



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **111231** (13) **C2**
(51) МПК (2016.01)

C07D 205/08 (2006.01)
C07D 207/277 (2006.01)
C07D 207/28 (2006.01)
C07D 211/78 (2006.01)
C07D 401/04 (2006.01)
A61K 31/397 (2006.01)
A61K 31/4015 (2006.01)
A61K 31/45 (2006.01)
A61K 31/4709 (2006.01)
A61P 25/00
A61P 29/00
A61P 33/00
A61P 35/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

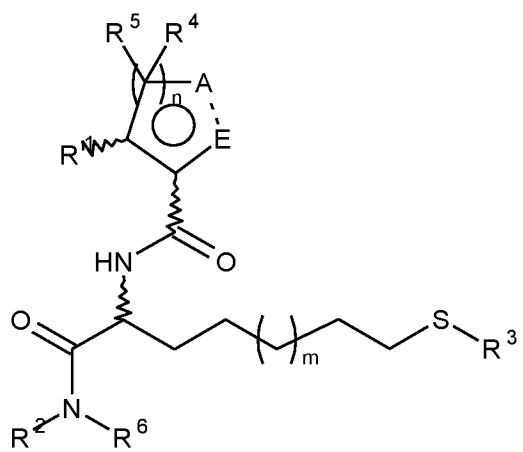
(21) Номер заявки: a 2014 04167	(72) Винахідник(и): Джанніні Джузеппе (ІТ), Кабрі Вальтер (ІТ), Баттістucci Джанфранко (ІТ), Віньола Давіде (ІТ), Фанто' Нікола (ІТ), Пізано Клаудіо (ІТ), Веши Лоредана (ІТ)
(22) Дата подання заявки: 17.09.2012	(73) Власник(и): СІГМА-ТАУ ІНДУСТРІЄ ФАРМАСЬЮТІКЕ РІУНІТЕ С.П.А., Viale Shakespeare, 47, I-00144 Roma, Italy (ІТ)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 11.04.2016	(74) Представник: Мошинська Ніна Миколаївна, реєстр. №115
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 11181832.4	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: US 6511990 B1, 28.01.2003
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 19.09.2011	
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: ЕР	
(41) Публікація відомостей про заявку: 26.05.2014, Бюл.№ 10	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 11.04.2016, Бюл.№ 7	
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: РСТ/ЕР2012/068230, 17.09.2012	

(54) ТІОПОХІДНІ ЛАКТАМІВ ЯК ВИСОКОАКТИВНІ ІНГІБІТОРИ HDAC ТА ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ ЯК ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ**(57) Реферат:**

Даний винахід стосується нових амідних сполук Формули (I) і їх застосування як протипухлинні і проапоптотичні агенти.

Винахід включає застосування зазначених сполук у медицині відносно ракових захворювань, а також інших захворювань, чутливих до інгібування HDAC, і фармацевтичну композицію, що містить зазначені сполуки.

UA 111231 C2



Формула I

Галузь техніки

Даний винахід відноситься до нових тіосполук й їхньому застосуванню як лікарських засобів. Винахід включає застосування зазначених сполук і фармацевтичної композиції, що містить зазначені сполуки, у медицині для лікування ракових захворювань, запальних захворювань, нейрональних захворювань, паразитарних інфекцій (наприклад, інфекції *Plasmodium*), а також інших захворювань, чутливих до інгібування HDAC.

Рівень техніки

Гістондеацетилази (HDAC) є сімейством ферментів, що містяться у ряді організмів, включаючи бактерії, грибки, рослини і тварини. Зазначені ферменти каталізують видалення ацетильних груп із залишків ϵ -N-ацетилованого лізину, що входять до складу різних білкових субстратів, включаючи гістони, фактори транскрипції, α -тубулін й імпортери білкових речовин у ядро. До теперішнього часу охарактеризовані вісімнадцять ізоформ HDAC. Вони розділені на чотири різних сімейства за подібністю послідовностей їх ДНК й їхньої біологічної ролі у клітинах.

HDAC1, HDAC2, HDAC8 й HDAC3 є представниками класу I. Перші три ізоформи, головним чином, представлені в ядрі, тоді як HDAC3 також є присутньою у цитоплазмі або пов'язана з мембраною.

HDAC4, HDAC5, HDAC6, HDAC7, HDAC9 й HDAC10 утворюють клас II. Цей клас додатково розділений на два підкласи - клас IIa (HDAC4, 5, 7 й 9) і клас IIb (HDAC6 й 10). Ферменти класу II експресуються в обмеженій кількості типів клітин й або переміщуються між ядром і цитоплазмою (тобто клас IIa), або присутні, головним чином, у цитоплазмі (тобто клас IIb) (Yang X.J., et al., Mol. Cell. Biol., 2005, 25, 2873).

Клас IV складається тільки з одного члена (HDAC11), при цьому клас III складається з НАД⁺-залежних ферментів, також називаних сиртуїнами. Загальною відмінною ознакою ферментів класів I, II й IV є їхня чутливість до цинку. Було показано, що інгібітори HDAC (HDACi) є високоактивними стимуляторами блокування росту, диференціювання й апоптотичної загибелі трансформованих клітин *in vitro* й *in vivo*.

Також на моделях аутоімунних і запальних захворювань було показано, що інгібування HDAC призводить до зниження запалення (Leoni F., et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 2002, 99, 2995).

Однією з перших сполук, яка була підтверджена як HDACi, була добре відома вальпроєва кислота, використовувана проти епілепсії, яка інгібує всі ізоформи класів I, II й IV. Після виявлення важливої ролі цього сімейства ферментів у розвитку раку низкою наукових груп, а також фармацевтичних компаній вживали спроби, спрямовані на пошук високоактивних HDACi.

Вориностат, спочатку відомий як SAHA (субероїланлід гідроксамової кислоти), був кращим HDACi у класі невеликих похідних гідроксаматів, схвалених FDA у 2006 році для лікування рідкого ракового захворювання - шкірної Т-клітинної лімфоми - у пацієнтів, яким раніше проводили щонайменше одну системну терапію (Grant S., et al., Nature Rev. Drug Discov., 2007, 6, 21). SAHA є високоактивним HDACi, інгібуючим класи I й II, при цьому в цей час переважна більшість HDACi перебуває на стадії клінічних досліджень (Paris M., et al., J. Med. Chem., 2008, 51, 1505).

Фактично, залежно від структури різні сімейства інгібіторів можна розділити на чотири основні групи:

а) коротколанцюгові жирні кислоти (наприклад, бутират натрію, фенілбутират, Pivanex (півалоїлоксиметилбутират, AN-9) і вальпроєва кислота);

б) гідроксамати (наприклад, SAHA, беліностат (PXD101), панобіностат (LBH589), дациностат (LAQ-824) і трихостатин);

с) циклічні похідні (наприклад, ромідепсин або FK-228);

д) бензамід (наприклад, ентиностат (MS-275), моцетиностат (MGCD-0103) і ацетилдиналін (CI-994)).

Для визначення ефективності комбінації широкого спектра HDACi і стандартних хіміотерапевтичних агентів (наприклад, доцетакселу й вориностату) у пацієнтів з розповсюдженим і рецидивуючим раком легенів, сечового міхура або простати проводили низку клінічних досліджень із застосуванням комбінованої терапії (клінічне дослідження NCT00565227). Ще приблизно тринадцять років тому припустили, що HDAC є потенційною мішенню для лікування паразитарних інфекцій (наприклад, інфекції *Plasmodium*). З урахуванням того, що у науковому співтоваристві більшість спроб спрямована на виявлення селективних HDACi, у медицині зберігається більша потреба в універсальних інгібіторах, оскільки показано, що в різних ракових захворюваннях задіяні різні ізоформи HDAC. Крім того, у науковому співтоваристві також виділилися групи, що намагаються співвіднести конкретні ізоформи HDAC і конкретні ракові захворювання (Giannini G., et al., Future Medicinal Chemistry, 2012, 4, 11, 1439-1460). Дійсно, вміст HDAC1 підвищений при раку простати (Halkidou K., et al., Prostate, 2004, 59,

177) і раку кишечника (Choi J.H., et al., Jpn. J. Cancer Res., 2001, 92, 1300), HDAC2 - при раку кишечника (Song J., et al., APMIS, 2005, 113, 264), HDAC3 - при раку легенів (Bartling B., et al., Lung Cancer, 2005, 49, 145), а при плоскоклітинній карциномі порожнини рота спостерігається підвищена експресія HDAC6 (Sakuma T., et al., J. Oncol., 2006, 29, 117).

Також відзначена участь HDAC в інших захворюваннях, таких як нейродегенеративні захворювання (Chuang D.M., et al., Trends in Neuroscience, 2009, 32, 11, 591; Sleiman S.F., et al., Expert Opin. Investig. Drugs, 2009, 18, 5, 573), гіпертрофія серця (Hamamori Y., et al., J. Clin. Invest., 2003, 112, 6, 824). У недавньому огляді докладно розглянуті захворювання, новим підходом до лікування яких є інгібування HDAC (Dinarello C.A., et al., Mol. Med., 2011, 17, 333).

Відомо, що бідентатний фрагмент гідроксамової кислоти є однією з кращих груп, що зв'язують цинк, і була розроблена множина інгібіторів HDAC, що містять зазначений фрагмент (Sampath-Kumar A., et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2005, 15, 8, 1969). Проте, застосування зазначеної функціональної групи зв'язують з погіршенням фармакокінетичних властивостей (Colletti S., et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2001, 11, 107), а також із тривалою токсичністю (Suzuki T., Cur. Med. Chem., 2005, 12, 24, 2867). Відповідно, вживалося багато спроб виявлення нових HDACi, які можуть мати високу афінність зв'язування з біологічною мішенню, а також високу активність у клітині.

У недавно опублікованому огляді (Bertrand P., Eur. J. Med. Chem., 2010, 45, 2095), у якому визначали афінність зв'язування й біологічні властивості, серед негідроксаматних похідних були описані тіоадукти, що дозволяє припустити, що останні можуть мати орієнтацію в активній ділянці білка, зовсім відмінну від орієнтації гідроксаматних аналогів.

Незважаючи на те, що проводилися дослідження HDACi, що містять лінійну тіозв'язувальну групу, проте, до цього часу не було клінічних випробувань жодної із зазначених похідних.

П. Берtrand (Bertrand P.) також припустив, що біологічна активність FK228 була викликана відновленням дисульфідного зв'язку, що призводило до отримання тіоадукту 1, і активною речовиною був останній, що зображено нижче на схемі 1.

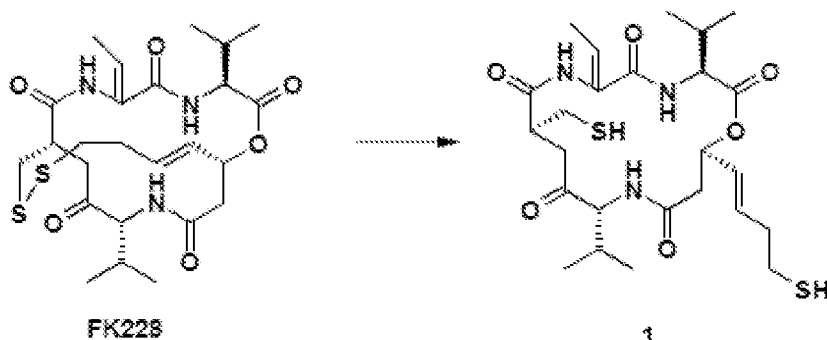


Схема 1

Проте, цей механізм дії FK228 може бути оскаржений на підставі заявки на патент США №12/845658, у якій як активна сполука запропонований інший метаболіт. На жаль, тому що біологічна активність різних метаболітів, запропонованих у теорії, не показана, прямих висновків на підставі цієї роботи зробити не можна.

Був синтезований лінійний тіоаналог SAHA (схема 2) (Suzuki T., et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2004, 14, 3313), і обидві сполуки мали схожу афінність до HDAC.

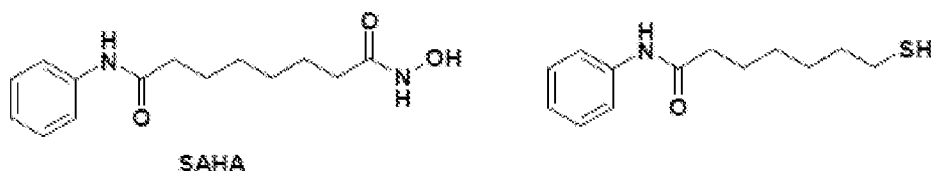
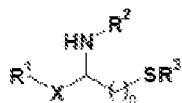


Схема 2

Т. Сузукі зі співавторами (Suzuki T., et al.) додатково запропонували більш активні HDACi з тіовмісними групами, що зв'язують метали (MBG), які містять більше стерично утруднений амідний фрагмент, такий як біфеніл, бензофуран, індол або хінолін замість фенільної групи SAHA (Suzuki T., et al., J. Med. Chem., 2005, 48, 1019).

У заявці на патент Японії №2007238452 описані похідні Формули 2, де атом вуглецю в положенні α відносно карбоніламідів заміщений карбаматним фрагментом (тобто $R^2 = CO_2R$).



Формула 2

Зазначені похідні також були описані пізніше, коли повідомлялося про оптимізацію групи CAP (Suzuki T., et al., J. Med. Chem., 2006, 49, 4809) і/або проміжної групи-спейсера (Itoh Y., et al., J. Med. Chem., 2007, 50, 5425). Необхідно відзначити, що зазначені похідні описували як селективні до HDAC6. Зокрема, І. Іто (Itoh Y.) запропонував похідні, що містять амінозамісники середнього розміру у положенні α відносно карбоніламідів, які, як було показано, були селективними до HDAC6, імовірно внаслідок відсутності гідрофобної кишені, в яку входять зазначені групи інших ізоформ.

Також загальновідомо, що тіпохідні на порядок менш активні у порівнянні з гідроксаматним аналогом (Wang D., et al., J. Org. Chem., 2007, 72, 5446).

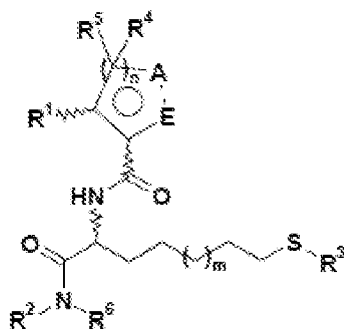
Була показана сприятлива дія SAHA на моделі фокальної церебральної ішемії (Faraco G., et al., Mol. Pharmacol., 2006, 70, 6, 1876).

Таким чином, зберігається більша потреба у забезпеченні нових інгібіторів HDAC, що мають афінність зв'язування з білками HDAC у діапазоні малих наномольних значень, а також високу активність у клітині.

Опис винаходу

Було виявлено, що нові тіпохідні мають високу інгібуючу активність у відношенні HDAC.

У винаході запропоновані сполуки Формули (I) або їх солі, гідрати або сольвати для отримання композиції для інгібування активності HDAC:



Формула I

де

R^1 являє собою H, (C_1-C_6) -алкіл або арил; або як альтернатива

R^1 й один R^4 , кожний з яких пов'язаний з двома сусідніми атомами вуглецю, у випадку якщо n дорівнює 2 або 3, об'єднані з утворенням циклопропанового кільця;

R^2 являє собою феніл, можливо заміщений галогеном, бензилокси, (C_1-C_3) -алкілом або CF_3 ; (C_3-C_6) -циклоалкіл; арил- (C_1-C_6) -алкіл, де арил можливо заміщений бензилокси, (C_1-C_3) -алкілом або CF_3 ;

R^3 являє собою H, $PO(OH)_2$ або групу Формули (II)

$-(CO)-R^7$ Формула II

R^7 являє собою (C_1-C_7) -алкіл, (C_1-C_6) -алкокси або $-CH(NH_2)R^8$;

R^8 являє собою H або бічний ланцюг природної α -амінокислоти;

R^4 й R^6 у кожному випадку незалежно являють собою H, галоген, (C_1-C_6) алкіл, або як альтернатива

якщо n дорівнює 2 або 3, то один R^4 й один R^5 , кожний з яких пов'язаний з двома сусідніми атомами вуглецю, об'єднані з утворенням циклопропанового кільця;

R^6 являє собою H, або як альтернатива

R^2 й R^6 об'єднані з утворенням п'яти- або шестичленного гетероциклу, що може бути необов'язково конденсований з арильним фрагментом;

-A-E- являє собою $-(CO)-(NR^9)-$ або $-(NR^9)-(CO)-$;

R^9 являє собою H або (C_1-C_3) -алкіл;
 m являє собою ціле число від 0 до 3;
 n являє собою ціле число від 0 до 3 за умови, що якщо дорівнює 2 або 3, то R^4 й R^5 у кожному випадку можуть мати різні значення;

символ  означає, що атом вуглецю, який відзначений зазначеним символом, може мати R або S конфігурацію;

символ  може бути відсутнім, але якщо є присутнім, означає, що цикл може бути частково ненасиченим за умови, що якщо атом вуглецю, що містить R^4 , розташований при подвійному зв'язку, то R^5 відсутній;

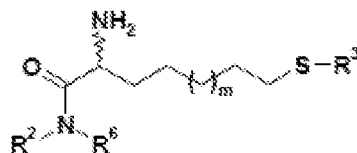
їх таутимери, геометричні ізомери, оптично активні форми, такі як енантіомери, діастереомери і рацемічні форми, а також їх фармацевтично прийнятні солі.

Один з варіантів реалізації даного винаходу являє собою сполуки Формули (I) для застосування як лікарські засоби.

У додатковому варіанті реалізації зазначений лікарський засіб застосовують для лікування суб'єкта, ураженого раковими захворюваннями, запальними захворюваннями, нейрональними захворюваннями і паразитарними інфекціями (наприклад, інфекцією Plasmodium).

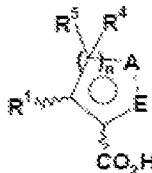
У винаході додатково запропонований спосіб отримання сполук Формули (I), включаючи традиційні способи синтезу, описані нижче.

Сполуки загальної Формули (I) можна отримувати шляхом взаємодії сполук Формули (III)



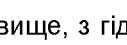
Формула III

де R^2 , R^3 й R^6 й m такі, як описано вище, зі сполуками Формули (IV) або їх органічними солями

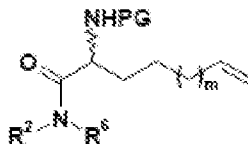


Формула IV

де R^1 , R^4 й R^5 , -A-E- і n такі, як описано вище, у полярному апротонному розчиннику у присутності агента сполучення, добре відомого фахівцям в області сполучення пептидів.

Сполуки загальної Формули (I), де R^3 являє собою  Формула IV можна отримувати шляхом взаємодії сполук Формули (I), де R^3 являє собою  I), таку як визначено вище, і всі інші замісники й параметри такі, як визначено вище, з гідроксидом натрію у полярному розчиннику. Як альтернатива зазначені сполуки можна отримувати після заміни у вищевказаній реакції гідроксиду натрію на тіометоксид натрію за допомогою описаного способу (Wallace O.B., et al., Tetrahedron Letters, 1998, 39, 2693).

Сполуки загальної Формули (III) можна отримувати шляхом взаємодії сполук Формули (V)



Формула V

де R^2 й R^6 й m такі, як описано вище, а PG відноситься до амінозахисної групи, такої як, наприклад, трет-бутоксикарбоніл, зі сполуками Формули (VI)

R³SH Формула VI

де R³ такий, як описано вище, у присутності радикального ініціатора, такого як AIBN, у полярному розчиннику при температурі до 80 °C.

У всіх зазначених перетвореннях можна захищати будь-які заважаючі реакційноздатні групи, а потім знімати захист відповідно до загальноновизнаних способів, описаних в області органічної хімії (наприклад, Greene T. W. and P.G.M. Wuts "Protective Groups in Organic Synthesis", J. Wiley & Sons, Inc., 3rd Ed., 1999), а також добре відомих фахівцям у даній галузі техніки. Всі зазначені перетворення є винятково прикладами загальноновизнаних способів, описаних в області органічної хімії (наприклад, March J., "Advanced Organic Chemistry", J. Wiley & Sons, Inc., 4th Ed., 1992), а також добре відомих фахівцям у даній галузі техніки.

Терміни «(C₁-C_x)-алкіл», «(C₁-C_x)-алкокси» й «(C₃-C_x)-циклоалкіл», де x являє собою ціле число від 2 до 7 (і ціле число від 4 до 7 у випадку циклоалкілу), використовувані окремо або у складі більше складної структури, відносяться до лінійного або розгалуженого алкілу, лінійного або розгалуженого алкокси, що містять від 1 до 7 атомів вуглецю, або до циклоалкільних груп, що містять від 3 до 7 атомів вуглецю.

Терміни «гетероциклоалкіл» і «гетероцикл» відносяться до насиченого або ненасиченого (але не ароматичного) чотирьох-, п'яти-, шести- або семичленного кільця, що містить щонайменше один атом азоту й можливо один або більше інших гетероатомів, які можуть бути однаковими або різними і вибрані з групи, що складається з азоту, кисню й сірки, що може бути заміщене аміно- або алкільними фрагментами. Переважні гетероциклоалкіли включають азетидин, піролідин, піперидин, піперазин, кетопіперазин, 2,5- дикетопіперазин, морфолін і тіоморфолін. Шестичленний гетероциклоалкіл може бути необов'язково конденсований з арилом, таким як визначено нижче. Переважними зазначеними конденсованими гетероциклами є, наприклад, тетрагідрохінолін і тетрагідроізохінолін.

Термін «арил» відноситься до ароматичної карбоциклічної групи, що містить від 6 до 14 атомів вуглецю, яка складається з одного кільця (наприклад, феніл) або декількох кілець, які можуть бути з'єднані за допомогою одинарного зв'язку або можуть бути конденсовані. Переважні арили включають феніл, нафтил, фенантреніл, біфеніл тощо. Зазначений «арил» може містити від 1 до 3 замісників, вибраних із гідроксилу, галогену, галогеналкілу, ціано, (C₁-C_x)-алкілу, (C₁-C_x)-алкокси, бензилокси, аміно, аміноалкілу або алкіламіно.

Термін «аміно» відноситься до групи -NH₂.

Термін «алкіламіно» відноситься до групи -NHR, де R являє собою «(C₁-C_x)-алкіл», такий як визначено вище.

Термін «аміноалкіл» відноситься до (C₁-C_x)-алкілу, такому як визначено вище, заміщеному аміногрупою.

Термін «галогеналкіл» відноситься до фрагментів CF₃ або CHF₂ або до алкільних груп, таких як визначено раніше, що містять фрагменти CF₃ або CHF₂.

Термін «арил-(C₁-C₆)-алкіл» відноситься до алкільних груп, таких як визначено вище, що містять один арильний замісник, такий як визначено вище. Переважні арил-(C₁-C₆)-алкіли включають бензил, фенетил, дифенілметил тощо.

Вираження «природна α-амінокислота» відноситься до 20 природних α-амінокислот, включаючи гліцин, аланін, фенілаланін, валін, лейцин, ізолейцин, аспарагінову кислоту, аспарагін, глутамінову кислоту, глутамін, серин, лізин, гістидин, метіонін, пролін, цистеїн, треонін, триптофан, аргінін і тирозин у всіх можливих ізомерних формах.

Термін «рак» означає злоякісне новоутворення, яке впроваджується й руйнує навколишні тканини і може давати метастази й, зрештою, призводити до смерті хазяїна.

«Фармацевтично прийнятні солі» відносяться до солей визначених нижче сполук Формули (I), які зберігають бажану біологічну активність. Приклади зазначених солей включають, але не обмежуються ними, солі приєднання кислот, отримані із застосуванням неорганічних кислот (наприклад, хлороводневої кислоти, бромоводневої кислоти, сірчаної кислоти, фосфорної кислоти, азотної кислоти тощо), і солі органічних кислот, таких як оцтова кислота, щавлева кислота, винна кислота, бурштинова кислота, яблучна кислота, фумарова кислота, малеїнова кислота, аскорбінова кислота, бензойна кислота, танінова кислота, памова кислота, альгінова кислота, поліглутамінова кислота, нафталін сульфокислота, толуол сульфокислота, нафталін дисульфокислота, метан сульфокислота й полігалактуронова кислота.

Ми виявили, що похідні (I) і їх фармацевтично прийнятні солі, отримані згідно з даним винаходом, підходять для лікування хворобливих станів, порушень і патологічних станів, опосередкованих HDAC; зокрема для лікування ракових захворювань, запальних захворювань, нейрональних захворювань і паразитарних інфекцій (наприклад, інфекції Plasmodium).

Фармацевтичні композиції містять щонайменше одну сполуку Формули (I) як активний

інгредієнт у кількості, достатній для забезпечення значної терапевтичної дії. Композиції, охоплені даним винаходом, повною мірою можна вважати традиційними, і їх отримують за допомогою способів, розповсюджених у фармацевтичній промисловості, наприклад, проілюстрованих в останньому виданні Remington's Pharmaceutical Science Handbook, Mack Pub. N.Y. Відповідно до вибраного способу введення композиції мають тверду або рідку форму, що підходить для перорального, парентерального або місцевого введення. Композиції згідно з даним винаходом разом із активним інгредієнтом містять щонайменше один фармацевтично прийнятний носій або наповнювач. Вони можуть являти собою допоміжні речовини, що особливо підходять для отримання складів, наприклад, агенти, що підвищують розчинність, диспергуючі агенти, суспендуєчі агенти й емульгатори.

У цілому, сполуки згідно з даним винаходом вводять у «терапевтично ефективній кількості». Фактично кількість сполуки, що вводять, як правило, визначає лікар з урахуванням важливих обставин, включаючи стан, що піддається лікуванню, вибраний спосіб введення, фактичну сполуку, яку вводять, комбінацію лікарських засобів, вік, масу тіла, індивідуальну відповідь пацієнта, тяжкість симптомів пацієнта тощо. Для будь-якої сполуки спочатку можна проводити оцінку терапевтично ефективної дози у дослідженнях клітинних культур або на тваринних моделях, зазвичай на мишах, пацюках, морських свинках, кроликах, собаках або свинях. Тваринні моделі також можна застосовувати для визначення відповідного діапазону концентрацій і способу введення. Зазначену інформацію потім можна використати для визначення придатних доз і способів введення людині. При розрахунку еквівалентної дози для людини (HED) рекомендується використовувати таблицю переведення, наведену у керівництві для галузі й в експертній документації (2002, U.S. Food and Drug Administration, Rockville, Maryland, USA).

У цілому, ефективна доза становить від 0,01 мг/кг до 100 мг/кг, переважно від 0,05 мг/кг до 50 мг/кг. Для будь-якої сполуки спочатку можна проводити оцінку терапевтично ефективної дози у дослідженнях клітинних культур або на тваринних моделях, зазвичай на мишах, пацюках, морських свинках, кроликах, собаках або свинях. Точна ефективна доза для суб'єкта-людини залежить від тяжкості хворобливого стану, загального стану здоров'я суб'єкта, віку, маси тіла й статі суб'єкта, режиму харчування, часу й частоти введення, комбінації(й) лікарських засобів, чутливості реакції й переносимості/відповіді на терапію. Цю кількість можна визначати за допомогою традиційної експериментальної роботи, вибір знаходиться у рамках компетенції лікаря.

Композиції можна вводити пацієнтові окремо або у комбінації з іншими агентами, лікарськими засобами або гормонами.

Лікарський засіб також може містити фармацевтично прийнятний носій для введення терапевтичного агента. Зазначені носії включають антитіла й інші поліпептиди, гени й інші терапевтичні агенти, такі як ліпосоми, за умови, що застосування носія не призводить до отримання антитіла, шкідливих для індивідуума, що отримує композицію, і введення носія не викликає надмірну токсичність.

Придатні носії можуть являти собою великі повільно метаболізуючі макромолекули, такі як білки, полісахариди, полімолочні кислоти, полігліколієві кислоти, полімерні амінокислоти, співполімери амінокислот й інактивні частки вірусів.

Докладне обговорення фармацевтично прийнятних носіїв наведене у Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Pub. Co., N.J. 1991).

Фармацевтично прийнятні носії у терапевтичних композиціях можуть додатково містити рідини, такі як вода, сольовий розчин, гліцерин й етанол.

Крім того, до складу зазначених композицій можуть входити допоміжні речовини, такі як зволожувачі або емульгатори, буферні речовини тощо. Зазначені носії дозволяють вводити фармацевтичні композиції до складу таблеток, пігулок, драже, капсул, рідин, гелів, сиропів, еліксирів, суспензій, суспензій тощо для споживання пацієнтом.

Після введення до складу лікарської форми композиції згідно з даним винаходом можна безпосередньо вводити суб'єктові. Суб'єкти, яких піддають лікуванню, можуть являти собою тварин; зокрема можна піддавати лікуванню людину.

Лікарський засіб згідно з даним винаходом можна вводити за допомогою будь-яких способів, включаючи, але не обмежуючись ними, пероральне, внутрішньовенне, внутрішньом'язове, внутрішньоартеріальне, інтрамедулярне, інтратекальне, внутрішньошлуночкове, черезшкірне й транскутанне введення, за допомогою підшкірного, інтраперитонеального, інтраназального, ентерального, місцевого, під'язикового, внутрішньовагінального або ректального способів.

Композиції для перорального введення можуть мати форму не розфасованих рідких розчинів або суспензій або не розфасованих порошків. Частіше, проте, композиції містяться у

вигляді одиничних лікарських форм, що сприяє точності дозування. Термін «одиничні лікарські форми» відноситься до фізично роздільних часток, що підходять для введення стандартних дозувань людині й іншим ссавцям, де кожна частка містить попередньо визначену кількість активної речовини, розраховану для забезпечення бажаної терапевтичної дії, разом із придатним фармацевтичним наповнювачем. Типові одиничні лікарські форми включають ампули або шприци, попередньо заповнені дозованими кількостями рідких композицій, або пігулки, таблетки, капсули тощо у випадку твердих композицій. У зазначених композиціях сполука згідно з даним винаходом зазвичай є неосновним компонентом (вміст від приблизно 0,1 до приблизно 50% за масою або переважно від приблизно 1 до приблизно 40% за масою), а кількість, що залишилася, становлять різні наповнювачі або носії й технологічні добавки, що сприяють отриманню бажаної лікарської форми. Введення дозування можна проводити за один раз або у вигляді декількох доз.

Як обговорювалося вище, сполуки згідно з даним винаходом за рахунок інгібуючих властивостей у відношенні HDAC є придатними лікарськими засобами для лікування порушень, при яких зазначене інгібування призводить до поліпшення стану здоров'я пацієнта, зокрема пацієнтів, що страждають від раку й запальних захворювань.

Зазначені композиції можуть разом зі сполуками Формули (I) додатково містити відомі активні компоненти.

Додатковим завданням винаходу є спосіб отримання фармацевтичних композицій, що характеризується змішуванням однієї або більше сполук Формули (I) з придатними наповнювачами, стабілізаторами й/або фармацевтично прийнятними розріджувачами.

Одним із варіантів реалізації даного винаходу є сполуки Формули (I), описані раніше, де n дорівнює 1 або 2.

Переважаючим варіантом реалізації даного винаходу є сполуки Формули (I), описані раніше, де R^3 являє собою групу Формули (II), описану вище.

Відповідно до іншого варіанта реалізації даного винаходу раковим захворюванням, що піддається лікуванню, є первинна пухлина, вибрана з групи, що включає саркому, карциному, меланому, пухлину кістки, нейроендокринну пухлину, лімфоїдну лейкемію, мієлоїдну лейкемію, моноцитарну лейкемію, мегакаріоцитарну лейкемію, гостру промієлоцитарну лейкемію або хворобу Ходжкіна.

Вищевказані саркома й карцинома складаються з групи, що включає: рак грудей, рак легенів, включаючи недрібноклітинний рак легенів (НДРЛ) і дрібноклітинний рак легенів

(ДРЛ); рак шлунково-кишкового тракту, включаючи рак стравоходу, шлунка, тонкого кишечника, товстого кишечника, прямої кишки й товстої кишки; гліому, включаючи гліобластому; рак яєчників; рак шийки матки; рак ендометрію; мезотеліому; рак нирок; рак простати; рак черевної порожнини; рак плеври; рак області обличчя і шиї; рак сечового міхура; рак мозку; і рак шкіри або ока.

Новоутворення також можуть відноситися до педіатричного раку. Педіатричні ракові захворювання, які можна лікувати або прогресування яких можна відкладати згідно з даним винаходом, наприклад, вибрані з групи, що складається з: гострої лімфобластної лейкемії, гострої мієлоїдної лейкемії, адренкортикальної карциноми, астроцитоми, раку сечового міхура, гліоми стовбура головного мозку, атипичного тератоїдного/рабдоїдного раку центральної нервової системи, раку мозку, ембріонального раку центральної нервової системи, раку мозку, астроцитоми, краніофарингіоми, епендимобластоми, епендимоми, дитячої медулобластоми, медулоепітеліоми, раку паренхіми шишкоподібної залози з проміжним диференціюванням, супратенторіального примітивного нейроектодермального раку й пінеобластоми, раку грудей, бронхіального раку, карциноїдного раку, раку шийки матки, хордоми, колоректального раку, раку стравоходу, екстракраніального раку зародкових клітин, рака шлунка, гліоми, печінковоклітинного раку (раку печінки), лімфоми Ходжкіна, раку нирки, раку гортані, лейкемії, гострої лімфобластної/мієлоїдної лейкемії, раку печінки, неходжкінської лімфоми, медулобластоми, мезотеліоми, синдрому множинної ендокринної неоплазії, раку носоглотки, раку порожнини рота, раку яєчників, раку підшлункової залози, папіломатозу, нирковоклітинного раку, рабдоміосаркоми, раку слинних залоз, саркоми, раку шкіри, тимоми і тимусної саркоми, раку щитовидної залози й раку піхви.

Інший варіант реалізації даного винаходу включає сполуки, вибрані з групи, що складається з: ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (S)-6-оксопіридин-2-карбонової кислоти, ((S)-1-циклопентилкарбамоїл-6-меркаптогексил)аміду (S)-6-оксопіридин-2-карбонової кислоти, [(S)-1-(3-бензилоксибензилкарбамоїл)-6-меркаптогексил]аміду (S)-6-оксопіридин-2-карбонової кислоти, [(S)-6-меркапто-1-(4-трифторметилбензилкарбамоїл)гексил]аміду (S)-6-оксопіридин-2-карбонової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (S)-4-

оксоазетидин-2-карбонової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (3S,4S)-2-оксо-4-фенілпіролідін-3-карбонової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (3R,4R)-2-оксо-4-фенілпіролідін-3-карбонової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (3R,4S)-2-оксо-4-фенілпіролідін-3-карбонової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (3S,4R)-2-оксо-4-фенілпіролідін-3-карбонової кислоти, [(S)-1-(3,4-дигідро-1H-ізохінолін-2-карбоніл)-6-меркаптогексил]аміду (S)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (R)-5-оксопіролідін-2-карбонової кислоти, [(S)-6-меркапто-1-(2-м-толуїлетилкарбамоїл)-гексил]аміду (S)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (R)-2-оксопіперидин-3-карбонової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (S)-2-оксопіперидин-3-карбонової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (R)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (S)-6-оксо-1,2,3,6-тетрагідропіридин-2-карбонової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (S)-2-оксо-3-азабіцикло[4.1.0]гептан-4-карбонової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (S)-6-оксо-1,2,5,6-тетрагідропіридин-2-карбонової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (S)-4-оксо-3-азабіцикло[4.1.0]гептан-2-карбонової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду 6-оксо-1,6-дигідропіридин-2-карбонової кислоти, ((S)-5-меркапто-1-фенілкарбамоїлпентил)аміду (S)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти, ((S)-7-меркапто-1-фенілкарбамоїлгептил)аміду (S)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (S)-1-метил-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-м-толуїлкарбамоїлгексил)аміду (S)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти й ((S)-6-меркапто-1-п-толуїлкарбамоїлгексил)аміду (S)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти й відповідних проліків, де R³ такий, як описаний для сполук Формули (I), але не є H.

Інший варіант реалізації даного винаходу включає сполуки, вибрані з групи, що складається з S-[(S)-6-[(S)-4-оксоазетидин-2-карбоніл)аміно]-6-фенілкарбамоїлгексильного} ефіру тіооцтової кислоти, S-[(S)-6-[(S)-6-оксопіперидин-2-карбоніл)аміно]-6-(4-трифторметилбензилкарбамоїл)гексильного} ефіру тіооцтової кислоти, S-[(S)-6-(3-бензилоксибензилкарбамоїл)-6-[(S)-6-оксопіперидин-2-карбоніл)-аміно]гексильного} ефіру тіооцтової кислоти, S-[(S)-7-(3,4-дигідро-1H-ізохінолін-2-іл)-7-оксо-6-[(S)-6-оксопіперидин-2-карбоніл)аміно]гептильного} ефіру тіооцтової кислоти, S-[(S)-6-[(S)-6-оксопіперидин-2-карбоніл)аміно]-6-(2-м-толуїлетилкарбамоїл)-гексильного} ефіру тіооцтової кислоти, S-[(S)-6-[(R)-6-оксопіперидин-2-карбоніл)-аміно]-6-фенілкарбамоїлгексильного} ефіру тіооцтової кислоти, S-[(S)-6-[(S)-6-оксопіперидин-2-карбоніл)аміно]-6-фенілкарбамоїлгексильного} ефіру тіооцтової кислоти, S-[(S)-6-[(S)-6-оксопіперидин-2-карбоніл)аміно]-6-п-толуїлкарбамоїлгексильного} ефіру тіооцтової кислоти, -[(S)-6-[(S)-6-оксопіперидин-2-карбоніл)аміно]-6-м-толуїлкарбамоїлгексильного} ефіру тіооцтової кислоти, S-[(S)-6-[(S)-6-оксопіперидин-2-карбоніл)аміно]-6-циклопентилкарбамоїлгексильного} ефіру тіооцтової кислоти, S-[(S)-6-[(3R*,4S*)-2-оксо-4-фенілпіролідін-3-карбоніл)аміно]-6-фенілкарбамоїлгексильного} ефіру тіооцтової кислоти, S-[(S)-6-[(3R*,4R*)-2-оксо-4-фенілпіролідін-3-карбоніл)аміно]-6-фенілкарбамоїлгексильного} ефіру тіооцтової кислоти, S-[(S)-6-[(R)-5-оксопіролідін-2-карбоніл)аміно]-6-фенілкарбамоїлгексильного} ефіру тіооцтової кислоти, S-[(S)-6-[(R*)-(2-оксопіперидин-3-карбоніл)аміно]-6-фенілкарбамоїлгексильного} ефіру тіооцтової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (S)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти, ((S)-1-циклопентилкарбамоїл-6-меркаптогексил)аміду (S)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти, [(S)-1-(3-бензилоксибензилкарбамоїл)-6-меркаптогексил]аміду (S)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти, [(S)-6-меркапто-1-(4-трифторметилбензилкарбамоїл)гексил]аміду (S)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (S)-4-оксоазетидин-2-карбонової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (3S,4S)-2-оксо-4-фенілпіролідін-3-карбонової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (3R,4R)-2-оксо-4-фенілпіролідін-3-карбонової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (3R,4S)-2-оксо-4-фенілпіролідін-3-карбонової кислоти, [(S)-1-(3,4-дигідро-1H-ізохінолін-2-карбоніл)-6-меркаптогексил]аміду (S)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (R)-5-оксопіролідін-2-карбонової кислоти, [(S)-6-меркапто-1-(2-м-толуїлетилкарбамоїл)гексил]аміду (S)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (R)-2-оксопіперидин-3-карбонової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (S)-2-оксопіперидин-3-карбонової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (R)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти, змішаного {(S)-6-[(S)-6-оксопіперидин-2-карбоніл)аміно]-6-

фенілкарбамоїлгексилового}етилового ефіру тіокарбонової кислоти, S-{{(S)-6-[(S)-6-оксопіперидин-2-карбоніл)аміно]-6-фенілкарбамоїлгексильного} ефіру тіоізомасляної кислоти, S-{{(S)-6-[(S)-5-оксопіролідин-2-карбоніл)аміно]-6-фенілкарбамоїлгексильного} ефіру тіооцтової кислоти, S-{{(S)-6-[(S)-5-оксопіролідин-2-карбоніл)аміно]-6-м-толуїлкарбамоїлгексильного} ефіру тіооцтової кислоти, S-{{(S)-6-[(R)-1-метил-5-оксопіролідин-2-карбоніл)аміно]-6-фенілкарбамоїлгексильного} ефіру тіооцтової кислоти, змішаного {(S)-6-[(R)-5-оксопіролідин-2-карбоніл)аміно]-6-фенілкарбамоїлгексилового}етилового ефіру тіокарбонової кислоти, S-{{(S)-6-[(R)-5-оксопіролідин-2-карбоніл)аміно]-6-м-толуїлкарбамоїлгексильного} ефіру тіооцтової кислоти, S-{{(S)-6-[(R)-1-метил-5-оксопіролідин-2-карбоніл)аміно]-6-м-толуїлкарбамоїлгексильного} ефіру тіооцтової кислоти, S-[(S)-6-[(R)-5-оксопіролідин-2-карбоніл)аміно]-6-(3-трифторметилфенілкарбамоїл)гексильного} ефіру тіооцтової кислоти, S-{{(S)-6-[(S)-1-метил-6-оксопіперидин-2-карбоніл)аміно]-6-фенілкарбамоїлгексильного} ефіру тіооцтової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (S)-1-метил-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти, ((S)-6- меркапто-1-м-толуїлкарбамоїлгексил)аміду (S)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти, ((S)-6-меркапто-1-п-толуїлкарбамоїлгексил)аміду (S)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти й S-{{(S)-6-[(S)-6-оксо-1,2,3,6-тетрагідропіридин-2-карбоніл)аміно]-6-фенілкарбамоїлгексильного} ефіру тіооцтової кислоти.

Опис креслення

Фігура 1: Вестерн-блот аналіз екстрактів цитоплазми і ядер клітин NCI-H460 після введення сполуки відповідно до Прикладу 14.

У проілюстрованих нижче прикладах наведений не вичерпний перелік об'єктів, що перебувають під захистом даного винаходу.

Приклади

Скорочення:

AcOEt: етилацетат

AIBN: азобісизобутиронітрил ДХМ: дихлорметан

DIPEA: діізопропілетиламін

ДМФ: диметилформамід

EDCI: 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодіімід

EtOH: етанол

Et₂O: діетиловий ефір

ВЕРХ: високоефективна рідинна хроматографія

IPA: ізопропіловий спирт

MeOH: метанол

NaHCO₃: бікарбонат натрію

Na₂SO₄: сульфат натрію

NEt₃: триетиламін

РyBOP: (гексафторфосфат бензотриазол-1-ілокси-трис- (диметиламіно)фосфонію)

КТ: кімнатна температура

SAC: тіоацетил

ТФО: трифтороцтова кислота

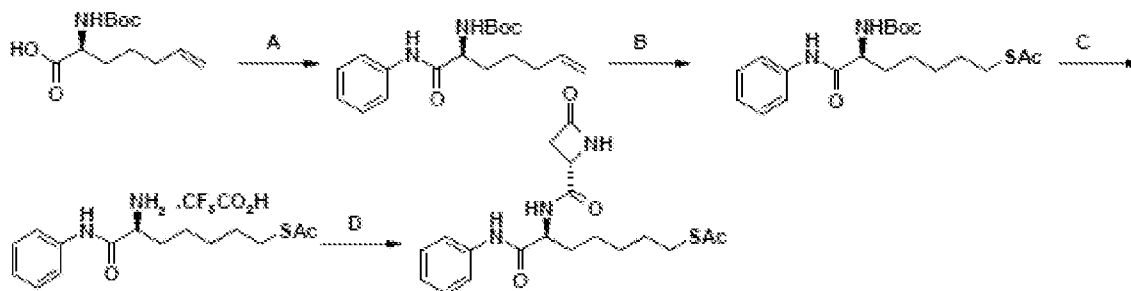
ТШХ: тонкошарова хроматографія

Загальні положення: Всі реакції у безводному середовищі проводили у висушеному полум'ям скляному посуді при позитивному тиску аргону без доступу вологи до реагентів і скляному посуді за допомогою традиційних способів обігу з чутливими до повітря сполуками. Безводний ТГФ, толуол, Et₂O і ДХМ отримували шляхом фільтрування через колонки з осушувачем (Solvent Delivery System); інші розчинники перед застосуванням переганяли при позитивному тиску сухого аргону й сушили за допомогою традиційних способів. Реагенти, отримувані з комерційних джерел, використовували без додаткового очищення. Флеш-хроматографію проводили на силікагелі 230-400 меш із використанням зазначених систем розчинників. Тонкошарову хроматографію проводили на пластинах з попередньо нанесеним силікагелем і фольговою зворотною стороною (Merck 60F₂₅₄). Візуалізацію проводили у короткохвильовому ультрафіолеті й/або шляхом занурення пластин у розчин сульфату церію/молібдату амонію у водній H₂SO₄, перманганату калію або розчин анісальдегіду в етанолі й наступного обвуглювання з використанням фена. Як альтернатива фарбування пластин ТШХ можна проводити шляхом впливу пари йоду у проявляючій камері з йодом. Масовий аналіз із низьким і високим дозволом проводили на мас-спектрометрах AEI-MS 902 або MS-50 з використанням техніки електронного розпилення (IEP). Спектри ядерного магнітного резонансу отримували на спектрометрах Gemini (Varian) при 300 або 500 Мгц. Масовий аналіз проводили на спектрометрі Waters ZQ2000 з використанням техніки електронного розпилення (IEP). Аналіз

PXMC проводили на пристрої LC-Waters (HPLC Waters Alliance 2695, ZQ2000 MS, детектор PDA-УФ 2996).

Приклад 1

5 S-((S)-6-(((S)-4-оксоазетидин-2-карбоніл)аміно)-6-фенілкарбамоїлгексильовий} складний ефір тіооцтової кислоти



A: анілін, PyBOP, DIPEA, ДМФ і ДХМ, КТ; B: AcSH, AIBN, діоксан, 75°C; C: ТФО, ДХМ, 0°C – КТ; D: (S)-4-оксоазетидин-2-карбонова кислота, PyBOP, NEt₃, ДМФ і ДХМ, КТ

Схема 1

10 Стадія А: Трет-бутиловий ефір ((S)-1-фенілкарбамоїлгекс-5-еніл)карбамінової кислоти Розчин (S)-2-трет-бутоксикарбоніламіногепт-6-єнової кислоти (5,24 ммоль), DIPEA (15,7 ммоль) і аніліну (5,76 ммоль) перемішували при КТ у ДХМ (70 мл) протягом 20 хвилин, після чого додавали PyBOP (5,24 ммоль) і безводний ДМФ (5 мл). Реакційну суміш перемішували протягом 2 годин при КТ. Розчинник видаляли при зниженому тиску й неочищену реакційну суміш розбавляли AcOEt, промивали 5% Na₂CO₃, водою, а потім 5% водною лимонною кислотою й, нарешті, сольовим розчином. Після видалення розчинника при зниженому тиску й очищення на силікагелі (н-гексан/ AcOEt: 9/1) отримували цільовий адукут.

Вихід: 85%.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ: 1,13 (m, 2H), 1,14 (s, 9H), 1,60 (m, 2H), 2,01 (m, 2H), 4,05 (m, 1H), 4,94 (m, 2H), 5,77 (m, 1H), 7,02 (m, 2H), 7,29 (t, 2H), 7,59 (d, 2H), 9,92 (s, 1H).

20 IEP-МС m/z 341,2 (M+Na)⁺.

Стадія В: S-((S)-6-трет-бутоксикарбоніламіно-6-фенілкарбамоїлгексильовий) ефір тіооцтової кислоти

25 У перемішуваний розчин трет-бутилового ефіру ((S)-1-фенілкарбамоїлгекс-5-еніл)карбамінової кислоти (250 мг, 0,78 ммоль), тіооцтової кислоти (564 мкл, 7,8 ммоль) у дегазованому діоксані при 75 °C додавали AIBN (129 мг, 0,78 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 1 години. Реакційну суміш охолоджували до 0 °C і при перемішуванні додавали надлишок циклогексану, перемішували протягом 20 хвилин. Реакційну суміш концентрували при зниженому тиску, а отриманий неочищений продукт промивали декілька разів гексаном з отриманням цільового адукуту.

30 Вихід: 81%.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ: 1,30 (m, 4H), 1,36 (s, 9H), 1,47 (m, 2H), 1,56 (m, 2H), 2,29 (s, 3H), 2,79 (t, 2H), 4,02 (m, 1H), 6,96 (d, 1H), 7,02 (t, 1H), 7,28 (t, 2H), 7,57 (d, 2H), 9,89 (s, 1H).

IEP-МС m/z 417,2 (M+Na)⁺.

Стадія С: S-((S)-6-аміно-6-фенілкарбамоїлгексильовий) ефір тіооцтової кислоти

35 У перемішуваний розчин S-((S)-6-трет-бутоксикарбоніламіно-6-фенілкарбамоїлгексильового) ефіру тіооцтової кислоти у ДХМ при 0 °C повільно додавали ТФО. Реакційну суміш потім залишали нагріватися до КТ і перемішували протягом ночі. Розчинник видаляли при зниженому тиску з отриманням цільового адукуту у вигляді трифторацетатної солі, який використали без якого-небудь очищення на наступній стадії.

40 Стадія D: S-((S)-6-(((S)-4-оксоазетидин-2-карбоніл)аміно)-6-фенілкарбамоїлгексильовий} ефір тіооцтової кислоти

45 У розчин трифторацетатної солі, отриманої на стадії С (305 мг, 0,75 ммоль), у ДХМ (10 мл) додавали NEt₃ (312 мкл, 2,24 ммоль), (S)-4-оксоазетидин-2-карбонову кислоту (90 мг, 0,79 ммоль), PyBOP (408 мг, 0,79 ммоль) і ДМФ (1,7 мл). Реакційну суміш перемішували протягом ночі, а потім розбавляли AcOEt, промивали водою, 5% водн.

Na₂CO₃, сольовим розчином, 5% розчином лимонної кислоти й знову сольовим розчином. Неочищену речовину очищали шляхом хроматографії на силікагелі з використанням AcOEt як елюент з отриманням цільового адукуту у вигляді білої твердої речовини.

Вихід: 42%.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ: 1,31 (m, 4H), 1,48 (m, 2H), 1,64 (m, 2H), 2,29 (s, 3H), 2,67 (dt, 1H), 2,79 (t, 2H), 3,09 (dd, 1H), 4,06 (dd, 1H), 4,42 (m, 1H), 7,03 (t, 1H), 7,28 (t, 2H), 7,57 (d, 2H), 8,12 (s, 1H), 8,38 (d, 1H), 10,07 (s, 1H).

5 ІЕР-МС m/z 392,0 (M+H)⁺; ІЕР-МС m/z 504,2 (M+CF₃COO)⁻.

Сполуки відповідно до Прикладів 2-12 синтезували відповідно до способу, зображеному на схемі 1, з використанням відповідного аміну на стадії А і придатної кислоти на стадії D.

Приклад 2

10 S-[(S)-6-(((S)-6-оксопіперидин-2-карбоніл)аміно)-6-(4-трифторметилбензилкарбамоїл)-гексильовий] ефір тіооцтової кислоти

Вихід: 51%.

¹H ЯМР (500 МГц, CD₂Cl₂) δ: 1,39 (m, 4H), 1,56 (m, 2H), 1,64-1,94 (m, 5H), 2,05 (m, 1H), 2,24 (m, 2H), 2,32 (s, 3H), 2,84 (t, 2H), 4,00 (m, 1H), 4,46 (m, 3H), 7,21 (m, 1H), 7,32-7,47 (m, 4H), 7,60 (m, 2H).

15 ІЕР-МС m/z 502,09 (M+H)⁺.

Приклад 3

S-[(S)-6-(3-бензилоксибензилкарбамоїл)-6-(((S)-6-оксопіперидин-2-карбоніл)аміно)-гексильовий] ефір тіооцтової кислоти

Вихід: 44%.

20 ¹H ЯМР (500 МГц, CD₂Cl₂) δ: 1,25-1,48 (m, 4H), 1,56 (m, 2H), 1,62-1,97 (m, 5H), 2,01 (m, 1H), 2,23 (m, 2H), 2,30 (s, 3H), 2,83 (t, 2H), 3,98 (m, 1H), 4,36 (m, 2H), 4,46 (m, 1H), 5,06 (m, 2H), 6,82-6,92 (m, 3H), 7,02 (m, 1H), 7,25 (t, 1H), 7,32-7,50 (m, 5H).

ІЕР-МС m/z 540,17 (M+H)⁺.

Приклад 4

25 S-[(S)-7-(3,4-дигідро-1H-ізохінолін-2-іл)-7-оксо-6-(((S)-6-оксопіперидин-2-карбоніл)-аміно)гептиловий] ефір тіооцтової кислоти

Вихід: 28%.

¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d₆) δ: 1,15-1,85 (m, 13H), 2,11 (m, 2H), 2,29 (s, 3H), 2,79 (m, 3H), 3,69 (m, 2H), 3,91 (m, 1H), 4,45-4,90 (m, 3H), 7,16 (s, 4H), 7,47 (m, 1H), 8,10 (m, 1H).

30 ІЕР-МС m/z 460,14 (M+H)⁺.

Приклад 5

S-[(S)-6-(((S)-6-оксопіперидин-2-карбоніл)аміно)-6-(2-м-толуїлетилкарбамоїл)гексильовий] ефір тіооцтової кислоти

Вихід: 27%.

35 ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d₆) δ: 1,06-1,32 (m, 4H), 1,36-1,76 (m, 7H), 1,76-1,88 (m, 1H), 2,10 (t, 2H), 2,26 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), 2,65 (t, 2H), 2,78 (t, 2H), 3,21 (m, 2H), 3,89 (m, 1H), 4,16 (m, 1H), 6,93-7,03 (m, 2H), 7,14 (m, 1H), 7,50 (d, 1H), 7,86-8,00 (m, 3H).

ІЕР-МС m/z 462,11 (M+H)⁺.

Приклад 6

40 S-[(S)-6-(((R)-1-метил-5-оксопіролідин-2-карбоніл)аміно)-6-м-толуїлкарбамоїлгексильовий] ефір тіооцтової кислоти

Вихід: 37%.

45 ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ: 1,31 (m, 4H), 1,48 (m, 2H), 1,63 (m, 2H), 1,80 (m, 1H), 2,17 (m, 3H), 2,25 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,58 (s, 3H), 2,80 (t, 2H), 4,13 (m, 1H), 4,37 (m, 1H), 6,85 (d, 1H), 7,16 (t, 1H), 7,36 (d, 1H), 7,40 (s, 1H), 8,47 (d, 1H), 9,99 (s, 1H).

ІЕР-МС m/z 433,4 (M+H)⁺; 546,5 (M+CF₃COO)⁻.

Приклад 7

S-[(S)-6-(((S)-5-оксопіролідин-2-карбоніл)аміно)-6-м-толуїлкарбамоїлгексильовий] ефір тіооцтової кислоти

50 Вихід: 53%.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ: 1,33 (m, 4H), 1,50 (m, 2H), 1,65 (m, 2H), 1,88 (m, 1H), 2,11 (m, 2H), 2,25 (m, 1H), 2,27 (s, 3H), 2,31 (s, 3H), 2,81 (t, 2H), 4,10 (m, 1H), 4,38 (m, 1H), 6,87 (d, 1H), 7,18 (t, 1H), 7,37 (d, 1H), 7,42 (s, 1H), 7,79 (s, 1H), 8,19 (d, 1H), 9,96 (s, 1H).

ІЕР-МС m/z 420,3 (M+H)⁺.

55 Приклад 8

S-[(S)-6-(((R)-5-оксопіролідин-2-карбоніл)аміно)-6-м-толуїлкарбамоїлгексильовий] ефір тіооцтової кислоти

Вихід: 43%.

60 ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ: 1,30 (m, 4H), 1,48 (m, 2H), 1,64 (m, 2H), 1,84 (m, 1H), 2,10 (m, 2H), 2,25 (m, 1H), 2,25 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,79 (t, 2H), 4,09 (m, 1H), 4,39 (m, 1H), 6,85 (d, 1H),

7,16 (t, 1H), 7,36 (d, 1H), 7,40 (s, 1H), 7,80 (s, 1H), 8,15 (d, 1H), 9,96 (s, 1H).

ІЕР-МС m/z 420,3 (M+H)⁺.

Приклад 9

S-[(S)-6-[(R)-1-метил-5-оксопіролідин-2-карбоніл)аміно]-6-фенілкарбамоїлгексил]ої кислота

Вихід: 36%.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ: 1,34 (m, 4H), 1,51 (m, 2H), 1,66 (m, 2H), 1,82 (m, 1H), 2,22 (m, 3H), 2,31 (s, 3H), 2,61 (s, 3H), 2,82 (t, 2H), 4,14 (m, 1H), 4,42 (m, 1H), 7,07 (t, 1H), 7,32 (t, 2H), 7,60 (d, 2H), 8,47 (d, 1H), 10,10 (s, 1H).

ІЕР-МС m/z 420,3 (M+H)⁺.

Приклад 10

S-[(S)-6-[(S)-6-оксо-1,2,3,6-тетрагідропіридин-2-карбоніл)аміно]-6-фенілкарбамоїлгексил]ої кислота

Вихід: 64%.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ: 1,28 (m, 4H), 1,45 (m, 2H), 1,65 (m, 2H), 2,28 (s, 3H), 2,55 (m, 2H), 2,78 (t, 2H), 4,08 (m, 1H), 4,38 (m, 1H), 5,66 (m, 1H), 6,50 (m, 1H), 7,03 (t, 1H), 7,28 (t, 2H), 7,47 (m, 1H), 7,56 (d, 2H), 8,02 (d, 1H), 10,10 (s, 1H).

ІЕР-МС m/z 440,1 (M+Na)⁺.

Приклад 11

S-[(S)-6-[(S)-5-оксопіролідин-2-карбоніл)аміно]-6-фенілкарбамоїлгексил]ої кислота

Вихід: 25%.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ: 1,32 (m, 4H), 1,48 (m, 2H), 1,63 (m, 2H), 1,87 (m, 1H), 2,08 (m, 2H), 2,22 (m, 2H), 2,30 (s, 3H), 2,79 (t, 2H), 4,09 (m, 1H), 4,38 (m, 1H), 7,03 (t, 1H), 7,28 (t, 2H), 7,58 (d, 1H), 7,78 (s, 1H), 8,20 (d, 1H), 10,03 (s, 1H).

ІЕР-МС m/z 406,4 (M+H)⁺.

Приклад 12

S-[(S)-6-[(S)-1-метил-6-оксопіперидин-2-карбоніл)аміно]-6-фенілкарбамоїлгексил]ої кислота

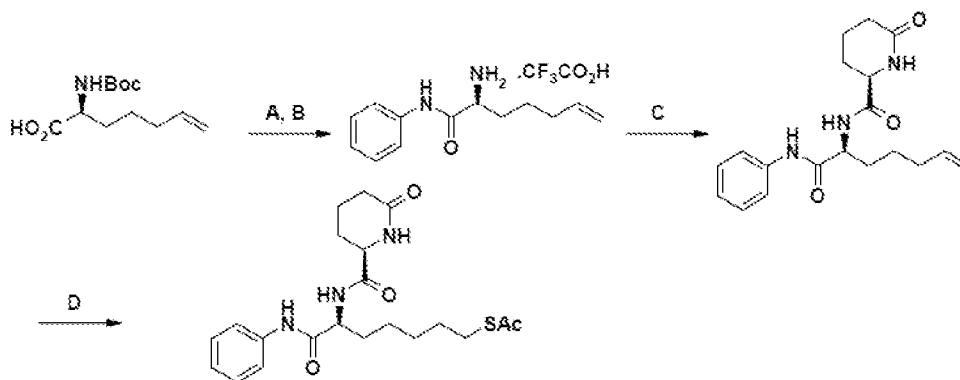
Вихід: 68%.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ: 1,32 (m, 4H), 1,48 (m, 2H), 1,58 (m, 2H), 1,68 (m, 2H), 1,86 (m, 2H), 2,17 (m, 2H), 2,29 (s, 3H), 2,68 (s, 3H), 2,79 (t, 2H), 4,07 (m, 1H), 4,43 (m, 1H), 7,03 (t, 1H), 7,28 (t, 2H), 7,58 (d, 2H), 8,35 (d, 1H), 10,07 (s, 1H).

ІЕР-МС m/z 433,9 (M+H)⁺.

Приклад 13

S-[(S)-6-[(R)-6-оксопіперидин-2-карбоніл)аміно]-6-фенілкарбамоїлгексил]ої кислота



А: анілін, PyBOP, DIPEA, ДМФ і ДХМ, КТ; В: ТОО, ДХМ, 0°C – КТ; С: (R)-6-оксопіперидин-2-карбонова кислота, PyBOP, NEt₃, ДМФ і ДХМ, КТ; D: AcSH, AIBN, діоксан, 75°C

Схема 2

Стадія А: трет-бутиловий ефір ((S)-1-фенілкарбамоїлгекс-5-еніл)карбамінової кислоти
Сполуку отримували відповідно до Стадії А, описаної у Прикладі 1.

Стадія В: феніламід (S)-2-аміногепт-6-єнової кислоти

У перемішуваний розчин трет-бутилового ефіру ((S)-1-фенілкарбамоїлгекс-5-еніл)карбамінової кислоти (тобто сполуки, отриманої на стадії А у прикладі 1) при 0 °C повільно

додавали ТФО. Реакційну суміш потім залишали нагріватися до КТ і перемішували протягом 2 годин. Розчинник видаляли при зниженому тиску з отриманням цільового адуку у вигляді трифторацетатної солі з кількісним виходом, який використали без якого-небудь очищення на наступній стадії.

- 5 Стадія С: ((S)-1-фенілкарбамоїлгекс-5-еніл)амід (R)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти
Трифторацетатну сіль, отриману на Стадії А, розчинену у ДХМ/ДМФ (10 мл, 10/2), піддавали взаємодії з (R)-6-оксопіперидин-2-карбоною кислотою (0,79 ммоль) і РубОР (0,79 ммоль) у присутності NEt₃ (2,25 ммоль) протягом 2 годин. Реакційну суміш розбавляли ДХМ і промивали 5% Na₂CO₃, сольовим розчином, 5% лимонною кислотою й сольовим розчином. Органічну фазу сушили над Na₂SO₄, фільтрували і концентрували при зниженому тиску. Неочищену реакційну суміш очищали шляхом хроматографії на силікагелі з використанням суміші АсОEt/MeOH (9/1) як елюент з отриманням цільового адуку у вигляді білої твердої речовини.

Вихід: 85%.

- 15 ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ: 1,38 (m, 2H), 1,65 (m, 5H), 1,86 (m, 1H), 2,03 (m, 2H), 2,11 (t, 2H), 3,96 (m, 1H), 4,44 (m, 1H), 4,96 (m, 2H), 5,77 (m, 1H), 7,04 (t, 1H), 7,29 (t, 2H), 7,47 (d, 1H), 7,57 (d, 2H), 8,13 (d, 1H), 10,03 (s, 1H).

ІЕР-МС m/z 366,3 (M+Na)⁺; 342,2 (M-H)⁻.

Стадія D: S-{(S)-6-[(R)-6-оксопіперидин-2-карбоніл)аміно]-6- фенілкарбамоїлгексиловий} ефір тіооцтової кислоти

- 20 У перемішуваний розчин ((S)-1-фенілкарбамоїлгекс-5-еніл)аміду (R)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти (220 мг, 0,64 ммоль), тіооцтової кислоти (460 мкл, 6,4 ммоль) у дегазованому діоксані (7 мл) при 75 °С додавали AIBN (105 мг, 0,64 ммоль). Реакційну суміш перемішували до повної конверсії вихідної речовини, яку відслідковували за допомогою аналізу ТШХ. Реакційну суміш охолоджували до 0 °С і реакцію гасили надлишком циклогексану при перемішуванні протягом 20 хвилин. Концентрування при зниженому тиску й очищення шляхом хроматографії на силікагелі з використанням суміші гексан/ДХМ/IPA: 50/40/10 як елюент призводили до отримання цільового адуку. Вихід: 53%.

- 25 ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ: 1,30 (m, 4H), 1,47 (m, 2H), 1,64 (m, 5H), 1,86 (m, 1H), 2,11 (t, 2H), 2,29 (s, 3H), 2,79 (t, 2H), 3,95 (m, 1H), 4,41 (m, 1H), 7,03 (t, 1H), 7,29 (t, 2H), 7,48 (d, 1H), 7,57 (d, 2H), 8,14 (d, 1H), 10,05 (s, 1H).

ІЕР-МС m/z 420,1 (M+H)⁺; 532,2 (M+CF₃COO)⁺.

Сполуки відповідно до Прикладів 14-18 синтезували відповідно до способу, зображеному на схемі 2, з використанням відповідного аміну на стадії А і придатної кислоти на стадії С.

Приклад 14

- 35 S-{(S)-6-[(R)-6-оксопіперидин-2-карбоніл)аміно]-6-фенілкарбамоїлгексиловий} ефір тіооцтової кислоти

Вихід: 87%.

- 40 ¹H ЯМР (200 МГц, CDCl₃) δ: 1,31 (m, 4H), 1,47 (m, 2H), 1,64 (m, 5H), 1,84 (m, 1H), 2,09 (t, 2H), 2,29 (s, 3H), 2,79 (t, 2H), 3,95 (m, 1H), 4,37 (m, 1H), 7,03 (t, 1H), 7,28 (t, 2H), 7,47 (d, 1H), 7,57 (d, 2H), 8,08 (d, 1H), 9,97 (s, 1H).

ІЕР-МС m/z 420,0 (M+H)⁺; 532,2 (M+CF₃COO)⁻.

Приклад 15

- 45 S-{(S)-6-[(S)-6-оксопіперидин-2-карбоніл)аміно]-6-п-толуїлкарбамоїлгексиловий} ефір тіооцтової кислоти

Вихід: 88%.

- 50 ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ: 1,30 (m, 2H), 1,47 (m, 2H), 1,64 (m, 5H), 1,84 (m, 1H), 2,10 (t, 2H), 2,23 (s, 3H), 2,29 (s, 3H), 2,79 (t, 2H), 3,94 (m, 1H), 4,37 (m, 1H), 7,09 (d, 2H), 7,45 (d, 2H), 7,47 (d, 1H), 8,06 (d, 1H), 9,87 (s, 1H).

ІЕР-МС m/z 456,6 (M+H)⁺.

Приклад 16

- 55 S-{(S)-6-[(S)-6-оксопіперидин-2-карбоніл)аміно]-6-м-толуїлкарбамоїлгексиловий} ефір тіооцтової кислоти

Вихід: 62%.

- 60 ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ: 1,31 (m, 4H), 1,47 (m, 2H), 1,61 (m, 5H), 1,84 (m, 1H), 2,10 (t, 2H), 2,25 (s, 3H), 2,29 (s, 3H), 2,80 (t, 2H), 3,95 (m, 1H), 4,36 (m, 1H), 6,85 (d, 1H), 7,16 (t, 1H), 7,35 (d, 1H), 7,40 (s, 1H), 7,47 (d, 1H), 8,09 (d, 1H), 9,90 (s, 1H).

ІЕР-МС m/z 456,4 (M+H)⁺.

Приклад 17

- 60 S-{(S)-6-[(S)-6-оксопіперидин-2-карбоніл)аміно]-6-циклопентилкарбамоїлгексиловий} ефір тіооцтової кислоти Вихід: 51%.

¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d₆) δ: 1,05-1,90 (m, 20H), 2,10 (t, 2H), 2,30 (s, 3H), 2,80 (t, 2H), 3,95(m, 2H), 4,20 (m, 1H), 7,50 (d, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,82 (s,1H).

ІЕР-МС m/z 434,38 (M+Na)⁺.

Приклад 18

5 S-[(S)-6-[(R)-5-оксопіролідин-2-карбоніл)аміно]-6-(3-трифторметилфенілкарбамоіл)-гексильовий] ефір тіооцтової кислоти

Вихід: 84%.

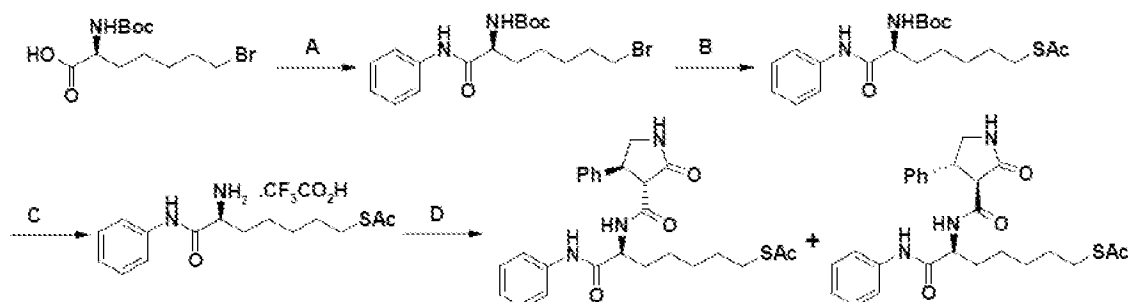
¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ: 1,31 (m, 4H), 1,48 (m, 2H), 1,66 (m, 2H), 1,84 (m, 1H), 2,28 (s, 3H), 2,25 (m, 1H), 2,10 (m, 2H), 2,79 (t, 2H), 4,09 (m, 1H), 4,37 (m, 1H), 7,39 (d, 1H), 7,54 (t, 1H), 7,77 (d, 1H), 7,80 (s, 1H), 8,08 (s, 1H), 8,26 (d, 1H), 10,43 (s, 1H).

10 ¹⁹F ЯМР (282 МГц, ДМСО-d₆) δ: -62,97.

ІЕР-МС m/z 474,3 (M+H)⁺; 586,3 (M+CF₃COO)⁻.

Приклад 19

15 S-[(S)-6-[(3R*,4S*)-2-оксо-4-фенілпіролідин-3-карбоніл)аміно]-6- фенілкарбамоїлгексильовий] ефір тіооцтової кислоти



AA: PhNH₂, EDCI, HOBT, КТ; B: KSAc, EtOH, КТ; C: ТФО, ДХМ, КТ; D: (3R*,4S*)-2-оксо-4-фенілпіролідин-3-карбонова кислота, PyBOP, DIPEA, КТ; E: NaOH, EtOH, КТ

Схема 3

20 Стадія А: трет-бутиловий ефір ((S)-6-бром-1-фенілкарбамоїлгексил)карбаїнової кислоти EDCI (2,10 г, 11,1 ммоль) і анілін (0,68 мл, 7,5 ммоль) додавали у розчин 7,4 ммоль (S)-7-бром-2-трет-бутоксикарбоніламіногептанової кислоти (Gupta P.K., et al., Bioorg. Med.

Chem. Lett., 2010, 20, 23, 7067) у ТГФ (70 мл) і реакційну суміш перемішували протягом ночі при КТ. Розчинник видаляли при зниженому тиску й неочищену реакційну суміш розбавляли AcOEt, промивали водою, а потім 10% водною лимонною кислотою й, нарешті, насиченим NaHCO₃. Після видалення розчинника при зниженому тиску й очищення на силікагелі (н-гексан/AcOEt: 1/9) отримували цільовий адукт.

Вихід: 91%.

¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ: 1,38-1,48 (m, 14H), 1,75-2,00 (m, 3H), 3,48 (t, 2H), 4,30 (m, 1H), 5,40 (m, 1H), 6,50 (m, 1H), 7,12 (t, 1H), 7,33 (t, 2H), 7,60 (d, 2H).

30 ІЕР-МС m/z 421,21 (M+Na)⁺; 423,21 (M+Na)⁺.

Стадія В: S-((S)-6-трет-бутоксикарбоніламіно-6-фенілкарбамоїлгексильовий) ефір тіооцтової кислоти

35 Тіоацетат калію (9,7 ммоль) додавали у розчин трет-бутилового ефіру ((S)-6-бром-1-фенілкарбамоїлгексил)карбаїнової кислоти (6,5 ммоль) в EtOH (40 мл). Реакційну суміш перемішували при КТ протягом ночі. Розчинник видаляли при зниженому тиску й отриманий осад виливали у воду й двічі екстрагували AcOEt. Органічний шар промивали сольовим розчином і сушили над Na₂SO₄, після чого випарювали з отриманням цільового адукту.

Вихід: 97%.

40 ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ: 1,45-1,50 (m, 13H), 1,65-1,55 (m, 3H), 2,10 (t, 3H), 2,74 (m, 1H), 2,84 (t, 2H), 4,17 (s, 1H), 5,04 (s, 1H), 7,10 (t, 1H), 7,30 (t, 1H), 7,52 (d, 2H).

ІЕР-МС m/z 417,41 (M+Na)⁺.

Стадія С: трифторацетат S-((S)-6-аміно-6-фенілкарбамоїлгексильового) ефіру тіооцтової кислоти

45 Трифторацетову кислоту (61 ммоль) додавали у розчин S-((S)-6-трет-бутоксикарбоніламіно-6-фенілкарбамоїлгексильового) ефіру тіооцтової кислоти (6,10 ммоль) у ДХМ (30 мл). Реакційну суміш перемішували при КТ протягом п'яти годин, після чого концентрували при зниженому тиску. Отриману неочищену реакційну суміш двічі обробляли Et₂O для повного видалення надлишку трифторацетової кислоти. Цільовий адукт отримували у вигляді червонуватої

маслянистої рідини.

Вихід: кількісний.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ : 1,20-2,00 (m, 8H), 2,31 (s, 3H), 2,80 (t, 2H), 4,05 (m, 1H), 7,05 (t, 1H), 7,30 (t, 2H), 7,40 (m, 3H), 7,58 (d, 2H), 9,85 (s, 1H).

5 Стадія D: S-((S)-6-[(2-оксо-4-фенілпіролідін-3-карбоніл)аміно]-6-фенілкарбамоїлгексильовий} ефір тіооцтової кислоти

Трифторацетат S-((S)-6-аміно-6-фенілкарбамоїлгексильового) ефіру тіооцтової кислоти (1,03 ммоль), DIPEA (3,08 ммоль) і PyBOP (1,03 ммоль) додавали у розчин (3R*,4S*)-2-оксо-4-фенілпіролідін-3-карбонової кислоти у ДХМ/ДМФ: 5/9. Отриману реакційну суміш перемішували при КТ протягом ночі. Після видалення розчинника при зниженому тиску отриману тверду речовину висипали у воду й двічі екстрагували AcOEt . Органічний шар потім промивали NaHCO_3 , водою й сольовим розчином, після чого сушили над Na_2SO_4 і концентрували при зниженому тиску з отриманням маслянистої рідини, яку частково очищали шляхом хроматографії на силікагелі, а потім піддавали очищенню ВЕРХ.

15 Вихід: 12%.

^1H ЯМР (500 МГц, ацетон- d_6) δ : 1,30-1,80 (m, 8H), 2,28 (s, 3H), 2,81 (t, 2H), 3,51 (t, 1H), 3,75 (d, 1H), 3,87 (m, 1H), 4,31 (m, 1H), 4,54 (m, 1H), 7,00-7,40 (m, 8H), 7,53 (bs, 1H), 7,84 (m, 2H), 7,89 (d, 1H), 9,80 (bs, 1H).

ІЕР-МС m/z 482,06 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

20 Сполуки відповідно до Прикладів 20-22 синтезували відповідно до способу, зображеному на схемі 3, з використанням відповідного аміну на стадії А і придатної кислоти на стадії D.

Приклад 20

S-((S)-6-(((3R*,4R*)-2-оксо-4-фенілпіролідін-3-карбоніл)аміно)-6-фенілкарбамоїлгексильовий} ефір тіооцтової кислоти

25 Кислота, яку використали у реакції на стадії D, являла собою цис-рацемічну (тобто «3R*,4R*») суміш 2-оксо-4-фенілпіролідін-3-карбонової кислоти.

Вихід: 60%.

30 ^1H ЯМР (300 МГц, ацетон- d_6) δ : 1,35-2,00 (m, 8H), 2,28 (s, 3H), 2,84 (t, 2H), 3,40 (t, 1H), 3,59 (d, 1H), 3,78 (m, 1H), 4,13 (m, 1H), 4,48 (m, 1H), 7,00-7,40 (m, 9H), 7,63 (m, 2H), 7,89 (d, 1H), 9,25 (bs, 1H).

ІЕР-МС m/z 482,06 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Приклад 21

S-((S)-6-(((R)-5-оксопіролідін-2-карбоніл)аміно)-6-фенілкарбамоїлгексильовий} ефір тіооцтової кислоти

35 Вихід: 35%.

^1H ЯМР (500 МГц, CD_3OD) δ : 1,20-2,00 (m, 10H), 2,18 (m, 2H), 2,29 (s, 3H), 2,80 (t, 2H), 4,07 (m, 1H), 4,40 (m, 1H), 7,04 (t, 2H), 7,29 (t, 2H), 7,57 (d, 1H), 7,58 (d, 2H), 8,10 (d, 1H), 9,90 (s, 1H).

ІЕР-МС m/z 428,17 ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$.

Приклад 22

40 S-((S)-6-(((R*)-(2-оксопіперидин-3-карбоніл)аміно)-6-фенілкарбамоїлгексильовий} ефір тіооцтової кислоти

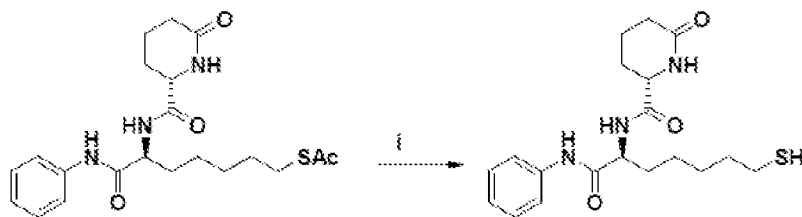
Вихід: 60%.

^1H ЯМР (500 МГц, CD_3OD) δ : 1,42-1,19 (m, 10H), 2,29 (s, 3H), 2,55 (t, 2H), 2,80 (t, 2H), 3,35 (m, 2H), 3,40 (m, 2H), 4,53 (m, 2H), 7,12 (t, 1H), 7,33 (t, 2H), 7,60 (d, 2H).

45 ІЕР-МС m/z 442,14 ($\text{M}+\text{Na}$) $^+$.

Приклад 23

((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)амід (S)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти



KT: NaOH, EtOH, КТ

Схема 4

50

2н. розчин NaOH (7,0 ммоль) додавали у розчин S-((S)-6-(((S)-6-оксопіперидин-2-

карбоніл)аміно]-6-фенілкарбамоїлгексилового} ефіру тіооцтової кислоти (0,95 ммоль) в EtOH (13 мл). Реакційну суміш перемішували при КТ протягом ночі, а потім виливали у воду й екстрагували AcOEt, промивали водою, сольовим розчином й, нарешті, сушили над Na₂SO₄. Видалення розчинника при зниженому тиску призводило до отримання цільового адуку, який очищали шляхом ВЕРХ.

Вихід: 20%.

¹H ЯМР (500 МГц, CD₃OD) δ: 1,50 (m, 4H), 1,68 (m, 2H), 1,80 (m, 2H), 1,95 (m, 3H), 2,10 (m, 1H), 2,38 (m, 2H), 2,55 (t, 2H), 4,15 (t, 1H), 4,53 (m, 1H), 7,12 (t, 1H), 7,33 (t, 2H), 7,60 (d, 2H).

ІЕР-МС m/z 400,40 (M+Na)⁺; 376,34 (M-H)⁻.

Сполуки відповідно до Прикладів 24-40 синтезували відповідно до способу, зображеному на схемі 4, з використанням відповідної вихідної речовини.

Приклад 24

((S)-1-циклопентилкарбамоїл-6-меркаптогексил)амід (S)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти

Вихідною речовиною була сполука відповідно до Прикладу 17.

Вихід: 44%.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ: 1,05-1,90 (m, 20H), 2,12 (t, 2H), 2,21 (t, 1H), 2,45 (m, 2H), 3,92 (m, 1H), 3,97 (m, 1H), 4,21 (m, 1H), 7,55 (d, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,82 (s, 1H).

ІЕР-МС m/z 392,2 (M+Na)⁺; 368,1 (M-H)⁻.

Приклад 25

[(S)-1-(3-бензилоксибензилкарбамоїл)-6-меркаптогексил]амід (S)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти

Вихідною речовиною була сполука відповідно до Прикладу 3.

Вихід: 32%.

¹H ЯМР (500 МГц, CD₂Cl₂) δ: 1,20-1,48 (m, 4H), 1,48-2,02 (m, 8H), 2,21 (m, 2H), 2,49 (m, 2H), 3,20-3,42 (m, 2H), 4,51 (m, 1H), 5,04 (s, 2H), 6,80-6,95 (m, 3H), 7,23 (t, 1H), 7,28-7,50 (m, 5H), 7,64 (s, 1H), 7,75 (d, 1H).

ІЕР-МС m/z 498,35 (M+H)⁺.

Приклад 26

[(S)-6-меркапто-1-(4-трифторметилбензилкарбамоїл)гексил]амід (S)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти

Вихідною речовиною була сполука відповідно до Прикладу 2. Вихід: 33%.

¹H ЯМР (500 МГц, CD₂Cl₂) δ: 1,38 (m, 4H), 1,52-2,12 (m, 9H), 2,23 (m, 2H), 2,50 (m, 2H), 3,98 (m, 1H), 4,45 (m, 3H), 7,20 (m, 1H), 7,28-7,72 (m, 6H).

ІЕР-МС m/z 460,14 (M+H)⁺.

Приклад 27

((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)амід (S)-4-оксоазетидин-2-карбонової кислоти

Вихідною речовиною була сполука відповідно до Прикладу 1.

Вихід: 56%.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ: 1,34 (m, 4H), 1,57 (m, 4H), 2,22 (t, 1H), 2,47 (q, 1H), 2,66 (m, 2H), 3,10 (dd, 1H), 4,07 (m, 1H), 4,43 (m, 1H), 7,04 (t, 1H), 7,29 (t, 2H), 7,58 (d, 2H), 8,15 (s, 1H), 8,43 (d, 1H), 10,11 (s, 1H).

ІЕР-МС m/z 372,2 (M+Na)⁺; 348,2 (M-H)⁻.

Приклад 28

((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)амід (3S,4S)-2-оксо-4-фенілпіролідин-3-карбонової кислоти

Вихідною речовиною була сполука відповідно до Прикладу 20. Після гідролізу діастереомірну суміш двох тіолатних похідних очищали шляхом флеш-хроматографії на силікагелі, що забезпечувало виділення чистих ізомерів.

Вихід: 44%.

¹H ЯМР (500 МГц, ацетон-d₆) δ: 1,35-2,00 (m, 8H), 2,42 (t, 2H), 3,40 (t, 1H), 3,59 (d, 1H), 3,78 (m, 1H), 4,13 (m, 1H), 4,48 (m, 1H), 7,00-7,40 (m, 9H), 7,63 (m, 2H), 7,89 (d, 1H), 9,25 (bs, 1H).

ІЕР-МС m/z 462,27 (M+Na)⁺.

Приклад 29

((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)амід (3R,4R)-2-оксо-4-фенілпіролідин-3-карбонової кислоти

Сполуку відповідно до Прикладу 29 отримували після очищення відповідно до способу, наведеному у Прикладі 28.

Вихід: 37%.

¹H ЯМР (500 МГц, ацетон-d₆) δ: 1,35-2,00 (m, 8H), 2,42 (t, 2H), 3,51 (t, 1H), 3,75 (d, 1H), 3,87

(m, 1H), 4,31 (m, 1H), 4,54 (m, 1H), 7,00-7,40 (m, 9H), 7,63 (m, 2H), 7,89 (d, 1H), 9,25 (bs, 1H).

ІЕР-МС m/z 462,27 (M+Na)⁺.

Приклад 30

5 ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)амід (3R,4S)-2-оксо-4-фенілпіролідін-3-карбонової кислоти

Вихідною речовиною була сполука відповідно до Прикладу 19. Після гідролізу діастереомірну суміш двох тілатних похідних очищали шляхом флеш-хроматографії на силікагелі, що забезпечувало виділення чистого ізомеру.

Вихід: 40%.

10 ¹H ЯМР (500 МГц, ацетон-d₆) δ: 1,30-1,80 (m, 8H), 2,42 (t, 2H), 3,51 (t, 1H), 3,75 (d, 1H), 3,87 (m, 1H), 4,31 (m, 1H), 4,54 (m, 1H), 7,00-7,40 (m, 8H), 7,53 (bs, 1H), 7,84 (m, 2H), 7,89 (d, 1H), 9,80 (bs, 1H).

ІЕР-МС m/z 462,81 (M+Na)⁺.

Приклад 31

15 ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)амід (3S,4R)-2-оксо-4-фенілпіролідін-3-карбонової кислоти

Сполуку відповідно до Прикладу 31 отримували після очищення відповідно до способу, наведеному у Прикладі 30.

Вихід: 37%.

20 ¹H ЯМР (500 МГц, CD₃OD) δ: 1,35-2,40 (m, 8H), 2,43 (m, 2H), 3,48 (t, 1H), 3,80 (m, 2H), 4,22 (m, 1H), 4,53 (m, 1H), 7,09 (m, 2H), 7,30 (m, 4H), 7,36 (m, 4H), 7,68 (m, 2H).

ІЕР-МС m/z 462,27 (M+Na)⁺.

Приклад 32

25 [(S)-1-(3,4-дигідро-1H-ізохінолін-2-карбоніл)-6-меркаптогексил]амід (S)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти

Вихідною речовиною була сполука відповідно до Прикладу 4.

Вихід: 37%.

30 ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d₆) δ: 1,10-1,90 (m, 13H), 2,05-2,23 (m, 2H), 2,35-3,00 (m, 4H), 3,60-4,10 (m, 3H), 4,48-4,86 (m, 3H), 7,17 (s, 4H), 7,49 (m, 1H), 8,10 (m, 4H).

ІЕР-МС m/z 418,05 (M+H)⁺.

Приклад 33

((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)амід (R)-5-оксопіролідін-2-карбонової кислоти

Вихідною речовиною була сполука відповідно до Прикладу 21.

Вихід: 42%.

35 ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d₆) δ: 1,20-2,00 (m, 10H), 2,18 (m, 2H), 2,21 (t, 1H), 2,45 (m, 1H), 4,05 (m, 1H), 4,40 (m, 1H), 7,04 (t, 1H), 7,29 (t, 2H), 7,55 (d, 1H), 7,58 (d, 2H), 8,08 (d, 1H), 9,98 (s, 1H).

ІЕР-МС m/z 364,28 (M+H)⁺.

Приклад 34

40 [(S)-6-меркапто-1-(2-м-толуїлетилкарбамоїл)гексил]амід (S)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти

Вихідною речовиною була сполука відповідно до Прикладу 5.

Вихід: 41%.

45 ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d₆) δ: 1,10-1,34 (m, 4H), 1,42-1,76 (m, 7H), 1,83 (m, 1H), 2,11 (t, 2H), 2,21 (t, 1H), 2,27 (s, 3H), 2,44 (m, 2H), 2,66 (t, 2H), 3,23 (m, 2H), 3,91 (m, 1H), 4,19 (m, 1H), 6,90-7,08 (m, 2H), 7,16 (t, 1H), 7,51 (bs, 1H), 7,89 (d, 1H), 7,95 (t, 1H).

ІЕР-МС m/z 420,09 (M+H)⁺.

Приклад 35

((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)амід (R)-2-оксопіперидин-3-карбонової кислоти

50 Вихідною речовиною була сполука відповідно до Прикладу 22. Після гідролізу діастереомірну суміш двох тілатних похідних очищали шляхом флеш-хроматографії на силікагелі, що забезпечувало виділення чистого ізомеру.

Вихід: 39%.

55 ¹H ЯМР (500 МГц, CD₃OD) δ: 1,42-1,19 (m, 12H), 2,55 (t, 2H), 3,35 (m, 2H), 3,40 (m, 2H), 4,53 (m, 2H), 7,12 (t, 1H), 7,33 (t, 2H), 7,60 (d, 2H).

ІЕР-МС m/z 400,40 (M+Na)⁺.

Приклад 36

((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)амід (S)-2-оксопіперидин-3-карбонової кислоти

Сполуку відповідно до Прикладу 36 отримували після очищення відповідно до способу, наведеному у Прикладі 35.

60 Вихід: 20%.

¹H ЯМР (500 МГц, CD₃OD) δ: 1,40-2,22 (m, 12H), 2,55 (t, 2H), 3,35 (m, 2H), 3,42 (m, 2H), 4,53 (m, 2H), 7,09 (t, 1H), 7,29 (t, 2H), 7,68 (d, 2H).
ІЕР-МС m/z 400,40 (M+Na)⁺.

Приклад 37

- 5 ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)амід (R)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти
Вихідною речовиною була сполука відповідно до Прикладу 13.

Вихід: 82%.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ: 1,34 (m, 4H), 1,51 (m, 2H), 1,64 (m, 5H), 1,87 (m, 1H), 2,11 (t, 2H), 2,22 (t, 1H), 2,44 (m, 2H), 3,96 (m, 1H), 4,43 (m, 1H), 7,04 (t, 1H), 7,29 (t, 2H), 7,49 (d, 1H), 7,57 (d, 2H), 8,13 (d, 1H), 10,04 (s, 1H).

- 10 ІЕР-МС m/z 400,2 (M+Na)⁺; 376,2 (M-H)⁻.

Приклад 38

((S)-6-меркапто-1-м-толуїлкарбамоїлгексил)амід (S)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти
Вихідною речовиною була сполука відповідно до Прикладу 16.

- 15 Вихід: 25%.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ: 1,34 (m, 4H), 1,51 (m, 2H), 1,64 (m, 5H), 1,85 (m, 1H), 2,10 (t, 2H), 2,20 (t, 1H), 2,25 (s, 3H), 2,44 (m, 2H), 3,95 (m, 1H), 4,38 (m, 1H), 6,85 (d, 1H), 7,16 (t, 1H), 7,36 (d, 1H), 7,41 (s, 1H), 7,48 (d, 1H), 8,06 (d, 1H), 9,89 (s, 1H).

ІЕР-МС m/z 414,3 (M+Na)⁺; 390,4 (M-H)⁻.

- 20 Приклад 39

((S)-6-меркапто-1-п-толуїлкарбамоїлгексил)амід (S)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти
Вихідною речовиною була сполука відповідно до Прикладу 15.

Вихід: 53%.

- 25 ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ: 1,33 (m, 4H), 1,51 (m, 2H), 1,60 (m, 5H), 1,83 (m, 1H), 2,10 (t, 2H), 2,21 (t, 1H), 2,23 (s, 3H), 2,43 (m, 2H), 3,95 (m, 1H), 4,37 (m, 1H), 7,09 (d, 2H), 7,45 (d, 2H), 7,48 (d, 1H), 8,08 (d, 1H), 9,89 (s, 1H).

ІЕР-МС m/z 414,4 (M+Na)⁺; 390,3 (M-H)⁻.

Приклад 40

- 30 ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)амід (S)-1-метил-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти

Вихідною речовиною була сполука відповідно до Прикладу 12.

Вихід: 28%.

- 35 ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ: 1,34 (m, 4H), 1,49 (m, 2H), 1,57 (m, 3H), 1,66 (m, 2H), 1,88 (m, 2H), 2,17 (m, 2H), 2,67 (s, 3H), 2,80 (t, 2H), 4,08 (m, 1H), 4,42 (m, 1H), 7,02 (t, 1H), 7,26 (t, 2H), 7,56 (d, 2H), 8,33 (d, 1H), 10,05 (s, 1H).

ІЕР-МС m/z 392,0 (M+H)⁺.

Приклад 41

Змішаний {(S)-6-[(S)-6-оксопіперидин-2-карбоніл)аміно]-6-фенілкарбамоїлгексильовий}-етильовий ефір тіокарбонової кислоти

- 40 У розчин ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (S)-6-оксопіперидин-2- карбонової кислоти (0,21 ммоль) у ДХМ (20 мл) додавали NEt₃ (0,23 ммоль) і етилхлорформіат (0,23 ммоль). Реакційну суміш перемішували при КТ протягом 2 годин. Реакційну суміш концентрували при зниженому тиску й неочищений продукт очищали шляхом хроматографії на силікагелі з використанням суміші AcOEt/Меон: 80/20 як елюент.

- 45 Вихід: 74%.

¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d₆) δ: 1,20 (t, 3H), 1,25-1,45 (m, 4H), 1,52-1,80 (m, 7H), 1,87 (m, 1H), 2,11 (t, 2H), 2,82 (t, 2H), 3,97 (m, 1H), 4,21 (m, 4H), 3,47 (q, 2H), 4,41 (m, 1H), 7,05 (t, 1H), 7,30 (t, 2H), 7,48 (bs, 1H), 7,58 (d, 2H), 8,10 (d, 1H), 9,99 (s, 1H).

ІЕР-МС m/z 450,15 (M+H)⁺.

- 50 Сполуку відповідно до Прикладу 42 синтезували відповідно до способу, наведеному у Прикладі 41, з використанням ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (R)-5-оксопіролідин-2-карбонової кислоти замість ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)-аміду (S)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти.

Приклад 42

- 55 Змішаний {(S)-6-[(R)-5-оксопіролідин-2-карбоніл)аміно]-6-фенілкарбамоїлгексильовий}-етильовий ефір тіокарбонової кислоти

Вихід: 82%.

- 60 ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ: 1,18 (t, 3H), 1,33 (m, 4H), 1,6 (m, 4H), 1,85 (m, 1H), 2,10 (m, 2H), 2,25 (m, 1H), 2,79 (t, 2H), 4,09 (m, 1H), 4,20 (q, 2H), 4,42 (m, 1H), 7,03 (t, 1H), 7,28 (t, 2H), 7,57 (d, 2H), 7,82 (s, 1H), 8,20 (d, 1H), 10,05 (s, 1H).

ІЕР-МС m/z 436,3 (M+H)⁺.

Приклад 43

S-[(S)-6-[(S)-6-оксопіперидин-2-карбоніл)аміно]-6-фенілкарбамоїлгексильовий} ефір
тіоізомасляної кислоти

5 Дану сполуку синтезували відповідно до способу, описаному у Прикладі 30, але з використанням ізобутирилхлориду замість етилхлорформіату.

Вихід: 42%.

¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d₆) δ: 1,04 (t, 6H), 1,22-1,44 (m, 4H), 1,46-1,77 (m, 6H), 1,93 (m, 1H), 2,06 (m, 1H), 2,20 (m, 1H), 2,37 (m, 1H), 2,48 (m, 4H), 3,47 (m, 1H), 4,32 (m, 1H), 4,81 (m, 1H), 7,04 (t, 1H), 7,29 (t, 2H), 7,57 (d, 2H), 8,33 (d, 1H), 9,99 (s, 1H).

ІЕР-МС m/z 448,24 (M+H)⁺.

Сполука А

S-(6-фенілкарбамоїлгексильовий) ефір тіооцтової кислоти

15 Дану комерційно доступну похідну, яка не містить фрагмент лактамкарбоніламіногрупи у бічному ланцюзі при кістяку, досліджували як сполуку порівняння в експерименті in vivo, в якому тестували сполуку відповідно до Прикладу 14 (таблиця 8).

Біологія

Приклад 44

Ферментне дослідження HDAC

20 Визначення профілю HDAC проводили у відношенні одинадцяти виділених ізоформ HDAC людини у присутності фторогенного тетрапептидного субстрату RHKKAc (від p53 залишки 379-382) (10 мкМ). Виділені HDAC людини отримували шляхом стандартного очищення за винятком HDAC3, яка є рекомбінантним білком людини, тобто комплексом повнорозмірної HDAC3 людини з С-термінальним His-тегом й амінокислот 395-489 NCOR2 людини з N-термінальним GST-тегом, які спільно експресували у системі експресування бакуловірусу. Кожну сполуку розчиняли у ДМСО, і послідовно розведені розчини використовували для дослідження. TSA й SAHA використовували як сполуки порівняння. Після деацетилювання вивільнявся фтороформ, що був джерелом флуоресцентного випромінювання, його детектували на флуорометрі, значення IC₅₀ сполук визначали шляхом аналізу кривих залежності доза – інгібуючий ефект.

30 TSA й SAHA використовували як сполуки порівняння.

Таблиця 1

Приклади	IC ₅₀ , Ізоформи HDAC (нМ)										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
SAHA	+	+	+	+	+	+++	+	+	+	+	+
23	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
24	+	+	++	+++	+	+++	+++	+	+++	+	++
25	+	+	+	+	+	++	+	+++	+	+	+
26	+	+	+	+++	+	+	+	+++	+	+	+
27	+++	++	+++	+	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
28	+++	+	+++	+++	++	+++	+	+	+++	+++	+++
29	++	+	++	+++	+	+++	+	+	++	+++	+++
30	++	+	++	+++	+	+	+	+	++	+++	+++
31	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
32	+	+++	+	+++	+	+	+	+	+	+	+
33	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
34	++	+	+	+++	+	+++	+	+++	+	++	++
35	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
36	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+++	+++	+++
37	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+++	+++	+++
38	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
39	+++	++	+++	+	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
40	+++	++	+++	+	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++

IC₅₀ < 50 нМ: +++; 50 нМ < IC₅₀ < 100 нМ: ++; 100 нМ < IC₅₀ < 500 нМ: +

35 Результати

Підтверджено, що сполуки згідно з даним винаходом мають високу активність у відношенні

всіх ізоформ HDAC, при цьому інгібуюча активність проявляється у діапазоні низьких наномолей (Таблиця 1). Зазначене відкриття було несподіваним з урахуванням біологічного поведіння похідної, яку використали як сполуку порівняння (тобто трет-бутилового ефіру ((S)-1-циклопентилкарбамоїл-6-меркаптогексил)карбамінової кислоти, про яку повідомляється в Itoh Y., et al., J. Med. Chem., 2007, 50, 5425). Фактично, як відзначалося раніше, ми перевірили й підтвердили профіль її селективності у відношенні HDAC6, визначивши до того ж, що вона мала значно меншу активність у відношенні HDAC6 у порівнянні з більшістю сполук, описаних у даній заявці.

При порівнянні профілю інгібування у відношенні HDAC деяких із наведених вище похідних з відповідними гідроксаматними аналогами ми зненацька виявили, що вихідні тіопохідні мали щонайменше рівну активність, а іноді навіть більш високу активність у порівнянні з аналогами, що містять гідроксаматну групу, що зв'язує цинк (Таблиця 2).

Таблиця 2

Приклади	MBG	Ізоформи HDAC										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
21	SH	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
	CONHOH	+++	++	+++	+	++	+++	+++	++	+++	++	+++
31	SH	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	CONHOH	+++	+	+++	+	++	+++	++	+	+++	++	++
33	SH	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
	CONHOH	+++	+	++	+	++	+++	+	+	++	++	++

IC₅₀ < 50 нМ: +++; 50 нМ < IC₅₀ < 100 нМ: ++; 100 нМ < IC₅₀ < 500 нМ: +

Приклад 45

Цитотоксичність

Цитотоксичну дію деяких сполук згідно з даним винаходом на клітини недрібноклітинної карциноми легенів NCI-H460 і клітини раку товстої кишки HCT116 оцінювали відповідно до способу, описаному Скеханом зі співавторами (Skehan P., et al., J. Natl. Cancer Inst., 1990, 82, 13, 1107) з використанням SAHA (вориностат) як сполуки порівняння.

Клітини пухлин вирощували у середовищі RPMI 1640, що містить 10% інактивовану нагріванням ембріональну бичачу сироватку й 50 мкг/мл сульфату гентаміцину, і висівали у 96-ямкові планшети для тканинних культур із приблизно 10% конфлюентністю. Клітини залишали для фіксації й відновлення щонайменше на 24 години. Потім для визначення значення IC₅₀ (тобто концентрації, яка придушувала виживання клітин на 50%) у кожну ямку додавали сполуки згідно з даним винаходом у різних концентраціях.

Планшети інкубували протягом 24 годин при 37 °C, після чого їх 3 рази промивали шляхом видалення надосадової рідини й додавання PBS. Потім планшети додатково інкубували протягом 48 годин при 37 °C. Додавали 200 мкл PBS й 50 мкл холодної 80% ТХО й планшети інкубували у льоді протягом щонайменше 1 години. Видаляли ТХО й планшети 3 рази промивали шляхом занурення у дистильовану воду. Потім планшети сушили на папері при 40 °C протягом 5 хвилин. Додавали 200 мкл 0,4% сульфородаміну В в 1% оцтовій кислоті. Планшети додатково інкубували при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Видаляли сульфородамін В і планшети 3 рази промивали шляхом занурення в 1% оцтову кислоту й сушили на папері при 40 °C протягом 5 хвилин. Потім додавали 200 мкл 10 мМ Tris. Планшети витримували при перемішуванні з використанням магнітної мішалки протягом 20 хвилин. Виживання клітин визначали за оптичною щільністю при 540 нм на спектрофлуориметрі Multiskan. Кількість знищених клітин розраховували як зниження у відсотках зв'язування сульфородаміну В у порівнянні з контрольними культурами. Значення IC₅₀ (наведені у Таблиці 3 для клітинної лінії H460 й у Таблиці 4 для клітинної лінії HCT116) розраховували з використанням програмного забезпечення «ALLFIT».

Результати

Сполуки згідно з даним винаходом мали дуже гарний профіль інгібування, дуже часто навіть краще ніж профіль сполуки порівняння SAHA.

Таблиця 3

Клітинна лінія H460					
Приклад	IC50 (мкМ)	Приклад	IC50 (мкМ)	Приклад	IC50 (мкМ)
SAHA	+	10	+++	18	+++
1	+++	11	+++	19	+++
5	+	13	+++	21	+++
6	+++	14	+++	41	++
7	+++	15	+++	42	+++
8	+++	16	+++	43	+

IC₅₀ < 0,5 мкМ: +++; 0,5 мкМ < IC₅₀ < 1,0 мкМ: ++; 1,0 мкМ < IC₅₀ < 10 мкМ: +

Таблиця 4

Клітинна лінія HCT116			
Приклад	IC50 (мкМ)	Приклад	IC50 (мкМ)
SAHA	+	20	++
14	+++	22	+
17	+	31	+
19	+++	33	+

5

IC₅₀ < 0,5 мкМ: +++; 0,5 мкМ < IC₅₀ < 1,0 мкМ: ++;

1,0 мкМ < IC₅₀ < 10 мкМ: +

Приклад 46

10

Сполуку відповідно до Прикладу 21 додатково досліджували на розширеній панелі клітинних ліній для визначення цитотоксичності у порівнянні з SAHA, яку використали як сполуку порівняння.

15

Клітини пухлини (A2780, SKOV-3, MDA-MD436, MCF-7, HSC3) вирощували у злиплому вигляді у середовищі RPMI 1640, що містить 10% інактивовану нагріванням ембріональну бичачу сироватку й 50 мкг/мл сульфату гентаміцину, тоді як у випадку клітинної лінії MDA-MB231 використовували DMEM. Клітини висівали у 96-ямкові планшети для тканинних культур із приблизно 10% конфлюентністю. Клітини залишали для фіксації й відновлення щонайменше на 24 години. Потім для визначення IC₅₀, що забезпечує придушення виживання клітин, у кожен ямку додавали сполуки згідно з даним винаходом у різних концентраціях. Планшети інкубували протягом 72 годин при 37 °C, після чого їх 3 рази промивали шляхом видалення надосадової рідини. Додавали 200 мкл PBS й 50 мкл холодної 80% ТХО й планшети інкубували у льоді протягом щонайменше 1 години. Видаляли ТХО й планшети 3 рази промивали шляхом занурення у дистильовану воду. Потім їх сушили на папері при 40 °C протягом 5 хвилин. Додавали 200 мкл 0,4% сульфородаміну В в 1% оцтовій кислоті. Планшети додатково інкубували при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Видаляли сульфородамін В і планшети 3 рази промивали шляхом занурення в 1% оцтову кислоту й сушили на папері при 40 °C протягом 5 хвилин. Потім додавали 200 мкл 10 мМ Tris. Планшети витримували при перемішуванні з використанням магнітної мішалки протягом 20 хвилин. Виживання клітин визначали за оптичною щільністю при 540 нм на спектрофлуориметрі Multiskan. Кількість знищених клітин розраховували як зниження у відсотках зв'язування сульфородаміну В у порівнянні з контрольними культурами. Значення IC₅₀ (наведені у Таблиці 5) розраховували з використанням програмного забезпечення «ALLFIT».

20

25

30

35

Клітини U937, HUT78 й K562 вирощували у вигляді суспензії у середовищі RPMI 1640, що містить 10% інактивовану нагріванням ембріональну бичачу сироватку й 50 мкг/мл сульфату гентаміцину, тоді як клітини MV4-11 вирощували у середовищі Дульбекко, модифікованої Позовним. Процедура експерименту відповідала описаній вище з тим виключенням, що видалення надосадової рідини проводили шляхом центрифугування планшетів при 1600 xg протягом 10 хвилин (операцію проводили два рази).

Результати наведені у Таблиці 5.

Таблиця 5

Клітинні лінії пухлин		Досліджувані засоби IC50 (мкМ)	
Тип раку	Тип клітин	Приклад 14	SAHA
яєчники	A2780	0,062	1,71
	SKOV-3	0,38	5,7
груди	MDA-MB231	0,23	1,41
	MDA-MB436	0,18	1,71
	MCF-7	0,19	2,55
обл. голови й шиї	HSC3	0,77	8,6
гостра моноцитарна лейкемія	MV4-11	0,19	2,1
	U937	0,049	0,071
Т-лімфома	HUT78	0,48	1,5
хронічна мієлоїдна лейкемія	K562	0,19	0,13

Результати, наведені у Таблиці 5, явно вказують на те, що сполука відповідно до Прикладу 14, має більше виражені властивості відносно широкого діапазону ракових клітинних ліній, при цьому сполука порівняння SAHA, у цілому, мала значно більш низьку біологічну активність.

Приклад 47

Ацетилювання тубуліну й гістону

Вестерн-блот аналіз екстрактів цитоплазми і ядер клітин NCI-H460, які попередньо інкубували зі сполукою відповідно до Прикладу 14 або з SAHA, проводили для виміру ацетилювання α -тубуліну й гістону з використанням різних антитіл, наведених нижче:

- ✓ мишаче моноклональне антитіло проти ацетилтубуліну (Sigma; кат. № T6793);
- ✓ мишаче моноклональне антитіло проти β -актину (Sigma; кат. № A5316);
- ✓ кроляче поліклональне антитіло проти ацетил-гістону H4 (Upstate; кат. № 06- 598);
- ✓ мишаче моноклональне антитіло проти гістону H4 (Upstate; кат. № 07-108).

Експерименти проводили з використанням реагентів ECL Plus для вестерн-блот аналізу (виробництва American Biosciences), інтенсивність смуг аналізували з використанням комп'ютерної фосфор-аналізуючої системи (PhosphorImager; Molecular Dynamics, Sunnyvale, CA, USA).

Результати

Сполука відповідно до Прикладу 14 викликала значно більш високе ацетилювання цитоплазматичного α -тубуліну у порівнянні зі сполукою порівняння SAHA. Крім того, сполука відповідно до Прикладу 14 також викликала гіперацетилювання H4 у концентраціях не більше 100 нМ, тоді як SAHA був у 6 разів менш ефективним при ініціюванні ацетилювання гістону H4 (див. Фігуру 1 і Таблицю 6).

Таблиця 6

Сполука	EC ₅₀ мкМ ацетилювання H4
Приклад 14	0,1
SAHA	0,6

Приклад 48

Протипухлинна активність

Клітини раку товстої кишки HCT116 або НДРЛ NCI-H460 або клітини множинної мієломи H929, суспендовані в 0,1 мл середовища 199, інокулювали підшкірно (п.ш.) у правий бік безтимусних мишей CD1 (тобто у кількості 5×10^6 у випадку HCT116; 3×10^6 у випадку NCI-H460 й 20×10^6 у випадку H929). Лікування (способи наведені у Таблиці 6) починали через 3 дні після ін'єкції пухлини відповідно до схеми qd x 5р./тижд. x 3 тижн. за винятком цисплатину, який вводили q4d/тижд. x 3 тижн. Досліджувані похідні вводили у вигляді суспензії у PBS/DMCO/Cremophor EL (Sigma): 85/10/5 (відсотки за об'ємом).

Протипухлинну активність визначали шляхом виміру діаметра пухлини з використанням штангенциркуля з ноніусом за Формулою

$$TV = d^2 \times D/2$$

де d і D являють собою самий невеликий і самий великий діаметр, відповідно.

Коли об'єм пухлини досягав приблизно 1000 мм³, мишей умертвляли шляхом зсуву шийних

хребців. Ефективність лікарського засобу визначали по придушенню росту об'єму пухлини відповідно до Формули, наведеної нижче:

$$TVI\% = 100 - \left[\left(\frac{\text{середнє } TV \text{ у групі, якій проводили лікування}}{\text{середнє } TV \text{ у контрольній групі}} \right) \times 100 \right]$$

Визначення маси тіла проводили для оцінки зниження маси тіла відповідно до наведеного нижче рівняння:

$$\%BWL = 100 - \left[\frac{BW_{\text{день}x}}{BW_{\text{день}1}} \right] \times 100$$

де $BW_{\text{день}x}$ відповідає середній масі у день x експерименту, а $BW_{\text{день}1}$ відповідає середній масі тіла у перший день експерименту.

Результати

Сполука відповідно до Прикладу 14 робила порівняння або навіть більш виражене придушення росту пухлини навіть при введенні у три рази більш низької дози у порівнянні з SAHA у трьох експериментах. Ефективність лікування добре підтверджувалася на всіх тваринах (Таблиця 7).

Таблиця 7

Ксенографт	Лік. засіб	Доза (мг/10 мл/кг)	TVI %	BWL %
HCT116	SAHA	100 п.о.	47	0
	Приклад 14	50 і.п.	44	3
NCI-H460	SAHA	100 і.п.	27	0
	Приклад 14	50 і.п.	36	2
	Цисплатин	2 і.п.	56	3
	Приклад 14 + цисплатин	50 і.п. + 2 і.п.	74	15
H929	SAHA	100 і.п.	21	3
	Приклад 14	50 і.п.	30	11

Приклад 49

Протипухлинна активність

Експеримент, описаний у Прикладі 48, повторювали з іншою сполукою на моделі розвитку раку товстої кишки HCT116 у мишей, описаної вище, або раку яєчників A2780, лікарські засоби вводили перорально у вигляді розчину у ПЕГ200/DMCO/Cremophor EL (Sigma): 85/10/5 (відсотки за об'ємом). Результати наведені у Таблиці 8.

Таблиця 8

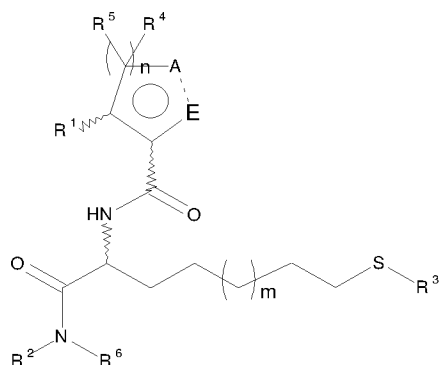
Ксенографт	Лік. засіб	Доза (мг/10 мл/кг)	TVI %	BWL %
HCT116	SAHA	100 п.о.	32	1
	Приклад 21	60 п.о.	62	1
	Сполука А	100 п.о.	11	0
A2780	SAHA	100 п.о.	53	4
	Приклад 21	110 п.о.	89	7

Сполука відповідно до Прикладу 21 мала високу біологічну активність на протипухлинного аналогу, Сполуці А, яка не містила бічний ланцюг, що, таким чином, підтверджує важливість введення фрагмента лактамкарбоніламіногрупи у кістяк молекули. Більше того, сполука відповідно до Прикладу 21 також мала високу біологічну активність у тваринній моделі раку яєчників, при цьому значення індексу TVI перевищувало значення, яке досягнуте після застосування SAHA. Важливо відзначити також, що висока біологічна активність зберігалася навіть після перорального введення, що дозволяє припустити високу стабільність до метаболізму першого проходження.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Сполука, що має загальну Формулу (I)

5



, Формула I

де

R¹ являє собою H, (C₁-C₆)-алкіл або арил; або альтернативно

10 R¹ й один R⁴, кожний з яких зв'язаний з двома сусідніми атомами вуглецю, у випадку, якщо n дорівнює 2 або 3, об'єднані з утворенням циклопропанового кільця;

R² являє собою феніл, можливо заміщений галогеном, бензилокси, (C₁-C₃)-алкілом або CF₃; (C₃-C₆)-циклоалкіл; арил-(C₁-C₆)-алкіл, де арил можливо заміщений бензилокси, (C₁-C₃)-алкілом або CF₃;

15 R³ являє собою H, PO(OH)₂ або групу Формули (II)

-(CO)-R⁷, Формула II

R⁷ являє собою (C₁-C₇)-алкіл, (C₁-C₆)-алкокси або -CH(NH₂)R⁸;

R⁸ являє собою H або бічний ланцюг природної α-амінокислоти;

20 R⁴ й R⁵ у кожному випадку незалежно являють собою H, галоген, (C₁-C₆)-алкіл, або, як альтернатива,

якщо n дорівнює 2 або 3, то один R⁴ й один R⁵, кожний з яких зв'язаний з двома сусідніми атомами вуглецю, об'єднані з утворенням циклопропанового кільця;

R⁶ являє собою H, або, як альтернатива,

25 R² й R⁶ об'єднані з утворенням п'яти- або шестичленного гетероциклу, що може бути необов'язково конденсований з арильним фрагментом;

-A-E- являє собою -(CO)-(NR⁹)- або -(NR⁹)-(CO)-;

R⁹ являє собою H або (C₁-C₃)-алкіл;

m являє собою ціле число від 0 до 3;

30 n являє собою ціле число від 0 до 3, за умови, що, якщо n дорівнює 2 або 3, то R⁴ й R⁵ у кожному випадку можуть мати різні значення;

символ  означає, що атом вуглецю, який відзначений зазначеним символом, може мати R- або S-конфігурацію;

символ  може бути відсутнім, але, якщо присутній, означає, що цикл може бути частково ненасиченим, за умови, що, якщо атом вуглецю, що містить R⁴, розташований при подвійному зв'язку, то R⁵ відсутній;

її таутимери, геометричні ізомери, оптично активні форми, такі як енантіомери, діастереомери і рацемічні форми, а також їх фармацевтично прийнятні солі.

2. Сполука за п. 1, яка **відрізняється** тим, що n дорівнює 1 або 2.

3. Сполука за п. 1, яка **відрізняється** тим, що m дорівнює 1 або 2.

40 4. Сполука за пп. 1-2, вибрана з групи, що складається з:

S-{(S)-6-[(S)-4-оксоазетидин-2-карбоніл)аміно]-6-фенілкарбамоїлгексилового} ефіру тіооцтової кислоти,

S-[(S)-6-[(S)-6-оксопіперидин-2-карбоніл)аміно]-6-(4-

трифторметилбензилкарбамоїл)гексилового] ефіру тіооцтової кислоти,

45 S-{(S)-6-(3-бензилоксибензилкарбамоїл)-6-[(S)-6-оксопіперидин-2-карбоніл)аміно]гексилового} ефіру тіооцтової кислоти,

- S-((S)-7-(3,4-дигідро-1H-ізохінолін-2-іл)-7-оксо-6-(((S)-6-оксопіридин-2-карбоніл)аміно)гептилового} ефіру тіооцтової кислоти,
 S-((S)-6-(((S)-6-оксопіридин-2-карбоніл)аміно)-6-(2-м-толуїлетилкарбамоїл)гексилового} ефіру тіооцтової кислоти,
 5 S-((S)-6-(((R)-6-оксопіридин-2-карбоніл)аміно)-6-фенілкарбамоїлгексилового} ефіру тіооцтової кислоти,
 S-((S)-6-(((S)-6-оксопіридин-2-карбоніл)аміно)-6-фенілкарбамоїлгексилового} ефіру тіооцтової кислоти,
 S-((S)-6-(((S)-6-оксопіридин-2-карбоніл)аміно)-6-п-толуїлкарбамоїлгексилового} ефіру тіооцтової кислоти,
 10 S-((S)-6-(((S)-6-оксопіридин-2-карбоніл)аміно)-6-м-толуїлкарбамоїлгексилового} ефіру тіооцтової кислоти,
 S-((S)-6-(((S)-6-оксопіридин-2-карбоніл)аміно)-6-циклопентилкарбамоїлгексилового} ефіру тіооцтової кислоти,
 15 S-((S)-6-(((3R*,4S*)-2-оксо-4-фенілпіролідін-3-карбоніл)аміно)-6-фенілкарбамоїлгексилового} ефіру тіооцтової кислоти,
 S-((S)-6-(((3R*,4R*)-2-оксо-4-фенілпіролідін-3-карбоніл)аміно)-6-фенілкарбамоїлгексилового} ефіру тіооцтової кислоти,
 S-((S)-6-(((R)-5-оксопіролідін-2-карбоніл)аміно)-6-фенілкарбамоїлгексилового} ефіру тіооцтової кислоти,
 20 S-((S)-6-((R*)-(2-оксопіридин-3-карбоніл)аміно)-6-фенілкарбамоїлгексилового} ефіру тіооцтової кислоти,
 ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (S)-6-оксопіридин-2-карбонової кислоти,
 ((S)-1-циклопентилкарбамоїл-6-меркаптогексил)аміду (S)-6-оксопіридин-2-карбонової
 25 кислоти,
 ((S)-1-(3-бензилоксibenзилкарбамоїл)-6-меркаптогексил)аміду (S)-6-оксопіридин-2-карбонової кислоти,
 ((S)-6-меркапто-1-(4-трифторметилбензилкарбамоїл)гексил)аміду (S)-6-оксопіридин-2-карбонової кислоти,
 30 ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (S)-4-оксоазетидин-2-карбонової кислоти,
 ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (3S,4S)-2-оксо-4-фенілпіролідін-3-карбонової кислоти,
 ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (3R,4R)-2-оксо-4-фенілпіролідін-3-карбонової кислоти,
 35 ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (3R,4S)-2-оксо-4-фенілпіролідін-3-карбонової кислоти,
 ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (3S,4R)-2-оксо-4-фенілпіролідін-3-карбонової кислоти,
 ((S)-1-(3,4-дигідро-1H-ізохінолін-2-карбоніл)-6-меркаптогексил)аміду (S)-6-оксопіридин-2-карбонової кислоти,
 40 ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (R)-5-оксопіролідін-2-карбонової кислоти,
 ((S)-6-меркапто-1-(2-м-толуїлетилкарбамоїл)гексил)аміду (S)-6-оксопіридин-2-карбонової кислоти,
 ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (R)-2-оксопіридин-3-карбонової кислоти,
 45 ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (S)-2-оксопіридин-3-карбонової кислоти,
 ((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (R)-6-оксопіридин-2-карбонової кислоти,
 етилового ефіру {(S)-6-(((S)-6-оксопіридин-2-карбоніл)аміно)-6-фенілкарбамоїлгексил}тіокарбонової кислоти,
 S-((S)-6-(((S)-6-оксопіридин-2-карбоніл)аміно)-6-фенілкарбамоїлгексилового} ефіру тіоізомасляної кислоти,
 50 S-((S)-6-(((S)-5-оксопіролідін-2-карбоніл)аміно)-6-фенілкарбамоїлгексилового} ефіру тіооцтової кислоти,
 S-((S)-6-(((S)-5-оксопіролідін-2-карбоніл)аміно)-6-м-толуїлкарбамоїлгексилового} ефіру тіооцтової кислоти,
 55 S-((S)-6-(((R)-1-метил-5-оксопіролідін-2-карбоніл)аміно)-6-фенілкарбамоїлгексилового} ефіру тіооцтової кислоти,
 етилового ефіру {(S)-6-(((R)-5-оксопіролідін-2-карбоніл)аміно)-6-фенілкарбамоїлгексил}-тіокарбонової кислоти,
 S-((S)-6-(((R)-5-оксопіролідін-2-карбоніл)аміно)-6-м-толуїлкарбамоїлгексилового} ефіру тіооцтової кислоти,
 60

S-[(S)-6-[(R)-1-метил-5-оксопіролідин-2-карбоніл)аміно]-6-м-толуїлкарбамоїлгексилового} ефіру тіооцтової кислоти,

S-[(S)-6-[(R)-5-оксопіролідин-2-карбоніл)аміно]-6-(3-трифторметилфенілкарбамоїл)гексилового} ефіру тіооцтової кислоти,

5 S-[(S)-6-[(S)-1-метил-6-оксопіперидин-2-карбоніл)аміно]-6-фенілкарбамоїлгексилового} ефіру тіооцтової кислоти,

((S)-6-меркапто-1-фенілкарбамоїлгексил)аміду (S)-1-метил-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти,

((S)-6-меркапто-1-м-толуїлкарбамоїлгексил)аміду (S)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти,

10 ((S)-6-меркапто-1-п-толуїлкарбамоїлгексил)аміду (S)-6-оксопіперидин-2-карбонової кислоти й S-[(S)-6-[(S)-6-оксо-1,2,3,6-тетрагідропіридин-2-карбоніл)аміно]-6-фенілкарбамоїлгексилового} ефіру тіооцтової кислоти.

5. Фармацевтична композиція, що містить щонайменше одну сполуку за пп. 1-4 як активний інгредієнт у суміші щонайменше з одним фармацевтично прийнятним носієм і/або наповнювачем.

6. Застосування сполуки за будь-яким із пп. 1-4 як лікарського засобу.

7. Застосування за п. 6 для лікування патологічного стану, при якому модуляція активності HDAC приводить до поліпшення стану здоров'я пацієнта.

8. Застосування за п. 7, яке **відрізняється** тим, що патологічний стан являє собою ракове захворювання, нейродегенеративне захворювання, запальне захворювання, інсульт, ішемію або інфекції Plasmodium.

9. Застосування за п. 8, яке **відрізняється** тим, що ракове захворювання являє собою рак грудей, підшлункової залози, легенів, товстої кишки, плеври, черевної порожнини, обличчя й шиї, нирки, сечового міхура, мозку, простати, яєчників або очей.

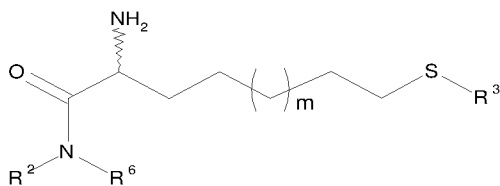
25 10. Застосування за п. 9, яке **відрізняється** тим, що ракове захворювання являє собою метастатичну форму раку.

11. Застосування за п. 8, яке **відрізняється** тим, що запальне захворювання являє собою ревматоїдний артрит.

30 12. Застосування за п. 8, яке **відрізняється** тим, що нейродегенеративне захворювання являє собою хворобу Хантінгтона, хворобу Паркінсона, аміотрофічний латеральний склероз.

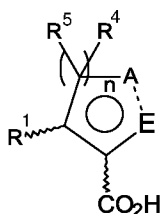
13. Спосіб лікування пацієнта, ураженого раковим захворюванням, що включає введення сполуки за пп. 1-4.

14. Спосіб синтезу сполуки за п. 1 шляхом взаємодії сполуки Формули (III)



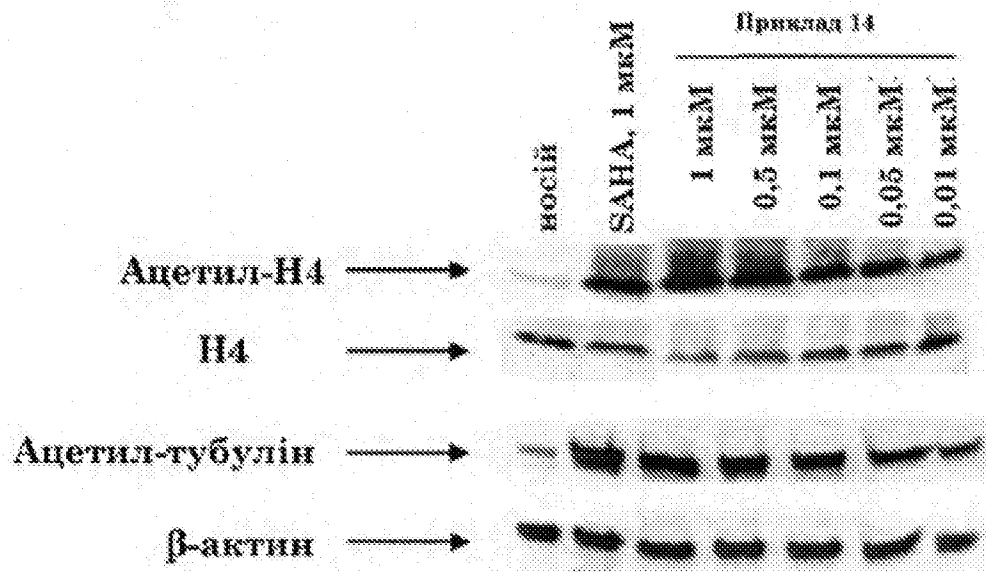
35 , Формула III

де R², R³ й R⁶ й m такі, як описано у п. 1, зі сполукою Формули (IV) у формі солі або несольовій формі



40 , Формула IV

де R¹, R⁴ й R⁵ й n такі, як описано у п. 1, у полярному апротонному розчиннику у присутності агента сполучення.



Фіг. 1