



УКРАЇНА

(19) UA (11) 97129 (13) C2

(51) МПК

A01N 43/42 (2006.01)

A61K 31/44 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСОБИ ЗАСТОСУВАННЯ АНАЛОГІВ ЦИКЛОПАМІНУ

1

2

(21) а200907836

(22) 27.12.2007

(24) 10.01.2012

(86) PCT/US2007/088995, 27.12.2007

(31) 60/878,018

(32) 28.12.2006

(33) US

(31) 60/941,596

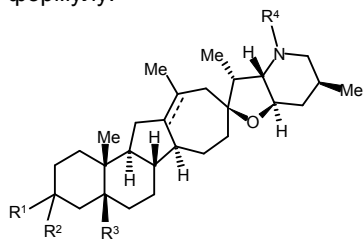
(32) 01.06.2007

(33) US

(46) 10.01.2012, Бюл.№ 1, 2012 р.

(72) КАСТРО АЛЬФРЕДО К., US, ГРОГАН МАЙКЛ
ДЖ., US, МАТСУІ УІЛЛЬЯМ, US, МАКГОВЕРН КА-
РЕН ДЖ., US, ТРЕМБЛЕЙ МАРТІН Р., US(73) ІНФІНІТІ ДІСКАВЕРІ, ІНК., US, ДЗЕ ДЖОНС
ХОПКІНС ЮНІВЕРСІТІ, US

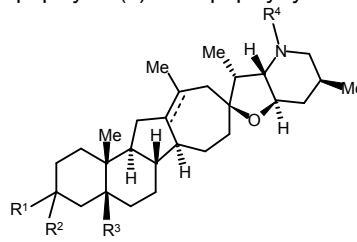
(56) WO2006026430 A2 09.03.2006

(57) 1. Застосування сполуки формули (1) або її
фармацевтично прийнятної солі для одержання
лікарського засобу для лікування гіперпроліфера-
тивного порушення, де сполука формули (1) має
формулу:

(1)

де R¹ є Н, алкілом, -OR, аміно, сульфонамідо, су-
льфамідо, -OC(O)R⁵, -N(R⁵)C(O)R⁵ або цукром;R² являє собою Н, алкіл, алкеніл, алкініл, арил,
циклоалкіл, нітрил або гетероциклоалкіл;
або R¹ і R² разом утворюють =O, =S, =N(OR),
=N(R), =N(NR₂) або =C(R)₂;R³ є Н, алкілом, алкенілом або алкінілом;R⁴ являє собою Н, алкіл, алкеніл, алкініл, арил,
циклоалкіл, гетероциклоалкіл, аралкіл, гетероа-
рил, гетероаралкіл, галогеналкіл, -OR⁵, -C(O)R⁵, -
CO₂R⁵, -SO₂R⁵, -C(O)N(R⁵)(R⁵), -[C(R)₂]_q-R⁵, -[(W)-
N(R)C(O)]_qR⁵, -[(W)-C(O)]_qR⁵, -[(W)-C(O)O]_qR⁵, -
[(W)-OC(O)]_qR⁵, -[(W)-SO₂]_qR⁵, -[(W)-N(R⁵)SO₂]_qR⁵, -
[(W)-C(O)N(R⁵)]_qR⁵, -[(W)-O]_qR⁵, -[(W)-N(R)]_qR⁵, -W-
NR₃⁺X⁻ або -[(W)-S]_qR⁵;

де кожен W незалежно є бірадикалом;

кожен q у кожному випадку незалежно приймає
значення 1, 2, 3, 4, 5 або 6;X⁻ є галоїдом;кожен R незалежно є Н, алкілом, алкенілом, алкі-
нілом, арилом, циклоалкілом або аралкілом;кожен R⁵ незалежно являє собою Н, алкіл, алкеніл,
алкініл, арил, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, арал-
кіл, гетероарил, гетероаралкіл або -[C(R)₂]_q-R⁶; де
р приймає значення від 0 до 6; або будь-які два R⁵,
що знаходяться біля одного замісника, разом мо-
жуть утворювати необов'язково заміщене 4-8-
членне кільце, що містить від 0 до 3 гетероатомів,
які вибираються з атомів N, O, S і P; ікожен R⁶ незалежно є гідроксиллом, -N(R)COR, -
N(R)C(O)OR, -N(R)SO₂(R), -C(O)N(R)₂, -
OC(O)N(R)(R), -SO₂N(R)(R), -N(R)(R), -COOR, -
C(O)N(OH)(R), -OS(O)₂OR, -S(O)₂OR, -
OP(O)(OR)(OR), -NP(O)(OR)(OR) або -
P(O)(OR)(OR).2. Застосування за п. 1, де, коли R², R³ і R⁴ є Н, R¹
не є гідроксиллом або цукром; і
коли R⁴ є гідроксиллом, тоді R¹ не є цукром або гід-
роксиллом; і коли R⁴ є гідроксиллом, тоді R¹ і R² раз-
ом не є C=O.3. Застосування за п. 1, де R¹ являє собою суль-
фонамідо.4. Застосування за будь-яким з пп. 1-3, де пору-
шення вибирають із групи, що складається з раку
шкіри, раку центральної нервової системи, раку
шлунково-кишкового тракту, раку легеневої систе-
ми, сечостатевого раку, раку молочної залози,
гепатоцелюлярного раку, раку мозку і раку кровот-
ворної системи.5. Застосування сполуки формули (1) або її фар-
мацевтично прийнятної солі для одержання лікар-
ського засобу для лікування стану, опосередкову-
ваного сигнальним шляхом hedgehog, де сполука
формули (1) має формулу:

(1)

(13) C2

(11) 97129

(19) UA

де R^1 являє собою H, алкіл, -OR, аміно, сульфо-
намідом, сульфамідом, $-OC(O)R^5$, $-N(R^5)C(O)R^5$ або
цукор;

R^2 являє собою H, алкіл, алкеніл, алкініл, арил,
циклоалкіл, нітрil або гетероциклоалкіл;
або R^1 і R^2 разом утворюють $=O$, $=S$, $=N(OR)$,
 $=N(R)$, $=N(NR_2)$, $=C(R)_2$;

R^3 є H, алкілом, алкенілом або алкінілом;

R^4 являє собою H, алкіл, алкеніл, алкініл, арил,
циклоалкіл, гетероциклоалкіл, аралкіл, гетероа-
рил, гетероаралкіл, галогеналкіл, $-OR^5$, $-C(O)R^5$, $-$
 CO_2R^5 , $-SO_2R^5$, $-C(O)N(R^5)(R^5)$, $-[C(R)_2]_qR^5$, $-[(W)-$
 $N(R)C(O)]_qR^5$, $-[(W)-C(O)]_qR^5$, $-[(W)-C(O)O]_qR^5$, $-$
 $[(W)-OC(O)]_qR^5$, $-[(W)-SO_2]_qR^5$, $-[(W)-N(R^5)SO_2]_qR^5$, $-$
 $[(W)-C(O)N(R^5)]_qR^5$, $-[(W)-O]_qR^5$, $-[(W)-N(R)]_qR^5$, $-W-$
 $NR_3^+X^-$ або $-[(W)-S]_qR^5$;

де кожен W незалежно в кожному випадку є біра-
дикалом;

кожен q незалежно в кожному випадку приймає
значення 1, 2, 3, 4, 5 або 6;

X^- є галоїдом;

кожен R незалежно є H, алкілом, алкенілом, алкі-
нілом, арилом, циклоалкілом або аралкілом;

кожен R^5 незалежно в кожному випадку являє со-
бою H, алкіл, алкеніл, алкініл, арил, циклоалкіл,
гетероциклоалкіл, аралкіл, гетероарил, гетероара-
лкіл або $-[C(R)_2]_pR^6$; де p приймає значення від 0
до 6; або будь-які два R^5 , що знаходяться біля
одного замісника, разом можуть утворювати не-
обов'язково заміщене 4-8-членне кільце, що міс-
тить від 0 до 3 гетероатомів, що вибираються з
атомів N, O, S і P; і

кожен R^6 незалежно є гідроксиллом, $-N(R)COR$, $-$
 $N(R)C(O)OR$, $-N(R)SO_2(R)$, $-C(O)N(R)_2$, $-$
 $OC(O)N(R)(R)$, $-SO_2N(R)(R)$, $-N(R)(R)$, $-COOR$, $-$
 $C(O)N(OH)(R)$, $-OS(O)_2OR$, $-S(O)_2OR$, $-$
 $OP(O)(OR)(OR)$, $-NP(O)(OR)(OR)$ або $-$
 $P(O)(OR)(OR)$.

6. Застосування за п. 5, де, коли R^2 , R^3 і R^4 є H; R^1
не є гідроксиллом або цукром; і

коли R^4 є гідроксиллом, тоді R^1 не є цукром або гід-
роксиллом; і

коли R^4 є гідроксиллом, тоді R^1 і R^2 разом не є $C=O$.

7. Застосування за п. 5, де R^1 являє собою суль-
фонамідом.

8. Застосування за п. 5, де стан являє собою дріб-
ноклітинний рак легень.

9. Застосування за п. 5, де стан являє собою рак
підшлункової залози.

10. Застосування за п. 5, де стан являє собою ме-
дудобластому.

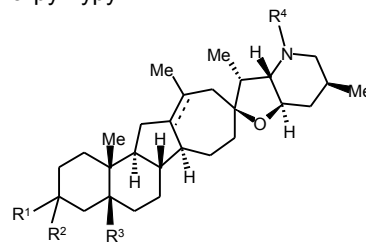
11. Застосування за п. 5, де стан вибирають із гру-
пи, що складається з множинної мієломи, лейкозу,
мієлодиспластичного синдрому, неходжкінської
лімфоми і хвороби Ходжкіна.

12. Застосування за будь-яким з пп. 5-7, де сполу-
ку вводять перорально.

13. Застосування за будь-яким з пп. 5-7, де сполу-
ку вводять внутрішньовенно.

14. Застосування за будь-яким з пп. 5-7, де сполу-
ку вводять місцево.

15. Застосування сполуки формули (1) або її фар-
мацевтично прийнятної солі для одержання лікар-
ського засобу для антагонізації сигнального шляху
hedghog у пацієнта, де сполука формули (1) має
структуру:



де R^1 являє собою H, алкіл, -OR, аміно, сульфо-
намідом, сульфамідом, $-OC(O)R^5$, $-N(R^5)C(O)R^5$ або
цукор;

R^2 являє собою H, алкіл, алкеніл, алкініл, арил,
циклоалкіл, нітрil або гетероциклоалкіл;

або R^1 і R^2 разом утворюють $=O$, $=S$, $=N(OR)$,
 $=N(R)$, $=N(NR_2)$, $=C(R)_2$;

R^3 є H, алкілом, алкенілом або алкінілом;

R^4 являє собою H, алкіл, алкеніл, алкініл, арил,
циклоалкіл, гетероциклоалкіл, аралкіл, гетероа-
рил, гетероаралкіл, галогеналкіл, $-OR^5$, $-C(O)R^5$, $-$
 CO_2R^5 , $-SO_2R^5$, $-C(O)N(R^5)(R^5)$, $-[C(R)_2]_qR^5$, $-[(W)-$
 $N(R)C(O)]_qR^5$, $-[(W)-C(O)]_qR^5$, $-[(W)-C(O)O]_qR^5$, $-$
 $[(W)-OC(O)]_qR^5$, $-[(W)-SO_2]_qR^5$, $-[(W)-N(R^5)SO_2]_qR^5$, $-$
 $[(W)-C(O)N(R^5)]_qR^5$, $-[(W)-O]_qR^5$, $-[(W)-N(R)]_qR^5$, $-W-$
 $NR_3^+X^-$ або $-[(W)-S]_qR^5$;

де кожен W незалежно в кожному випадку є біра-
дикалом;

кожен q незалежно в кожному випадку приймає
значення 1, 2, 3, 4, 5 або 6;

X^- є галоїдом;

кожен R незалежно є H, алкілом, алкенілом, алкі-
нілом, арилом, циклоалкілом або аралкілом;

кожен R^5 незалежно в кожному випадку є H, алкі-
лом, алкенілом, алкінілом, арилом, циклоалкілом,
гетероциклоалкілом, аралкілом, гетероариллом,
гетероаралкілом або $-[C(R)_2]_pR$; де p приймає
значення від 0 до 6; або будь-які два R^5 , що зна-
ходяться біля одного замісника, у кожному випадку
можуть разом утворювати необов'язково заміщене
4-8-членне кільце, що містить від 0 до 3 гетероа-
томів, що вибираються з атомів N, O, S і P; і

кожен R^6 незалежно є гідроксиллом, $-N(R)COR$, $-$
 $N(R)C(O)OR$, $-N(R)SO_2(R)$, $-C(O)N(R)_2$, $-$
 $OC(O)N(R)(R)$, $-SO_2N(R)(R)$, $-N(R)(R)$, $-COOR$, $-$
 $C(O)N(OH)(R)$, $-OS(O)_2OR$, $-S(O)_2OR$, $-$
 $OP(O)(OR)(OR)$, $-NP(O)(OR)(OR)$ або $-$
 $P(O)(OR)(OR)$.

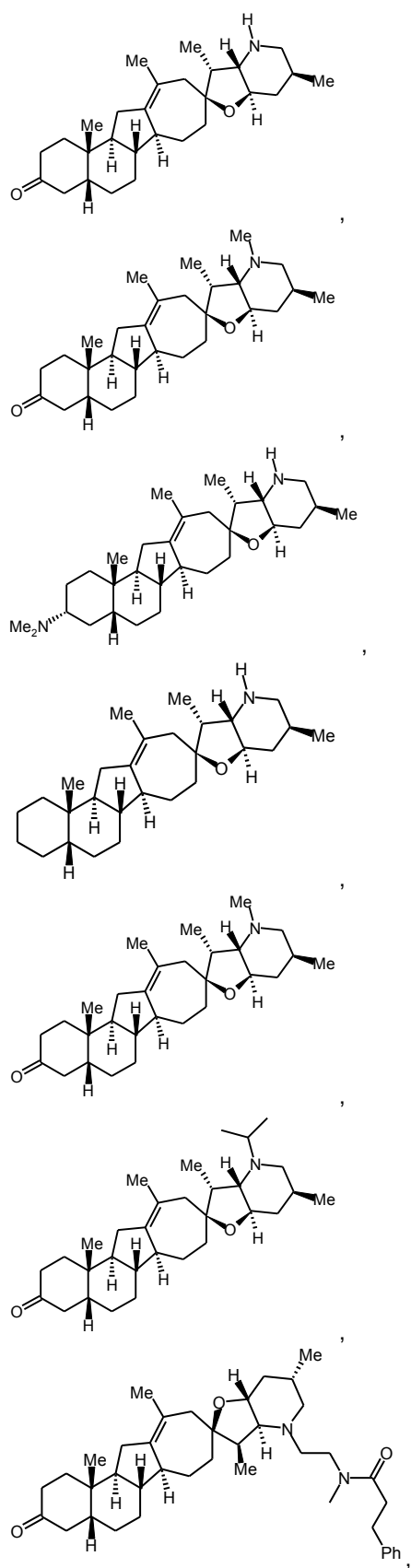
16. Застосування за п. 15, де, коли R^2 , R^3 і R^4 є H,
 R^1 не є гідроксиллом або цукром; і

коли R^4 є гідроксиллом, тоді R^1 не є цукром або гід-
роксиллом; і

коли R^4 є гідроксиллом, тоді R^1 і R^2 разом не утво-
рюють $C=O$.

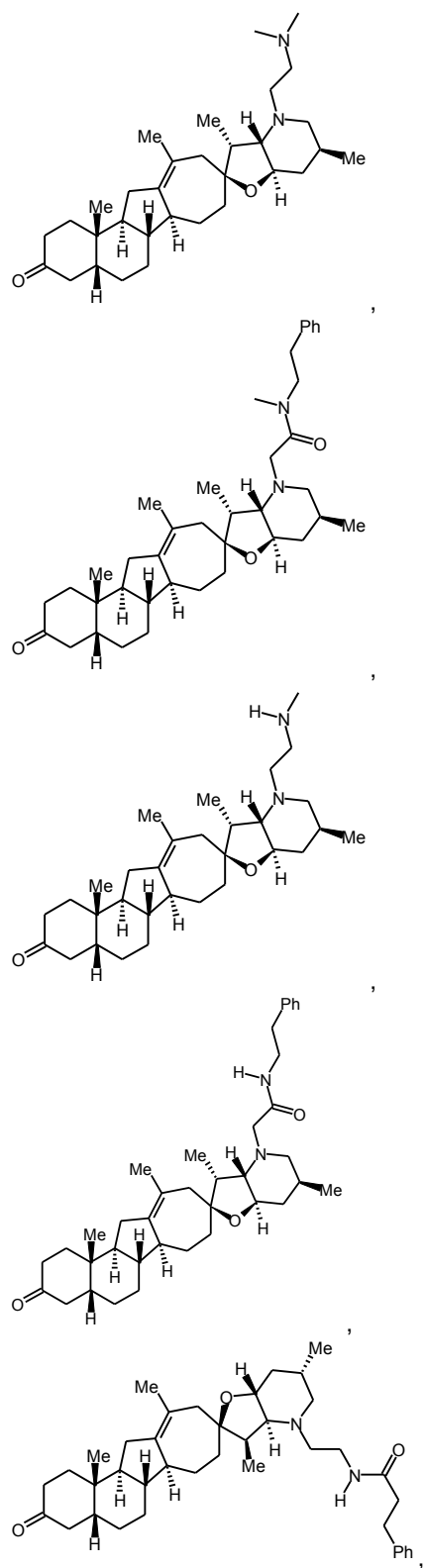
17. Застосування за будь-яким з пп. 1, 5 або 15, де
сполуку вибирають із групи, що складається з:

5

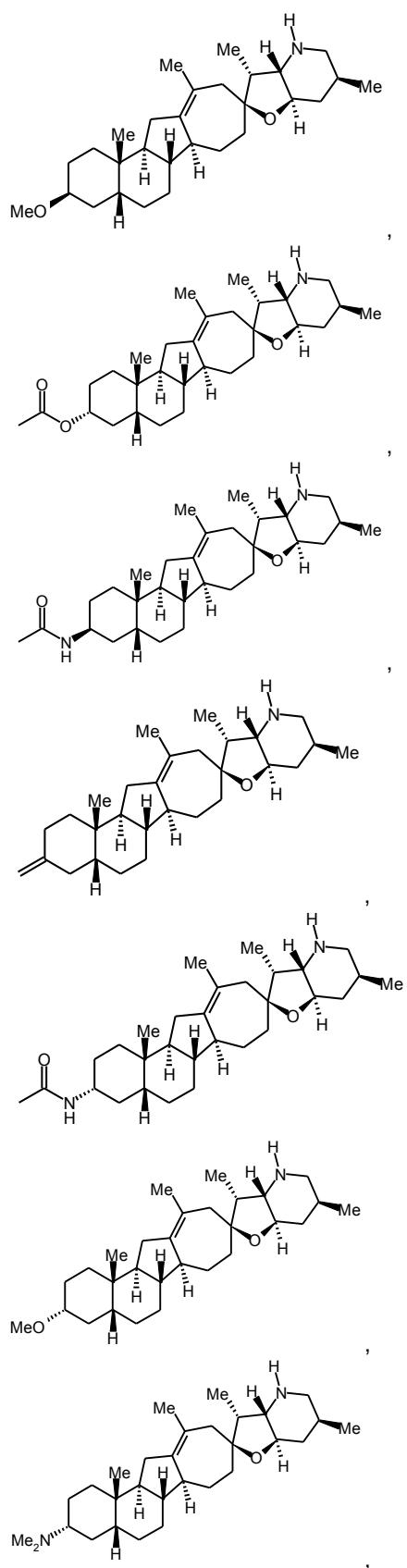


97129

6

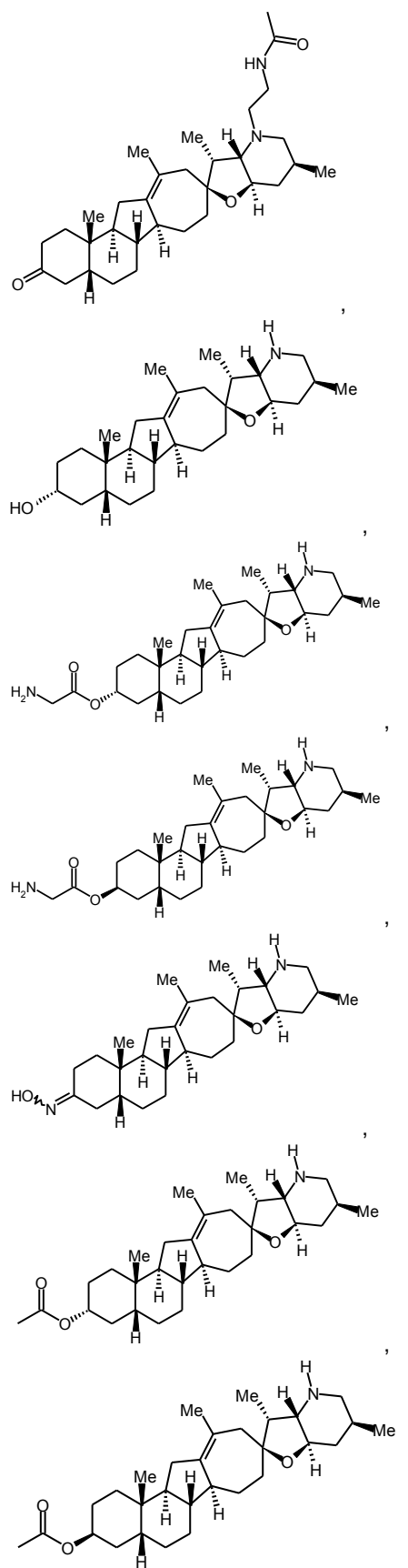


7

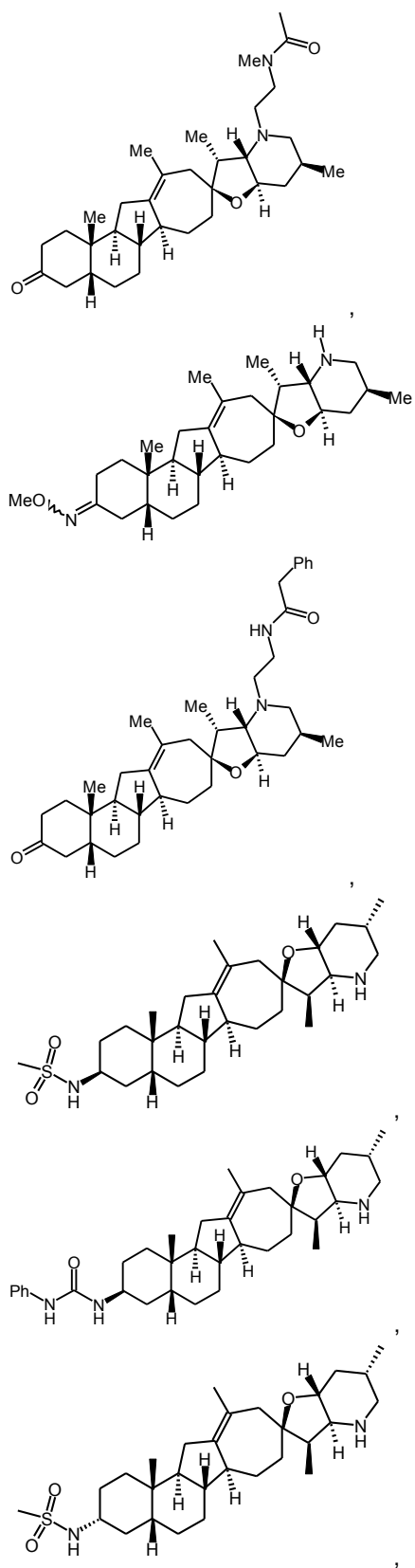


97129

8

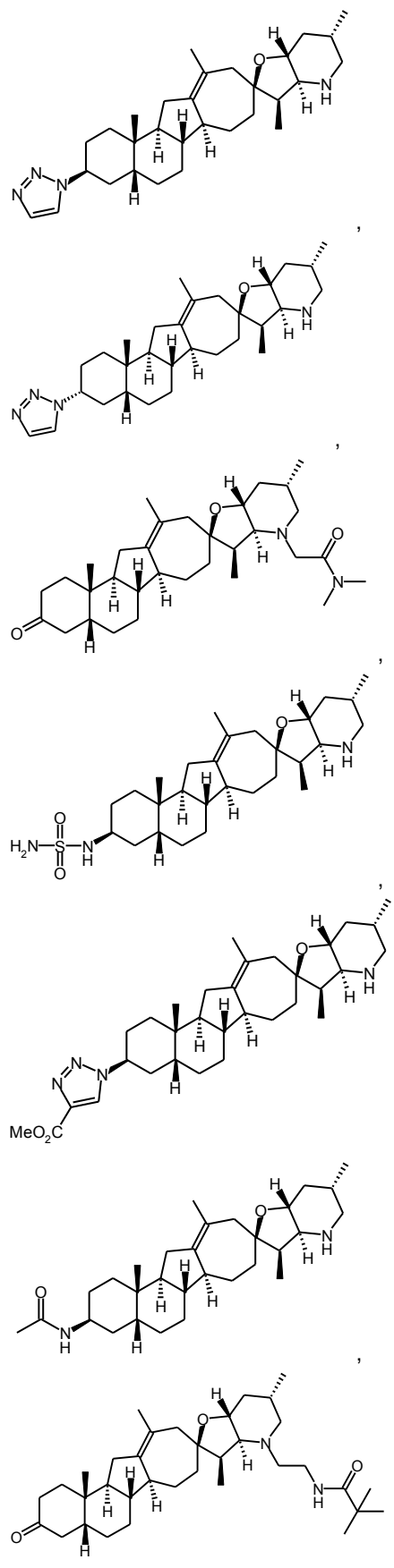


9

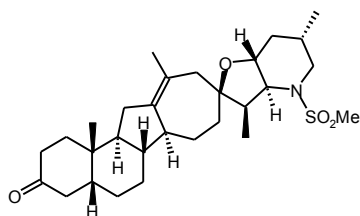
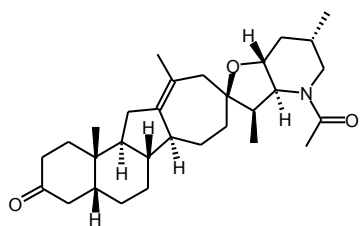


97129

10

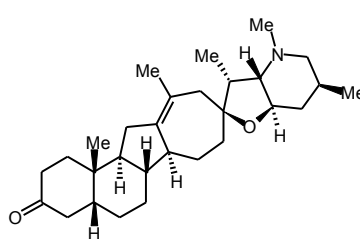
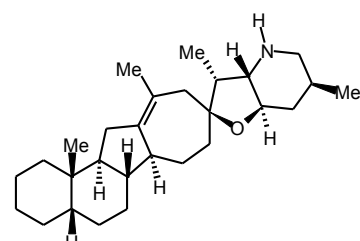
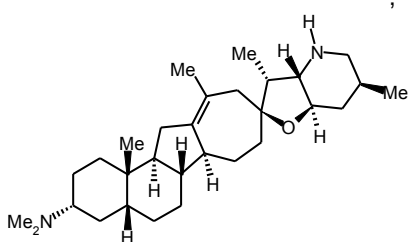
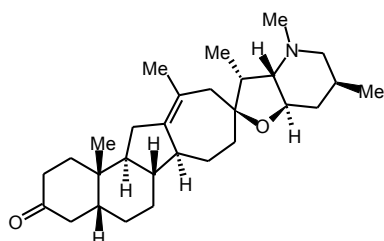
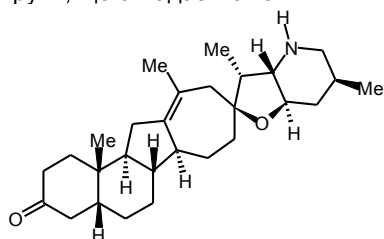


11



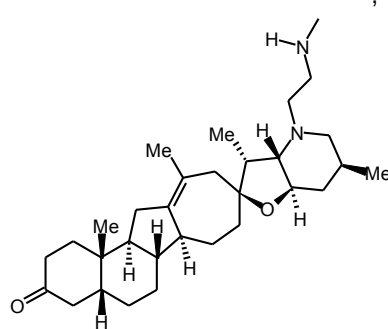
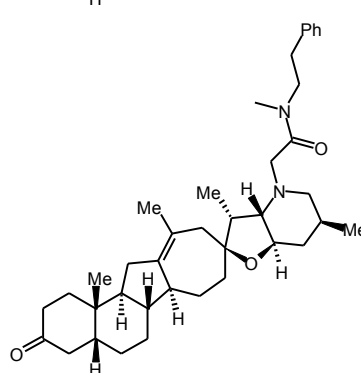
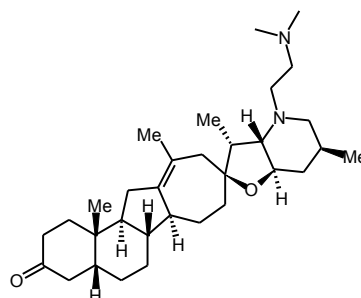
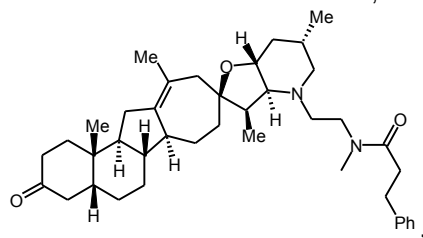
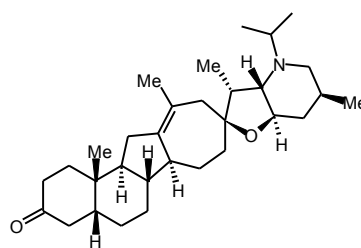
або їх фармацевтично прийнятної солі.

18. Застосування за п. 4, де сполуку вибирають із групи, що складається з:

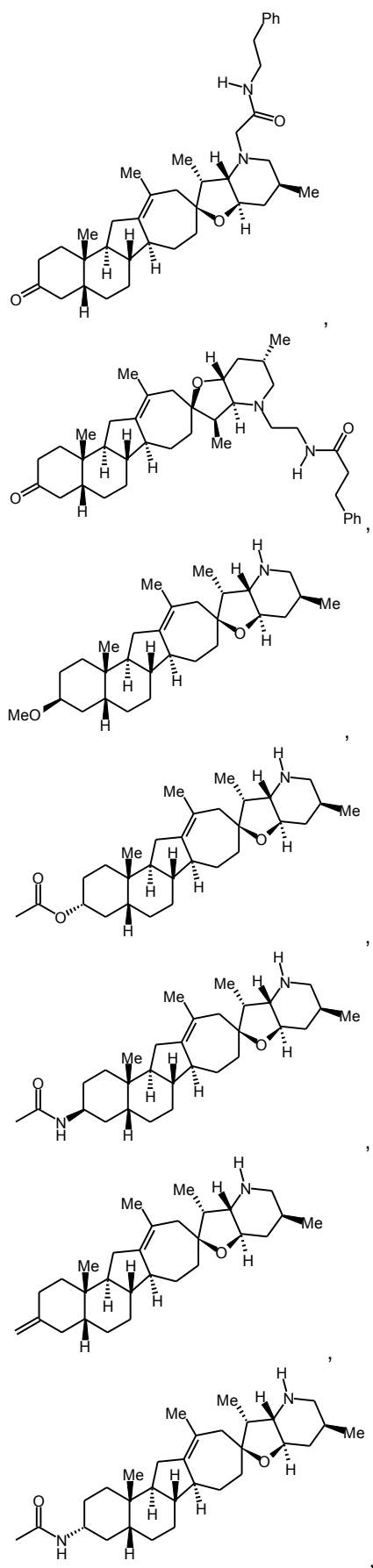


97129

12

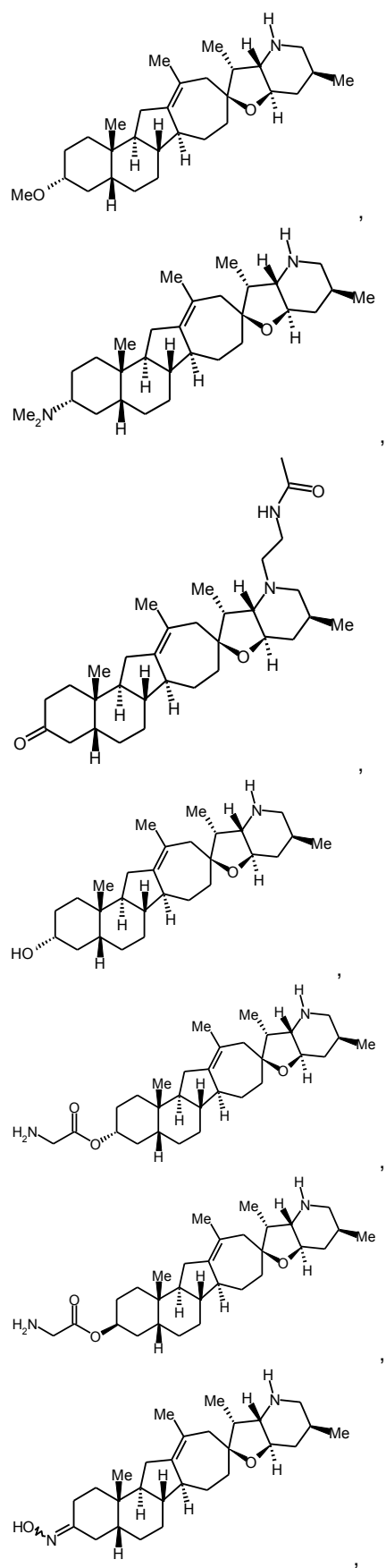


13

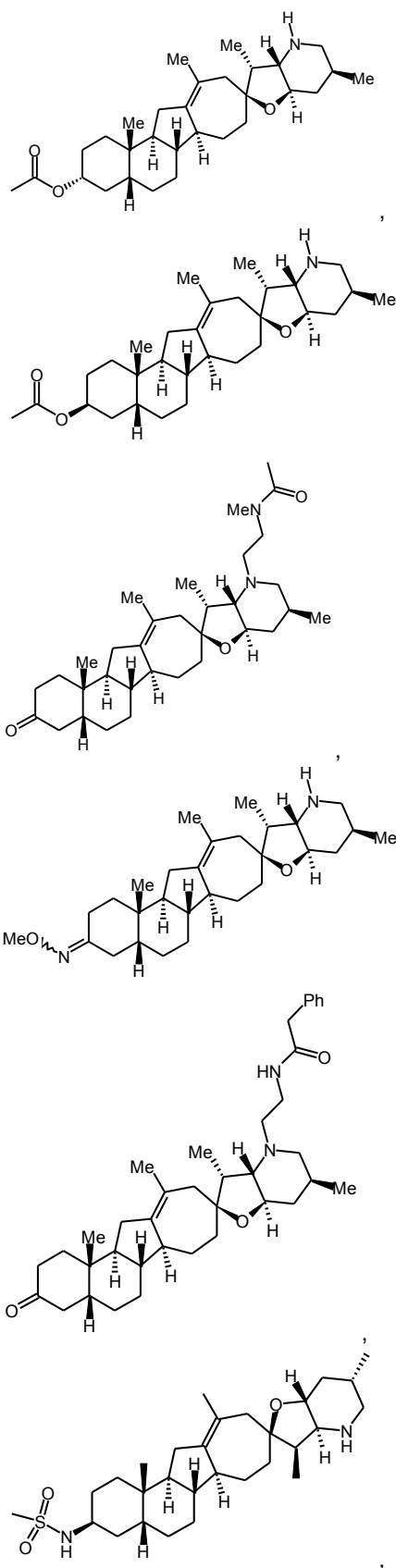


97129

14

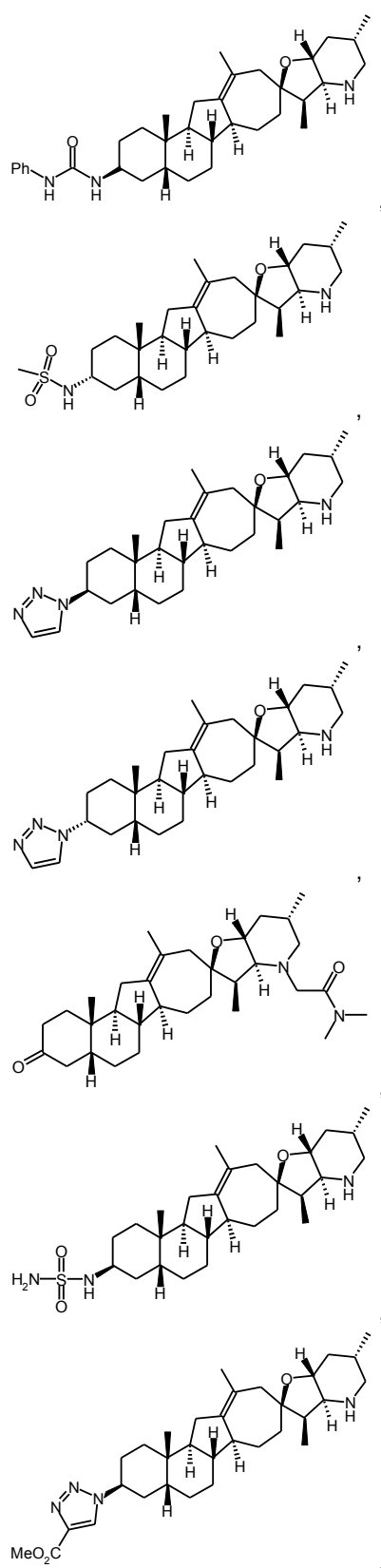


15

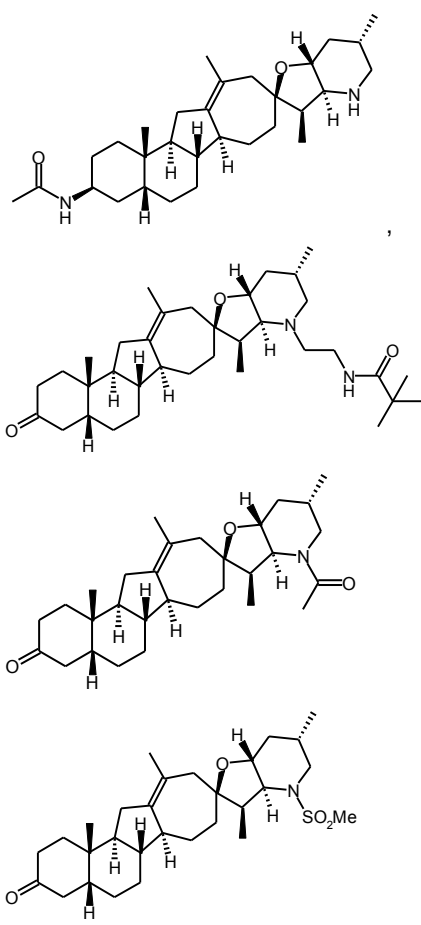


97129

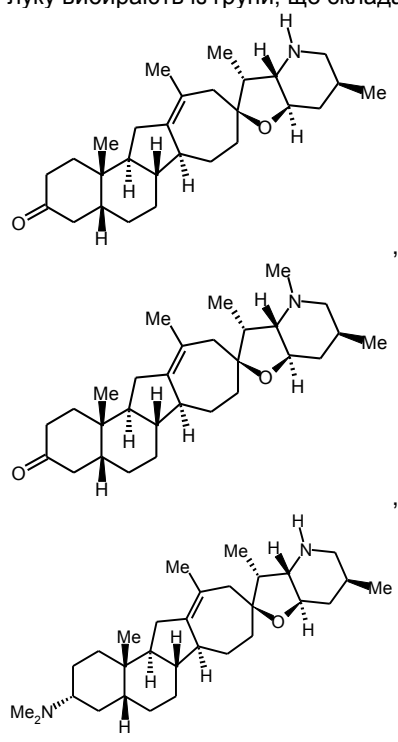
16



17

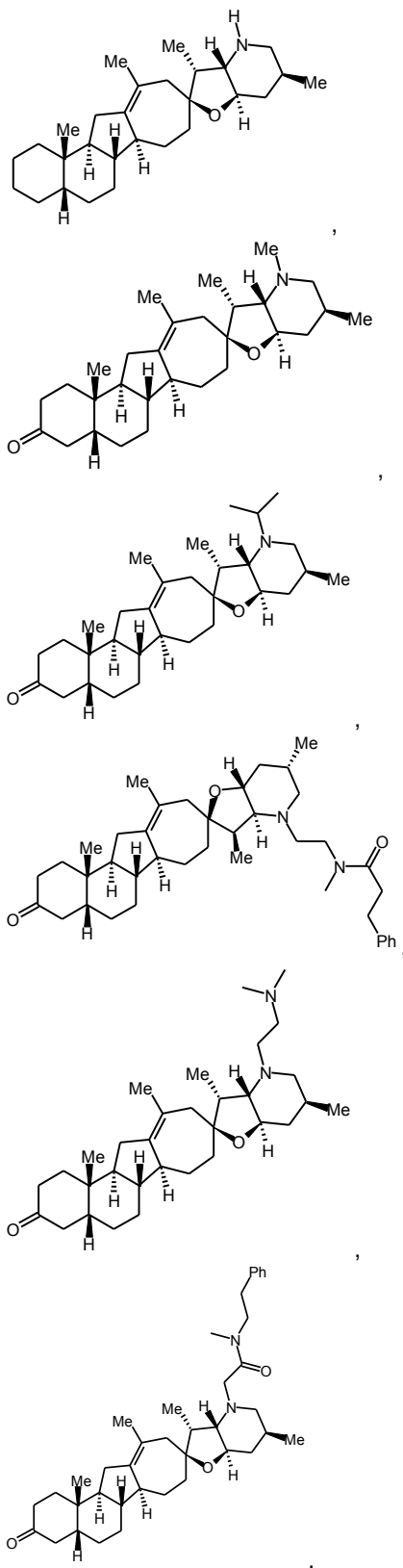


або їх фармацевтично прийнятної солі.
19. Застосування за будь-яким з пп. 6-11, де сполуку вибирають із групи, що складається з:

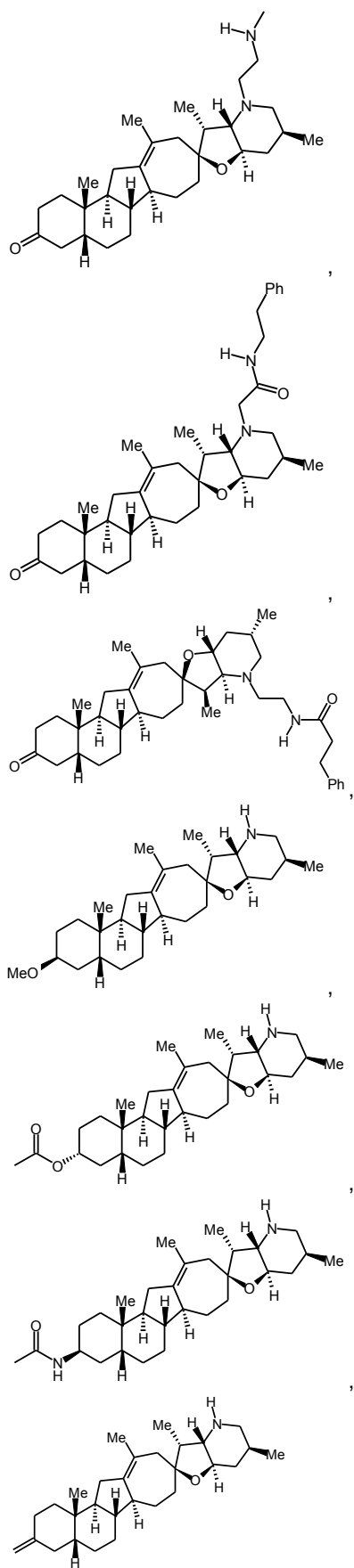


97129

18

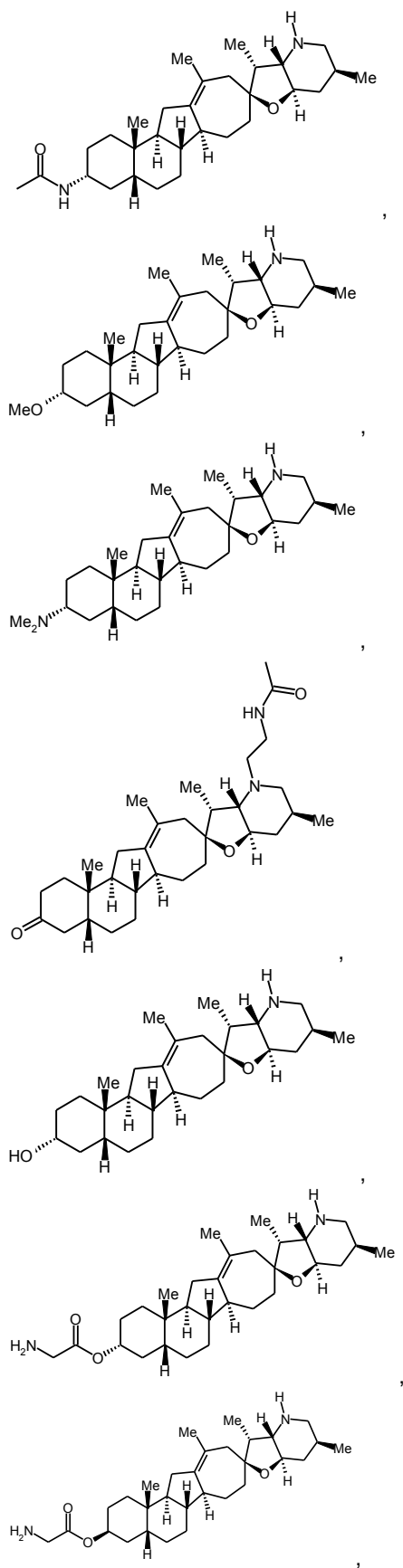


19

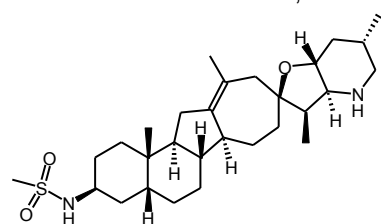
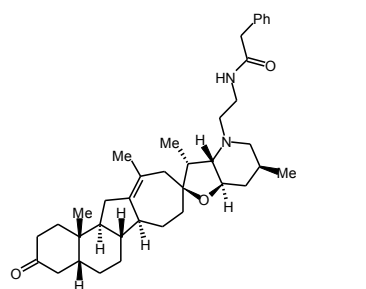
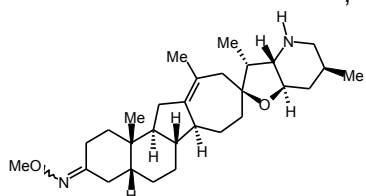
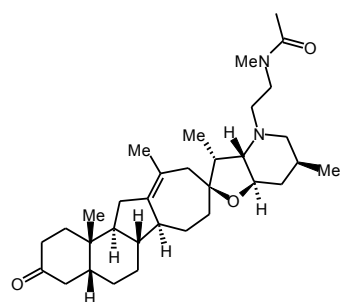
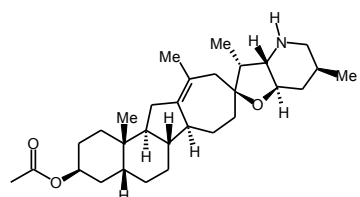
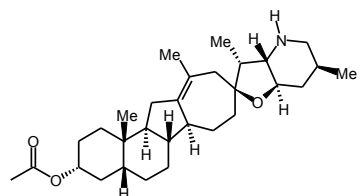
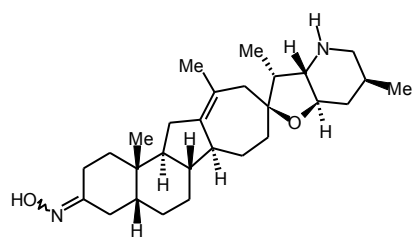


97129

20

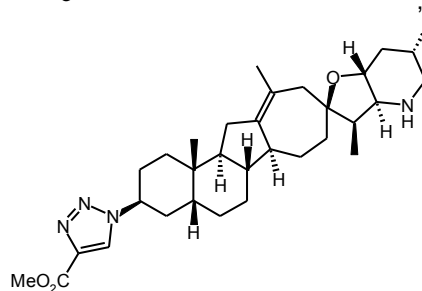
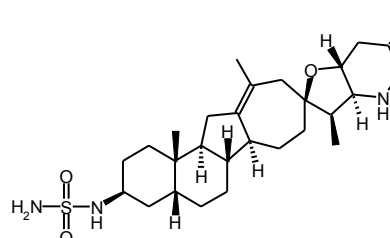
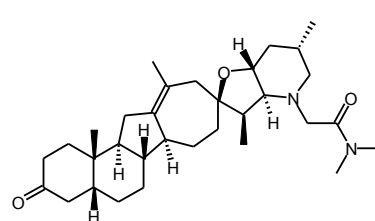
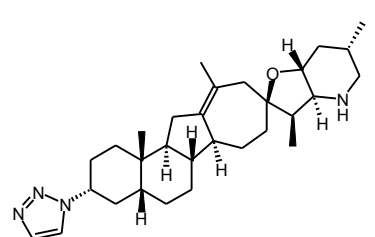
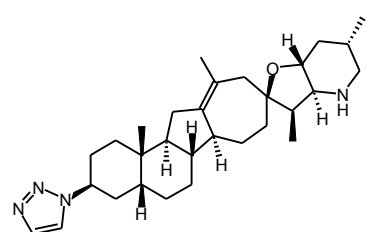
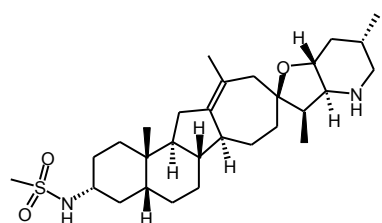
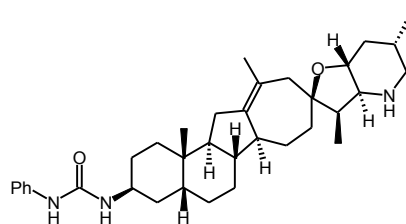


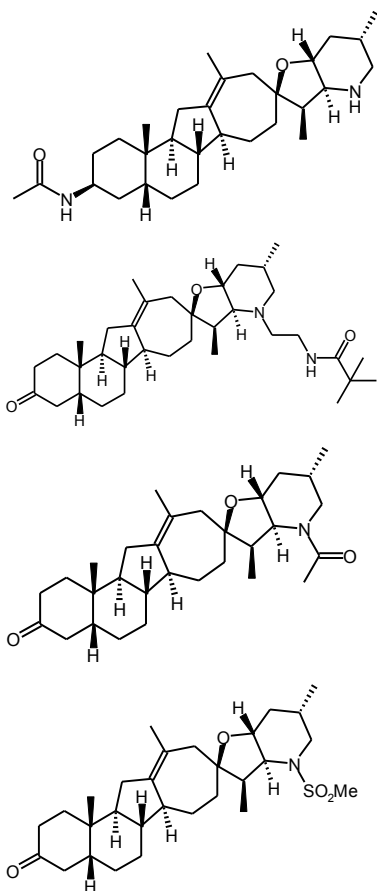
21



97129

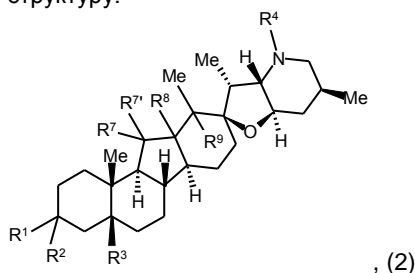
22





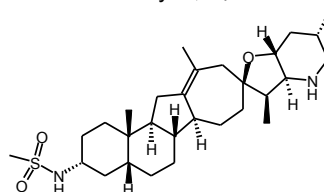
або їх фармацевтично прийнятної солі.

20. Застосування сполуки формули (2) або її фармацевтично прийнятної солі для одержання лікарського засобу для антагонізації сигнального шляху hedgehog у пацієнта, де сполука формули (2) має структуру:



24. Спосіб за п. 22, де рак являє собою рак легень.
 25. Спосіб за п. 24, де рак легень являє собою дрібноклітинний рак легень.
 26. Спосіб за п. 22, де рак являє собою рак підшлункової залози.
 27. Спосіб за п. 22, де рак являє собою базальноклітинний рак.
 28. Спосіб за п. 22, де рак являє собою медулобластому.
 29. Спосіб за п. 22, де рак являє собою гострий лімфолейкоз.
 30. Спосіб за п. 22, де рак являє собою хронічний лімфолейкоз.
 31. Спосіб за п. 22, де рак являє собою рак яєчників.
 32. Спосіб за п. 22, де рак являє собою хондросаркому.
 33. Спосіб за п. 22, де рак являє собою остеосаркому.
 34. Спосіб за п. 22, де рак являє собою хронічний мієлоїдний лейкоз.
 35. Спосіб за п. 22, де сполука застосовується в комбінації з одним або декількома хіміотерапевтичними або іншими протираковими засобами.
 36. Спосіб за п. 35, де інший протираковий засіб являє собою опромінення.
 37. Спосіб за п. 22, де сполука вводиться локально в пухлину.
 38. Спосіб за п. 22, де сполука вводиться системно.

39. Спосіб за п. 22, де шлях введення вказаної сполуки являє собою інгаляційний, пероральний, внутрішньовенний, сублінгвальний, очний, трансдермальний, ректальний, вагінальний, місцевий, внутрішньом'язовий, внутрішньоартеріальний, інтратекальний, підшкірний, букальний або назальний.
 40. Спосіб за п. 39, де шлях введення являє собою пероральний, внутрішньовенний або місцевий.
 41. Спосіб антагонізації сигнального шляху hedgehog у клітині, що включає контактування клітини, що експресує Smoothened білок, з ефективною кількістю сполуки, що має наступну формулу:



- або її фармацевтично прийнятної солі.
 42. Спосіб за п. 41, де вказане контактування здійснюється *in vitro*.
 43. Спосіб за п. 41, де вказане контактування здійснюється *in vivo*.
 44. Спосіб за п. 41, де вказана клітина, що експресує Smoothened білок, знаходиться всередині тіла організму.

Дана заявка просить пріоритет заявки США порядкового номера 60/878018, поданої 28 грудня 2006, і заявки США порядкового номера 60/941596, поданої 1 червня 2007; причому обидві заявки у всій повноті включені за допомогою посилання в дану заявку.

Деяка частина описаної тут роботи була виконана за підтримкою уряду у вигляді гранту № K23 CA107040, присудженого NIH/NCI (національним інститутом охорони здоров'я/національним онкологічним інститутом). Уряд має визначені права на винахід.

Даний винахід у цілому стосується способів антагонізації сигнального шляху hedgehog і способів лікування різних станів з використанням аналогів циклопаміну.

Було показано, що інгібування сигнального шляху hedgehog при деяких видах раку призводить до інгібування росту пухлини. Наприклад, було показано, що анти-hedgehog антитіла антагонізують функцію сигнального шляху hedgehog і інгібують ріст пухлини. Також було показано, що інгібування активності сигнального шляху hedgehog малими молекулами призводить до загибелі клітин деяких видів раку.

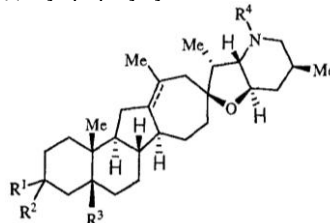
Дослідження в цій галузі було головним чином сфокусоване на з'ясуванні біології сигнального шляху hedgehog і на виявленні нових інгібіторів сигнального шляху hedgehog. Хоча інгібітори сигнального шляху hedgehog були встановлені, все

ще існує потреба в більш сильних інгібіторах сигнального шляху hedgehog.

У РСТ публікації WO 2006/026430, опублікованій 9 березня 2006 року і переуступленій тому ж правонаступнику, що і дана заявка, описується велика розмаїтість аналогів циклопаміну, фокусуючи увагу на сполуках з ненасиченістю в кільцях А і В. У даній заявці надзвичайно сильні аналоги містять цілком насичені кільця А і В.

Даний винахід стосується способів лікування гіперпроліферативних порушень і станів, опосередковуваних сигнальним шляхом hedgehog.

Відповідно до одного аспекту, винахід стосується способу лікування гіперпроліферативного порушення. Спосіб включає введення пацієнту ефективної кількості сполуки, що має нижченаведену формулу:



- або її фармацевтично прийнятної солі;
 де R¹ являє собою H, алкіл, -OR, аміно, сульфонамідо, сульфамідо, -OC(O)R⁵, -N(R⁵)C(O)R⁵ або цукор;

R^2 являє собою H, алкіл, алкеніл, алкініл, арил, циклоалкіл, нітрил або гетероциклоалкіл; або R^1 і R^2 разом утворюють $=O$, $=S$, $=N(OR)$, $=N(R)$, $=N(NR_2)$, $=C(R)_2$;

R^3 є H, алкілом, алкенілом або алкінілом;

R^4 являє собою H, алкіл, алкеніл, алкініл, арил, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, аралкіл, гетероарил, гетероаралкіл, галогеналкіл, $-OR^5$, $-C(O)R^5$, $-CO_2R^5$, $-SO_2R^5$, $-C(O)N(R^5)(R^5)$, $-[C(R)_2]_q-R^5$, $-[(W)-N(R)C(O)]_q^5$, $-[(W)-C(O)]_q^5$, $-[(W)-C(O)O]_q^5$, $-[(W)-OC(O)]_q^5$, $-[(W)-SO_2]_q^5$, $-[(W)-N(R^5)SO_2]_q^5$, $-[(W)-C(O)N(R^5)]_q^5$, $-[(W)-O]_q^5$, $-[(W)-N(R)]_q^5$, $-W-NR_3^5X^-$ або $-[(W)-S]_q^5$; де кожен символ W у кожному випадку незалежно являє собою бірадикал;

кожен символ q у кожному випадку незалежно приймає значення 1, 2, 3, 4, 5 чи 6;

X⁻ є галоїдом;

кожен R, незалежно, являє собою H, алкіл, алкеніл, алкініл, арил, циклоалкіл або аралкіл;

кожен R^5 у кожному випадку незалежно являє собою H, алкіл, алкеніл, алкініл, арил, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, аралкіл, гетероарил, гетероаралкіл або $-[C(R)_2]_p-R^6$;

де p приймає значення 0-6; або

де будь-які два R^5 у того самого замісника можуть разом утворювати необов'язково заміщене 4-8 членне кільце, що містить 0-3 гетероатоми, що вибираються з атомів N, O, S і P;

кожен R^6 незалежно є гідроксил, $-N(R)COR$, $-N(R)C(O)OR$, $-N(R)SO_2(R)$, $-C(O)N(R)_2$, $-OC(O)N(R)(R)$, $-SO_2N(R)(R)$, $-N(R)(R)$, $-COOR$, $-C(O)N(OH)(R)$, $-OS(O)_2OR$, $-S(O)_2OR$, $-OP(O)(OR)(OR)$, $-NP(O)(OR)(OR)$ або $-P(O)(OR)(OR)$.

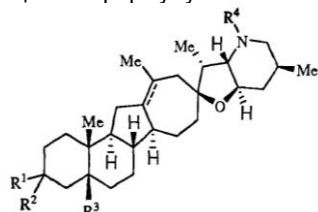
У деяких варіантах здійснення, коли R^2 , R^3 і R^4 являють собою атом H; R^1 не є гідроксил, або цукром.

У деяких варіантах здійснення, коли R^4 є гідроксил, тоді R^1 не є цукром або гідроксил, а R^1 і R^2 разом не є $C=O$.

У деяких варіантах здійснення, R^1 є сульфонамідо.

Стан може бути вибраний з групи, що складається з раків шкіри, раків центральної нервової системи, раків шлунково-кишкового тракту, раків легеневої системи, сечостатевих раків, раку молочної залози, гепатоцелюлярного раку, раку мозку і раків кровотворної системи.

Відповідно до іншого аспекту, винахід стосується способу лікування стану, опосередкованого сигнальним шляхом hedgehog. Спосіб включає введення пацієнту ефективної кількості сполуки, що має формулу:



або її фармацевтично прийнятної солі;

де R^1 являє собою H, алкіл, $-OR$, аміно, сульфонамідо, сульфамідо, $-OC(O)R^5$, $-N(R^5)C(O)R^5$ або цукор;

R^2 являє собою H, алкіл, алкеніл, алкініл, арил, циклоалкіл, нітрил або гетероциклоалкіл;

або R^1 і R^2 разом утворюють $=O$, $=S$, $=N(OR)$, $=N(R)$, $=N(NR_2)$, $=C(R)_2$;

R^3 є H, алкілом, алкенілом або алкінілом;

R^4 являє собою H, алкіл, алкеніл, алкініл, арил, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, аралкіл, гетероарил, гетероаралкіл, галогеналкіл, $-OR^5$, $-C(O)R^5$, $-CO_2R^5$, $-SO_2R^5$, $-C(O)N(R^5)(R^5)$, $-[C(R)_2]_q-R^5$, $-[(W)-N(R)C(O)]_q^5$, $-[(W)-C(O)]_q^5$, $-[(W)-C(O)O]_q^5$, $-[(W)-OC(O)]_q^5$, $-[(W)-SO_2]_q^5$, $-[(W)-N(R^5)SO_2]_q^5$, $-[(W)-C(O)N(R^5)]_q^5$, $-[(W)-O]_q^5$, $-[(W)-N(R)]_q^5$, $-W-NR_3^5X^-$ або $-[(W)-S]_q^5$;

де кожен символ W у кожному випадку незалежно є бірадикалом; кожен символ q незалежно для кожного випадку приймає значення 1, 2, 3, 4, 5 або 6;

X⁻ являє собою галоїд;

кожен R незалежно є атомом H, алкілом, алкенілом, алкінілом, арилом, циклоалкілом або аралкілом;

кожен R^5 у кожному випадку незалежно є атомом H, алкілом, алкенілом, алкінілом, арилом, циклоалкілом, гетероциклоалкілом, аралкілом, гетероарилом, гетероаралкілом або $-[C(R)_2]_p-R^6$;

де p приймає значення 0-6; або

де будь-які два R^5 у того самого замісника можуть разом утворювати необов'язково заміщене 4-8 членне кільце, що містить 0-3 гетероатоми, що вибираються з атомів N, O, S і P;

кожен R^6 незалежно являє собою гідроксил, $-N(R)COR$, $-N(R)C(O)OR$, $-N(R)SO_2(R)$, $-C(O)N(R)_2$, $-OC(O)N(R)(R)$, $-SO_2N(R)(R)$, $-N(R)(R)$, $-COOR$, $-C(O)N(OH)(R)$, $-OS(O)_2OR$, $-S(O)_2OR$, $-OP(O)(OR)(OR)$, $-NP(O)(OR)(OR)$ або $-P(O)(OR)(OR)$.

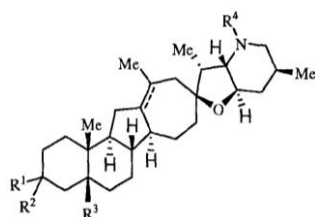
У деяких варіантах здійснення, коли R^2 , R^3 і R^4 являють собою H; R^1 не є гідроксил, або цукром.

У деяких варіантах здійснення, коли R^4 є гідроксил, тоді R^1 не є цукром або гідроксил, і R разом з R не представляють $C=O$.

У деяких варіантах здійснення, R^1 є сульфонамідо.

Стан може бути обране з групи, що складається з раків шкіри, раків центральної нервової системи, раків шлунково-кишкового тракту, раків легеневої системи, сечостатевих раків, раку молочної залози, гепатоцелюлярного раку, раку мозку і раків кровотворної системи. Конкретні приклади включають дрібноклітинний рак легень, рак підшлункової залози, медулобластому, множинну мієлому, лейкоз, мієлодиспластичний синдром, неходжкінську лімфому і хворобу Ходжкіна. Сполуки можуть бути введені перорально, внутрішньовенно або місцево.

Згідно з ще одним аспектом, винахід стосується способу антагонізації сигнального шляху hedgehog у пацієнта. Спосіб включає введення пацієнту ефективної кількості сполуки, що має формулу:



або її фармацевтично прийнятної солі;

де R¹ являє собою H, алкіл, -OR, аміно, сульфонамідо, сульфамідо, -OC(O)R⁵, -N(R⁵)C(O)R⁵ або цукор;

R² являє собою H, алкіл, алкеніл, алкініл, арил, циклоалкіл, нітрил або гетероциклоалкіл;

або R¹ і R² разом утворюють =O, =S, =N(OR), =N(R), =N(NR₂), =C(R₂);

R³ є H, алкілом, алкенілом або алкінілом;

R⁴ являє собою H, алкіл, алкеніл, алкініл, арил, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, аралкіл, гетероарил, гетероаралкіл, галогеналкіл, -OR⁵, -C(O)R⁵, -CO₂R⁵, -SO₂R⁵, -C(O)N(R⁵)(R⁵), -[C(R)₂]_q, -R⁵, -[(W)-N(R)C(O)]_q, -[(W)-C(O)]_q, -[(W)-C(O)O]_q, -[(W)-OC(O)]_q, -[(W)-SO₂]_q, -[(W)-N(R⁵)SO₂]_q, -[(W)-C(O)N(R⁵)]_q, -[(W)-O]_q, -[(W)-N(R)]_q, -[W-NR₃⁺X⁻] або -[(W)-S]_q, де кожен символ W незалежно в кожному випадку являє собою бірадикал; кожен символ q незалежно в кожному випадку приймає значення 1, 2, 3, 4, 5 або 6;

X⁻ є галоїдом;

кожен R незалежно є атомом H, алкілом, алкенілом, алкінілом, арилом, циклоалкілом або аралкілом;

кожен R⁵ незалежно в кожному випадку являє собою атом H, алкіл, алкеніл, алкініл, арил, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, аралкіл, гетероарил, гетероаралкіл або -[C(R)₂]_p-R⁶;

де p приймає значення від 0 до 6; або

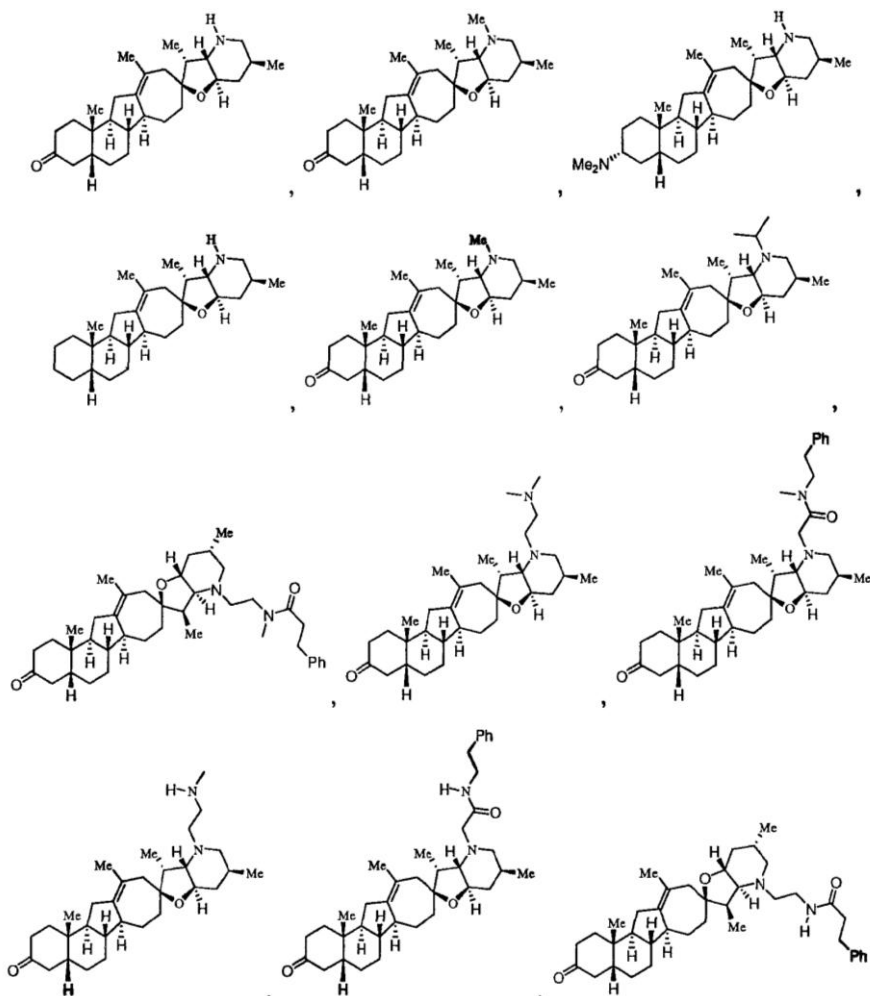
де будь-які два R⁵ у того самого замісника разом можуть утворювати 4-8 членне необов'язково заміщене кільце, що містить 0-3 гетероатоми, що вибираються з атомів N, O, S і P;

кожен R⁶ незалежно являє собою гідроксил, -N(R)COR, -N(R)C(O)OR, -N(R)SO₂(R), -C(O)N(R)₂, -OC(O)N(R)(R), -SO₂N(R)(R), -N(R)(R), -COOR, -C(O)N(OH)(R), -OS(O)₂OR, -S(O)₂OR, -OP(O)(OR)(OR), -NP(O)(OR)(OR) або -P(O)(OR)(OR).

У деяких варіантах здійснення, коли R², R³ і R⁴ являють собою H; R¹ не є гідроксилом або цукром.

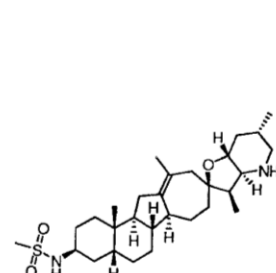
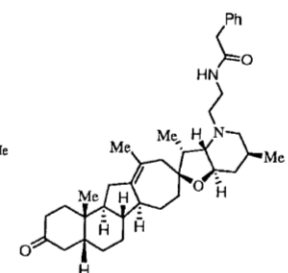
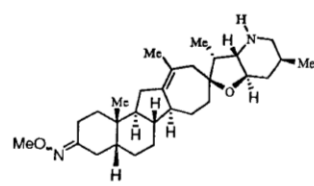
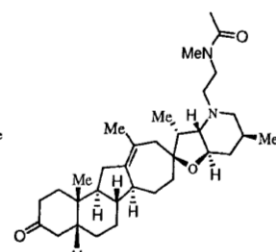
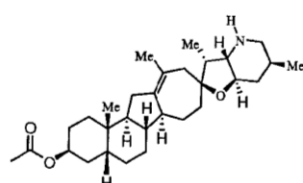
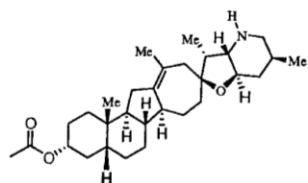
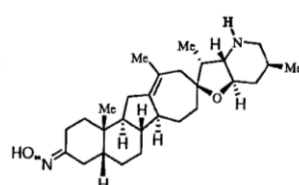
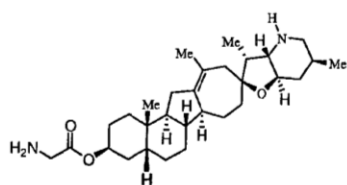
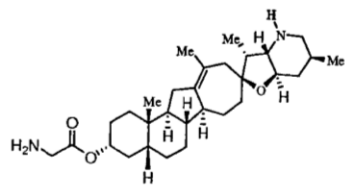
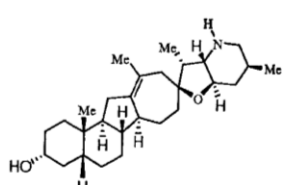
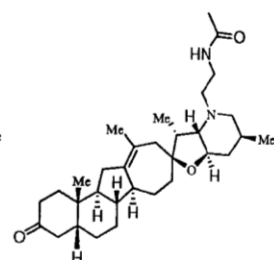
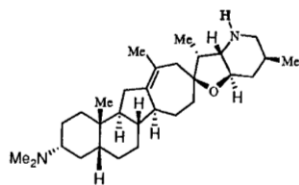
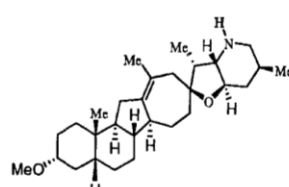
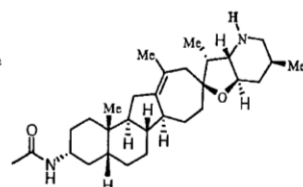
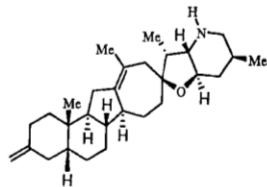
У деяких варіантах здійснення, коли R⁴ є гідроксилом, тоді R¹ не є цукром або гідроксилом, і R¹ і R² разом не є C=O.

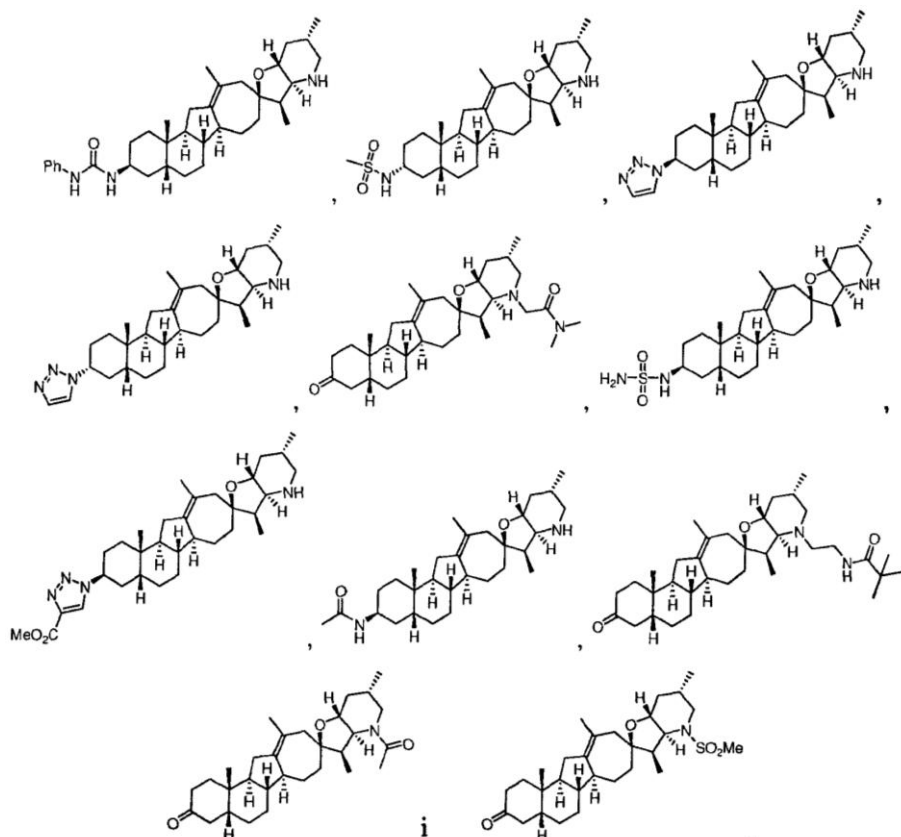
В описаних вище варіантах здійснення сполука може бути вибрана з групи, що складається з:



COC1=CC=C2C3=C1OC4C(C=CC5C4(C)OC(=O)N5C)C2(C)C

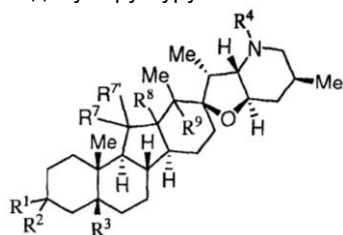
The chemical structure shows a steroid nucleus with several modifications. At the 3-position, there is an acetate group (-O-C(=O)-CH₃). Methyl groups (Me) are attached at the 10, 13, and 14 positions. A complex ring system is fused to the D-ring, including a five-membered ring with a nitrogen atom (N) and a carbonyl group (C=O). The stereochemistry is indicated with wedges and dashes at various positions.





або її фармацевтично прийнятної солі.

Згідно з ще одним аспектом винахід стосується способу антагонізації у пацієнта сигнального шляху hedgehog. Спосіб включає введення пацієнту ефективної кількості сполуки, що має нижченаведену структуру:



або її фармацевтично прийнятної солі;

де R¹ являє собою H, алкіл, -OR, аміно, сульфонамідо, сульфамідо, -OC(O)R⁵, N(R⁵)C(O)R⁵ або цукор;

R² являє собою H, алкіл, алкеніл, алкініл, арил, циклоалкіл, нітрil або гетероциклоалкіл;

або R¹ і R² разом утворюють =O, =S, =N(OR), =N(R)-, =N(NR₂), =C(R)₂;

R³ є атомом H, алкілом, алкенілом або алкінілом;

R⁴ являє собою атом H, алкіл, алкеніл, алкініл, арил, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, аралкіл, гетероарил, гетероаралкіл, галогеналкіл, -OR⁵, -C(O)R⁵, -CO₂R⁵, -SO₂R⁵, -C(O)N(R⁵)(R⁵), -[C(R)₂]_q, R⁵, -[(W)-N(R)C(O)]_q, -[(W)-C(O)]_q, -[(W)-C(O)O]_q, -[(W)-OC(O)]_q, -[(W)-SO₂]_q, -[(W)-N(R⁵)SO₂]_q, -[(W)-C(O)N(R⁵)]_q, -[(W)-O]_q, -[(W)-N(R)]_q, -W-NR⁵₃X⁺ або [(W)-S]_q;

де кожен символ W незалежно є бірадикалом;

кожен символ q незалежно приймає значення 1, 2, 3, 4, 5 або 6;

X⁺ є галогідом;

кожен R незалежно являє собою H, алкіл, алкеніл, алкініл, арил, циклоалкіл або аралкіл;

кожен R⁵ незалежно являє собою H, алкіл, алкеніл, алкініл, арил, циклоалкіл, гетероциклоалкіл, аралкіл, гетероарил, гетероаралкіл або -[C(R)₂]_p-R⁶;

де p приймає значення від 0 до 6; або

будь-які два R⁵ у того самого замісника можуть разом утворювати 4-8 членне необов'язково заміщене кільце, що містить 0-3 гетероатоми, що вибираються з атомів N, O, S і P;

кожен R⁶ незалежно являє собою гідроксил, -N(R)COR, -N(R)C(O)OR, -N(R)SO₂(R), -C(O)N(R)₂, -OC(O)N(R)(R), -SO₂N(R)(R), -N(R)(R), -COOR, -C(O)N(OH)(R), -OS(O)₂OR, -S(O)₂OR, -OP(O)(OR)(OR), -NP(O)(OR)(OR) або -P(O)(OR)(OR) де кожен R незалежно є атомом H, алкілом, алкенілом, алкінілом, арилом, циклоалкілом або аралкілом;

кожний з R⁷ і R⁷ є атомом H; або

R⁷ і R⁷ разом утворюють =O;

кожен R⁸ і R⁸ є атомом H, або R⁸ і R⁹ разом утворюють зв'язок; і

за умови що, коли R³, R⁴, R⁸, R⁹ являє собою атом H; і R⁷ і R⁷ разом утворюють =O; R¹ не може бути гідроксилем, а R² не може бути H;

за умови що, коли R³, R⁴, R⁸, R⁹ є атомом H, і R⁷ і R⁷ разом утворюють =O; R¹ не може бути ацетатом, а R² не може бути атомом H;

за умови що, коли R^3, R^4, R^8, R^9 є атомом Н; і R^7 і R^8 є атомом Н; R^1 і R^2 разом не можуть представляти $=O$, і

за умови що, коли R^3, R^4, R^8, R^9 є атомом Н; і R^7 і R^7 являють собою атом Н; R^1 і R^2 не можуть бути атомом Н.

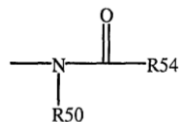
У деяких варіантах здійснення, R^1 являє собою сульфонамід.

Визначення

Визначення термінів, використовуваних тут, призначені для введення сучасних визначень, загально визначених для кожного терміна в хімічній і фармацевтичній галузі. Там, де це доречно, наведені ілюстрації на прикладах. Визначення застосовні до термінів, що використані по всьому даному описі винаходу, поки їх не обмежують конкретними прикладами, або індивідуально або як частина більшої групи.

Використовуване тут визначення для кожного виразу, наприклад, алкіл, т, п, і так далі, тільки він з'явиться в будь-якій структурі більше одного разу, задають як незалежне від його визначення де-небудь у тій самій структурі.

Термін "ациламіно" позначає групу, що може бути представлена загальною формулою:



в якій $R50$ і $R54$ являють собою водень, алкіл, алкеніл або $-(CH_2)_m-R61$, де $R61$ представляє арил, циклоалкіл, циклоалкеніл, гетероцикл або поліцикл; а m є нулем або цілим числом в інтервалі від 1 до 8.

Терміни "алкеніл" і "алкініл" стосуються ненасичених аліфатичних груп, аналогічних за довжиною і можливим заміщенням алкілів, описаних нижче, але які містять щонайменше один подвійний або потрійний зв'язок, відповідно.

Терміни "алкоксил" або "алкокси" стосуються алкільної групи, визначеної нижче, що має приєднаний до неї кисневий радикал. Характерні алкоксильні групи включають метокси-, етокси-, пропілокси-, трет-бутоксигрупи тощо.

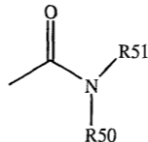
Термін "алкіл" позначає радикал насичених аліфатичних груп, що включає нерозгалужені алкільні групи, алкільні групи з розгалуженим ланцюгом, циклоалкільні (алициклічні) групи, алкілзаміщені циклоалкільні групи і циклоалкілзаміщені алкільні групи. У деяких варіантах здійснення, алкіл з нерозгалуженим або з розгалуженим ланцюгом має 30 або менше вуглецевих атомів в основному ланцюзі (наприклад, C_1-C_{30} для нерозгалуженого ланцюга, C_3-C_{30} для розгалуженого ланцюга), 20 або менше вуглецевих атомів.

Аналогічно, деякі циклоалкіли мають 3-10 вуглецевих атомів у їх циклічній структурі, а інші мають 5, 6 або 7 атомів вуглецю в циклічній структурі.

Термін "алкілтіо" стосується алкільної групи визначеної вище, що має приєднаний до неї сірковмісний радикал. У деяких варіантах здійснення, "алкілтіо" фрагмент представляють одним з радикалів -S-алкіл, -S-алкеніл, -S-алкініл, і -S- $(CH_2)_m$ -

$R61$, де m і $R61$ визначені вище. Представник алкілтіогруп включає метилтіо, етилтіо тощо.

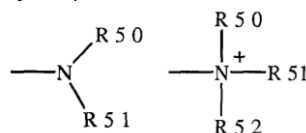
Термін "амідо", обумовлений у даній галузі техніки як амінозаміщений карбоніл і включає фрагмент, що може бути представлений загальною формулою:



де $R50$ і $R51$, кожен незалежно, являють собою водень, алкіл, алкеніл, $-(CH_2)_m-R61$; або $R50$ і $R51$, разом з атомом N, до якого вони приєднані, завершують гетероцикл, що має в циклічній структурі від 4 до 8 атомів;

$R61$ являє собою арил, циклоалкіл, циклоалкеніл, гетероцикл або поліцикл; і «т» являють собою нуль або ціле число, що знаходиться в інтервалі від 1 до 8. Деякі варіанти здійснення амідів за даним винаходом не будуть включати іміді, що можуть виявитися нестійкими.

Терміни "амін" і "аміно" ідентифікують у даній галузі техніки і позначають як незаміщені, так і заміщені аміни, а саме, як фрагмент, що може бути представлений загальними формулами:



де $R50$, $R51$ і $R52$, кожен незалежно, являють собою водень, алкіл, алкеніл, $-(CH_2)_m-R61$; або $R50$ і $R51$, разом з атомом N, до якого вони приєднані, завершують гетероцикл, що має від 4 до 8 атомів у циклічній структурі; $R61$ являє собою арил, циклоалкіл, циклоалкеніл, гетероцикл або поліцикл; а m є нулем або цілим числом, що знаходиться в інтервалі від 1 до 8. Таким чином, термін "алкіламін" включає аміногрупу, визначену вище, що має приєднаний до неї заміщений або незаміщений алкіл, тобто щонайменше один з $R50$ і $R51$ являє собою алкільну групу.

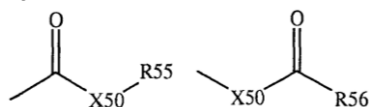
Термін "аралкіл", використовуваний тут, позначає алкільну групу, заміщену арильною групою (наприклад, ароматичною або гетероароматичною групою).

Термін "арил" використовуваний тут включає 5-, 6- і 7-членну моноциклічну ароматичну групу, що може містити від нуля до чотирьох гетероатомів, наприклад, такі як бензол, антрацен, нафталін, пірен, пірол, фуран, тіофен, імідазол, оксазол, тіазол, триазол, піразол, піридин, піразин, піридазин і прімідин тощо. Ці арильні групи, що містять гетероатоми в циклічній структурі, також можна позначати як "арильні гетероцикли" або "гетероароматичні системи". Ароматичне кільце може бути заміщене в одного або декількох положень кільця такими замісниками, як описані вище, наприклад, галогеном, азидом, алкілом, аралкілом, алкенілом, алкінілом, циклоалкілом, гідроксилом, алкоксилом, аміно, нітро, сульфгідрилом, іміно, амідом, фосфонатом, фосфінатом, карбонілом, карбоксилом, силілом, простим ефіром, алкілтіо, сульфонілом, сульфонамідом, кетоном, альдегідом, складним

ефіром, гетероциклілом, ароматичної або гетероароматичною групою, $-\text{CF}_3$, $-\text{CN}$ або тому подібним. Термін "арил" також включає поліциклічні системи, що мають два або більше кілець в циклічній системі, в якій два або більше атоми вуглецю є загальними для двох сусідніх кілець (кілець являють собою "конденсовані кілець"), де щонайменше одне з кілець є ароматичним, інші кілець циклічної системи можуть, наприклад, являти собою циклоалкіли, циклоалкеніли, циклоалкініли, арили і/або гетероцикліли.

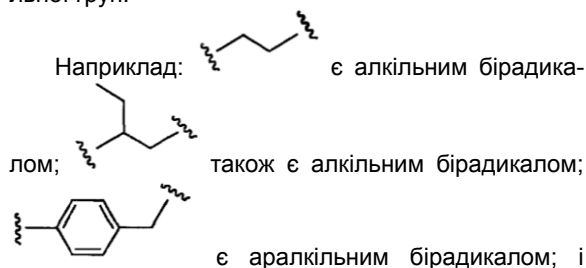
Термін "кислота Бренстеда" позначає будь-яку речовину, що може функціонувати як донор водневого іона (протона).

Термін "карбоксил" включає такі фрагменти, що можуть бути представлені загальними формулами:

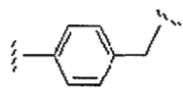


в якій X_{50} є зв'язком або представляє атом кисню або сірки; а кожний з R_{55} і R_{56} незалежно представляє атом водню, алкіл, алкеніл, $-(\text{CH}_2)_m$, R_{61} або фармацевтично прийнятну сіль, де m і R_{61} визначені вище.

Термін "бірадикал" стосується будь-якої з ряду двовалентних груп з алкільної, алкенільної, алкінільної, арильної, циклоалкільної, гетероциклоалкільної, аралкільної, гетероарильної і гетероаралкільної груп.



Характерні приклади включають алкілені загальної структури $(\text{CH}_2)_x$, де x приймає значення 1-6, і відповідні алкеніленовий і алкініленовий лінкери, що мають 2-6 вуглецевих атомів і один або декілька подвійних або потрійних зв'язків; циклоалкіленові групи, що містять 3-8 членів кілець й аралкільні групи, в яких одна відкрита валентність знаходиться у арильного кілець, а одна - в алкільній частині, такі як показано нижче:



і їхні ізомери.

Термін "ефективна кількість" стосується кількості сполуки, що при введенні, як частина необхідної схеми введення, викликає бажаний ефект, наприклад, зміну у швидкості проліферації клітин і/або рівня виживання клітини, відповідно до клінічно прийнятих норм для порушення, що піддається лікуванню.

Термін "галогеналкіл", використовуваний тут, стосується алкільної групи, де замінені на галоїд від 1 до всіх атомів водню. Термін "пергалогеналкіл" означає, що усі водні замінені на галоїд.

Термін "гетероатом", використовуваний тут, означає атом будь-якого елемента, який відрізняється від атомів вуглецю або водню. Приклади гетероатомів включають атоми бору, азоту, кисню, фосфору, сірки і селен.

Терміни "гетероцикліл" або "гетероциклічна група" позначають 3-10-членні циклічні структури, у деяких прикладах 3-7-членні кілець; ці циклічні структури містять від одного до чотирьох гетероатомів. Гетероцикли також можуть являти собою поліцикли. Гетероциклільні групи включають, наприклад, тіофен, тіантрен, фуран, піран, ізобензофуран, хромен, ксантен, феноксатин, пірол, імідазол, піразол, ізотіазол, ізоксазол, піридин, піперазин, піримідин, піридазин, індолизин, ізоіндол, індол, індазол, пурин, хінолізин, ізохінолін, хінолін, фталазин, нафтиридин, хіноксалін, хіназолін, цинолін, птеридин, карбазол, карболін, фенантридин, акридин, піримідин, фенантролін, феназин, фенарсазин, фенотіазин, фуразан, феноксазин, піролідін, оксолан, тіолан, оксазол, піперидин, піперазин, морфолін, лактони, лактами, такі як азетидинони і піролідинони, сультами, сультони тощо. Гетероцикл може бути заміщений у одного або декількох положень такими замісниками, як описані вище, як наприклад, галогеном, алкілом, аралкілом, алкенілом, алкінілом, циклоалкілом, гідроксилом, аміно, нітро, сульфгідрилом, іміно, амідом, фосфонатом, фосфінатом, карбонілом, карбоксиллом, силілом, простим ефіром, алкілтіо, сульфонілом, кетоном, альдегідом, складним ефіром, гетероциклілом, ароматичною або гетероароматичною групою, $-\text{CF}_3$, $-\text{CN}$ або тому подібним.

Термін "виділений" у зв'язку зі сполукою за даним винаходом, означає сполуку, що не знаходиться в клітині або організмі, і сполуку, відділену від деяких або всіх компонентів, що зазвичай супроводжують її в природі.

Термін "кислота Льюїса" стосується будь-якої речовини, що може функціонувати як акцептор електронної пари.

Доти поки кількість атомів вуглецю не задана інакше, термін "нижчий алкіл", використовуваний тут, означає алкільну групу, визначену вище, але має від одного до десяти атомів вуглецю, у деяких варіантах здійснення від одного до шести атомів вуглецю в структурі її основного ланцюга. Аналогічно, "нижчий алкеніл" і "нижчий алкініл" мають таку довжину ланцюга. Деякі алкільні групи є нижчими алкілами, у деяких варіантах здійснення, замісник, позначений тут як алкіл, є нижчим алкілом.

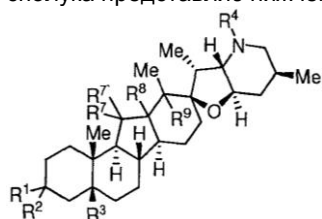
При використанні тут, термін "нітро" означає $-\text{NO}_2$; термін "галоген" позначає $-\text{F}$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$ або $-\text{I}$; термін "сульфгідрил" означає $-\text{SH}$; термін "гідроксил" означає $-\text{OH}$; і термін "сульфоніл" означає $-\text{SO}_2-$.

Термін "оксо" позначає карбонільний кисень ($=\text{O}$).

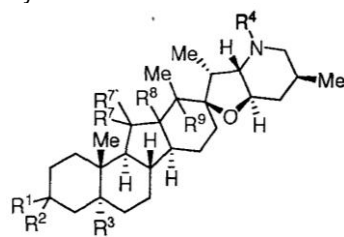
Терміни "поліцикліл" або "поліциклічна група" позначають два або більше кілець (наприклад, циклоалкіли, циклоалкеніли, циклоалкініли, арили

i/або гетероцикліли), в яких два або більше атоми вуглецю є загальними для двох сусідніх кілець, наприклад, кільця є "конденсованими кільцями". Кільця, що зв'язані через несусідні атоми, називаються "містечковими" кільцями. Кожне з кілець поліциклу може бути заміщене такими замісниками, як описані вище, як наприклад, галоген, алкіл, аралкіл, алкеніл, алкініл, циклоалкіл, гідроксил, аміно, нітро, сульфгідрил, іміно, амід, фосфонат, фосфінат, карбоніл, карбоксил, силіл, простий ефір, алкілтіо, сульфоніл, кетон, альдегід, складний ефір, гетероцикліл, ароматична або гетероароматична частина, $-CF_3$, $-CN$ або тому подібне.

Термін "епімерно чистий", що стосується сполуки за даним винаходом, означає, що сполуки, власне кажучи, не містять своїх стереоізомерів з оберненою конфігурацією стереогенного центра, з яким зв'язаний R^3 . Наприклад, епімерно чиста сполука представляє нижченаведену формулу:

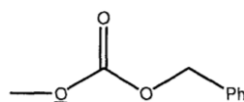


де R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 і R^9 є такими ж, як визначено нижче і, власне кажучи, не містить сполук, що представляються нижченаведеною формулою:

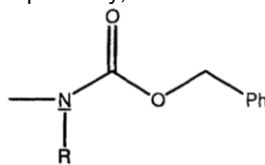


де R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 і R^9 є такими ж, як визначено нижче. Епімерно чисті сполуки містять менше, ніж приблизно 20% мас, менше, ніж, приблизно, 15% мас, менше, ніж, приблизно, 10% мас, менше, ніж, приблизно, 5% мас, або менше, ніж, приблизно, 3% мас. стереоізомерних сполук, в яких конфігурація стереогенного центра, з яким зв'язаний R^3 , є оберненою відносно даної сполуки.

Фраза "захисна група", використовувана тут, позначає тимчасові замісники, що захищають потенційно реакційноздатну функціональну групу від небажаних хімічних перетворень. Приклади таких захисних груп включають складні ефіри карбонових кислот, силілові прості ефіри спиртів і ацеталі і кеталі альдегідів і кетонів, відповідно. Є оглядові роботи з хімії захисних груп (Greene, T. W.; Wuts, P.G.M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2nd ed.; Wiley: New York, 1991). У деяких випадках функціональну групу, що захищається, і захисну групу позначають разом як один фрагмент. Наприклад, фрагмент, показаний нижче, іноді позначають як бензилкарбонат; тобто що захищається (підкреслено) «О» (кисень) складає частину карбонату.

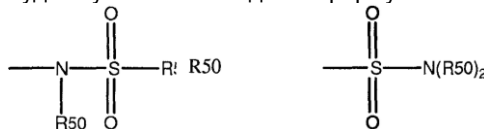


Аналогічно, фрагмент, показаний нижче, в якому N (азот), що захищається, складає частину карбамату, позначений як бензилкарбамат.



Термін "цукор" використовуваний тут, стосується природного або неприродного моносахариду, дисахариду або олігосахариду, що містить одне або декілька піранозних або фуранозних кілець. Цукор може бути ковалентно зв'язаний зі стероїдним алкалоїдом за даним винаходом через простий ефірний зв'язок або через алкільний зв'язок. У деяких варіантах здійснення сахаридний фрагмент може бути ковалентно зв'язаний зі стероїдним алкалоїдом за даним винаходом у аномерного центра сахаридного кільця. Сахара можуть включати, серед інших, рибозу, арабінозу, ксилозу, ліксозу, алозу, альтрозу, манозу, гулозу, ідозу, галактозу, талозу, глюкозу і трегалозу.

Термін "сульфонамід" або "сульфонамід" використовуваний тут, включає фрагмент, що має будь-яку з нижченаведених формул:



де R50 визначений вище.

Терміни "трифліл", "тозил", "мезил" і "нонафліл" позначають трифторметансульфонільну, п-толуолсульфонільну, метансульфонільну, і наонафторбутансульфонільну групи, відповідно. Терміни "трифлат", "тозилат", "мезилат" і "нонафлат" позначають складноефірні функціональні групи трифторметансульфонату, п-толуолсульфонату, метансульфонату і наонафторбутансульфонату і, відповідно, молекули, що містять ці групи.

Термін "тіоксо" позначає карбонільну сірку (=S).

Буде зрозуміло, що терміни "заміщення" або "заміщений" включають неявну умову, що таке заміщення здійснюється відповідно до припустимої валентності заміщеного атома і замісника, і що заміщення призводить до стійкої сполуки, що, наприклад, не піддається довільному перетворенню, такому як через перегрупування, циклізація, елімінування і так далі.

Деякі сполуки за даним винаходом можуть знаходитися у визначених геометричних або стереоізомерних формах. У даному винаході розглядають усі такі сполуки, включаючи цис- і транс-ізомери, R- і S-енантиомери, діастереомери, (D)-ізомери, (L)-ізомери, їх рацемічні суміші й інші їх суміші, що як входять в обсяг винаходу. У такому заміснику, як алкільна група, можуть бути присутніми додаткові асиметричні атоми вуглецю. Усі такі ізомери, так само як їх суміші, розуміються як включені в даний винахід.

Як викладено вище, деякі варіанти здійснення даних сполук можуть містити основну функціональну групу, таку як аміно або алкіламіно, і, таким чином, здатні до утворення фармацевтично прийнятних солей з фармацевтично прийнятними кислотами. Термін "фармацевтично прийнятні солі" у цьому відношенні позначає відносно нетоксичні, неорганічні й органічні кислотно-адитивні солі сполук за даним винаходом. Ці солі можуть бути одержані *in situ* у введеному носії або при виробничому процесі одержання дозованих форм, або за допомогою окремої взаємодії очищеної сполуки за винаходом у формі вільної основи з придатною органічною або неорганічною кислотою і виділення під час наступного очищення утвореної в такий спосіб солі. Характерні солі включають такі солі, як гідробромід, гідрохлорид, сульфат, бісульфат, фосфат, нітрат, ацетат, валерат, олеат, пальмітат, стеарат, лаурат, бензоат, лактат, фосфат, тозилат, цитрат, малеат, фумарат, сукцинат, тартрат, нафтилат, мезилат, глюкогептонат, лактобінат і лаурилсульфонат, тощо. (Дивися, наприклад, Berge, et al. "pharmaceutical salts", J. Pharm. Sci. (1977) 66:1-19)

Фармацевтично прийнятні солі сполук за даним винаходом включають загальноприйняті нетоксичні солі або четвертинні амонійні солі сполук, наприклад, з нетоксичних органічних або неорганічних кислот. Наприклад, такі загальноприйняті нетоксичні солі включають солі, одержані з неорганічних кислот, таких як хлористоводнева, бромистоводнева, сірчана, сульфамінова, ортофосфорна, азотна тощо; і солі, одержані з органічних кислот, таких як оцтова, пропіонова, бурштинова, гліколева, стеаринова, молочна, яблучна, винна, лимонна, аскорбінова, пальмітинова, малеїнова, гідроксималеїнова, фенілоцтова, глутамінова, бензойна, саліцилова, сульфамінова, 2-ацетоксибензойна, фумарова, толуолсульфокислота, метансульфонова, етандисульфонова, щавлева, ізотіонова тощо.

В інших випадках, сполуки за даним винаходом можуть містити одну або декілька кислотних функціональних груп і, таким чином, здатні утворювати фармацевтично прийнятні солі з фармацевтично прийнятними основами. Термін "фармацевтично прийнятний солі" у цих прикладах означає відносно нетоксичні, неорганічні й органічні основно-адитивні солі сполук за даним винаходом. Аналогічно, ці солі можуть бути одержані *in situ* у носії, що вводиться, або при виробничому процесі одержання дозованих форм, або за допомогою окремої взаємодії очищеної сполуки за винаходом у формі її вільної кислоти з відповідною основою, такою як гідроксид, карбонат або бікарбонат фармацевтично прийнятного катіона металу; з аміаком, або з фармацевтично прийнятим первинним, вторинним або третинним органічним аміном. Характерні солі лужних або лужноземельних металів включають солі літію, натрію, калію, кальцію, магнію й алюмінію, тощо. Характерні органічні аміни, застосовні для утворення основно-адитивних солей, включають етиламін, діетиламін, етилендіамін, етаноламін, діетаноламін, піперазин тощо (Дивися, наприклад, Berge, et al., *supra*).

Синтез сполук стероїдних алкалоїдів

Похідні стероїдних алкалоїдів з розширеним циклом, описані вище, можуть бути одержані безпосередньо з природних стероїдних алкалоїдів або їх синтетичних аналогів. В окремих прикладах вихідними речовинами, що є стероїдними алкалоїдами, можуть бути циклопамін або ієрвін. Ці стероїдні алкалоїди можна придбати комерційним шляхом або екстрагувати з *Veratrum Californicum*. Коротенько, спосіб за даним винаходом включає стадії циклопропанування відповідних вихідних похідних стероїдних алкалоїдів, з наступним перегрупуванням з розширенням циклу похідних циклопропілу. У деяких прикладах може виявитися бажаним перед циклопропануванням відповідним чином захистити або інакше перетворити реакційноздатні функціональні групи, що є присутніми в молекулі. Наприклад, спиртова група, що знаходиться в R¹ і вторинний азот, що знаходиться на конденсованому фуранопіперидиновому кільці, обидва можуть бути захищені перед циклопропануванням. У деяких варіантах здійснення, захисні групи, що ефективно приєднують і видаляють з алкалоїду, у синтетичному способі дають проміжні сполуки з поліпшеними властивостями для переробки, що припускає ефективне очищення утворених синтетичних проміжних сполук, і можуть виявитися переважними.

Приклади захисних груп кисню включають, серед інших, форміат, ацетат, хлорацетат, дихлорацетат, трихлорацетат, пивалоат, бензоати, алкілкарбонат, алкенілкарбонат, арилкарбонати, аралкілкарбонат (наприклад, бензилкарбонат), 2,2,2-трихлоретилкарбонат, простий алкоксиметилловий ефір, простий аралкоксиметилловий ефір, простий алкілтіометилловий ефір, простий аралкілтіоефір, простий арилтіоефір, простий триалкілсиліловий ефір, простий алкіларилсиліловий ефір, простий бензилловий ефір, простий арилметилловий ефір, і простий аліловий ефір.

Приклади захисних груп азоту включають, серед інших, форміл, хлорацетил, трихлорацетил, трифторацетил, фенілацетил, бензоїли, бензаміди, алкілкарбамати, аралкілкарбамати (наприклад, бензилкарбамати), арилкарбамати, аліл, аралкіл, алкоксиметил, аралкоксиметил, N-2-ціаноетил, діарилфосфінамідати, діалкілфосфінамідати, діарилфосфінамідати і триалкілсиліли.

Додаткові захисні групи, що можуть бути використані в способах за даним винаходом, описані в Green, T. W.; Wuts, P. G., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd Edition, John Wiley & Sons, Inc. 1999.

Множина циклопропанувальних агентів може бути використана для циклопропанування стероїдного алкалоїду. 1,1-Галогеналкілметалічні комплекси і реакційноздатні групи, що позначаються як карбеноїди, зазвичай використовують для циклопропанування олефінів. Ці реагенти зазвичай одержують, використовуючи дийодалкан або діазоалкан і метали або органічні речовини, такі як Et₂Zn, i-Bu₃Al, самарій, мідь, родій або паладій. У деяких варіантах здійснення, Et₂Zn і дийодметан використовують для утворення 1,1-галогеналкілметалів.

Хімічна активність і легкість переробки 1,1-галогеналкілцинкових комплексів можуть бути модифіковані додаванням деяких реагентів, таких як кислоти. Вважають, що при додаванні кислоти до 1,1-галогеналкілцинкових сполук утворюється алкілцинкова змішана сіль. У прикладах, описаних нижче, діарилортофосфорну кислоту змішують з дийодметаном і діетилцинком з утворенням передбачуваного циклопропанувального агента, галогеналкілцинкфосфату. Множина фосфорних кислот може бути використана для утворення передбачуваного галогеналкілцинкфосфату.

Також можуть бути використані інші відомі способи циклопропанування, такі як способи, що використовують виходи сірки для взаємодії з олефіном, з'єднанням з карбонілом, із приєднанням CH_2 - або CH -алкільної або CH -арильної групи; і каталізоване металом розкладання діазоалкільних і α -дізаякарбонільних сполук, таких як діазометан і етилдіазоацетат. Цими способами легко одержати циклопропани, що мають алкільні, арильні, алкоксикарбонільні ($-\text{COOR}$) або ацильні замісники. Додаткові агенти циклопропанування описані в роботах Masalov, et al., *Organic Letters* (2004) 6:2365-2368; і Hansen, et al., *Chem. Comm.* (2006) 4838-4840.

Циклопропільне кільце може бути заміщеним або незаміщеним. У випадках, коли циклопропільне кільце заміщене, групи, приєднані до метилєну циклопропану після перегрупування і розширення циклу, будуть розташовані в D кільця.

Реакції циклопропанування можуть проходити в апротонному розчиннику. Придатні розчинники включають прості ефіри, такі як діетиловий ефір, 1,2-диметоксєтан, диглім, трет-бутилметиловий ефір, тетрагідрофуран тощо; галогеновані розчинники, такі як хлороформ, дихлорметан, дихлоретан тощо; аліфатичні або ароматичні вуглеводневі розчинники, такі як бензол, ксилол, толуол, гексан, пентан тощо; складні ефіри і кетони, такі як етилацетат, ацетон, і 2-бутанон; полярні апротонні розчинники, такі як ацетонїтрил, диметилсульфоксид, диметилформамід, тощо; або комбінації двох або більше розфакторів. У деяких варіантах здійснення, дихлорметан є розчинником, застосовуваним для циклопропанування, коли використовують діалкілцинк і дийодметан.

У прикладах, описаних нижче, розчин, що містить циклопропанувальний агент, одержують, спочатку додаючи розчин ортофосфорної кислоти до розчину діетилцинку, з наступним додаванням до реакційного розчину дийодметану. Потім до цього розчину додають субстрат для циклопропанування. Альтернативно, циклопропанувальний агент може бути одержаний у присутності субстрату циклопропанування, змінюючи порядок додавання реагентів. У деяких варіантах здійснення реакцію циклопропанування проводять, додаючи спочатку ортофосфорну кислоту до розчину діалкілцинку, з наступним додаванням субстрату циклопропанування, і, на закінчення, додають дигалогеналкан. Використовуючи цей спосіб, циклопропанувальний агент одержують у контрольованих умовах, і він негайно взаємодіє із субстратом циклопропанування.

Після синтезу центрального каркаса циклопропанованого стероїдного алкалоїду сполука може бути перетворена, використовуючи множину реакцій зміни функціональності, відомих у даній галузі техніки. Характерні приклади включають реакції сполучення паладію з алкенїлгалогенїдами або арилгалогенїдами, реакції окислювання, реакції відновлення, реакції з нуклеофілами, реакції з електрофілами, перициклїчні реакції, радикальні реакції, введення захисних груп, видалення захисних груп, тощо.

У присутності кислот Льюїса або Бренстеда аналоги циклопропілу перетерплюють перегрупування і розширення кільця з одержанням аналогів стероїдних алкалоїдів, в яких D кільце розширене на один вуглецевий атом.

Циклопропанування і розширення кільця можуть проходити як двостадійний процес, що протїкає в одній реакційній посудині або як двостадійний процес, що протїкає в двох реакційних судинах. Коли циклопропанування і розширення циклу проводять у тїй самїй реакційній посудині, то після завершення реакції циклопропанування додають кислоту, щоб ініціювати перегрупування з розширенням кільця. За певних умов, солі цинку, що утворюються в ходї циклопропанування стероїдного алкалоїду, самі можуть діяти як кислоти Льюїса, що каталїзують перегрупування з розширенням кільця. Хїмічну активність солей цинку, що утворилися після циклопропанування, можна змінювати, додаючи кислоти, щоб генерувати більш активні кислоти Льюїса.

Як описано нижче в розділі прикладів, після завершення реакції циклопропанування в реакційну посудину для циклопропанування додають метансульфонову кислоту. Додаткові приклади придатних кислот включають, серед інших, солі цинку, сполуки бору, солі магнію, солі титану, солі індію, солі алюмінію, солі олова, солі лантану, трифторметансульфонову кислоту, діарилоксифосфорну кислоту, оцтову кислоту, і HCl . У деяких варіантах здійснення винаходу, використовуваним кислотою Льюїса є сіль цинку або BF_3 .

У цих аналогів з розширенням циклом можна далі змінювати функціональність, використовуючи множину відомих у данїй галузі реакцій зміни функціональності. Характерні приклади включають реакції поєднання паладію з алкенїлгалогенїдами або арилгалогенїдами, реакції окислювання, реакції відновлення, реакції з нуклеофілами, реакції з електрофілами, перициклїчні реакції, радикальні реакції, введення захисних груп, видалення захисних груп тощо.

Фармацевтичні композиції

Сполуки, описані тут, можуть бути сформовані в композицію, придатну для введення, використовуючи один або декілька фармацевтично прийнятних носїв (добавок) і/або розрїджувачів. Фармацевтичні композиції можуть бути спеціально сформовані для введення у твердїй або рїдкїй формї, включаючи композиції, пристосовані для нижченаведених шляхів введення: (1) перорального введення, наприклад, препарати для зрошування (водними або неводними розчинами або суспензіями), таблетки, наприклад, таблетки, призначені

для букального, сублінгвального введення і системної абсорбції; капсули, кульки, порошки, гранули, пасти для нанесення на язик; (2) парентерального введення, наприклад, підшкірного, внутрішньом'язового, внутрішньовенного або епідурального ін'єктування, наприклад, стерильного розчину або суспензії, або препарати уповільненого вивільнення; (3) місцевого нанесення, наприклад, у вигляді крему, мазі або медичного пластиру з контрольованим вивільненням або аерозолі, що наноситься на шкіру; (4) внутрішньовагінального або внутрішньоректального введення, наприклад, у вигляді пелюстки, крему або піни; (5) сублінгвального введення; (6) введення через око; (7) трансдермального введення; (8) пульмонального введення або (9) назального введення.

Приклади придатних водних і неводних носіїв, що можуть бути використані у фармацевтичній композиції, включають воду, етанол, поліолі (такі як гліцерин, пропіленгліколь, поліетиленгліколь тощо), і їхні придатні суміші, рослинні олії, такі як оливкова олія, і ін'єктовані органічні складні ефіри, такі як етилолеат. Належна текучість може бути збережена, наприклад, за допомогою використання покриваючих речовин, таких як лецитин, шляхом збереження необхідного розміру частинки у випадку дисперсійних систем, і за допомогою використання поверхнево-активних речовин.

Ці композиції можуть також містити такі ад'юванти, як консерванти, зволожувальні агенти, емульгатори, диспергувальні агенти, лубриканти, і/або антиоксиданти. Захист від дії мікроорганізмів сполук, описаних тут, може бути гарантований додаванням різноманітних антибактеріальних і протигрибкових агентів, наприклад, парабену, хлорбутанолу, фенолсорбінової кислоти, і тому подібного. Може також виявитися бажаним включення в композиції ізотонічних агентів, таких як цукри, хлорид натрію тощо. Крім того, пролонговане поглинання ін'єктованої фармацевтичної форми може бути здійснене шляхом включення агентів, що уповільнюють поглинання, таких як моностеарат алюмінію і желатин.

Способи одержання цих препаратів або композицій включають стадію внесення в асоціацію сполуки з носієм і, необов'язково, одного або декількох додаткових інгредієнтів. У цілому, препарати одержують, безперервно і рівномірно вносячи в асоціацію сполуку з рідкими носіями, дрібнодисперсними або твердими носіями, або і тими й іншими, і потім, при необхідності, формуючи продукт.

Коли сполуки, описані тут, вводять у формі фармацевтичних засобів людям і тваринам, їх можуть давати в чистому вигляді або у вигляді фармацевтичної композиції, що містить, наприклад, приблизно 0,1-99% або приблизно 10-50%, або приблизно 10-40%, або приблизно 10-30%, або приблизно 10-20%, або приблизно 10-15% активного інгредієнта в комбінації з фармацевтично прийнятним носієм.

Фактичні дозувальні рівні активних інгредієнтів у фармацевтичних композиціях можна варіювати, таким чином, щоб одержати кількість активного інгредієнта, що, не будучи токсичним для пацієнта, є ефективним для досягнення бажаної відповідної

терапевтичної реакції для конкретних пацієнта, композиції і способу введення.

Рівень дозування, що вибирається, буде залежати від множини факторів, включаючи активність конкретного використовуваної сполуки або її складного ефіру, солі або аміду, шляху введення, часу введення, швидкості екскреції або метаболізму конкретно використовуваної сполуки, швидкості і ступеня абсорбції, тривалості лікування, інших лікарських засобів, сполук і/або речовин, використовуваних у комбінації з конкретно використовуваною сполукою, віку, статі, маси тіла, стану хвороби, загального стану здоров'я і попередньої історії хвороби хворого, що піддається лікуванню, і тому подібних факторів, добре відомих у медицині.

Взагалі, придатною щоденною дозою сполуки, описаної тут, буде така кількість сполуки, що є найнижчою дозою, ефективною для продукування терапевтичного ефекту. Така ефективна доза буде, як правило, залежати від факторів, описаних вище. Як правило, дози сполук для перорального, внутрішньовенного і підшкірного введення пацієнту, застосовувані для одержання зазначених ефектів, будуть знаходитися в інтервалі від, приблизно, 0,0001 до, приблизно, 200 мг, або від, приблизно, 0,001 до, приблизно, 100 мг, або від, приблизно, 0,01 до, приблизно, 100 мг, або від, приблизно, 0,1 до, приблизно, 100 мг, або від, приблизно, 1 до, приблизно, 50 мг на кілограм маси тіла на день.

Сполуки можуть бути введені щодня, через день, три рази на тиждень, двічі на тиждень, щотижня, або раз на два тижні. Режим дозування може включати "відпочинок від ліків", тобто лікарський засіб можуть вводити протягом двох тижнів з перервою на один тиждень, або вводити три тижні з перервою на один тиждень, або вводити чотири тижні з перервою на один тиждень і так далі, або вводити безперервно без «відпочинку від ліків». Сполуки можуть бути введені перорально, внутрішньовенно, інтраперитонеально, місцево, трансдермально, внутрішньом'язово, підшкірно, інтраназально, сублінгвально або будь-яким іншим шляхом.

Пацієнтом, що приймає таке лікування, є будь-яка тварина, що його потребує, включаючи приматів, зокрема, людину, і інших ссавців, таких як коні, великий рогата худоба, свині і вівці; і свійську птицю й у цілому кімнатних домашніх тварин.

Способи лікування

Сигнальний шлях Hedgehog є суттєвим на багатьох стадіях розвитку, особливо при формуванні ліво-правої симетрії. Втрата або зменшення сигнального шляху hedgehog призводить до множинної недостатності розвитку й уроджених пороків, одним із самих різючих з яких є циклопія.

Було показано, що багато пухлин і проліферативні стани залежать від сигнального шляху hedgehog. Лікування сполуками, описаними тут, може впливати на ріст таких клітин і виживаність. Останнім часом повідомляти, що мутації, які активують сигнальний шлях hedgehog, відбуваються при спорадичному базально-клітинному раці (Xie, et al., Nature (1998) 391:90-92) і незрілих нейроектодермальних пухлинах центральної нервової системи (Reifenberger, et al., Pак Res (1998) 58:1798-

1803). На численних видах раку, таких як раки шлунково-кишкового тракту, включаючи рак підшлункової залози, рак стравоходу і рак шлунку (Berman, et al., *Nature* (2003) 425:846-851; Thayer, et al., *Nature* (2003) 425:851-856); рак легень (Watkins, et al., *Nature* (2003) 422:313-317); рак простати (Karhadkar, et al., *Nature* (2004) 431:707-712; Sheng, et al., *Molecular Cancer* (2004) 3:29-42; Fan, et al., *Endocrinology* (2004) 145:3961-3970); рак молочної залози (Kubo et al *Cancer Research* (2004) 64:6071-6074, Lewis, et al., *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* (2004) 2:165-181); і гепатоцелюлярний рак (Sicklick, et al., ASCO conference (2005), Mohini, et al., AACR conference (2005)), була також показана некерована активація сигнального шляху hedgehog.

Наприклад, було показано, що інгібування малими молекулами сигнального шляху hedgehog інгібує ріст базально-клітинного раку (Williams, et al., *PNAS* (2003) 100:4616-4621), медулобластоми (Berman, et al., *Science* (2002) 297:1559-1561), раку підшлункової залози (Berman, et al., *Nature* (2003) 425:846-851), шлунково-кишкових раків (Berman, et al., *Nature* (2003) 425:846-851, published PCT application WO 05/013800), раку стравоходу (Berman, et al., *Nature* (2003) 425:846-851), раку легень (Watkins, et al., *Nature* (2003) 422:313-317), і раку простати (Karhadkar, et al., *Nature* (2004) 431:707-712).

Було додатково показано, що при багатьох видах раку наявна некерована активація сигнального шляху hedgehog, наприклад, для таких видів раку, як рак молочної залози (Kubo, et al., *Cancer Research* (2004) 64:6071-6074); гепатоцелюлярний рак (Patil, et al., 96th Annual AACR conference, abstract #2942 (2005); Sicklick, et al., ASCO annual meeting, abstract #9610 (2005)); гемобластози (Watkins and Matsui, unpublished results); базально-клітинний рак (Bale & Yu, *Human Molec. Genet.* (2001) 10:757-762; Xie, et al., *Nature* (1998) 391:90-92), медулобластома (Pietsch, et al., *Cancer Res.* (1997) 57:2085-2088) і рак шлунку (Ma, et al., *Carcinogenesis*, May 19, 2005 (Epub) (2005)). Крім того, дослідники виявили, що інгібування малими молекулами сигнального шляху hedgehog дає поліпшення симптомів псоріазу (Tas, et al., *Dermatology* (2004) 209:126-131). Як показано на прикладах, сполуки, описані тут, демонстрували модуляцію сигнального шляху hedgehog, і вибрані сполуки демонстрували інгібування росту пухлини. Тому вважають, що ці сполуки можуть виявитися застосовними для лікування множині гіперпроліферативних порушень, таких як різноманітні види раків.

Проліферативні порушення, які можна лікувати, використовуючи описані тут способи, включають: рак легень (включаючи дрібноклітинний рак легень і недрібноклітинний рак легень), інші види раку легеневої системи, медулобластоми й інші раки мозку, рак підшлункової залози, базально-клітинний рак, рак молочної залози, рак простати й інші сечостатевої системи, пухлину гастроінтестинальної строми (GIST) і інші види раку шлунково-кишкового тракту, рак товстої кишки, рак кишечника, рак яєчників, раки кровотворної системи (включаючи множинну мієлому, гострий лімфолейкоз,

гострий мієлоїдний лейкоз, хронічний мієлоїдний лейкоз, хронічний лімфолейкоз, Ходжкінську лімфому, і неходжкінську лімфому, і мієлодиспластичний синдром), поліцитіємію Vera, макроглобулінемію Вальденстрема, захворювання важкого ланцюга, саркоми м'яких тканин, такі як фібросаркому, міксосаркому, ліпосаркому, хондросаркому, остеогенну саркому, хордому, ангіосаркому, ендотеліосаркому, лімфоангіосаркому, лімфоангіоендотеліальну саркому, синовіому, мезотеліому, пухлину Юнга, лейоміосаркому, рабдоміосаркому, плоскоклітинний рак, базально-клітинний рак, меланому й інші шкірні раки, аденокарциному, рак потових залоз, рак сальних залоз, папілокарциному, папілярні аденокарциноми, стаденокарциному, медулярний рак, бронхогенний рак, рак нирки, гепатому, рак жовчних проток, хоріокарциному, сепіному, ембріональний рак, пухлину Вільямса, цервікальний рак, рак матки, тестикулярний рак, рак сечового міхура, і інші сечостатевої системи види раку, епітеліальний рак, гліому, астроцитому, медулобластоми, карніофарингіому, епендіому, пінеалому, гемангіобластоми, невриноми слухового нерва, олігодендрогліому, менінгіому, нейробластоми, ретинобластоми, рак ендометрію, фолікулярну лімфому, дифузійну велико-В-клітинну лімфому, лімфому клітин тканин, що вдягають спорангії, гепатоцелюлярний рак, рак щитовидної залози, рак шлунку, рак стравоходу, рак шиї і голови, дрібноклітинні види раку, есенціальну тромбоцитопенію, ідіопатичну мієлоїдну метаплазію, синдром гіперерозинофілії, системний мастоцитоз, сімейну гіперерозинофілію, хронічний еозинофільний лейкоз, рак щитовидної залози, нейроендокринні раки і карциноїдні пухлини. Додаткові порушення включають синдром Горліна-Гольца і псоріаз.

Пацієнт, що одержує це лікування, є будь-якою твариною, що потребує його, включаючи приматів, зокрема, людину й інших ссавців, таких як коні, велика рогата худоба, свині і вівці; і свійську птицю і кімнатних домашніх тварин у цілому.

Інгібітори сигнального шляху hedgehog, описані тут, можна комбінувати з іншими видами лікування раку. Наприклад, їх можна сполучати з хірургічними видами лікування; опроміненням; біотерапією (а саме, інтерферонами, цитокінами, наприклад, інтерферон α , інтерферон γ , і фактор некрозу пухлин, гемопоетичні фактори росту, моноклональна серотерапія, вакцини і імуностимулятори); лікуванням антитілами (наприклад, препаратами авастин, ербітукс, ритуксан, і бексар); ендокринною терапією (що включає пептидні гормони, кортикостероїди, естрогени, андрогени й інгібітори ароматази); лікуванням антиестрогенами (наприклад, препаратами тамоксифен, ралоксифен, і мегестрол); лікуванням агоністами LHRH (релізінг-фактора лютеїнізуючого гормону) (наприклад, препаратами госкрелін і леупролідатетат); лікуванням анти-андрогенами (наприклад, препаратами флутамід і бікалутамід); генною терапією; пересадженням кісткового мозку; фотодинамічними видами терапії (наприклад, використовуючи препарати вертопрофін (BPD-MA), фталоціанін, фотосенсибілізатор Pc4, і деметоксипокрелін A (2BA-2-DMHA)) і хіміотерапією.

Приклади хіміотерапії включають гемцитабін, метотрексат, таксол, меркаптопурин, тіогуанін, гідроксисечовину, цитрабін, циклофосфамід, іфосфамід, нітрососечовини, цисплатин, карбоплатин, мітоміцин, дакарбазин, прокарбізин, етопозиди, преднізалон, дексаметазон, цитарабін, кампатецини, блеоміцин, докорубіцин, ідарубіцин, даунорубіцин, дактиноміцин, плікаміцин, мітоксантрон, аспарагіназу, вінбластин, вінкрестин і вінорелбін. Додаткові агенти включають азотистий іприт (наприклад, циклофосфамід, іфосфамід, трофосфамід, хлорамбуцил, естрамустин і мелфалан); нітрососечовини (наприклад, кармустин (BCNU) і ломустин (CCNU)); алкілсульфонати (наприклад, бусульфат і треоульфат); триазени (наприклад, дакарбазин і темозоломід); сполуки, що містять платину, (наприклад, цис-платин, карбоплатин, і оксалиплатин); алкалоїди барвінку (наприклад, вінкрестин, вінбластин, віндезин і вінорелбін); таксоїди (наприклад, паклітаксел і доцетаксел), епіподофіліни (наприклад, етопозид, теніпозид, топотецин, 9-амінокамптотецин, камптоїринотекан, криснатол, мітоміцин С і мітоміцин С), антиметаболіти, інгібітори DHFR (дегідрофолат-редуктази) (наприклад, метотрексат і триметрексат); інгібітори IMP дегідрогенази (наприклад, мікофенольна кислота, тіазофуридин, рибварин, і EICAR), інгібітори рибонуклеотидредуктази (наприклад, гідроксисечовина і деферохамін); аналоги урацилу (наприклад, Фторурацил, флоксиридин, доксіфлуридин, ратітрексед і капецитабін); аналоги цитозину (наприклад, цитарабін (ага) цитозин арабінозид, і флударабін); аналоги пурину (наприклад, меркаптопурин і тіогуанін), аналоги Вітаміну D3 (наприклад, EB 1089, CB 1093, і KN 1060), інгібітори ізопренілування (наприклад, ловастатин), дофамінергічні нейротоксини (наприклад, іон 1-метил-4-фенілпіридинію); інгібітори клітинного циклу (наприклад, стауроспорин); актиноміцини (наприклад, актиноміцин D і дактиноміцин); блеоміцини (наприклад, блеоміцин A2, блеоміцин B2, і пепломіцин); антрацикліни (наприклад, даунорубіцин, докорубіцин (адриаміцин), ідарубіцин, епірубіцин, пірарубіцин, зорубіцин і мітоксантрон); інгібітори MDR (мультирезистентність) (наприклад, верапаміл); інгібітори Ca^{2+} АТФ-ази (наприклад, тапсігарджин, іматиніб, талідомід, леналідомід, ерлотиніб, гефітиніб, сорафеніб і санітиніб), і інгібітори протеасоми, що включають бортезоміб.

Коли інгібітори hedgehog, описані тут, вводять у комбінації з іншими видами лікування, таким як додаткові види терапевтичного лікування, або разом з опроміненням або хірургічним лікуванням, дози кожного агента або виду терапії будуть у більшості випадків нижче, ніж відповідна доза в терапії, що використовує один агент. Також, взагалі говорячи, інгібітори hedgehog, описані тут, і другий терапевтичний агент не зобов'язані бути введені в одній і тій самій фармацевтичній композиції, і можуть, внаслідок різних фізичних і хімічних характеристик, бути введені різними шляхами. Наприклад, одна сполука може бути введена перорально, тоді як другий терапевтичний засіб вводять внутрішньовенно. Визначення шляхів введення і доціль-

ності введення, де це можливо, в одній і тій самій фармацевтичній композиції, знаходиться в повній компетенції кваліфікованого практикуючого лікаря. Первинне введення може бути виконане, відповідно до відомих заснованих протоколів у даній галузі техніки, і потім, на основі ефектів, що спостерігаються, дозування, шляхи введення і кількість введення можуть бути відкоректовані кваліфікованим практикуючим лікарем.

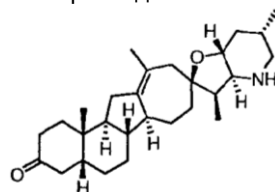
У залежності від природи проліферативного захворювання, стану хворого і фактичного вибору для введення пацієнту другого терапевтичного агента і/або опромінення, інгібітор hedgehog і другий терапевтичний агент, і/або опромінення можуть бути введені паралельно (наприклад одночасно; власне кажучи, одночасно; або відповідно до того самого протоколу лікування) або послідовно (тобто, один за іншим, з необов'язковим часовим інтервалом між ними).

Якщо інгібітор сигнального шляху hedgehog, і другий терапевтичний агент і/або опромінення не вводять або одночасно, власне кажучи, одночасно, тоді для різних станів оптимальний порядок введення може бути різним. Таким чином, у деяких ситуаціях інгібітор сигнального шляху hedgehog може бути введений першим, з наступним введенням другого терапевтичного агента і/або опромінення; а в інших ситуаціях другий терапевтичний агент і/або опромінення можуть бути введені першими, з наступним введенням інгібітору сигнального шляху hedgehog. Таке альтернативне введення може бути повторене в процесі єдиного протоколу лікування. Визначення порядку введення, і кількості повторних введення кожного терапевтичного агента, у процесі протоколу лікування, знаходиться цілком у компетенції кваліфікованого практикуючого лікаря після визначення їм захворювання, що піддається лікуванню, і оцінки стану хворого. Наприклад, другий терапевтичний агент і/або опромінення можуть бути введені першими, особливо, якщо це цитотоксичний агент; і потім лікування продовжують введенням інгібітору hedgehog і, при встановленні сприятливого ефекту, з наступним введенням другого терапевтичного агента і/або опромінення, і так далі до завершення протоколу лікування.

Ілюстративні приклади

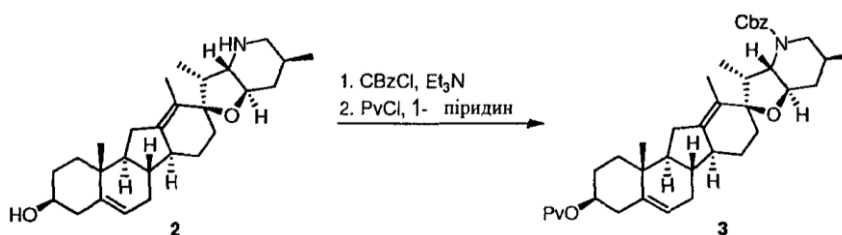
Описаний в цілому винахід буде більш зрозумілим за допомогою посилань на нижченаведені приклади, що включені тільки з метою ілюстрації деяких сторін і варіантів здійснення даного винаходу, і не призначені для обмеження самого винаходу.

Приклад 1



1

Стадія А

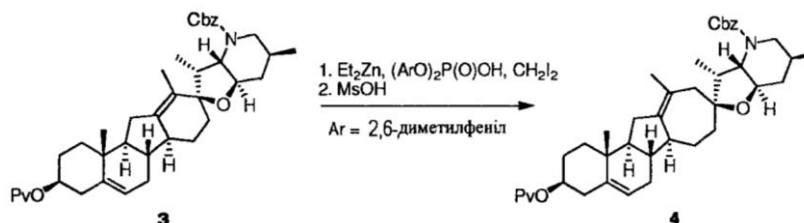


Перекристалізований циклопамін **2** (14,1 г, 34,0 ммоль, 1 екв.) розчиняють у безводному DCM (дихлорметан) (70 мл) і безводному MeOH (29 мл). Прозорий розчин прохолоджують і додають триетиламін (10,4 г, 102,7 ммоль, 3 екв.) з наступним додаванням бензилхлорформіату (6,20 г, 36,3 ммоль, 1,1 екв.) Після того як додавання завершено, розчин 30 хв. перемішують на льодяній бані. Протягом 3 годин додають три порції бензилхлорформіату (3×0,35 г, 3,46 ммоль, 0,03 екв.). Реакцію повільно гасять водою (71 мл), при цьому підтримуючи температуру нижче 20°C. До відстоювання і розділення шарів, суміш 15 хв перемішують. Органічний шар сушать над сульфатом натрію і фільтрують. Об'єднаний фільтрат буферизують безводним піридином (30 мл), концентрують, і розчинник замінюють додатковою кількістю безводного піридину (43 мл) і концентрують.

Розчин сполуки в піридині (43 мл) далі розбавляють додатковою кількістю безводного піридину (85 мл). До реакційної суміші повільно додають

триметилацетилхлорид (8,3 г, 68,7 ммоль, 2 екв.), і реакційну суміш нагрівають до 45°C. Реакційну суміш 30 хв перемішують при 45°C. Реакційну суміш прохолоджують, і реакцію гасять, додаючи безводний MeOH (4,5 мл). Загашену реакційну суміш 40 хв перемішують при кімнатній температурі, потім розбавляють толуолом (97 мл), і послідовно обробляють водою (35 мл) і 10% мас. водним розчином карбонату натрію (100 мл). Після інтенсивного перемішування шари розділяють, і органічний шар двічі промивають водою (2×100 мл), сушать над сульфатом натрію, і фільтрують. Осад на фільтрі промивають толуолом (49 мл) і відкидають. Об'єднані фільтрати концентрують, і розчинник замінюють з концентруванням на толуол (145 мл), концентруючи далі до сухого стану. Продукт перекристалізовують з толуолу і гептану. Кристалічний продукт відокремлюють фільтруванням з відсмоктуванням, промивають холодним гептаном і сушать до постійної маси, щоб одержати 15,1 г необхідного продукту.

Стадія В



Біс(2,6-диметилфеніл)фосфат (10,65 г, 34,8 ммоль, 3,1 екв.) сушать концентруванням з безводного DCM (42 мл) і витримують в атмосфері азоту. Потім фосфат повторно розчиняють у безводному DCM (110 мл). В окремій колбі одержують розчин бездомішкового діетилцинку (4,17 г, 33,8 ммоль, 3,0 екв.) у безводному DCM (35 мл) і прохолоджують до -25°C. Розчин фосфату протягом 1 години повільно переміщують у посудину, що містить розчин діетилцинку, зберігаючи температуру -10°C або нижче. Прозорий розчин етилцинкфосфату нагрівають до 0°C і перемішують 15 хв. Дііодметан (9,25 г, 34,5 ммоль, 3,0 екв.) повільно додають до розчину етилцинкфосфату, підтримуючи температуру реакції між 0 і 5°C. Після завершення додавання, розчин цинккарбеноїду додатково перемішують протягом 20 хв.

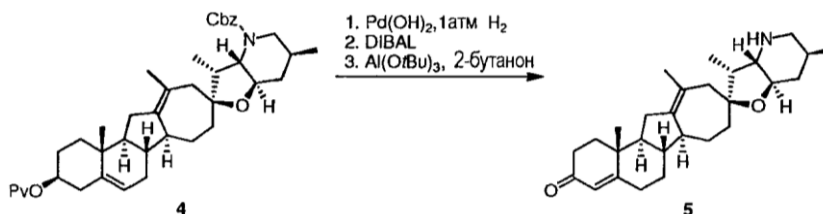
В окремій колбі, сполука **3** (7,20 г, 11,4 ммоль, 1 екв.) розчиняють у безводному DCM (36 мл) і

переміщують у реакційну колбу. Після того як додавання завершено, видаляють льодяну баню, і реакційну суміш залишають нагріватися до кімнатної температури. Через 6 годин вміст колби прохолоджують до -53°C. Додають розчин метансульфонової кислоти (3,38 г, 35,2 ммоль, 3,1 екв.) у безводному DCM (3 мл), підтримуючи реакційну температуру нижче -45°C. Через 10 хв до реакційної суміші додають морфолін (20 г, 230 ммоль, 20 екв.), підтримуючи температуру реакції нижче -40°C. Реакцію залишають нагріватися до кімнатної температури протягом ночі. Солі морфоліну видаляють фільтруванням, і осад на фільтрі промивають DCM (22 мл). Об'єднані фільтрати промивають 2н. водним розчином хлористоводневої кислоти (2×140 мл), 5% водним бікарбонатом натрію (140 мл), 5% водним бікарбонатом натрію (70 мл) і 5% водним бісульфітом натрію (70 мл), і насиченим сольовим розчином (144 мл). Органічний

шар сушати над сульфатом магнію і фільтрують. Розчин DCM концентрують, не доходячи досуха, і розчинник замінюють на метанол (280 мл). Суспензію прохолоджують на льодяній бані і 40 хви-

лин перемішують. Тверді частинки відокремлюють фільтруванням, двічі промивають холодним метанолом (2×25 мл), і сушать до постійної маси, щоб одержати 5.94 г необхідного продукту.

Стадія С



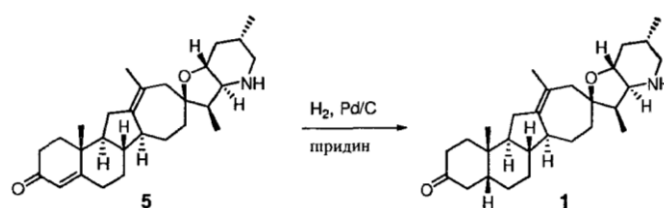
Сполуку 4 (11,67 г, 18,1 ммоль, 1 екв.) і 20% гідроксид паладію на вологому куті (2,40 г, 1,71 ммоль, 0,09 екв.) у круглодонній колбі поміщають в атмосферу азоту і розбавляють ЕЮАс (115 мл) толуолом (60 мл). Розчин дегазують азотом (3 рази), використовуючи кільця вакуумування/продування, і процес повторюють з воднем. Суспензію 1,5 години інтенсивно перемішують при кімнатній температурі. Водневу атмосферу замінюють на азотну. До реакції додають етилендіамін (0,57 г, 9,5 ммоль, 0,52 екв.), і одержану суміш перемішують 20 хв. Розчин фільтрують в атмосфері азоту, і фільтрат промивають 2% (мас/мас.) водним розчином етилендіаміну (125 мл), потім водою (130 мл), і потім сушать над сульфатом натрію. Осушувач видаляють фільтруванням, і фільтрат концентрують досуха у вакуумі. Тверді частинки, що залишаються, відганяють з толуолом (2×55 мл) на роторному випарнику, і одержану речовину використовують без додаткового очищення на наступній стадії.

Речовину попередньої стадії розчиняють у безводному DCM (26 мл). Прозорий розчин, що виходить, додають до 1 М розчину DIBAL у DCM (65 мл, 65 ммоль, 3,6 екв.), при цьому підтримуючи реакційну температуру між -10 і -25°C. Через 30 хв. реакцію гасять ацетоном (13 мл), підтримуючи реакційну температуру близько або нижче 0°C. Після перемішування погашеної реакційної суміші протягом 17 хв, її порціями додають у колбу, що містить холодний, перемішаний розчин 20% (мас/мас.) водної сегнетової солі (200 мл). Гелеподібну суспензію, що одержується, 15 годин перемішують при кімнатній температурі. Після перемішування, прозорі шари розділяють, і водний шар назад екстрагують DCM (30 мл). Об'єднані органічні шари промивають водою (60 мл) і сушать над сульфатом натрію. Осушувач видаляють фільтруванням і відкидають. Фільтрат концентрують у ва-

куумі, і розчинник замінюють на толуол (225 мл, що додаються порціями). Розчин, що виходить, додатково концентрують до суспензії (50 мл) і розбавляють гептаном (115 мл). Суміш, що виходить, нагрівають до перетворення її в гомогенну суміш (92°C). Розчин протягом 12 годин повільно прохолоджують до 15°C, і потім додатково витримують протягом 16 годин. Кристалічний продукт відокремлюють фільтруванням з відсмоктуванням, промивають гептаном (2×75 мл) і сушать до постійної маси, щоб одержати 7,70 г необхідного продукту.

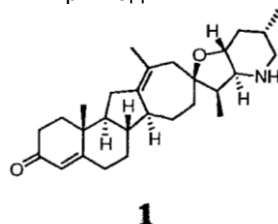
У круглодонну колбу послідовно завантажують гомоаліловий спирт (7,50 г, 17,6 ммоль, 1 екв.), трет-бутилат алюмінію (6,10 г, 24,8 ммоль, 1,4 екв.), безводний толуол (115 мл) і 2-бутанон (90 г, 1,24 моль, 7 екв.). В атмосфері азоту суспензію 16 годин нагрівають до 75°C. Потім, реакцію залишають проохолоджуватися до температури реакції 49°C. Водний 20% (w/w) розчин тартрату калію натрію (226 г) додають до перемішаної суспензії. Суспензію 3,5 години перемішують при кімнатній температурі. Шари розділяють. Органічний шар промивають водною 20% сегнетовою сіллю (2×250 мл) і водою (225 мл), потім сушать над сульфатом натрію і фільтрують. Залишок промивають толуолом (30 мл) і відкидають. Об'єднані органічні речовини концентрують досуха. Залишкові реакційні розчинники видаляють з речовини концентруванням з 2-пропанолу (250 мл, що додаються порціями), доводячи до кінцевої маси розчину в 44 г. Розчинник 2-пропанол замінюють гептаном (275 мл, що додаються порціями) до кінцевої маси 41 г розчину необхідного продукту, що повністю осаджується. Суспензію додатково розбавляють гептаном (40 мл), 1 годину перемішують при кімнатній температурі і фільтрують. Продукт промивають н-гептаном (17 мл) і сушать, щоб одержати 5,4 г необхідного продукту.

Стадія D

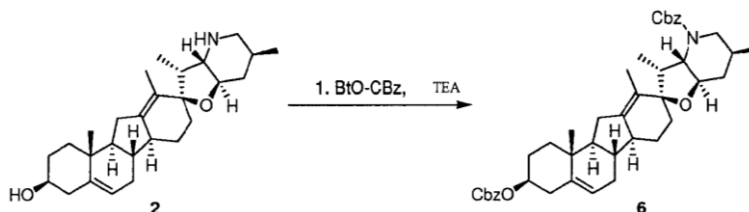


У круглодонну колбу завантажують вихідну речовину (110 мг, 0,26 ммоль, 1 екв.) і 10% паладій на куті (106 мг). Тверді частинки суспендують у піридині (4 мл). Суспензію поміщають в атмосферу водню (1 атм.), і суміш перемішують протягом ночі при кімнатній температурі. Реакційну суміш фільтрують через Celite®, і фільтрат концентрують у вакуумі. Неочищену речовину очищують, використовуючи флеш хроматографію на силікагелі (сумішшю MeOH/DCM 5:95), щоб одержати необхідну сполуку. ($[M+H] = 426,6 \text{ m/z}$).

Приклад 2



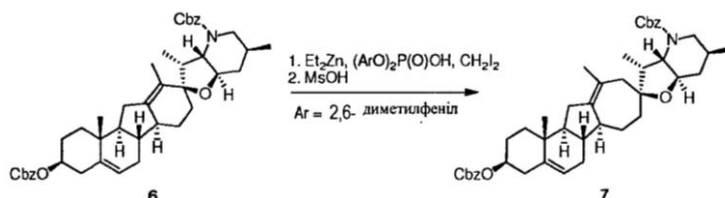
Стадія А



Циклопамін **2** (5,02 г, 12,2 ммоль, 1,0 екв.) розчиняють у безводному піридині (25 мл). Додають DMAP (300 мг, 2,44 ммоль, 0,2 екв.) і триетиламін (5,5 мл, 39,1 ммоль, 3,2 екв.), з наступним додаванням BtO-Cbz (10,5 г, 39,1 ммоль, 3,2 екв.) і гріють 2 години при 40°C. Суміш проохолоджують до кімнатної температури, обробляють 30 мл води, нагрівають до одержання гомогенного розчину і

залишають проохолоджуватися до кімнатної температури. Білий осад, що утворюється, збирають фільтруванням, осад на фільтрі промивають порціями води (3×50 мл), і сушать на повітрі, щоб одержати 9,53 г неочищеної речовини, що кристалізують із суміші толуол/гептани (1:9, 70 мл) з одержанням 6,75 г необхідного продукту.

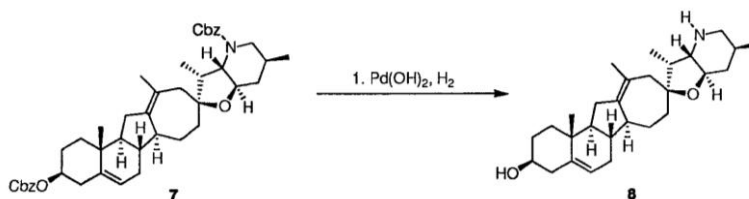
Стадія В



До розчину діетилцинку (572 мг, 482 мкл, 4,63 ммоль, 3,00 екв.) у 5,0 мл DCM додають при -20°C розчин біс-(2,6-диметилфеніл)фосфорної кислоти (1,42 г, 4,63 ммоль, 3,00 екв.) у DCM (15 мл), підтримуючи температуру реакції нижче -8°C. Розчин залишають старіти при 0°C протягом 15 хв., додають бездомішковий дийодметан (1,24 г, 374 мкл, 3,00 екв.), залишають старіти при 0°C протягом 15 хв перед додаванням розчину (бісCBz)циклопаміну (1,05 г, 1,54 ммоль, 1,0 екв.) у DCM (10 мл). Охолоджувальну баню замінюють водяною банею при кімнатній температурі і зберігають 4,5 години при кімнатній температурі. Суміш проохолоджують до -76° на бані із суміші сухий лід/ацетон і обробляють, додаючи по краплях розчин метансульфонової кислоти в DCM (0,6 мл 50%

об./об. розчин, 4,63 ммоль, 3,0 екв.), підтримуючи температуру реакції нижче -74°C. Суміш залишають старіти протягом 15-20 хв, і по краплях гасять морфоліном (2,69 г, 2,70 мл, 20 екв.), підтримуючи температуру реакції нижче -65°C. Охолоджувальну баню видаляють, реакційну суміш перемішують протягом 16-18 годин. Білий осад відфільтровують, і фільтрат послідовно промивають 2,0 М HCl (2×20 мл), насич. бікарбонатом натрію (2×20 мл), водою (2×20 мл) і насиченим сольовим розчином (20 мл). Сушать над сульфатом магнію, концентрують у вакуумі досуха, і неочищений продукт очищують флеш хроматографією на силікагелі (сумішшю гексани/EtAc, 17:3 → 4:1), щоб одержати 924 мг (1,33 ммоль, 86%) необхідного продукту.

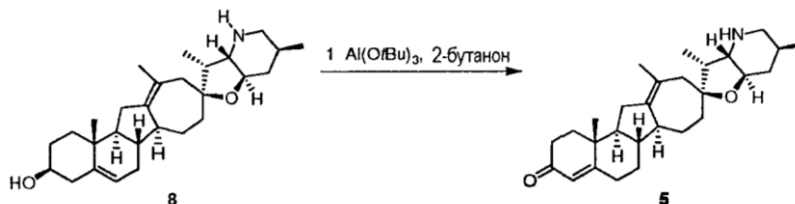
Стадія C



До розчину сполуки 7 (4,05 г, 5,83 ммоль, 1 екв.) у розчині суміші EtOAc:толуол (2:1, 60 мл) додають 20% гідроксид паладію на куті (823 мг, 0,583 ммоль, 0,1 екв.). Колбу вакуумують і заповнюють воднем три рази. Суміш перемішують в атмосфері водню 1 годину. Додають бездомішковий етилендіамін (0,38 мл), перемішують 1 годину, і каталізатор відфільтровують. Осад на фільтрі

двічі промивають сумішшю EtOAc:толуол (2:1, 12 мл). Об'єднані фільтрати промивають 2% водним розчином етилендіаміну (3×20 мл), сушать над сульфатом натрію і концентрують у вакуумі, щоб одержати 2,46 г продукту у вигляді білої кристалічної твердої речовини.

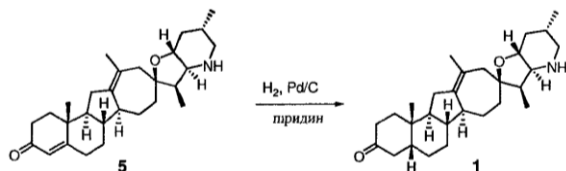
Стадія D



У круглодонну колбу послідовно завантажують гомоаліловий спирт 8 (7,50 г, 17,6 ммоль, 1 екв.), трет-бутилат алюмінію (6,10 г, 24,8 ммоль, 1,4 екв.), безводний толуол (115 мл) і 2-бутанон (90 г, 1,24 моль, 7 екв.). Суспензію 16 годин нагрівають в атмосфері азоту до 75°C. Потім реакцію залишають проохолоджуватися до температури 49°C. Водний 20% (мас/мас.) розчин тартрату калію натрію (226 г) додають до перемішаної суспензії. Суспензію перемішують при кімнатній температурі 3,5 години. Шари розділяють. Органічний шар промивають водною 20% сегнетовою сіллю (2×250 мл) і водою (225 мл), потім сушать над сульфатом натрію і фільтрують. Залишок промивають толуолом

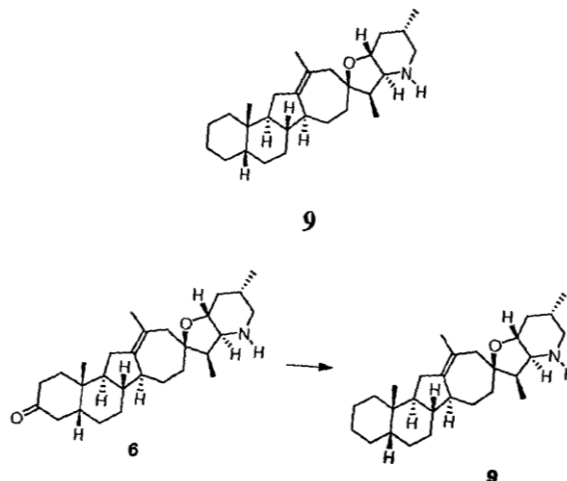
(30 мл) і відкидають. Об'єднані органічні речовини концентрують досуха. Залишкові розчинники реакції видаляють з речовини концентруванням з 2-пропанолу (250 мл, що додаються порціями), доводячи до кінцевої маси розчину в 44 г. Розчинник 2-пропанол замінюють гептаном (275 мл, що додаються порціями) до кінцевої маси 41 г розчину необхідного продукту, що повністю осаджується. Суспензію додатково розбавляють н-гептаном (40 мл), 1 годину перемішують при кімнатній температурі і фільтрують. Продукт промивають н-гептаном (17 мл) і сушать, щоб одержати 5,4 г необхідного продукту.

Стадія E



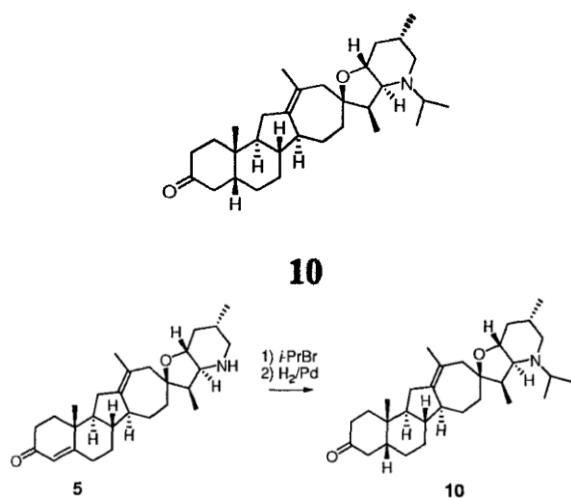
У круглодонну колбу завантажують вихідну речовину (110 мг, 0,26 ммоль, 1 екв.) і 10% паладій на куті (106 мг). Тверді частинки суспендують у піридині (4 мл). Суспензію поміщають в атмосферу водню (1 атом), і суміш перемішують протягом ночі при кімнатній температурі. Реакційну суміш фільтрують через Celite®, і фільтрат концентрують у вакуумі. Неочищену речовину очищують, використовуючи флеш хроматографію на силікагелі (суміш MeOH/DCM 5:95), щоб одержати 93 мг необхідної сполуки. ([M+H]⁺ = 426,6 m/z).

Приклад 3



У трубку для запаювання завантажували кетон 6 (85 мг, 0,199 ммоль, 1 екв.) і додавали триетилєнґліколь (2 мл), з наступним додаванням моногідрату гідрозину (500 мг, 10 ммоль, 50 екв.) і карбонату калію (138 мг, 1 ммоль, 5 екв.). Трубку запаювали, і реакційну суміш нагрівали 16 годин при 150°C. Реакційну суміш прохолоджували до кімнатної температури і додавали воду. Залишок екстрагували хлороформом (3X). Об'єднані органічні шари промивали водою, сушили над Na_2SO_4 , і концентрували досуха. Безбарвне масло очищували, використовуючи флеш хроматографію на силікагелі (DCM/MeOH 96:4). Очищені фракції поєднували і концентрували досуха. Масло, що виходить, розчиняли в MTBE (трет-бутилметилловий ефір) і промивали водою (2X), 2. NaOH і потім насиченим сольовим розчином. Об'єднані органічні шари сушили над Na_2SO_4 , фільтрували і випарювали, щоб одержати 64 мг необхідної речовини у вигляді білої піни. ($[\text{M}+\text{H}] = 412,7 \text{ m/z}$).

Приклад 4

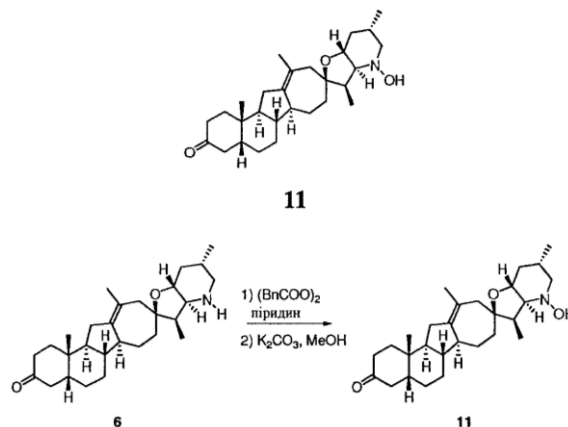


У трубку для запаювання завантажували сполуку 5 (223 мг, 0,52 ммоль, 1 екв.) і додавали DMF (ДМФА) (1 мл). Додавали 2-бромпропан (1,3 г, 10,5 ммоль, 20 екв.) і Na_2CO_3 (73 мг, 0,68 ммоль, 1,3 екв.) і колбу запаювали і нагрівали до 50°C. Суміш перемішували 16 годин, коли спостерігали ~ 70% перетворення. Додатково додавали 2-бромпропан (0,26 г, 2,12 ммоль, 4 екв.). Реакційну суміш перемішували 2 години і додатково додавали 2-бромпропан (0,13 г, 1,1 ммоль, 2 екв.). Реакційну суміш перемішували ще 1 годину. Реакційну суміш прохолоджували до кімнатної температури, і додавали воду. Осад екстрагували MTBE (3X). Органічні шари поєднували, промивали насиченим сольовим розчином, сушили над Na_2SO_4 , фільтрували і концентрували досуха. Білу піну очищували, використовуючи флеш хроматографію на силікагелі (сумішшю DCM/MeOH 99:1), щоб одержати 206 мг N-ізопропільного похідного у вигляді білої піни.

N-ізопропільне похідне (205 мг, 0,44 ммоль, 1 екв.) розчиняли в 4-метоксипіридині (1,5 мл). Колбу поміщували в інертну атмосферу і додавали Pd/C 10% (вологий, Aldrich Degussa тип E101, 40

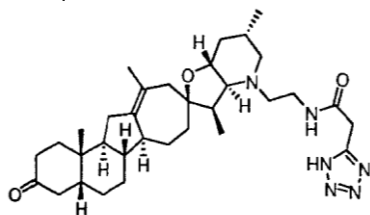
мг). Колбу запаювали, три рази продували воднем і залишали на 16 годин в атмосфері водню (1 атм.). До реакційної суміші додавали Celite®. Суміш фільтрували через невеликий пухкий шар Celite® і промивали EtOAc. Органічний шар промивали 1 н. водною HCl (2×), потім водою. Органічний шар сушили над Na_2SO_4 , фільтрували через бавовняну тканину й упарювали, щоб одержати 34 мг неочищеного продукту. Водний шар нейтралізували 2 н. KOH і екстрагували DCM (3X). Об'єднані органічні шари промивали водою, сушили над Na_2SO_4 , фільтрували через бавовняну тканину і поєднували з первинними 34 мг неочищеного продукту. Неочищену речовину очищували, використовуючи флеш хроматографію на силікагелі (сумішшю гексан/EtOAc (6:4)), щоб одержати 80 мг необхідного продукту. ($[\text{M}+\text{H}] = 468,7 \text{ m/z}$).

Приклад 5

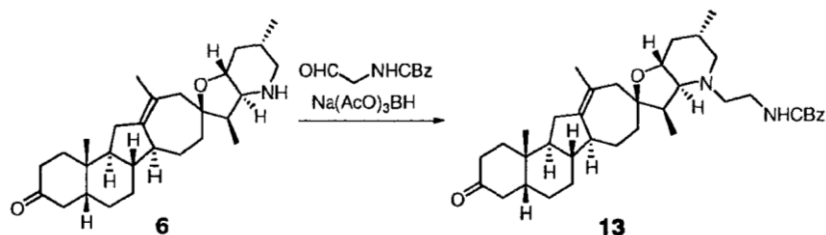


У круглодонній колбі сполуку 6 (88 мг, 0,21 ммоль, 1 екв.) розчиняли в безводному ТГФ (THF) (1 мл). Суміш прохолоджували до 0°C. Послідовно додавали піридин (84 мкл, 1 ммоль, 5 екв.) і пероксид бензоїлу (150 мг, 0,62 ммоль, 3 екв.). Гомогенну суміш протягом 2 годин поступово нагрівали до кімнатної температури і при кімнатній температурі перемішували протягом ночі. Реакцію гасили, додаючи насичений розчин NaHCO_3 . Осад екстрагували MTBE. Об'єднані органічні шари промивали водою, сушили над Na_2SO_4 , фільтрували і концентрували при зниженому тиску. Неочищену речовину очищували, використовуючи флеш хроматографію на силікагелі (сумішшю гексан/EtOAc (від 9:1 до 4:1)), щоб одержати продукт (N-ПРО) похідного (60 мг, 0,11 ммоль) у вигляді білої піни. Цю піну розчиняли в 2 мл MeOH, з наступним додаванням 2 н. водного розчину KOH (0,4 мл). Реакційну суміш перемішували 1 годину. Велику частину MeOH випарювали в струмі азоту і додавали 1 н. HCl (500 мкл). Речовину екстрагували DCM (3X). Об'єднані органічні шари промивали водою, сушили над Na_2SO_4 , фільтрували і концентрували при зниженому тиску. Неочищену речовину очищували, використовуючи флеш хроматографію на силікагелі (сумішшю гексани/EtOAc (88:12→ 1:1)), щоб одержати 11 мг необхідного продукту. ($[\text{M}+\text{H}] = 442,5 \text{ m/z}$).

Приклад 6

**12**

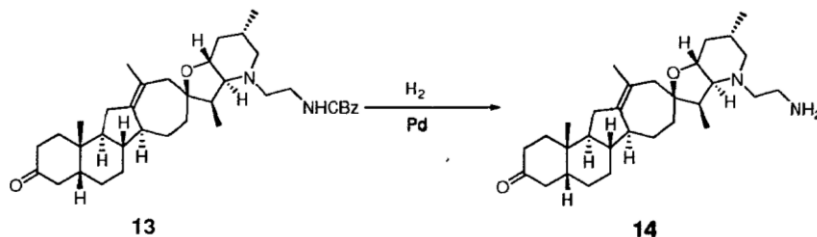
Стадія А



У круглодонній колбі розчиняли сполуку **6** (89 мг, 0,209 ммоль, 1 екв.) і N-(бензилоксикарбоніл)аміноацетальдегід (148 мг, 0,85 ммоль, 4 екв.) у DCM (2 мл). Додавали триацетоксиборогідрид натрію (177 мг, 0,85 ммоль, 4 екв.), і реакційну суміш перемішували 3 години при кімнатній температурі. Суміш вливали в насичений водяний розчин NaHCO_3 , і осад екстрагували DCM (3×). Об'єднані органічні шари промивали водою, сушили над Na_2SO_4 , фільтрували через бавовняну тканину й упарювали, щоб одержати спінену тверду речовину (247 мг). Неочищену речовину розчи-

няли в EtOAc (2 мл) і обробляли 4М HCl (156 мкл). Через 30 хв повільно утворювався білий осад. Суспензію, що виходить, перемішували 15 хв. Фільтрування дало 120 мг білої твердої речовини. Речовину розчиняли в EtOAc і обробляли насиченим водним розчином NaHCO_3 . Органічний шар збирали, а водний шар екстрагували EtOAc (2X). Об'єднані органічні шари промивали насиченим сольовим розчином, сушили над Na_2SO_4 . Фільтрування і розпарювання дало необхідну проміжну сполуку. Цю речовину використовували без очищення на наступній стадії.

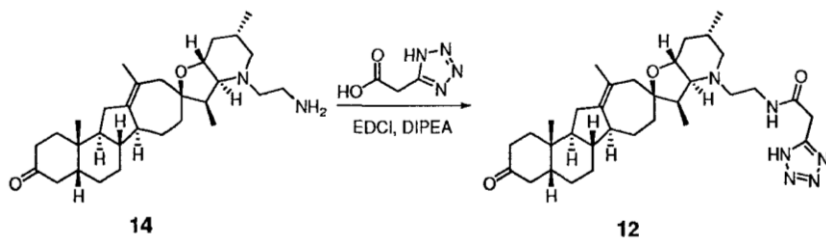
Стадія В



Всю речовину, одержану на стадії А, розчиняли в EtOAc (3 мл) і обробляли Pd/C 10% (30 мг, вологий, Aldrich Degussa тип E101). Колбу запаювали, три рази продували воднем, і протягом ночі

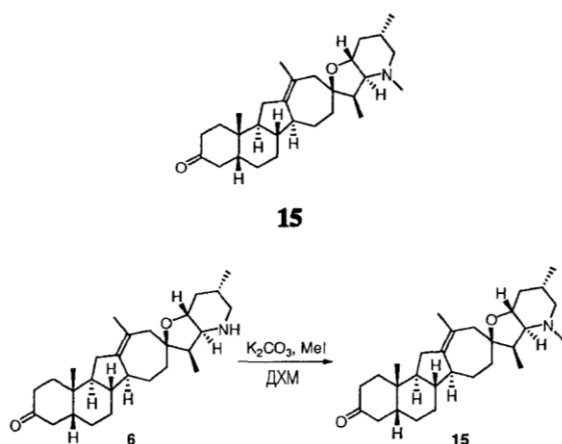
залишали в атмосфері водню (1 атм.). Через 16 годин суміш фільтрували через невеликий пухкий шар Celite® і промивали EtOAc, щоб одержати 52 мг аміну у вигляді білої піни.

Стадія С

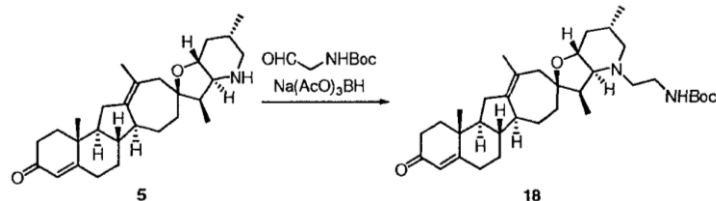


У круглодонну колбу, що містить амін 14 (52 мг, 0,11 ммоль, 1 екв.), завантажували 1Н-тетразол-5-оцтову кислоту (21 мг, 0,166 ммоль, 1,5 екв.), DCM (2 мл), EDCI (дихлоретан) (42 мг, 0,22 ммоль, 2 екв.) і N,N-діізопропілетиламін (57 мг, 0,44 ммоль, 4 екв.). Жовтий розчин, що виходить, 4 години перемішували при кімнатній температурі. Реакцію гасили, додаючи насичений водний розчин NaHCO_3 , і осад екстрагували DCM (3X). Об'єднані органічні шари сушили над Na_2SO_4 , фільтрували через бавовняну тканину й упарювали, щоб одержати 62 мг не зовсім білої твердої речовини. Цю речовину очищували, використовуючи флеш хроматографію на силікагелі (сумішшю MeOH/DCM 5:95 \rightarrow 10:90), щоб одержати 31 мг необхідного продукту. ($[\text{M}+\text{H}] = 579,7$ m/z).

Приклад 7



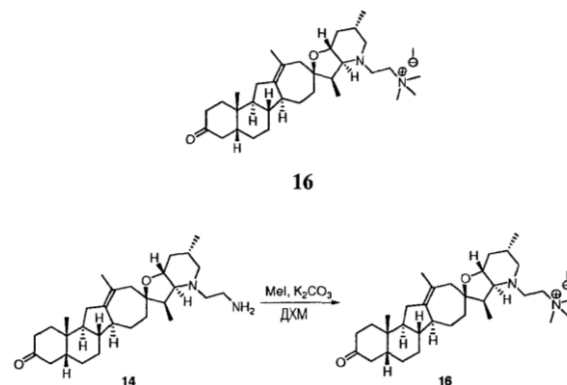
У круглодонну колбу завантажували вихідну речовину (47 мг, 0,110 ммоль, 1 екв.) і карбонат калію (150 мг, 1,09 ммоль, 10 екв.). Тверді частинки суспендували в 2 мл DCM. Додавали йодметан (14 мкл, 0,22 ммоль, 2 екв.), і суміш перемішували 2 години при кімнатній температурі. Аналіз ТШХ (TLC) (тонкошарова хроматографія) (суміш DCM/MeOH 95:5) показує більше ніж 90% завершення взаємодії. До реакційної суміші додавали йодметан (14 мкл, 0,22 ммоль, 2 екв.), перемішували 2 години. До реакційної суміші додавали воду. Фази розділяли, і органічні речовини сушили і концентрували досуха. Залишок очищували, використовуючи флеш хроматографію на силікагелі



У круглодонній колбі розчиняли сполуку 5 (50 мг, 0,12 ммоль, 1 екв.) і N-(трет-бутоксикарбоніл)аміноацетальдегід (6 мг, 0,38 ммоль, 3,1 екв.) у DCM (2 мл). Додавали триацето-

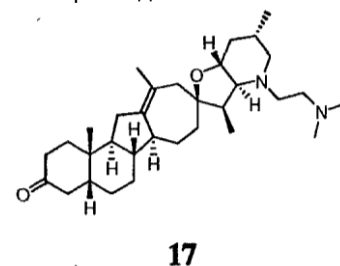
(сумішшю DCM/MeOH 100:0 \rightarrow 98:2), щоб одержати 34 мг необхідного продукту. ($[\text{M}+\text{H}] = 440,5$ m/z).

Приклад 8

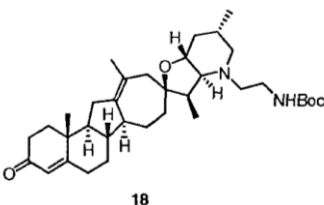


У круглодонну колбу завантажували вихідну речовину (59 мг, 0,126 ммоль, 1 екв.) і карбонат калію (350 мг, 2,5 ммоль, 20 екв.). Тверді частинки суспендували в 3 мл DCM. У реакційну суміш завантажували йодметан (80 мкл, 1,29 ммоль, 10 екв.), і суміш перемішували протягом ночі при кімнатній температурі. У реакційну суміш завантажували воду. Органічну фазу відокремлювали, і водний шар назад екстрагували DCM. Об'єднані органічні шари сушили і концентрували досуха. Залишок очищували, використовуючи флеш хроматографію на силікагелі (сумішшю DCM/MeOH (95:5 \rightarrow 90:10)), щоб одержати 52 мг необхідного продукту. ($[\text{M}+\text{H}] = 639,5$ m/z).

Приклад 9



Стадія А

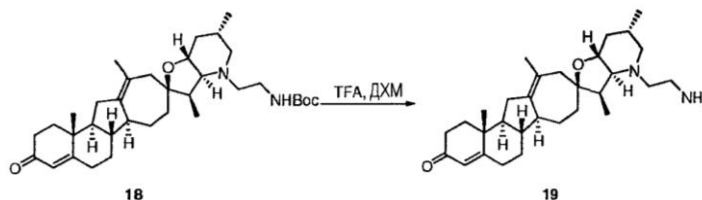


ксиборгідрид натрію (8 мг, 0,38 ммоль, 3,1 екв.), і реакційну суміш перемішували 2 години при кімнатній температурі. Суміш вливали в насичений водний розчин NaHCO_3 , і осад екстрагували DCM

(3×). Об'єднані органічні шари промивали водою, сушили над Na_2SO_4 , фільтрували через бавовняну тканину й упарювали, щоб одержати спінену тверду речовину (95 мг). Неочищену речовину очищу-

вали, використовуючи флеш хроматографію на силікагелі (сумішшю EtOAc/Гексани 1:1), щоб одержати 55 мг сполуки 18.

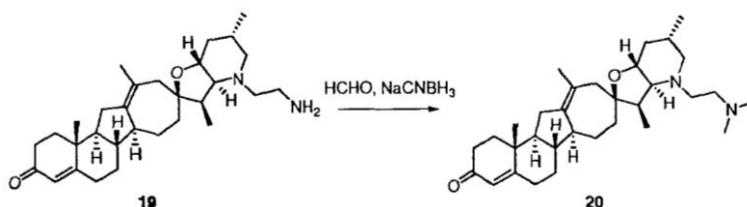
Стадія В



У круглодонну колбу завантажували вихідну речовину 18 (800 мг, 1,4 ммоль, 1 екв.). Тверду речовину розчиняли в розчині DCM і TFA (трифтороцтова кислота) (10 мл, 1:1). Розчин перемішували 45 хв при кімнатній температурі. Реакційну суміш розподіляли між 10% розчином карбонату

натрію і DCM. Органічну частину відокремлювали і промивали 10% карбонатом натрію. Органічну фазу концентрували досуха. Залишок використовували без додаткового очищення на наступній стадії.

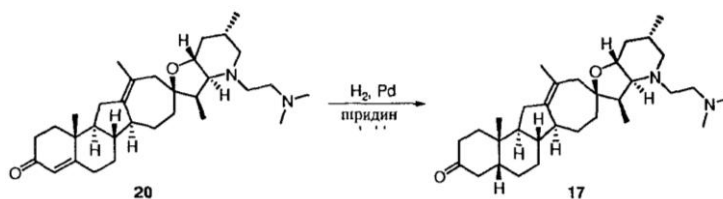
Стадія С



У круглодонну колбу завантажували вихідну речовину (300 мг, 0,64 ммоль, 1 екв.), розчиняли в суміші ТГФ/АСН (ацетонітрил) (1:1,4 мл). У реакційну суміш завантажували 37% формальдегід у воді (240 мкл, 3,22 ммоль, 5 екв.) і ціаноборгідрид натрію (64 мг, 1 ммоль, 1,6 екв.). Суміш перемішували 30 хв при кімнатній температурі. Потім, реакційну суміш розподіляли між насиченим водним

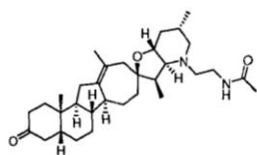
розчином бікарбонату натрію і DCM. Органічну речовину відокремлювали, сушили і концентрували досуха. Неочищена речовина очищували, використовуючи флеш хроматографію на силікагелі (сумішшю MeOH/DCM (5:95 \rightarrow 10:90)), щоб одержати необхідну речовину.

Стадія D

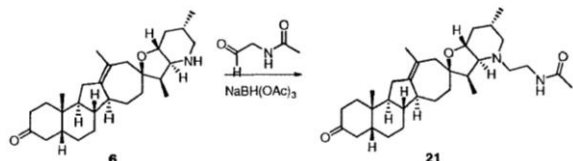


У круглодонну колбу завантажували вихідну речовину 20 (30 мг, 0,06 ммоль, 1 екв.) і 10% палладій на куті (30 мг). Тверді частинки суспендували в піридині (2 мл). Суспензію помішували в атмосферу водню, і суміш перемішували протягом ночі при кімнатній температурі. Реакційну суміш фільтрували на Celite®, фільтрат концентрували досуха. Неочищену речовину очищували, використовуючи флеш хроматографію на силікагелі (сумішшю MeOH/DCM (5:95 \rightarrow 10:90)), щоб одержати необхідну речовину. ($[\text{M}+\text{H}] = 497,7 \text{ m/z}$).

Приклад 10

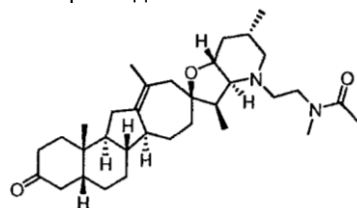


21



У круглодонну колбу завантажували вихідну речовину (85 мг, 0,20 ммоль, 1 екв.), розчиняли в DCM (4 мл). У реакційну суміш завантажували N-(2-оксоетил)ацетамід (80 мг, 0,70 ммоль, 3,5 екв.) і триацетоксиборгідрид натрію (170 мг, 0,80, 4 екв.). Суміш перемішували 1 година при кімнатній температурі. Реакційну суміш розподіляли між насиченим водним розчином бікарбонату натрію і DCM. Органічну речовину відокремлювали, сушили і концентрували досуха. Неочищену речовину очищували, використовуючи флеш хроматографію на силікагелі (сумішшю MeOH/DCM 5:95), щоб одержати необхідну речовину. ([M+H] = 511,7 m/z).

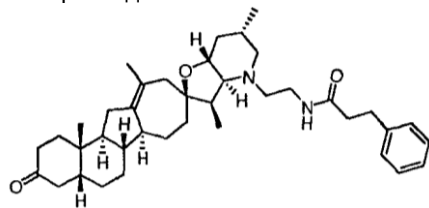
Приклад 11



22

Сполуки 22 синтезували, за методикою, описаною в прикладі 9, використовуючи N-метил-N-(2-оксоетил)ацетамід замість N-(2-оксоетил)ацетаміду. ([M+H] = 525,7 m/z).

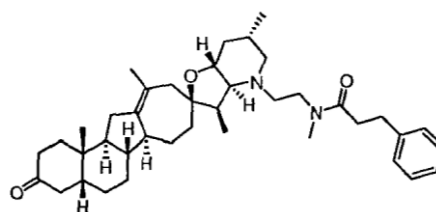
Приклад 12



23

Сполуку 23 синтезували, за методикою, описаною в прикладі 10, використовуючи N-(2-оксоетил)-3-фенілпропанамід замість N-(2-оксоетил)ацетаміду. ([M+H] = 601,8 m/z).

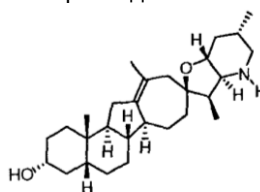
Приклад 13



24

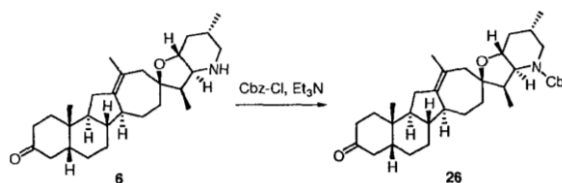
Сполуку 23 синтезували, за методикою, описаною в прикладі 10, використовуючи N-метил-N-(2-оксоетил)-3-фенілпропанамід замість N-(2-оксоетил)ацетаміду. ([M+H] 615,9 m/z).

Приклад 14



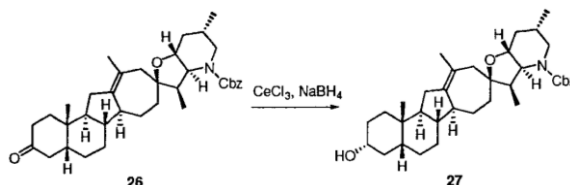
25

Стадія А



У круглодонну колбу завантажували сполуку 6 (4,23 г, 9,94 ммоль, 1 екв.) і ТГФ (60 мл). Додавали триетиламін (6,92 мл, 49,7 ммоль, 5,0 екв.) і бензилхлорформіат (1,54 мл, 10,93 ммоль, 1,1 екв.), і суміш перемішували 1 годину при кімнатній температурі. Реакційну суміш розподіляли між насиченим водним бікарбонатом (100 мл) і EtOAc (100 мл). Фази розділяли, і органічні речовини сушили (Na₂SO₄) і концентрували досуха. Неочищену речовину очищували, використовуючи флеш хроматографію на силікагелі (сумішшю EtOAc/Гексани 2:98 → 14:86) щоб одержати 3,75 г речовини.

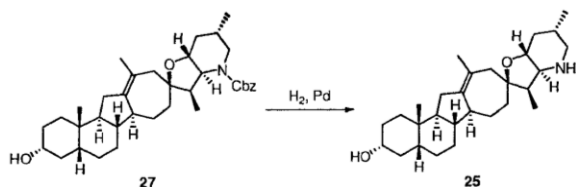
Стадія В



Розчин гептагідрату трихлориду церію (260 мг, 0,69 ммоль, 1,3 екв.) у MeOH (10 мл) обробляли при 0°C боргідридом натрію (24 мг, 0,65 ммоль, 1,2 екв.), перемішували 15 хв і потім прохолоджували до -78°C. Додавали розчин (10 мл) кетону 26 (300 мг, 0,54 ммоль, 1 екв.) у ТГФ, і суміш перемішували 1 годину і потім нагрівали до кімнатної температури. Додавали воду (50 мл) і EtOAc (50 мл), змішували, і шари розділяли. Органічний шар збирали, промивали насиченим сольовим розчином

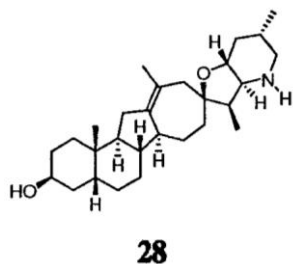
(30 мл), сушили над сульфатом натрію, і концентрували до білого осаду. Неочищений продукт очищували використовуючи флеш хроматографію на силікагелі (сумішшю простий ефір/гексани 2:3 → 1:1), щоб одержати 235 мг 3-бета-спирту 27.

Стадія С

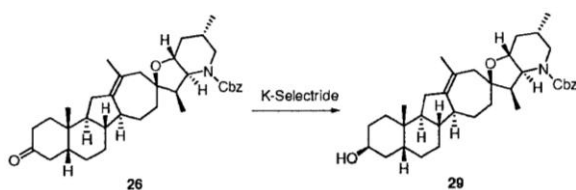


Сполуку 27 (235 мг, 0,42 ммоль, 1 екв.) розчиняли в EtOAc (7 мл) у колбі, обладнаній мішалкою і каучуковою перегородкою. Азот барботували через розчин, і додавали Pd/C 10% (вологий, Aldrich Degussa тип E101, 50 мг). Азот барботували через цю суміш і потім газоподібний водень, і 3 години перемішували при кімнатній температурі. Потім, азот барботували через суміш, фільтрували через поліетиленову мембрану 0,45 мкм і концентрували до прозорого масла. Масло очищували флеш хроматографією на силікагелі (сумішшю $\text{NH}_4\text{OH}(\text{водн})/\text{MeOH}/\text{ОСМ}$ 0,5:2:97,5 → 0,5:6:93,5), щоб одержати 130 мг сполуки 25 у вигляді білого порошку. ($[M+H] = 427,4$ m/z).

Приклад 15

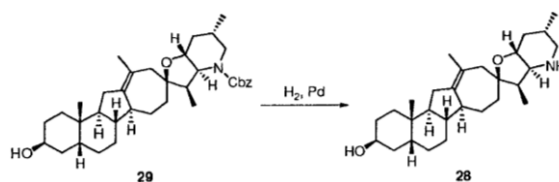


Стадія А



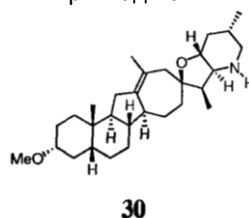
ТГФ розчин (10 мл) кетону 26 (300 мг, 0,54 ммоль, 1 екв.) при -78°C обробляли сполукою K-Selectride® (три-втор-бутилборгидрид калію) (0,58 мл, 0,58 ммоль, 1,1 екв.) і перемішували 60 хв. Додавали метанол (1 мл), і розчин нагрівали до кімнатної температури. Додавали воду (50 мл) і EtOAc (50 мл), змішували, і шари розділяли. Органічний шар промивали насиченим сольовим розчином (30 мл), сушили над сульфатом натрію, і концентрували до білого залишку. Неочищений продукт очищували флеш хроматографією на силікагелі (сумішшю простий ефір/гексани 2:3 → 1:14), щоб одержати 170 мг чистого 3-альфа-спирту 29.

Стадія В

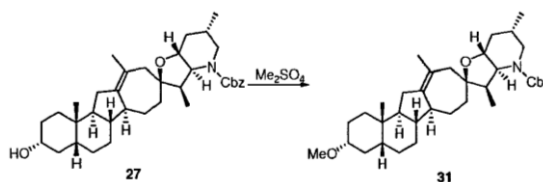


Сполуку 29 (170 мг, 0,30 ммоль, 1 екв.) розчиняли в EtOAc (5 мл) у колбі, обладнаній мішалкою і каучуковою перегородкою. Азот барботували через розчин, і додавали Pd/C 10% (вологий, Aldrich Degussa тип E101, 35 мг). Азот барботували через цю суміш і потім газоподібний водень, і 3 години перемішували при кімнатній температурі. Потім, азот барботували через суміш, фільтрували через поліетиленову мембрану 0,45 мкм і концентрували до прозорого масла. Масло очищували флеш хроматографією на силікагелі (сумішшю $\text{NH}_4\text{OH}(\text{водн})/\text{MeOH}/\text{ОСМ}$ 0,5:2:97,5 → 0,5:6:93,5), щоб одержати 76 мг сполуки 28 у вигляді білого порошку. ($[M+H] = 427,4$ m/z).

Приклад 16

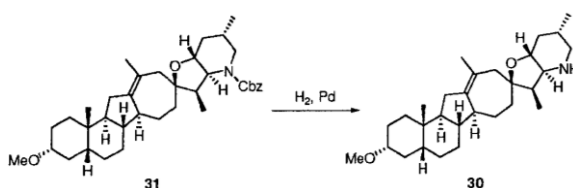


Стадія А



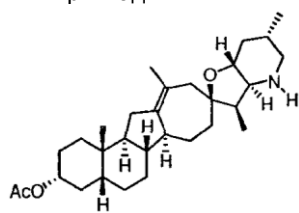
Сполуку 27 (100 мг, 0,18 ммоль, 1 екв.) і бензилтриетиламонійхлорид (8 мг, 0,36 ммоль, 0,2 екв.) розчиняли в DCM (5 мл) і 18 годин інтенсивно збовтували при кімнатній температурі з диметилсульфатом (130 мкл 1,43 ммоль, 8 екв.) і 50% водним гідроксидом калію (0,5 мл). Суміш розподіляли між водою (30 мл) і EtOAc (30 мл). Потім органічний шар промивали насиченим сольовим розчином, сушили над сульфатом натрію і концентрували до прозорого масла. Неочищений простий ефір очищували флеш хроматографією на силікагелі (сумішшю простий ефір/гексани 3:7 → 9:113), щоб одержати 75 мг простого метилового ефіру у вигляді прозорого масла.

Стадія В

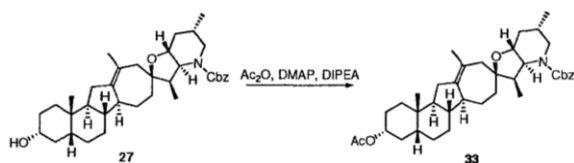


Сполуку 31 (66 мг, 0,115 ммоль, 1 екв.) розчиняли в EtOAc (5 мл) у колбі, обладнаній мішалкою і каучуковою перегородкою. Азот барботували через розчин, і додавали 10% Pd/C (вологий, Aldrich Degussa тип EI01, 20 мг). Азот барботували через цю суміш і потім газоподібний водень, і 3 години перемішували при кімнатній температурі. Потім через цю суміш барботували азот, фільтрували через поліетиленову мембрану 0,45 мкм, і концентрували до прозорого масла. Масло очищували флеш хроматографією на силікагелі (сумішшю $\text{NH}_4\text{OH}(\text{водн})/\text{MeOH}/\text{DCM}$ 0,5:2:97,5 \rightarrow 0,5:6:93,5), щоб одержати 22 мг сполуки 30 у вигляді білого порошку. ($[\text{M}+\text{H}] = 441,4 \text{ m/z}$).

Приклад 17

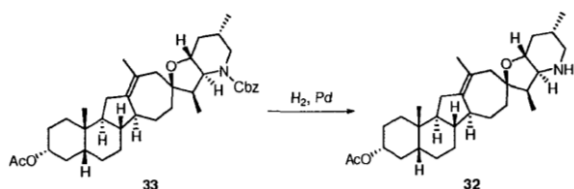
**32**

Стадія А



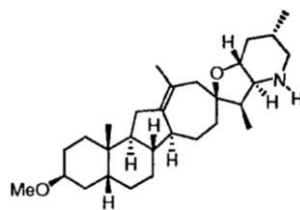
Сполуку 27 (100 мг, 0,18 ммоль, 1 екв.) розчиняли в DCM (5 мл) і додавали 4-диметиламінопіридин (4 мг, 0,35 ммоль, 0,2 екв.), N,N-діізопропілетиламін (0,15 мл, 0,9 ммоль, 5 екв.) і оцтовий ангідрид (0,070 мл, 0,2 ммоль, 4 екв.). Після перемішування протягом 12 годин при кімнатній температурі розчин розподіляли між EtOAc (30 мл) і 5% водняним бікарбонатом натрію (15 мл). Органічний шар промивали насиченим сольовим розчином, сушили над сульфатом натрію, і концентрували до прозорого масла. Неочищений складний ефір очищували флеш хроматографією на силікагелі (сумішшю простий ефір/гексани 3:7 → 9:113), щоб одержати 100 мг складного ефіру у вигляді прозорого масла.

Стадія В



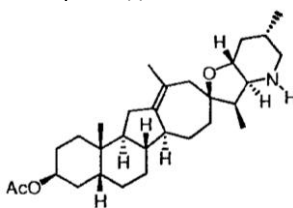
Сполуку 33 (100 мг, 0,18 ммоль, 1 екв.) розчиняли в EtOAc (5 мл) у колбі, обладнаній мішалкою і каучуковою перегородкою. Азот барботували через цю суміш, і додавали 10% Pd/C (вологий, Aldrich Degussa тип E101, 20 мг). Азот барботували через цю суміш і потім газоподібний водень, і 3 години перемішували при кімнатній температурі. Потім через цю суміш барботували азот, фільтрували через поліетиленову мембрану 0,45 мкм і концентрували до прозорого масла. Масло очищували флеш хроматографією на силікагелі (сумішшю NH₄OH(водн)/MeOH/DCM 0,5:2:97,5 → 0,5:6:93,5), щоб одержати 45 мг сполуки 32 у вигляді білого порошку. ([M+H]⁺ = 469,4 m/z).

Приклад 18

**34**

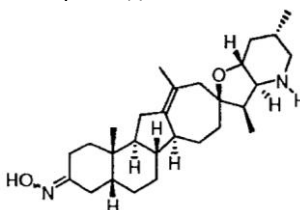
Сполуку 34 синтезували за методикою, описаною в прикладі 16, використовуючи сполуку 29 замість сполуки 27. ([M+H]⁺ = 441,4 m/z).

Приклад 19

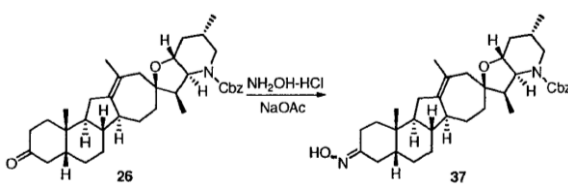
**35**

Сполуку 34 синтезували за методикою, описаною в прикладі 17, використовуючи сполуку 29 замість сполуки 27. МС([M+H]⁺ = 469,4 m/z)

Приклад 20

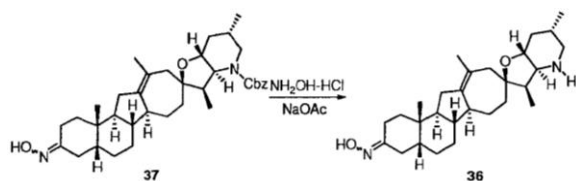
**36**

Стадія А



Розчин в етанолі (5 мл) сполуки 26 (185 мг, 0,3 ммоль, 1 екв.) обробляли гідрохлоридом гідроксиламіну (140 мг, 2 ммоль, 6 екв.), ацетатом натрію (160 мг, 2 ммоль, 6 екв.) і водою (0,5 мл), і суміш перемішували при кімнатній температурі 1 година. Суміш розділяли між EtOAc і водою (50 мл кожної речовини). Органічний шар промивали насиченим сольовим розчином (30 мл), сушили над сульфатом натрію і концентрували до білого залишку. Неочищений продукт очищували хроматографією на силікагелі (сумішшю простий ефір/гексани 2:3 → 1:1), щоб одержати 193 мг оксиму 37.

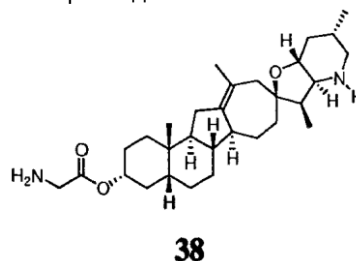
Стадія В



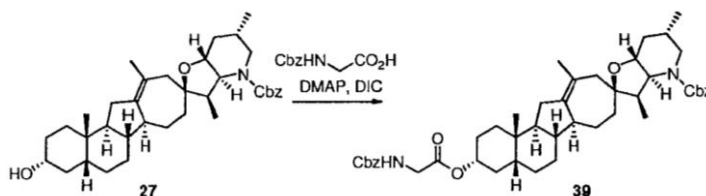
Сполуку 37 (65 мг, 0,113 ммоль) розчиняли в EtOAc (7 мл) у колбі, обладнаній мішалкою і каучуковою перегородкою. Азот барботували через розчин і додавали Pd/C 10% (вологий, Aldrich Degussa тип E101, 20 мг). Азот барботували через цю суміш і потім газоподібний водень, і перемішували при кімнатній температурі 3 години. Потім через цю суміш барботували азот, фільтрували через поліетиленову мембрану 0,45 мкм і концентрували

до прозорого масла. Масло очищували флеш хроматографією на силікагелі (сумішшю $\text{NH}_4\text{OH}(\text{водн})/\text{MeOH}/\text{DCM}$ 0,5:2:97,5 \rightarrow 0,5:6:93,5), щоб одержати 15 мг сполуки 36 у вигляді білого порошку, що представляє собою суміш цис- і транс- ізомерів оксиму ($[\text{M}+\text{H}] = 440,3 \text{ m/z}$).

Приклад 21



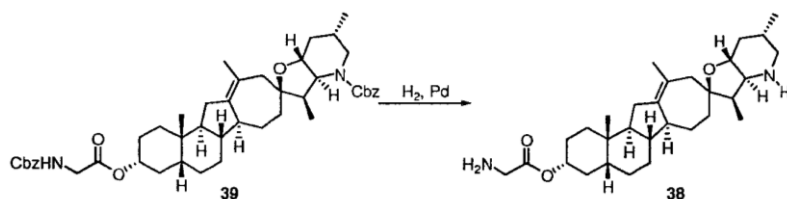
Стадія А



Сполуку 27 (42 мг, 0,075 ммоль, 1 екв.) розчиняли в DCM (5 мл) і додавали 4-диметиламінопіридин (2 мг, 0,02 ммоль, 0,2 екв.), (N-Cbz)гліцин (23 мг, 0,110 ммоль, 1,5 екв.), і діізопропілкарбодіїмід (0,023 мл, 0,150 ммоль, 2 екв.). Після перемішування протягом 12 годин при кімнатній температурі розчин розподіляли між EtOAc (30 мл) і 5% водним бікарбонатом натрію (15 мл).

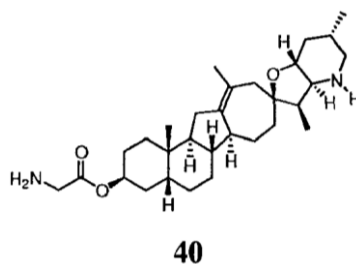
Органічний шар промивали насиченим сольовим розчином, сушили над сульфатом натрію, і концентрували до прозорого масла. Неочищений складний ефір очищували флеш хроматографією на силікагелі (сумішшю простий ефір/гексани 2:3 \rightarrow 1:1) щоб одержати у вигляді прозорого масла 35 мг складного ефіру.

Стадія В



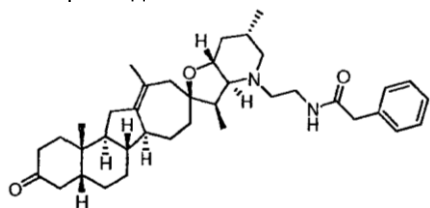
Сполуку 39 (235 мг, 0,42 ммоль, 1 екв.) розчиняли в EtOAc (7 мл) у колбі, обладнаній мішалкою і каучуковою перегородкою. Азот барботували через розчин, і додавали Pd/C 10% (вологий, Aldrich Degussa тип E101, 50 мг). Азот барботували через цю суміш і потім газоподібний водень, і перемішували при кімнатній температурі 3 години. Потім через цю суміш барботували азот, фільтрували через поліетиленову мембрану 0,45 мкм і концентрували до прозорого масла. Масло очищували флеш хроматографією на силікагелі (сумішшю $\text{NH}_4\text{OH}(\text{водн})/\text{MeOH}/\text{DCM}$ 0,5:2:97,5 \rightarrow 0,5:6:93,5), щоб одержати 17 мг необхідного продукту у вигляді білого порошку. ($[\text{M}+\text{H}] = 452,4 \text{ m/z}$).

Приклад 22



Сполуку 40 синтезували за методикою, описаною в прикладі 21, використовуючи сполуку 29 замість сполуки 27. ($[\text{M}+\text{H}] = 452,4 \text{ m/z}$)

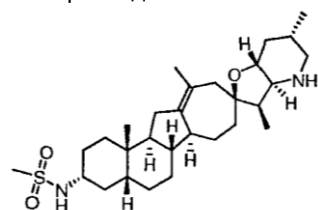
Приклад 23



41

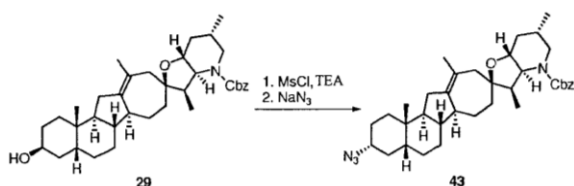
Сполуку 41 синтезували за методикою, описаною в прикладі 10, використовуючи N-(2-оксоетил)-2-фенілацетамід замість N-(2-оксоетил)ацетаміду. $[M+H]^+ = 587,7$ m/z.

Приклад 24



42

Стадія А

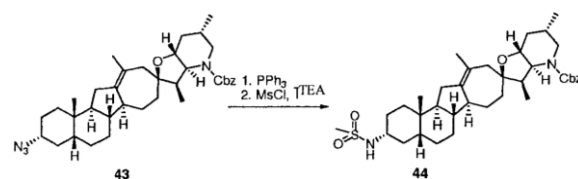


У круглодонну колбу завантажували спирт 29 (7,60 г, 13,53 ммоль, 1 екв.) і розчиняли в DCM (115 мл). У реакційну суміш завантажували триетиламін (8,21 г, 81 ммоль, 6,0 екв.). Суміш прохолоджували до 0°C, і завантажували метансульфонілхлорид (1,86 г, 16,2 ммоль, 1,2 екв.). Через 30 хв реакційну суміш розподіляли між насиченим водним розчином бікарбонату натрію і EtOAc. Органічний шар відокремлювали, сушили над сульфатом натрію і концентрували досуха. Залишок очищували, використовуючи флеш хроматографію на силікагелі (сумішшю EtOAc/гексани 10 (25%), одержуючи необхідну речовину, мезилат.

У круглодонну колбу завантажували мезилат (9,1 г, 14,22 ммоль, 1 екв.) і розчиняли в 50 мл DMPU. У реакційну суміш завантажували азид натрію (4,62 г, 71,1 ммоль, 5,0 екв.) і нагрівали до 60°C. Суміш перемішували 17 годин. Потім реакційну суміш прохолоджували до кімнатної температури і завантажували воду. Суміш перемішували 30 хв. Суміш фільтрували у вакуумі, промивали

водою і сушили на відкритому повітрі і одразу використовували на наступній стадії без очищення.

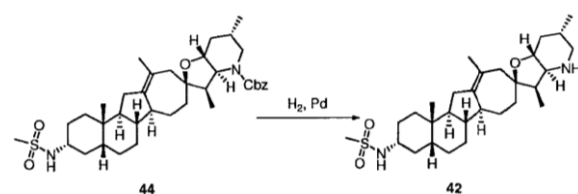
Стадія В



У круглодонну колбу завантажували азид 43 (8,35 г, 14,23 ммоль, 1 екв.) і додавали ТГФ (120 мл). Потім у реакційну суміш завантажували трифенілфосфін (11,2 г, 42,7 ммоль, 3,0 екв.). Суміш нагрівали до 50°C і перемішували 20 годин. Потім реакційну суміш прохолоджували до кімнатної температури, і розчинник видаляли у вакуумі. Залишок очищували флеш хроматографією на силікагелі (сумішшю MeOH/DCM 10% (20%), щоб одержати амін.

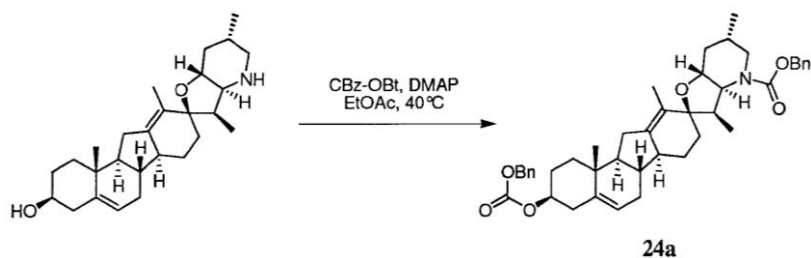
У круглодонну колбу завантажували амін (5,10 г, 9,09 ммоль, 1 екв.) і розчиняли в DCM (60 мл). У реакційну суміш завантажували N,N-діізопропілетиламін (5,88 г, 45,5 ммоль, 5,0 екв.). Суміш прохолоджували до 0°C і завантажували метансульфонілхлорид (2,08 г, 18,2 ммоль, 2,0 екв.). Через 30 хвилин реакційну суміш розподіляли між насиченим водним розчином бікарбонату натрію і EtOAc, Органічний шар збирали, сушили над сульфатом натрію і концентрували досуха. Залишок очищували флеш хроматографією на силікагелі (сумішшю EtOAc/гексани 10 → 30%), щоб одержати Cbz-захисний метансульфонамід.

Стадія С



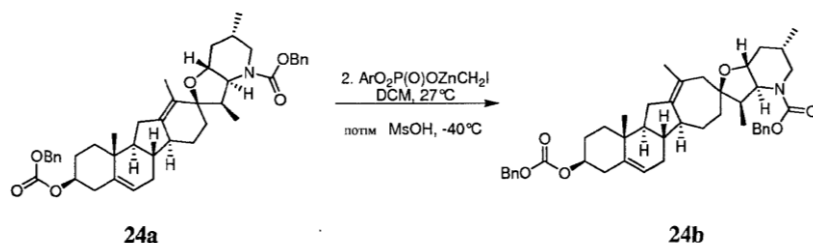
У круглодонну колбу завантажували метансульфонамід (5,37 г, 8,41 ммоль, 1 екв.), захищений Cbz (бензилоксикарбонілом), і 10% паладій на куті (1,0 г). Тверді частинки суспендували в 2-пропанолі (50 мл). Суспензію помішували в атмосферу водню, і суміш перемішували 4 години при 25°C. Потім реакційну суміш фільтрували через Celite®, і фільтрат концентрували досуха. Потім залишок очищували флеш хроматографією на силікагелі (сумішшю DCM/MeOH 0 → 5%), щоб одержати необхідний продукт. $[M+H]^+ = 505,6$ m/z.

Альтернативний синтез сполуки 42



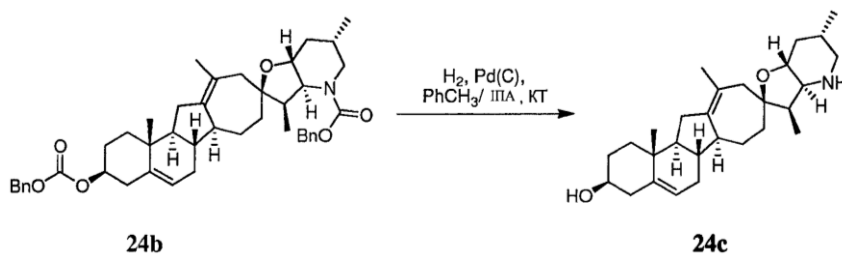
Перекристалізований циклопамін (2,07 г) завантажують у реакційну посудину відповідного розміру і поміщають в інертну атмосферу. Послідовно додають EtOAc (7,6 г), триетиламін (1,53 М), і DMAP (307 мг). Суспензію нагрівають до 40°C. Протягом 90 хвилин трьома порціями додають Cbz-OBt, підтримуючи внутрішню температуру нижче 45°C. Реакційну суміш 90 хвилин перемішують при 40°C. Зберігають температуру, поки

метанол (26,4 г) повільно додають до реакційної суміші. Суспензію, що виходить, прохолоджують до кімнатної температури і перемішують протягом щонайменше 15 годин. Неочищений продукт збирають фільтруванням і промивають метанолом (5г). Білу тверду речовину сушать у вакуумі до постійної маси і перекристалізують з гептану (30,3 г) і толуолу (3,2 г), щоб одержати сполуку 24a (3,0 г).



Твердий біс(2,6-диметилфеніл)гідрофосфат і сполуку 24a попередньо сушать і поміщають в атмосферу азоту. Бездомішковий діетилцинк (722 мг) завантажують у реакційну посудину відповідного розміру, що містить DCM (9,0 г). Послідовно додають при температурі 25°C або нижче розчини фосфату (1,83 г у 17,9 г) і IPI-332690 (1,34 г у 3,6 г) у DCM. Завантажують дийодметан (1,58 г), і реакційну суміш 4-6 годин перемішують при 28°C. Реакційну суміш прохолоджують до -45°C, і завантажують розчин метансульфонової кислоти в DCM (566 мг у 1,5 г). Через 15 хвилин додають морфо-

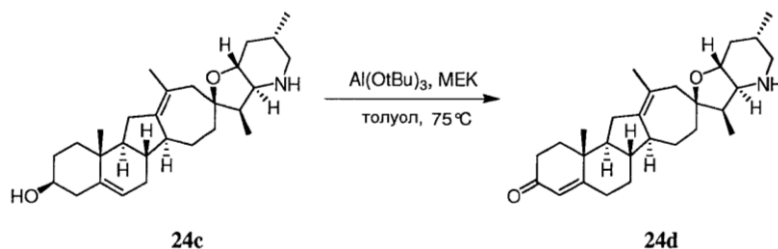
лін (1,711 г), і суміш залишають нагріватися до кімнатної температури протягом ночі. Органічний шар двічі промивають 2 н. HCl (2×13,6 г), потім послідовно промивають 4,8% мас. карбонатом натрію (водн.), 4,8% мас. сульфідом натрію (водн.), і 4,8% мас. насиченим сольовим розчином (13,6 г кожний). Органічний шар сушать, фільтрують, концентрують до 4 г і розбавляють ізопропанолом (4 г). Продукт кристалізують з розчину, повільно додаючи метанол (9,3 г). Фільтрують із промиванням метанолом (2,6 г) і сушать, щоб одержати 1,09 г сполуки 24b (з 79% виходом виділеного продукту).



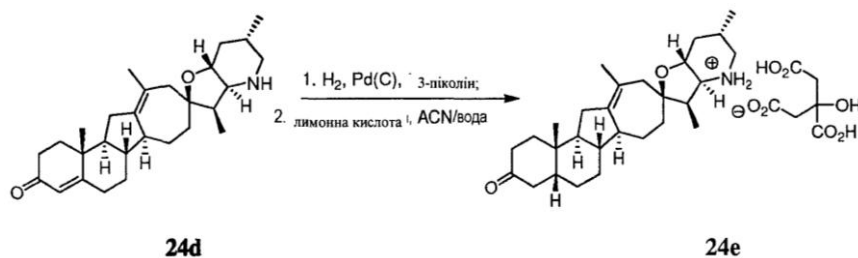
Johnson Matthey Pd/C каталізатор A-305038-5 (890 мг) завантажують у реакційну посудину відповідного розміру, додаючи потім сполуку 24b (2,24 г). Реакційну посудину продувають N₂ і послідовно додають толуол (21,8 г) і 2-пропанол (6,7 г). Систему дегазують і поміщають в атмосферу азоту, і процес повторюють з воднем. Систему інтенсивно перемішують і протягом 4-5 годин зберігають водневий захисний шар з тиском в одну атмосферу.

Реакцію контролюють за допомогою або ТІПХ-аналізу, або ВЕРХ-аналізу (HPLC - рідинна хроматографія високого розрізнення). Якщо, не дійшовши до кінця, реакція стає неактивною, то додатково завантажують каталізатор (145 мг), і повертають атмосферу водню ще на одну годину. Завантажують етилендіамін (12,9 мг), і суміш перемішують 15 хвилин. Каталізатор видаляють фільтруванням, із промиванням сумішшю толуол/IPA

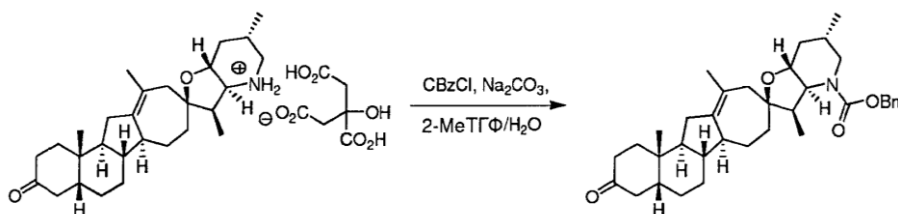
гептану (18,0 г), щоб одержати сполуку 24с у вигляді білої кристалічної твердої речовини (1,34 г, 98% вихід).



EtOAc (2,9 г). Органічні шари поєднують і промивають розчином свіжої сегнетової солі (2,6 г у 10,3 г води) і потім - водою (12,9 г). Органічний шар, що виходить, сушать над сульфатом натрію (1,97 г), фільтрують, і концентрують у вакуумі. Продукт кристалізується за допомогою завантаження й обміну розчинника з концентруванням спочатку на IPA (6,5 г) і потім на гептан (7,7 г). Велико дисперсний завис в гептані (-2,7 г) перемішують протягом ночі, і тверді частинки збирають фільтруванням. Вакуумне сушіння дозволяє одержати сполуку 24d (550 mg) з виходом 85%.



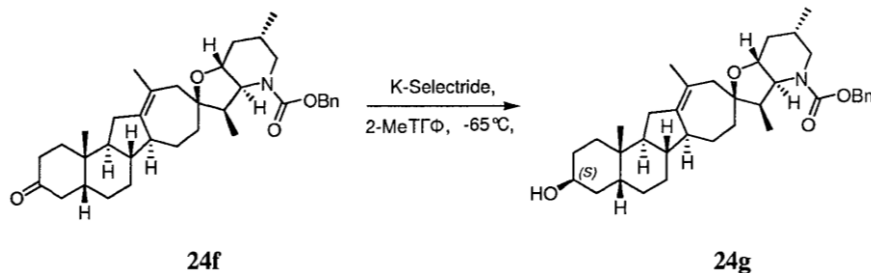
поєднують фільтрат і промивну рідину. Розчин лимонної кислоти (3,7 г) у воді (9,2 мл) завантажують при температурі 30°C або нижче в реакційну посудину і залишають IPI-335589 повільно викристалізовуватися з розчину у виді цитратної солі при 20, і потім при 0°C. Кристалічний продукт витягають фільтруванням з відсмоктуванням і промивають водою (3,7 мл). Після сушіння, цитратну сіль, 24е, виділяють у вигляді гідрату (3-5% мас. води) з виходом 89,5% (622 мг), при відношенні β-формі до α-формі, що досягає 90:1.



краплинну лійку; і протягом 1-2 годин реакція йде при температурі навколишнього середовища. Коли реакція цілком завершена, перемішування припиняють, шари розділяють, і органічний шар двічі промивають водою (2×6г). Органічний шар сушать

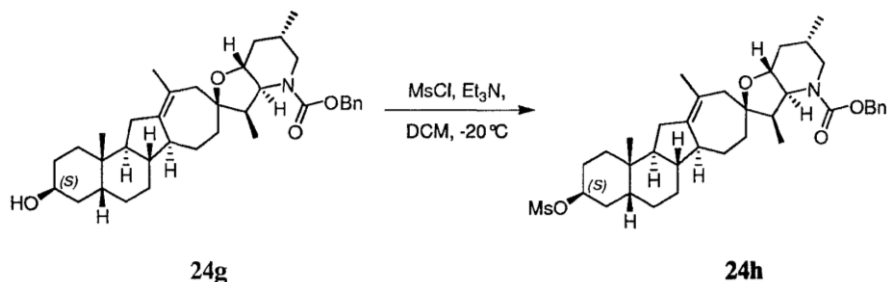
над сульфатом натрію (3 г), фільтрують і концентрують. Залишкову воду далі знижують концентруванням зі свіжоприготованого 2-

метилтетрагідрофурану (6,5 г) і речовину у вигляді розчину в безводному 2-метилтетрагідрофурані використовують у наступній реакції.



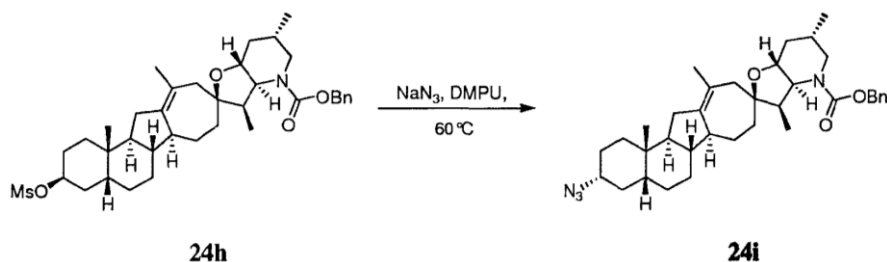
1 М розчин комерційного реагенту «K-Selectride» у ТГФ (1,20 г) в атмосфері азоту завантажують у суху реакційну посудину, розбавляють безводним 2-метилтетрагідрофураном (2,10 г) і проохлоджують до -65°C . Потім, щоб відрегулювати внутрішню температуру при $-65\pm 5^\circ\text{C}$, у реакційну посудину повільно додають розчин сполуки 24f (0,41 г) у 2-метилтетрагідрофурані (1,5 г). Реакційну суміш перемішують 2 години і протягом приблизно 1 години нагрівають до -20°C , і додатково перемішують ще 1 годину. Реакційну суміш контролюють по ВЕРХ і ті реакції, що не закінчені, доводять до завершення за допомогою додаткової кількості реагенту «K-selectride». Реакцію гасять

при низькій температурі спочатку MeOH (0,33 г), потім 3М NaOH (2,4 г) при -20°C і 15% розчином перексиду водню у воді (1,04 г) при температурі 5°C або нижче, перемішуючи потім протягом ночі при температурах навколишнього середовища. Шари розділяють, і органічний шар промивають послідовно 1М водним розчином NaOH (2 мл), 0,5 М водним розчином Na_2SO_3 (2 мл), і водою (2 мл), відрегульованої до $\text{pH} = 3$ за допомогою HCl. Органічний шар сушать над сульфатом натрію (0,82 г), фільтрують і концентрують. Продукт 24g (0,457 г) повторно концентрують з DCM (0,9 г) і використовують у наступній реакції.



Сполуку 24g (1,36 г) завантажують разом з безводним DCM (18,1 г) у реакційну посудину відповідного розміру, поміщають в інертну атмосферу і проохлоджують до -20°C . Завантажують триетиламін (0,61 мг) з наступним повільним додаванням метансульфонілхлориду (373 мг) у безводному DCM (300 мг). Реакційну суміш перемішують 1 годину при -20°C . Реакцію контролюють за ВЕРХ. Незакінчені реакції доводять до кінця за допомогою додаткової кількості метансульфонілхлориду. При завершенні, реакцію гасять водою (13,6 г) і

залишають нагріватися. Шари розділяють, і органічний шар промивають 2,5% мас. бікарбонатом натрію (13,8 г) і потім - водою (10,9 г). Органічний шар сушать над сульфатом натрію (4 г), фільтрують і концентрують. Розчинник у розчині продукту заміняють, спочатку завантажуючи і концентруючи трет-бутилметилловий ефір (10,9 мл), а потім 1,3-диметил-3,4,5,6-тетрагідро-2(1H)-піримідинон (DMPU, 4,7 мл). Розчин DMPU одразу використовують у наступній реакції.

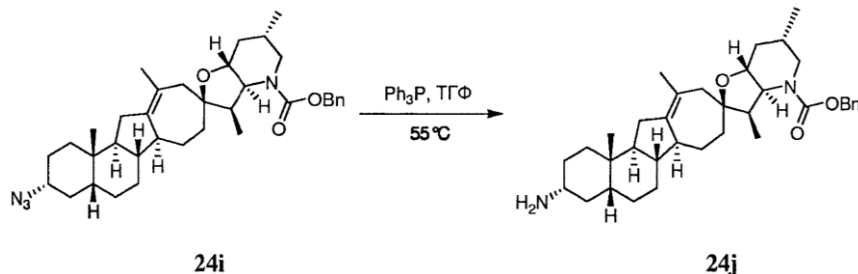


Азид натрію (0,74 г) завантажують у реакційну посудину відповідного розміру. Розчин сполуки

24h (1,46 г) у DMPU (5,9 г) завантажують у реакційну посудину, промиваючи додатковою кількістю

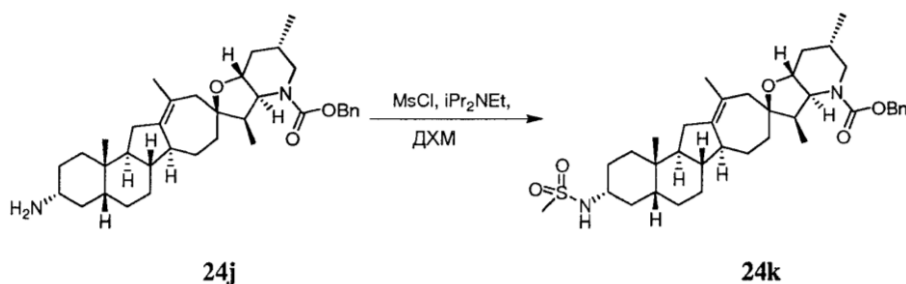
DMPU (1,9 г). Суспензію 15 годин нагрівають до 60°C, зберігаючи для повноти реакції продування азотом. Реакцію прохолоджують до температури навколишнього середовища і розбавляють MTBE (11,7 г). Органічний розчин 3 рази промивають 2%

сольовим розчином (3×8 г), сушать над сульфатом натрію (4,4 г), фільтрують і концентрують. Продукт концентрують із ТГФ (6,4 г) і одразу використовують у наступній реакції.



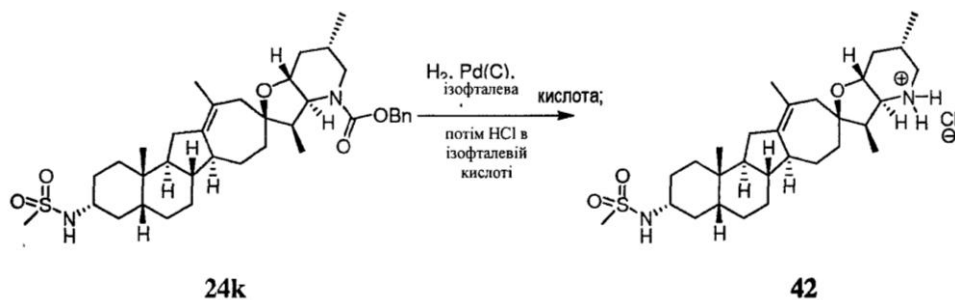
Неочищену сполуку 24i (1,34 г) розчиняють і переміщують у реакційну посудину відповідного розміру з ТГФ (12,6 г). Завантажують трифенілфосфін (0,70 г) і воду (0,44 г), і реакційну суміш 15-24 години нагрівають до 55°C. По завершенні, реакцію прохолоджують до температури навколишнього середовища, сушать сульфатом магнію (4 г), фільтрують і концентрують. Тверді частинки розчиняють і концентрують із трьох порцій DCM (3×9

г) очищують хроматографією на силікагелі, використовуючи градієнтне елювання сумішшю DCM/MeOH/Et₃N для видалення домішок, що надаються реагентами. Об'єднані фракції концентрують досуха, розчиняють у DCM (6,8 г) і знову концентрують досуха, щоб одержати аморфну тверду речовину (1,12 г), що використовують у наступній реакції.



Сполуку 24j (1,09 г) розчиняють і переміщують у реакційну посудину відповідного розміру, що містить безводний DCM (15,8 г), і поміщують в атмосферу азоту. Розчин прохолоджують до 0°C. Послідовно завантажують N,N-діізопропілетиламін (357 мг) і бездомішковий метансульфонілхлорид (0,165 мл), підтримуючи при цьому температуру нижче 5°C. Реакцію контролюють за ВЕРХ. Незавершені реакції доводять до кінця, додаючи додаткову кількість метансульфонілхлориду. Реакцію

гасять 0,4 М водні бікарбонати натрію (11,4 г) і нагрівають до температури навколишнього середовища. Шари розділяють, і водну фазу назад екстрагують DCM (5,8 г). Об'єднані органічні шари сушать над сульфатом магнію (0,55 г), фільтрують і концентрують. Продукт 24k розчиняють і відганяють з 2-пропанолу (4,0 г), щоб видалити залишковий DCM, і одразу використовують у наступній реакції.



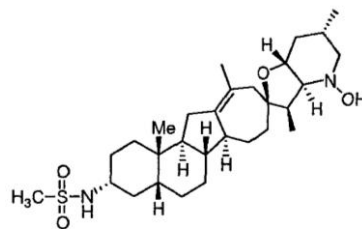
У реакційну посудину відповідного розміру завантажують Pd/C 10% (249 мг) (Aldrich Degussa тип E101 NE/W) і поміщують в атмосферу азоту. У

реакційну посудину завантажують розчин сполуки 24k (1,24 г) у 2-пропанолі (9,8 г). Систему дегазують і поміщують в атмосферу азоту; і процес по-

вторюють з воднем. Реакційну суміш 8 годин перемішують в атмосфері водню (1 атм.) при температурі навколишнього середовища. Посудину повертають в інертну атмосферу, і в реакційну суміш здійснюють друге завантаження каталізатора (125 мг), суспендованого в 2-пропанолі (0,5 г). Реакційну суміш дегазують і поміщають в атмосферу азоту, і процес повторюють з воднем. Реакційну суміш перемішують ще 15 годин при температурі навколишнього середовища в атмосфері водню (1 атм.). Реакцію контролюють за аналізом ВЕРХ. Незавершені реакції обробляють додатково кількістю каталізатора і водню. По завершенні, реакційну суміш фільтрують, обробляють вугіллям (200 мг), активованим водяною парою, і знову фільтрують. Розчин сушать частковим концентруванням, переміщують у реакційну посудину і розбавляють безводним 2-пропанолом до концентрації 0,09 М, ґрунтуючись на теоретичному виході. Протягом 20

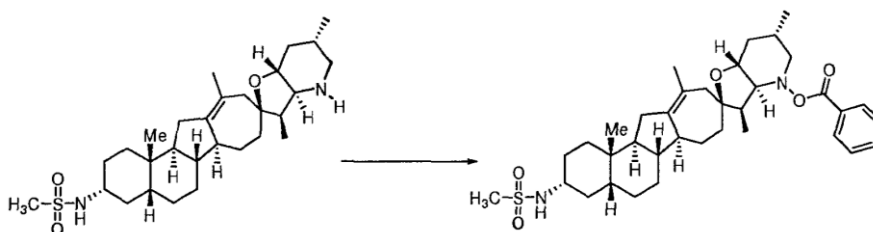
хвилин завантажують 1,25 М розчин HCl у 2-пропанолі (1,64 г). Гідрохлорид солі повільно кристалізується при обережному перемішуванні, і його відокремлюють фільтруванням. Кристали промивають 2-пропанолом (2,5 г) і сушать у вакуумі, щоб одержати сполуку 42 (916 мг, 80% вихід) у вигляді 1:1 сольвату IPA.

Приклад 25



47

Стадія А



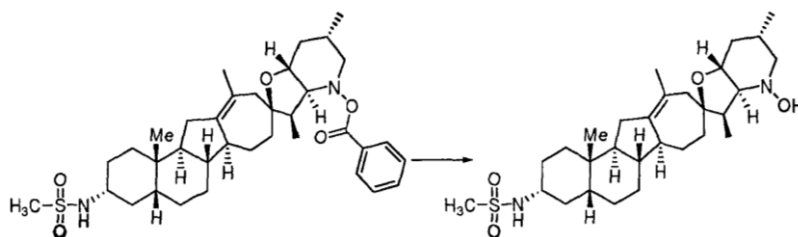
42

48

У круглодонну колбу завантажували амін 42 (1,1 г, 2,1 ммоль, 1 екв.), сухий тетрагідрофуран (10 мл) і піридин (880 мкл), 10,9 ммоль, 5 екв.). Охолоджену (0°C) суміш обробляли пероксидом бензоїлу (1,6 г, 6,5 ммоль, 3 екв.). Суміш перемішували 2 години при 0°, потім протягом ночі при 25°C. Реакційну суміш розбавляли MTBE і промивали сумішшю насиченого водного розчину NaHCO₃ і 1 н. розчину NaOH до розділення шарів.

Органічний шар збирали, а водний шар один раз повторно екстрагували MTBE. Об'єднані органічні шари промивали насиченим сольовим розчином, сушили над Na₂SO₄, фільтрували і концентрували досуха. Неочищене масло розчиняли в 5 мл CH₂Cl₂, завантажували в Si₂ колонку (40 г) і елюювали сумішшю гексани/EtOAc (10% до 50%), щоб одержати бензоїльне похідне 48 (380 мг) ([M+H]⁺ = 625,4 m/z).

Стадія В



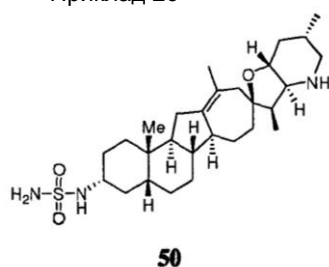
48

47

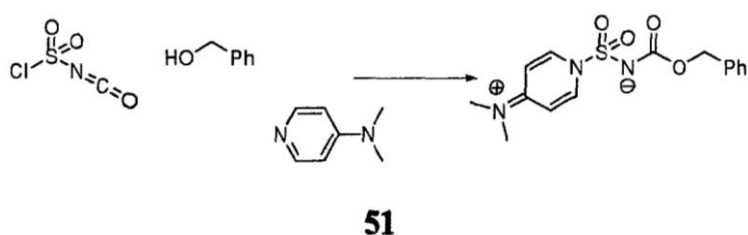
У круглодонну колбу завантажували сполуку 48 (374 мг, 0,6 ммоль, 1 екв.) і MeOH (5 мл). Розчин обробляли при 25°C у присутності 2 н. KOH (0,3 мл, 0,6 ммоль, 1 екв.). Суміш перемішували 3 години. Розчинник видаляли у вакуумі. Додавали MTBE до залишку, що нейтралізували 1 н. розчином HCl. Шари розділяли, і водний шар екстрагували двома порціями CH₂Cl₂. Об'єднані органічні

шари сушили над Na₂SO₄, фільтрували і концентрували досуха. Неочищену речовину (380 мг) розчиняли CH₂Cl₂, завантажували в Si₂ колонку (12 г) і елюювали сумішшю гексани/EtOAc (від 0% до 100%), щоб одержати гідроксиамін 47. Речовина ліофілізували із суміші t-BuOH/7% H₂O, щоб одержати 213 мг сполуки 47 у вигляді білого порошку. ([M+H]⁺ = 521,4 m/z).

Приклад 26



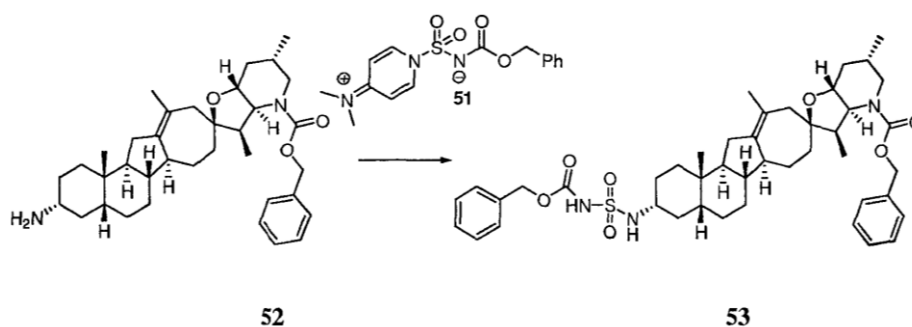
Стадія А



У колбу, висушену з використанням струмінної повітряної сушарки, завантажували сухий CH_2Cl_2 (5 мл) і бензиловий спирт (785 мкл, 7,58 ммоль, 1,3 екв.). Охолоджений (0°C) розчин обробляли хлорсульфонілізоціанатом (506 мкл, 5,83 ммоль, 1 екв.). Потім додавали DMAP (1,4 г, 11,6 ммоль, 2 екв.), і суміш перемішували 1 годину при

25°C . Після повного розчинення DMAP, реакційна суміш незначний час залишалася прозорою. Потім утворювався білий пухкий осад. Суміш розбавляли CH_2Cl_2 (30 мл) і промивали трьома порціями (30 мл, кожна) води. Органічний шар сушили над Na_2SO_4 , фільтрували й упарювали досуха. Необхідну білу тверду сполуку **51** без очищення використовували на наступній стадії.

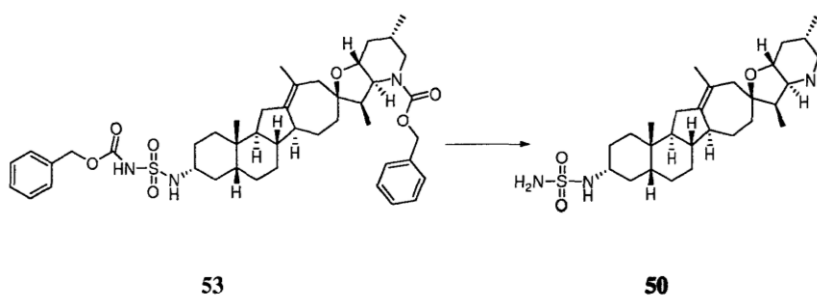
Стадія В



У круглодонну колбу завантажували сполуку **52** (30 мг, 0,053 ммоль, 1 екв.) і сполуку **51** (18 мг, 0,053 ммоль, 1 екв.). Обидва реагенти розчиняли в CH_2Cl_2 (2 мл), і розчин перемішували при 25°C .

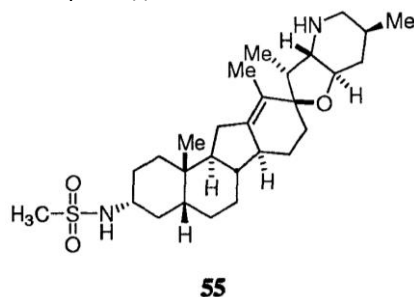
Неочищену речовину завантажували в Si_2 колонку (4 г) і елюювали сумішшю гексани/ EtOAc (від 0% до 50%), щоб одержати 16 мг сульфамойльного похідного **53** ($[\text{M}+\text{Na}] = 796,4 \text{ m/z}$).

Стадія С

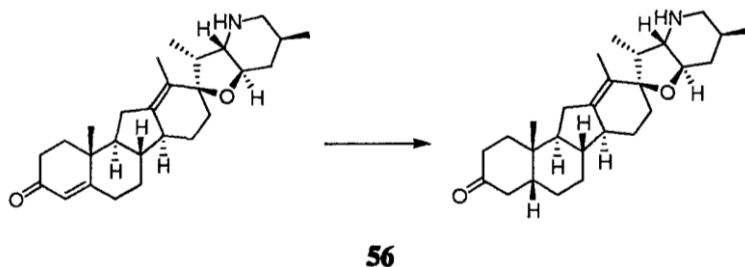


У круглодонну колбу завантажували сполуку 53 (16 мг, 0,021 ммоль, 1 екв.) і 11 мг 10% Pd/C (вологий, Aldrich Degussa тип E101). Речовину суспендували в 2-пропанолі (3 мл). Колбу герметизували і три рази продували воднем, і залишали протягом ночі в атмосфері водню (1 атм.). Завис фільтрували через 0,2 мікронний фільтр Acrodisc, промивали 2-пропанолом, і розчинник видаляли у вакуумі. Залишок очищували на Si₂ колонці (1 г), елюючи сумішшю CH₂Cl₂/MeOH (від 5% до 10%). Основний продукт ліофілізували із суміші т-BuOH/7% H₂O, щоб одержати 9 мг сульфаміду 50 ([M+H] = 506,4 m/z).

Приклад 27



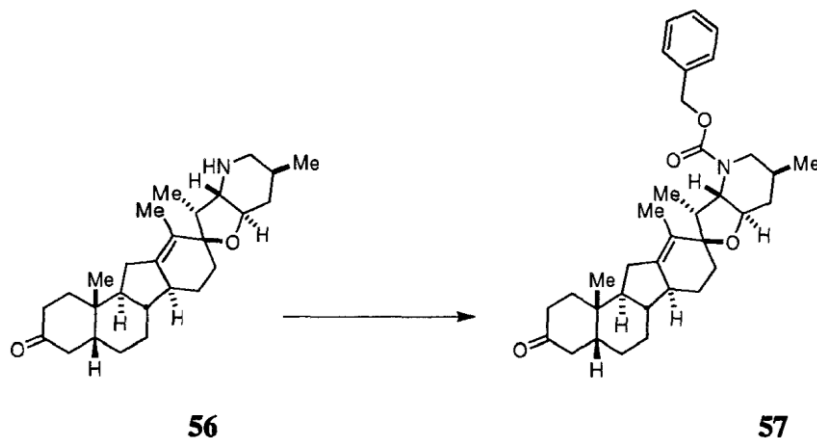
Стадія А



У круглодонну колбу завантажували циклопентан-4-ен-3-он (3,5 г, 8,5 ммоль, 1 екв.) і піридин (70 мл). У реактор завантажували Pd/C (10% Pd, 500 мг). Реакційну суміш помішували в атмосферу водню (1 атм.). Через 3,5 години, аналіз LCMS (рідинна хроматомас-спектрометрія) показала повну

витрату вихідної речовини. Каталізатор відфільтровували на 0,2 мікронному фільтрі Acrodisk і промивали толуолом. Розчинник видаляли у вигляді азеотропної суміші з толуолом (2×10 мл). Необхідну речовину 56, (3,5 г) ([M+H] = 412,5 m/z) використовували такою, як одержали, на наступній стадії.

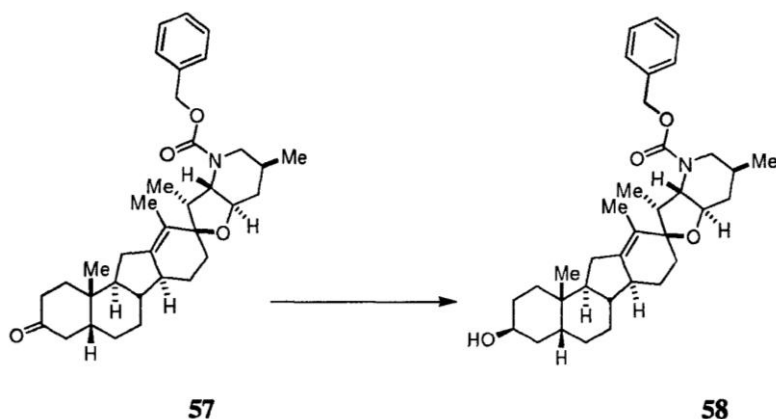
Стадія В



У круглодонну колбу завантажували речовину 56 (1,2 г, 2,8 ммоль, 1 екв.), CH₂Cl₂ (10 мл) і триетиламін (1,9 мл, 14,2 ммоль, 5 екв.). Охолоджений (0°C) розчин обробляли CBz-Cl (440 мкл, 2,8 ммоль, 1 екв.). Через 1 годину, аналіз LCMS показав повну витрату вихідної речовини. Суміш розбавляли водою. Шари розділяли, і органічний шар

двічі промивали водою. Органічний шар сушили над сульфатом натрію, фільтрували і концентрували досуха. Продукт очищували колонковою хроматографією (Si₂, 40 г), елюючи сумішшю гексан/EtOAc (від 0 до 20%), щоб одержати сполуку 57 (891 мг) ([M+Na] = 468,4 m/z).

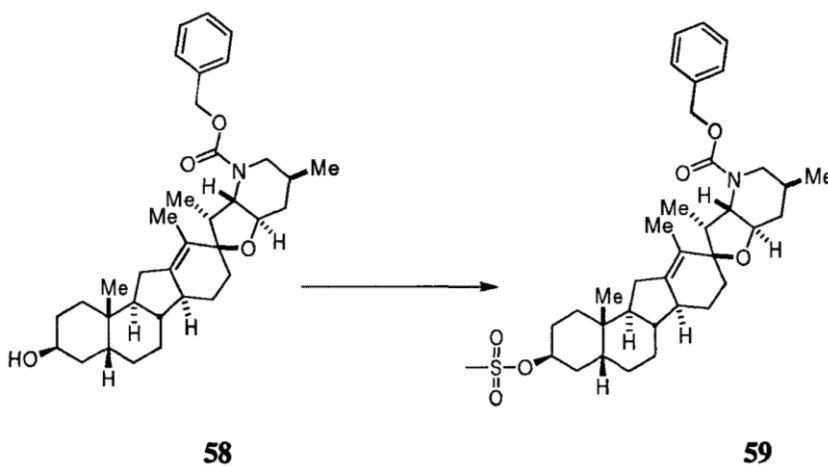
Стадія С



У круглодонній колбі, кетон **57** відганяли два рази у виді азеотропної суміші з CH_2Cl_2 і сушили 1 годину у вакуумі. В атмосфері азоту, кетон **2** (693 мг, 1,27 ммоль, 1 екв.) розчиняли в безводному ТГФ (20 мл), і розчин прохолоджували до -78°C . По краплях додавали 1М розчин реагенту K-selectride у ТГФ (1,9 мл, 1,9 ммоль, 1,5 екв.). Через 1 годину, згідно з ТШХ, реакція була завершена. Реакцію гасили, додаючи 2,6 мл 5 н. NaOH, з наступним повільним додаванням 2,6 мл 30% мас. H_2O_2 . Суміш, що виходить, залишали перемішувати

протягом ночі. Суміш розподіляли між водою і EtOAc. Водний шар екстрагували назад EtOAc. Об'єднані органічні речовини промивали спочатку водою (буферизованою невеликою порцією хлориду амонію), потім насиченим сольовим розчином. Органічну речовину сушили, фільтрували і концентрували до неочищеної піни (840 мг). Неочищену речовину розчиняли в CH_2Cl_2 , завантажували в Si_2 колонку (40г) і елюювали сумішшю гексани/EtOAc (від 0 до 50%), щоб одержати сполуку **58** (565 мг).

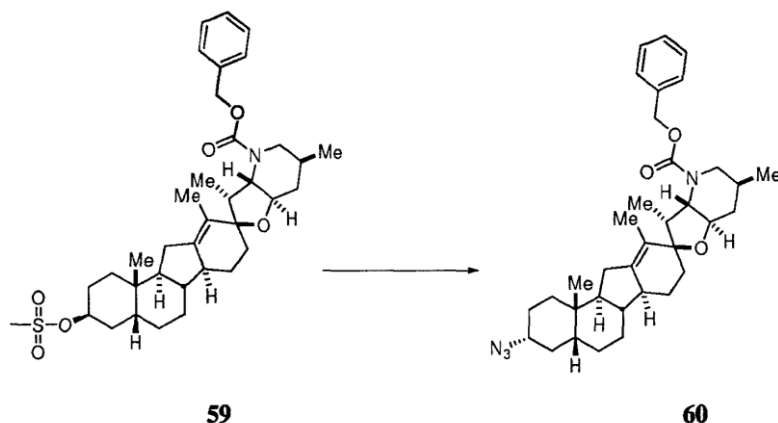
Стадія D



У круглодонній колбі в атмосфері азоту розчиняли спирт **58** (530 мг, 0,98 ммоль, 1 екв.) у 5 мл безводного CH_2Cl_2 і триетиламіну (800 мкл), 5,81 ммоль, 6 екв.). Реакційну суміш прохолоджували до 0°C і по краплях додавали Ms-Cl (112 мкл), 1,45 ммоль, 1,5 екв.). Суміш перемішували 30 хв при 0°C . ТШХ (сумішшю гексан:EtOAc, 7:3) показала ~70% перетворення. У реакційну посудину заван-

тажували 70 мкл триетиламіну (70 мкл), 0,5 екв.) і Ms-Cl (10 мкл), 0,1 екв.). Через 90 хв завантажували розчин насиченого бікарбонату, і залишок екстрагували CH_2Cl_2 . Органічний шар промивали водою, сушили і концентрували до не зовсім білої піни. Речовина розчиняли в CH_2Cl_2 і очищували на колонку Si_2 (40 г), елюючи сумішшю гексани/EtOAc (від 0% до 50%), щоб одержати сполуку **59** (430 мг).

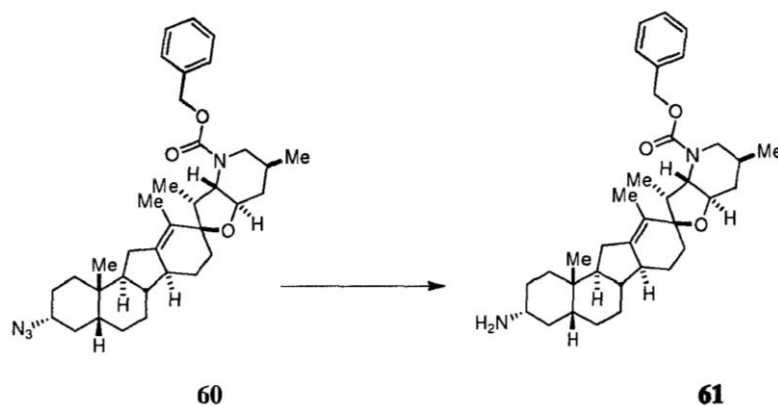
Стадія Е



У круглодонній колбі, розчиняли мезилат 59 (420 мг, 0,67 ммоль, 1 екв.) у 2 мл DMPU. Розчин при 60°C обробляли азидом натрію (218 мг, 3,4 ммоль, 5 екв.) протягом 5 годин. Суміш проохолоджували до 25°C, потім вливали в льодяну воду з утворенням білої твердої речовини. Сполука екст-

рагували МТВЕ (3 рази). Об'єднані органічні шари промивали водою (2X), потім насиченим сольовим розчином. Органічні шари сушили над Na_2SO_4 , фільтрували і концентрували до білої піни (342 мг). Необхідну речовину 60 використовували такою, як одержали, на наступній стадії.

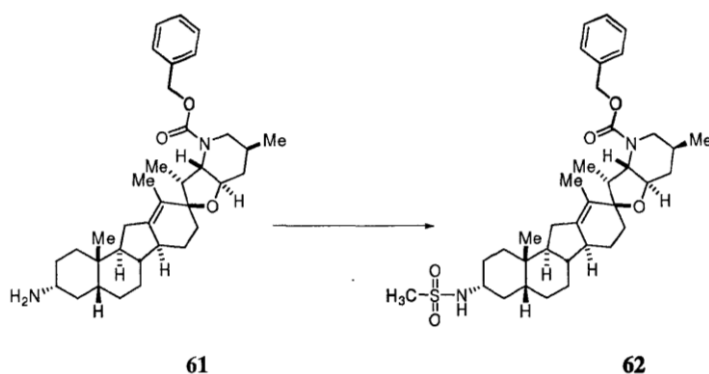
Стадія F



У круглодонній колбі, обладнаній холодильником, розчиняли азид 60 (336 мг, 0,58 ммоль, 1 екв.) у 7 мл ТГФ і 140 мкл води й обробляли трифенілфосфіном (462 мг, 1,76 ммоль, 3 екв.). Суміш протягом ночі нагрівали до 70°C. Аналіз ТШХ (сумішшю гексан/ EtOAc , 7:3) підтвердив, що реакція

завершена. Реакційну суміш концентрували досуха. Неочищену речовину розчиняли в CH_2Cl_2 , завантажували в SiO_2 колонку (12 г) і елювали сумішшю $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (від 0 до 20%), щоб одержати амін 61 (254 мг).

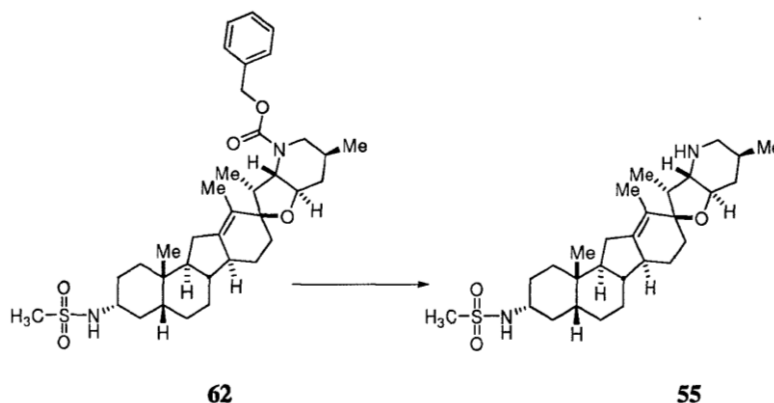
Стадія G



У круглодонній колбі в атмосфері азоту, розчиняли амін 61 (248 мг, 0,45 ммоль, 1 екв.) у 7 мл безводного CH_2Cl_2 і N,N-діізопропілетиламіну (237 мкл, 0,91 ммоль, 2 екв.). Реакційну суміш прохолоджували до 0°C і по краплях додавали Ms-Cl (70 мкл, 1,45 ммоль, 1,5 екв.). Суміш перемішували 2 години при 0°C . Аналіз ТШХ (сумішшю гексан/EtOAc, 7:3) показав незначну кількість аміну. У суміш завантажували 10 мкл Ms-Cl (0,2 екв.), і на-

грівали 1 годину до 25°C . Реакційну суміш розбавляли CH_2Cl_2 , потім насиченим розчином NaHCO_3 . Шари розділяли. Водний шар екстрагували однією порцією CH_2Cl_2 . Об'єднані органічні шари промивали водою, сушили над Na_2SO_4 , фільтрували і концентрували досуха. Неочищену речовину (326 мг) завантажували в Si_2 колонку (12 г) і елюювали сумішшю гексани/EtOAc (0 до 50%), щоб одержати сульфонамід 62 (256 мг).

Стадія Н



У круглодонну колбу завантажували сульфонамід 62 (250 мг, 0,4 ммоль, 1 екв.) і 50 мг 10% Pd/C (вологий, Aldrich Degussa тип E101 партія 08331KC). Речовину суспендували в EtOAc (5 мл). Колбу герметизували і три рази продували воднем, і перемішували в атмосфері водню (1 атм.). Через 3 години спостерігали деяке перетворення, але залишалося багато вихідної речовини. Завис фільтрували через 0,2 мікронний фільтр Acrodisc, промивали 2-пропанолом. У розчин фільтрату додавали 54 мг каталізатора, повторно створюючи умови протікання реакції. Через 3 години реакція була завершена. Завис фільтрували через 0,2 мікронний фільтр Acrodisc, промивали 2-пропанолом, і розчинник концентрували досуха. Неочищену речовину (200 мг) завантажували в Si_2 колонку (12 г), і сполуку піддавали градієнтному елюванню сумішшю $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (від 0 до 10%), щоб одержати вільний амін. Речовина ліофілізували із суміші t-BuOH/7% H_2O , щоб одержати 175 мг сполуки 55 у вигляді білого порошку. $[\text{M}+\text{H}] = 491,3 \text{ m/z}$.

Приклад 28

Інгібування сигнального шляху hedgehog у клітинній культурі

При використанні нижченаведеного тесту можуть бути виявлені ефекти загибелі специфічних ракових клітин, обумовлені сигнальним шляхом Hedgehog. Клітини C3H10T1/2 диференціюються в остеобласти, при контакт з обробленим ультразвуком пептидом hedgehog (Shh-N). Після диференціювання ці остеобласти продукують високі рівні лужної фосфатази (AP), що можуть бути вимірювані при ферментативному аналізі (Nakatsuma, et al., BBRC (1997) 237:465). Сполуки, що блокують диференціювання клітин C3H10T1/2 в остеобласти

(Shh-залежна подія), можна, тому, ідентифікувати за послабленням продукування AP (van der Horst, et al., Bone (2003) 33:899). Подробиці аналізу описані нижче. Апроксимація результатів тесту на диференціювання (EC_{50} для інгібування) наведена нижче в таблиці 1.

Протокол іспиту

Клітинна культура

Клітини C3H10T1/2 мишачих ембріональних мезодермальних фіброblastів (одержуваних у ATCC (американська колекція типових культур)) культивували при 37°C в основному середовищі MEM (мінімальному незамінному середовищу) (Gibco/Invitrogen) з 10% інактивованою нагріванням FBS (телячою ембріональною сироваткою) (Hyclone), 50 од./мл пеніциліну і 50 мкг/мл стрептоміцину (Gibco/Invitrogen), у повітряній атмосфері з 5 % CO_2 .

Аналіз лужної фосфатази

Клітини C3H10T1/2 висівали в 96 ямкові планшети з щільністю 8×10^3 клітин/ямку. Клітини вирощували до злиття (72 години). Після обробки обробленим ультразвуком, Hedgehog (250 нг/мл) і/або сполукою, клітини лізували в 110 мкл лізисного буфера (50 mM Tris pH 7,4, 0,1% TritonX100). Планшети обробляли ультразвуком, і лізати центрифугували з застосуванням фільтрувальних плашок з PVDF мембраною з діаметром 0,2 мкм (Corning). Лізати (40 мкл) аналізували на AP активність у лужному буферному розчині (Sigma), що містить 1 мг/мл п-нітрофеніл фосфату. Після інкубування при 37°C протягом 30 хв, планшети зчитували на Envision планшет-рідері на 405 нм. Загальний білок визначали, використовуючи набір для білкового аналізу BCA (BCA protein assay kit from Pierce), відповідно до інструкції виробника. AP

активність нормували по загальному білку. Помітимо, що знак "А" вказує на те, що IC₅₀ складає менше 20 нМ (n), знак "В" вказує, що IC₅₀ складає 20-100 нМ, знак "С" вказує, що IC₅₀ складає > 100 нМ.

Таблиця 1

Приблизні ЕС₅₀ для
аналізу інгібування диференціювання

Сполука	ЕС ₅₀
1	А
7	С
8	С
9	С
10	С
13	А
20	А
21	В
22	А
23	А
24	А
27	В
29	В
31	В
33	С
35	А
37	А
39	В
40	А
42	А
55	А

Приклад 29

Модель раку підшлункової залози

Активність сполуки 42 далі тестували на моделі підшлункової залози людини: Мишам підшкірно в бічну частину нижньої правої кінцівки імплантували клітини ВХРС-3. На 42 день після імплантування пухлини, мишей розділяли методом випадкового відбору на дві групи, для одержання або носія (30% НРВCD), або сполуки 42. Сполуки 42 вводили перорально в дозі 40 мг/кг/день. Після введення 25-ї щоденних доз, сполука 42 статистично знижувала об'ємний ріст пухлини на 40%, у порівнянні з контрольною групою, якій вводили носій (p=0,0309). Наприкінці дослідження, через 4 години після останньої дози, здійснювали забір пухлинних клітин, щоб оцінити відповідну реакцію мішені за q-ЗТ-ПЛР (q-RT PCR) аналізі генів сигнального шляху HH. Аналіз Gli-1 людини показав відсутність модуляції. Аналіз мишачих Gli-1 мРНК рівнів показав стійку даун-регуляцію в групі, що лікували сполукою, у порівнянні з групою, що лікували носієм. Інгібування сигнального шляху hedgehog у мишачих клітинах, але не в клітинах пухлини людини, показує, що єдиною дією інгібітору hedgehog є вплив на взаємодію пухлини і стромы.

Приклад 30

Модель Медулобластоми

Активність сполуки 42 оцінювали також на моделі медулобластоми трансгенних мишей. Миші, що є гетерозиготними, внаслідок мутацій із втра-

тою функцій у пухлинних супресорах Patched1 (Ptchl), і гіперметильованими при раковому (Hic1) розвитку спонтанної медулобластоми. Аналогічно людській медулобластомі, ці пухлини демонструють повне гіперметильовання промотору Hic1 алелю, що залишається, так само як втрату експресії Ptchl алелю дикого типу. При пасажі (пересіванні) у вигляді підшкірних алотрансплантатів ці пухлини ростуть агресивно і залежно від сигнального шляху hedgehog. Цю модель використовували, щоб оцінити ефективність пероральної сполуки, що вводиться, і відкоригувати активність з експозицією лікарського засобу в плазмі і пухлині. Пероральне введення (PO) одиничної дози сполуки 42 призводило до дозозалежної даун-регуляції сигнального шляху HH у підшкірно імплантованих пухлинах, що вимірювали за зниженою Gli-1 мРНК експресією через 8 годин після введення дози.

Щоденне (QD) введення сполуки PO призводило до дозозалежного інгібування росту пухлини, з явною регресією пухлини, що спостерігається при підвищених дозах. Ефективна щоденна приблизна пероральна доза для 50% інгібування росту пухлини (ED₅₀) складає 4 мг/кг. Коли тварин обробляли QD протягом 21 дня, після припинення лікування спостерігали тривале продовження виживаності (>60 днів), з незначним відновленням або відсутністю росту пухлини. Це показує, що інгібітор hedgehog сполука 42 інгібує і сигнальний шлях hedgehog, і ріст пухлини в пухлині, залежній, внаслідок генетичної мутації, від сигнального шляху hedgehog.

Приклад 31

Модель раку легень

Щоб тестувати активність сполуки 42 на моделі людської SCLC пухлини, клітини LX22 підшкірно імплантували в бічну частину правої нижньої кінцівки. LX22 являє собою первинну модель ксенотрансплантату SCLC, одержуваного від хворих, що не піддавалася хіміотерапії, що зберігали при серійному пасажі від миші до миші. Реакція пухлини на хіміотерапію етопозидом/карбоплатином дуже нагадує патологічний процес. У процесі хіміотерапевтичного лікування LX22 регресує, проходить через період ремісії і потім починає рецидивувати. На моделі LX22 тестували активність окремого представника сполуки і його здатність знижувати частоту хемостійкого (хеморезистентного) рецидиву. На 32 день після імплантування пухлини мишей методом випадкового відбору розділяли на три дозувальні групи, щоб приймати носій (30% НРВCD), сполуку або хіміотерапевтичну комбінацію етопозиду і карбоплатину (Е/Р). Сполуку 42 вводили перорально в дозі 40 мг/кг/день. Після введення 16 послідовних доз було відсутнє вимірюване розходження між групами, в яких мишей піддавали лікуванню, і групою, в якій мишам вводили носій. Етопозид вводили (i.v) внутрішньовенно при дозі 12 мг/кг на 34, 35, 36 і 48 день, тоді як карбоплатин вводили i.v. у дозі 60 мг/кг на 34, 41 і 48 день після імплантування пухлини. На 50 день, миші, яких лікували Е/Р, були розділені методом випадкового відбору, щоб для завершення лікування чи одержувати носій (30%НРВCD), чи сполуку. Сполуку вводили перорально в мульти-дозі

(MTD), що складає 40 мг/кг/день. Після 35 послідовних доз, у групі, що піддається лікуванню, спостерігали значну затримку рецидиву пухлини, у порівнянні з групою, що приймає носій ($p=0,0101$).

Приклад 32

Множинна мієлома

Здатність сполуки 42 інгібувати ріст клітин множинної мієломи (ММ) тестували *in vitro*, використовуючи клітинні лінії (NCI-H929 і KMS12) множинної мієломи людини і клінічні мазки крові кісткового мозку, одержувані від хворих ММ. Клітини 96 годин обробляли сполукою, промивали, потім висівали в метилцелюлозу. Через 10-21 день підраховували кількість колоній пухлин як індикатор здатності клітинного росту після обробки. Обробка клітинних ліній або зразків, одержуваних від первинних хворих, призвела до зменшеного клітинного росту, у порівнянні з неопрацьованим контро-

лем. Коли неопрацьований контроль показував 100% ріст клітин, кожна з оброблених клітинних ліній, як і клінічні зразки, показували менше 25% росту.

Приклад 33

Гострий мієлоїдний лейкоз і мієлодиспластичний синдром

Досліджували здатність сполуки 42 інгібувати *in vitro* ріст клітинних ліній людини, одержуваних від хворих гострим мієлоїдним лейкозом (ГМЛ (AML), клітинна лінія U937) і мієлодиспластичним синдромом (МДС (MDS), клітинна лінія KG1 і KG1a). Будь-яку з клітинних ліній обробляли 72 години сполукою 42 (1,0 мкм), з наступним висівом у метилцелюлозу. Ріст цих клітинних ліній інгібувався сполукою 42, що підсумовано в таблиці, наведеній нижче.

Таблиця 2

Інгібування клітинного росту при ГМЛ і МДС

Захворювання	ГБЛ	МДС	
Клітинна лінія	U937	KG1	KG1a
% утворення колоній при використанні сполуки 42 (відносно контролю з використанням носія)	43,4	25,1	34,6

Приклад 34

Неходжкінська лімфома (НХЛ) і хвороба Ходжкіна (ХХ)

Досліджували здатність сполуки 42 інгібувати *in vitro* ріст клітинних ліній людини, одержуваних від хворих неходжкінською лімфомою (клітинні

лінії RL і Јеко-1) і хворобою Ходжкіна (клітинна лінія L428). Будь-яку з клітинних ліній обробляли 72 години сполукою 42 (1,0 мкм) з наступним висівом у метилцелюлозу. Ріст цих клітинних ліній інгібувався сполукою 42, що підсумовано в таблиці, наведеній нижче.

Таблиця 3

Інгібування клітинного росту при ХХ і НХЛ

Захворювання	ХХ	НХЛ	
Клітинна лінія	L428	RL	Јеко-1
% утворення колоній при використанні сполуки 42 (відносно контролю з використанням носія)	21,4	14,3	27,4

Приклад 35

Гострий лімфолейкоз пре-В клітин

Вивчали активність сполуки 42 (1 мкм) проти трьох клітинних ліній (REH, RS4-11 і Nalm-6) гострого лімфолейкозу пре-В клітин, застосовуючи аналіз із транзгентною трансфекцією, в якому Gli-

респонсивний люциферазний репортер транзгентно трансфікували в клітини. Лікування сполукою 42 пригнічувало активність люциферази, у порівнянні з контролем, обробленим носієм (Таблиця 4). Це показує, що сполука 42 є ефективним антагоністом сигнального шляху hedgehog.

Таблиця 4

Пригнічення активності люциферази

Клітинна лінія	REH	RS4-11	Nalm-6
Відносна активність люциферази (тільки носій)	6,73	12,97	8,42
Відносна активність люциферази (+сполука)	1,12	1,31	1,44

Вивчали також дію сполуки 42 на ріст двох з цих клітинних ліній, оброблюваних 72 години *in vitro*. Після обробки клітини промивали і висівали в метилцелюлозу. Спостерігали слабе інгібування утворення колоній, але наступний вторинний висів колоній демонстрував значне інгібування клітинного росту (таблиця 5).

Таблиця 5

Інгібування клітинного росту в цілому

Клітинна лінія	REN	RS4-11
% утворення колоній (відносно контролю з носієм) при використанні сполуки (1-ий посів)	63	71
% утворення колоній (відносно контролю з носієм) при використанні сполуки (2-ий посів)	9	11

Включення шляхом посилання

Усі з цитованих тут патентів США й опублікованих заявок США на патент сьогодні включені в даний документ шляхом посилання.

Еквіваленти

Фахівці в даній галузі техніки зрозуміють або будуть здатні знайти, застосовуючи тільки звичайне експериментування, багато еквівалентів для конкретних варіантів здійснення винаходу, описаних тут. Такі еквіваленти призначені для включення в нижченаведену формулу винаходу.