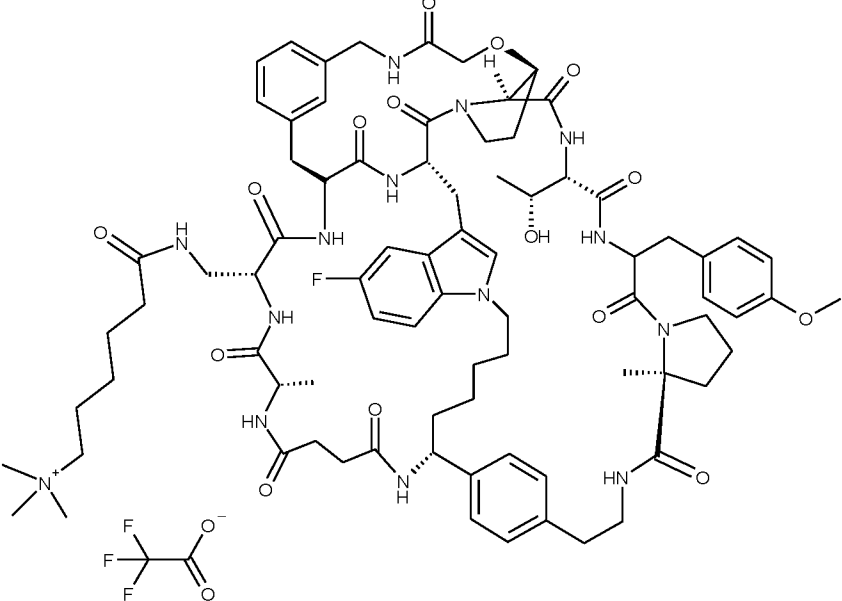
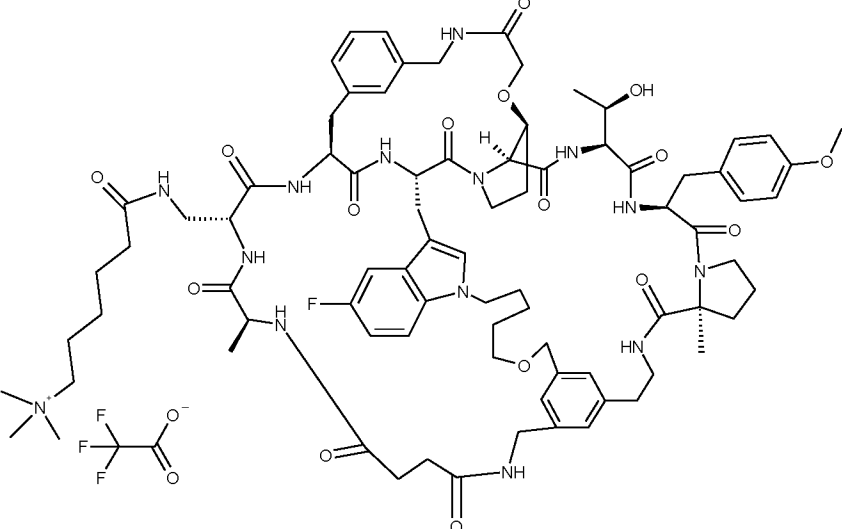
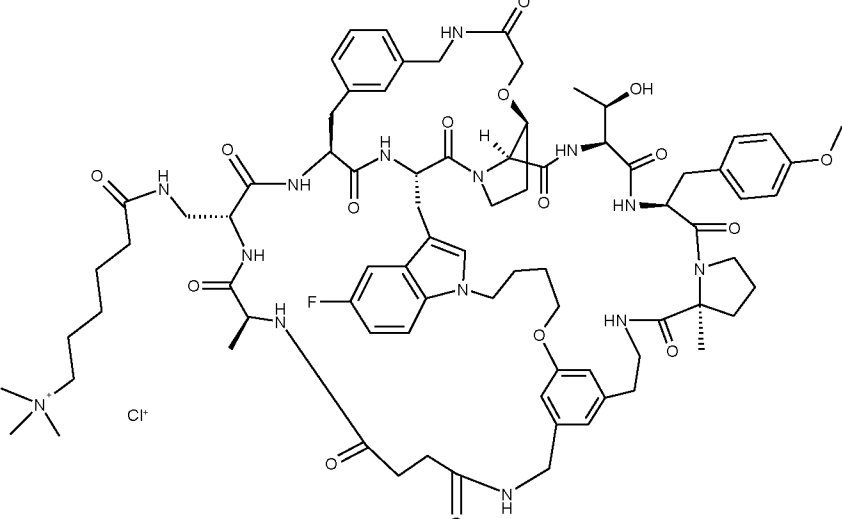
Ex- №	Структура	LC/MS: (M) <sup>+</sup>
Ex-19, сіть TFA		1692,91
Ex-20, сіть TFA		1553,62
Ex-21, сіть Cl		1566,91

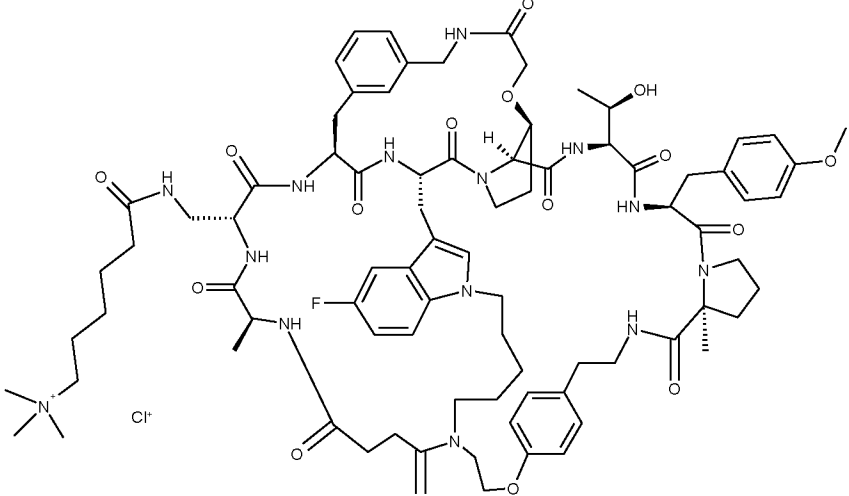
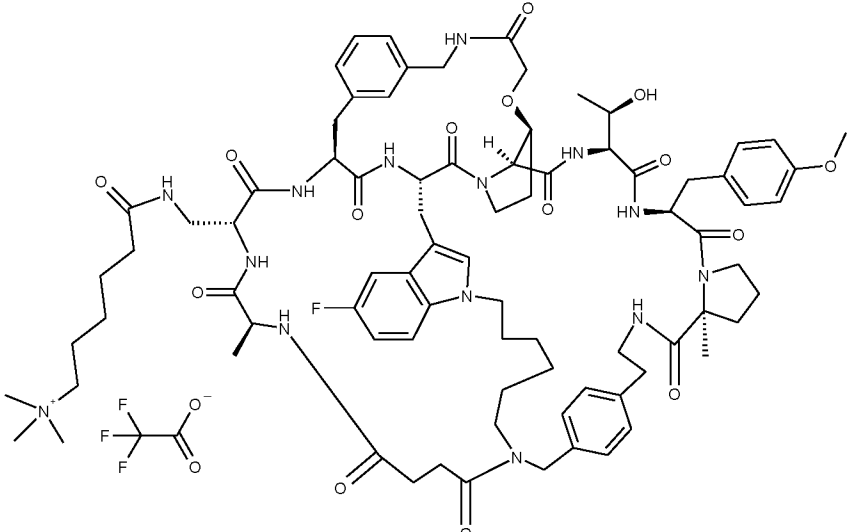
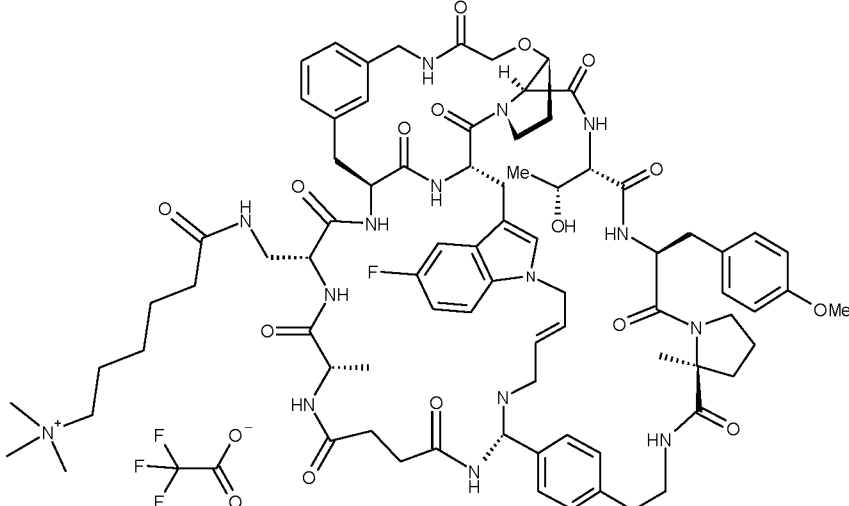
Ex- №	Структура	LC/MS: (M) <sup>+</sup>
Ex-22, сіть TFA		1596,66
Ex-23		1656,57
Ex-24, сіть TFA		1810,06 (половинная масса 848,64)

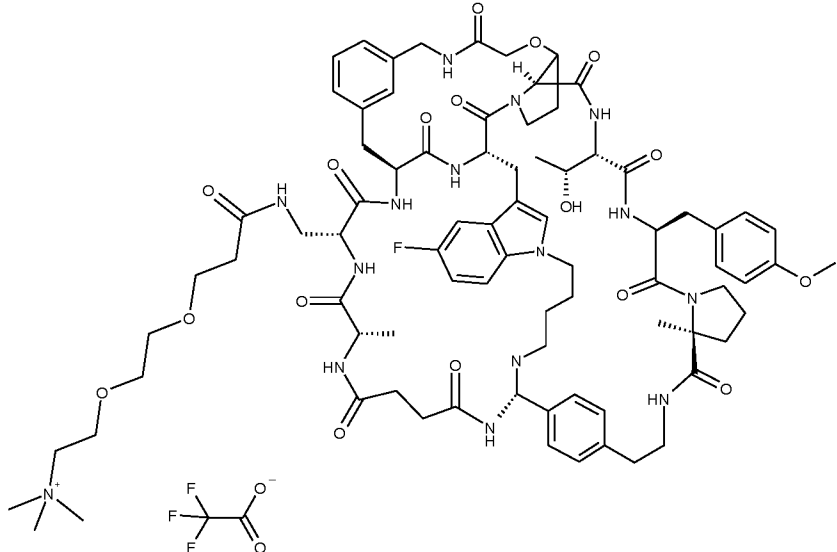
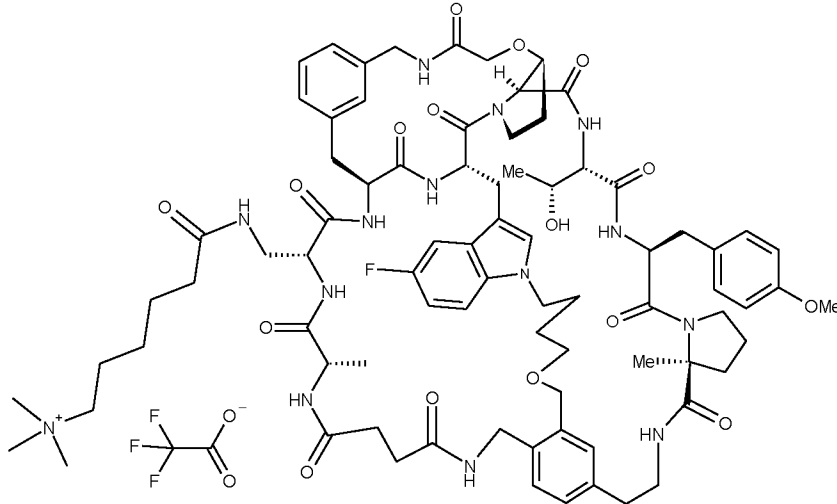
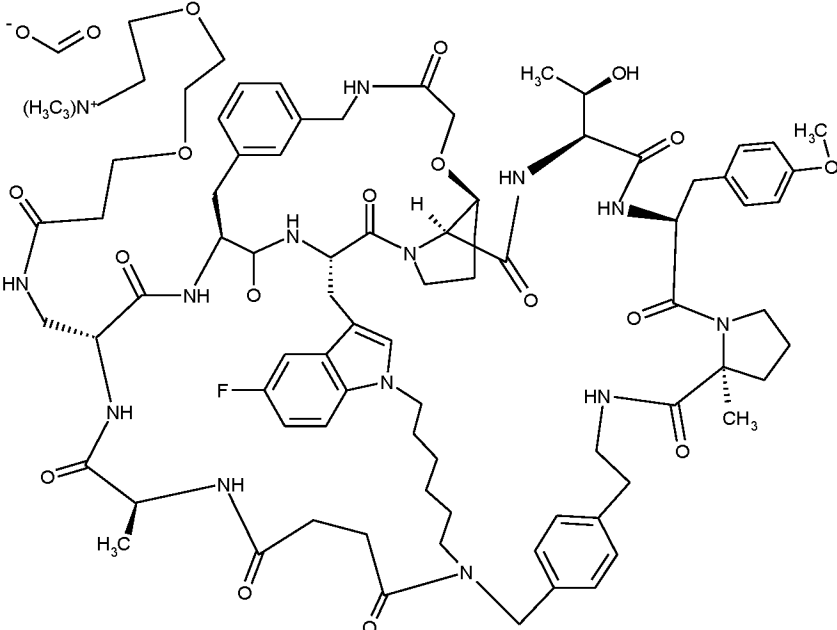
Ex- №	Структура	LC/MS: (M) <sup>+</sup>
Ex-25, сіть TFA		1550,6
Ex-25, сіть Cl		1550,6
Ex-26		1599,19

Ex- №	Структура	LC/MS: (M) <sup>+</sup>
Ex-27	 <p>The structure of Ex-27 is a large, complex molecule. It features a central indole ring system with a fluorine atom at the 5-position. This core is linked to various side chains, including a long chain with a terminal hydroxyl group, a chain with a terminal hydroxyl group and a methoxy group, and a chain with a terminal hydroxyl group and a methyl group. There are also several amide and ester linkages throughout the structure.</p>	1628,74
Ex-28, сіть TFA	 <p>The structure of Ex-28 is a large, complex molecule, similar to Ex-27. It features a central indole ring system with a fluorine atom at the 5-position. This core is linked to various side chains, including a long chain with a terminal hydroxyl group, a chain with a terminal hydroxyl group and a methoxy group, and a chain with a terminal hydroxyl group and a methyl group. There are also several amide and ester linkages throughout the structure. A trifluoroacetate counterion is shown below the main structure.</p>	1568,63
Ex-29, сіть TFA	 <p>The structure of Ex-29 is a large, complex molecule, similar to Ex-28. It features a central indole ring system with a fluorine atom at the 5-position. This core is linked to various side chains, including a long chain with a terminal hydroxyl group, a chain with a terminal hydroxyl group and a methoxy group, and a chain with a terminal hydroxyl group and a methyl group. There are also several amide and ester linkages throughout the structure. A trifluoroacetate counterion is shown below the main structure.</p>	1566,60

Ex- №	Структура	LC/MS: (M) <sup>+</sup>
Ex-31, сіть Cl	 <p>Chemical structure of Ex-31, a complex molecule featuring a central indole ring system, multiple amide linkages, and a quaternary ammonium cation with a chloride counterion.</p>	1552,85
Ex-35, сіть Cl	 <p>Chemical structure of Ex-35, a complex molecule featuring a central indole ring system, multiple amide linkages, and a quaternary ammonium cation with a chloride counterion.</p>	1533,40
Ex-36, сіть Cl	 <p>Chemical structure of Ex-36, a complex molecule featuring a central indole ring system, multiple amide linkages, and a quaternary ammonium cation with a chloride counterion.</p>	1520,60

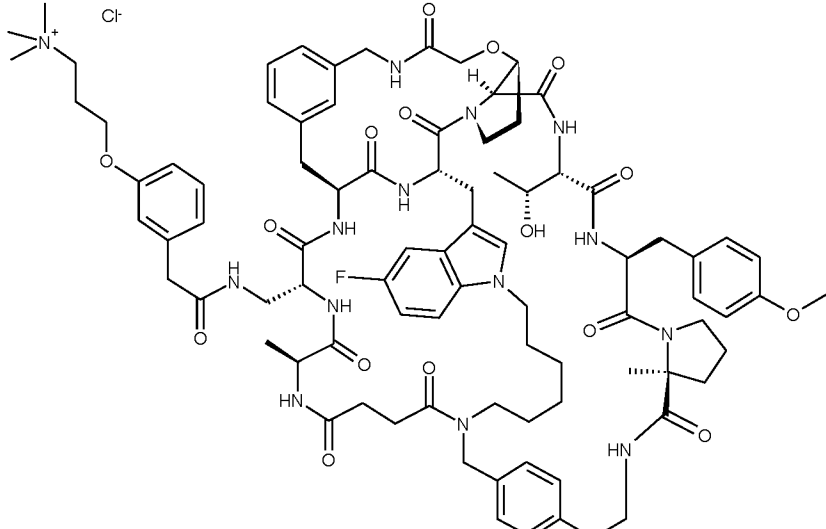
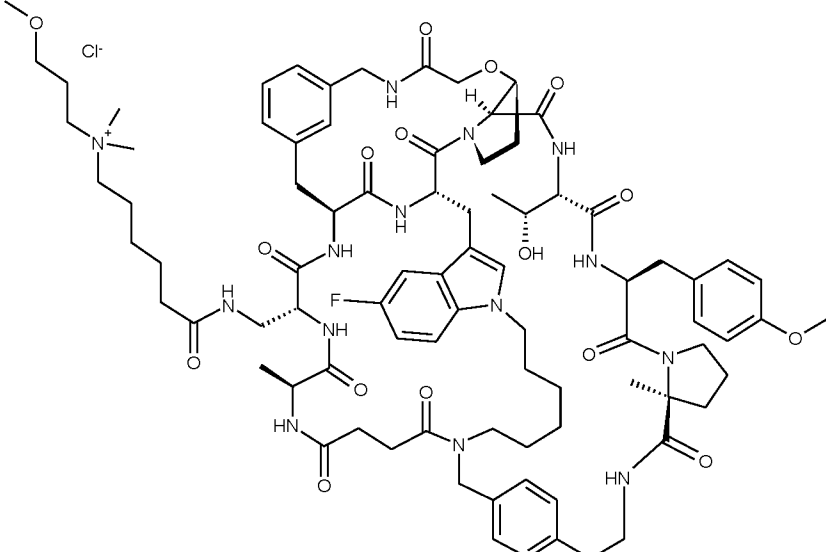
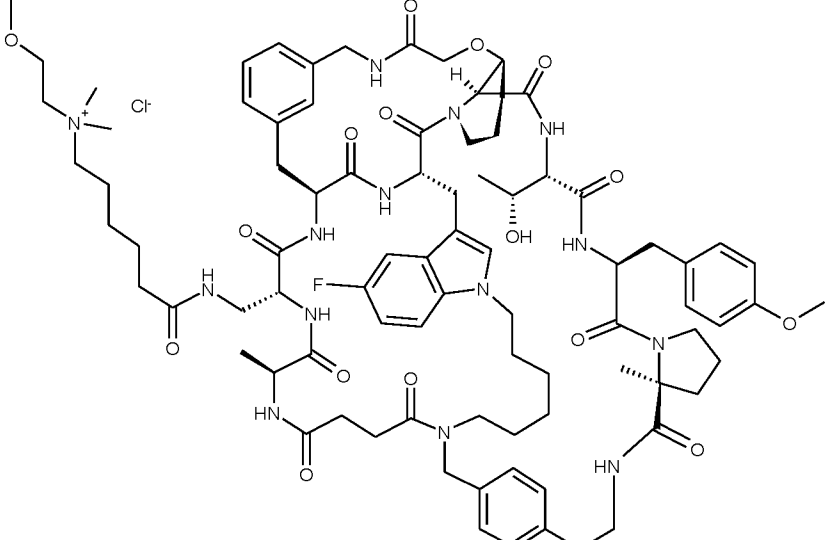
Ex- №	Структура	LC/MS: (M) <sup>+</sup>
<p>Ex-38, сіть TFA</p>		<p>1536,21</p>
<p>Ex-39, сіть TFA</p>		<p>1551,21</p>
<p>Ex-40, сіть Cl</p>		<p>1538,60</p>

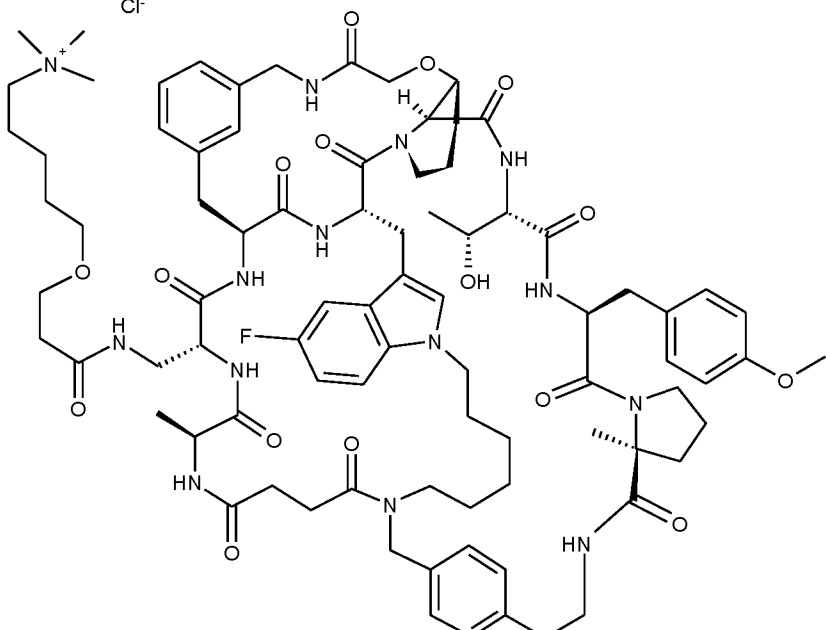
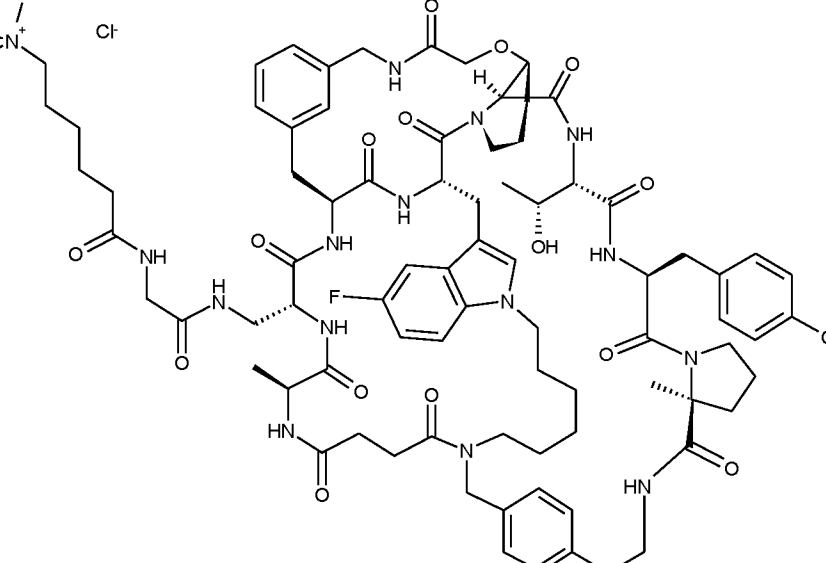
Ex- №	Структура	LC/MS: (M) <sup>+</sup>
Ex-41, сіть Cl		1566,40
Ex-44, сіть TFA		1549,49
Ex-47, сіть TFA		1534,27

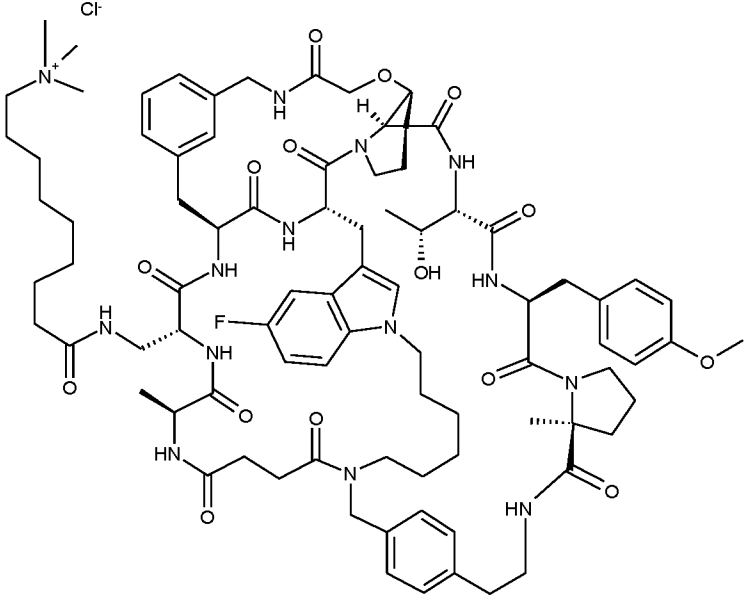
Ex- №	Структура	LC/MS: (M) <sup>+</sup>
<p>Ex-48, сіть TFA</p>		<p>1582,20</p>
<p>Ex-49, сіть TFA</p>		<p>1551,21</p>
<p>Ex-50, сіть АСОН</p>		<p>1596,3</p>



Ex- №	Структура	LC/MS: (M) <sup>+</sup>
<p>Ex-53, сіть Cl</p>		<p>1381,33</p>
<p>Ex-54, сіть Cl</p>		<p>1383,44</p>
<p>Ex-55, сіть АСОН</p>		<p>1583,69</p>

Ex- №	Структура	LC/MS: (M) <sup>+</sup>
Ex-56, сіть Cl		1628,95
Ex-57, сіть Cl		1608,95
Ex-58, сіть Cl		1594,93

Ex- №	Структура	LC/MS: (M) <sup>+</sup>
Ex-59, сіть Cl	 <p>The structure of Ex-59 is a complex, multi-ring system. It features a central indole ring substituted with a fluorine atom and a long chain containing a quaternary ammonium cation (N<sup>+</sup> with three methyl groups) and a chloride counterion (Cl<sup>-</sup>). The molecule is further decorated with several amide and ester groups, a hydroxyl group, and a methoxy-substituted benzene ring. Stereochemistry is indicated with wedged and dashed bonds.</p>	1593,7
Ex-60, сіть Cl	 <p>The structure of Ex-60 is very similar to Ex-59, sharing the same core indole-based framework and various functional groups. The primary difference is in the side chain attached to the quaternary ammonium cation, which is shorter and lacks the ether linkage present in Ex-59. Like Ex-59, it includes a chloride counterion (Cl<sup>-</sup>) and has its stereochemistry defined by wedged and dashed bonds.</p>	1607,4

Ex- №	Структура	LC/MS: (M) <sup>+</sup>
Ex-61, сіть Cl		1592,4

#### ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ

Окремі сполуки за винаходом піддавали одній або декільком методикам для аналізу їхньої активності відносно антагонізму активності PCSK9.

- 5 Нижче приводиться опис способів аналізу, що використовуються для визначення активності сполук за винаходом і будь-яких описаних порівнюваних сполук, відносно антагонізму PCSK9. Біотинільований PCSK9 отримували з комерційного джерела.

#### TR-FRET для LDLR

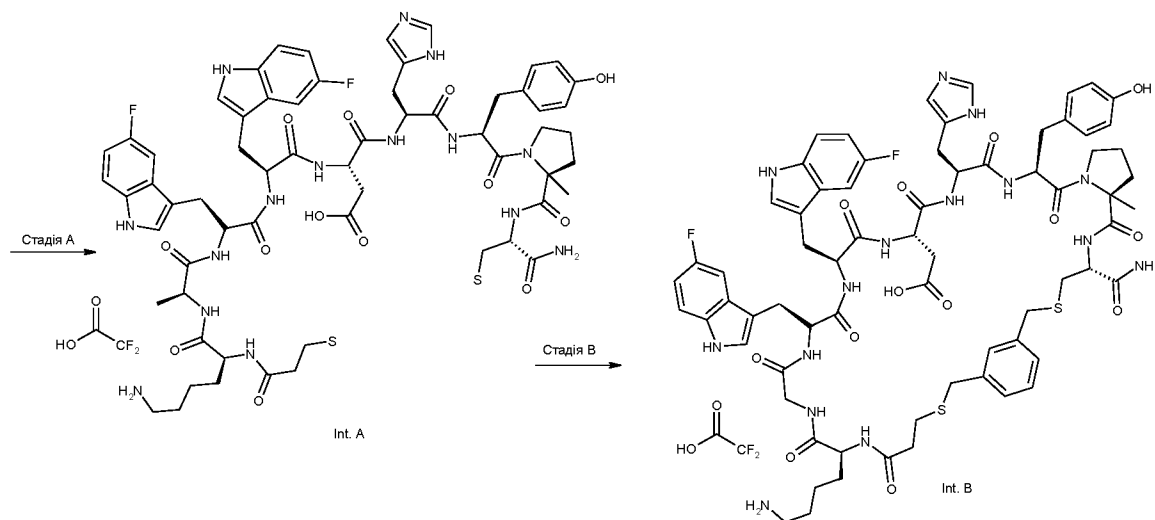
- 10 Аналіз TR-FRET для PCSK9 вимірює взаємодію між PCSK9 і LDLR. Розчин, який містить 40 нМ біотинільований PCSK9+10 нМ Lance ULight Streptavidin готують в 50 mM HEPES, pH 7,4, з 0,15 M NaCl, 5 mM CaCl<sub>2</sub>, 0,01 % BSA, і 0,01 % поверхнево-активною речовиною P20. Окремий розчин, який містить 40 нМ rhLDLR-6xHis+10 нМ Eu-W1024 анти-6xHis готують в тій же буферній системі. Echo використовують для перенесення 0,750 мл сполуки в планшет для аналізу з подальшим додаванням 15 мкл PCSK9+Ulight і 15 мкл LDLR+Eu. Кінцевий об'єм аналізу становить 30,750 мкл, що містять 20 нМ PCSK9, 5 нМ Ulight, 20 нМ LDLR і 5 нМ Eu. Реакційну суміш інкубують при кімнатній температурі протягом щонайменше двох годин, а потім проводять вимірювання флуоресценції з використанням Envision Multilabel Reader. Величини IC<sub>50</sub> визначають шляхом апроксимації даних до сигмовидної кривої доза-відповідь з використанням нелінійної регресії. Кількість імпульсів (кількість імпульсів B) міченого європідом LDLR визначають для визначення того, чи впливають сполуки несприятливим чином на LDLR. Зниження кількості імпульсів B, ймовірно, вказує на хибнопозитивне інгібування.

#### TR-FRET зі стандартом Alexa FRET

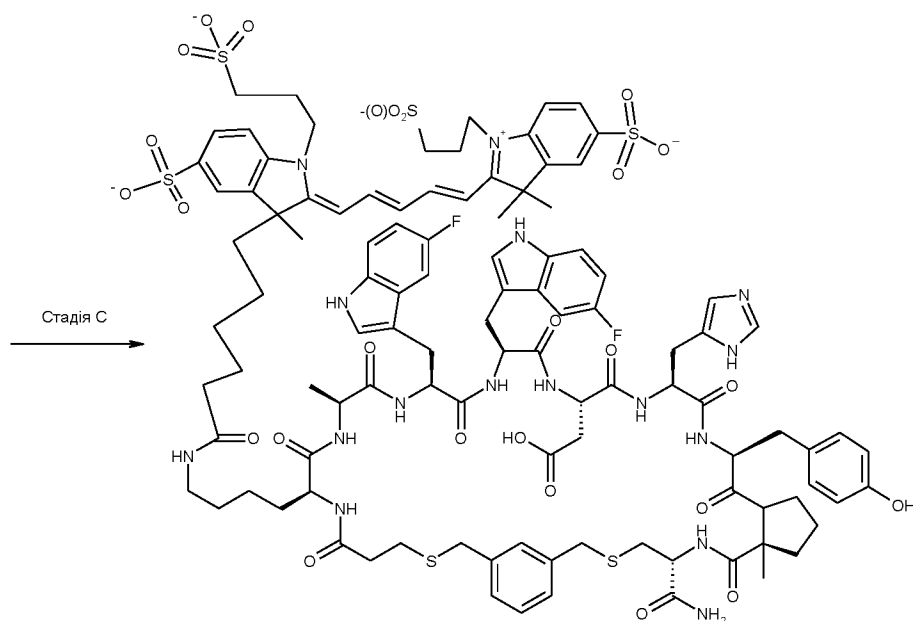
- 25 Стандартний аналіз Alexa FRET для PCSK9 вимірює взаємодію між PCSK9 і міченим AlexaFluor647 (AF) циклічним пептидом, реагентом A (KD=83 нМ). Розчин, який містить 1 нМ біотинільований PCSK9+2,5 нМ Lance Streptavidin Europium (Strep-Eu) готують в 50 mM HEPES pH 7,4, з 0,15 M NaCl, 5 mM CaCl<sub>2</sub>, 0,01 % BSA і 0,01 % поверхнево-активною речовиною P20. Окремий розчин, що містить 40 нМ міченого AlexaFluor циклічного пептиду, готують в тій же буферній системі. Echo використовують для перенесення 0,750 мл сполуки в планшет для аналізу з подальшим додаванням 15 мкл PCSK9+Strep-Eu і 15 мкл пептиду AF. Кінцевий об'єм аналізу становить 30,750 мкл, що містять 0,5 нМ PCSK9, 1,25 нМ Strep-Eu і 20 нМ циклічний пептид AF. Реакційну суміш інкубують при кімнатній температурі протягом щонайменше двох годин, а потім проводять вимірювання флуоресценції з використанням Envision Multilabel Reader. Величини IC<sub>50</sub> визначають шляхом апроксимації даних до сигмовидної кривої доза-відповідь з використанням нелінійної регресії. Потім обчислюють Ki з IC<sub>50</sub> і K<sub>D</sub> циклічного пептиду AF. Кількість імпульсів (кількість імпульсів B) міченого європідом PCSK9 визначають для визначення того, чи впливають сполуки несприятливим чином на PCSK9. Зниження кількості імпульсів B, ймовірно, вказує на хибнопозитивне інгібування. Дані цієї процедури описуються як

"A=числова величина (наномолярна)".

Реагент А отримували відповідно до наступного способу:



5



Стадія А - Синтез проміжної сполуки Int-A

10 Пептид синтезували в масштабі 0,250 ммоль на мікрохвильовому пристрої для синтезу СЕМ Liberty Blue з використанням хімії Fmoc/tBu на амідній смолі PS Рінка MBHA, 0,32 ммоль г<sup>-1</sup>. Зборку проводили з використанням однократних приєднань з використанням 4 екв. 0,2 М Fmoc-захищеної амінокислоти в DMF, 4 екв. 0,5 М HATU в DMF, 4 екв. 2 М DIPEA (подвійне приєднання для Tug). Цикли видалення захисної групи Fmoc проводили з використанням 20 % (об./об.) піперидину в DMF.

15 Послідовність використаних Fmoc-захисених амінокислот і структурних елементів являє собою:

1. N-(((9H-флуорен-9-іл)метокси)карбоніл)-S-тритил-L-цистеїн
2. (S)-1-(((9H-флуорен-9-іл)метокси)карбоніл)аміно)-2-метилпіролідин-2-карбонова кислота
3. (((9H-флуорен-9-іл)метокси)карбоніл)-L-тирозин
- 20 4. N-(((9H-флуорен-9-іл)метокси)карбоніл)-N-тритил-L-гістидин
5. (S)-2-(((9H-флуорен-9-іл)метокси)карбоніл)аміно)-4-(трет-бутокс)-4-оксобутанова кислота
6. (S)-2-(((9H-флуорен-9-іл)метокси)карбоніл)аміно)-3-(5-фтор-1H-індол-3-іл)пропіонова кислота
- 25 7. (S)-2-(((9H-флуорен-9-іл)метокси)карбоніл)аміно)-3-(5-фтор-1H-індол-3-іл)пропіонова

кислота

8. (((9H-флуорен-9-іл)метокси)карбоніл)гліцин

9. N<sup>2</sup>-(((9H-флуорен-9-іл)метокси)карбоніл)-N<sup>6</sup>-(трет-бутоксикарбоніл)-L-лізин

10. 3-(триметиліо)пропіонова кислота

5 У кінці зборки смолу промивали DMF, MeOH, DCM, Et<sub>2</sub>O. Пептид відщеплювали від твердої підкладки з використанням 50 мл розчину TFA (об./об.) (91 % TFA, 5 % H<sub>2</sub>O, 4 % TIPS) протягом приблизно 1,5 години при кімнатній температурі. Смолу фільтрували, промивали TFA і розчином, концентрували до сухого стану і ліофілізували. Ліофілізація забезпечувала проміжну сполуку Int. A (399 мг), яку використовували як неочищений матеріал на наступній стадії. LCMS, аналітично обчислено для C<sub>61</sub>H<sub>75</sub>F<sub>2</sub>N<sub>15</sub>O<sub>13</sub>S<sub>2</sub>: 1328,48, знайдено: 1328,2 (M+1)<sup>+</sup>.

10 Стадія В - Синтез проміжної сполуки Int-B: як описано для реагенту В

15 Очищення проводили за допомогою ОФ-ВЕРХ (Waters DeltaPak C4, подвійна касета, 40×100 мм, 15 мкм, 300А; від 15 % до 35 % ACN/вода+модифікатор 0,1 % TFA протягом 20 хв.). Зібрані фракції ліофілізували з отриманням 35 мг проміжної сполуки Int-B. LCMS аналітично обчислено для C<sub>69</sub>H<sub>81</sub>F<sub>2</sub>N<sub>15</sub>O<sub>13</sub>S<sub>2</sub>: 1430,62; знайдено: 1430,9 (M+1)<sup>+</sup>

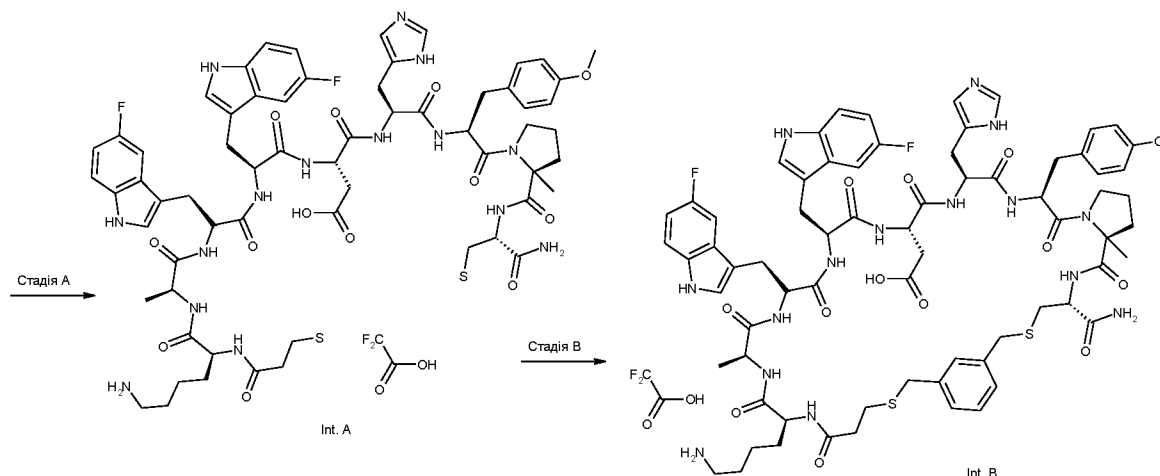
15 Стадія С - Синтез сполуки реагенту А: як описано для реагенту В

LCMS аналітично обчислено для C<sub>105</sub>H<sub>122</sub>F<sub>2</sub>N<sub>17</sub>O<sub>26</sub>S<sub>6</sub><sup>3-</sup>: 2268,58; 1135,8 (M+2)<sup>2+</sup>.

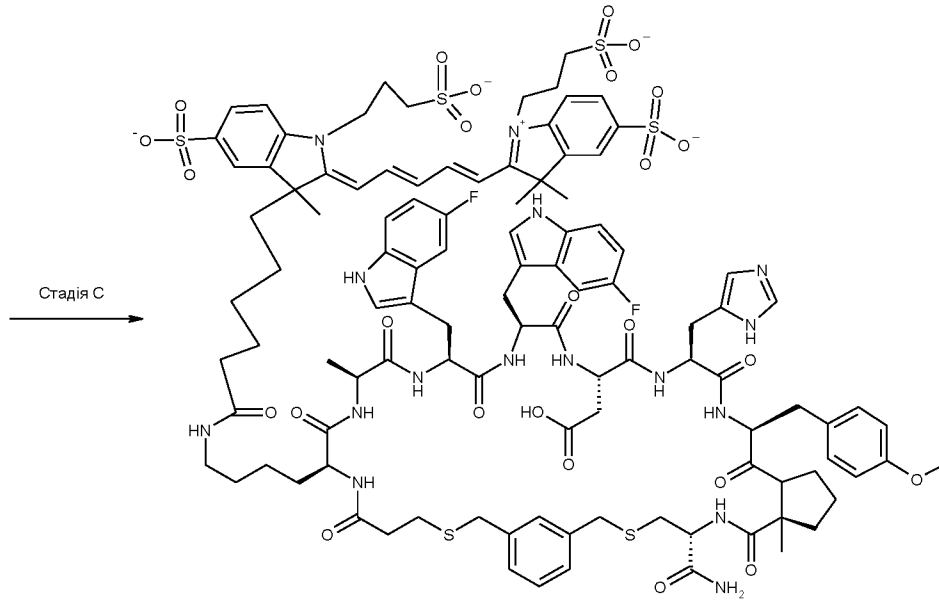
Alexa FRET Plus TR-FRET

20 Аналіз Alexa FRET Plus для PCSK9 визначає взаємодію між PCSK9 і міченим AlexaFluor647 (AF) циклічним пептидом, реагентом В (K<sub>D</sub>=35 нМ). Розчин, який містить 1 нМ біотинільований PCSK9+2,5 нМ Lance Streptavidin Europium (Strep-Eu) готують в 50 мМ HEPES pH 7,4, з 0,15 М NaCl, 5 мМ CaCl<sub>2</sub>, 0,01 % BSA і 0,01 % поверхнево-активною речовиною P20. Окремий розчин, що містить 1920 нМ мічений AlexaFluor циклічну пептид, готують в тій же буферній системі. Echo використовують для перенесення 0,075 мкл сполуки плюс 0,675 мкл DMSO в кожен ямку планшета для аналізу з подальшим додаванням 15 мкл PCSK9+Strep-Eu і 15 мкл пептиду AF. Кінцевий об'єм аналізу становить 30,750 мкл, що містять 0,5 нМ PCSK9, 1,25 нМ Strep-Eu і 960 нМ циклічний пептид AF. Реакційну суміш інкубують при кімнатній температурі протягом щонайменше двох годин, а потім проводять вимірювання флуоресценції з використанням Envision Multilabel Reader. Величини IC<sub>50</sub> визначають шляхом апроксимації даних до сигмовидної кривої доза-відповідь з використанням нелінійної регресії. Величини IC<sub>50</sub> визначають шляхом апроксимації даних до сигмовидної кривої доза-відповідь з використанням нелінійної регресії. Потім обчислюють K<sub>i</sub> з IC<sub>50</sub> і K<sub>D</sub> циклічного пептиду AF. Кількість імпульсів (кількість імпульсів В) міченого еуроіем PCSK9 визначають для визначення того, чи впливають сполуки несприятливим чином на PCSK9. Зниження кількості імпульсів В, ймовірно, вказує на хибнопозитивне інгібування. Дані цієї процедури описуються як "P=числова величина (нанолярна)".

Реагент В отримували за наступною методикою.



40



#### Стадія А - Синтез проміжної сполуки Int-A

Пептид синтезували в масштабі 0,250 ммоль на мікрохвильовому пристрої для синтезу СЕМ Liberty Blue з використанням хімії Fmoc/tBu на амідній смолі PS Рінка MBHA, 0,32 ммоль г<sup>-1</sup>. Зборку проводили з використанням одиничного приєднання з використанням 4 екв. 0,2 М Fmoc-захищеної амінокислоти в DMF, 4 екв. 1 М оксиму в DMF, 4 екв. 0,5 MN, N-діізопропілкарбодіміду (DIC) (подвійне приєднання для Y01). Цикли видалення захисної групи Fmoc проводили з використанням 20 % (об./об.) піперидину в DMF.

Послідовність використаних Fmoc-захисених амінокислоти і структурних елементів являє собою:

1. N-((9H-флуорен-9-іл)(метокси)карбоніл)-S-тритил-L-цистеїн;
2. (S)-1-(((9H-флуорен-9-іл)метокси)карбоніл)аміно)-2-метилпіролідин-2-карбонова кислота;
3. (S)-2-(((9H-флуорен-9-іл)метокси)карбоніл)аміно)-3-(4-метоксифеніл)пропіонова кислота;
4. N-((9H-флуорен-9-іл)(метокси)карбоніл)-N-тритил-L-гістидин;
5. (S)-2-(((9H-флуорен-9-іл)метокси)карбоніл)аміно)-4-(трет-бутокс)-4-оксобутанова кислота;
6. (S)-2-(((9H-флуорен-9-іл)метокси)карбоніл)аміно)-3-(5-фтор-1H-індол-3-іл)пропіонова кислота;
7. (S)-2-(((9H-флуорен-9-іл)метокси)карбоніл)аміно)-3-(5-фтор-1H-індол-3-іл)пропіонова кислота;
8. (((9H-флуорен-9-іл)метокси)карбоніл)-D-аланін;
9. N<sub>2</sub>-((9H-флуорен-9-іл)(метокси)карбоніл)-N6-(трет-бутоксикарбоніл)-L-лізин;
10. 3-(тритилтіо)пропіонова кислота.

У кінці зборки смолу промивали DMF, MeOH, DCM, Et<sub>2</sub>O. Пептид відщеплювали від твердої підкладки з використанням 50 мл розчину TFA (об./об.) (91 % TFA, 5 % H<sub>2</sub>O, 4 % TIPS) протягом приблизно 1,5 години при кімнатній температурі. Смолу фільтрували, промивали TFA і розчином, концентрували до сухого стану і ліофілізували. Ліофілізація забезпечувала проміжну сполуку Int. A (300 мг), яку використовували як неочищений матеріал на наступній стадії. LCMS, аналітично обчислено для C<sub>63</sub>H<sub>79</sub>F<sub>2</sub>N<sub>15</sub>O<sub>13</sub>S<sub>2</sub>: 1356,53, знайдено: 1356,9 (M+1)<sup>+</sup>.

#### Стадія В - Синтез проміжної сполуки Int-B

Неочищену сполуку Int-A (0,22 ммоль) перерозчиняли в 24 мл DMF. Додавали 6 мл 1 М водний розчин бікарбонату натрію для підвищення рН до 7. Потім краплинно додавали 0,26 ммоль 1,3-біс(бромметил)бензолу (0,1 М в DMF). Реакційну суміш залишали при перемішуванні при кімнатній температурі протягом 20 хв., гасили TFA (рН до 3-4), а потім концентрували у вакуумі з отриманням неочищеного Int-B, яке очищали за допомогою ОФ-ВЕРХ (Waters XBridge, C18, 50×150 мм, 5 мкм, 130A; від 25 % до 40 % ACN/вода+модифікатор 0,1 % TFA протягом 20 хв.). Зібрані фракції ліофілізували з отриманням 35 мг проміжної сполуки Int-B. LCMS аналітично обчислене для C<sub>71</sub>H<sub>85</sub>F<sub>2</sub>N<sub>15</sub>O<sub>13</sub>S<sub>2</sub>: 1458,67; знайдено: 1458,8 (M+1)<sup>+</sup>.

#### Стадія С - Синтез сполуки реагенту В

Проміжну сполуку Int-B (15 мг) розчиняли в 0,2 мл сухого DMSO. Потім додавали 15 мг ALEXAFLUOR 647NHS Ester (A37566, Life technology), розчиненого в 1,5 мл сухого DMSO.

Додавали 20 мкл сухого DIPEA. Реакційну суміш залишали при перемішуванні при кімнатній температурі протягом 12 год. в атмосфері азоту в темряві. Її гасили TFA (pH до 3-4) і очищали за допомогою ОФ-ВЕРХ (Dr Maish, Reprosil Gold C18, 250×20 мм, 120А, 10 мкм; від 20 % до 35 % 0,1 % TFA в АСN/0,1 % TFA в Н<sub>2</sub>O, протягом 20 хв., потім від 35 % до 40 % протягом 5 хв. при швидкості потоку 20 мл/хв). Зібрані фракції ліофілізували з отриманням 16,1 мг сполуки реагенту В. LCMS аналітично обчислено для C<sub>107</sub>H<sub>126</sub>F<sub>2</sub>N<sub>17</sub>O<sub>26</sub>S<sub>6</sub><sup>3-</sup>:2296,64; знайдено: 1150,6 (M+2)<sup>2+</sup>.

Дана активність, отримана за допомогою однієї або обох з описаних вище методик, описана для окремих ілюстративних сполук за винаходом в наступному форматі:

Приклад №: А (стандарт TR Fret) = "числова величина"; Р (Alexa Fret плюс стандарт TR Fret) = "числова величина"/потрібно зазначити, що всі вказані величини є наномольними.

Alexa FRET Ultra TR-FRET

Аналіз Alexa FRET Ultra для PCSK9 вимірює взаємодію між PCSK9 і міченим AlexaFluor647 (AF) циклічним пептидом, реагентом В (K<sub>D</sub>=0,99 нМ). Розчин, який містить 1 нМ біотинільований PCSK9+2,5 нМ Lance Streptavidin Europium (Strep-Eu) готують в 50 мМ HEPES pH 7,4, з 0,15 М NaCl, 5 мМ CaCl<sub>2</sub>, 0,01 % BSA і 0,01 % поверхово-активною речовиною P20. Окремий розчин, що містить 1920 нМ мічений AlexaFluor циклічний пептид, готують в тій же буферній системі. Echo використовують для перенесення 0,015 мкл сполуки плюс 0,735 мкл DMSO в кожен ямку планшета для аналізу з подальшим додаванням 15 мкл PCSK9+Strep-Eu і 15 мкл пептиду AF. Кінцевий об'єм аналізу становить 30,750 мкл, що містять 0,5 нМ PCSK9, 1,25 нМ Strep-Eu і 960 нМ циклічний пептид AF. Реакційну суміш інкубують при кімнатній температурі протягом щонайменше двох годин, а потім проводять вимірювання флуоресценції з використанням Envision Multilabel Reader. Величини IC<sub>50</sub> визначають шляхом апроксимації даних до сигмовидної кривої доза-відповідь з використанням нелінійної регресії. Потім обчислюють K<sub>i</sub> з IC<sub>50</sub> і K<sub>D</sub> циклічного пептиду AF. Кількість імпульсів (кількість імпульсів В) міченого європієм PCSK9 визначають для визначення того, чи впливають сполуки несприятливим чином на PCSK9. Зниження кількості імпульсів В, ймовірно, вказує на хибнопозитивне інгібування. Дані цієї процедури описуються як "K<sub>i</sub> Ultra=числовий величина (представлені дані є наномольними)".

Наступні сполуки оцінювали, як показано в таблиці 2, з використанням протоколу, описаного вище, з представленими результатами:

Ex-01 Ki Plus = < 0,00558, Ki Ultra=0,0046/Ex-02 Ki Plus=0,00558, Ki Ultra=0,005933/ Ex-03 Ki Plus=0,02535, Ki Ultra=0,06803/ Ex-04 Ki Plus ≤ 0,00558, Ki Ultra=0,004711/ Ex-05 Ki Plus=0,009621, Ki Ultra=0,03296/ Ex-06 Ki Plus=0,00568, Ki Ultra=0,003424/ Ex-07 Ki Plus=0,05914, Ki Ultra=0,06753/ Ex-08 Ki Plus=0,01574, Ki Ultra=0,06832/ Ex-09 Ki Plus=0,09189, Ki Ultra=0,247/ Ex-10 Ki Plus=0,005743, Ki Ultra=0,02489/ Ex-11 Ki Plus=0,04334, Ki Ultra=0,2067/ Ex-12 Ki Plus=0,01448, Ki Ultra=0,02247/ Ex-13 Ki Plus=0,1454, Ki Ultra=0,4772/ Ex-14 Ki Plus=0,01605, Ki Ultra=0,02099/ Ex-15 Ki Plus=0,1027, Ki Ultra=0,2601/ Ex-16 Ki Plus=0,01423, Ki Ultra=0,05141/ Ex-17 Ki Plus ≤ 0,00558, Ki Ultra=0,0028/ Ex-18 Ki Plus=0,03356, Ki Ultra=0,1183/ Ex-19 Ki Plus=0,01662, Ki Ultra=0,01204/ Ex-20 Ki Plus=0,01303, Ki Ultra=0,01711/ Ex-21 Ki Plus=0,005692, Ki Ultra=0,001264/ Ex-22 Ki Plus=0,00926, Ki Ultra=0,01519/ Ex-23 Ki Plus=0,00938, Ki Ultra=0,00239/ Ex-24 Ki Plus=0,00812, Ki Ultra=0,00767/ Ex-25 Ki Plus=0,01127, Ki Ultra=0,00463/ Ex-26 Ki Plus ≤ 0,00558, Ki Ultra=0,002754/ Ex-27 Ki Plus ≤ 0,00558, Ki Ultra=0,00301/ Ex-28 Ki Plus ≤ 0,00558, Ki Ultra=0,00078/ Ex-29 Ki Plus=0,00981, Ki Ultra=0,00614/ Ex-31 Ki Plus < 0,00558, Ki Ultra=0,00074/ Ex-35 Ki Plus=0,04652, Ki Ultra=0,08434/ Ex-36 Ki Plus=0,00762, Ki Ultra=0,00507/ Ex-38 Ki Plus=0,00904, Ki Ultra=0,01416/ Ex-39 Ki Plus=0,00716, Ki Ultra=0,00414/ Ex-40 Ki Plus=0,30800, Ki Ultra=0,86010/ Ex-41 Ki Plus=0,00697, Ki Ultra=0,00628/ Ex-44 Ki Plus=0,01445, Ki Ultra=0,02194/ Ex-47 Ki Plus=0,01474, Ki Ultra=0,01193/ Ex-48 Ki Plus=0,01169, Ki Ultra=0,01545/ Ex-49 Ki Plus=0,00716, Ki Ultra=0,00414/ Ex-50 Ki Standard <1,26, Ki Plus=0,01052, Ki Ultra=0,00443/ Ex-51 Ki Standard <1,26, Ki Plus < 0,00558, Ki Ultra=0,00597/ Ex-52 Ki Standard <1,26, Ki Plus < 0,00558, Ki Ultra=0,00359/ Ex-53 Ki Standard <1,26, Ki Plus=0,09629, Ki Ultra=0,21500/ Ex-54 Ki Standard <1,26, Ki Plus=0,36720, Ki Ultra=0,48390/ Ex-55 Ki Standard <1,26, Ki Plus=0,07240, Ki Ultra=0,23800/ Ex-56 Ki Standard <1,257, Ki Plus=0,02237, Ki Ultra=0,00481/ Ex-57 Ki Standard <1,257, Ki Plus < 0,00558, Ki Ultra=0,00162/ Ex-58 Ki Standard <1,257, Ki Plus=0,00773, Ki Ultra=0,00196/ Ex-59 Ki Plus=0,00788, Ki Ultra=0,004959/ Ex-60 Ki Plus=0,006515, Ki Ultra=0,005312/Ex-61 Ki Plus=0,00747, Ki Ultra=0,006543.



дорівнюють від 2 до 4; і

$R^{14B}$  являє собою:  $-NH_2$ ;  $-N^+H_3$ ;  $-N(CH_3)_2$  або  $-N^+(CH_3)_3$ ;

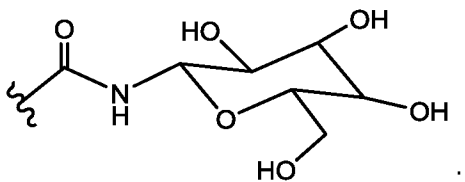
(vii)  $-NH-C(O)-(CH_2)_yR^{14C}$ , де у дорівнює 1-6, і  $R^{14C}$  являє собою  $-O-(CH_2)_{3-4}-N^+(CH_3)_3$ ; і

(viii)  $-NH-C(O)-(CH_2)_yR^{14C}$ , де у дорівнює 1-6, і  $R^{14C}$  являє собою:

5 (ai)  $-O-(CH_2)_2-N^+(CH_3)_3$ ;

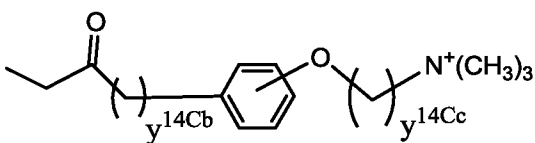
(aii)  $-N^+(CH_3)_2R^{14ca}$ , де  $R^{14ca}$  являє собою  $-CH_3$  або  $-(CH_2)_{1-4}-OCH_3$ ;

(aiii) частину формули:



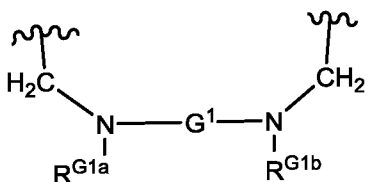
10 або

(aiv) частину формули:



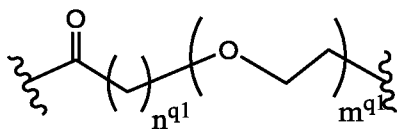
15 де  $y^{14Cb}$  і  $y^{14Cc}$  дорівнюють від 1 до 4; або

$R^1$  і  $R^2$  можуть бути зв'язані разом з утворенням частини формули:



де  $G^1$ ,  $R^{G1a}$  і  $R^{G1b}$  визначаються так:

20 (a)  $G^1$  являє собою лінкерну частину формули:

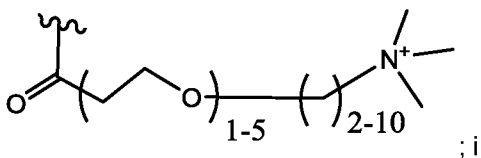


25 де  $n^{q1}$  дорівнює від 1 до 6,  $m^{q2}$  дорівнює 0, 1 або 2 і разом величини  $n^{q1}$  і  $m^{q2}$  вибрані так, щоб довжина лінкерної частини, яку вони визначають, не перевищувала загалом 8 атомів вуглецю і/або кисню, які складають ланцюг, який містить атом вуглецю в ланцюгу, який утворює карбонільну частину;

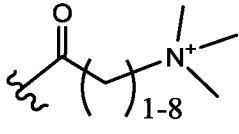
$R^{G1a}$  вибраний із: (i)  $-H$ ; і (ii) алкілу, який містить аж до 4 атомів вуглецю; і

$R^{G1b}$  вибраний із:

30 (i) частини формули:

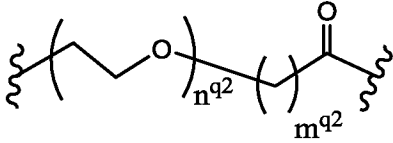


(ii) частини формули:



; або

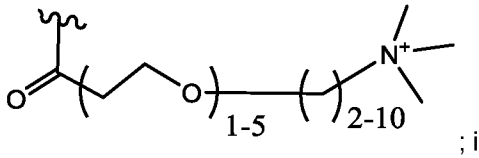
(b) G<sup>1</sup> являє собою лінкерну частину формули:



5 де  $n^{q2}$  дорівнює 0, 1 або 2,  $m^{q2}$  дорівнює від 1 до 6, і разом величини  $n^{q2}$  і  $m^{q2}$  вибрані так, щоб довжина лінкерної частини, яку вони визначають, не перевищувала загалом 8 атомів вуглецю і/або кисню, які складають ланцюг, який містить атом вуглецю в ланцюгу, який утворює карбонільну частину;

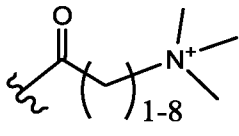
R<sup>G1a</sup> вибраний із:

10 (i) частини формули:



; i

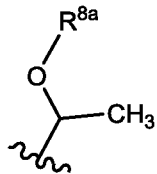
(ii) частини формули:



15

; i

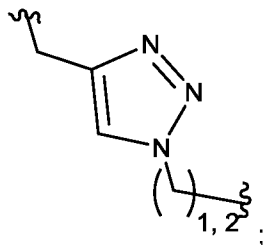
R<sup>G1b</sup> вибраний із: (i) -H; і (ii) алкілу, який містить аж до 4 атомів вуглецю; R<sup>8</sup> являє собою -CH<sub>3</sub> або частину формули:



20 де R<sup>8a</sup> являє собою -H або лінійний, розгалужений або циклічний алкіл, який містить аж до чотирьох атомів вуглецю;

A вибраний із:

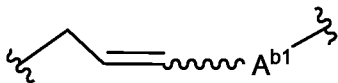
(a) частини формули:



25

(b) -CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>y</sub>-CH<sub>2</sub>-, де y дорівнює від 1 до 6;

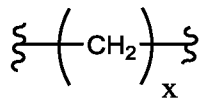
(c) частини формули:



30

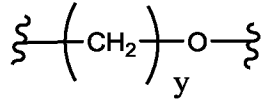
де A<sup>b1</sup> являє собою:

(i) частину формули:



де  $x$  дорівнює від 1 до 6; або

5 (ii) частину формули:



де  $y$  дорівнює від 1 до 5;

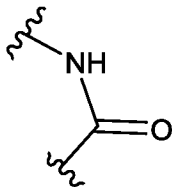
(d) частини формули:  $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_m-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-$ , де  $m=1-5$  і  $n=0$  або  $1-4$ ;

В являє собою:

10 (a) зв'язок;

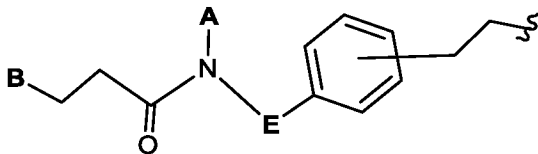
(b)  $-(\text{CH}_2)_{1-4}$ ; або

(c) частину формули:



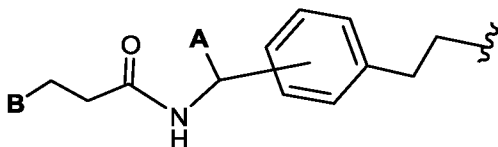
15 D являє собою:

(a) частину формули:



де E являє собою  $-\text{CH}_2-$  або  $-(\text{CH}_2)_{2-4}-\text{O}-$ , і A і B є такими, як визначено вище;

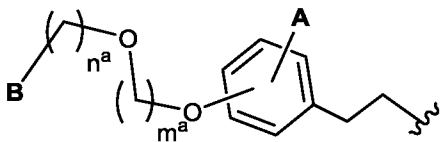
20 (b) частину формули:



де A і B є такими, як визначено вище;

(c) частину формули:

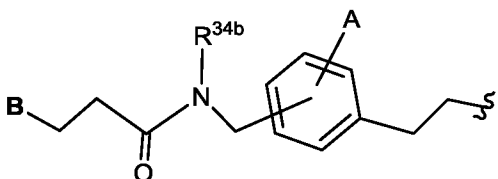
25



де  $n^a$  дорівнює 1, 2 або 3,  $m^a$  дорівнює 2, 3 або 4, і  $n^a+m^a \geq 3$ , і де A і B є такими, як визначено вище;

(d) частину формули:

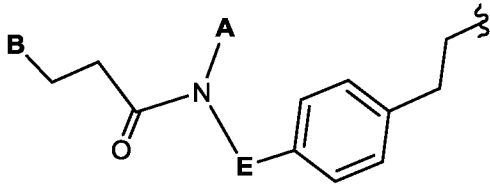
30



де R<sup>34b</sup> являє собою -H або лінійний розгалужений або циклічний алкіл, який містить аж до чотирьох атомів вуглецю, і A і B є такими, як визначено вище, або будь-яка її фармацевтично прийнятна сіль.

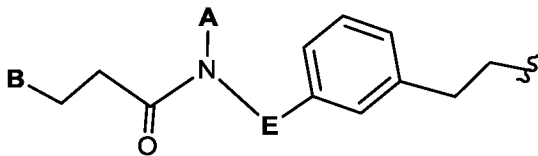
2. Сполука за п. 1, де X являє собою F, або її фармацевтично прийнятна сіль.

5 3. Сполука за п. 2, де D являє собою частину формули:



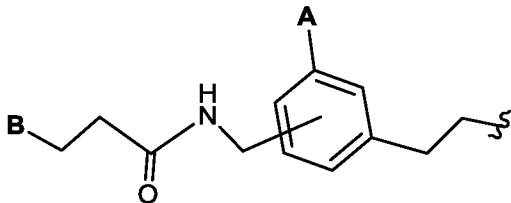
де E являє собою -CH<sub>2</sub>- або -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-, або її фармацевтично прийнятна сіль.

10 4. Сполука за п. 2, де D являє собою частину формули:



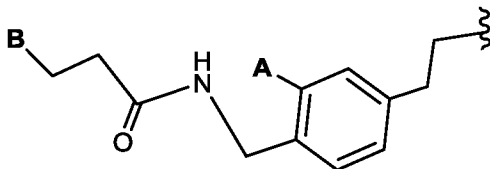
де E являє собою -CH<sub>2</sub>- або -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-, або її фармацевтично прийнятна сіль.

15 5. Сполука за п. 2, де D являє собою частину формули:



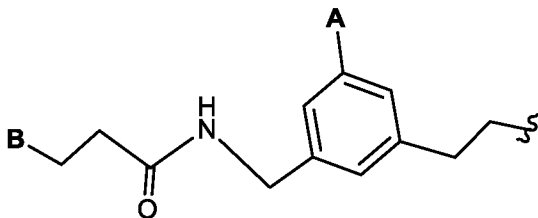
або її фармацевтично прийнятна сіль.

20 6. Сполука за п. 2, де D являє собою частину формули:



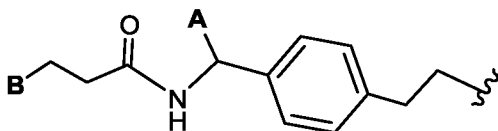
або її фармацевтично прийнятна сіль.

7. Сполука за п. 2, де D являє собою частину формули:



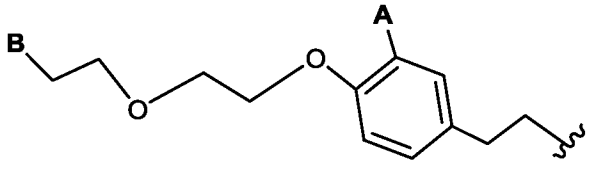
25 або її фармацевтично прийнятна сіль.

8. Сполука за п. 2, де D являє собою частину формули:



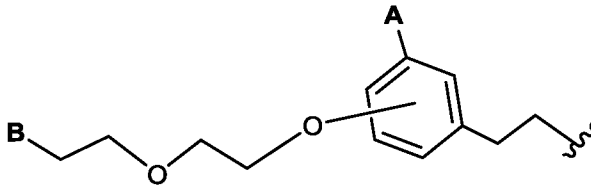
або її фармацевтично прийнятна сіль.

9. Сполука за п. 2, де D являє собою частину формули:



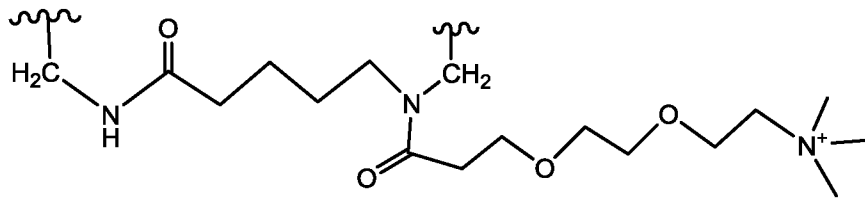
5 або її фармацевтично прийнятна сіль.

10. Сполука за п. 2, де D являє собою частину формули:



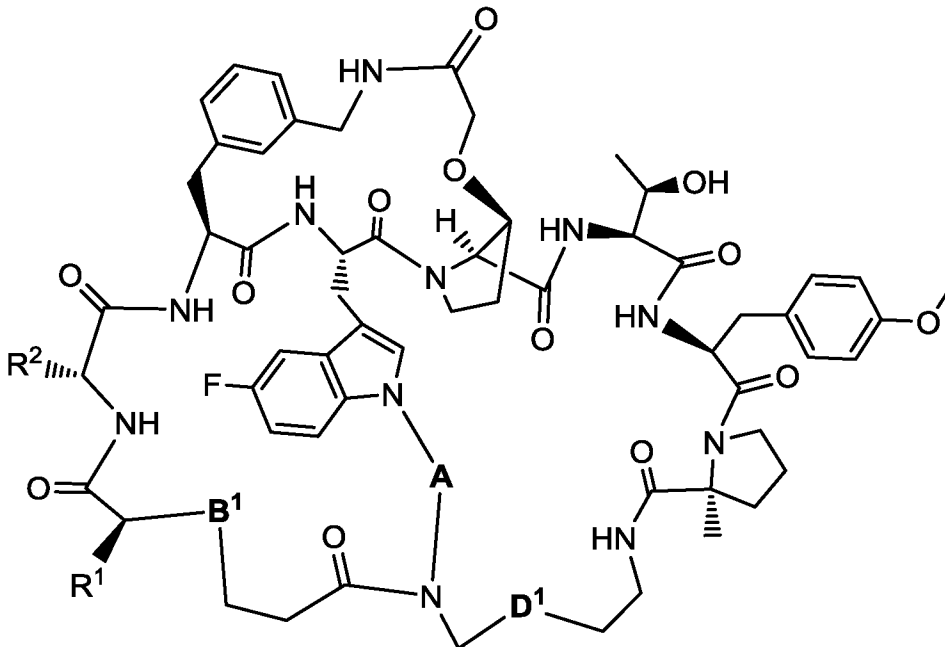
або її фармацевтично прийнятна сіль.

10 11. Сполука за п. 2, де R<sup>1</sup> і R<sup>2</sup> з'єднані разом частиною формули:



так що разом з циклопептидом, з яким зв'язані R<sup>1</sup> і R<sup>2</sup>, вони утворюють циклічну структуру, або її фармацевтично прийнятна сіль.

15 12. Сполука за п. 2, яка має структуру формули IIB, або її фармацевтично прийнятна сіль:

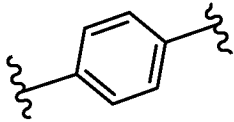


, формула IIB

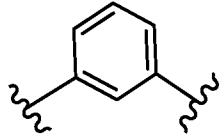
B<sup>1</sup> являє собою -((CH<sub>2</sub>)<sub>0-2</sub>)-; і

20 D<sup>1</sup> являє собою:

(а) частину формули:

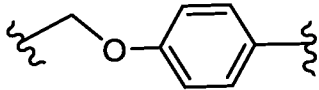


(b) частину формули:

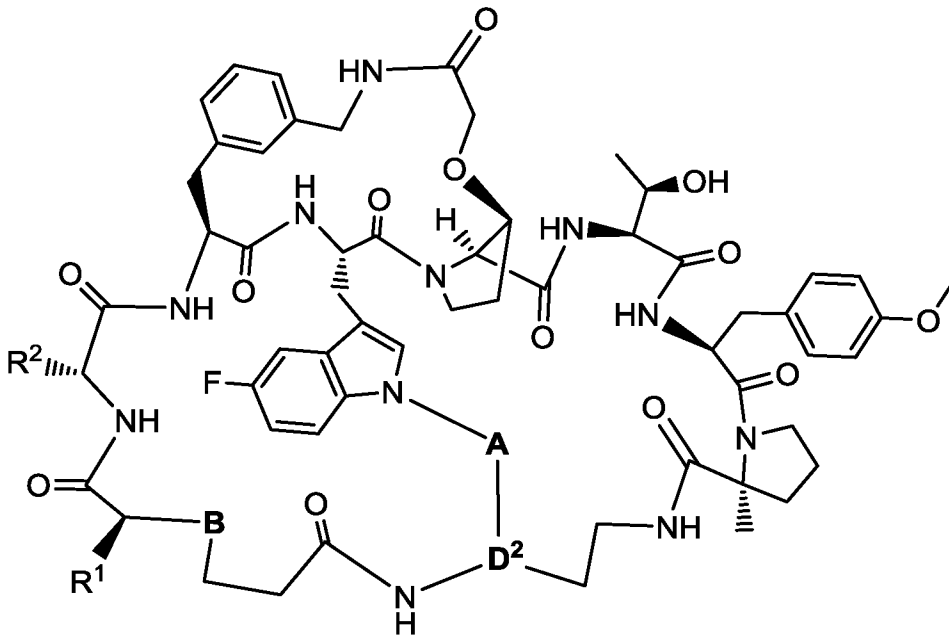


; або

5 (c) частину формули:



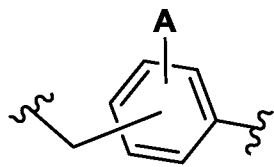
13. Сполука за п. 2, яка має структуру формули IIC, або її фармацевтично прийнятна сіль:



, формула IIC

10 де D<sup>2</sup> являє собою:

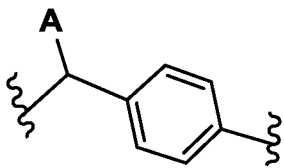
(a) частину формули:



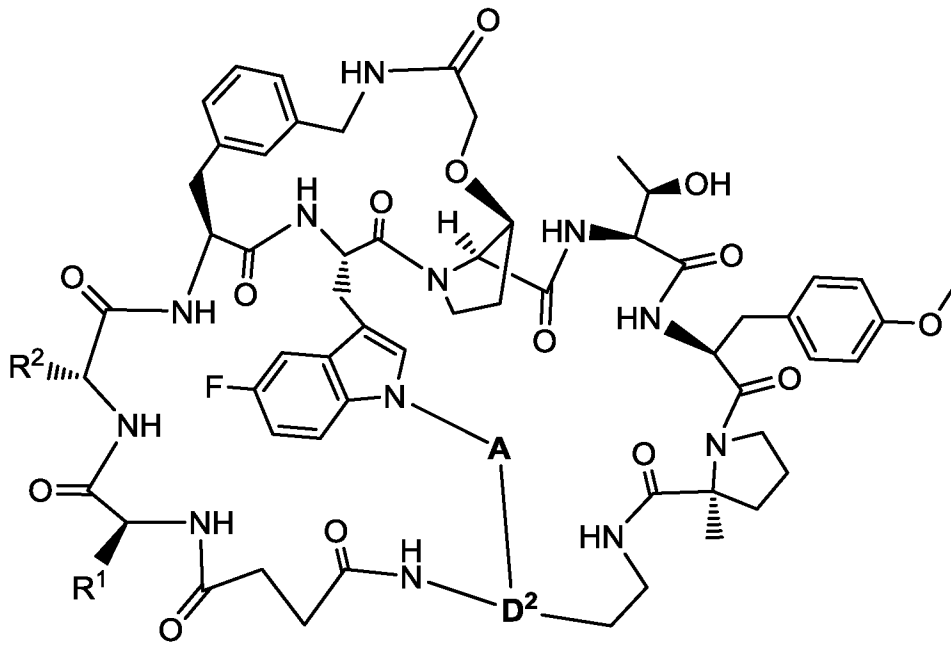
; або

(b) частину формули:

15

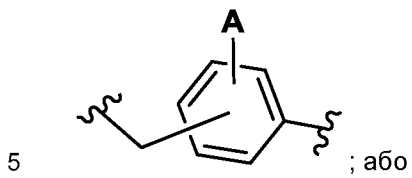


14. Сполука за п. 2, яка має структуру формули IID, або її фармацевтично прийнятна сіль:

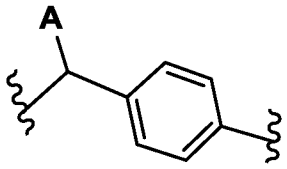


, формула IID

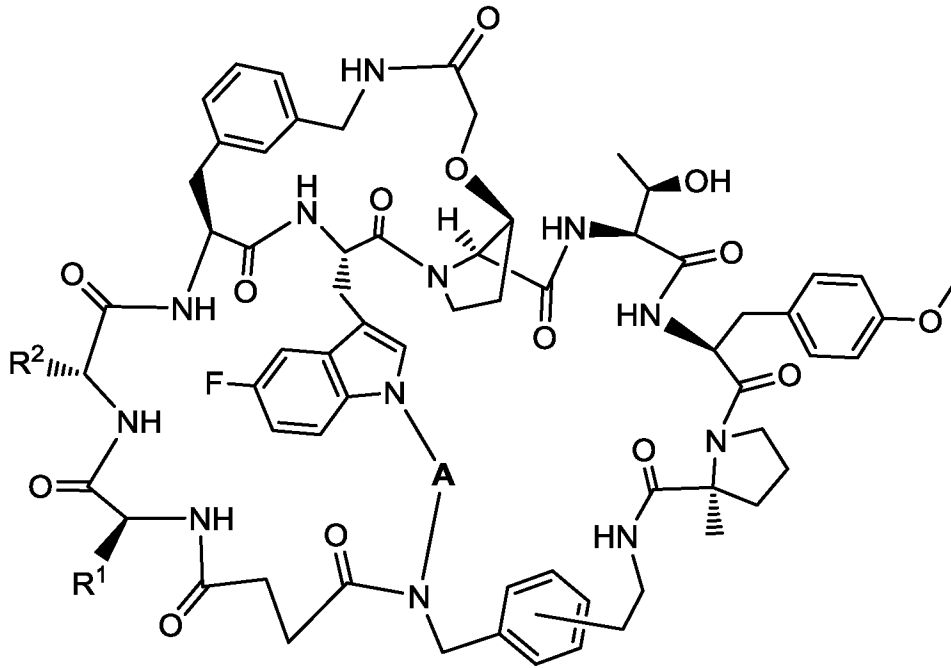
де D<sup>2</sup> являє собою:  
(а) частину формули:



(b) частину формули:

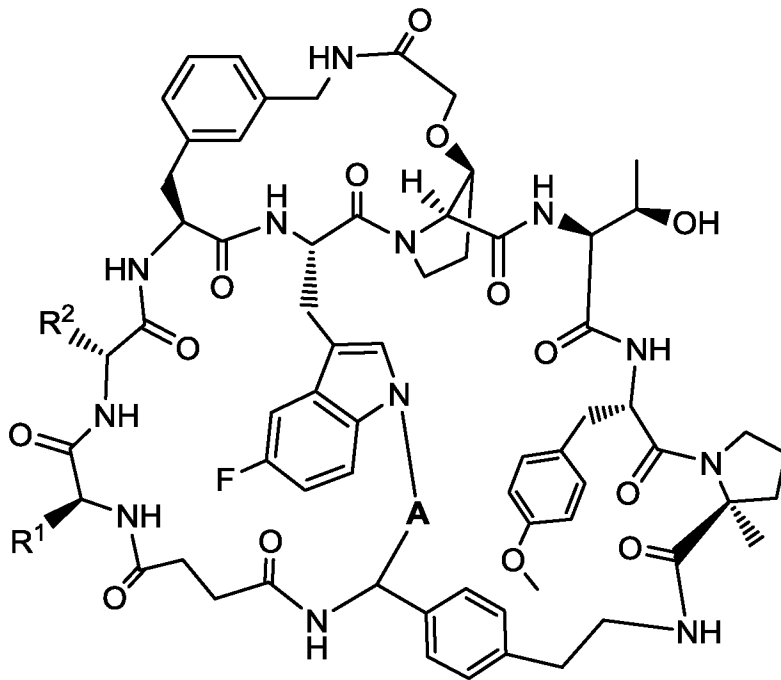


15. Сполука за п. 2, яка має структуру формули IIE, або її фармацевтично прийнятна сіль:



формула IIE.

16. Сполука за п. 2, яка має структуру формули IIF, або її фармацевтично прийнятна сіль:

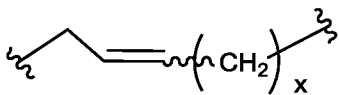


формула IIF.

5

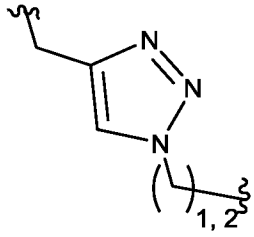
17. Сполука за будь-яким з пп. 1-16 або її фармацевтично прийнятна сіль, де А являє собою:

- (a)  $-(CH_2)_6$ ;
- (b) частину формули:



10

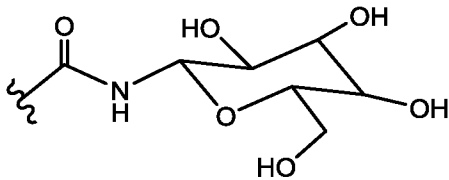
- де x дорівнює від 1 до 3; або
- (c) частину формули:



18. Сполука за будь-яким з пп. 1-10 і 12-17 або її фармацевтично прийнятна сіль, де  $R^2$  являє собою:

$-(CH_2)_z-R^{14A}$ , де  $z$  дорівнює 1-6, і  $R^{14A}$  являє собою:

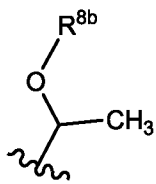
- 5 (a) -H;  
 (b)  $-NH_2$ ;  
 (c)  $-N^+H_3$ ;  
 (d)  $-N^+(H_3C)_3$ ;  
 10 (e)  $-NH-C(O)-[(CH_2)_{2-4}-O]_2-(CH_2)_{2-4}R^{14B}$ , де  $R^{14B}$  являє собою  $-NH_2$ ;  $-N^+H_3$ ;  $-N(CH_3)_2$  або  $-N^+(CH_3)_3$ ;  
 (f)  $-NH-C(O)-[(CH_2)_yR^{14C}]_2$ , де  $y$  дорівнює 1-6, і  $R^{14C}$  являє собою:  
 (ai)  $-O-(CH_2)_{2-4}-N^+(CH_3)_3$ ;  
 (aii)  $-N^+(CH_3)_3$ ; або  
 15 (aiii) частину формули:



19. Сполука за будь-яким з пп. 1-10 і 12-18 або її фармацевтично прийнятна сіль, де  $R^1$  вибраний із:

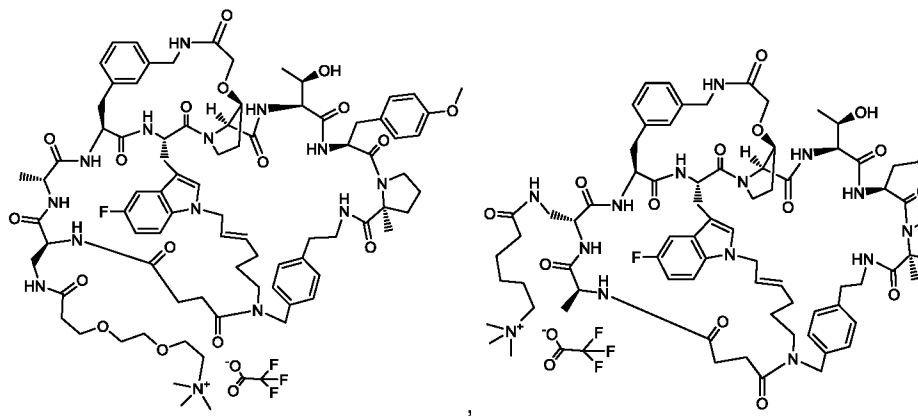
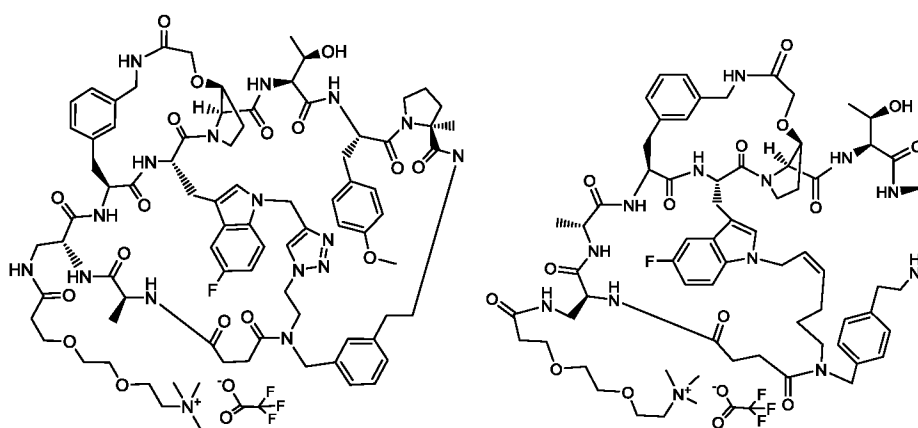
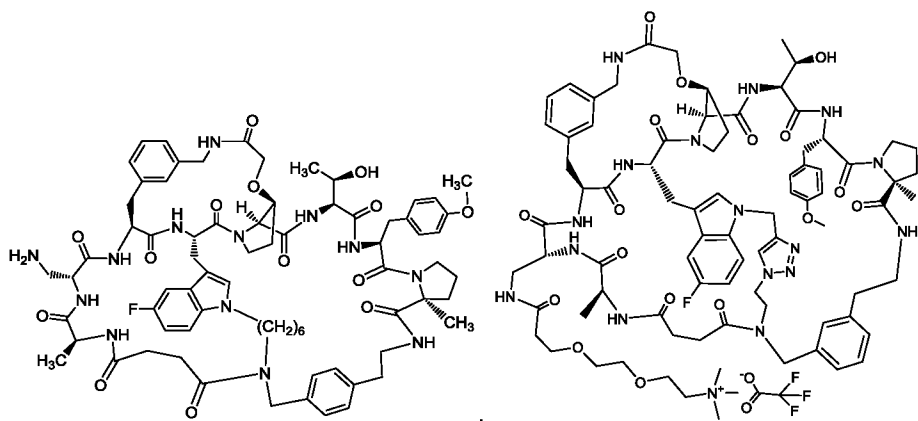
- 20 (a) -H;  
 (b)  $-(CH_2)_z-R^{14A}$ , де  $z$  дорівнює 1-6, і  $R^{14A}$  являє собою:  
 (i) -H;  
 (ii)  $-N^+H_3$ ; або  
 (iii)  $-NH-C(O)-[(CH_2)_2-O]_2-(CH_2)_2-N^+(CH_3)_3$ .

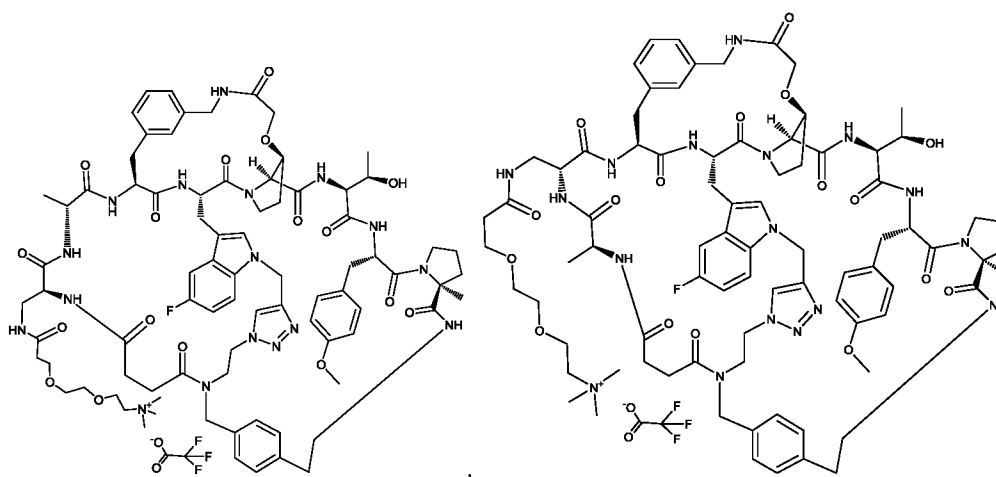
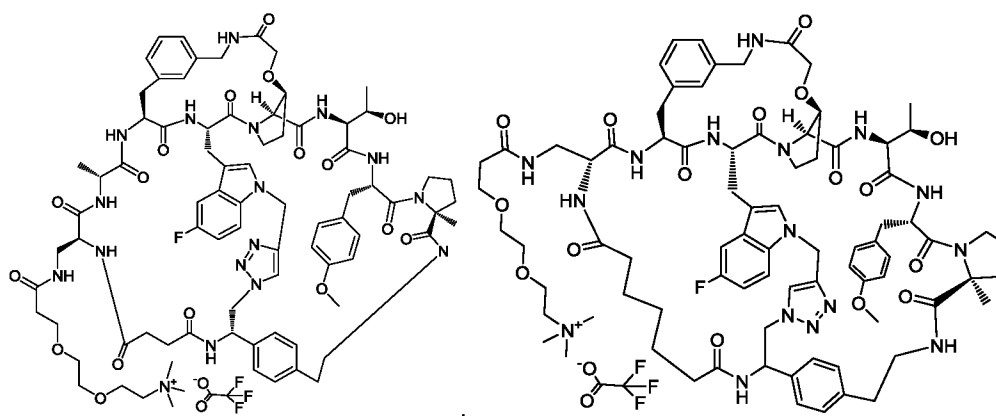
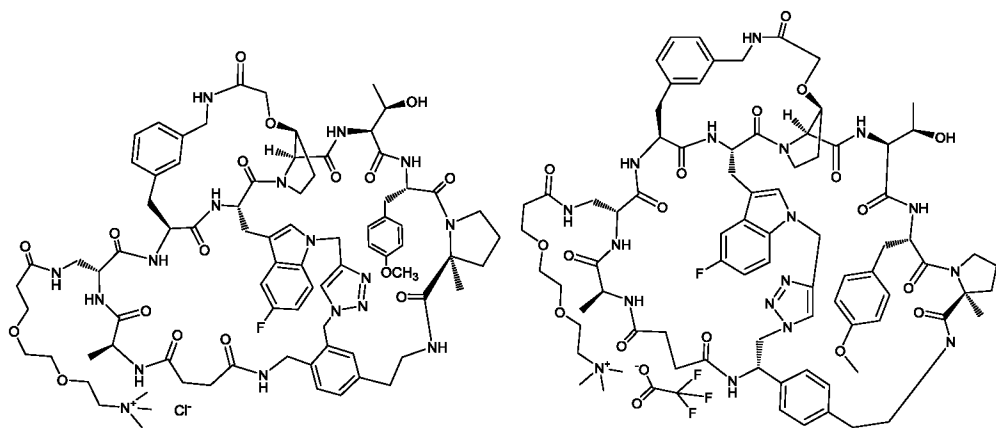
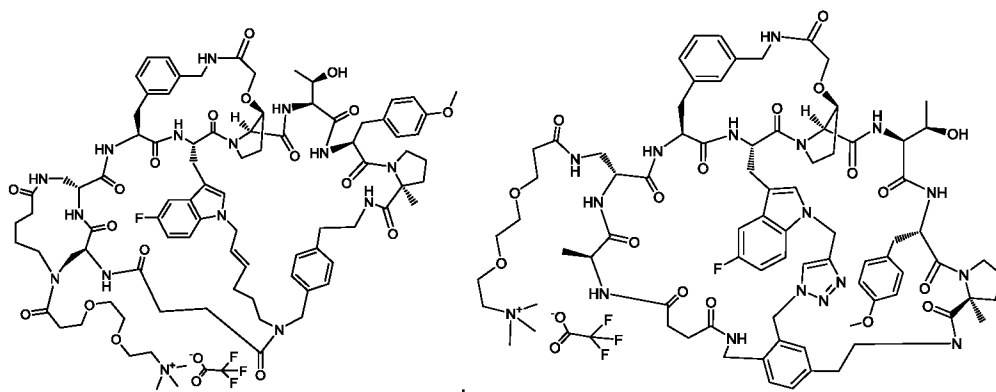
25 20. Сполука за будь-яким з пп. 1-11 і 17-19 або її фармацевтично прийнятна сіль, де  $R^8$  являє собою частину формули:

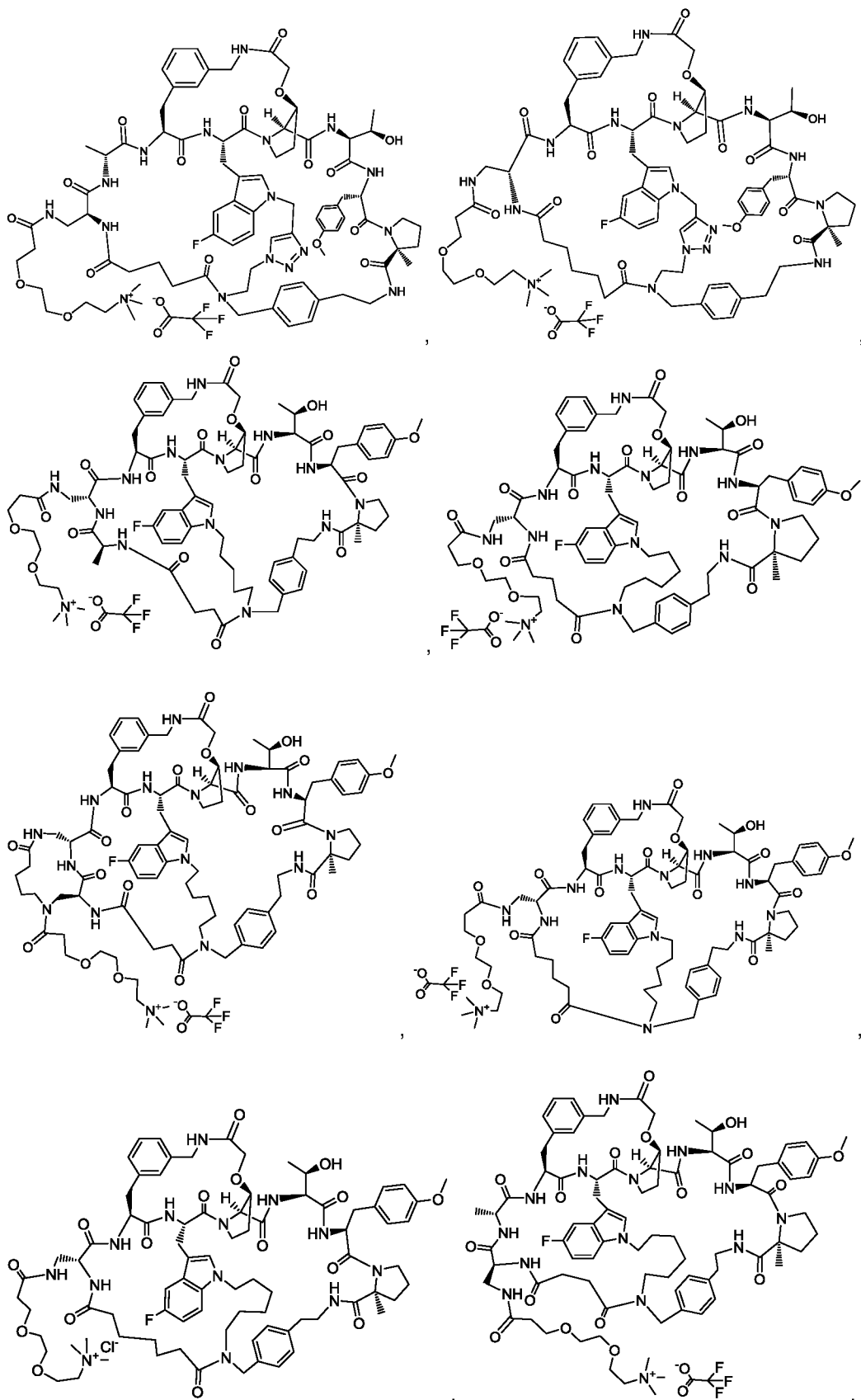


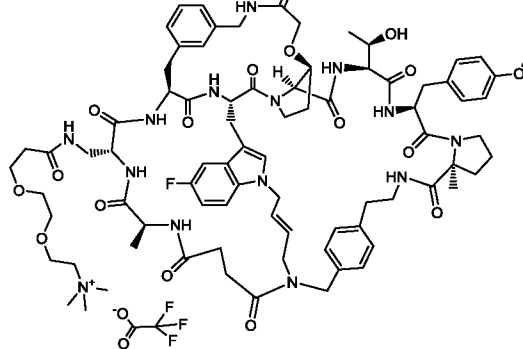
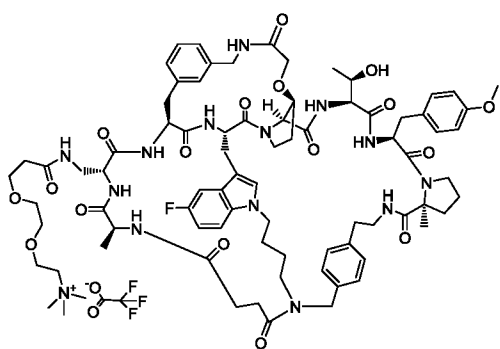
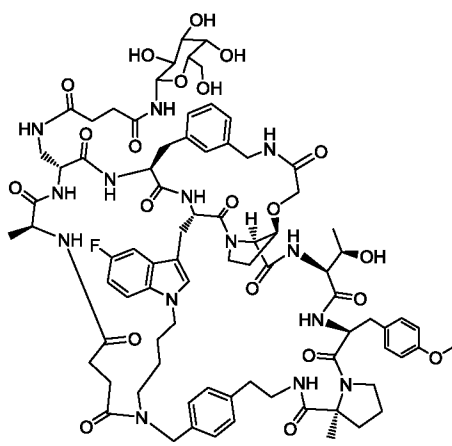
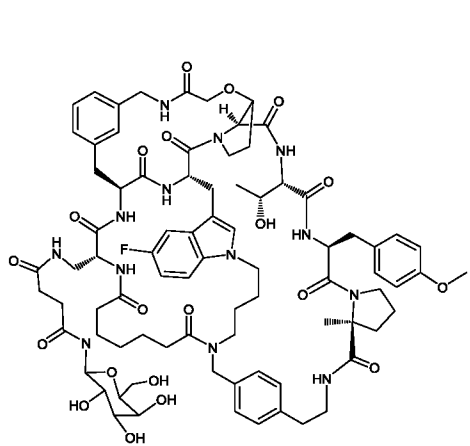
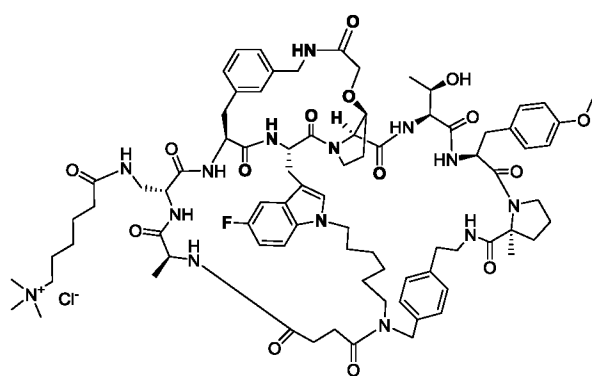
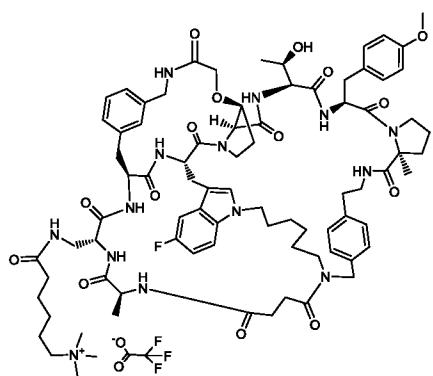
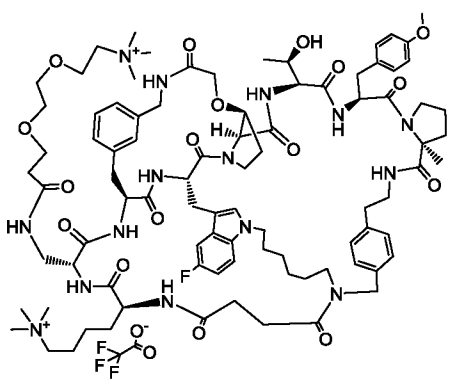
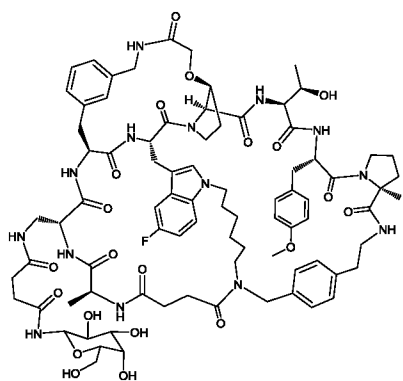
де  $R^{8b}$  являє собою -H,  $-CH_3$  або  $-C(CH_3)_3$ .

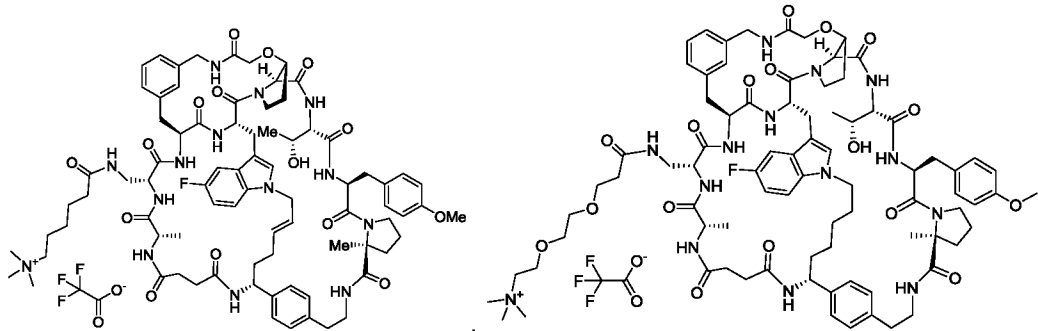
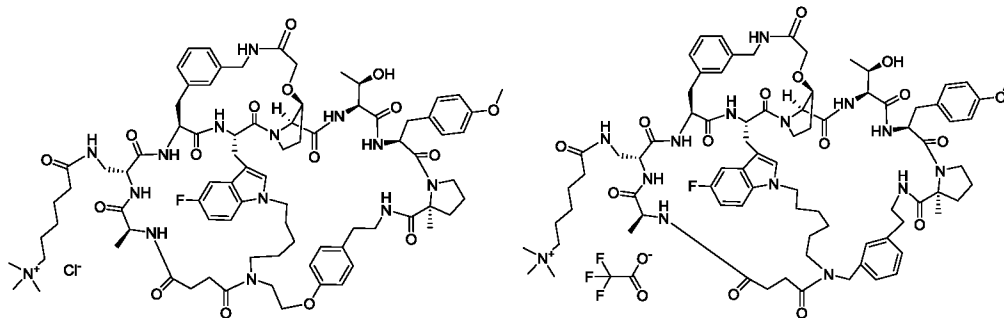
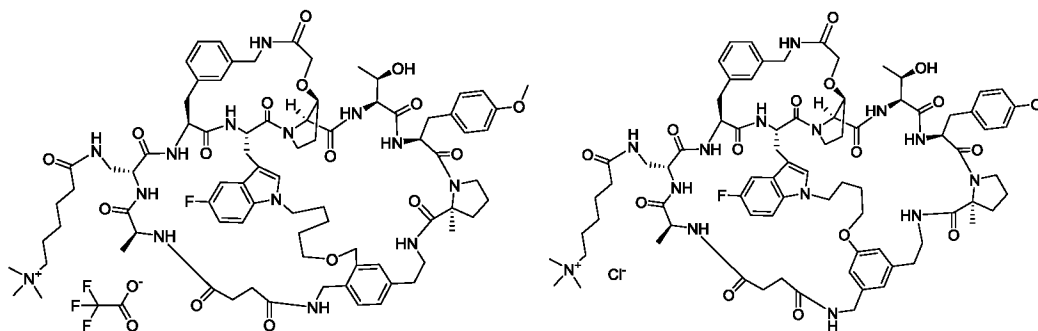
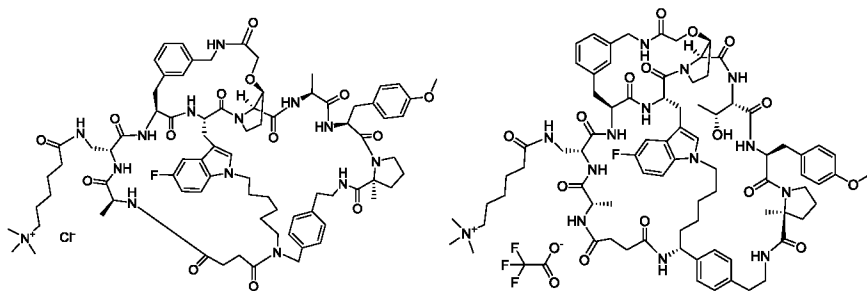
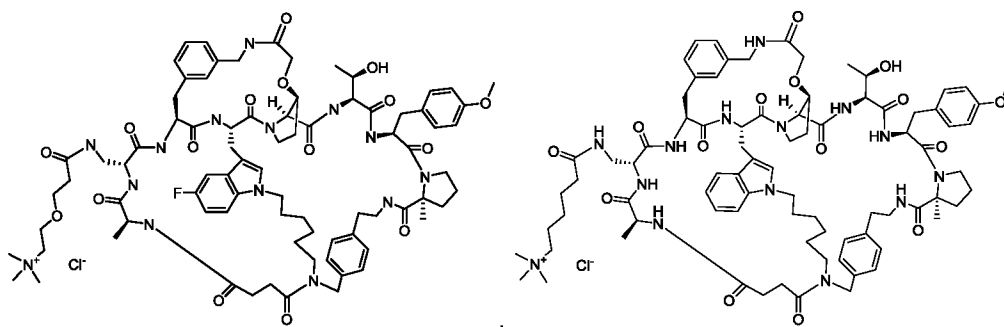
30 21. Сполука за п. 1, яка вибрана з групи, яка складається з:

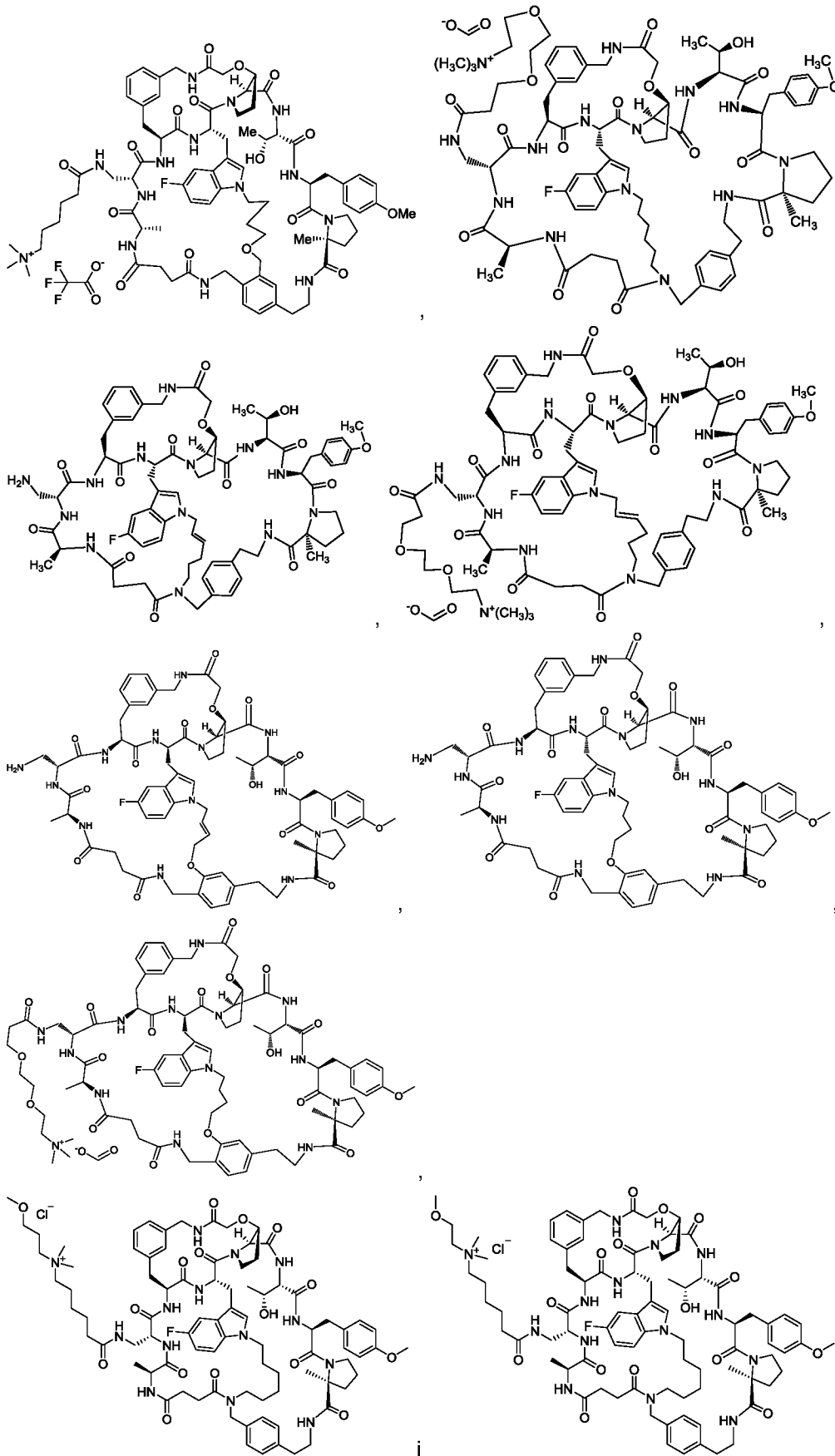












або будь-яка інша її фармацевтично прийнятна сіль.

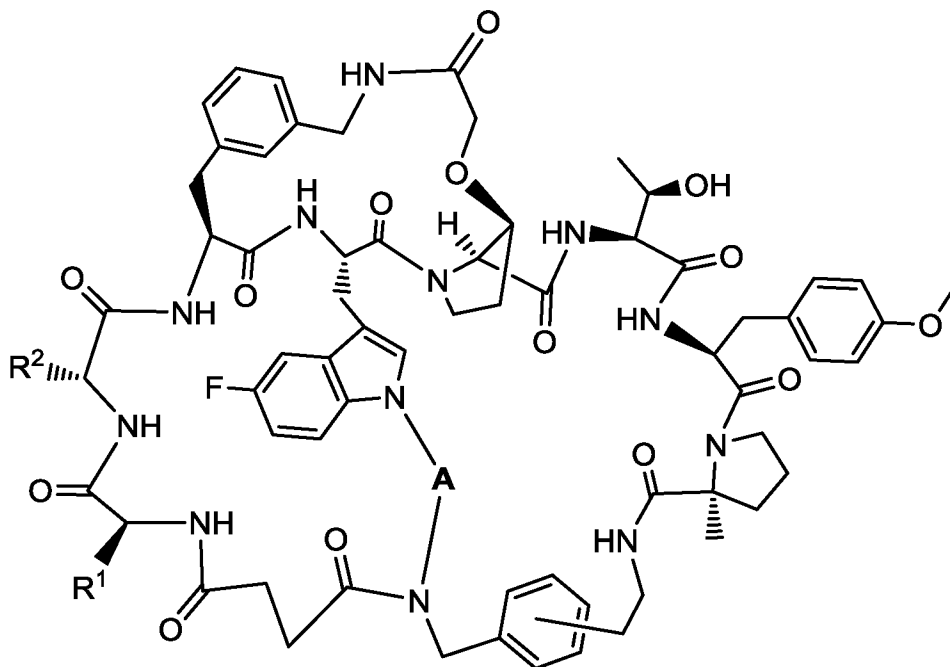
22. Композиція, яка містить щонайменше одну сполуку за будь-яким із пп. 1-21 або її

фармацевтично прийнятну сіль, або форму вільної основи і щонайменше один фармацевтично прийнятний ексципієнт.

23. Спосіб лікування гіперхолестеринемії, який включає введення пацієнту, який потребує цього, терапевтично ефективної кількості композиції за п. 22.

5 24. Спосіб лікування гіперхолестеринемії, який включає введення пацієнту, який потребує цього, терапевтично ефективної кількості сполуки за будь-яким із пп. 1-21.

25. Сполука за п. 15, яка має структуру формули ІІЕ, або її фармацевтично прийнятна сіль:



, формула ІІЕ

10 де

R<sup>1</sup> вибраний із:

(a) -H або

(b)  $-(\text{CH}_2)_z\text{-R}^{14\text{A}}$ , де z дорівнює 1-6, і R<sup>14A</sup> являє собою:

(i) -H;

15 (ii) -NH<sub>2</sub>;

(iii) -N<sup>+</sup>H<sub>3</sub>;

(iv) -N<sup>+</sup>(H<sub>3</sub>C)<sub>3</sub>;

(v) -NH-C(O)-[(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O]<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>R<sup>14B</sup>, де R<sup>14B</sup> являє собою: -NH<sub>2</sub>; -N<sup>+</sup>H<sub>3</sub>; -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> або -N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>;

(vi) -NH-C(O)-[(CH<sub>2</sub>)<sub>y12</sub>-O]<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>y13</sub>R<sup>14B</sup>, де y<sub>12</sub> і y<sub>13</sub> не дорівнюють обидва 2 і незалежно

20 дорівнюють від 2 до 4; і

R<sup>14B</sup> являє собою: -NH<sub>2</sub>; -N<sup>+</sup>H<sub>3</sub>; -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> або -N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>;

(vii) -NH-C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>y</sub>R<sup>14C</sup>, де y дорівнює 1-6, і R<sup>14C</sup> являє собою -O-(CH<sub>2</sub>)<sub>3-4</sub>-N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>; і

(viii) -NH-C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>y</sub>R<sup>14C</sup>, де y дорівнює 1-6, і R<sup>14C</sup> являє собою:

(ai) -O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>;

25 (aii) -N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>; або

R<sup>2</sup> вибраний із:

(a) -H; і

(b)  $-(\text{CH}_2)_z\text{-R}^{14\text{A}}$ , де z дорівнює 1-6, і R<sup>14A</sup> вибраний із:

(i) -H;

30 (ii) -NH<sub>2</sub>;

(iii) -N<sup>+</sup>H<sub>3</sub>;

(iv) -N<sup>+</sup>(H<sub>3</sub>C)<sub>3</sub>;

(v) -NH-C(O)-[(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O]<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>R<sup>14B</sup>, де R<sup>14B</sup> являє собою: -NH<sub>2</sub>; -N<sup>+</sup>H<sub>3</sub>; -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> або -N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>;

(vi) -NH-C(O)-[(CH<sub>2</sub>)<sub>y12</sub>-O]<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>y13</sub>R<sup>14B</sup>, де:

35 y<sub>12</sub> і y<sub>13</sub> не дорівнюють обидва 2 і незалежно дорівнюють від 2 до 4; і

R<sup>14B</sup> являє собою: -NH<sub>2</sub>; -N<sup>+</sup>H<sub>3</sub>; -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> або -N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>;

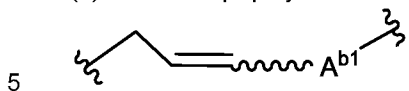
(vii) -NH-C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>y</sub>R<sup>14C</sup>, де y дорівнює 1-6, і R<sup>14C</sup> являє собою -O-(CH<sub>2</sub>)<sub>3-4</sub>-N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>; і

(viii) -NH-C(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>y</sub>R<sup>14C</sup>, де y дорівнює 1-6, і R<sup>14C</sup> являє собою:

(ai) -O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>;

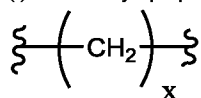
(aii)  $-N^+(CH_3)_2R^{14ca}$ , де  $R^{14ca}$  являє собою  $-CH_3$  або  $-(CH_2)_{1-4}-OCH_3$ ;  
 А вибраний із:

(a)  $-CH_2-(CH_2)_y-CH_2-$ , де у дорівнює від 1 до 6;  
 (b) частини формули:



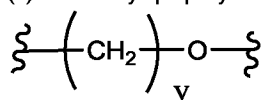
де  $A^{b1}$  являє собою:

(i) частину формули:



де  $x$  дорівнює від 1 до 6; або

10 (ii) частину формули:



де у дорівнює від 1 до 5;

(c) частини формули:  $-CH_2-(CH_2)_m-O-(CH_2)_n-$ , де  $m=1-5$  і  $n=0$  або  $1-4$ .

26. Сполука за п. 25 або її фармацевтично прийнятна сіль,  
 де  $R^1$  являє собою  $-(CH_2)_z-R^{14A}$ , де  $z$  дорівнює 1-6, і  $R^{14A}$  являє собою:

(i)  $-H$ ;

(ii)  $-NH_2$ ;

(iii)  $-N^+H_3$ ;

(iv)  $-N^+(H_3C)_3$ ;

20 (v)  $-NH-C(O)-[(CH_2)_2-O]_2-(CH_2)_2R^{14B}$ , де  $R^{14B}$  являє собою:  $-NH_2$ ;  $-N^+H_3$ ;  $-N(CH_3)_2$  або  $-N^+(CH_3)_3$ ;

(vi)  $-NH-C(O)-[(CH_2)_{y12}-O]_2-(CH_2)_{y13}R^{14B}$ , де  $y_{12}$  і  $y_{13}$  не дорівнюють обидва 2 і незалежно дорівнюють від 2 до 4; і

$R^{14B}$  являє собою:  $-NH_2$ ;  $-N^+H_3$ ;  $-N(CH_3)_2$  або  $-N^+(CH_3)_3$ ;

25 (vii)  $-NH-C(O)-(CH_2)_yR^{14C}$ , де у дорівнює 1-6, і  $R^{14C}$  являє собою  $-O-(CH_2)_{3-4}-N^+(CH_3)_3$ ; і

(viii)  $-NH-C(O)-(CH_2)_yR^{14C}$ , де у дорівнює 1-6, і  $R^{14C}$  являє собою:

(ai)  $-O-(CH_2)_2-N^+(CH_3)_3$ ;

(aii)  $-N^+(CH_3)_3$ ; або

$R^2$  являє собою  $-(CH_2)_z-R^{14A}$ , де  $z$  дорівнює 1-6, і  $R^{14A}$  вибраний із:

30 (i)  $-H$ ;

(ii)  $-NH_2$ ;

(iii)  $-N^+H_3$ ;

(iv)  $-N^+(H_3C)_3$ ;

35 (v)  $-NH-C(O)-[(CH_2)_2-O]_2-(CH_2)_2R^{14B}$ , де  $R^{14B}$  являє собою:  $-NH_2$ ;  $-N^+H_3$ ;  $-N(CH_3)_2$  або  $-N^+(CH_3)_3$ ;

(vi)  $-NH-C(O)-[(CH_2)_{y12}-O]_2-(CH_2)_{y13}R^{14B}$ , де:

$y_{12}$  і  $y_{13}$  не дорівнюють обидва 2 і незалежно дорівнюють від 2 до 4; і

$R^{14B}$  являє собою:  $-NH_2$ ;  $-N^+H_3$ ;  $-N(CH_3)_2$  або  $-N^+(CH_3)_3$ ;

40 (vii)  $-NH-C(O)-(CH_2)_yR^{14C}$ , де у дорівнює 1-6, і  $R^{14C}$  являє собою  $-O-(CH_2)_{3-4}-N^+(CH_3)_3$ ; і

(viii)  $-NH-C(O)-(CH_2)_yR^{14C}$ , де у дорівнює 1-6, і  $R^{14C}$  являє собою:

(ai)  $-O-(CH_2)_2-N^+(CH_3)_3$ ;

(aii)  $-N^+(CH_3)_2R^{14ca}$ , де  $R^{14ca}$  являє собою  $-CH_3$  або  $-(CH_2)_{1-4}-OCH_3$ ;

А являє собою  $-CH_2-(CH_2)_y-CH_2-$ , де у дорівнює від 1 до 6.

27. Сполука за п. 26 або її фармацевтично прийнятна сіль, де

45  $R^1$  являє собою  $-(CH_2)_z-R^{14A}$ , де  $z$  дорівнює 1-6, і  $R^{14A}$  являє собою:

(i)  $-H$ ;

$R^2$  являє собою  $-(CH_2)_z-R^{14A}$ , де  $z$  дорівнює 1-6, і  $R^{14A}$  вибраний із:

(i)  $-H$ ;

(ii)  $-NH_2$ ;

50 (iii)  $-N^+H_3$ ;

(iv)  $-N^+(H_3C)_3$ ;

(v)  $-NH-C(O)-[(CH_2)_2-O]_2-(CH_2)_2R^{14B}$ , де  $R^{14B}$  являє собою:  $-NH_2$ ;  $-N^+H_3$ ;  $-N(CH_3)_2$  або  $-N^+(CH_3)_3$ ;

(vi)  $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-[(\text{CH}_2)_{y12}-\text{O}]_2-(\text{CH}_2)_{y13}\text{R}^{14\text{B}}$ , де:

$y12$  і  $y13$  не дорівнюють обидва 2 і незалежно дорівнюють від 2 до 4; і

$\text{R}^{14\text{B}}$  являє собою:  $-\text{NH}_2$ ;  $-\text{N}^+\text{H}_3$ ;  $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$  або  $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ ;

(vii)  $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_y\text{R}^{14\text{C}}$ , де  $y$  дорівнює 1-6, і  $\text{R}^{14\text{C}}$  являє собою  $-\text{O}-(\text{CH}_2)_{3-4}-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ ; і

(viii)  $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_y\text{R}^{14\text{C}}$ , де  $y$  дорівнює 1-6, і  $\text{R}^{14\text{C}}$  являє собою:

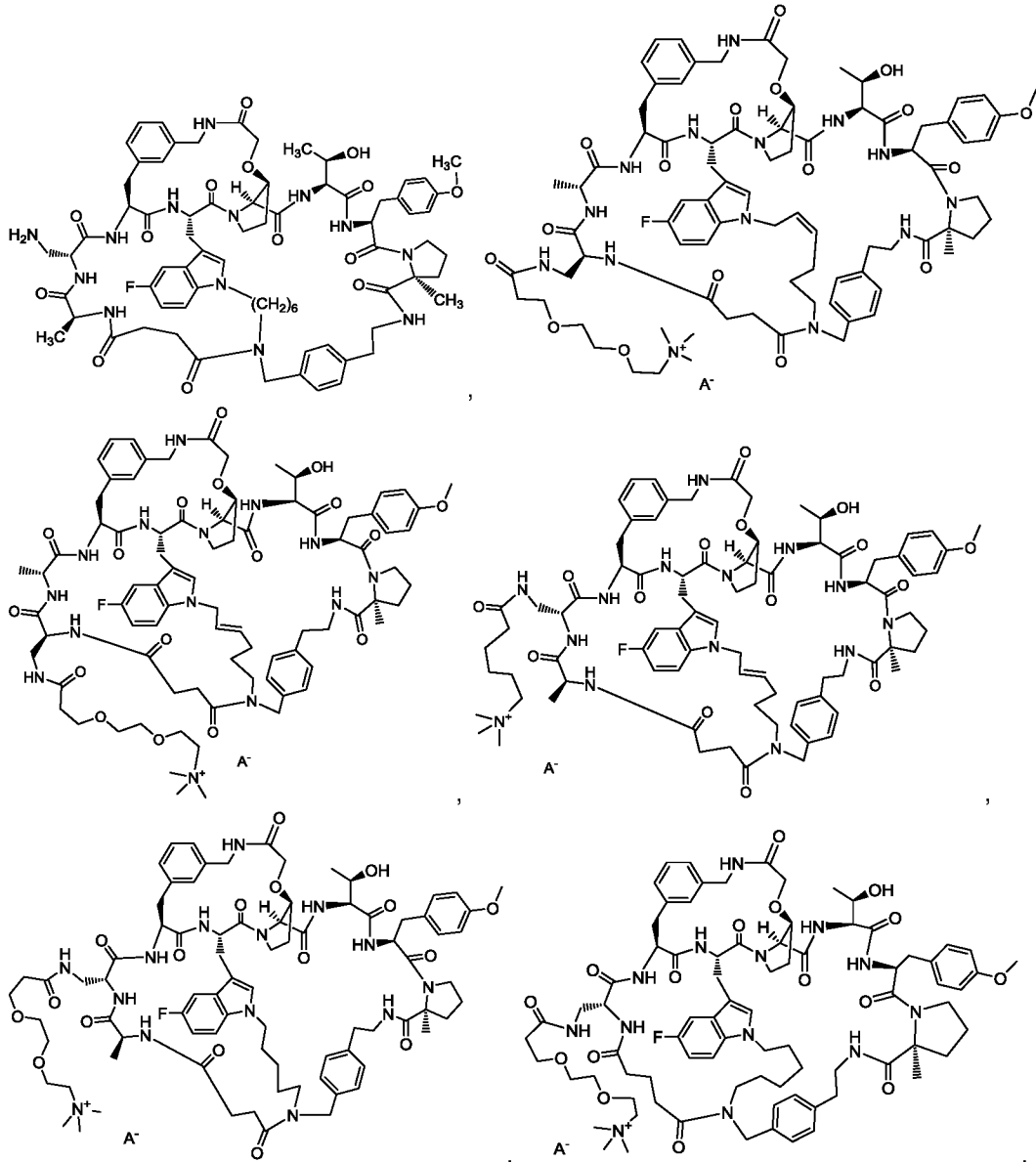
(ai)  $-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ ;

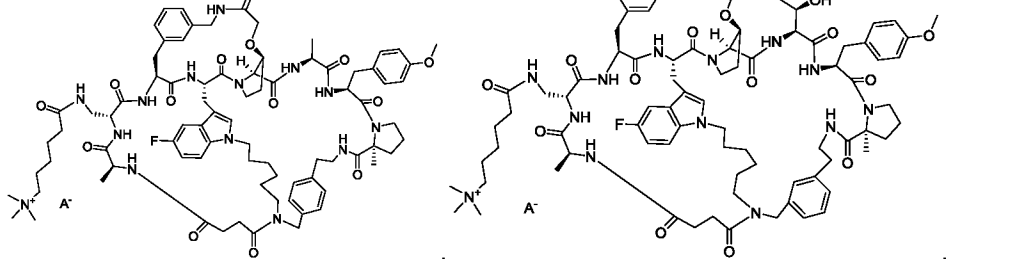
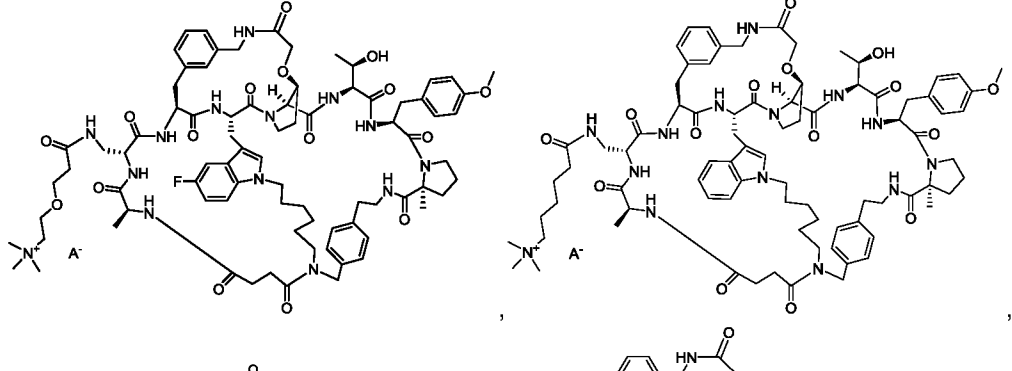
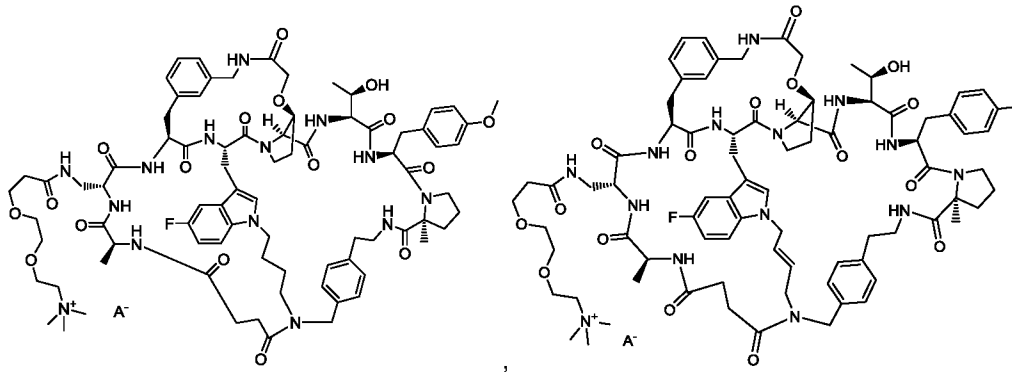
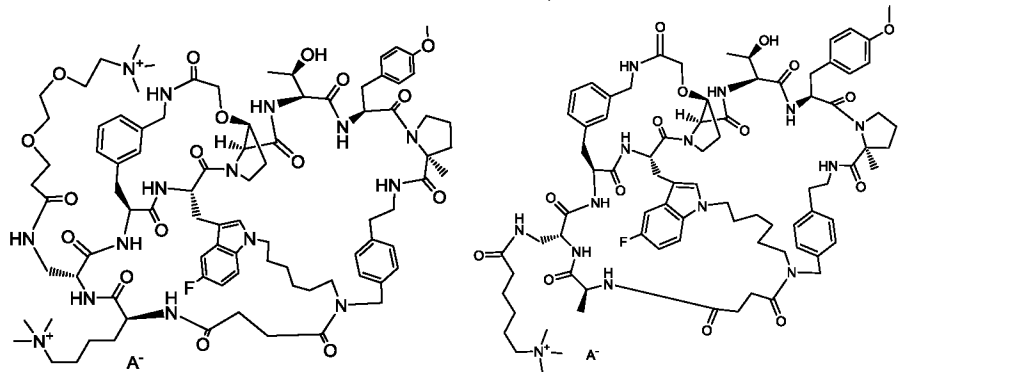
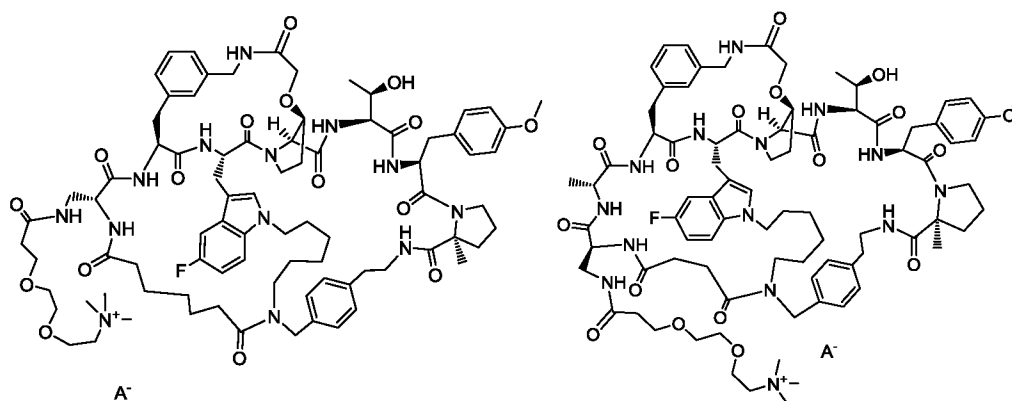
(aii)  $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{R}^{14\text{ca}}$ , де  $\text{R}^{14\text{ca}}$  являє собою  $-\text{CH}_3$  або  $-(\text{CH}_2)_{1-4}-\text{OCH}_3$ ;

$\text{A}$  являє собою  $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_y-\text{CH}_2-$ , де  $y$  дорівнює від 1 до 6.

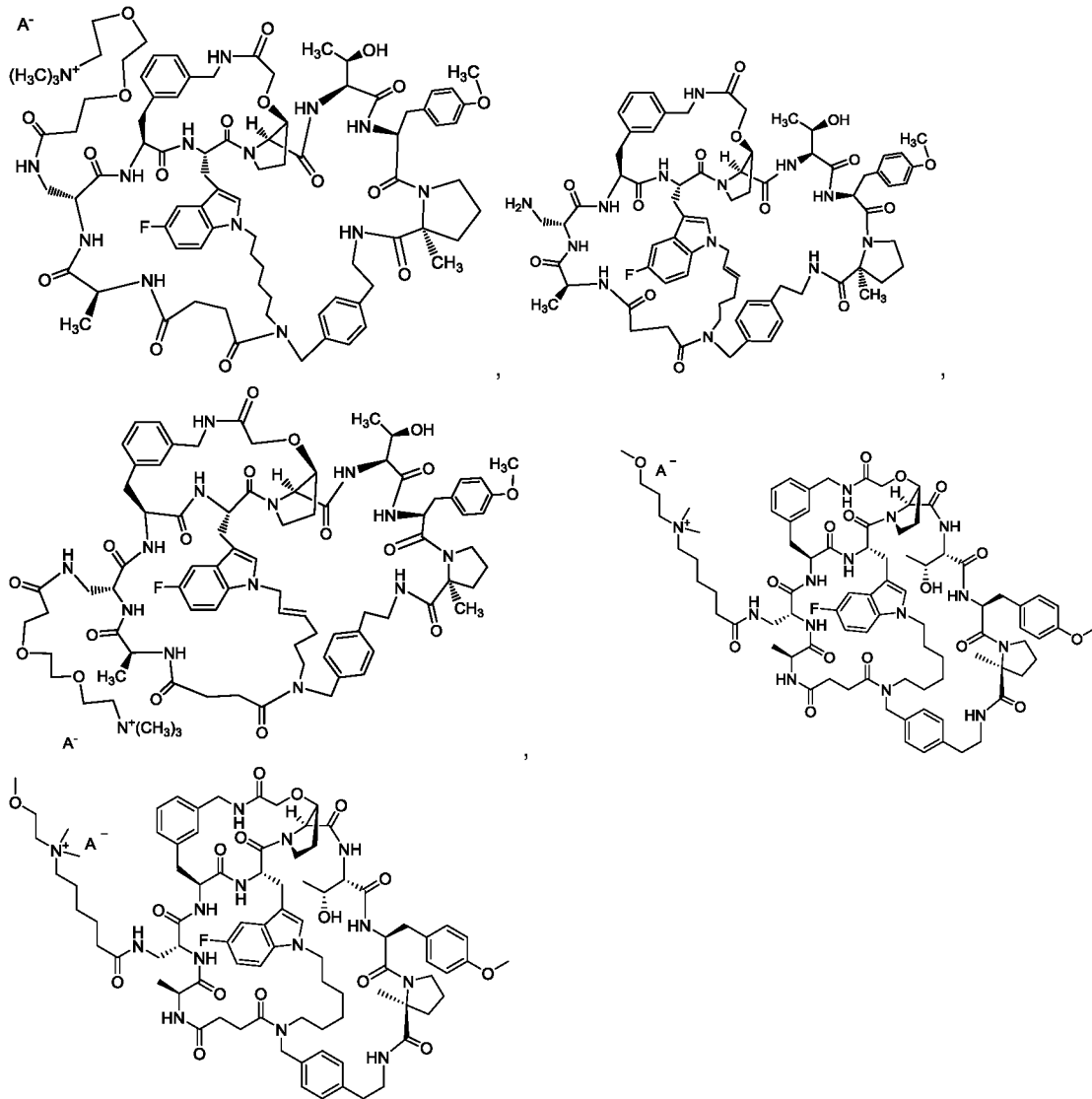
28. Сполука за п. 1, яка вибрана з групи, яка складається з:

10



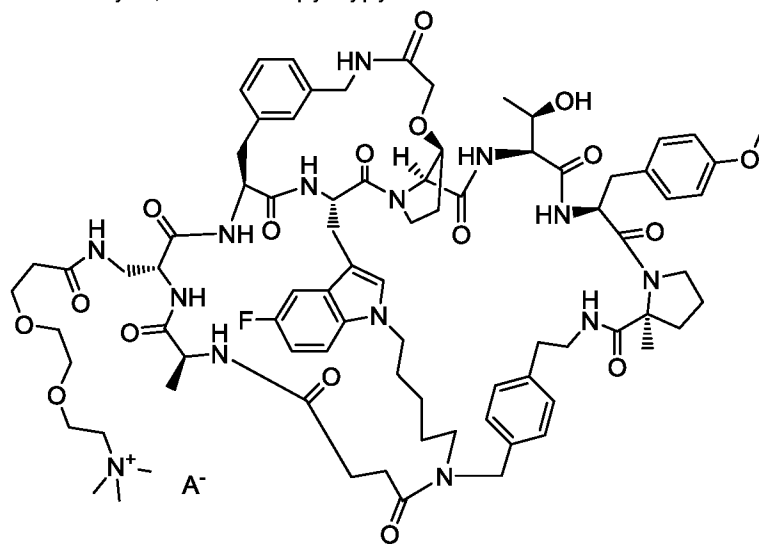


5



де А<sup>-</sup> являє собою фармацевтично прийнятний аніон.

5 29. Сполука, яка має структуру:



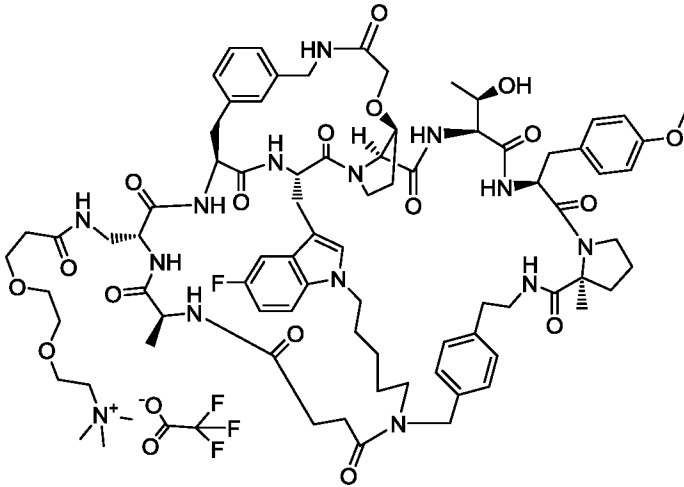
де А<sup>-</sup> являє собою фармацевтично прийнятний аніон.

30. Композиція, яка містить сполуку за п. 29 і щонайменше один фармацевтично прийнятний ексципієнт.

10

31. Спосіб лікування гіперхолестеринемії, який включає введення пацієнту, який потребує цього, терапевтично ефективної кількості композиції за п. 30.

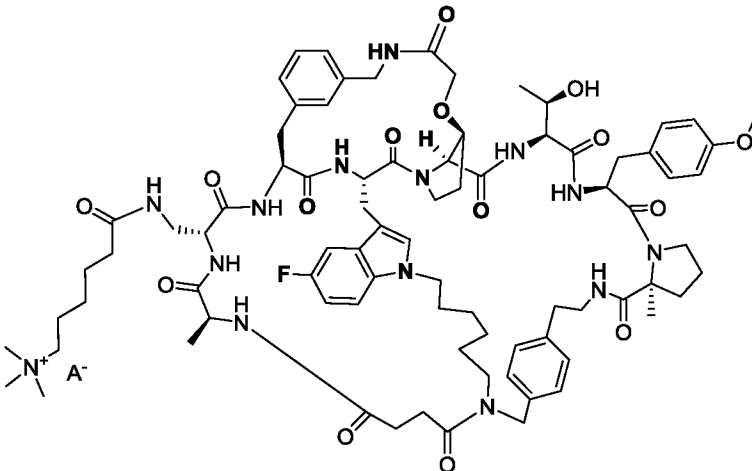
32. Сполука за п. 29, де сполука являє собою:



5 33. Композиція, яка містить сполуку за п. 32 і щонайменше один фармацевтично прийнятний ексципієнт.

34. Спосіб лікування гіперхолестеринемії, який включає введення пацієнту, який потребує цього, терапевтично ефективної кількості композиції за п. 33.

35. Сполука, яка має структуру:



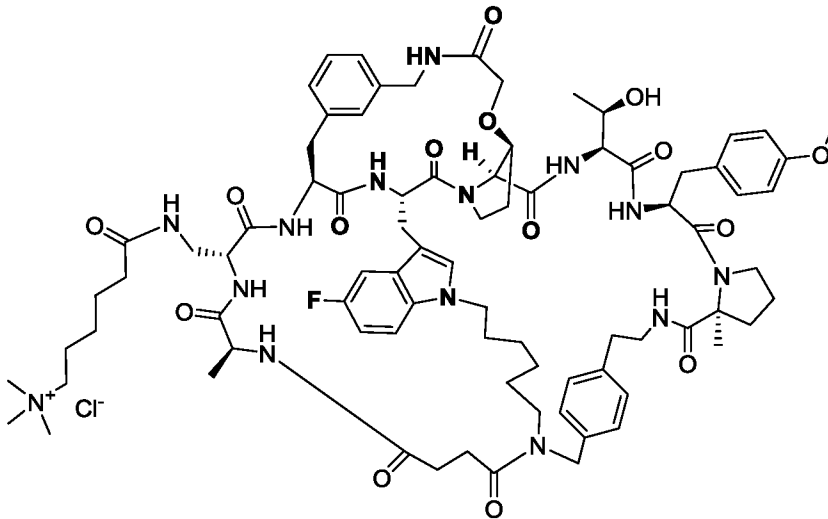
10

де A<sup>-</sup> являє собою фармацевтично прийнятний аніон.

36. Композиція, яка містить сполуку за п. 35 і щонайменше один фармацевтично прийнятний ексципієнт.

15 37. Спосіб лікування гіперхолестеринемії, який включає введення пацієнту, який потребує цього, терапевтично ефективної кількості композиції за п. 36.

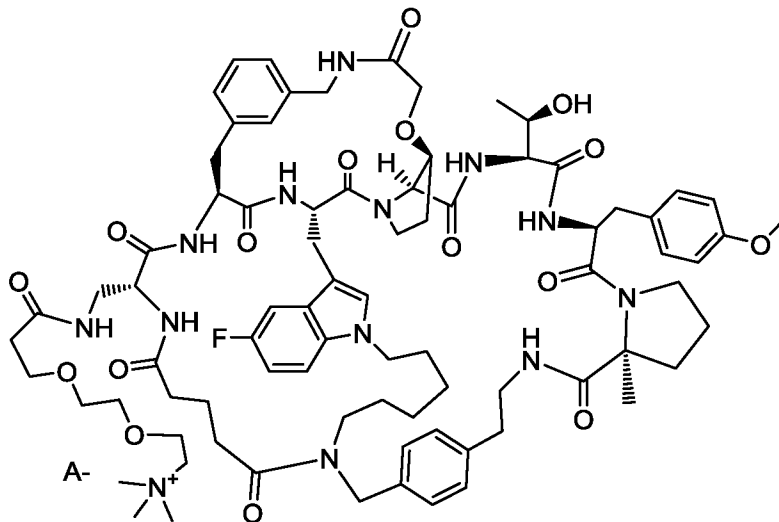
38. Сполука за п. 35, де сполука являє собою:



39. Композиція, яка містить сполуку за п. 38 і щонайменше один фармацевтично прийнятний експіцієнт.

5 40. Спосіб лікування гіперхолестеринемії, який включає введення пацієнту, який потребує цього, терапевтично ефективної кількості композиції за п. 39.

41. Сполука, яка має структуру:

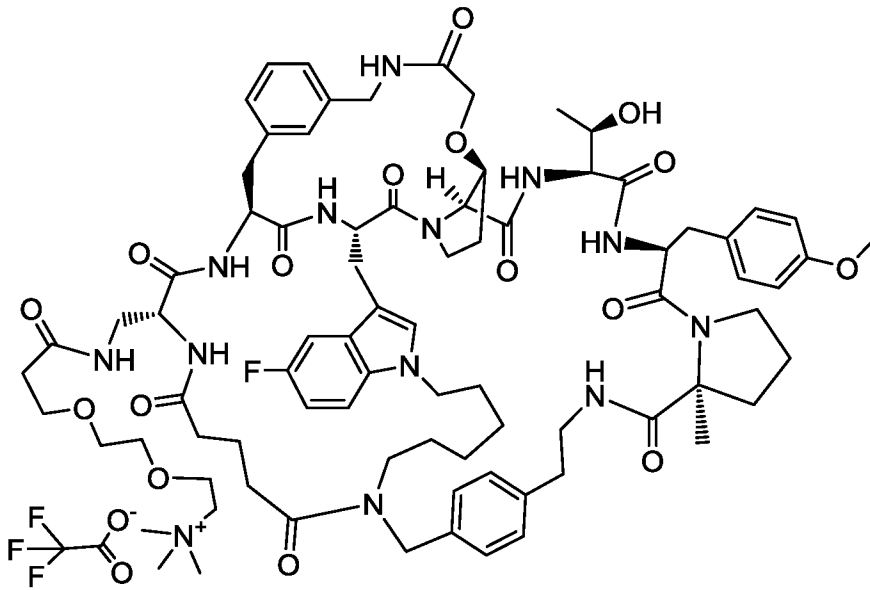


де А<sup>-</sup> являє собою фармацевтично прийнятний аніон.

10 42. Композиція, яка містить сполуку за п. 41 і щонайменше один фармацевтично прийнятний експіцієнт.

43. Спосіб лікування гіперхолестеринемії, який включає введення пацієнту, який потребує цього, терапевтично ефективної кількості композиції за п. 42.

44. Сполука за п. 41, де сполука являє собою:

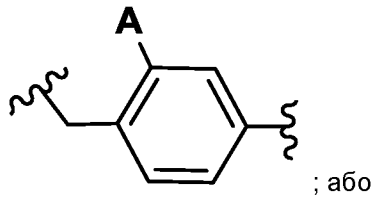


45. Композиція, яка містить сполуку за п. 44 і щонайменше один фармацевтично прийнятний ексципієнт.

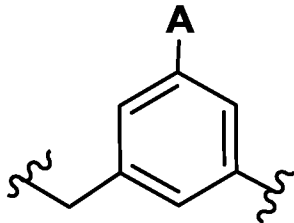
5 46. Спосіб лікування гіперхолестеринемії, який включає введення пацієнту, який потребує цього, терапевтично ефективної кількості композиції за п. 45.

47. Сполука за п. 13, де D<sup>2</sup> являє собою:

(a) частину формули:



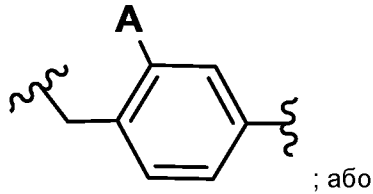
(b) частину формули:



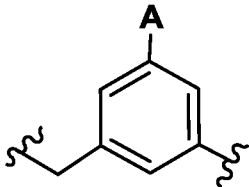
10

48. Сполука за п. 14, де D<sup>2</sup> являє собою:

(a) частину формули



(b) частину формули



15

