



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 74531

(13) C2

(51) МПК (2006)

A61K 31/195 (2006.01)

A61K 31/275

A61K 31/40

A61K 31/445

A61K 31/381

A61K 31/405 (2006.01)

A61K 31/34

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ РОЗЛАДІВ, ОПОСЕРЕДНЕНИХ РЕЦЕПТОРАМИ АДГЕЗІЇ CD11/CD18, У ССАВЦІВ

1

2

(21) 2000106027

(22) 24.03.1999

(24) 16.01.2006

(86) PCT/US99/06410, 24.03.1999

(31) 60/079,732

(32) 27.03.1998

(33) US

(46) 16.01.2006, Бюл. № 1, 2006 р.

(72) Бурдік Даніель Дж., US, Гадек Томас Р., US, Макдауел Роберт С., US, Марстерс Джеймс С., US, Оаре Девід, US, Рейнольдс Марк, US, Стенлі Марк С., US, Уіз Кеннет Дж., US

(73) ДЖІНЕНТЕХ, ІНК., US

(56) WO 97 08133, A, 06.03.1997

EP 0325343, A, 26.07.1989

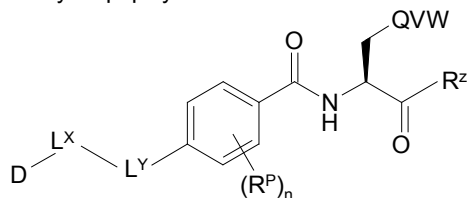
EP 0425660, A, 23.10.1991

EP 0530537, A, 10.03.1993

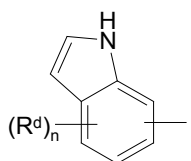
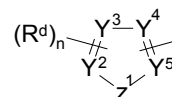
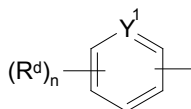
JP 5306226, A, 19.11.1991 (abstract)

WO 94 13295, A, 23.06.1994

(57) 1. Спосіб лікування ссавців, які мають імунні розлади, опосереднені через сімейство адгезивних рецепторів CD11/CD18, що включає введення ссавцеві фармакологічно ефективної кількості сполуки формули:



де D є ароматичною групою, вибраною з

де Y<sup>1</sup> вибраний з групи: NR<sup>n</sup>, CH та CR<sup>d</sup>;  
Y<sup>2</sup>, Y<sup>3</sup>, Y<sup>4</sup> і Y<sup>5</sup> вибрані з групи: CH та CR<sup>d</sup>;Z вибраний з групи: NR<sup>n</sup>, O та S;

n=0-3;

L<sup>x</sup> та L<sup>y</sup> разом є- (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-NH-C(O)-NH-,-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-C(O)-NH-,-NH-CH<sub>2</sub>-,-CH<sub>2</sub>-C(O)-NH-,-NH-C(CH<sub>3</sub>)H-C(O)-NH-,-NH-C(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>Cl)H-C(O)-NH-,-NH-C(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>OH)H-C(O)-NH-,-NH-C(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>C(O)NH<sub>2</sub>)H-C(O)-NH-,-CH=CH-C(O)-NH-CH<sub>2</sub>-,-C(CH<sub>3</sub>)=CH-C(O)-NH-CH<sub>2</sub>-,-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-,-NH-C(O)-C(CH<sub>2</sub>OH)H-NH-C(O)-,

-NH-C(O)-,

-C≡C-CH<sub>2</sub>-NH-C(O)-,

-C(алкіл)H-NH-C(O)-,

-C(OH)H-CH<sub>2</sub>-O-,-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-C(OH)H-,-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-C(O)-,-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-,-C(OH)H-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-,R<sup>p</sup> - галоген, NO<sub>2</sub> або метил;R<sup>z</sup> - OH;R<sup>d</sup> вибраний з групи:

(13) C2

(11) 74531

(19) UA

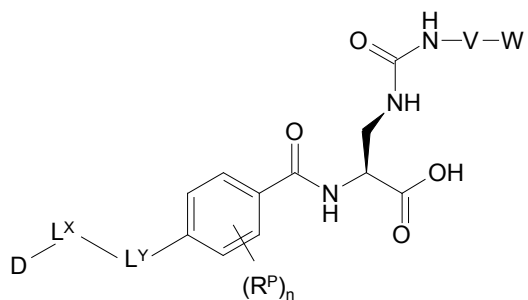
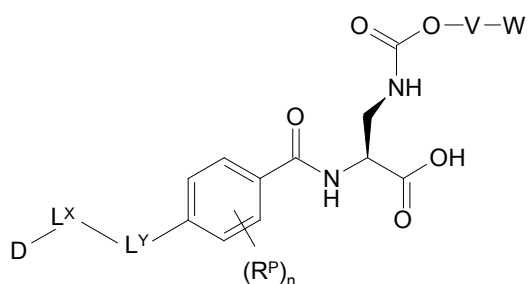
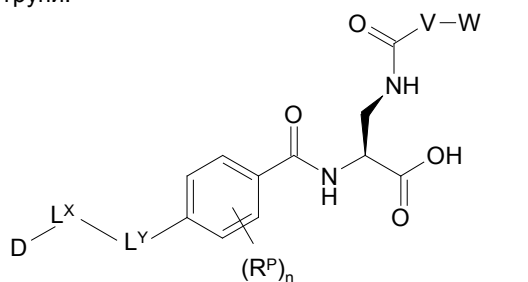
OH,  
 CN,  
 NO<sub>2</sub>,  
 галоген,  
 ізоціанат,  
 OR<sup>n</sup>,  
 SR<sup>n</sup>,  
 SOR<sup>n</sup>,  
 CF<sub>3</sub>,  
 R<sup>C</sup>,  
 NR<sup>n</sup>R<sup>n'</sup>,  
 NR<sup>n</sup>-C(=O)-O-R<sup>n'</sup>,  
 NR<sup>n</sup>-C(=O)-R<sup>n'</sup>,  
 C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-SO<sub>2</sub>-R<sup>n</sup>,  
 C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-SO<sub>2</sub>-NR<sup>n</sup>R<sup>n'</sup>,  
 C(=O)-R<sup>n</sup>,  
 O-C(=O)-R<sup>n</sup>,  
 C(=O)-O-R<sup>n</sup> та  
 C(=O)-NR<sup>n</sup>R<sup>n'</sup>,  
 коли R<sup>d</sup> відсутній, ароматична група D залишається двовалентною;  
 R<sup>C</sup> вибраний з групи: водень та заміщений або незаміщений  
 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-алкіл,  
 C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-алкеніл,  
 C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-алкініл,  
 C<sub>3</sub>-C<sub>11</sub>-циклоалкіл,  
 C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>-циклоалкеніл,  
 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>-арил,  
 C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-арил-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл,  
 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-гет,  
 гет-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл,  
 C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>-арил,  
 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-алкіл-O-,  
 C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-алкеніл-O-,  
 C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-алкініл-O-,  
 C<sub>3</sub>-C<sub>11</sub>-циклоалкіл-O-,  
 C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>-циклоалкеніл-O-,  
 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>-арил-O-,  
 C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-арил-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-O-,  
 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-гет-O-,  
 гет-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-O-,  
 C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>-арил-O-,  
 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-алкіл-NR<sup>n</sup>-,  
 C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-алкеніл-NR<sup>n</sup>-,  
 C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-алкініл-NR<sup>n</sup>-,  
 C<sub>3</sub>-C<sub>11</sub>-циклоалкіл-NR<sup>n</sup>-,  
 C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>-циклоалкеніл-NR<sup>n</sup>-,  
 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>-арил-NR<sup>n</sup>-,  
 C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-арил-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-NR<sup>n</sup>-,  
 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-гет-NR<sup>n</sup>-,  
 гет-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-NR<sup>n</sup>-,  
 C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>-арил-NR<sup>n</sup>- та  
 гет,  
 де замісниками у будь-якому алкілі, алкенілі або алкінілі є 1-3 радикали R<sup>a</sup>, а замісниками у будь-якому арилі або геті є 1-3 радикали R<sup>d</sup>,  
 гет є моно-, бі- або трициклічним насиченим, ненасиченим або ароматичним кільцем, що містить від 1 до 4 гетероатомів, вибраних з групи: азот, кисень та сірка;  
 R<sup>a</sup> вибраний з групи:  
 водень,  
 галоген (F, Cl, Br або I),  
 ціаногрупа,  
 ізоціанат,

карбоксигрупа,  
 карбокси-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл,  
 аміногрупа,  
 аміно-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл,  
 амінокарбоніл,  
 карбоксамідогрупа,  
 карбамоїл,  
 карбамоїлокси,  
 форміл,  
 формілокси,  
 азидогрупа,  
 нітрогрупа,  
 імідазоліл,  
 уреїдогрупа,  
 тіоуреїдогрупа,  
 тіоціанатогрупа,  
 гідроксигрупа,  
 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкоксигрупа,  
 меркаптогрупа,  
 сульфонамідогрупа,  
 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкілсульфоніл,  
 гет,  
 феноксигрупа,  
 фенол,  
 бензамідогрупа,  
 тозил,  
 морфоліногрупа,  
 морфолініл,  
 піперазиніл,  
 піперидиніл,  
 піролініл,  
 імідазоліл та  
 індоліл;  
 R<sup>n</sup> та R<sup>n'</sup> незалежно вибрані з групи:  
 водень,  
 гідроксигрупа,  
 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл,  
 галоген-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл, де галогеном є F, Cl, Br або I,  
 C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-гет,  
 гет-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл,  
 C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>-арил та  
 гет;  
 Q відсутній або є C<sub>0</sub>-C<sub>3</sub>-алкілом, заміщеним групою, вибраною з  
 -N(R<sup>n</sup>)-,  
 -N(R<sup>n</sup>)-C(=O)-,  
 -N(R<sup>n</sup>)-C(=O)-O-,  
 -N(R<sup>n</sup>)-C(=O)-N(R<sup>n</sup>)-,  
 -N(R<sup>n</sup>)-SO<sub>2</sub>-,  
 -C(=O)-,  
 -O-C(=O)-N(R<sup>n</sup>)-,  
 -C(=O)-N(R<sup>n</sup>)-,  
 V відсутній або є необов'язково заміщеною бівалентною групою, вибраною з  
 C<sub>1</sub>-C<sub>11</sub>-алкілену,  
 C<sub>0</sub>-C<sub>3</sub>-алкілен-O-C<sub>0</sub>-C<sub>3</sub>-алкілену,  
 C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкенілену,  
 C<sub>0</sub>-C<sub>2</sub>-алкілен-O-C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>-алкілену,  
 C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкілену,  
 C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-арил-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкілену,  
 C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-арилу та  
 C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-гету,  
 де замісниками у будь-якому алкілі є 1-3 радикали R<sup>a</sup>, а замісниками у будь-якому арилі або геті є 1-3 радикали R<sup>d</sup>,  
 W є C<sub>0</sub>-C<sub>3</sub>-алкілом, заміщеним групою, вибраною з

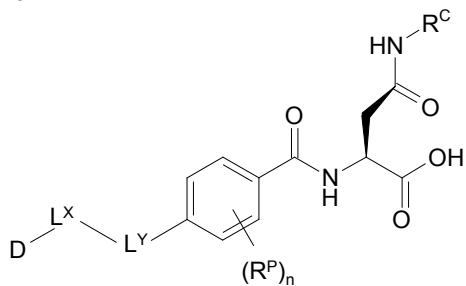
$R^a$ ,  
 $NH-C(=O)-NR^nR^{n'}$ ,  
 $NH-C(=O)-R^C$ ,  
 $C(=O)-R^C$ ,  
 $C(=O)-NH-C(=O)-R^C$ ,  
 $C(=O)-NH-C(=O)-NR^nR^{n'}$ ,  
 $C(=O)-NH-SO_2-R^C$ ,  
 $C(=O)-NH-SO_2-NR^nR^{n'}$ ,  
 $C(=O)-NR^nR^{n'}$ ,  
 $NH-C(=O)-R^C$  та  
 $R^C$ ,

а також фармацевтично прийнятної солі цієї сполуки, здатної регулювати адгезію між внутрішньоклітинними адгезивними молекулами та сімейством інтегринів рецепторів лейкоцитів.

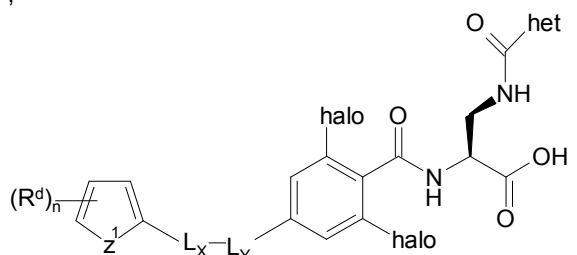
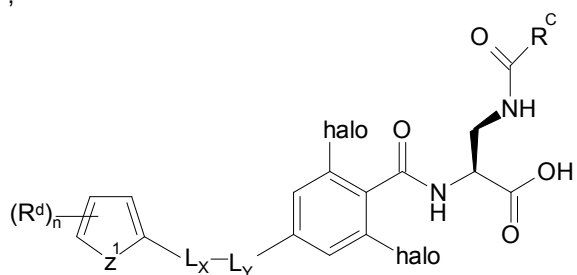
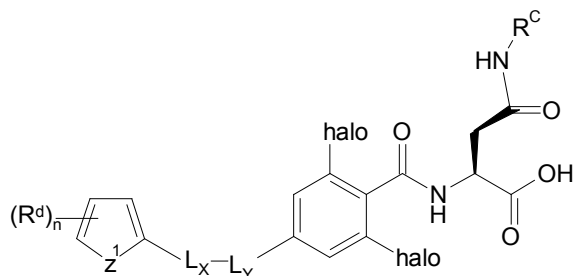
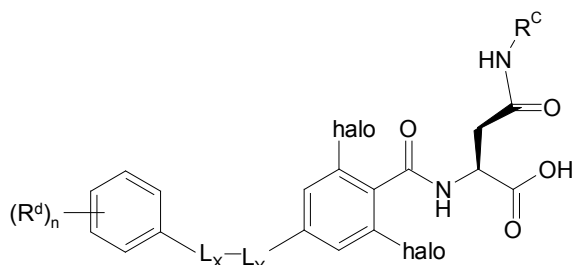
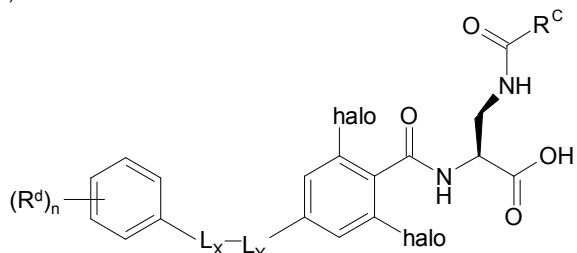
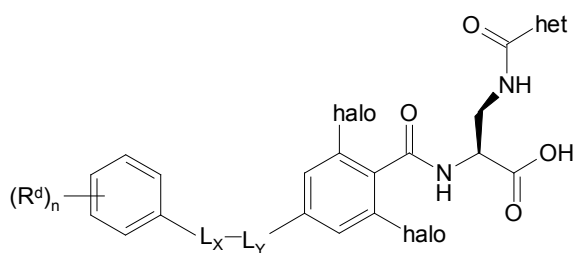
2. Спосіб лікування за п. 1, де сполуку вибирають з групи:



та



3. Спосіб лікування за п. 1, де сполуку вибирають з групи:



4. Спосіб лікування за п. 1, де адгезивний рецептор вибирають з LFA-1 (CD11a/CD18) та Mac-1 (CD11b/CD18).
5. Спосіб лікування за п. 4, де адгезивним рецептором є LFA-1.
6. Спосіб лікування за п. 1, де імунний розлад вибирають з групи: відторгнення пересаженого трансплантата або пересадженим трансплантатом, псоріаз, ревматоїдний артрит, астма та множинний склероз.

7. Спосіб лікування за п. 1, що додатково включає введення ссавцеві ефективної кількості імунодепресивного препарату.
8. Спосіб лікування за п. 1, що додатково включає введення ссавцеві ефективної кількості антагоніста VLA-4.
9. Спосіб лікування за п. 5, де розлад вибирають з псоріазу та астми, а терапевтично ефективну кількість антагоніста LFA-1 застосовують оральним, місцевим, черезшкірним, внутрішньолегеневим або внутрішньоносовим шляхом.
10. Спосіб лікування за п. 1, де ссавцем є людина.

Винахід стосується способів і терапевтичних сполук для лікування ссавців, переважно людей, які страждають або схильні до розладів, опосереднених рецепторами адгезії (CD11/CD18), особливо розладів, опосереднених лейкоцитарними LFA-1. Зокрема, воно стосується способів поліпшення або модулювання імунних реакцій, наприклад, що викликаються запальною, аутоімунною реакцією і відторгненням трансплантата, таких як псоріаз, ревматоїдний артрит, астма, множинний склероз, відторгнення після пересадки і т.д.

#### Запалення

Периферична кров людини складається в основному з червоних кров'яних телець (еритроцитів), тромбоцитів і білих кров'яних телець або лейкоцитів. Сімейство лейкоцитів додатково класифікується на нейтрофіли, лімфоцити (основні підтипи - В- і Т-клітини), моноцити, еозинофіли і базофіли. Нейтрофіли, еозинофіли і базофіли іноді називають «гранулоцитами» або «поліморфонуклеарними (ПМН) клітинами» завдяки наявності гранул в їх цитоплазмі і множині ядер в них. Гранулоцити і моноцити часто класифікуються як «фагоцити» через їх здатність до фагоцитозу або розщепленню мікроорганізмів і чужорідної матерії, в цілому званих «антигенами». Моноцити називаються так завдяки їх великим одиночним ядрам; ці клітини, в свою чергу, можуть перетворюватися в макрофаги. Фагоцити важливі для захисту організму від безлічі інфекцій, і разом з лімфоцитами беруть участь в запальних процесах. Нейтрофіли являють собою лейкоцити, що найчастіше зустрічаються в нормальній периферичній крові людини, за якими слідує лімфоцити. У мікролітрі нормальної периферичної крові людини міститься 6000 лейкоцитів, з яких біля 4000 складають нейтрофіли, 1500 - лімфоцити, 250 - моноцити, 150 - еозинофіли і 25 - базофіли.

Під час запального процесу лейкоцити периферичної крові нагромаджуються на ділянці запалення або пошкодження шляхом серії специфічних клітинних взаємодій (див. Фіг.1). Ініціювання і підтримка імунних функцій регулюється шляхом внутрішньоклітинних адгезивних взаємодій, а також трансдукції сигналу внаслідок взаємодій між лейкоцитами та іншими клітинами. Адгезія лейкоцитів до васкулярного ендотелію і міграція з кровообігу до місця запалення є критичним етапом в запальній реакції (Фіг.1). Імунне впізнавання Т-клітинних

лімфоцитів вимагає взаємодії Т-клітинних рецепторів з антигеном (в поєднанні з головним комплексом тканинної сумісності, ГКТ), а також рецепторами адгезії, які сприяють прикріпленню Т-клітин до антиген-представляючих клітин і перетворюють сигнали для активації Т-клітин. Функціональна група лімфоцитів, яка зв'язує антиген-1, була ідентифікована як головний інтегрин, який опосереднює адгезію і активацію лімфоцитів, яка веде до нормальної імунної реакції, а також кілька патологічних станів [Springer, T.A., Nature 346:425-434 (1990)]. Внутрішньоклітинні адгезійні молекули (ICAM)-1, -2, -3, члени надсімейства імуноглобулінів, є лігандами для інтегрину LFA-1, виявленого в ендотеліальних клітинах, лейкоцитах і інших типах клітин. Скріплення LFA-1 з молекулами ICAM опосереднює цілий ряд функцій лімфоцитів, включаючи вироблення лімфокинів Т-клітин-помічників у відповідь на присутність антиген-представляючих клітин, Т-лімфоцит-опосереднений лізис клітин-мішеней, природне знищення пухлинних клітин і вироблення імуноглобуліну шляхом взаємодій Т-клітин/В-клітини. Таким чином, багатогранні функції лімфоцитів включають взаємодію інтегрину LFA-1 і його ICAM-лігандів. Ці LFA-1:ICAM-опосереднені взаємодії безпосередньо беруть участь в численних запальних станах, таких як відторгнення трансплантата, дерматити, псоріаз, астма і ревматоїдний артрит.

У той час як LFA-1 (CD11a/CD18) в лімфоцитах грає ключову роль в хронічних запальних і імунних реакціях, інші члени сімейства лейкоцитарних інтегринів (CD11b/CD18, CD11c/CD18 і CD11d/CD18) також грають важливу роль в інших лейкоцитах, таких як гранулоцити і моноцити, особливо під час первинної реакції на інфікуючі агенти і при гострій запальній реакції.

Основна функція поліморфонуклеарних лейкоцитів, похідних від ліній нейтрофілів, еозинофілів і базофілів, складається в сприйнятті запальних стимулів і проникненні через ендотеліальний бар'єр для здійснення очищувальної функції як першочергового захисту організму. Інтегрин Mac-1 (CD11b/CD18) швидко впливає на ці клітини після активації і зв'язування з їх численними лігандами, що призводить до вивільнення кисень-похідних вільних радикалів, протеаз і фосфоліпаз. При деяких хронічних запальних станах це накопичення регулюється неправильно, що призводить до зна-

чних пошкоджень клітин і тканин [Harlan, J.M., *Acta Med Scand Suppl.*, 715:123 (1987); Weiss, S., *New England J. of Med.*, 320:365 (1989)].

LFA-1 (CD11a/CD18) і Mac-1 (CD11b/CD18)

Сімейство (CD11/CD18) молекул адгезійних рецепторів включає чотири близькоспоріднених глікопротеїна клітинної поверхні: LFA-1 (CD11a/CD18), Mac-1 (CD11b/CD18), LFA-1 p150.95 (CD11c/CD18) і (CD11d/CD18). LFA-1 присутній на поверхні всіх зрілих лейкоцитів, за винятком підмозжовини макрофагів, і вважається головним лімфоїдним інтегрином. Експресія Mac-1, p150.95 і CD11d/CD18 насамперед обмежується клітинами мієлоїдного походження (які включають нейтрофіли, моноцити, макрофаги і щоглові клітини). Функціональні дослідження показали, що LFA-1 взаємодіє з кількома лігандами, включаючи ICAM-1 [Rothlein et al., *J. Immunol.* 137:1270-1274 (1986)], ICAM-2 [Staunton et al., *Nature* 339:361-364 (1989)], ICAM-3 [Fawcett et al., *Nature* 360:481-484 (1992); Vezeux et al., *Nature* 360:485-488 (1992); de Fougerolles and Springer, *J. Exp. Med.* 175:185-190 (1990) і теленцефалін (Tian et al., *J. Immunol.* 158:928-936 (1997)).

Сімейство CD11/CD18 за структурою і генетикою віднесене до більш великого інтегринового сімейства рецепторів, які модулюють клітинні адгезивні взаємодії, що включають ембріогенез, адгезію до позаклітинних субстратів і диференціацію клітин (Hynes, R.O., *Cell* 48:549-554 (1987); Kishimoto et al., *Adv. Immunol.* 46:149-182 (1989); Kishimoto et al., *Cell* 48:681-690 (1987); Ruoslahti et al., *Science* 238:491-497 (1987).

Інтегрини це клас мембрано-зв'язуючих гетеродимерів, що включає підгрупу  $\alpha$  в нековалентному зв'язку з підгрупою  $\beta$ . Підгрупи  $\beta$ , як правило, здібні до зв'язування з більш ніж однією підгрупою  $\alpha$ , і гетеродимери, що містять загальну підгрупу  $\beta$ , класифікуються як підродини всередині популяції інтегринів [Larson and Springer, «Structure and function of leukocyte integrins», *Immunol. Rev.* 114:181-217 (1990)].

Було виявлено, що інтегринові молекули сімейства CD11/CD18 і їх клітинні ліганди опосередковують безліч міжклітинних взаємодій, особливо при запаленні. Ці протеїни мають найважливіше значення для адгезивних функцій в імунній системі [Kishimoto et al., *Adv. Immunol.* 46:149-182 (1989)]. Показано, що моноклональні антитіла до LFA-1 блокують адгезію лейкоцитів до ендотеліальних клітин [Dustin et al., *J. Cell. Biol.* 107:321-331 (1988); Smith et al., *J. Clin. Invest.* 83:2008-2017 (1989)] і інгібують активацію Т-клітин [Kuypers et al., *Res. Immunol.* 140:461 (1989)], утворення кон'югатів, необхідних для антиген-специфічного знищення ЦТК (цитотоксичних Т-клітин) [Kishimoto et al., *Adv. Immunol.* 46:149-182 (1989)], проліферації Т-клітин [Davignon et al., *J. Immunol.* 727:590-595 (1981)] і знищення NK-клітин [Krensky et al., *J. Immunol.* 751:611-616 (1983)].

Молекули ICAM

ICAM-1 (CD54) це рецептор адгезії клітинної поверхні, що є членом надсімейства імуноглобулінових протеїнів [Rothlein et al., *J. Immunol.* 737:1270-1274 (1986); Staunton et al., *Cell* 52:925-933 (1988)]. Для членів цього надсімейства харак-

терна присутність одної або більше ділянок Ig-гомологічності, кожна з яких складається з петлі, зв'язаної дисульфідним містком, яка містить ряд протинаправлених  $\beta$ -складчастих ниток, укладених у вигляді двох листів. Ідентифіковано три типи ділянок гомологічності, кожна з яких має типову довжину і узгоджену послідовність амінокислотних залишків, розташованих між цистеїнами дисульфідного зв'язку [Williams, A. F. et al., *Ann Rev. Immunol.* 6:381-405 (1988); Hunkapillar, T. et al. *Adv. Immunol.* 44:1-63 (1989). ICAM-1 виражені в різноманітних гематопоетичних і негематопоетичних клітинах і зазнають на ділянках запалення впливу різних запальних медіаторів [Dustin et al., *J. Immunol.* 137:256-254 (1986)]. ICAM-1 являє собою глікопротеїн з молекулярною масою (M<sub>r</sub>) 90 000-110 000 з низькими рівнями РНК-посередників і помірною поверхневою експресією в нестимульованих ендотеліальних клітинах. LPS, EL-1 і TNF сильно впливають на мРНК ICAM-1 і поверхневу експресію з піком експресії приблизно через 18-24 години [Dustin et al., *J. Cell. Biol.* 707:321-331 (1988); Staunton et al., *Cell* 52:925-933 (1988)]. ICAM-1 має п'ять позаклітинних імуноглобуліноподібних доменів (позначених доменами 1, 2, 3, 4 і 5 або D1, D2, D3, D4 і D5) і внутрішньоклітинний або цитоплазматичний домен. Структури і послідовності доменів описані Staunton et al. (*Cell* 52:925-933 (1988)).

ICAM-1 спочатку був визначений як протирецептор для LFA-1 [Springer et al., *Ann. Rev. Immunol.* 5:223-252 (1987); Marlin *Cell* 51:813-819 (1987); Simmons et al., *Nature* 331:624-627 (1988); Staunton *Nature* 339:61-64 (1989); Staunton et al., *Cell* 52:925-933 (1988)]. Відомо, що взаємодії LFA-1/ICAM-1 щонайменше частково відповідальні за адгезію лімфоцитів [Dusting et al., *J. Cell. Biol.* 107:321-331 (1988); Mentzer et al., *J. Cell. Physiol.* 126:285-290 (1986)], адгезію моноцитів [Amaout et al., *J. Cell. Physiol.* 137:305 (1988); Mentzer et al., *J. Cell. Physiol.* 130:410-415 (1987); te Velde et al., *Immunology* 61:261-267 (1987)], і адгезію нейтрофілів [Lo et al., *J. Immunol.* 143(10):3325-3329 (1989); Smith et al., *J. Clin. Invest.* 83:2008-2017 (1989)] до ендотеліальних клітин. Шляхом розвитку функції, що блокує моноклональні антитіла до ICAM-1, були ідентифіковані додаткові ліганди для LFA-1 - ICAM-2 і ICAM-3 [Simmons, *Cancer Surveys* 24, *Cell Adhesion and Cancer*, 1995], які опосередковують адгезію лімфоцитів до інших лейкоцитів, а також до негематопоетичних клітин. Взаємодії LFA-1 з ICAM-2 згодом опосередковують природну згубну активність клітин [Helander et al., *Nature* 382:265-267 (1996)], а зв'язування ICAM-3 згодом грає роль в активації лімфоцитів і ініціюванні імунної реакції (Simmons, там же). Точна роль цих лігандів в нормальній і аберантній імунній реакції ще має бути з'ясована.

Розлади, опосереднені Т-лімфоцитами

Функції, що блокують моноклональні антитіла, показали, що LFA-1 важливий для Т-лімфоцит-опосередненого знищення, реакції Т-допоміжних лімфоцитів, природного знищення і антитіло-залежного знищення [Springer et al., *Ann. Rev. Immunol.* 5:223-252 (1987)]. Адгезія до клітин-

мішеней, а також активація і сигналізація являють собою етапи, що блокуються антитілами до LFA-1.

Багато розладів і захворювань опосереднені через Т-лімфоцити, і існують різні підходи до лікування цих захворювань. Ревматоїдний артрит (РА) - один з таких розладів. Сучасні методики лікування РА включають постільний режим, використання тепла і ліків. На цей час ліками, яким віддається перевага, є саліцилат, зокрема, оскільки альтернативні препарати, такі як імунодепресивні агенти і адреностероїди, можуть викликати більшу захворюваність, ніж сам розлад, що підлягає лікуванню. Є багато нестероїдних протизапальних ліків, і численні з них виявляють анальгезуючу, жарознижуючу і протизапальну активність у пацієнтів, страждаючих РА. Ці ліки включають циклоспорин, індометацин, фенілбутазон, похідні фенілоцтової кислоти, такі як ібупрофен і фенпрофен, нафталеноцтові кислоти (напроксен), піропалканова кислота (тометин), індоцетові кислоти (суліндак), галогенована антранілова кислота (меклофенамат натрію), піроксикам і дифлунизал. Інші агенти для застосування при РА включають протималярійні препарати, такі як хлорохін, солі золота і пеніциламін. Ці альтернативні ліки часто створюють серйозні побічні ефекти, включаючи ретинальні пошкодження і нирковий і кістковомішковий токсичний ефект. Імунодепресивні агенти, такі як метотрексат, використовуються тільки при лікуванні важких і безперервних РА через їх токсичність. Кортикостероїди також відповідальні за небажані побічні ефекти (наприклад, катаракти, остеопороз і синдром Кушинга) і погано сприймаються багатьма пацієнтами.

Інший розлад, опосереднений Т-лімфоцитами, - відторгання трансплантатів після пересадки. Спроби пролонгувати життєздатність пересаджених алотрансплантатів і ксенотрансплантатів або запобігти відторгненню трансплантата організмом господаря, як в експериментальних моделях, так і в медичній практиці, сконцентрувалися в основному на пригнічванні імунного апарату господаря/реципієнта. Це лікування направлено на превентивне імунопригнічвання і/або лікування відторгання трансплантата. Приклади агентів, що використовуються для превентивного імунопригнічвання, включають цитотоксичні препарати, антиметаболіти, кортикостероїди і протилімфоцитну сироватку. Неспецифічні імунодепресивні агенти, визнані особливо ефективними для превентивного імунопригнічвання (азатіоприни, бромокриптин, метилпреднізолон, преднізон і, в недавній час, циклоспорин А), істотно підвищують клінічний успіх трансплантації. Нефротоксичність циклоспорина А після ниркової трансплантації знижується шляхом супутнього застосування стероїдів, таких як преднізолон або преднізон в поєднанні з азатіоприном. Крім того, нирки успішно пересаджують з використанням протилімфоцитного глобуліну, а потім циклоспорина А. Інший протокол лікування, що досліджується, включає загальне лімфоїдне опромінення реципієнта перед трансплантацією з подальшим мінімальним імунопригнічванням після трансплантації.

Лікування відторгнення включає використання стероїдів, 2-аміно-6-арил-5-заміщених піримідинів,

гетерологічного протилімфоцитного глобуліну і моноклональних антитіл до різних популяцій лейкоцитів, включаючи ОКТ-3. Див. в цілому J. Pediatrics, 111: 1004-1007 (1987), і особливо Патент США No.4,665,077.

Основне ускладнення імунодепресивних ліків складається в інфекціях. Крім того, системне імунопригнічвання супроводиться небажаними токсичними ефектами (наприклад, нефротоксичністю при використанні циклоспорина А після ниркової трансплантації) і зниженням рівня гемопоетичних стовлових клітин. Імунодепресивні ліки можуть також привести до ожиріння, поганого загоєння ран, стероїдної гіперглікемії, стероїдного психозу, лейкопенії, гастроінтестинальної кровотечі, лімфомі і гіпертензії.

У зв'язку з цими ускладненнями трансплантаційні імунологи знаходять способи пригнічення імунної реактивності антиген-специфічним чином (тобто, щоб пригнічувалася лише імунна реакція на алоантиген донора). Крім того, терапевти, що спеціалізуються на аутоімунних захворюваннях, прагнуть до використання способів пригнічення аутоімунної реактивності таким чином, щоб пригнічувалася лише реакція на самоантиген. Таке специфічне імунопригнічення загалом досягається шляхом модифікації антигенності тканини, що пересаджується, або специфічних клітин, здатних до опосередкування відторгнення. У певних випадках буде стимулюватися або імунітет, або толерантність, в залежність від способу, у який антиген буде представлений в імунній системі. При дослідженні в двох мишачих модельних системах було виявлено, що попередня обробка тканин ало-трансплантатів шляхом вирощування в тканинній культурі перед трансплантацією призводить до постійного акцентування через бар'єри ГКТ. Lafferty et al., Transplantation, 22:138-149 (1976); Bowen et al., Lancet, 2:585-586 (1979). Було зроблене припущення, що така обробка призводить до пригнічення лімфоїдних клітин пасажирів і, таким чином, до відсутності популяції клітин-стимуляторів, необхідних для імуногенності тканини. Lafferty et al., Annu. Rev. Immunol, 7:143 (1983). Див. також Lafferty et al., Science, 188:259-261 (1975) (витримка щитовидної залози в культурі органу), а також Gores et al., J. Immunol, 137:1482-1485 (1986) і Faustman et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 78: 5156-5159 (1981) (інсулоцити, оброблені мишачою антисироваткою до Ia і комплементовані перед трансплантацією). Крім того, щитовидні залози, взяті у донорів-тварин і заздалегідь оброблені лімфоцитотоксичними препаратами і гамма-опроміненням і культивовані протягом 10 днів *in vitro*, не були відторгнуті жодним нормальним алогенним реципієнтом [Gose and Bach, J.Exp.Med 149:1254-1259 (1979)]. Всі ці методики використовують пригнічення або видалення лімфоцитних клітин донора.

У деяких моделях, таких як васкулярні і ниркові трансплантати, існує кореляція між відповідністю Класу II і пролонгованою життєздатністю алотрансплантатів, крім трансплантатів шкіри [Pescovitz et al., J.Exp.Med, 160:1495-1508 (1984); Conti et al., Transplant. Proc, 19: 652-654 (1987)]. Тому використовується відповідність ЛАЧ (лейко-

цитарного антигена людини) донора і реципієнта. Крім того, була виявлена ефективність переливань крові перед трансплантацією [Opelz et al., *Transplant. Proc.*, 4: 253 (1973); Persijn et al., *Transplant. Proc.*, 23:396 (1979)]. Поєднання переливання крові перед трансплантацією, відповідності ЛАЧ донора і реципієнта і імунодепресивної терапії (циклоспорин А) після трансплантації показало значне поліпшення міри життєздатності трансплантатів, а ефекти були визнані взаємодоповнюючими [Opelz et al., *Transplant. Proc.*, 17:2179 (1985)].

Реакція на трансплантацію може бути також модифікована антитілами, дія яких направлена на імунні рецептори для антигенів ГКТ [Bluestone et al., *Immunol. Rev.* 90:5-27 (1986)]. Крім того, життєздатність трансплантата може бути пролонгована в присутності антитіл до трансплантата, що викликають реакцію організму господаря, яка, в свою чергу, забезпечує специфічне імунопригнічування [Lancaster et al., *Nature*, 315: 336-337 (1985)]. Імунна реакція організму-господаря на антигени ГКТ може бути специфічно модифікована шляхом трансплантації кісткового мозку як підготовчої операції перед пересадкою органу. Таким чином, моноклональні антитіла до Т-клітин використовуються для пригнічення зрілих Т-клітин мозкового прищеплювального матеріалу донора, щоб забезпечити можливість трансплантації кісткового мозку, не накликаючи небезпеки реакції «трансплантат проти господаря» [Mueller-Ruchholtz et al., *Transplant Proc.*, 8:537-541 (1976)]. В доповнення до цього, елементи лімфоїдних клітин господаря, що залишаються для трансплантації кісткового мозку, вирішують проблему імунонекомпетентності, що виникає при використанні повністю алогенних трансплантатів.

Як показано на Фіг.1, зчеплення лімфоцитів з ендотелієм є ключовою подією в запальному процесі. Існує щонайменше три відомих шляхи зчеплення лімфоцитів з ендотелієм, в залежності від стану активації Т-клітин і ендотеліальних клітин. Імунне впізнавання Т-клітин вимагає участі рецептора Т-клітин, а також адгезійних рецепторів, які сприяють прикріпленню Т-клітин до антиген-представляючих клітин і передають регулятивні сигнали для активації Т-клітин. Антиген-1, пов'язаний з лімфоцитною функцією (LFA-1, або CD11a/CD18,  $\alpha_L\beta_2$ , де  $\alpha_L$  = CD11a, а  $\beta_2$  = CD18) ідентифікований як головний інтегриновий рецептор в лімфоцитах, що бере участь в цих взаємодіях клітинного зчеплення, які ведуть до кількох патологічних станів. ICAM-1, імуноглобуліноподібна адгезійна молекула ендотеліальної клітини, є відомим лігандом для LFA-1 і безпосередньо причетна до відторгання трансплантатів, псоріазу і артриту.

LFA-1 необхідний для ряду лейкоцитарних функцій, включаючи вироблення лімфокинів Т-клітинами-помічниками у відповідь на присутність антиген-представляючих клітин, Т-лімфоцитопосереднений лізис клітин-мішеней і вироблення імуноглобуліну шляхом взаємодій Т-клітин/В-клітини. Активація рецепторів антигена на поверхні Т-клітин і В-клітин дозволяє LFA-1 зв'язуватися з його лігандом з більш високою спорідненістю.

Моноклональні антитіла (Mab) до LFA-1 забезпечили первинну ідентифікацію і дослідження функції LFA-1 [Davignon et al., *J. Immunol.*, 127:590 (1981)]. LFA-1 присутній тільки в лейкоцитах [Krensky et al., *J. Immunol.*, 737:611 (1983)], а ICAM-1 розподілений по поверхні активованих лейкоцитів, дермальних фібробластів і ендотелія [Dustin et al., *J. Immunol.* 737:245 (1986)].

У попередніх роботах була досліджена дія моноклональних антитіл до CD11a на численні імунні функції, залежні від Т-клітин, *in vitro*, і обмежена кількість імунних реакцій *in vivo*. *In vitro*, моноклональні антитіла до CD11a інгібують активацію Т-клітин [Kuypers et al., *Res. Immunol.*, 140:461 (1989)], проліферацію і диференціацію В-клітин, залежних від Т-клітин [Davignon et al., *вище*, Fischer et al., *J. Immunol.*, 136:3198 (1986)], лізис клітин-мішеней цитотоксичними Т-лімфоцитами [Krensky et al., *вище*], утворення імунних кон'югатів [Sanders et al., *J. Immunol.*, 737:2395 (1986); Mentzer et al., *J. Immunol.*, 135:9 (1985)] і адгезію Т-клітин до васкулярного ендотелія [Lo et al., *J. Immunol.*, 143:3325 (1989)]. Крім того, було виявлено, що антитіло 5C6 до CD11b/CD18 запобігає внутрішньоінсулоцитній інфільтрації макрофагами і Т-клітинами і інгібує розвиток інсулін-залежного цукрового діабету у мишей [Hutchings et al., *Nature*, 348: 639 (1990)].

Висновок, що взаємодія LFA-1:ICAM-1 необхідна для оптимізації функції Т-клітин *in vitro*, і що моноклональні антитіла до CD11a індукують толерантність до антигенів протеїнів [(Benjamin et al., *Eur. J. Immunol.*, 18:1079 (1988)] і пролонгують життєздатність пухлинних трансплантатів у мишей [Heagy et al., *Transplantation*, 37: 520-523 (1984)] був основою для випробувань моноклональних антитіл до цих молекул на запобігання відторгання трансплантатів у людей.

Досліди проводилися також на приматах. Наприклад, дослід на мавпах дозволив зробити висновок, що Mab до ICAM-1 може запобігати або навіть повертати в зворотний бік відторгнення пересадженої нирки [Cosimi et al., «Immunosuppression of Cynomolgus Recipients of Renal Allografts by R6.5, a Monoclonal Antibody to Intercellular Adhesion Molecule-1,» в Springer et al., (eds), *Leukocyte Adhesion Molecules* New York: Springer, (1988), p. 274; Cosimi et al., *J. Immunology*, 144:4604-4612 (1990)]. Крім того, введення *in vivo* Mab до CD11a мавп *Cynomolgus* пролонгувало життєздатність дермальних алотрансплантатів [Berlin et al., *Transplantation*, 53: 840-849 (1992)].

Перше успішне використання антитіла паціюка до мишачого CD11a (25-3; IgG1) у дітей із спадковими захворюваннями для запобігання відторгненню гаплоідентичних трансплантатів невідповідного кісткового мозку описане Fischer et al., *Lancet*, 2: 1058 (1986). Спостерігалися мінімальні побічні ефекти. Див. також Fischer et al., *Blood*, 77: 249 (1991); van Dijken et al. *Transplantation*, 49:882 (1990) і Perez et al., *Bone Marrow Transplantation*, 4:379 (1989). Крім того, антитіло 25-3 виявилось ефективним при регулюванні стероїд-стійкої гострої реакції «трансплантат проти господаря» у людей [Stoppa et al., *Transplant. Int.*, 4:3-7 (1991)].

Однак ці результати не показали відтворення у дорослих лейкозних пацієнтів, прищеплених цим MAb [Maraninchi et al., Bone Marrow Transplant, 4:147-150 (1989)], або MAb до CD18, дія якого направлена на інваріантний ланцюг LFA-1, в іншому експериментальному дослідженні [Baume et al., Transplantation, 47: 472 (1989)]. Крім того, антитіло пацюка до мишачого CD11a, 25-3, виявилось нездібним регулювати хід гострого відторгання трансплантованої нирки у людей [LeMauff et al., Transplantation, 52: 291 (1991)].

Огляд використання моноклональних антитіл при трансплантаціях у людей представлений Dantal and Souillou, Current Opinion in Immunology, 3:740-747 (1991).

У більш ранній публікації вказувалося, що короткочасне лікування моноклональними антитілами до LFA-1 або до ICAM-1 мінімально пролонгує життєздатність первинно васкуляризованих гетеротопних серцевих алотрансплантатів у мишей [Isobe et al., Science, 255:1125 (1992)]. Однак для досягнення тривалої життєздатності трансплантатів в цій моделі було потрібне комбіноване лікування обома цими MAb.

Незалежно було продемонстровано, що лікування тільки антитілом до LFA-1 ефективно пролонгує життєздатність гетеротопних (із зовнішніх вух) непервинно васкуляризованих серцевих трансплантатів миші з використанням максимальної дози 4мг/кг/день і застосування 1 раз в тиждень після щоденного дозування [Nakakura et al., J. Heart Lung Transplant, 11:223 (1992)]. Непервинно васкуляризовані серцеві алотрансплантати більш імуногенні і більш стійкі до пролонгування життєздатності моноклональними антитілами, ніж первинно васкуляризовані серцеві алотрансплантати [Warren et al., Transplant. Proc., 5:717 (1973); Trager et al., Transplantation, 47:587 (1989)]. У останньому посиланні описано лікування антитілами L3T4 з використанням високого початкового дозування і більш низького подальшого дозування.

Інше дослідження в області лікування склерозоподібного захворювання у гризунів з використанням антитіл, подібних тим, що використовувались Nakakura et al., вище, описане Yednock et al., Nature, 356:63-66 (1992).

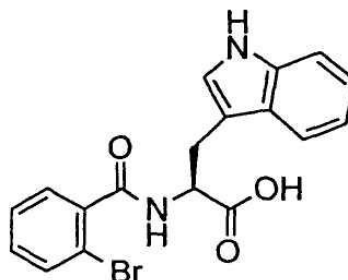
Додаткові описи використання антитіл до LFA-1, а також ICAM-1, ICAM-2 і їх антитіл для лікування LFA-1-опосереднених розладів включають WO 91/18011, опубл. 11/28/91, WO 91/16928, опубл. 11/14/91, WO 91/16927, опубл. 11/14/91, патентна заявка Канади 2,008,368, опубл. 6/13/91, WO 90/03400, WO 90/15076, опубл. 12/13/90, WO 90/10652, опубл. 9/20/90, EP 387,668, опубл. 9/19/90, WO 90/08187, опубл. 7/26/90, WO 90/13281, WO 90/13316, WO 93/06864, WO 93/21953, WO 93/13210, WO 94/11400, EP 379,904, опубл. 8/1/90, EP 346,078, опубл. 12/13/89, Патент США No.5,002,869, Патент США No.5,071,964, Патент США No.5,209,928, Патент США No.5,223,396, Патент США No.5,235,049, Патент США No.5,284,931, Патент США No.5,288,854, Патент США No.5,354,659, патентна заявка Австралії 15518/88, опубл. 11/10/88, EP 289,949, опубл. 11/9/88, і EP 303,692, опубл. 2/22/89, EP 365,837,

EP 314,863, EP 319,815, EP 468, 257, EP 362,526, EP 362, 531, EP 438,310.

Інші описи використання пептидних фрагментів і антагоністів LFA-1 і ICAM включають Патент США No.5,149,780, Патент США No.5,288,854, Патент США No.5,340,800, Патент США No.5,424,399, Патент США No.5,470,953, WO 90/03400, WO 90/13316, WO 90/10652, WO 91/19511, WO 92/03473, WO 94/11400, WO 95/28170, JP 4193895, EP 314,863, EP 362,526 і EP 362,531.

Вищеописані методики, що успішно використовують антитіла до LFA-1 або до ICAM, пептиди, фрагменти або пептидні антагоністи LFA-1 або ICAM, є крок уперед в порівнянні з традиційним лікуванням імунодепресивними препаратами. Ці дослідження показують, що LFA-1 і ICAM є відповідними мішенями для антагонізму. Існує необхідність в поліпшенні лікування розладів, опосереднених LFA-1, включаючи автоімунні захворювання, реакції «трансплантат проти господаря» або «господар проти трансплантата», а також запальні реакції Т-клітин, щоб мінімізувати побічні ефекти і виробити специфічну толерантність до власних і чужерідних антигенів. Також існує необхідність в створенні непептидних або пептидоміметичних антагоністів до взаємодії LFA-1:ICAM-1.

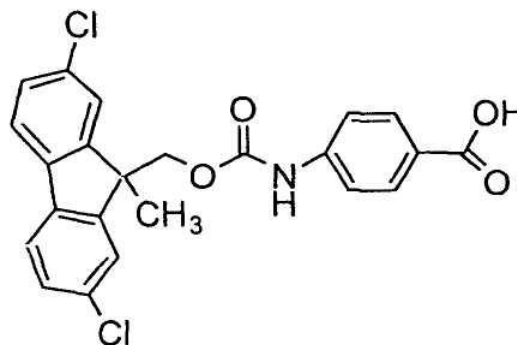
Щонайменше один пептидоміметичний антагоніст взаємодії LFA-1:ICAM-1 показав



себе перспективним в різних дослідках in vivo.

2-Бромбензоїлтриптофан показує значення  $IC_{50}$  біля 2мкМ і 10мкМ, відповідно, в описаних тут аналізах на зв'язування людських рецепторів LFA-1:ICAM-1 і на адгезію людських Т-клітин.

Нещодавно в Патенті США 5,472,973 були описані флуоренові похідні амінобензойної кислоти як корисні протизапальовальні агенти. Їх представником може служити сполука



Задачі винаходу

Таким чином, задачею даного винаходу є створення композицій і терапевтичних методик для модулювання адгезії між внутрішньоклітинними адгезійними молекулами (наприклад, ICAM-1, -



2 і -3) і лейкоцитарним інтегриновим сімейством рецепторів.

Задачею є протидія рецепторам CD11/CD18, пов'язаним з лейкоцитами, особливо розладам, опосередкованим Мас-1 і LFA-1, з мінімальними побічними ефектами.

Задачею є регулювання небажаних запальних реакцій і запобігання пошкодженню здорових тканин.

Більш конкретно, задачею є лікування LFA-1-опосередкованих розладів, що включають: псоріаз; реакції, пов'язані із запальними кишковими захворюваннями (такими як хвороба Крона і виразковий коліт), дерматит, менінгіт, енцефаліт, увеїт, алергічні стани, такі як екзема і астма, стани, що викликають інфільтрацію Т-клітин, і хронічні запальні реакції, реакції шкіряної гіперчутливості (включаючи сумах, що вкорінюється); атеросклероз, автоімунні захворювання, такі як ревматоїдний артрит, системна червона волчанка (СКВ), цукровий діабет, множинний склероз, синдром Рейнода, автоімунний тиреоїдит, експериментальний автоімунний енцефаломієліт, синдром Шегрена, юнацький діабет і імунні реакції, пов'язані з уповільненою гіперчутливістю, опосередкованою цитокінами і Т-лімфоцитами, що звичайно спостерігаються при туберкульозі, саркоїдозі, поліміозиті, гранулематозі і васкуліті; зловиясна анемія; захворювання, що викликають лейкоцитарний діapedез; запальні розлади ЦНС, синдром множинної поразки внутрішніх органів внаслідок зараження крові або травми; автоімунна гемолітична анемія; важка псевдопаралітична міастенія, захворювання, опосередковані комплексом антиген-антитіло; всі типи трансплантацій, включаючи реакції «трансплантат проти господаря» або «господар проти трансплантата», ВІЛ і риновірусні інфекції, фіброз легенів і т.д.

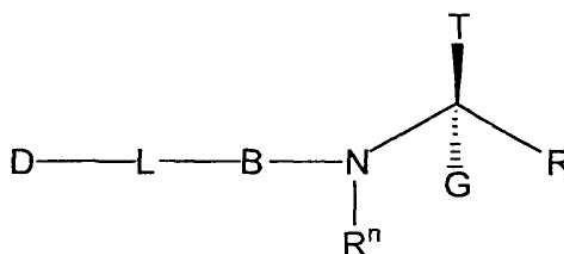
Ці і інші задачі будуть очевидні будь-якому звичайному фахівцеві в цій галузі.

Резюме винаходу

Дані задачі вирішуються шляхом створення способу і композицій антагоністів для модулювання адгезії між внутрішньоклітинними адгезійними молекулами (наприклад, ICAM-1, -2, і -3) і лейкоцитарним інтегриновим сімейством рецепторів. Спосіб і антагоністи особливо корисні для лікування розладів, опосередкованих CD11/CD18, особливо Мас-1 і LFA-1, у ссавців, особливо людини, і включають введення ссавцеві терапевтично ефективної кількості антагоніста. Відповідні антагоністи лейкоцитарних інтегринів, особливо антагоністи Мас-1 і LFA-1 за даним винаходом представлені нижче структурною формулою I. Переважно, антагоніст LFA-1 являє собою специфічний антагоніст лейкоцитарного інтегрину CD11a( $\alpha_L$ )/CD18( $\beta_2$ ). Такі антагоністи особливо корисні для лікування хронічних розладів, опосередкованих LFA-1. Переважно, ці антагоністи LFA-1 використовуються для лікування: псоріаза, алопеції, трансплантації органів, запального кишкового захворювання (ВКЗ), ревматоїдного артриту (РА), системної червоної волчанки (СКВ), діабету 1-го типу, множинного склерозу (МС), астми, реакції "трансплантат проти господаря" (ТПХ), склеродеми, ендометріоза і вітіліго. Іноді деякі з'єднання, що охоплюються фо-

рмулою I, також здатні до антагонізації зв'язування Мас-1 CD11b( $\alpha_M$ )/CD18( $\beta_2$ ) з ICAM і додатковими лігандами, включаючи IC3b, фібриноген і фактор X. Таким образом, ці сполуки корисні для інгібування адгезії нейтрофілів і лейкоцитів, що виражають обидва або один з інтегринів LFA-1 і Мас-1 як при хронічних, так і при гострих розладах, опосередкованих лейкоцитами/нейтрофілами. Більш конкретно, ці розлади включають: поразку при ішемії/реперфузії, опосередковану нейтрофілами, таку як гострий інфаркт міокарда, рестеноз після ЧТКА (черезшкірної транскатетеральної коронарної ангіопластики), інвазійних операцій, таких як серцево-легенева шунтуюча хірургія, церебральний набряк, інсульт, травматична поразка мозку, множинний склероз, системна червона волчанка, геморагічний шок, опіки, ішемічна ниркова хвороба, множинна поразка органів, загоснення ран і утворення шрамів, атеросклероз, а також пост-трансплантаційне пошкодження органу.

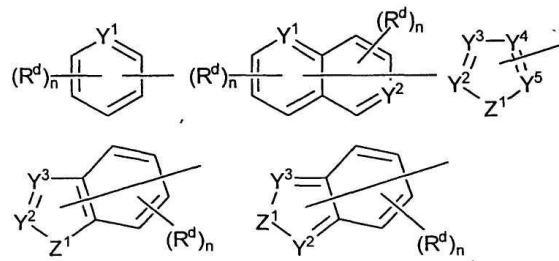
Вказаний антагоніст представлений формулою I



(I)

де D - моно-, бі- або трициклічне насичене, ненасичене або ароматичне кільце, при цьому кожне кільце містить 5, 6 або 7 атомів, а кільцеві атоми являють собою вуглець або 1-4 гетероатома з групи, що включає азот, кисень і сірку, де будь-який атом сірки в кільці може (необов'язково) бути окисленим, а будь-який атом вуглецю в кільці може утворювати подвійний зв'язок з O, NR<sup>n</sup> і CR<sup>1</sup>R<sup>1'</sup>, при цьому кожний атом азоту в кільці заміщений R<sup>n</sup>, а будь-який атом вуглецю в кільці заміщений R<sup>d</sup>.

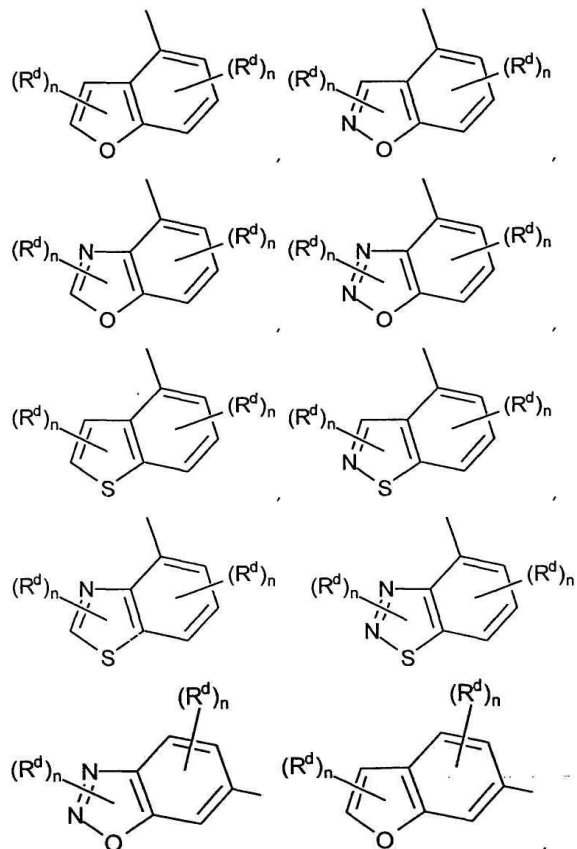
D може являти собою (необов'язково) ароматичний гомоцикл або ароматичний гетероцикл, що містить 1-3 гетероатома, вибраних з групи, що включає N, S і O, де гомо- або гетероцикли вибрані з:



де Y<sup>1</sup>, Y<sup>2</sup>, Y<sup>3</sup>, Y<sup>4</sup> і Y<sup>5</sup> являють собою CH, CR<sup>d</sup> или N, Z<sup>1</sup> являє собою O, S, NH або NR<sup>n</sup>, а n = 0-3.

Більш конкретно, D може являти собою:

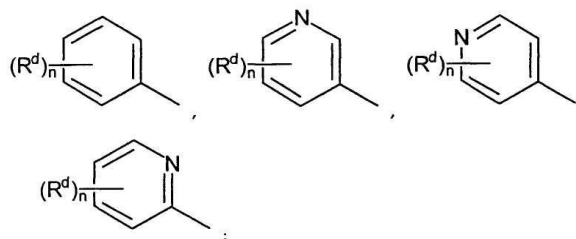
1) 5-членний ароматичний гетероцикл, або гет, вибраний з



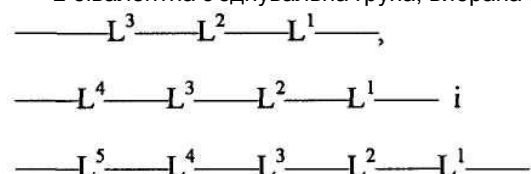
Chemical structures 1-8 are shown, representing various benzothiazine and benzothiazole derivatives. Each structure features a benzene ring fused to a five-membered heterocyclic ring, with a substituent  $(R^d)_n$  attached to the benzene ring.

- Structure 1: A benzothiazine derivative with a  $(R^d)_n$  substituent on the benzene ring.
- Structure 2: A benzothiazine derivative with a  $(R^d)_n$  substituent on the benzene ring.
- Structure 3: A benzothiazole derivative with a  $(R^d)_n$  substituent on the benzene ring.
- Structure 4: A benzothiazole derivative with a  $(R^d)_n$  substituent on the benzene ring.
- Structure 5: A benzothiazole derivative with a  $(R^d)_n$  substituent on the benzene ring.
- Structure 6: A benzothiazole derivative with a  $(R^d)_n$  substituent on the benzene ring.
- Structure 7: A benzothiazine derivative with a  $(R^d)_n$  substituent on the benzene ring.
- Structure 8: A benzothiazine derivative with a  $(R^d)_n$  substituent on the benzene ring.

3) 6-членний ароматичний гетеро- або гомоцикл, виораний з



i  
L бівалентна з'єднувальна група, вибрана з



де:

L<sup>1</sup> може бути оксо- (O), S(O)<sub>s</sub>, C(=O), C(=N-R<sup>n</sup>), C(=CR<sup>1</sup>R<sup>1'</sup>), C(R<sup>1</sup>R<sup>1'</sup>), C, гет, N(R<sup>n</sup>) або N;

L<sup>2</sup> може бути оксо- (O), S(O)<sub>s</sub>, C(=O), C(=N-O-R<sup>0</sup>), C(=CR<sup>2</sup>R<sup>2'</sup>), C(R<sup>2</sup>R<sup>2'</sup>), C, гет, N(R<sup>n</sup>) або N;

L<sup>3</sup> може бути оксо- (O), S(O)<sub>s</sub>, C(=O), C(=N-O-R<sup>0</sup>), C(=CR<sup>3</sup>R<sup>3'</sup>), C(R<sup>3</sup>R<sup>3'</sup>), C, гет, N(R<sup>n</sup>) або N;

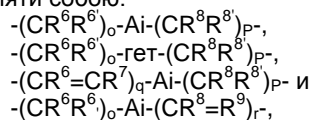
L<sup>4</sup> відсутній або може бути оксо- (O), S(O)<sub>s</sub>, C(=O), C(=N-O-R<sup>0</sup>), C(=CR<sup>4</sup>R<sup>4'</sup>), C(R<sup>4</sup>R<sup>4'</sup>), C, гет, N(R<sup>n</sup>) або N;

L<sup>5</sup> відсутній або може бути оксо- (O), S(O)<sub>s</sub>, C(=O), C(=N-R<sup>n</sup>), C(=CR<sup>5</sup>R<sup>5'</sup>), C(R<sup>5</sup>R<sup>5'</sup>), C, гет, N(R<sup>n</sup>) або N;

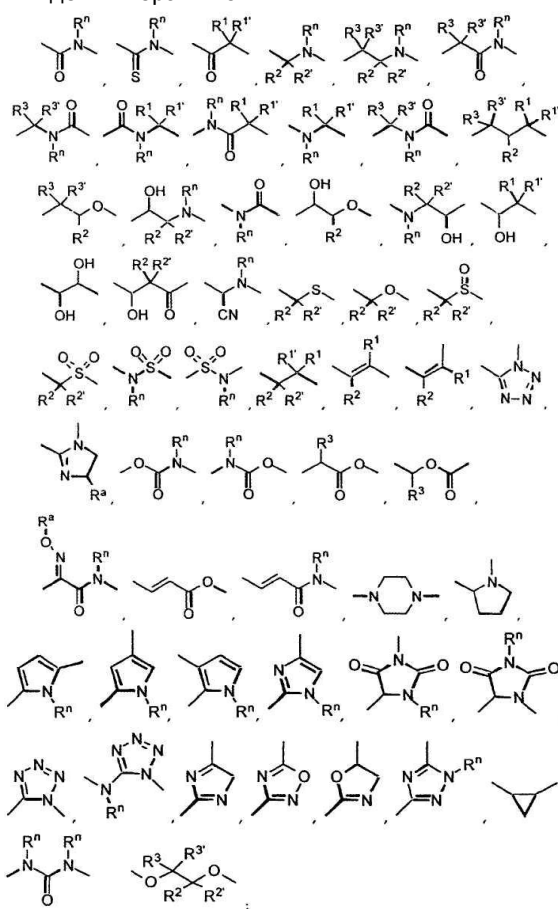
за умови, що тільки одна з груп L<sup>1</sup> - L<sup>3</sup> може являти собою гет, і що якщо одна з груп L<sup>1</sup> - L<sup>3</sup> являє собою гет, інші групи L<sup>1</sup> - L<sup>5</sup> можуть бути відсутні.

Кожний з радикалів R<sup>1</sup>, R<sup>1'</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>2'</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>3'</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>4'</sup>, R<sup>5</sup> і R<sup>5'</sup> незалежно вибраний з R<sup>a</sup>, R<sup>c</sup> і U-Q-V-W. Як варіант, R<sup>2</sup> і R<sup>2'</sup> окремо або разом можуть утворювати насичене, ненасичене або ароматичне злисте кільце, що містить групу В, через замісник R<sup>p</sup> в групі В, де злисте кільце містить 5, 6 або 7 кільцевих атомів і, як варіант, містить 1-3 гетероатома, вибраних з групи, що включає О, S і N, де будь-який з атомів S або N може бути, як варіант, окисований. Як варіант, R<sup>3</sup> і R<sup>3'</sup> окремо або разом, і R<sup>4</sup> і R<sup>4'</sup> окремо або разом, можуть утворювати насичене, ненасичене або ароматичне злисте кільце, що містить групу D, через замісник R<sup>d</sup> в групі D, де злисте кільце містить 5, 6 або 7 кільцевих атомів і, як варіант, містить 1-3 гетероатома, вибраних з групи, що включає О, S і N, де будь-який з атомів S або N може бути, як варіант, окисований. Також як варіант, кожен з радикалів R<sup>1</sup> - R<sup>5</sup> або NR<sup>n</sup> разом з будь-яким іншим R<sup>1</sup> - R<sup>5</sup> або NR<sup>n</sup> можуть утворювати 5, 6 або 7-звенний гомо- або гетероцикл, насичений, ненасичений або ароматичний, як варіант - утримуючий 1-3 додаткових гетероатома, вибраних з N, O і S, при цьому кожний цикл заміщений 0-3 радикалами R<sup>d</sup>, а s = 0-2 і де будь-який кільцевий атом вуглеводу або сірки може бути, як варіант, окисований.

Більш конкретно, бівалентний лінкер L може являти собою:



де Ai вибраний з



де o = 0-1, p = 0-1 і r = 0-1.

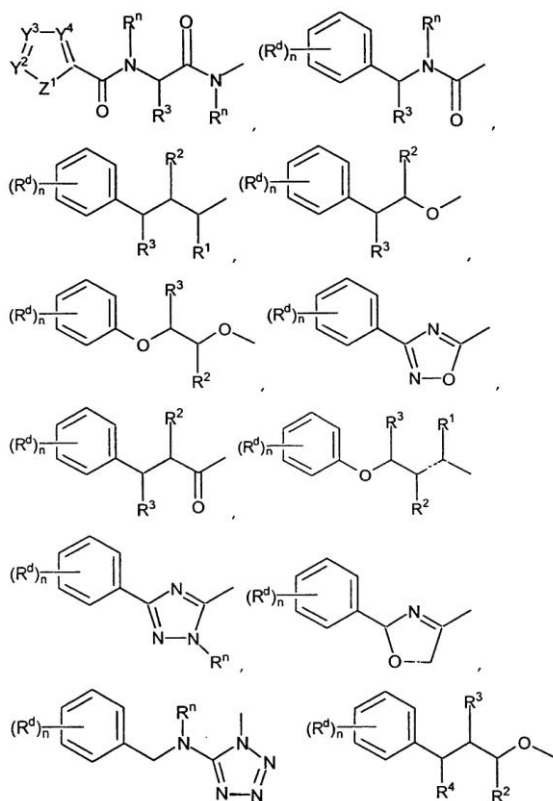
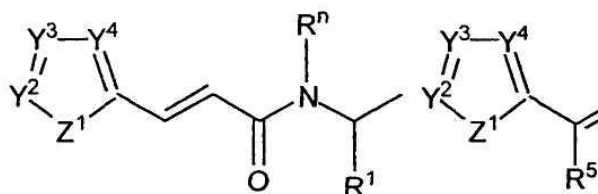
Гет являє собою будь-яке моно-, бі- або трициклічне насичене, ненасичене або ароматичне кільце, де щонайменше одне кільце є 5-, 6- або 7-ланковим кільцем, що містить від 1 до 4 гетероатомів з групи, що включає азот, кисень і сірку, при цьому 5-ланкове кільце містить від 0 до 2 подвійних зв'язків, а 6- або 7-ланкове кільце містить від 0 до 3 подвійних зв'язків, і де будь-які атоми вуглецю або сірки в кільці можуть бути, як варіант, окисовані, і де будь-який гетероатом азоту може бути, як варіант, кватернізований, і де будь-яке кільце може містити від 0 до 3 радикалів R<sup>d</sup>.

Як варіант, L являє собою бівалентну з'єднувальну групу, вибрану з групи, що включає:

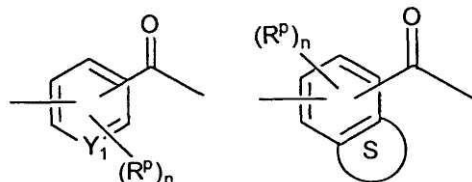
C<sub>3</sub>-C<sub>5</sub>-алкіл-, -C<sub>3</sub>-C<sub>5</sub>-алкеніл-, -CH<sub>2</sub>C(=O)NH-, -CH<sub>2</sub>NH-C(=O)-, -O-CH<sub>2</sub>-C(=O)-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C(=O)-, -CH=CH-C(=O)NH-CH<sub>2</sub>-, -CH=CH-C(=O)NH-CH(CH<sub>3</sub>)-, -CH(OH)-CH<sub>2</sub>-O-, -CH(OH)-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)-, -CH(OH)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-, -O-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-, -O-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-, -CH<sub>2</sub>-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-O-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-, -CH(CH<sub>3</sub>)-NH-C(=O)-, -CH<sub>2</sub>-NH-SO<sub>2</sub>-, -NH-SO<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-SO<sub>2</sub>-NH-, -SO<sub>2</sub>-NH-CH<sub>2</sub>-, -C(=O)-NH-C(=O)-, -NH-C(=O)-NH-, -NH-C(=O)-NH-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-NH-C(=O)-NH-, -C(=O)-NH-CH<sub>2</sub>-C(=O)-NH-, -NH-C(=O)-O- и -O-C(=O)-NH-.

Як варіант, специфічні комбінації D-L вибрані

з:



В вибраний з групи, що включає:



де



злите гетеро- або гомоциклічне кільце, що містить 5, 6 або 7 атомів, при цьому кільце може бути ненасиченим, частково насиченим або ароматичним, а гетероатоми вибрані з 1-3 атомів O, S і N.

Y<sup>1</sup> вибраний з CH і N, а n = 0-3.

G вибраний з водня і C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіла; як варіант, G разом з T можуть утворювати C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>-циклоалкіл, можливо, заміщений -V-W.

T вибраний з групи 1) природних α-амінокислотних бокових ланцюгів або їх похідних і 2) U-Q-V-W.

Група U являє собою бівалентний радикал, можливо, заміщений, вибраний з групи, що включає: C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл, C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-Q, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкеніл-Q і C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкініл-Q, де замісники в будь-якому алкілі, алкенілі або алкінілі являють собою 1-3 радикали R<sup>a</sup>.

Q відсутній або вибраний з групи, що включає: -O-, -S(O)<sub>S</sub>-, -SO<sub>2</sub>-N(R<sup>n</sup>)-, -N(R<sup>n</sup>)-, -N(R<sup>n</sup>)-C(=O)-, -N(R<sup>n</sup>)-C(O)-O-, -N(R<sup>n</sup>)-SO<sub>2</sub>-, -C(O)-, -C(=O)-O-, -гет-, -C(=O)-N(R<sup>n</sup>)-, -PO(OR<sup>c</sup>)O- і -P(O)O-,

де s = 0-2, а гет являє собою моно- або біциклічне 5-, 6-, 7-, 9- або 10-ланкове гетероциклічне кільце, причому кожне кільце містить 1-4 гетероатома, вибраних з N, O і S, де гетероциклічне кільце може бути насиченим, частково насиченим або ароматичним, а будь-який з атомів N або S може бути, як варіант, окисдованим, і гетероциклічне кільце заміщене 0-3-ма радикалами R<sup>n</sup>.

Група V відсутня або являє собою бівалентну групу, можливо, заміщену, вибрану з C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіла, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкіла, C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-аріла і C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-гета, де замісники в будь-якому алкілі являють собою 1-3 радикали R<sup>a</sup>, а замісники в будь-якому арилі або геті являють собою 1-3 радикали R<sup>d</sup>.

Група W вибрана з групи, що включає: водень, -OR<sup>o</sup>, -SR<sup>m</sup>, -NR<sup>n</sup>R<sup>n'</sup>, -NHC(=O)-O-R<sup>c</sup>, -NH-C(=O)-NR<sup>n</sup>R<sup>n'</sup>, -NH-C(=O)-R<sup>c</sup>, -NH-SO<sub>2</sub>-R<sup>s</sup>, -NH-SO<sub>2</sub>-NR<sup>n</sup>R<sup>n'</sup>, -NH-SO<sub>2</sub>-NH-C(=O)-R<sup>c</sup>, -NH-C(=O)-NH-SO<sub>2</sub>-R<sup>s</sup>, -C(=O)-NH-C(O)-O-R<sup>c</sup>, -C(=O)-NH-C(=O)-R<sup>c</sup>, -C(=O)-NH-C(=O)-NR<sup>n</sup>R<sup>n'</sup>, -C(=O)-NH-SO<sub>2</sub>-R<sup>s</sup>, -C(O)-NH-SO<sub>2</sub>-NR<sup>n</sup>R<sup>n'</sup>, -C(=S)-NR<sup>n</sup>R<sup>n'</sup>, -SO<sub>2</sub>-R<sup>s</sup>, -SO<sub>2</sub>-O-R<sup>s</sup>, -SO<sub>2</sub>-NR<sup>n</sup>R<sup>n'</sup>, -SO<sub>2</sub>-NH-C(=O)-O-R<sup>c</sup>, -SO<sub>2</sub>-NH-C(=O)-NR<sup>n</sup>R<sup>n'</sup>, -SO<sub>2</sub>-NH-C(=O)-R<sup>c</sup>, -O-C(=O)-NR<sup>n</sup>R<sup>n'</sup>, -O-C(O)-R<sup>c</sup>, -O-C(O)-NH-C(=O)-R<sup>c</sup>, -O-C(=O)-NH-SO<sub>2</sub>-R<sup>s</sup> і -O-SO<sub>2</sub>-R<sup>s</sup>.

R вибраний из -C(=O)-R<sup>z</sup>, -C(=O)-H, -CH<sub>2</sub>(OH) і -CH<sub>2</sub>O-C(=O)-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіла.

R<sup>a</sup> являє собою радикал R<sup>a'</sup> або R<sup>a''</sup>, заміщений 1-3 радикалами R<sup>a'</sup>.

R<sup>a'</sup> вибраний з групи, що включає: водень, галоген (F, Cl, Br, I), ціаногрупу, ізоціанат, карбоксигрупу, карбокси-C<sub>1</sub>-C<sub>11</sub>-алкіл, аміногрупу, аміно-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-алкіл, амінокарбоніл, карбоксамідогрупу, карбамоїл, карбамоїлксигрупу, форміл, формілокси, азидогрупу, нітрогрупу, імідазоїл, уреїдогрупу, тіоуреїдогрупу, тіоціанатогрупу, гідроксигрупу, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкоксигрупу, меркаптогрупу, сульфонамідогрупу, гет, феноксигрупу, феніл, бензамідогрупу, тозил, морфоліногрупу, морфолініл, піперазиніл, піперидиніл, піролініл, імідазоліл і індоліл.

R<sup>a''</sup> вибраний з групи, що включає: C<sub>0</sub>-C<sub>10</sub>-алкіл-Q-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл, C<sub>0</sub>-C<sub>10</sub>-алкініл-Q-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл, C<sub>0</sub>-C<sub>10</sub>-алкініл-Q-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл, C<sub>3</sub>-C<sub>11</sub>-циклоалкіл-Q-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл, C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>-циклоалкеніл-Q-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>-аріл-Q-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл, C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-аріл-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-Q-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл, C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-гет-Q-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл, C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-Q-гет-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл, гет-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-Q-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл, C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-Q-C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>-аріл і Q-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл.

R<sup>c</sup> вибраний з водня і заміщеного або незаміщеного C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-алкіла, C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-алкеніла, C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-алкініла, C<sub>3</sub>-C<sub>11</sub>-циклоалкіла, C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>-циклоалкеніла, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>-аріла, C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-аріл-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіла, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-гета, гет-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіла, C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>-аріла і гета, де замісниками в будь-якому алкілі, алкенілі або алкінілі є 1-3 радикали R<sup>a</sup>, а замісниками в будь-якому арилі або геті є 1-3 радикали R<sup>d</sup>.

R<sup>d</sup> вибраний з R<sup>p</sup> і R<sup>h</sup>.

R<sup>h</sup> вибраний з групи, що включає: OH, OCF<sub>3</sub>, OR<sup>c</sup>, SR<sup>m</sup>, галоген (F, Cl, Br, I), CN, ізоціанат, NO<sub>2</sub>,

CF<sub>3</sub>, C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-NR<sup>n</sup>R<sup>n'</sup>, C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-C(=O)-NR<sup>n</sup>R<sup>n'</sup>, C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-C(=O)-R<sup>a</sup>, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-алкіл, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-алкокси, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>-алкеніл, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>-алкініл, C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>-циклоалкіл, C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>-циклоалкеніл, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкілфеніл, феніл-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкілоксикарбоніл, феніл-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкілокси, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-гет, гет-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл, SO<sub>2</sub>-гет, -O-C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>-арил, SO<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>-арил, SO<sub>2</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл і гет, де будь-який алкіл, алкеніл або алкініл можуть бути, як варіант, заміщені 1-3 групами, вибраними з OH, галогену (F, Cl, Br, I), нітрогрупи, аміногрупи і амінокарбоніла, а замісники в будь-якому арилі або геті можуть являти собою 1-2 гідроксигрупи, галогена (F, Cl, Br, I), CF<sub>3</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіла, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкокси, нітро- і аміногрупи.

R<sup>m</sup> вибраний з S-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіла, C(=O)-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіла, C(=O)-NR<sup>n</sup>R<sup>n'</sup>, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіла, галоген(F, Cl, Br, I)-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіла, бензила і феніла.

R<sup>n</sup> вибраний з групи, що включає: R<sup>c</sup>, NH-C(=O)-O-R<sup>c</sup>, NH-C(=O)-R<sup>c</sup>, NH-C(=O)-NHR<sup>c</sup>, NH-SO<sub>2</sub>-R<sup>s</sup>, NH-SO<sub>2</sub>-NH-C(=O)-R<sup>c</sup>, NH-C(=O)-NH-SO<sub>2</sub>-R<sup>s</sup>, C(=O)-O-R<sup>c</sup>, C(=O)-R<sup>c</sup>, C(=O)-NHR<sup>c</sup>, C(=O)-NH-C(=O)-O-R<sup>c</sup>, C(=O)-NH-C(=O)-R<sup>c</sup>, C(=O)-NH-SO<sub>2</sub>-R<sup>s</sup>, C(=O)-NH-SO<sub>2</sub>-NHR<sup>s</sup>, SO<sub>2</sub>-R<sup>s</sup>, SO<sub>2</sub>-O-R<sup>s</sup>, SO<sub>2</sub>-N(R<sup>c</sup>)<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>-NH-C(=O)-O-R<sup>c</sup>, SO<sub>2</sub>-NH-C(=O)-O-R<sup>c</sup> і SO<sub>2</sub>-NH-C(=O)-R<sup>c</sup>.

R<sup>n</sup> вибраний з групи, що включає: галоген, гідроксигрупу і заміщений або незаміщений C<sub>1</sub>-C<sub>11</sub>-алкіл, C<sub>1</sub>-C<sub>11</sub>-алкокси, C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-алкеніл, C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-алкініл, C<sub>3</sub>-C<sub>11</sub>-циклоалкіл, C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>-циклоалкеніл, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>-арил, C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-арил-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл, C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-арил-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкокси, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-гет, гет-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл, C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>-арил, гет, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкілкарбоніл, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-алкоксикарбоніл, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкілкарбоніл, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкоксикарбоніл, C<sub>6</sub>-C<sub>11</sub>-арилоксикарбоніл, C<sub>7</sub>-C<sub>11</sub>-арилалкоксикарбоніл, гетероарилалкоксикарбоніл, гетероарилалкілкарбоніл, гетероарилкарбоніл, гетероарилалкілсульфоніл, гетероарилсульфоніл, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкілсульфоніл і C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-арилсульфоніл, де замісники в кожному алкілі, алкенілі або алкінілі можуть являти собою 1-3 радикали R<sup>a</sup>, а замісники в кожному арилі, геті або гетероарилі являють собою 1-3 радикали R<sup>d</sup>.

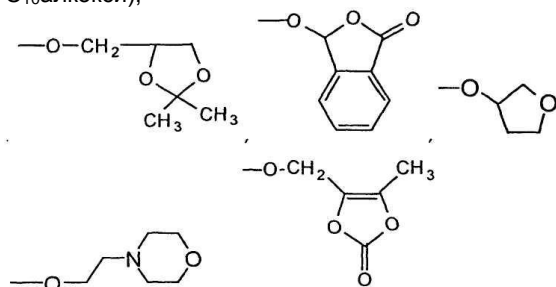
Як варіант, R<sup>n</sup> і R<sup>n'</sup>, взятий разом із загальним азотом, до якого вони прикріплені, можуть утворювати гетероцикл, можливо, заміщений, вибраний з морфолініла, піперазиніла, тіаморфолініла, піролідініла, імідазолініла, індолініла, ізоіндолініла, 1,2,3,4-тетрагідро-хінолініла, 1,2,3,4-тетрагідро-ізохінолініла, тіазолініла і азабіциклононіла, де замісники являють собою 1-3 радикали R<sup>a</sup>.

R<sup>o</sup> вибраний з водня і заміщеного або незаміщеного C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіла, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкілкарбоніла, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкеніла, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-алкініла, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкіла і бензоїла, де замісники в будь-якому алкілі являють собою 1-3 радикали R<sup>a</sup>, а замісники в будь-якому арилі являють собою 1-3 радикали R<sup>p</sup>.

R<sup>p</sup> вибраний з групи, що включає: OH, галоген (F, Cl, Br, I), CN, ізоціанат, OR<sup>c</sup>, SR<sup>m</sup>, SOR<sup>c</sup>, NO<sub>2</sub>, CF<sub>3</sub>, R<sup>c</sup>, NR<sup>n</sup>R<sup>n'</sup>, N(R<sup>n</sup>)-C(=O)-O-R<sup>c</sup>, N(R<sup>n</sup>)-C(=O)-R<sup>c</sup>, C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-SO<sub>2</sub>-R<sup>c</sup>, C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-SO<sub>2</sub>-NR<sup>n</sup>R<sup>n'</sup>, C(=O)-R<sup>c</sup>, O-C(=O)-R<sup>c</sup>, C(=O)-O-R<sup>c</sup> і C(=O)-NR<sup>n</sup>R<sup>n'</sup>, де замісники в будь-якому алкілі, алкенілі або алкінілі являють собою 1-3 радикали R<sup>a</sup>, а замісники в будь-якому арилі або геті являють собою 1-3 радикали R<sup>d</sup>.

R<sup>s</sup> являє собою заміщену або незаміщену групу, вибрану з C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-алкіла, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>-алкеніла, C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>-алкініла, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-циклоалкіла, C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>-циклоалкеніла, C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкілфеніла, феніл-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіла, C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл-гет і гет-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіла, де замісники в будь-якому алкілі, алкенілі або алкінілі являють собою 1-3 радикали R<sup>a</sup>, а замісники в будь-якому арилі або геті являють собою 1-3 радикали R<sup>d</sup>.

R<sup>z</sup> являє собою заміщену або незаміщену групу, вибрану з гідрокси, C<sub>1</sub>-C<sub>11</sub>-алкокси, C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>-циклоалкокси, C<sub>8</sub>-C<sub>12</sub>-аралкокси, C<sub>8</sub>-C<sub>12</sub>-арциклоалкокси, C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-арилокси, C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>-алкілкарбонілоксиалкілокси, C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>-алкоксикарбонілоксиалкілокси, C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>-алкоксикарбонілакілокси, C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>-циклоалкілкарбонілоксиалкілокси, C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>-циклоалкоксикарбонілоксиалкілокси, C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>-циклоалкоксикарбонілакілокси, C<sub>8</sub>-C<sub>12</sub>-арилоксикарбонілакілокси, C<sub>8</sub>-C<sub>12</sub>-арилоксикарбонілоксиалкілокси, C<sub>8</sub>-C<sub>12</sub>-арилкарбонілоксиалкілокси, C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>-алкоксиалкілкарбонілоксиалкілокси, (R<sup>n</sup>)(R<sup>n'</sup>)N(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>алкокси),



де замісники в будь-якому алкілі, алкенілі або алкінілі являють собою 1-3 радикали R<sup>a</sup>, а замісники в будь-якому арилі або геті являють собою 1-3 радикали R<sup>d</sup>, а також фармацевтично прийнятні солі цих сполук.

Фіг.1 - малюнок, що показує накопичення лімфоцитів на ділянці інфекції. Показано перекочення і адгезія лімфоцитів до клітин, що виражають ICAM (лейкоцитам, ендотелію, епітелію).

Фіг.2 - малюнок, що показує аналіз на зв'язування людського ICAM з рецептором LFA-1 (протеїн-протеїновий аналіз). Інгібування взаємодії CD11a/CD18-ICAM-1 вимірюється шляхом додання відомих кількостей інгібіторів в систему протеїнового аналізу, описану в Прикладі 3.

Фіг.3 - малюнок, що показує аналіз на адгезію людських Т-клітин, описаний в Прикладі 4.

Фіг.4 - малюнок, що показує аналіз на проліферацію людських Т-клітин. Проліферацію клітин вимірювали шляхом поглинання тимідіна, міченого тритієм.

Опис переважних варіантів здійснення

A. Визначення

Вислів «розлади, опосереднені LFA-1» стосується патологічних станів, викликаних взаємодіями клітинного зчеплення, що стосуються рецепторів LFA-1 і лімфоцитів. Приклади таких розладів включають Т-клітинні запальні реакції, такі як запальні захворювання шкіри, включаючи псоріаз; реакції, пов'язані із запальним кишковим захворюванням (таким як хвороба Крона і виразковий коліт); респіраторний дистрес-синдром дорослих;

дерматит; менінгіт; енцефаліт; увеїт; алергічні стани, такі як екзема і астма, і інші стани, що викликають інфільтрацію Т-клітин і хронічні запальні реакції; реакції шкіряної гіперчутливості (включаючи сумах, що вкорінюється), атеросклероз; лейкоцитарна адгезійна недостатність; автоімунні захворювання, такі як ревматоїдний артрит, системна червона волчанка (СКВ), цукровий діабет, множинний склероз, синдром Рейнода, автоімунний тиреоїдит, експериментальний автоімунний енцефаломієліт, синдром Шегрена, діабет типу 1, юнацький діабет і імунні реакції, пов'язані з уповільненою гіперчутливістю, опосередкованою цитокінами і Т-лімфоцитами, що звичайно спостерігаються при туберкульозі, саркоїдозе, поліміозиті, гранулематозі і васкуліті; злоякісна анемія; захворювання, що викликають лейкоцитарний діapedез; запальні розлади ЦНС, синдром множинної поразки внутрішніх органів внаслідок зараження крові або травми; автоімунна гемолітична анемія; важка псевдопаралітична міастенія, захворювання, опосереднені комплексом антиген-антитіло; всі типи трансплантацій, включаючи реакції «трансплантат проти господаря» або «господар проти трансплантата», і т.д.

«Лікування» таких захворювань включає терапію, профілактичне лікування, запобігання відторгненню трансплантатів і вироблення толерантності трансплантатів на довготривалій основі.

Термін «трансплантат» тут стосується біологічного матеріалу, взятого від донора для трансплантації реципієнту. Трансплантати включають такий різноманітний матеріал, як, наприклад, ізольовані клітини, такі як інсулоцити, тканини, такі як амніотичні оболонки новонароджених, кістковий мозок, гематопоетичні клітини-попередники, або органи, такі як шкіра, серце, печінка, селезінка, підшлункова залоза, частка щитовидної залози, легеня, нирка, трубчасті органи (наприклад, кишки, кровоносні судини або стравохід) і т.д. Трубочасті органи можуть використовуватися для заміни пошкоджених частин стравоходу, кровоносних судин або жовчного протоку. Трансплантати шкіри можуть використовуватися не тільки при опіках, але також і як оболонка для пошкоджених кишок або для покриття деяких дефектів, таких як діафрагматична грижа. Трансплантати отримують з будь-якого джерела походження з ссавців, включаючи людину, в тому числі від трупів або від живих донорів. Переважно, трансплантат являє собою кістковий мозок або орган, такий як серце, а донор трансплантата і господар відповідають один одному за класом II ЛАЧ.

Термін «ссавці» стосується будь-якої тварини, класифікованої як «ссавець», включаючи людей, домашніх і диких тварин, таких як собаки, коні, кішки, корови і т.д. Переважним ссавцем у даному винаході є людина.

Вислів «господар-ссавець» стосується до будь-якого сумісного реципієнта трансплантата. «Сумісний» відноситься до господаря-ссавця, для якого буде прийнятним донорський трансплантат. Переважно, господарем є людина. Якщо донором трансплантата і господарем являються люди, вони переважно відповідають один одному за класом II ЛАЧ, щоб поліпшити біосумісність.

Термін «донор» тут відноситься до представників ссавців, мертвих або живих, від яких береться трансплантат. Переважно, донором є людина. Людські донори переважно являються добровільними донорами-родичами нормального фізичного статусу і однакової основної групи крові «ABO», оскільки подолання бар'єрів основної групи крові може пошкодити життєздатності алотрансплантата. Однак можлива, наприклад, трансплантація нирки донора групи «O» реципієнту групи «A», «B» або «AB».

Термін «трансплантація» і його варіації відносяться до введення трансплантата в організм господаря, де трансплантація може бути сингенною (коли донор і реципієнт генетично ідентичні), алогенною (коли донор і реципієнт мають різне генетичне походження, але відносяться до одного виду) або ксеногенною (коли донор і реципієнт відносяться до різних видів). Таким чином, в типовому сценарії господар є людиною, а трансплантат являє собою ізотрансплантат, отриманий від людини того ж або іншого генетичного походження. У іншому сценарії трансплантат отримують від виду, відмінного від виду, в який його трансплантують, наприклад, серце бабуїна, що трансплантується людині, включаючи тварин з філогенетично різноманітних видів, наприклад, серцевий клапан свині, або  $\beta$ -інсулоцитні клітини або нейрони тварин, що трансплантуються господареві-людині.

Вислів «антагоніст LFA-1» тут відноситься загалом до бензоїл-амінокислотних (АК) похідних або їх пептидоміметиків, які діють у якості конкурентного інгібітора взаємодії CD11a і/або CD18 з ICAM-1, розчинними формами ICAM-1, і зв'язаними або розчинними формами ICAM-2, ICAM-3 і теленцефаліна.

Вислів «імунодепресивний агент», що використовується тут для допоміжної терапії, відноситься до речовин, які діють для пригнічення або маскування імунної системи господаря, в організм якого пересаджується трансплантат. Ці агенти можуть включати речовини, які пригнічують продукування цитокинів, знижують або пригнічують експресію самоантигенів або такі, що маскують антигенні ГКТ. Приклади таких агентів включають 2-аміно-6-арил-5-заміщені піримідини [див. Патент США No.4,665,077, вище, опис якого включений в дану заявку у вигляді посилання], азатіоприн (або циклофосфамід, якщо є несприятлива реакція на азатіоприн); бромокриптин; глютаральдегід (який маскує антигенні ГКТ, як описано в Патенті США No.4,120,649, вище.); анти-ідіотипічні антитіла для антигенів ГКТ і фрагментів ГКТ; циклоспорин А; стероїди, такі як глюкокортикостероїди, наприклад, преднізон, метилпреднізолон і дексаметазон; антагоністи цитокинів або цитокинових рецепторів, включаючи антитіла до інтерферона- $\beta$  или - $\alpha$ ; антитіла до фактора  $\alpha$  пухлинного некрозу; антитіла до фактора  $\beta$  пухлинного некрозу; антитіла до інтерлейкіна-2 і антитіла до рецептора інтерлейкіна-2; антитіла до L3T4; гетерологічний протилімфоцитний глобулін; пан-Т-антитіла, переважно антитіла до CD-3 або до CD4/CD4a; розчинний пептид, що містить LFA-3-зв'язуючий домен (WO 90/08187, опубл. 7/26/90), стрептокіназу; РНК або ДНК від господаря; FK506; RS-61443; дезоксиспер-

гуалін; рапаміцин; рецептор Т-клітин [Cohen et al., Патент США No.5,114,721]; фрагменти рецепторів Т-клітин [Offner et al., Science, 251:430-432 (1991); заявка США, сер. №07/853,362, від 18.03.1992, опис якої включений в дану заявку у вигляді посилання; Howell, WO 90/11294; Ianeway, Nature, 341:482 (1989); i Vandembark, WO 91/01133]; і антитіла до рецепторів Т-клітин (EP 340,109), такі як T10B9. Ці агенти приймаються в один і той же час або в різний час з антагоністами CD-11a або CD18, що застосовуються за даним винаходом, і використовуються при такому ж або меншому дозуванні, ніж встановлене в звичайній практиці.

Переважаючий допоміжний імунодепресивний агент буде залежати від багатьох факторів, включаючи тип розладу, що виликовується, тип трансплантації, що виконується, а також історії пацієнта, але загалом перевага віддається агентам, вибраним з циклоспорина А, глюкокортикостероїдов (найбільш переважно преднізон або метилпреднізолон), моноклонального антитіла ОКТ-3, азатиоприна, бромокриптіна, гетерологічного протилімофоцитного глобуліну або їх суміші.

Вислів «підвищення толерантності пересаженого трансплантата» у господаря відноситься до пролонгування життєздатності трансплантата в організмі господаря, тобто, пригнічення імунної системи господаря таким чином, щоб він краще приймав чужерідний трансплантат.

Термін «алкіл» означає розгалужений або нерозгалужений насичений аліфатичний вуглеводневий радикал, який містить вказане число вуглецевих атомів, або, якщо число атомів не вказане, містить до 12 вуглецевих атомів. Якщо не вказане інше, термін також включає ненасичені алкіли, що визначаються як «циклоалкіл», «алкеніл» і «алкініл», визначення яких приведені нижче. Приклади переважних алкільних радикалів включають метил, етил, n-пропил, ізопропил, n-бутил, ізобутил, втор-бутил, трет-бутил, n-пентил, 2-метилбутил, 2,2-диметилпропил, n-гексил, 2-метилпентил, 2,2-диметилбутил, n-гептил, 2-метилгексил і т.п. Термін «C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл» і подібні терміни, що містить «C<sub>0</sub>», означають ковалентний зв'язок, коли число вуглецевих атомів дорівнює нулю (C<sub>0</sub>) або C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкілу. Якщо необхідно запобігти вільній валентності, термін «C<sub>0</sub>» може включати атом водня. Переважною групою «C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіл» є метил.

Термін «заміщений C<sub>n</sub>-C<sub>m</sub>-алкіл», де n і m є цілі числа, що визначають діапазон вуглецевих атомів, які містяться в алкільній групі, означає вищезгадані алкільні групи, заміщені переліченими групами, або, якщо групи не перелічені, - одним, двома або трьома галогенами, гідроксигрупою, захищеною гідроксигрупою, аміногрупою, захищеною аміногрупою, C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub>-алкоксигрупою, нітрогрупою, карбоксигрупою, захищеною карбоксигрупою, карбамоїлом, карбамоїлоксигрупою, ціаногрупою, метилсульфоніламіногрупою або C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкоксигрупами. Заміщені алкільні групи можуть бути заміщені одним, двома або трьома однаковими або різними замісниками.

Приклади вищезазначених заміщених алкільних груп включають (але не обмежуються ними) ціанометил, нітрометил, гідроксиметил, триетилосиметил, пропіонілоксиметил, амінометил, карбо-

ксиметил, алкілоксикарбонілметил, алкілоксикарбоніламінометил, карбамоїлоксиметил, метоксиметил, етоксиметил, трет-бутоксиметил, ацетоксиметил, хлорметил, бромметил, йодметил, трифторметил, 6-гідроксигексил, 2,4-дихлор(n-бутил), 2-аміно(ізопропил), 2-карбамоїлоксиметил і т.п. Переважна група прикладів вищезазначених «заміщених C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-алкілів» включає заміщену металну групу, наприклад, металну групу, заміщену тими ж замісниками, що «заміщений C<sub>n</sub>-C<sub>m</sub>-алкіл». Приклади заміщеної металної групи включають такі групи, як гідроксиметил, захищений гідроксиметил (наприклад, тетрагідропіранілоксиметил), ацетоксиметил, карбамоїлоксиметил, трифторметил, хлорметил, бромметил і йодметил.

Терміни «C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-алкілокси» або «C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-алкокси» тут є взаємозамінними і означають такі групи, як метокси, етокси, n-пропокси, ізопропокси, n-бутокси, трет-бутокси і т.п.

Терміни «C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-ацилокси» або «C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-алканілокси» тут є взаємозамінними і означають такі групи, як формілокси, ацетокси, пропіонілокси, бутирилокси, пентаноїлокси, гексаноїлокси, гептаноїлокси і т.п.

Терміни «C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-алкілкарбоніл», «C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-алканіол» або «C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-ацил» тут є взаємозамінними і означають такі групи, як форміл, ацетил, пропіоніл, бутирил, пентаноїл, гексаноїл, гептаноїл, бензоїл і т.п.

Термін «циклоалкіл» тут відноситься до моно-, бі- або трициклічного насиченого або ненасиченого кільця, де кожне кільце містить від 3 до 14 вуглецевих атомів, переважно від 3 до 7 вуглецевих атомів. Як варіант, будь-яке кільце може бути оксидованим до утворення карбоніла.

Термін «алкеніл» означає розгалужений або нерозгалужений вуглеводневий радикал, що містить вказане число вуглецевих атомів і що включає один або більше вуглець-вуглецевих подвійних зв'язків, де кожний подвійний зв'язок незалежно утворює цис-, транс- або негеометричний ізомер.

Термін «алкініл» означає розгалужений або нерозгалужений вуглеводневий радикал, що містить вказане число вуглецевих атомів і що включає один або більше вуглець-вуглецевих потрійних зв'язків.

Терміни «C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-алкілтіогрупа» і «C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-заміщена алкілтіогрупа» означають C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-алкільну і C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-заміщену алкільну групу, відповідно, прикріплену до атома сірки, який, в свою чергу, є точкою прикріплення алкілтіогрупи або заміщеної алкілтіогрупи до вказаної групи або замісника.

Термін «арил» при використанні без доповнень означає гомоциклічний ароматичний радикал, злитий або незлитий, який містить вказане число вуглецевих атомів. Переважні арильні групи включають феніл, нафтил, біфеніл, фенантренил, нафтаценіл і т.п. [див., наприклад, Lang's Handbook of Chemistry (Dean, J.A., ed.) 13th ed. Табл. 7-2 [1985]].

Термін «заміщений феніл» або «заміщений арил» означає фенільну групу або арильну групу, заміщену одним, двома або трьома замісниками, вибраними з перелічених груп або вибраними з

галогену (F, Cl, Br, I), гідроксигрупи, заміщеної гідроксигрупи, ціаногрупи, нітрогрупи, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіла, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкоксигрупи, карбоксигрупи, захищеної карбоксигрупи, карбоксиметила, захищеного карбоксиметила, гідроксиметила, захищеного гідроксиметила, амінометила, захищеного амінометила, трифторметила, N-(метилсульфоніламіно)групи або інших вказаних груп.

Приклади «заміщеного феніла» включають (але не обмежуються ними) моно- або ди(галогено)фенільну групу, таку як 4-хлорфеніл, 2,6-дихлорфеніл, 2,5-дихлорфеніл, 3,4-дихлорфеніл, 3-хлорфеніл, 3-бромфеніл, 3,4-дибромфеніл, 3-хлор-4-фторфеніл, 2-фторфеніл і т.п.; моно- або ди(гідрокси)фенільну групу, таку як 4-гідроксифеніл, 3-гідроксифеніл, 2,4-дигідроксифеніл, їх похідні з захищеною гідроксигрупою і т.п.; нітрофенільну групу, таку як 3- або 4-нітрофеніл; ціанофенільну групу, наприклад, 4-ціанофеніл; моно- або ди(нижчий алкіл)фенільну групу, таку як 4-метилфеніл, 2,4-диметилфеніл, 2-метилфеніл, 4-(ізопропил)феніл, 4-етилфеніл, 3-(n-пропил)феніл і т.п.; моно- або ди(алокси)фенільну групу, таку як 2,6-диметоксифеніл, 4-метоксифеніл, 3-етоксифеніл, 4-(ізопропокси)феніл, 4-(трет-бутокси)феніл, 3-етокси-4-метоксифеніл і т.п.; 3- або 4-трифторметилфеніл; моно- або дикарбоксифенільну або (захищену карбокси)фенільну групу, таку як 4-карбоксифеніл; моно- або ди(гідроксиметил)феніл або (захищений гідроксиметил)феніл, такий як 3-(захищений гідроксиметил)феніл або 3,4-ди(гідроксиметил)феніл; моно- або ди(амінометил)феніл або (захищений амінометил)феніл, такий як 2-(амінометил)феніл або 2,4-(захищений амінометил)феніл; або моно- або ди(N-(метилсульфоніламіно))феніл, такий як 3-(N-(метилсульфоніламіно))феніл. Крім того, термін «заміщений феніл» відноситься до дизаміщених фенільних груп, замісники в яких є різними, наприклад, 3-метил-4-гідроксифеніл, 3-хлор-4-гідроксифеніл, 2-метокси-4-бромфеніл, 4-етил-2-гідроксифеніл, 3-гідрокси-4-нітрофеніл, 2-гідрокси-4-хлорфеніл і т.п. Переважні заміщені фенільні групи включають 2- і 3-трифторметилфеніл, 4-гідроксифеніл, 2-амінометилфеніл і 3-(N-(метилсульфоніламіно))феніл.

Термін «арилалкіл» означає одну, дві або три арильні групи, що містять вказане число вуглецевих атомів, приєднаних до алкільного радикала, який містить вказане число вуглецевих атомів, включаючи (але не обмежуючись ними) бензил, нафтилметил, фенетил, бензгідріл (дифенілметил), тритил і т.п. Переважна арилалкільна група являє собою бензил.

Термін «заміщений C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-аріл-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-алкіл» означає C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-алкільну групу, заміщену у одного вуглеця C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-арильною групою, зв'язаною з алкільною групою в будь-якому арильному кільцевому положенні і заміщеної в C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-алкільній частині однієї, двома або трьома групами, вибраними з галогену (F, Cl, Br, I), гідроксигрупи, захищеної гідроксигрупи, аміногрупи, захищеної аміногрупи, C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub>-алкокси, нітрогрупи, карбоксигрупи, захищеної карбоксигрупи, карбамоїла, карбамоїлоксигрупи, ціаногрупи, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкілтіогрупи, N-

(метилсульфоніламіно)групи або C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкоксигрупи. Як варіант, арильна група може бути заміщеною однією, двома або трьома групами, вибраними з галогену, гідроксигрупи, заміщеної гідроксигрупи, нітрогрупи, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкіла, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкоксигрупи, карбоксигрупи, захищеної карбоксигрупи, карбоксиметила, захищеного карбоксиметила, гідроксиметила, захищеного гідроксиметила, амінометила, захищеного амінометила або N-(метилсульфоніламіно)групи. Як вказано вище, якщо C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-алкільна частина або арильна частина, або обидві ці частини є дизаміщеними, де замісники можуть бути однаковими або різними.

Приклади «заміщеного C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-аріл-C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-алкіла» включають такі групи, як 2-феніл-1-хлоретил, 2-(4-метоксифеніл)етил, 2,6-дигідрокси-4-феніл(n-гексил), 5-ціано-3-метокси-2-феніл(n-пентил), 3-(2,6-диметилфеніл)n-пропил, 4-хлор-3-амінобензил, 6-(4-метоксифеніл)-3-карбокси(n-гексил), 5-(4-амінометилфеніл)-3-(амінометил)(n-пентил) і т.п.

Термін «карбокси-захисна група» тут відноситься до одного з складнофірних похідних карбоксильної групи, що звичайно використовується для блокування або захисту карбоксильної групи при проведенні реакцій на інших функціональних групах сполуки. Приклади таких карбокси-захисних груп включають 4-нітробензил, 4-метоксибензил, 3,4-диметоксибензил, 2,4-диметоксибензил, 2,4,6-триметоксибензил, 2,4,6-триметилбензил, пентаметилбензил, 3,4-метилendioксибензил, бензгідріл, 4,4'-диметоксибензгідріл, 2,2',4,4'-тетраметоксибензгідріл, трет-бутил, трет-аміл, тритил, 4-метокситритил, 4,4'-диметокситритил, 4,4',4"-триметокситритил, 2-фенілпроп-2-іл, триметилсиліл, трет-бутилдиметилсиліл, фенацил, 2,2,2-трихлоретил, b-(триметилсиліл)етил, b-(ди(n-бутил)метилсиліл)етил, p-толуолсульфонілетил, 4-нітробензилсульфонілетил, аліл, циннаміл, 1-(триметилсилілметил)проп-1-ен-3-іл і інші подібні угрупування. Вибрані представники карбокси-захисних груп не мають вирішальної важливості, за умови що дериватизована карбонова кислота стійка до умов подальшої реакції (реакцій) в інших положеннях бензодіазепиндіонової молекули і може бути видалена у відповідній точці без розриву іншої частини молекули. Зокрема, важливо не віддавати карбокси-захищену бензодіазепиндіонову молекулу впливам сильних нуклеофільних основ або відновним умовам, що використовують високоактивовані металеві каталізатори, такі як нікелевий каталізатор Ренея. (Також слід уникати таких жорстких умов при видаленні аміно-захисних груп і гідрокси-захисних груп, описаних нижче) Переважні карбокси-захисні групи включають алільну і p-нітробензильну групи. Подібні карбокси-захисні групи, що використовуються у виробництві цефалоспоринової, пеніцилінової і пептидів, можуть також використовуватися для захисту замісників карбоксигруп в бензодіазепиндіоні.

Додаткові приклади цих груп можна знайти в E. Haslam, "Protective Groups in Organic Chemistry", J.G.W. McOmie, Ed., Plenum Press, New York, N.Y., 1973, Chapter 5, and T.W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley and Sons, New York, NY, 1981, Chapter 5. Термін «захищена



карбоксигрупа» відноситься до карбоксигрупи, заміщеної однією з вищезазначених карбокси-захисних груп.

Термін «амід-захисна група» відноситься до будь-якої групи, що звичайно використовується у виробництві пептидів для захисту азотних атомів в пептидах від небажаних побічних реакцій. Такі групи включають р-метоксифеніл, 3,4-диметоксибензил, бензил, О-нітробензил, ди-(р-піридилметил), m-2-(піколіл)-N'-оксид, 5-дибензосуберил, триметилсиліл, трет-бутилдиметилсиліл і т.п. Додаткові описи цих захисних груп можна знайти в "Protective Groups in Organic Chemistry", Theodora W. Greene, 1981, John Wiley and Sons, New York.

Якщо не вказане інше, терміни «гетероциклічна група», «гетероциклічний», «ГЕТ», «гет» або «гетероцикліл» використовуються тут взаємозамінно і відносяться до будь-якого моно-, бі- або трициклічного насиченого, ненасиченого або ароматичного кільця, що містить вказане число атомів, де щонайменше одне кільце являє собою 5-, 6- або 7-ланкового кільця, що містить від 1 до 4 гетероатомів, вибраних з групи, що включає азот, кисень і сірку (Lang's Handbook of Chemistry, вище). Звичайно 5-ланкове кільце містить від 0 до 2 подвійних зв'язків, а 6- і 7-ланкове кільце містить від 0 до 3 подвійних зв'язків, а атоми азоту, вуглеводу або сірки в кільці можуть бути, як варіант, окисдованими (наприклад, NO<sub>2</sub>, C=O і SO<sub>2</sub>), і будь-який азотний гетероатом може бути кватернізований. В область визначення входять будь-які біциклічні групи, де будь-який з вищезазначених гетероциклічних кілець злисте з бензольним кільцем. Гетероцикліли, в яких гетероатомами є кисень або сірка, переважні, коли гетероцикліл утворює всю або частину групи «D» в формулі I.

Наведені далі кільцеві системи є прикладами гетероциклічних (заміщених або незаміщених) радикалів, позначених терміном «гетероцикліл» або «гет»: тієніл, фурил, піроліл, імідазоліл, піразоліл, тіазоліл, ізотіазоліл, оксазоліл, ізоксазоліл, триазоліл, тіадіазоліл, оксадіазоліл, тетразоліл, тіатриазоліл, оксатриазоліл, піридил, піримідил, піразиніл, піридазиніл, тіазиніл, оксазиніл, триазиніл, тіадіазиніл, оксадіазиніл, дитіазиніл, діоксазиніл, оксатіазиніл, тетразиніл, тіатриазиніл, оксатриазиніл, дитіадіазиніл, імідазолініл, дигідроіпіримідил, тетрагідропіримідил, тетразоло[1,5-b]піридазиніл і пуриніл, а також бензо-злиті похідні, наприклад, бензоксазоліл, бензофурил, бензотіазоліл, бензотіадіазоліл, бензотриазоліл, бензоімідазоліл і індоліл.

Гетероциклічні 5-ланкові кільцеві системи, що містять атом сірки або кисня і від одного до трьох атомів азоту, також придатні для використання в даному винаході. Приклади таких переважних груп включають тіазоліл, зокрема, тіазол-2-іл і тіазол-2-іла N-оксид, тіадіазоліл, зокрема, 1,3,4-тіадіазол-5-іл і 1,2,4-тіадіазол-5-іл, оксазоліл, переважно оксазол-2-іл, і оксадіазоліл, такий як 1,3,4-оксадіазол-5-іл і 1,2,4-оксадіазол-5-іл. Група додаткових переважних прикладів 5-ланкових кільцевих систем з 2-4 атомами азоту включає імідазоліл, переважно імідазол-2-іл; триазоліл, переважно 1,3,4-триазол-5-іл, 1,2,3-триазол-5-іл, 1,2,4-триазол-5-іл, і тетра-

золіл, переважно 1H-тетразол-5-іл. Переважна група прикладів бензо-злитих похідних включає бензоксазол-2-іл, бензтіазол-2-іл і бензімідазол-2-іл.

Додаткові відповідні специфічні приклади вищезазначених гетероциклічних кільцевих систем включають 6-ланкові кільцеві системи, що містять від 1 до 3-х атомів азоту. Такі приклади включають піридил, наприклад, пірид-2-іл, пірид-3-іл і пірид-4-іл; піримідил, переважно піримід-2-іл і піримід-4-іл; триазиніл, переважно 1,3,4-триазин-2-іл і 1,3,5-триазин-4-іл; піридазиніл, зокрема, піридазин-3-іл, і піразиніл. Піридин N-оксиди і піридазина N-оксиди, а також піридил, піримід-2-іл, піримід-4-іл, піридазиніл і 1,3,4-триазин-2-іл складають переважну групу радикалів.

Заступники для заміщеної (як варіант) гетероциклічної кільцевої системи і додаткові приклади 5- і 6-ланкових кільцевих систем, описані вище, можна знайти в W.Druckheimer et al., патент США No.4,278,793.

Інша переважна група «гетероциклілів» або «гетів» включає: 1,3-тіазол-2-іл, 4-(карбоксиметил)-5-метил-1,3-тіазол-2-іл, 4-(карбоксиметил)-5-метил-1,3-тіазол-2-іла натрієва сіль, 1,2,4-тіадіазол-5-іл, 3-метил-1,2,4-тіадіазол-5-іл, 1,3,4-триазол-5-іл, 2-метил-1,3,4-триазол-5-іл, 2-гідрокси-1,3,4-триазол-5-іл, 2-карбокси-4-метил-1,3,4-триазол-5-іла натрієва сіль, 2-карбокси-4-метил-1,3,4-триазол-5-іл, 1,3-оксазол-2-іл, 1,3,4-оксадіазол-5-іл, 2-метил-1,3,4-оксадіазол-5-іла, 2-(гідроксиметил)-1,3,4-оксадіазол-5-іл, 1,2,4-оксадіазол-5-іл, 1,3,4-тіадіазол-5-іл, 2-тіол-1,3,4-тіадіазол-5-іл, 2-(метилтіо)-1,3,4-тіадіазол-5-іл, 2-аміно-1,3,4-тіадіазол-5-іл, 1H-тетразол-5-іл, 1-метил-1H-тетразол-5-іл, 1-(1-(диметиламіно)ет-2-іл)-1H-тетразол-5-іл, 1-(карбоксиметил)-1H-тетразол-5-іл, 1-(карбоксиметил)-1H-тетразол-5-іла натрієва сіль, 1-(метилсульфонової кислоти)-1H-тетразол-5-іл, 1-(метилсульфонової кислоти)-1H-тетразол-5-іла натрієва сіль, 2-метил-1H-тетразол-5-іл, 1,2,3-триазол-5-іл, 1-метил-1,2,3-триазол-5-іл, 2-метил-1,2,3-триазол-5-іл, 4-метил-1,2,3-триазол-5-іл, пірид-2-іла N-оксид, 6-метокси-2-(n-оксид)-піридаз-3-іл, 6-гідроксипіридаз-3-іл, 1-метилпірид-2-іл, 1-метилпірид-4-іл, 2-гідроксипіримід-4-іл, 1,4,5,6-тетрагідро-5,6-діоксо-4-метил-аз-триазин-3-іл, 1,4,5,6-тетрагідро-4-(формілметил)-5,6-діоксо-аз-триазин-3-іл, 2,5-дигідро-5-оксо-6-гідрокси-аз-триазин-3-іл, 2,5-дигідро-5-оксо-6-гідрокси-аз-триазин-3-іла натрієва сіль, 2,5-дигідро-5-оксо-6-гідрокси-2-метил-аз-триазин-3-іла натрієва сіль, 2,5-дигідро-5-оксо-6-гідрокси-2-метил-аз-триазин-3-іл, 2,5-дигідро-5-оксо-6-метокси-2-метил-аз-триазин-3-іл, 2,5-дигідро-5-оксо-2-метил-аз-триазин-3-іл, 2,5-дигідро-5-оксо-2,6-диметил-аз-триазин-3-іл, тетразоло[1,5-b]піридазин-6-іл і 8-амінотетразоло[1,5-b]піридазин-6-іл.

Альтернативна група «гетероциклілів» включає: 4-(карбоксиметил)-5-метил-1,3-тіазол-2-іл, 4-(карбоксиметил)-5-метил-1,3-тіазол-2-іла натрієва сіль, 1,3,4-триазол-5-іл, 2-метил-1,3,4-триазол-5-іл, 1H-тетразол-5-іл, 1-метил-1H-тетразол-5-іл, 1-(1-(диметиламіно)ет-2-іл)-1H-тетразол-5-іл, 1-

(карбоксиметил)-1Н-тетразол-5-іл, 1-(карбоксиметил)-1Н-тетразол-5-іла натрієва сіль, 1-(метилсульфонової кислоти)-1Н-тетразол-5-іл, 1-(метилсульфонової кислоти)-1Н-тетразол-5-іла натрієва сіль, 1,2,3-триазол-5-іл, 1,4,5,6-тетрагідро-5,6-діоксо-4-метил-аз-триазин-3-іл, 1,4,5,6-тетрагідро-4-(2-формілметил)-5,6-діоксо-аз-триазин-3-іл, 2,5-дигідро-5-оксо-6-гідрокси-2-метил-аз-триазин-3-іла натрієва сіль, 2,5-дигідро-5-оксо-6-гідрокси-2-метил-аз-триазин-3-іл, тетразола[1,5-b]піридазин-6-іл і 8-амінотетразоло[1,5-b]піридазин-6-іл.

Бівалентні радикали L, розгалужені або нерозгалужені, отримані з алканів, алкенів, алкадієнів, алкінів, алкадіїнів і аренів, які, можливо, містять атоми O, N і/або S, або гомо- і гетероцикли, ароматичні або аліфатичні, позначаються шляхом додання вільної валентності «-» на обох кінцях відповідного моновалентного радикала. Атоми, що мають вільні валентності, можуть включати будь-який з атомів C, O, N або S.

«Фармацевтично прийнятні солі» включають солі, отримані внаслідок реакцій як з кислотами, так і з основами. Вислів «Фармацевтично прийнятні солі з кислотами» відноситься до тих солей, які зберігають біологічну ефективність і властивості вільних основ і які не є небажаними в біологічному або іншому відношенні, утворені з неорганічними кислотами, такими як соляна кислота, бромистоводнева кислота, сірчана кислота, азотна кислота, вугільна кислота, фосфорна кислота і т.п., і органічними кислотами, які можуть бути вибрані з аліфатичних, циклоаліфатичних, ароматичних, араліфатичних, гетероциклічних, карбонових і сульфонових класів органічних кислот, такі як мурашина кислота, оцтова кислота, пропіонова кислота, гліколева кислота, глюконова кислота, молочна кислота, піровиноградна кислота, щавлева кислота, яблучна кислота, малеїнова кислота, маліоновая кислота, янтарна кислота, фумарова кислота, винна кислота, лимонна кислота, аспарагінова кислота, аскорбінова кислота, глютамінова кислота, антранілова кислота, бензойна кислота, корична кислота, мигдалева кислота, ембонатова кислота, фенілоцтова кислота, метансульфокислота, етансульфокислота, р-толуолсульфокислота, саліцилова кислота і т.п.

«Фармацевтично прийнятні солі з основами» включають солі, отримані з неорганічних основ, такі як солі натрію, калію, літію, амонію, кальцію, магнію, заліза, цинку, міді, марганця, алюмінію і т.д. Особливо переважні аммонієві, калієві, натрієві, кальцієві і магнієві солі. Солі, отримані з фармацевтично прийнятних органічних нетоксичних основ, включають солі первинних, вторинних і третинних амінів, заміщених амінів, включаючи природні заміщені аміни, циклічні аміни і основні іонообмінні смоли, такі як ізопропіламін, триметиламін, диетиламін, триетиламін, трипропіламін, етаноламін, 2-диетиламіноетанол, триметамін, дициклогексиламін, лізин, аргінін, гістидин, кофеїн, прокаїн, гідрабамін, холін, бетаїн, етилендіамін, глюкозамін, метилглюкамін, теобромін, пурини, піперизин, піперидин, N-етилпіперидин, поліамінні смоли і т.п. Особливо переважні такі органічні нетоксичні основи, як ізо-

пропіламін, диетиламін, етаноламін, триметамін, дициклогексиламін, холін і кофеїн.

Термін «проліки» тут означає похідне або попередник молекули основних ліків, який поліпшує фармацевтично бажані характеристики або властивості (наприклад, транспорт, біоаккумуляцію, фармакодинаміку і т.д.) і який вимагає біотрансформації, спонтанної або ферментативної, всередині організму для вивільнення активних основних ліків. Приклади карбоксильних проліків включають такі попередники, як альдегіди, спирти або аміни, або такі похідні, як складний ефір.

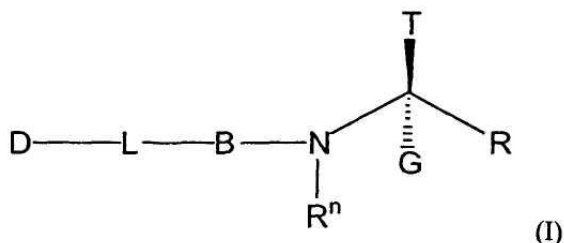
Антагоністи LFA-1 і/або Mac-1 по даному винаходу підходять для терапевтичного застосування при таких захворюваннях і станах, для яких показане інгібування або модуляція взаємодії LFA-1 і/або Mac-1 з ICAM, особливо ICAM-1. Такі захворювання і стани включають: Т-клітинні запальні реакції, такі як запальні захворювання шкіри, включаючи псоріаз; реакції, пов'язані із запальним кишковим захворюванням (таким як хвороба Крона і виразковий коліт); респіраторний дистрес-синдром дорослих; дерматит; менінгіт; енцефаліт; увеїт; алергічні стани, такі як екзема і астма, і інші стани, що викликають інфільтрацію Т-клітин і хронічні запальні реакції; реакції шкіряної гіперчутливості (включаючи сумах, що вкорінюється); алергічний контактний дерматит; атеросклероз; автоімунні захворювання, такі як ревматоїдний артрит, системна червона волчанка (СКВ), цукровий діабет, множинний склероз, синдром Рейнода, автоімунний тиреоїдит, експериментальний автоімунний енцефаломієліт, синдром Шегрена, юнацький діабет і імунні реакції, пов'язані з уповільненою гіперчутливістю, опосередкованою цитокінами і Т-лімфоцитами, що звичайно спостерігаються при туберкульозі, саркоїдозі, поліміозиті, гранулематозі і васкуліті; зловідомна анемія; захворювання, що викликають лейкоцитарний діapedез; запальні розлади ЦНС, синдром множинної поразки внутрішніх органів внаслідок зараження крові або травми; автоімунна гемолітична анемія; важка псевдопаралітична міастенія, захворювання, опосередковані комплексом антиген-антитіло; всі типи трансплантацій, включаючи реакції «трансплантат проти господаря» або «господар проти трансплантата», ВІЛ-інфекцію і т.д.

Інші лейкоцитарно-опосередковані захворювання, для яких можуть бути використані дані конкурентні інгібітори, включають: геморагічний шок, ішемічна/реперфузійна поразка, шунтуюча хірургія, опіки, інсульт, наслідки аорто-коронарного шунтування (АКШ), васкуліт, церебральний набряк (ширше - рестеноз, гострий інфаркт міокарда і інфаркт міокарда без зубця Q).

#### C. Переважні варіанти здійснення

##### 1. Конкурентні інгібітори CD11a/CD18:ICAM-1

Один з варіантів здійснення винаходу включає сполуку, представлену формулою I, яка здатна інгібувати зв'язування лейкоцитарного рецептора LFA-1 з його нативним in vivo лігандом (лігандами), особливо ICAM-1. Переважні інгібітори включають сполуки, представлені структурною формулою I

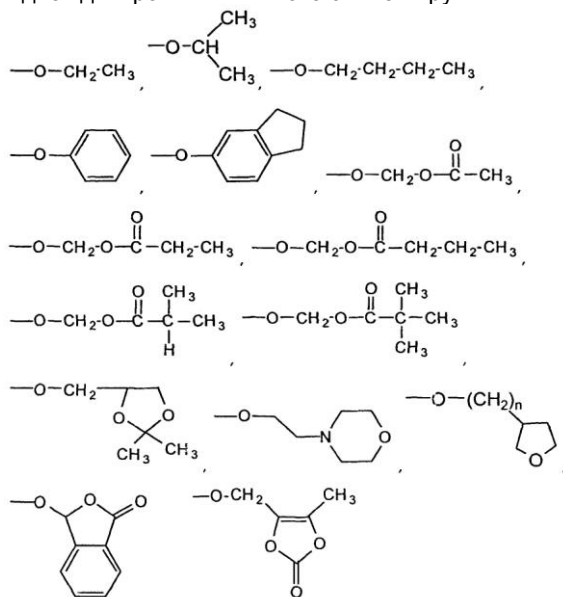


На основі формули I можуть бути ідентифіковані такі важливі структурні особливості даних пептидоміметичних інгібіторів LFA-1:

- a. Негативно заряджене кислотне угруповання R або її пролікарська форма;
- b. Замісник T, природний амінокислотний бічний ланцюг і її похідні;
- з. Амідний азот (N) і замісники ( $R^n$ );
- d. Заміщене «бензоїльне» кільце B;
- e. Замісники кільця B, а саме  $R^P$ ;
- f. Роздільник або з'єднувальне угруповання L.
- g. Дистальне ароматичне угруповання D і
- h. Замісники угруповання D, а саме  $R^d$ .

(a) Негативно заряджене кислотне угруповання R

Переважає негативно заряджене кислотне угруповання R являє собою карбоксильну групу ( $-\text{COOH}$ ) або її пролікарську форму. Звичайно карбоксильна група R і її пролікарські форми позначаються як  $\text{COR}^Z$ . Відповідні  $R^Z$  включають  $\text{C}_1$ - $\text{C}_8$ -алкокси,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_8$ -диалкіл-амінокарбонілметокси і  $\text{C}_6$ - $\text{C}_{10}$ -арил- $\text{C}_1$ - $\text{C}_8$ -диалкіламінокарбонілметокси. Інші відповідні проліки  $R^Z$  включають такі групи:

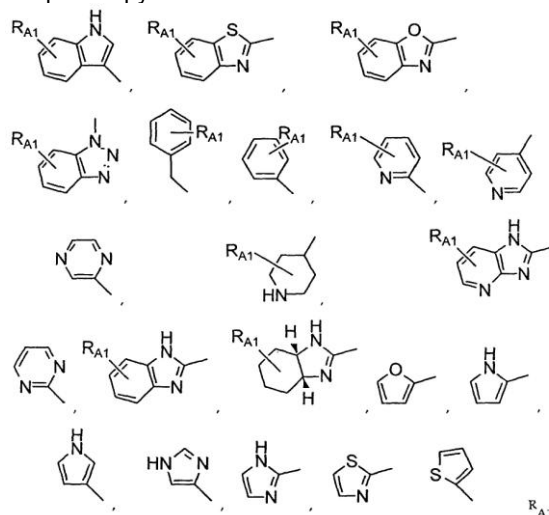


(b) Замісник T або U-Q-V-W

T в формулі I звичайно являє собою бічний ланцюг будь-якої  $\alpha$ -амінокислоти, переважно L-конфігурації, або її гомолог або похідне. Переважно, T містить групу, що віддає водневий зв'язок, таку як  $\text{CONH}_2$ ,  $\text{NHCOH}$ ,  $\text{NH}_2$ ,  $\text{OH}$  або  $\text{NH}$ . T часто може бути алканом з 1-4 вуглецевих атомів, що містить амід, карбамат, уреїдо, сульфонамід і,

можливо, заміщений феніл або гетероцикл. Гетероцикл звичайно являє собою 5- або 6-ланкове кільце з одним або двома гетероатомами, вибраними з N, O або S. Такі гетероцикли включають фуран, тіофен, пірол, піридин і піперидин. Замісники включають галогени, такі як  $\text{Cl}^-$  і  $\text{F}^-$ , нітрогрупу, ціаногрупу, алкіл і галогензаміщений алкіл, заміщені або незаміщені аміді, аміни, карбамати, сульфонаміді, уреїдогрупи і т.п.

Приклади T також включають нижчий алкіл, циклоалкіл, алкеніл або алкініл, заміщений ароматичним кільцем, особливо гетероариллом або  $\text{C}_6$ - $\text{C}_{14}$ -ариллом, заміщеним 0-3-ма радикалами  $R^d$ . Відповідні ароматичні кільця включають будь-яке моно-, бі- або трициклічне насичене, ненасичене або ароматичне кільце, що містить від 3 до 7 кільцевих атомів, де щонайменше одне кільце є 5-, 6- або 7-ланковим кільцем, що містить від 0 до 4 гетероатомів з групи, яка включає азот, кисень і сірку, можливо, заміщеним радикалом R. Як варіант, ароматичні кільця можуть бути з'єднані через  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -алкіл. Переважні кільця являють собою заміщений феніл і гет, визначення яких наведено вище, можливо, заміщені радикалом  $R^d$ . Найбільш переважні, як варіант, заміщені ароматичні кільця вибрані з групи:



де  $R_{A1}$  являє собою 0-3 радикали  $R^d$  або U-V-W.

Інші переважні замісники T являють собою угруповання U-Q-V-W, описане нижче. Зокрема, T переважно може являти собою  $-\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ -алкіл-Q-V-W, де Q являє собою  $-\text{N}(R^n)-$ ,  $-\text{C}(=\text{O})-$ ,  $-\text{C}(=\text{O})-\text{N}(R^n)-$ ,  $\text{N}(R^n)-\text{C}(=\text{O})-\text{N}(R^n)-$ ,  $\text{N}(R^n)-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-$ ,  $-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{N}(R^n)-$ ,  $-\text{N}(R^n)-\text{S}(=\text{O})_2-$ ,  $-\text{S}(=\text{O})_2-\text{N}(R^n)-$ ,  $-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-$  или  $-\text{O}-$ ; V може являти собою гет або може бути відсутнім, а група W представлена в Табл. 1.

Як правило, U, Q, V і W вибрані незалежно один від одного відповідно до таблиці 1. U, Q і V можуть також бути відсутніми незалежно один від одного (тобто, один або більше U, Q і V можуть являти собою ковалентний зв'язок).

Таблиця 1

U	Q	V	W
-C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub> алкіл-	-O-	-C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub> алкіл-	R <sup>a</sup>
-C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> алкеніл-	-SO <sub>0,2</sub> -	-C <sub>3</sub> -C <sub>8</sub> циклоалкіл-	OR <sup>U</sup>
-C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub> алкініл-	-SO <sub>2</sub> N(R <sup>n</sup> )-	-C <sub>0</sub> -C <sub>6</sub> алкіл-гет-	SR <sup>m</sup>
-C <sub>3</sub> -C <sub>8</sub> циклоалкіл-	-N(R <sup>n</sup> )-	-C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub> алкіл-C <sub>6</sub> -C <sub>10</sub> арил-	NR <sup>n</sup> R <sup>n</sup>
-C <sub>6</sub> -C <sub>10</sub> арил-	-N(R <sup>n</sup> )C(=O)-	-C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> алкеніл-	NHCOOR <sup>c</sup>
	-N(R <sup>n</sup> )C(=O)-O-	Фуран	NHCONR <sup>n</sup> R <sup>n</sup>
	-N(R <sup>n</sup> )-SO <sub>2</sub> -	Тіофен	NHCOR <sup>c</sup>
	-C(=O)-	Пірол	NHSO <sub>2</sub> R <sup>s</sup>
	-C(=O)-O-	Феніл	NHSO <sub>2</sub> NR <sup>n</sup> R <sup>n</sup>
	-гет-	Піперидин	NHSO <sub>2</sub> NHCOR <sup>c</sup>
	-C(=O)-N(R <sup>n</sup> )-	Піперазин	NHCONHSO <sub>2</sub> R <sup>s</sup>
	-O-C(=O)-N(R <sup>n</sup> )-	Морфолін	CONHCOOR <sup>c</sup>
	-PO(OR <sup>c</sup> )-O-	Піридин	CONHCOR <sup>c</sup>
	-P(O)-O-		CONHCONR <sup>n</sup> R <sup>n</sup>
			CONHSO <sub>2</sub> R <sup>s</sup>
			CONHSO <sub>2</sub> NR <sup>n</sup> R <sup>n</sup>
			CSNR <sup>n</sup> R <sup>n</sup>
			SO <sub>2</sub> R <sup>s</sup>
			SO <sub>3</sub> R <sup>s</sup>
			SO <sub>2</sub> NR <sup>n</sup> R <sup>n</sup>
			OSO <sub>2</sub> R <sup>s</sup>
			SO <sub>2</sub> NHCOOR <sup>c</sup>

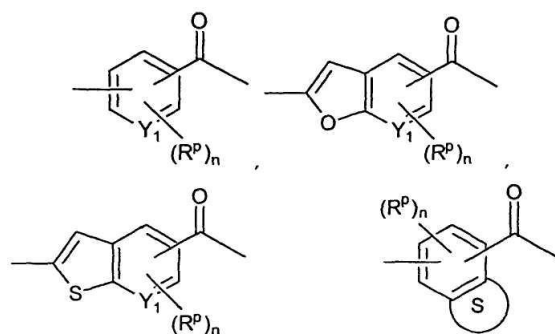
де будь-який алкіл, алкеніл або алкініл заміщені 0-3 радикалами R<sup>a</sup>, а будь-який арил або гет заміщені 0-3 радикалами R<sup>d</sup>, і де визначення R<sup>d</sup>, R<sup>c</sup>, R<sup>d</sup>, R<sup>m</sup>, R<sup>n</sup>, R<sup>n</sup>, R<sup>O</sup> і R<sup>S</sup> наведені вище. Більш конкретно, кожна з груп U, Q, V і W може бути незалежно вибрана у відповідності з Табл. 2.

Таблиця 2

U	Q	V	W
-CH <sub>2</sub> -	-N(R <sup>n</sup> )C(=O)-	2-тієніл	-
-CH <sub>2</sub> -	-N(R <sup>n</sup> )C(=O)-	2-фурил	-
-CH <sub>2</sub> -	-N(R <sup>n</sup> )C(=O)-O-	-CH <sub>2</sub> -CH=CH <sub>2</sub> -	-
-CH <sub>2</sub> -	-C(=O)-NH <sub>2</sub>	-	-
-CH <sub>2</sub> -	-N(R <sup>n</sup> )C(=O)-	2-тієніл	Галоген
-CH <sub>2</sub> -	-NH-C(=O)-NH-	Феніл	-CN
-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	-N(R <sup>n</sup> )-SO <sub>2</sub> -	2-тієніл	—
CH <sub>2</sub> -	-O-C(=O)-NH-	Феніл	Метил
-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	-N(R <sup>n</sup> )-SO <sub>2</sub> -	Тіоімідазол	-NH-C(=O)-CH <sub>3</sub>
-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	-NH-SO <sub>2</sub> -	Феніл	-NH-C(=O)-CH <sub>3</sub>
-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	-NH-SO <sub>2</sub> -	2-тієніл	-
CH <sub>2</sub> -	-NH-C(=O)-	Пірол	Триметил
-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	-NH-C(=O)-	3-хлор-2-тієніл	Метилсульфоніл
-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	-NH-C(=O)-	Циклопропіл	-
-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	-NH-C(=O)-	2-тієніл	Cl <sup>i</sup>
CH <sub>2</sub> -	-NH-C(=O)-	2-фурил	Метил

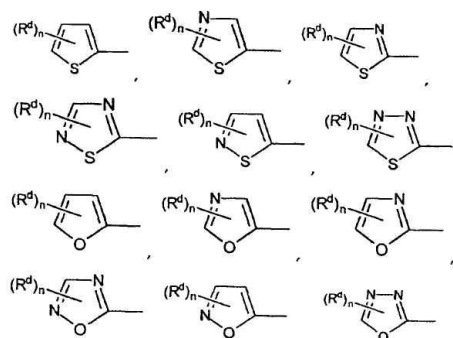
(с) Замісники (R<sup>n</sup>) для амідного атома азоту N являють собою нижчий алкіл або водень, переважно водень.

(d) Заміщене «бензоїльне» кільце В переважно вибрано з групи, що включає:

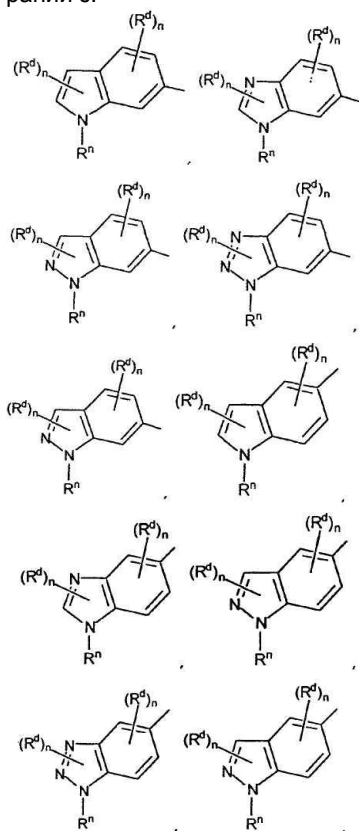




43

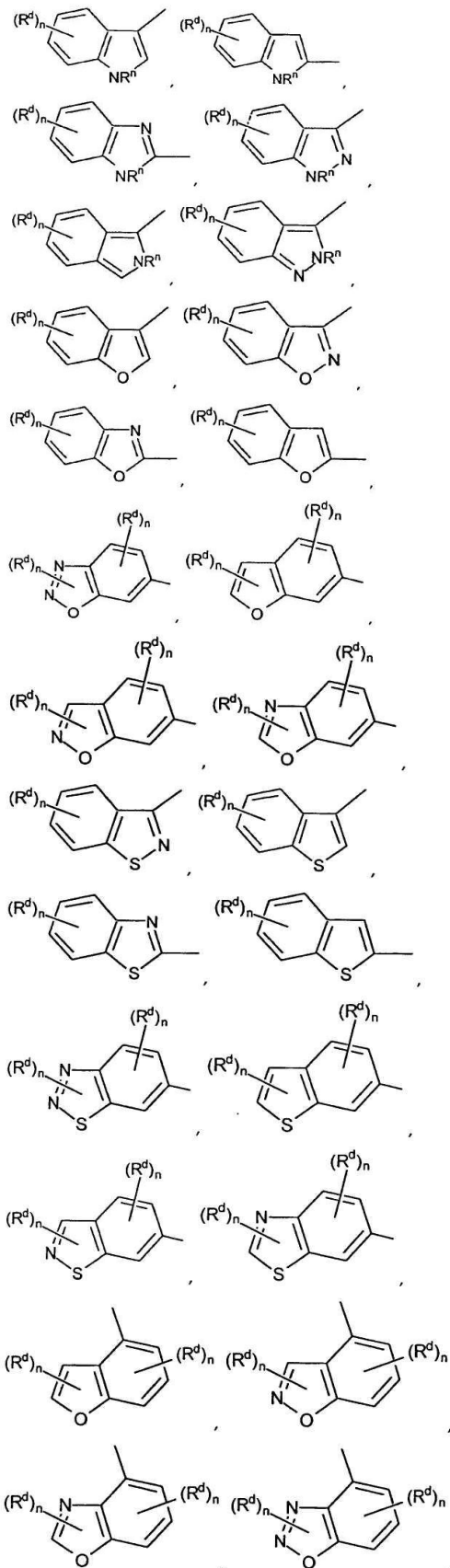


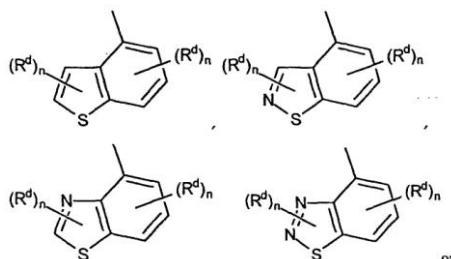
2) 9-членный ароматический гетеробикцикл, выбранный 3:



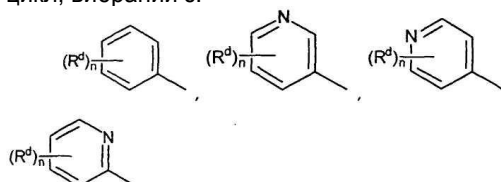
74531

44





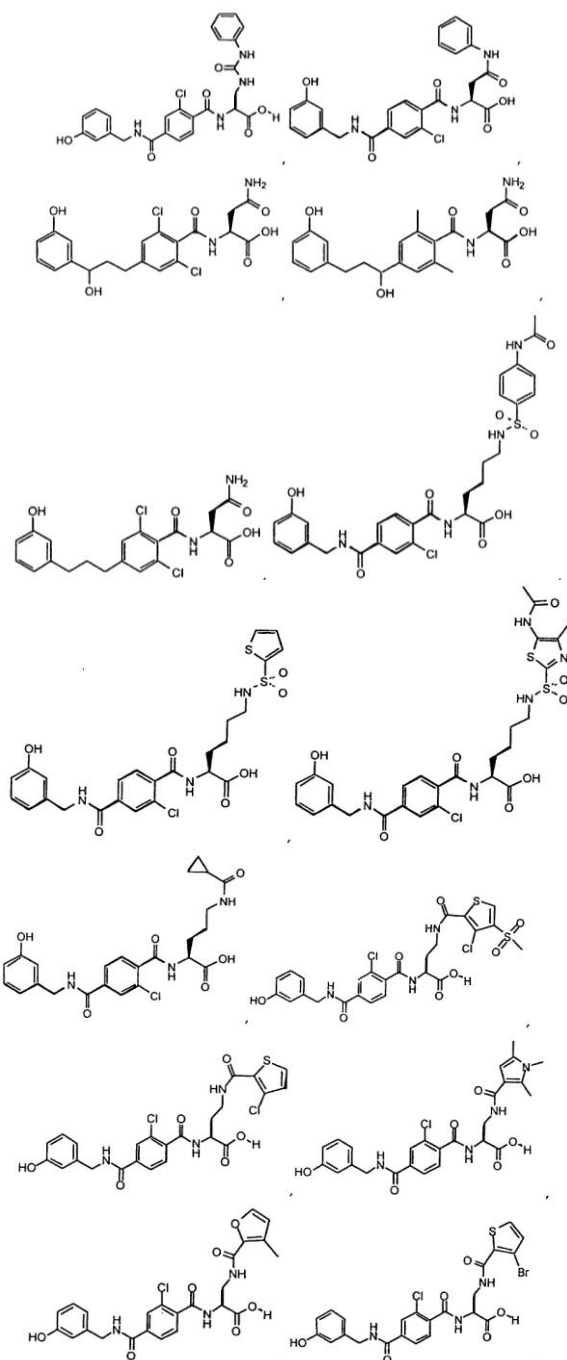
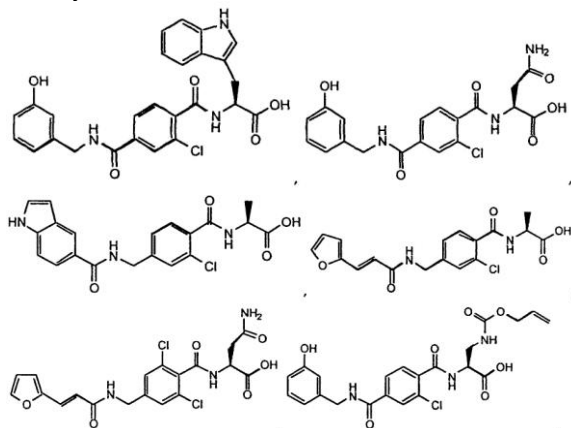
3) 6-членний ароматичний гетеро- або гомоцикл, вибраний з:

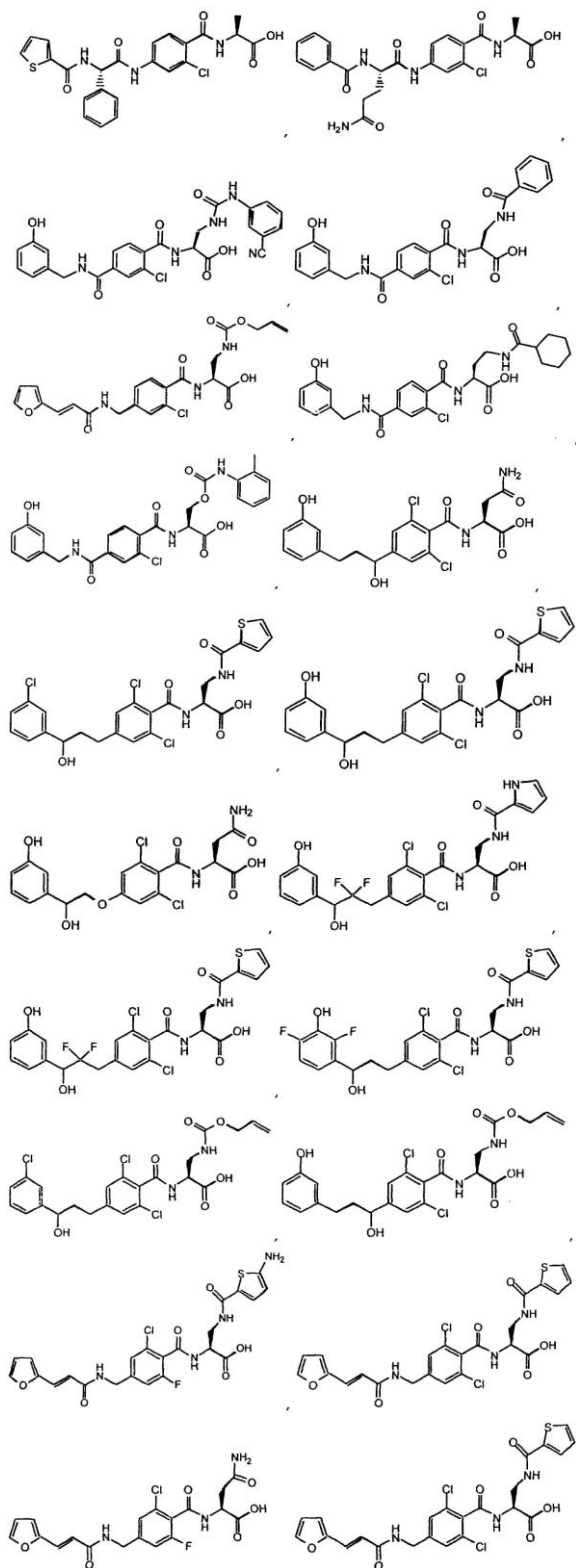


Сполуки, що містять вищезазначений переважний 5-ланковий ароматичний гетероцикл і 9-ланковий ароматичний гетеробіцикл (пункти 1 і 2) у якості групи D, переважні як специфічні антагоністи LFA-1, а 6-ланковий ароматичний гетеро- або гомоцикл (п. 3) переважний як група D для інгібування як LFA-1, так і Mac-1. У цьому останньому випадку група D переважно заміщена гідроксилом або його попередником.

(h) Переважні замісники D включають одну або більше груп, вибраних з OH, NH<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>OH, CN, CH<sub>3</sub>C(=O)-NH-, NH<sub>2</sub>C(=O)-, NHCONH<sub>2</sub>, CF<sub>3</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкокси і галогена (F, Cl, Br, I).

Приклади переважних з'єднань по даному винаходу включають:





#### D Способи виробництва

Один із способів отримання антагоністів LFA-1 включає хімічний синтез «пептида» або пептидоміметика. Цей синтез може проводитися по методиці, добре відомій досвідченим фахівцям в цій галузі, [див. Stewart and Young, Solid Phase Peptide Synthesis Pierce Chemical Co. Rockford, IL (1984); см. також Патент США No.4,105,603, 3,972,859, 3,842,067 і 3,862,925)].

З огляду сполук, приведених вище, стає ясно, що всі вони містять один або більше амідних або пептидних зв'язків, і тому можуть розглядатися як пептидоміметики. Пептидоміметики по винаходу зручно також отримувати з використанням твердофазного пептидного синтезу [Merrifield, J. Am. Chem. Soc., 85:2149 (1964); Houghten, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 82:5132-5159 (1985)]. Твердофазний синтез починається з карбоксильного закінчення запланованого пептида шляхом з'єднання захищеної амінокислоти з відповідною полімерною смолою (наприклад, хлорметильованою полістирольною смолою), як показано на Фіг.1-1 і 1-2, на стор.2 і 4 роботи Stewart and Young, вище. Після видалення  $\alpha$ -аміно-захисної групи за допомогою, наприклад, трифтороцтової кислоти (TFA) в метиленхлориді і нейтралізації, наприклад, в ТЕА, в синтез додається наступна  $\alpha$ -амінокислота і амінокислота із захищеним бічним ланцюгом.  $\alpha$ -Амінокислоти, що залишилися, і, якщо необхідно, амінокислоти із захищеним бічним ланцюгом приєднуються послідовно в бажаному порядку шляхом конденсації для отримання проміжної сполуки, з'єднаної з полімерною смолою. В альтернативі, деякі аміни і кислоти можуть з'єднуватися одне з одним, утворюючи пептид, до додання пептида в зростаючий твердофазний пептидний ланцюг.

Конденсація між двома амінокислотами може проводитися звичайними способами конденсації, такими як азидний спосіб, змішаний кислотнo-ангідридний спосіб, способи DCC (N,N'-дициклогексилкарбодиимід) або DEPC (N,N'-діізопропилкарбодиимід), спосіб активного ефіру (спосіб p-нітрофенілового ефіру, спосіб BOP (бензотриазол-1-іл-окси-трис(диметиламіно)фосфонія гексафторфосфат), спосіб N-гідроксисантарної кислоти імідоефіра і т.д., а також спосіб реагента K Вудворда.)

Загальним для всіх хімічних синтезів пептидів є захист будь-яких реакційнодатних груп бічних ланцюгів амінокислот відповідними захисними групами. Наприкінці, після послідовного збирання потрібного поліпептидного ланцюга, ці захисні групи видаляються. Також загальним є захист  $\alpha$ -аміногрупи в амінокислоті або фрагменті, поки цей елемент реагує на ділянці карбоксильної групи, з подальшим виборчим видаленням  $\alpha$ -аміно-захисної групи для забезпечення можливості реакції тепер на цій ділянці. Таким чином, для пептидного синтезу загальним є те, що виробляється проміжна сполука, в якій амінокислотні залишки розташовуються в пептидному ланцюгу в бажаній послідовності, а до бічних ланцюгів цих залишків прикріплені захисні групи. Ці захисні групи потім видаляються разом, по суті, одночасно, щоб отримати бажаний результуючий продукт після відділення від полімерної смоли.

Відповідні захисні групи для захисту  $\alpha$ - і  $\epsilon$ -аміно-груп бічних ланцюгів включають бензилоксикарбоніл (CBZ), ізонікотинілоксикарбоніл (INOC), про-хлорбензилоксикарбоніл (2-Cl- CBZ), p-нітробензилоксикарбоніл [Z(NO<sub>2</sub>)], p-метоксибензилоксикарбоніл [Z(OMe)], трет-бутоксикарбоніл (BOC), трет-амілоксикарбоніл (AOC), ізоборнілоксикарбоніл, адаматилоксикарбоніл, 2-(4-біфеніл)-(2-пропил-оксикарбоніл



(BPOC), 9-флуоренілметоксикарбоніл (FMOC), метилсульфо-наїетоксикарбоніл (Msc), трифторацетил, фталіл, форміл, 2-нітрофенілсульфеніл (NPS), дифенілфосфінотіол (Ppt), диметилфосфінотіол (Mpt) і т.п.)

Захисні групи для карбоксильної функціональної групи представлені такими прикладами: бензиловий ефір (Obzl), циклогексиловий ефір (Chx), 4-нітробензиловий ефір (OtBu), 4-піридилметиловий ефір (Opic) і т.п. Часто бажано, щоб специфічні амінокислоти, такі як аргінін, цистеїн і серин, що містять функціональну групу, відмінну від аміно- і карбоксильної груп, були захищені відповідною захисною групою. Наприклад, гуанідино-група аргініна може бути захищена нітрогрупою, р-толуолсульфонілом, бензилоксикарбонілом, адамантилоксикарбонілом, р-метоксибензолсульфонілом, 4-метокси-2,6-диметилбензолсульфонілом (Mds), 1,3,5-триметилфенілсульфонілом (Mts) і т.п. Тіолова група цистеїна може бути захищена р-метоксибензилом, трифенілметилом, ацетиламінометилетилкарбамоїлом, 4-метилбензилом, 2,4,6-триметилбензилом (Tmb) і т.д., а гідроксильна група серина може бути захищена бензилом, трет-бутилом, ацетилом, тетрагідропіранілом і т.п.

Stewart and Young, вище, надають детальну інформацію відносно методик отримання пептидів. Захист  $\alpha$ -аміногруп описаний на стор.14-18, а блокування бічних ланцюгів описане на стор.18-28. Таблиця захисних груп для аміно-, гідроксильної і сульфгідрильної функціональних груп приведена на стор.149-151.

Після складання бажаної амінокислотної послідовності проміжний пептид відділяється від полімерної підкладки шляхом обробки відповідним реагентом, таким як рідкий HF і один або більше сірковмісних очищувачів, які не тільки відщеплюють пептиди від смоли, але також відщеплюють всі захисні групи бічних ланцюгів, що залишилися. Після HF-відщеплення пептидний залишок промивається ефіром і екстрагується із смоли шляхом промивки водним ацетонітрилом і оцтовою кислотою.

Переважно, для того щоб уникнути алкілювання залишків в поліпептиді (наприклад, алкілювання залишків метіоніна, цистеїна і тирозина), використовується тіокрезольна і крезольна очищувальна суміш.

Інші загальні методики

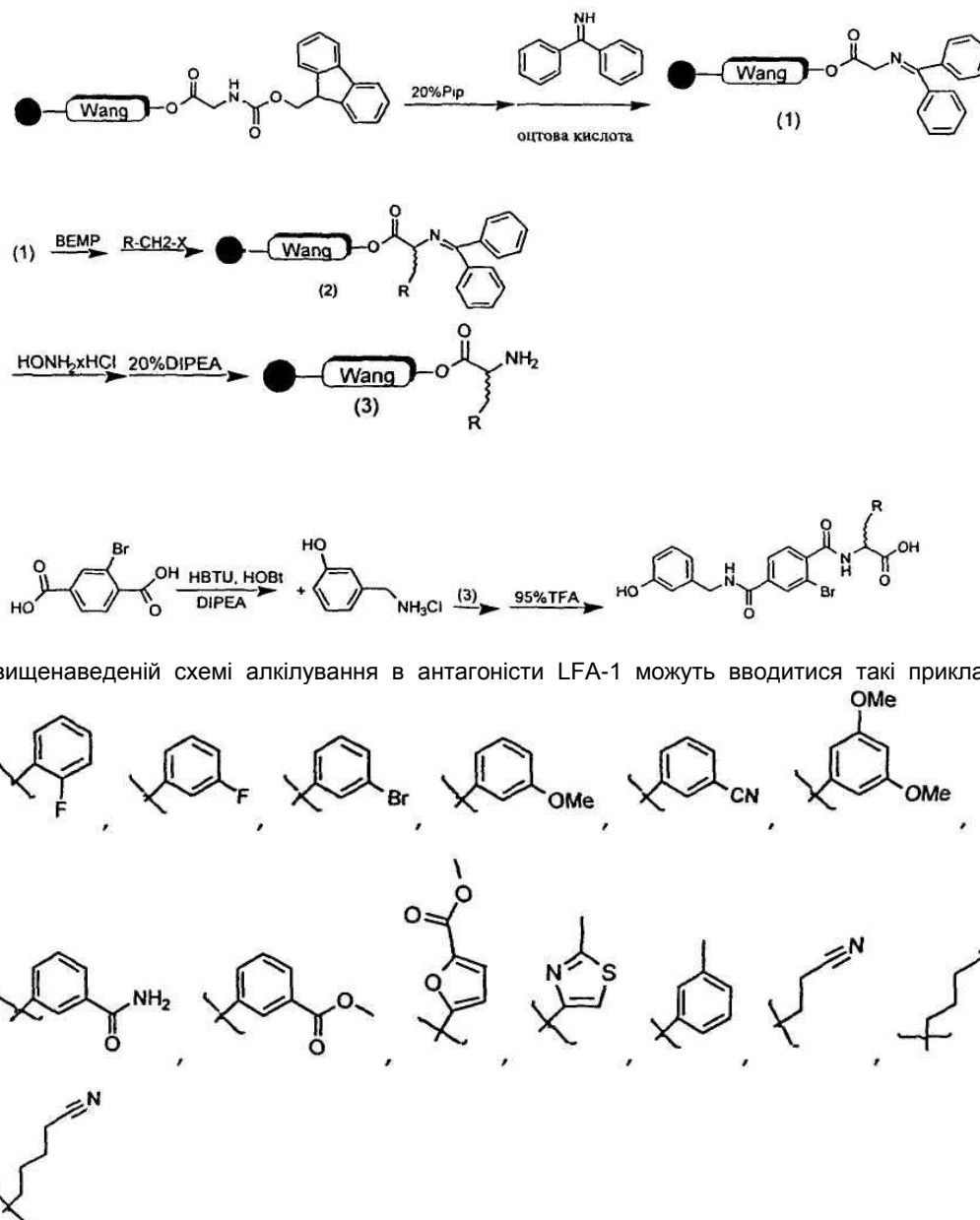
Пептидоміметичні сполуки по даному винаходу зручно також отримувати способами пептидного синтезу, описаними в таких монографіях, як

(«Principles of Peptide Synthesis, M.Bodansky, Springer-Verlag, 2nd Ed., 1993; "Synthetic Peptides: A Users Guide", G.A. Grant, Ed, W.H.Freeman and Co., 1992; і список посилань до них), або іншими загальновідомими способами. Синтез сполук по даному винаходу, які є пептидоміметичними за природою (тобто, містять відмінні від стандартних амідні зв'язки між двома або більше амінокислотами), можуть бути отримані шляхом удосконалення методик, описаних в Прикладах 6, і шляхом загальних методів синтезу, описаних в «Comprehensive Organic Transformations», R.C. Larock, VHC Publishers, 1989, а також іншими загальними способами, відомими фахівцям.

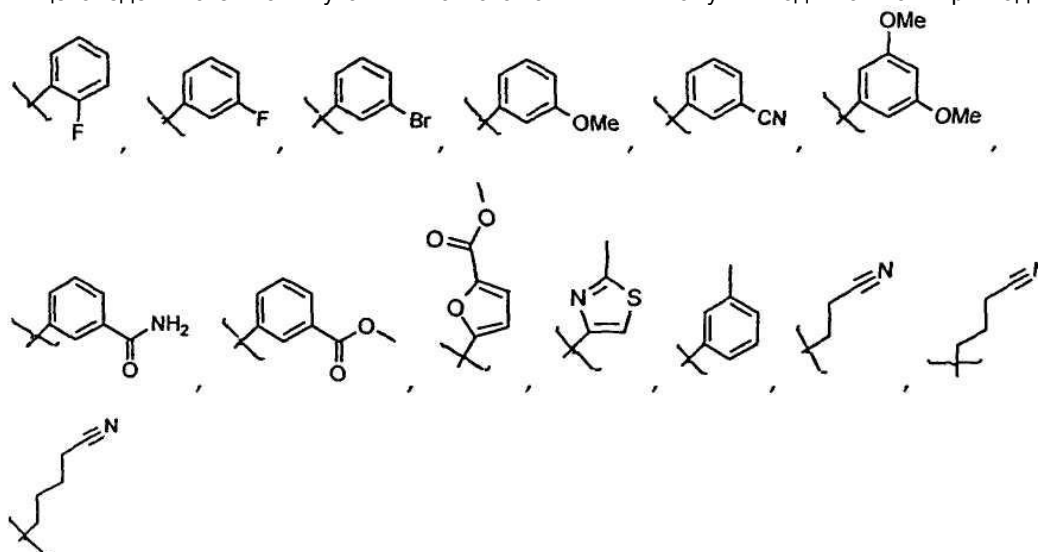
Для сполук по п. 1, в яких амідні зв'язки ( $-C(=O)-NH-$ ) замінені амідними ізостеричними (Ai) зв'язками, такими як  $-C(=S)-(NH-)$ ,  $-S(=O)_2-NH-$ ,  $-CH_2-NH-$ ,  $-CH_2-S-$ ,  $-CH_2-O-$ ,  $-CH_2-CH_2-$ ,  $-CH=CH-$  (цис- і транс-),  $-C(=O)-CH_2-$ ,  $-CH(OH)-CH_2-$ ,  $-CH(CN)-NH-$ ,  $-O-C(O)-NH-$  і  $-CH_2-SO-$ , застосовуються відомі методики заміни амідних зв'язків. Наступні посилання описують отримання амідних ізостеричних зв'язків, які включають ці альтернативні з'єднувальні групи: Spatola, A.F., Vega Data 1(3): «Peptide Backbone Modifications» (General Review) (Mar 1983), Spatola, A.F., in «Chemistry and biochemistry of Amino Acids Peptides and Proteins», B. Weinstein, ed., Marcel Dekker, New York, P. 267 (1983); Morley Trends Pharm. Sci. pp. 463-468; Hudson et al. Int. J. Pept. Prof. Res, 14:177-185 (1979) ( $-CH_2NH-$ ,  $-CH_2CH_2-$ ); Spatola et al., Life Sei. 38:1243-1249 (1986) ( $-CH_2-S-$ ); Наші J. Chem. Soc. Perkin. Trans. I 307-314 (1982) ( $-CH=CH-$ , цис- и транс-); Almquist et al., J. Med. Chem. 23:1392-1398 (1980) ( $-C(=O)-CH_2-$ ); Jennings-White et al., Tetrahedron Lett 23:(1982) ( $-C(=O)-CH_2-$ ); Szelke et al., EP Application No. 45665 (1982) Chem Abs .9739405 (1982) ( $-CH(OH)-CH_2$ ); Holladay et al., Tetrahedron Lett 24:4401-4404 (1983) ( $-C(OH)-CH_2-$ ); Hruby Life Sci 31:189-199 (1982) ( $-CH_2S-$ ); Cho et al. Science 261:1303-1305 (1993) ( $-O-C(=O)-NH-$ ); Sherman et al., Biochem Biophys Res Comm 162(3). 1126-1132 (1989) ( $-C(=S)-NH-$ ); Calcagni et al., Int. J. Peptide Protein Res. 34:319-324 (1989) ( $-S(=O)_2-NH-$ ); TenBrink, J. Org. Chem. 52:418-422 (1987) ( $-CH_2-O-$ ).

Схема I ілюструє один з синтетичних підходів, що забезпечують отримання неприродних амінокислотних бічних ланцюгів, зокрема, для замісника T в формулі I. Спосіб забезпечує  $\alpha$ -алкілювання "гліцинового" бічного ланцюга з використанням твердофазного синтезу в апараті, що випускається серійно, такому як Argonaut Nautilus 2400.

## Схема I



По вищенаведеній схемі алкілювання в антагоністи LFA-1 можуть вводитися такі приклади R-груп:



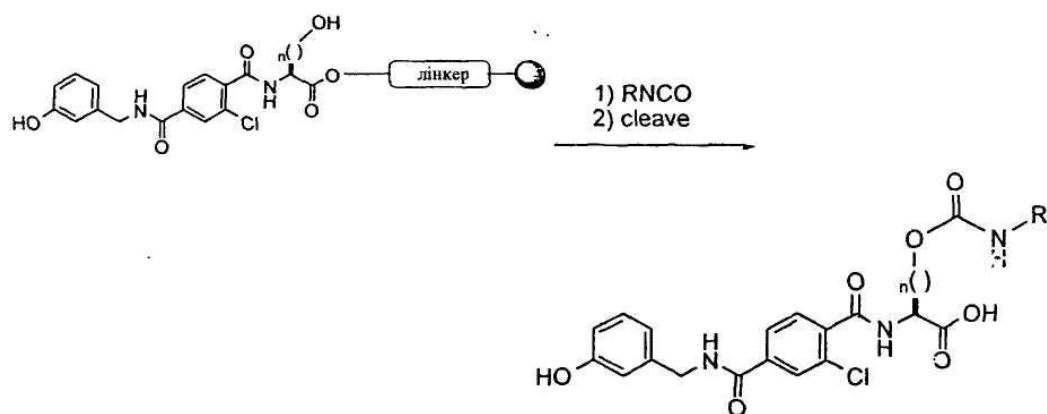
Якщо "R" в схемі I являє собою алкіламін, отриманий з амінокислот лізіна, орнітина або DAP A, відновленням нітрilов, приклади яких наведені вище, або отриманий із захищеного (наприклад, FMOC) аміноалкілгалогеніда, існують синтетичні

способи для отримання похідних T, включаючи сечовини, карбамати, аміді і сульфонаміді, за допомогою відомих методик.

Схема II ілюструє твердофазний спосіб отримання цих похідних T.



## Схема IIa



Карбамати (орієнтації, протилежній Схемі IIa), аміди і сульфонаміди, синтезовані за Схемою II, можуть бути отримані з характерних сполук, що випускаються серійно -ROCOCl, RCOCl і RSO<sub>2</sub>Cl, включаючи такі:

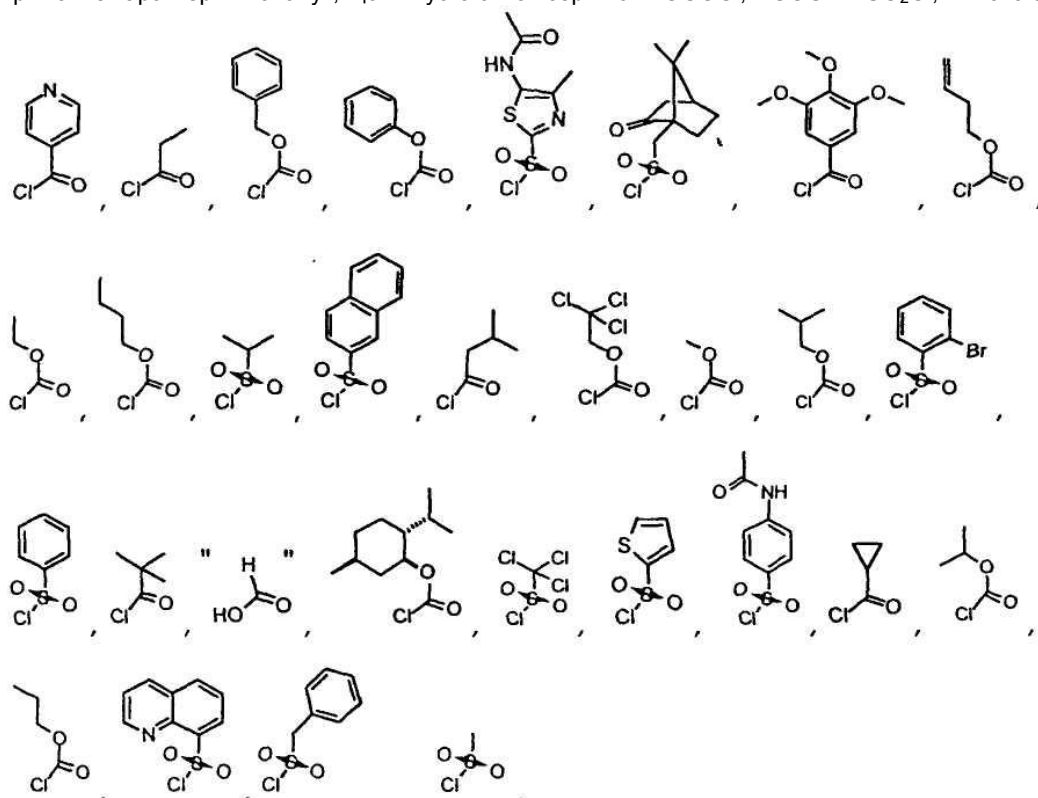
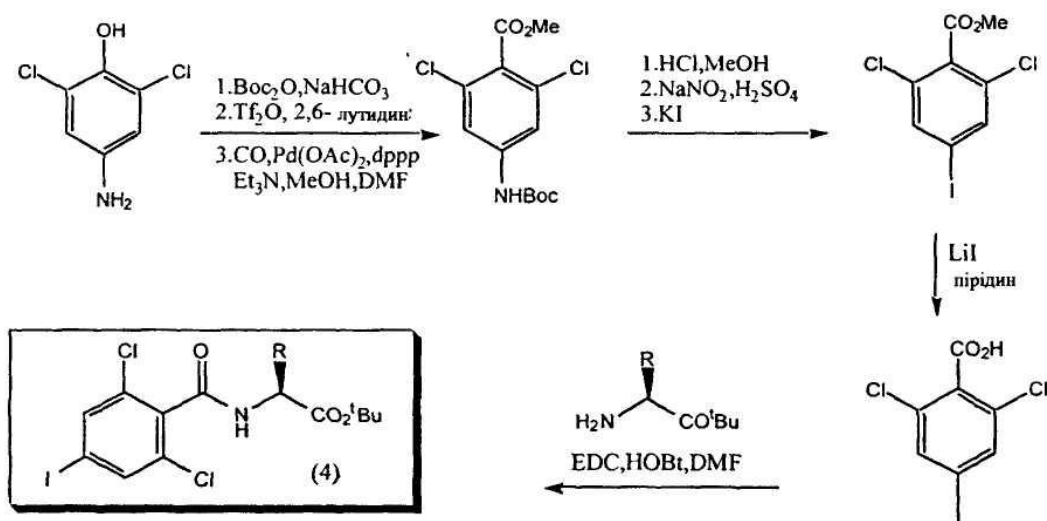


Схема III ілюструє загальний хід синтезу для алкільних лінкерів, L, для дихлор-заміщених бензоїламіно-кислот або їх похідних. Ключовою проміжною речовиною в цьому способі є йод-, дихлорбензоїл-АА (4).

## Схема III



Ключова проміжна сполука (4) з'єднується з різними алкінами для отримання алкільних лінкерів різної довжини. Наприклад, вуглецевий лінкер 3 може бути отриманий шляхом з'єднання (4) з алкіною проміжною сполукою (5), отриманою за схемою IIIa.

## Схема IIIa

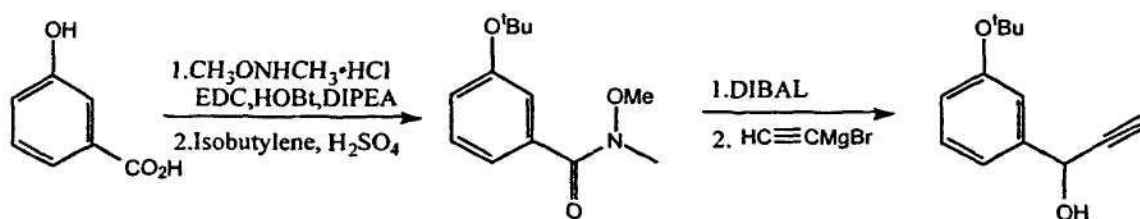
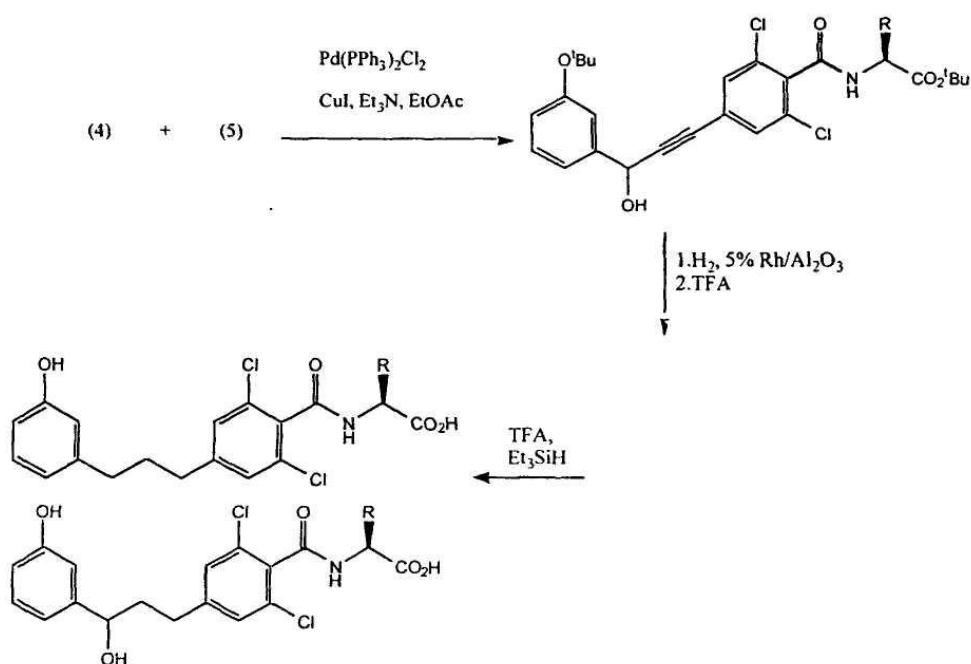


Схема IV ілюструє синтез заміщених і незаміщених алканів і заміщених алкінових лінкерів.

## Схема IV



Вуглецевий лінкер 4 може бути отриманий шляхом з'єднання (4) з алкіною проміжною сполукою (6), отриманою за схемою V.

### Схема V

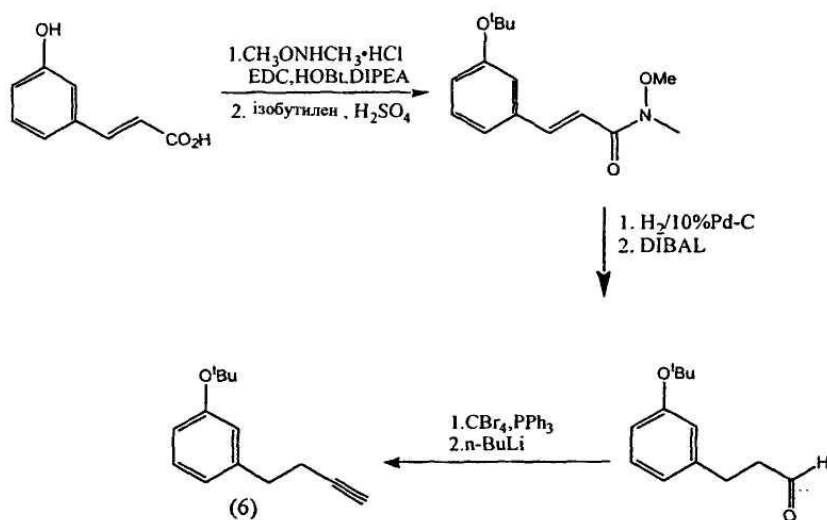
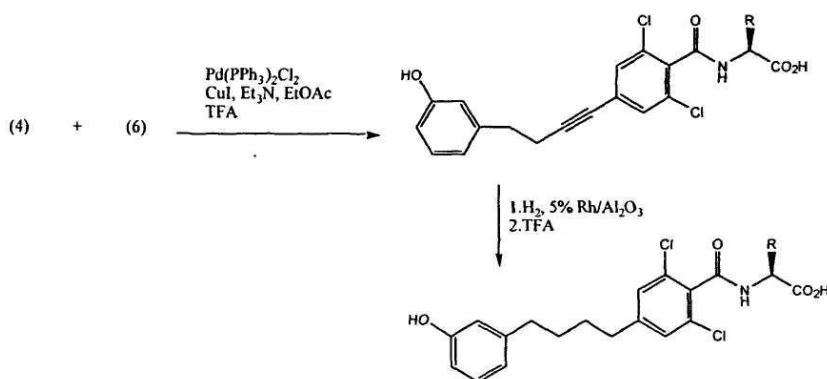


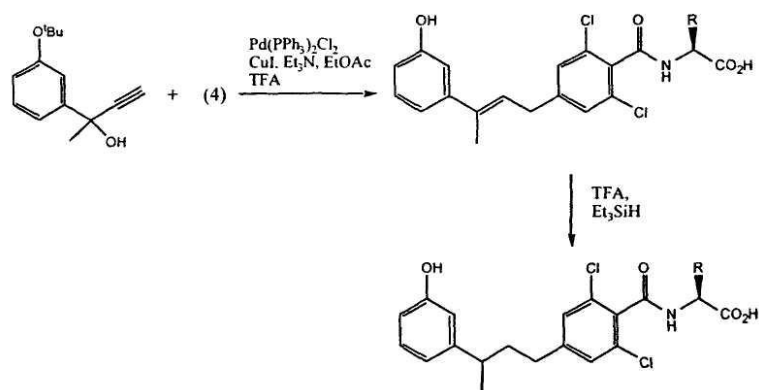
Схема VI ілюструє синтез незаміщеного алканового і алкінового лінкера.

### Схема VI



Схеми VIa і VIb ілюструють синтез заміщених і незаміщених алканового і алкінового лінкерів довжиною у 3-5 вуглецевих атомів.

## Схема VIa



## Scheme VIb

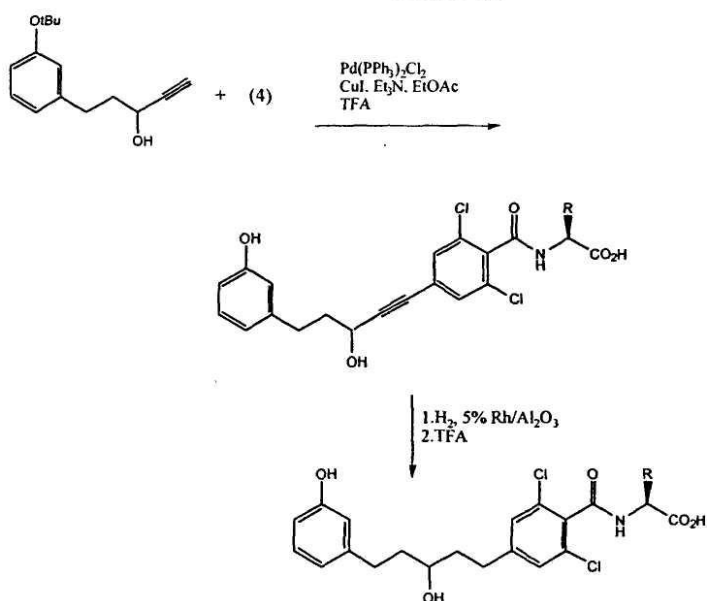


Схема VII ілюструє синтез 3-вуглецевого алкільного лінкера, де «В» являє собою диметил-заміщений бензоїльний антагоніст LFA-1.

## Схема VII

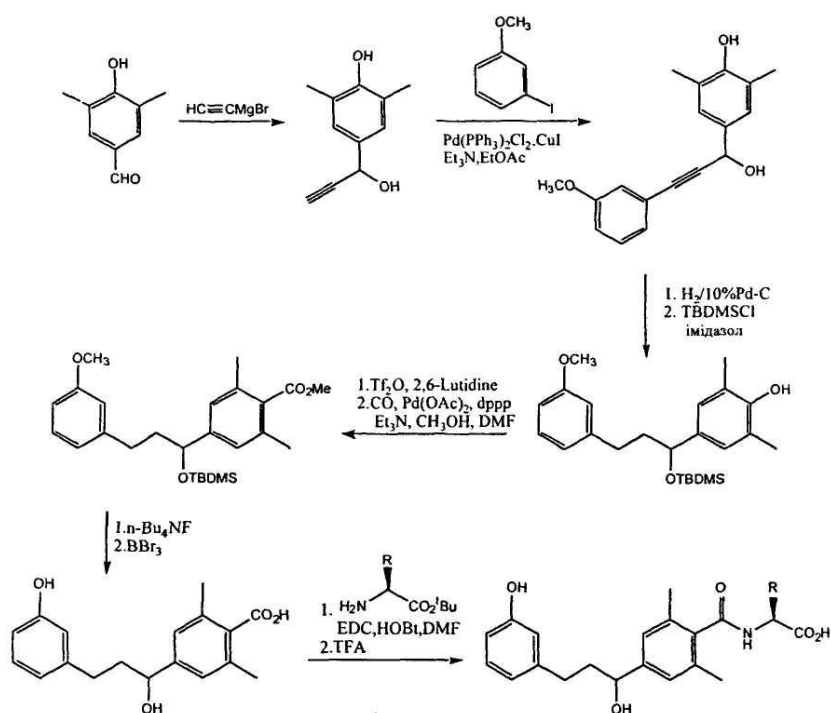


Схема VIII ілюструє синтез 3-5-атомного дієфірного лінкера, де  $n = 1-3$ . Проміжний фенол (7) може бути також використаний в синтезі моноєфірів, описаному нижче.

## Схема VIII

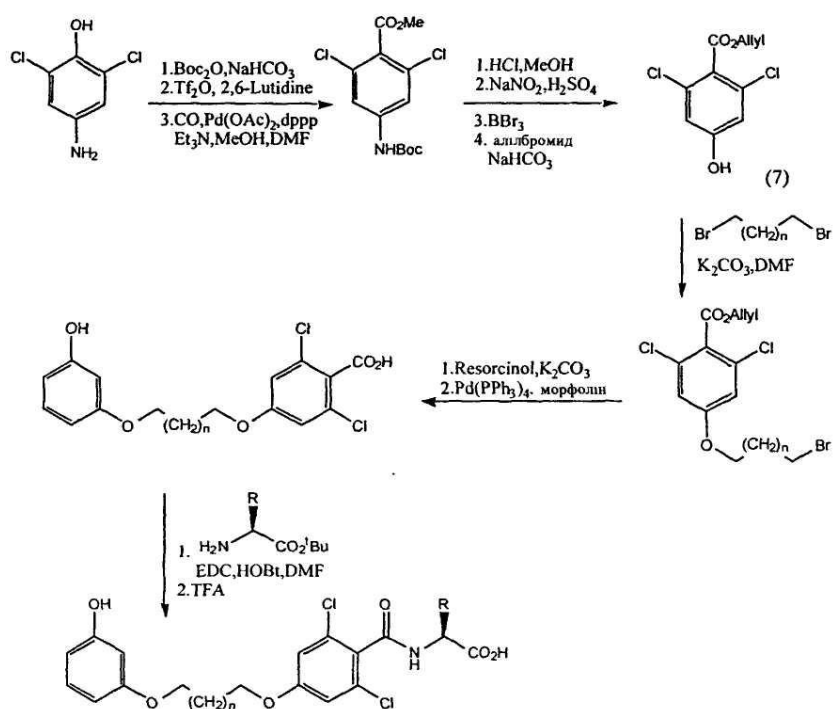


Схема IX ілюструє синтез 3-5-атомних моноєфірних лінкерів, де  $n = 1-3$ . Вищеописаний проміжний фенол (7) використовується в цій методиці.



## Схема IX

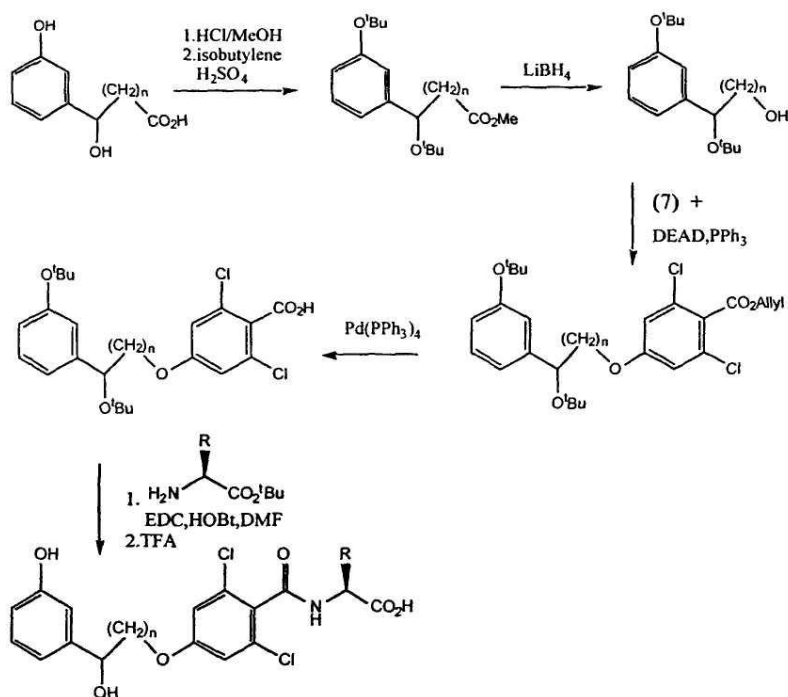


Схема X ілюструє синтез 5-атомних алкільних лінкерів, де дистальна група "D" являє собою 5-ланкове ароматичне кільце. Переважні кільця включають тіофен, фуран, тіазол і оксазол, де Z<sup>1</sup> являє собою O або S, а Y<sup>2</sup>, Y<sup>3</sup> або Y<sup>4</sup> вибрані з N або CH.

## Схема X

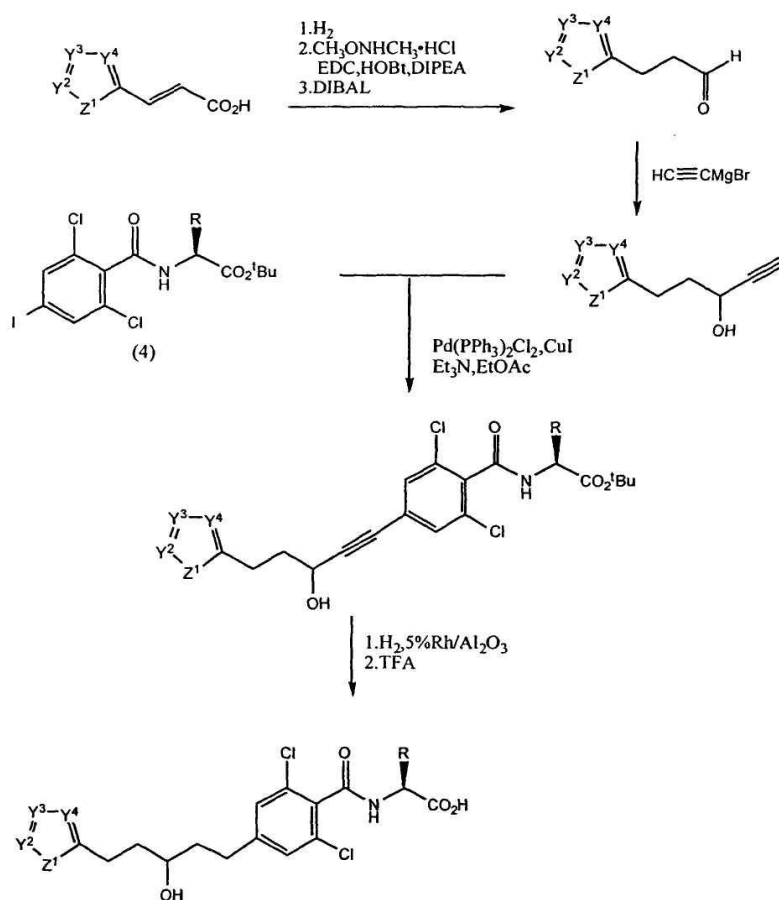
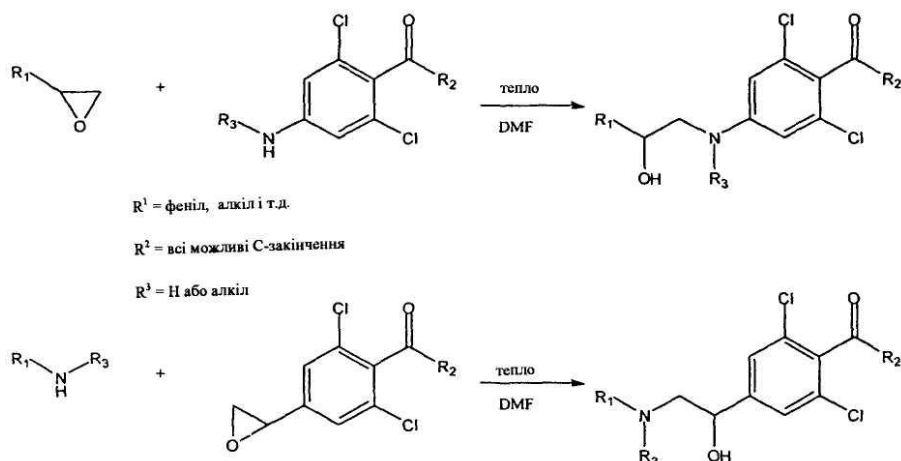


Схема XI ілюструє синтез 3-атомних аміноспиртових лінкерів, де дистальна група "D" являє собою феніл або гет.

Схема XI



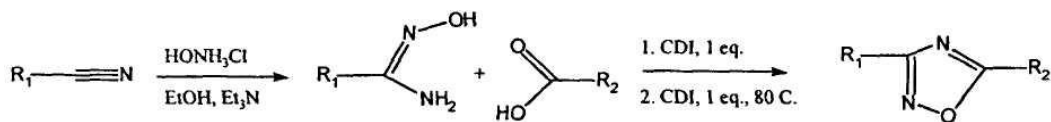
Heat тепло  $R^1$  = феніл, алкіл і т.д.  $R^2$  = всі можливі С-закінчення  $R^3$  = H або алкіл

$\beta$ -гідроксиаміни отримують реакцією первинного або вторинного аміна з епоксидами. Епоксиди легко отримують відомими способами (тобто, оксидуванням алкенів).

Схема XII ілюструє синтез 3-5-атомних оксадіазолових лінкерів, де дистальна група "D" являє собою феніл або гет.

Схема XII

Оксадіазоли отримують з'єднанням гідроксиамідина з активованою карбоною кислотою в умовах дегідратації. Гідроксиамідини зручно отримувати реакцією нітрила



з гідроксиламіном  
для отримання таких сполук, як

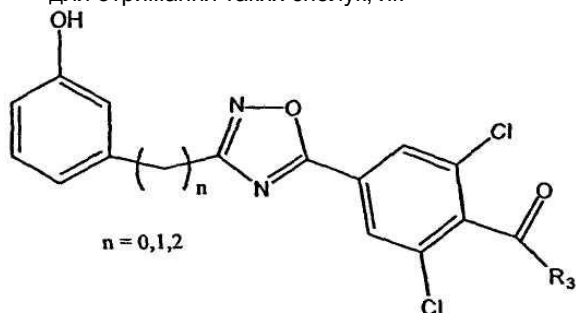
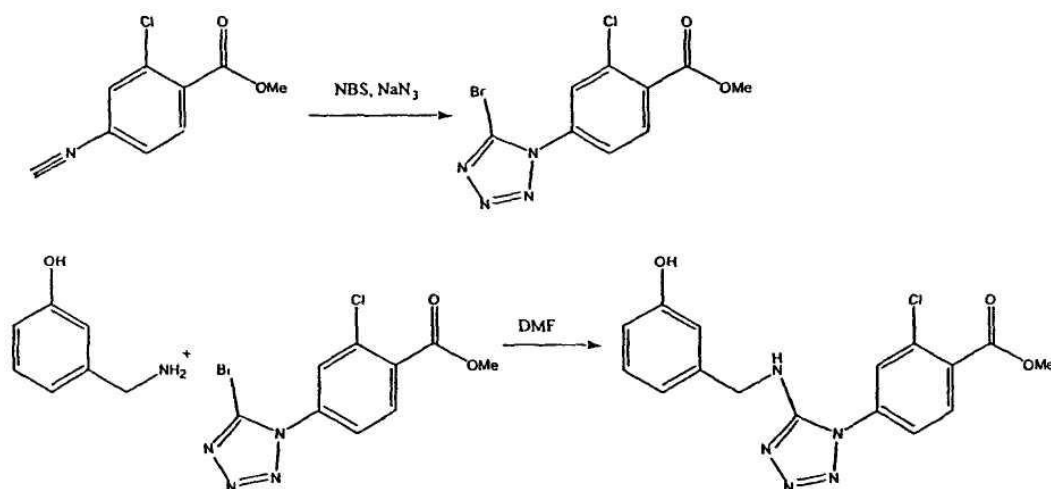


Схема XIII ілюструє синтез 5-атомних амінотетразолових лінкерів, де дистальна група "D" являє собою феніл або гет.

Схема XIII

Ключовим етапом в отриманні амінотетразолів є реакція 5-галоген-1-фенілтетразола з аміном. Амінотетразоли утворюються при реакції N-бромсукциніміда і азида натрію з



фенілізоціанідом в умовах фазового переходу.

Зняття захисту і з'єднання з карбоксилатом для приєднання лівої бокової амінокислоти проводиться, як описано вище для інших сполук.

#### Е. Моделі здійснення винаходу

Найкраща імунодепресивна ефективність спостерігається при такому режимі лікування, який використовує початкове введення високої дози антагоніста LFA-1 з подальшим лікуванням більш низькими дозами антагоніста.

Звичайно композицію антагоніста LFA-1, що використовується в способі по даному винаходу, складають шляхом змішування його при температурі навколишнього середовища, при відповідному рН і при бажаній мірі чистоти з фізіологічно прийнятними носіями, тобто, носіями, які є нетоксичними для реципієнтів при дозах і концентраціях, що використовуються для лікування. рН складу залежить головним чином від конкретного використання і концентрації антагоніста, але переважно лежить в діапазоні від ~3 до ~8. Зручним варіантом здійснення є склад в ацетатному буфері при рН5.

Антагоніст LFA-1 для використання в даному винаході переважно стерильний. Антагоніст LFA-1 звичайно повинен зберігатися у вигляді твердого складу, хоч можливе використання ліофілізованих складів або водних розчинів.

Склад антагоніста буде змішуватися, дозуватися і застосовуватися способом, що узгоджується з перевіреною медичною практикою. Фактори, що підлягають розгляду в даному контексті, включають конкретний розлад, що підлягає лікуванню, конкретний вид ссавців, що підлягає лікуванню, клінічний стан індивідуального пацієнта, причина розладу, ділянка доставки агента, спосіб застосування, схема застосування і інші фактори, відомі практикуючим лікарям. Відповідно до цих факторів буде регулюватися "терапевтично ефективна кількість" антагоніста LFA-1, а також мінімальна кількість, необхідна для запобігання, полегшення або лікування LFA-1-опосереднених розладів, включаючи лікування ревматоїдного артриту, множинного склерозу, астми, псоріаза (місцеве або системне), зниження запальних реакцій, вироблення толерантності до імуностимуляторів, запобігання

імунній реакції, яка може привести до відторгання трансплантата господарем або навпаки, або пролонгування життєздатності пересаженого трансплантата. Така кількість переважно нижче за кількість, яка є токсичною для господаря або істотно підвищує схильність господаря інфекціям.

Як загальна пропозиція, початкова фармацевтично ефективна кількість антагоніста LFA-1, що застосовується парентерально на дозу, повинна складати величину в діапазоні приблизно від 0,1 до 20 мг/кг ваги тіла пацієнта в день; типовий початковий діапазон антагоніста LFA-1, що використовується для лікування, складає від 0,3 до 15 мг/кг в день.

Антагоніст LFA-1 застосовується будь-якими зручними способами, включаючи оральне, місцеве, трансдермальне, парентеральне, підшкірне, внутрішньочеревне, внутрішньолегеневе, внутрішньочеревне застосування і, якщо це бажано для місцевого імунодепресивного лікування, застосування безпосередньо всередині органу (включаючи перфузію або інший контакт трансплантата з антагоністом перед трансплантацією). Парентеральні вливання включають внутрішньом'язове, внутрішньовенне, внутрішньоартеріальне, внутрішньочеревне або підшкірне застосування. Переважний спосіб застосування для псоріаза - місцевий, в безпосередній близькості до ураженої області.

Антагоніст LFA-1 необов'язково, але, як варіант, може бути змішаний з одним або більше агентами, що використовуються на цей час для запобігання або лікування відповідного розладу. Наприклад, при ревматоїдному артриті антагоніст LFA-1 може призначатися в поєднанні з глюкокортикостероїдом. Крім того, терапія на основі пептидів Т-клітинних рецепторів придатна у якості допоміжної терапії для запобігання клінічним ознакам аутоімунного енцефаломієліта (Offner et al., вище). Для трансплантатів антагоніст LFA-1 може прийматися одночасно або роздільно з імунодепресивним агентом, визначеним вище, наприклад, циклоспорином А, для модуляції імунодепресивного ефекту. Ефективна кількість цих інших агентів залежить від кількості антагоніста LFA-1,

присутньої в складі, типу розладу або лікування і інших факторів, описаних вище.

Різні автоімунні розлади, описані вище, лікуються антагоністами LFA-1 таким чином, щоб викликати імунну толерантність до само-антигенів при їх впливі внаслідок розладу. У цьому відношенні автоімунні розлади нагадують реакцію "господар проти трансплантата" і лікуються антагоністами LFA-1 аналогічним чином. Однак при цих розладах у пацієнта вже встановлена імунна реакція на цільовий антиген, на відміну від випадку з трансплантатами до пересадки. Таким чином, бажано спочатку викликати і зберегти у таких пацієнтів короточасний стан імунопригнічення звичайними способами, наприклад, звичайним застосуванням циклоспорину А або інших звичайних імунодепресивних агентів (самих або разом з антагоністом LFA-1), або спостерігати пацієнта до настання періоду ремісії (відсутності або істотного зниження патологічних або функціональних показників автоімунної реакції).

Далі винахід пояснюється більш детально за допомогою посилань на наступні приклади. Однак їх не треба розглядати як обмежуючі галузь винаходу. Всі цитати з літературних джерел включені у вигляді посилань.

#### Приклади

##### Приклад 1

Отримання і очищення LFA-1 повної довжини з клітин 293

##### Побудова вектора експресії кДНК LFA-1

Плазмиду з обома людськими послідовностями CD11a ( $\alpha_L$ ) і CD18 ( $\beta_2$ ), кожна з окремим промотором CMV для експресії в клітинах 293, конструювали таким чином. Плазмиду pRKCD18, що містить кДНК CD 18 повної довжини, вирізали рестрикційними ензимами HpaI і Avr II. Плазмиду pRKCD11a, що містить кДНК CD11a повної довжини, обробили ензимом Taq I метилазою для метилування однієї з двох ділянок Xmn I, потім вирізали Xmn I і Spe I. Фрагмент з гідролізата pRKCD18, що містить кодуєчу послідовність CD18, промотор CMV, ген стійкості до антибіотиків і інші плазмідні послідовності, лігували з фрагментом з гідролізата pRKCD11a, що містить кодуєчу послідовність CD11a і промотор CMV. Липкі кінці Spe I і Avr II є сумісними і були зшиті один з одним. Кінці HpaI і Xmn I є тупими і були зшиті один з одним з утворенням плазмиди pRK LFA a+b.

Вироблення клітинної лінії 293, що виражає LFA-1

Клітинну лінію, що виражає людський LFA-1, створили шляхом котрансфекції клітин 293 з плазмидою (pRK LFA a+b), яка містить кДНК повної довжини для елементів  $\alpha_L$  (CD11a) і  $\beta_2$  (CD18) разом з послідовністю pRSVneo, яка кодує маркер стійкості G418, під впливом промотора RSV, з використанням раніше описаних способів (Bodary, Napier and Nclean, J Biol. Chem, 264, 32, 18859-18862, 1989). Після вирощування в присутності 0,8мг/мл G418 протягом 20 днів популяцію стійких до ліків клітин вибрали для експресії LFA-1, з використанням двобарвної FACS (флуоресцентне сортування активованих клітин) з моноклональними антитілами до елемента  $\alpha_L$  (мічений флуоресцеїна ізотіоціанатом клон антитіл 25.3, каталог # 0860, AMAC

Inc.) або до комплексу  $\beta_2$  (антитіло MHM23, мічене фікоеритрином). (Посилання для антитіла MHM23: Hildreth JEK, and August XT, J Immunol, 134, 3272-3280, 1985). Після трьох раундів FACS клонову популяцію ізолювали (клон 19) і методом аналізу Scatchard визначили число рецепторів, яке склало біля 106 LFA-1 на клітину. Цю клітинну лінію вирощували в умовах суспензійної культури, що не містить сироватки, з отриманням клітинних гранул для очищення LFA-1.

Екстракція клітин (всі операції виконували при 0-4°C.)

Заморожені клітинні гранули суспендували в 5 об'ємах 0,3М сахарози/20мМ HEPES/5 мМ CaCl<sub>2</sub>/5мМ MgCl<sub>2</sub>/2мг/мл апротиніна pH 7,4, з використанням гомогенізатора Polytron (Brinkman) приблизно при 8000об./хв. Після отримання рівномірної суспензії клітини гомогенізували при 20000об./хв. протягом 1мін. Потім до гомогенату додали фенілметансульфонілфторид (PMSF, 100мМ в ізопропанолі) до кінцевої концентрації 1мМ і центрифугували гомогенат при 21000 × g протягом 40хв. Видалили надосадову рідину і суспендували отриману кульку в об'ємі 1% Triton X-100 (вищого ступеню очищення)/0,15М NaCl/20мМ HEPES/5 мМ CaCl<sub>2</sub>/5мМ MgCl<sub>2</sub>/20мг/мл апротиніна pH 7,4, що дорівнює об'єму сахарозного буферу, описаного вище. Клітини швидко гомогенізували приблизно при 8000об./хв. з використанням Polytron, потім перенесли на рокер (промивний лоток) на 30 хвилин. Екстракт центрифугували, як описано вище, і зберегли надосадову рідину.

##### Лентин-лектинова колонка

Біля 3-4 колоночних об'ємів клітинного екстракту завантажили при швидкості 15см/ч в лентин-лектинову колонку Sepharose (Pharmacia), урівноважену буфером 0,1% Triton X-100 /0,15М NaCl/20мМ HEPES/5 мМ CaCl<sub>2</sub>/5мМ MgCl<sub>2</sub>/20 pH 7,4. Після завантаження зразка колонку промивали рівноважним буфером до досягнення A280нм базисної лінії. LFA-1 елюювали 0,5М  $\alpha$ -метилманозидом в рівноважному буфері. Для максимального витягання елювання припинили на початку появи LFA-1, колонку залишили на ніч в елюєнтному буфері, а потім відновили елювання.

##### Колонка Q Sepharose

Лектиновий елюат розбавили рівним об'ємом буфера 0,1% Triton X-100 /0,15М NaCl/20мМ HEPES/5мМ CaCl<sub>2</sub>/5мМ MgCl<sub>2</sub>/20 pH 7,4 і завантажили при швидкості 15см/год. в колонку Q Sepharose High Performance (Pharmacia), врівноважену тим же буфером. Після завантаження зразка колонку промивали рівноважним буфером до досягнення A280нм базисної лінії, потім буфером 1% октилглюкозид/20мМ HEPES/5мМ CaCl<sub>2</sub>/5мМ MgCl<sub>2</sub>/20 pH 7,4 до видалення Triton X-100. LFA-1 елюювали 10-ма колоночними об'ємами від 0 до 0,3М градієнта NaCl в тому ж буфері. Фракції аналізували за допомогою SDS PAGE, з пікової фракції отримали пул і заморозили для зберігання при 70°C.

##### Приклад 2

##### ICAM-1-імуноадгезин

Плазмиду для експресії людського ICAM-1-імуноадгезина

Сконструювали плазмиду для експресії людського ICAM-1-імуноадгезина і дали найменування pRK.5dICAMGalg. Ця плазміда містить: промотор CMV (цитомегаловірус) і область енхансера, промотор SP6 для виробництва рибопроб, п'ять імуноглобуліноподібних доменів ICAM-1, шість ділянок амінокислотного розщеплення, що впізнаються гененазой (генетично сконструйована форма субтилізіна), область Fc з людського IgG, ділянка початкового поліаденілування SV40, джерело реплікації SV40, бактерійне джерело реплікації і кодування бактерійного гена для стійкості до ампіциліну.

Цю плазмиду конструювали з використанням фрагментів з двох різних плазмід. Перша плазміда, pRKICAMm.2, являє собою плазмиду для експресії ICAM-1 повної довжини. Два праймери, вказані нижче, використали для створення фрагмента, що містить п'ять імуноглобуліноподібних доменів ICAM-1, шляхом ПЦР (полімеразної ланцюгової реакції): 1) передній праймер довжиною 17 bp (пар нуклеотидів), гомологічний частині векторної послідовності 5' кодуєчої послідовності ICAM-1 5' TGC CTT TCT CTC C AC AG 3' і 2) задній праймер довжиною 48 bp, гомологічний 7 амінокислотам у 3'-кінці Ig-подібного домена 5 і що містить кодуєчу послідовність для ділянки протеазного розщеплення 5' GG TGG GCA CAG AGT GTA GTG CGC AGC CTC ATA CCG GGG GGA GAG CAC A 3'. У реакції ПЦР використали 0,2мкг pRKICAMm.2, 1мкл переднього праймера при 100D/мл, 2мкл заднього праймера при 100D/мл, по 0,2мM dATP, dCTP, dGTP і dTTP, 0,54мM додаткового MgCl<sub>2</sub>, їх полімеразного буферу VENT (New England Biolabs) і 1мкл полімерази VENT при 20д./мкл (New England Biolabs). Реакцію денатурували при 98°C для 5', потім здійснили 20 циклів через такі температури: 98°C 1", 98°C 10", 60°C 1", 60°C 1', 72°C 1", 72°C 1'. Реакцію продовжували 20' при 72°C перед витримкою при 4°C протягом ночі. У результаті реакції отримали фрагмент довжиною 1579 bp, який очистили з використанням очищувального комплексу Qiaquick-spin PCR (Qiagen) і гідролізували рестрикційними ензимами ClaI і DraIII (New England Biolabs). Результуючий фрагмент піддали гелевому очищенню в 5% аcriламідному гелі в 1 × TBE, електроелеювали в 0,1 × TBE і очистили в колонці SpinBind (FMC). Цей фрагмент-вставка містить перші 5 імуноглобуліноподібних доменів ICAM-1 і ділянку розщеплення гененазою.

Друга плазміда, trkcfscgen, являє собою плазмиду для експресії імуноадгезина TrkC, що містить ту ж протеазну ділянку розщеплення. Цю плазмиду повністю гідролізували ензимом ClaI (New England Biolabs). Цей матеріал потім гідролізували ензимом DraIII (New England Biolabs) з використанням субоптимальних кількостей ензима, так щоб вийшов ряд частково усічених фрагментів. Бажаний фрагмент довжиною 5378 bp ізолювали в 0,6% гелі GTG Agarose (FMC) в 1 × TBE (BRL) і електроелеювали в 0,1 × TBE. Матеріал екстрагували спочатку бутанолом, потім фенолом, потім хлороформом і осадили 0,1 об'ємом 3M ацетату натрію, pH 7,0, і 2,5 об'ємами етанолу. Цей векторний фрагмент містить всі вищеперелічені плазмідні деталі,

за винятком 5 імуноглобуліноподібних доменів ICAM-1 і протеазної ділянки розщеплення.

Два фрагменти, описані вище, з'єднали в співвідношенні вставка:вектор 3:1 з використанням біля 50нг вектора в їх лігасного буферу і 2мкл лігازی при 400од./мкл (New England Biolabs) протягом 2 годин при кімнатній температурі. Половину реакції трансформували в MM294-компетентні клітини стандартними способами.

Вироблення клітинної лінії 293, що виражає ICAM-1-імуноадгезин

Клітинну лінію, що виражає ICAM-1-імуноадгезин, створили шляхом трансфекції клітин 293 з кДНК, що кодує п'ять імуноглобуліноподібних доменів людського ICAM-1, починаючи з послідовності людського Fc (pRK.5dICAMGalg), разом з pRSVneo, як описано вище для клітинної лінії LFA-1. Після селекції в 0,8мг/мл G418 були виділені індивідуальні клони клітин, стійких до ліків. Надосадові рідини культур цих клонів досліджували на експресію людського ICAM-1-імуноадгезина шляхом ELISA (імуносорбентний аналіз із застосуванням фіксованих ферментів) з використанням поліклональних антитіл до людського Fc (каталог Caltag # H10507, H10700). Виявилось, що клонова клітинна лінія, що виражає біля 1мг/мл ICAM-1 - імуноадгезина, за результатами ELISA, реагує з моноклональним антитілом (AMAC, клон 84H10, каталог # 0544) до людського ICAM-1. Цю клітинну лінію вирощували в умовах культури, що не містить сироватки, і зібрали надосадову рідину для очищення ICAM-1 -імуноадгезина.

#### Приклад 3

#### Аналіз на зв'язування рецепторів ICAM-1:LFA-1

(протеїн-протеїновий аналіз)

Малюнок, що показує поступальний аналіз на зв'язування рецепторів людського ICAM-1:LFA-1, представлений на Фіг.2. Конкурентне інгібування взаємодії CD11a/CD18-ICAM-1 вимірюється шляхом додання відомих кількостей інгібіторів відповідно до двох систем протеїн-протеїнового аналізу, описаних нижче.

Поступальний аналіз LFA-LICAM-1 (PPFF):

Очищений рекомбінантний людський протеїн LFA-1 повної довжини розбавляють до 2,5мкг/мл в 0,02M HEPES, 0,15M NaCl і 1мM MnCl<sub>2</sub>, наносять на 96-коміркові диски (50мкл/комірку) і витримують протягом ночі при 4°C. Диски промивають промивальним буфером (0,05% Tween 20 в PBS) і блокують протягом 1 години при кімнатній температурі 1% BSA (альбуміном бичачої сироватки) в 0,02M HEPES, 0,15M NaCl і 1мM MnCl<sub>3</sub>. Диски промивають. 50мкл/комірку інгібіторів, відповідним образом розбавлених у взятому для аналізу буфері (0,5% BSA в 0,02M HEPES, 0,15M NaCl і 1мM MnCl<sub>2</sub>), додають до 2X кінцевої концентрації і інкубують протягом 1 години при кімнатній температурі. Додають 50мкл/комірку очищеного рекомбінантного людського ICAM-Ig з 5 доменів, розбавленого до 50нг/мл у взятому для аналізу буфері, і інкубують 2 години при кімнатній температурі. Диски промивають, і кількість зв'язаного ICAM-Ig визначають за допомогою Goat anti-HuIgG(Fc)-HRP (козяче антитіло до людського Fc) протягом 1 години при кімнатній температурі. Диски промивають і обробляють

ють 100мкл/комірку субстрату TMB протягом 10-30' при кімнатній температурі. Колориметричне виявлення припиняють рf допомогою. 100мкл/комірку IM H3P04 і зчитують результат при довжині хвилі лазера 450nm на пристрої зчитування дисків.

Альтернативна система протеїн-протеїнового аналізу, описана нижче, також дає кількісне вимірювання конкурентного інгібування взаємодії CD11a/CD18-ICAM-1.

Аналіз на захоплення антитіла P1M2 при взаємодії LFA-1:ICAM-1 (PLM2):

Нефункціональне блокує моноклональне антитіло PLM-2 до людського CD18 [описане Hildreth, et al., Molecular Immunology, Vol. 26, No. 9, pp.883-895, 1989], розбавляють до 5мкг/мл в PBS, наносять на 96-коміркові плоскі диски (100мкл/комірку) і витримують протягом ночі при 4°C. Диски блокують 0,5% BSA у взятому для аналізу буфері (0,02M Hepes, 0,15M NaCl і 1мМ MnCl<sub>2</sub>) протягом 1 години при кімнатній температурі. Диски промивають 50мМ Tris pH 7,5, 0,1M NaCl, 0,05% Tween 20 і 1мМ MnCl<sub>2</sub>. Очищений рекомбінантний людський протеїн LFA-1 повної довжини розбавляють до 2мкг/мл у взятому для аналізу буфері і додають на диски 100мкг/комірку і інкубують 1 годину при 37°C. Диски промивають 3X. 50мкл/комірку інгібіторів, відповідним чином розбавлених у взятому для аналізу буфері, додають до 2X кінцевої концентрації і інкубують протягом 30 хвилин при кімнатній температурі. Додають 50мкл/комірку очищеного рекомбінантного людського ICAM-Ig з 5 доменів, розбавленого до 161нг/мл (до кінцевої концентрації 80нг/мл) у взятому для аналізу буфері, і інкубують 2 години при 37°C. Диски промивають, і кількість зв'язаного ICAM-Ig визначають за допомогою Goat anti-HulG(Fc)-HRP протягом 1 години при кімнатній температурі. Диски промивають і обробляють субстратом TMB 100мкл/комірку протягом 5-10' при кімнатній температурі. Колориметричне виявлення припиняють за допомогою 100мкл/комірку 1M H3P04 і зчитують результат при довжині хвилі лазера 450nm на пристрої зчитування дисків.

#### Приклад 4

Адгезійний аналіз людських Т-клітин (аналіз на прикріплення клітин)

Малюнок, що показує адгезійний колориметричний аналіз людських Т-клітин, представлений на Фіг.3. Аналіз адгезії Т-клітин виконується за використанням людської Т-лімфоїдної клітинної лінії HuT 78. Goat anti-HulG(Fc)-HRP розбавили до 2мкг/мл в PBS (фосфатно-сольовий буферний розчин), нанесли на 96-коміркові диски (50мкл/комірку) і витримали протягом 1 години при 37°C. Диски промили PBS і блокували протягом 1 години при кімнатній температурі 1% BSA в PBS. ICAM-1 з 5 доменів розбавили до 100нг/мл в PBS і додали на диски по 50мкл/комірку при 4°C. Клітини HuT 78 центрифугували при 100g і обробили культуру з клітин 5мМ EDTA (етилендіамінтетраацетат) протягом 5 хвилин при 37°C в 5 % CO<sub>2</sub>-інкубаторі. Клітини промили в 0,14M NaCl, 0,02M Hepes, 0,2 % глюкози і 0,1M MnCl<sub>2</sub> (буфер для аналізу) і центрифугували. Клітини пересушували в буфері для аналізу до 3,0 × 10<sup>6</sup> клітин/мл. Інгібітори розбавили в буфері для аналізу до 2X кінцевої

концентрації і заздалегідь інкубували з клітинами HuT 78 протягом 30хв. при кімнатній температурі. 100мкл/комірку клітин і інгібіторів додали на диски і інкубували при кімнатній температурі 1 годину. Додали 100мкл/комірку PBS, диски запечатали і центрифугували перевернутими при 100g протягом 5мін. Неприкріплені клітини видалили з диска вистукуванням, а надмірний PBS промокнули паперовим рушником. На диск додали 60мкл/комірку р-нітрофеніл-п-ацетил-β-D-глюкозамініда (0,257г в 100мл цитратного буферу) і інкубували 1,5год. при 37°C. Ферментну реакцію припинили за допомогою 90мкл/комірку 50мМ гліцина/5мМ EDTA і зчитали результат при 405nm на пристрої зчитування дисків. Адгезію клітин HUT 78 до 5dICAM-Ig вимірювали з використанням р-нітрофеніл-п-ацетил-β-D-глюкозамінідної методики по Landegren, U. (1984) J. Immunol. Methods 57, 379-388.

#### Приклад 5

Аналіз на проліферацію Т-клітин (аналіз на стимуляцію)

Малюнок, що показує проліферацію людських Т-клітин, представлений на Фіг.4. Цей аналіз являє собою *in vitro* модель проліферації лімфоцитів внаслідок активації, викликаній з'єднанням з Т-клітинним рецептором і LFA-1 після взаємодії з антиген-представляючими клітинами [Springer, T.A., Nature 346:425-434 (1990)].

Мікротитрувальні диски (96-коміркові Nunc, сертифіковані для ELISA) заздалегідь покрили при 4°C протягом ночі 50мкл розчину 2мкг/мл козячого антитіла до людського Fc (Caltag H10700) і 50мкл 0,07мкг/мл моноклінального антитіла до CD3 (Immunotech 0178) в стерильному PBS. На наступний день розчини покриттів видалили. Диски двічі промили PBS і додавали 100мкл 17нг/мл 5d-ICAM-1-IgG протягом 4 годин при 37°C. Диски двічі промили PBS перед доданням Т-клітин CD4+. Лімфоцити з периферичної крові відділили від гепаринізованої суцільної крові, взятої від здорових донорів. Альтернативний спосіб полягав в отриманні суцільної крові від здорових донорів шляхом лейкофореа. Кров розбавили 1:1 фізіологічним розшарували і центрифугували при 2500g протягом 30хв. в LSM (6,2г Ficoll і 9,4г дизтрізоата натрію на 100мл) (Organon Technica, NJ). Моноцити знищили з використанням реагентної методики пригнічення мієлоїдних клітин (Myeloclear, Cedarlane Labs, Hornby, Ontario, Canada). Клітини PBL пересушували в 90% тепло-інактивованої зародкової бичачої сироватки і 10% DMSO (диметилсульфоксида), розділили на аліквоти і заморозили в рідкому азоті. Після розмороження клітини пересушували в середовищі RPMI1640 (Gibco, Grand island, NY), що додатково містить 10% тепло-інактивованої зародкової бичачої сироватки (Intergen, Purchase, NY), 1мМ пірувата натрію, 3мМ L-глутаміна, 1мМ замісних амінокислот, 500мкг/мл пеніциліну, 50мкг/мл стрептоміцина, 50мкг/мл гентаміцину (Gibco).

Очищення Т-клітин CD4+ проводили за Методикою негативної селекції (за допомогою колоночного комплексу Human CD4 Cell Recovery Column Kit #CLIO-5 Accurate). 100000 очищених Т-клітин CD4+ (чистота 90%) на комірку мікротитрувального диска культивували 72 години при 37°C в 5%

CO<sub>2</sub> в 100мкл середі культури (RPMI 1640 (Gibco), що додатково містить 10% тепло-інактивованої зародкової бичачої сироватки (Intergen), 0,1мМ замінних амінокислот, 1нМ пірувата натрію, 100од./мл пеніциліна, 100мкг/мл стрептоміцина, 50мкг/мл гентаміцина, 10мМ Hepes і 2мМ глутаміна). Інгібітори додали на диск під час ініціації культури. Проліферативну реакцію в цих культурах вимірювали шляхом додавання 1мкКи міченого тритієм тимідіна в останні 6 годин перед збиранням клітин. Вбудування радіоактивної мітки вимірювали за допомогою рідинного сцинтиляційного лічильника (апарат для збирання клітин з комірок і лічильник Packard 96). Результати представлені у вигляді числа імпульсів в хвилину (срт).

#### Приклад 6

In vitro модель змішаних лімфоцитних культур

Малюнок, що показує аналіз на лімфоцитну реакцію, представлений на Фіг.5. Ця модель змішаних лімфоцитних культур, що є in vitro моделлю трансплантації (A.J. Cunningham, «Understanding Immunology, Transplantation Immunology pages 157-159 (1978), досліджує ефекти різних антагоністів LFA-1 як на проліферативні, так і на ефекторні вияви людської лімфоцитної реакції.

Ізолювання клітин: Мононуклеарні клітини з периферичної крові (PBMC) виділили з гепаринізованої суцільної крові, взятої від здорових донорів. Кров розбавили фізіологічним 1:1, розшарували і центрифугували при 2500g протягом 30хв. в LSM (6,2г Ficoll і 9,4г дигліцероата натрію на 100мл) (Organon Technica, NJ). Альтернативний спосіб полягав в отриманні суцільної крові від здорових донорів шляхом лейкофореа. PBMC відділили, як описано вище, пересуспендували в 90% тепло-інактивованій зародковій бичачій сироватці і 10 % DMSO, розділили на аліквоти і заморозили в рідкому азоті. Після розмороження клітини пересуспендували в середовищі RPMI1640 (Gibco, Grand island, NY), що додатково містить 10% тепло-інактивованої зародкової бичачої сироватки (Intergen, Purchase, NY), 1мМ пірувата натрію, 3мМ L-глутаміна, 1мМ замінних амінокислот, 500мкг/мл пеніциліна, 50мкг/мл стрептоміцина, 50мкг/мл гентаміцина (Gibco).

Змішана лімфоцитна реакція (MLR): одноманітно змішані людські лімфоцитні культури внесли в комірки 96-коміркового плоского мікротитрувального диска. Коротко, 1,5 × 10<sup>5</sup> PBMC-відповідачів сокультувували з рівною кількістю алогенетичних опромінених (3000 рад протягом 3 хвилин 52 секунд) PBMC-стимуляторів в 200мкл повної середі. Антагоністи LFA-1 додавали під час ініціації культур. Культури інкубували при 37°C в 5% CO<sub>2</sub> протягом 6 днів, потім додали 1мкКи міченого тритієм тимідіна (6,7Ки/ммоль, NEN, Boston, MA) протягом 6 годин. Культури збирали за допомогою апарату збирання клітин Packard (Packard, Canberra, Canada). Вбудування радіоактивної мітки ([<sup>3</sup>H]TdR) вимірювали за допомогою рідинного сцинтиляційного лічильника. Результати представлені у вигляді числа імпульсів в хвилину (срт).

#### Приклад 7

Синтез і активність сполук

Абревіатури, що використовуються в наступному розділі: смола Wang = смола р-

алкоксибензилового спирта; Fmoc = 9-флуоренметилоксикарбоніл; Fmoc-OSu = 9-флуоренметилоксикарбоніл-N-гідроксисукцинімід; Boc = трет-бутилоксикарбоніл; Boc<sub>2</sub>O = трет-бутилоксикарбонілангідрид; DMA = диметилацетамід; DMF = диметилформамід; BOP = (бензотриазол-1-ілокси)трис(диметиламіно)фосфонія гексафторфосфат; Hobt = 1-гідроксибензотриазол; NMM = 4-метилморфолін; TFA = трифтороцтова кислота; DCM = дихлорметан; MeOH = метанол; HOAc = оцтова кислота; HCl = соляна кислота; H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = сірчана кислота; K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> = карбонат калію; Ph<sub>3</sub>P = трифенілфосфін; THF = тетрагідрофуран; EtOAc = етилацетат; DIPEA = діізопропілетиламін; NaHCO<sub>3</sub> = гідрокарбонат натрію; NMP = N-метилпіролідінон; DIPIC = діізопропілкарбодіімід; ACN = ацетонітрил; HBTU = 2-(1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилуронія гексафторфосфат; NCS = N-хлорсукцинімід; Na<sub>2</sub>-EDTA = етилендіамінтетраоцтової кислоти натрієва сіль; TBAF = тетрабутиламонія фторид; EDC = 1-(3-диметиламінопропіл)-3-етилкарбоїмід·HCl; DEAD = діетилазокарбоксилат; TEA = триетиламін; MgSO<sub>4</sub> = сульфат магнія; Et<sub>2</sub>O = діетиловий ефір; BBr<sub>3</sub> = трибромід бора.

Загальні методики синтезу

#### Методика G1

Відповідну Boc-захищену молекулу розчинили в розчині TFA в DCM (1:1). Через 20 хвилин реакційну суміш концентрували під вакуумом. Результуюче масло розчинили в толуолі і потім концентрували під вакуумом двічі.

#### Методика G2

Відповідний амін розчинили в Et<sub>2</sub>O і промили двічі 10% розчином K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> у воді і один раз - розчином солі. Органічний шар висушили над MgSO<sub>4</sub>, профільтрували і концентрували під вакуумом. Продукт потім використали без подальшого очищення.

#### Методика G3

Здійснили реакцію 3 еквівалентів відповідної карбонової кислоти з 1 еквівалентом відповідного аміна, використовуючи 3 еквіваленти EDC і 1 еквівалент Hobt в DMA. Реакцію контролювали за допомогою TLC (тонкошарова хроматографія) (9/1 DCM/MeOH). По закінченні суміш концентрували під вакуумом. Результуюче масло пересуспендували в Et<sub>2</sub>O і промили двічі 0,1N розчином H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, двічі насиченим розчином NaHCO<sub>3</sub> і один раз розчином солі. Органічний шар висушили над MgSO<sub>4</sub>, профільтрували і концентрували під вакуумом. Продукт потім використали без подальшого очищення.

#### Методика G4

1 еквівалент відповідного метилового ефіру розчинили в THF/H<sub>2</sub>O (3/1) і додали 3 еквіваленти LiOH·H<sub>2</sub>O. Реакцію контролювали за допомогою TLC (9/1 DCM/MeOH). По закінченні суміш обережно підкислили до pH 2 концентрованою HCl і потім концентрували під вакуумом. Отриману тверду речовину пересуспендували в Et<sub>2</sub>O і промили двічі 0,1N розчином H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і один раз розчином солі. Органічний шар висушили над MgSO<sub>4</sub>, профільтрували і концентрували під вакуумом.

#### Методика GS

1 еквівалент відповідної амінокислоти і 2,5 еквіваленти  $\text{NaHCO}_3$  розчинили в  $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$  (3/1). Коли розчин став прозорим, додали 1,5екв.  $\text{Fmoc-OSu}$ . Реакцію контролювали за допомогою TLC (9/1  $\text{DCM}/\text{MeOH}$ ). По закінченні суміш концентрували під вакуумом, поки не залишилася тільки водна фаза. Водний розчин екстрагували двічі  $\text{Et}_2\text{O}$ , а потім обережно підкислили до pH 2 концентрованою  $\text{HCl}$  для осадження продукту. Потім водний шар і продукт екстрагували  $\text{EtOAc}$ . Органічний шар один раз розділили розчином солі і висушили над  $\text{MgSO}_4$ , профільтрували і концентрували під вакуумом. Отриманий продукт використали без подальшого очищення.

#### Методика G6

1 еквівалент флуоренілметанола і 2,5 еквіваленти  $\text{Nobt}$  розчинили в  $\text{NMP}$ . Суміш охолодили до  $0^\circ\text{C}$  при перемішуванні. Після охолодження додали 1 еквівалент  $\text{DEPC}$  протягом 5хв. при перемішуванні, після чого додали порціями 1 еквівалент 2-бромтерефталевої кислоти і потім 0,01 еквіваленти 4-піролідинпіридина. Суміш перемішували при  $0^\circ\text{C}$  протягом 2 годин, нагріли до кімнатної температури і перемішували 4 години, а потім знов охолодили до  $0^\circ\text{C}$  і погасили доданням  $\text{H}_2\text{O}$  по краплях. Після перемішування протягом 1 години суміш розділили  $\text{EtOAc}$ . Органічний шар двічі розділили розбавленою  $\text{HCl}$ , один раз розчином солі і висушили над  $\text{MgSO}_4$ , профільтрували і концентрували під вакуумом. Неочищений продукт (суміш 9:1 правильного і неправильного ізомерів) очистили флеш-хроматографією на силікагелі з використанням суміші (3/1) гексанів/ $\text{EtOAc}$  і 3%  $\text{HOAc}$ .

#### Методика G7

Відповідну метокси-утримуючу сполуку розчинили в  $\text{DCM}$  і охолодили до  $-5^\circ\text{C}$  в ацетонольодяній бані в атмосфері азоту. 2екв.  $\text{BBr}_3$  додали по краплях у вигляді розчину в  $\text{DCM}$  протягом 30 хвилин. Реакційну суміш нагріли до кімнатної температури і перемішували до закінчення реакції, що контролюється за допомогою TLC ( $\text{DCM}/2\% \text{HOAc}/2\% \text{MeOH}$ ). Розчин вилили в лід і дали льоду розплавитися. Потім суміш двічі розділили  $\text{EtOAc}$ , а об'єднані органічні шари висушили над сульфатом магнію. Фільтрат пропустили над пробкою з силікагеля і концентрували під вакуумом.

#### Методика G8

1екв. диметил-2-хлортерефталевої кислоти моно-гідролізували за Методикою G9 для отримання правильної моно-захищеної дикислоти. Потім моноефір етерифікували трет-бутилом за Методикою G10. Після цього метиловий ефір видалили за Методикою G4 для отримання карбонової кислоти (Сполука А).

#### Методика G9

Складний діефір розчинили в  $\text{DCM}$  і охолодили до  $-5^\circ\text{C}$  в ацетонольодяній бані в атмосфері азоту. 1екв.  $\text{BBr}_3$  додали по краплях у вигляді розчину в  $\text{DCM}$  за 30 хвилин. Реакційну суміш нагріли до кімнатної температури і перемішували до закінчення реакції, що контролюється за допомогою TLC ( $\text{DCM}/2\% \text{HOAc}/2\% \text{MeOH}$ ). Розчин вилили в лід і дали льоду розплавитися. Потім суміш розділили  $\text{EtOAc}$  і концентрували під вакуумом. Цей продукт розчинили в  $\text{H}_2\text{O}$  з доданням насиченого

$\text{NaHCO}_3$ , поки pH розчину не перевищила 8. Цей розчин розділили один раз рівним об'ємом  $\text{DCM}$  для видалення діефіра, що не прореагував. Лужний розчин підкислили при  $0^\circ\text{C}$  концентрованою  $\text{HCl}$  до pH 1-1,5, а осадок двічі екстрагували рівними об'ємами  $\text{EtOAc}$ . Органічну частину розділили один раз розчином солі, висушили над сульфатом магнію, профільтрували і концентрували під вакуумом. Після HPLC (рідинна хроматографія високого тиску) продукт являв собою 7:1 правильного регіоізомера.

#### Методика G10

Моноефір, розчинений в  $\text{DCM}$ , перенесли в заздалегідь зважену колбу Парра, забезпечену мішалкою. Колбу охолодили до  $-5^\circ\text{C}$  в ацетонольодяній бані в атмосфері азоту. Після охолодження приблизно 30екв. ізобутилена закачали в розчин при перемішуванні. Додали 2,1екв. концентрованої сірчаної кислоти і закупорили колбу гумовою пробкою з обмоткою і залишили нагріватися до кімнатної температури при перемішуванні. Розчин перемішували до просвітлення (1-2 дні). Коли розчин став прозорим, його охолодили до  $0^\circ\text{C}$  в льодяній бані. Пробку вийняли, і надмірний ізобутилен видали шляхом барботування азоту. Для нейтралізації кислоти додали насичений  $\text{NaHCO}_3$  і концентрували суміш під вакуумом до повного видалення  $\text{DCM}$ . Розчин розділили в  $\text{EtOAc}$ . Органічну частину двічі розділили розбавленою  $\text{HCl}$ , двічі насиченим  $\text{NaHCO}_3$ , один раз розчином солі, висушили над сульфатом магнію, профільтрували і концентрували під вакуумом. Отриманий продукт використали без подальшого очищення.

#### Методика G11

Трет-бутил-ефірний продукт розчинили в  $\text{DCM}$  і додали рівний об'єм  $\text{TFA}$ . Через 30 хвилин реакційну суміш концентрували під вакуумом і двічі перерозчинили і концентрували з толуола. Продукт використали без подальшого очищення.

#### Методика G12

Сполуку А з'єднали з 3-хлорбензиламіном за Методикою G3. Трет-бутиловий ефір видалили за Методикою G11 з отриманням карбонової кислоти (Сполука В).

#### Методика G13

Сполука А з'єднали з 3-метоксибензиламіном (Методика G38) за Методикою G3. Цей продукт перетворили в метиловий ефір за Методикою G15. Метоксигрупу деметилували в фенол за Методикою G7. Метиловий ефір омили до карбонової кислоти за Методикою G4, і кінцевий продукт (Сполука С) використали без подальшого очищення.

#### Методика G14

1екв. 4-бром-2-хлорбензойної кислоти перетворили в метиловий ефір за Методикою G15, а бромід перетворили в нітрил за Методикою G16. Після омилання за Методикою G4 нітрил відновили в амін, захищений  $\text{Fmoc}$ , за Методикою G17. Кінцевий продукт (Сполука D) очистили шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (95/5  $\text{DCM}/\text{MeOH}$ ) і перевірили шляхом електророзпилювальної мас-спектрометрії.

#### Методика G15

Відповідну карбонову кислоту розчинили в безводному  $\text{MeOH}$  і додали 10екв.  $\text{HCl}$ /діоксана.



Суміш перемішували протягом ночі до отримання метилового ефіру. Розчин концентрували під вакуумом і двічі перерозчинили і концентрували з толуола. Кінцевий продукт очистили шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (95/5 DCM/MeOH) і перевірили шляхом електророзпилювальної мас-спектрометрії.

#### Методика G16

0,6екв. ціанида цинку і 0,04екв. тетра-кіс(трифенілфосфін)паладія(0) вмістили в круглодонну колбу і продували протягом 30 хвилин циркулюючим азотом. Метиловий ефір розчинили в безводному DMF і дегазували протягом 30 хвилин азотом. По закінченні дегазування розчин метилового ефіру додали до ціаниду цинку і паладію через канюлю і перемішували протягом ночі при 80°C. По закінченні реакції розчин концентрували під вакуумом і перерозчинили в EtOAc. Органічну частину двічі розділили розбавленою HCl, двічі насиченим NaHCO<sub>3</sub>, один раз розчином солі, висушили над MgSO<sub>4</sub>, профільтрували і концентрували під вакуумом. Продукт очистили шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (DCM) і перевірили шляхом електророзпилювальної мас-спектрометрії.

#### Методика G17

1екв. нітрила розчинили в THF і охолодили до 0°C в льодяній бані. Після охолодження до нітрилу швидко додали 4екв. супергідріда через канюлю. Через 5 хвилин реакційну суміш вилили в лід, що містить 5екв. сірчаної кислоти і перемішували до повного розплавлення льоду. До розчину додали два об'єми THF і обережно відрегулювали pH до 8 шляхом додання NaHCO<sub>3</sub> порціями. Додали 1,5екв. Fmoc-OSu. Реакцію контролювали за допомогою TLC (9/1 DCM/MeOH). По закінченні реакції суміш концентрували під вакуумом, поки не залишилася тільки водна фаза. Водний розчин екстрагували двічі Et<sub>2</sub>O, а потім обережно підкислили до pH 2 концентрованою HCl для осадження продукту. Потім водний шар і продукт екстрагували EtOAc. Органічний шар один раз розділили розчином солі і висушили над MgSO<sub>4</sub>, профільтрували і концентрували під вакуумом.

#### Методика G18

1екв. відповідної гідроксикарбонової кислоти, 2,2екв. трет-бутилдиметилсилілхлориду і 3екв. імідізола розчинили в DMF і перемішали при кімнатній температурі. Реакцію контролювали за допомогою TLC (9/1 DCM/MeOH). По закінченні реакції суміш концентрували під вакуумом. Отримане масло пересуспендували в Et<sub>2</sub>O і двічі промили насиченим NaHCO<sub>3</sub> і один раз розчином солі. Органічний шар висушили над сульфатом магнію, профільтрували і концентрували під вакуумом. Продукт потім використали без подальшого очищення.

#### Методика G19

До смоли, яку двічі промили DMA, додали розчин, що складається з 20% піперидина в DMA. Через 20 хвилин смолу відфільтрували і промили 5 разів DMA.

#### Методика G20

3екв. відповідної карбонової кислоти з'єднали з 3екв. BOP, 1екв. HOBt і 6екв. NMM в DMA протягом 30 хвилин. З'єднання спостерігали за допомо-

гою нінгідринового тесту Кайзера. Якщо тест Кайзера був позитивним, відповідну карбонову кислоту знов з'єднували тим же способом.

#### Методика G21

У промитій і висушеній смолі в розчині, що складається з 5% триізопропилсилана в TFA, протягом 1 години розщепили молекулу. Неочищену молекулу концентрували під вакуумом, очистили шляхом обернено-фазової HPLC, перевірили за допомогою електророзпилювальної мас-спектрометрії і ліофілізували до порошку.

#### Методика G22

3екв. відповідного аміна з'єднали з 3екв. BOP, 1екв. HOBt і 6екв. NMM в DMA протягом 60 хвилин.

#### Методика G23

Смоли промили по черзі DMA, DCM, 20% HOAc в DCM, MeOH і DMF. 2екв. відповідного альдегіду розчинили в мінімальній кількості 1% HOAc в DMF і додали до свіжепромитої смоли. Через 5 хвилин додали 2екв. натрію ціаноборогідриду і залишили смолу на ніч при барботуванні. Потім смолу промили DMF, 20% DIPEA в DCM, DCM і MeOH. З'єднання спостерігали за допомогою нінгідринового тесту Кайзера. Якщо тест Кайзера був позитивним, відповідний альдегід знов з'єднували тим же способом.

#### Методика G24

3екв. відповідної карбонової кислоти (R) з'єднали з 3 екв. HBTU і 3екв. DIPEA в DMA. Реакцію контролювали шляхом TLC. По закінченні суміш розбавили EtOAc. Органічний шар розділили розбавленою сірчаною кислотою, насиченим NaHCO<sub>3</sub>, висушили над сульфатом магнію, профільтрували і концентрували під вакуумом. Отриманий метиловий ефір використали без подальшого очищення.

#### Методика G25

Метиловий ефір відповідної карбонової кислоти отримали за Методикою G15, а фенол перетворили в трет-бутиловий ефір за Методикою G10. 1екв. отриманого продукту розчинили в суміші 1:2 THF і EtOH, додали 3екв. хлориду літія і 3екв. борогідриду натрію і перемішували реакційну суміш протягом ночі. Реакцію погасили H<sub>2</sub>O і концентрували під вакуумом. Залишок розділили між EtOAc і H<sub>2</sub>O, і водний шар екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні шари висушили над MgSO<sub>4</sub>, профільтрували і концентрували під вакуумом. Неочищений спирт очистили з використанням флеш-хроматографії на силікагелі (9:1 гексан/Et<sub>2</sub>O).

#### Методика G26

Розчин 1екв. спирту і 1,1екв. Ph<sub>3</sub>P в THF охолодили до 10°C в етанольно-льодяній бані. При перемішуванні додали по краплях розчин 1,1екв. фенолу і 1,1екв. DEAD в THF. Холодну баню забрали і перемішували реакційну суміш при кімнатній температурі протягом ночі. Реакційну суміш концентрували під вакуумом і результуючий залишок вмістили в мінімальну кількість DCM і профільтрували через пробку з силікагеля з використанням DCM в якості елюента. Після концентрування цього розчину під вакуумом залишок очистили з використанням флеш-хроматографії на силікагелі (8/2/0,5 гексан/DCM/Et<sub>2</sub>O) для отримання чистого ефіру.

#### Методика G27

1екв. спирту розчинили в ацетоні і охолодили до 10°C. Додали 1,1екв. реагенту Джонса і перемішували реакційну суміш протягом 2 годин при кімнатній температурі. Реакційну суміш профільтрували через пробку з силікагеля і концентрували під вакуумом. Залишок розділили між EtOAc і H<sub>2</sub>O, і водний шар екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні шари висушили над MgSO<sub>4</sub>, профільтрували і концентрували під вакуумом. Тверду жовту речовину розтерли з Et<sub>2</sub>O для видалення домішок, отримавши чистий кетон.

#### Методика G28

1екв. відповідного дигідроксинафталена розчинили в піридині. Додали 4екв. твердого гідрида натрію, потім 2екв. броміда і 0,4екв. хлориду міді. Результуючу суміш нагрівали при сильному перемішуванні в масляній бані при 100°C протягом 2 днів. Після концентрування під вакуумом залишок розділили між EtOAc і 1M HCl. Водний шар екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні шари висушили над MgSO<sub>4</sub>, профільтрували і концентрували під вакуумом. Залишок розтерли з Et<sub>2</sub>O. Після фільтрації суміші і концентрації фільтрату отриманий залишок очистили з використанням флеш-хроматографії на силікагелі (5:4:1 гексан/DCM/Et<sub>2</sub>O).

#### Методика G29

При перемішуванні при -78°C, до розчину 1екв. відповідного метилового ефіру в безводному толуолі додали розчин 1,5M DIBAL в толуолі (1,7екв.) по краплях. Реакційну суміш перемішували ще 2 години при -78°C або поки TLC не показала чисте утворення продукту лише зі слідами вихідної речовини. Реакцію погасили шляхом повільного додання холодного (-78°C) MeOH. Результуючу білу емульсію повільно вилили в льодяну суміш 1N HCl і EtOAc і водний шар екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні шари висушили над MgSO<sub>4</sub>, профільтрували і концентрували під вакуумом. Залишок очистили з використанням флеш-хроматографії на силікагелі (9:1 гексан/Et<sub>2</sub>O) з отриманням чистого альдегіду.

#### Методика G30

1екв. аміноспирта, отриманого за Методикою G28, і 1,5екв. Ph<sub>3</sub>P розчинили в THF і охолодили до -5°C. Додали по краплях 1,5екв. DEAD і перемішували реакційну суміш при кімнатній температурі протягом ночі. Після концентрування під вакуумом залишок вмістили в мінімальну кількість DCM і очистили шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (9:1 гексан/Et<sub>2</sub>O) з отриманням чистого оксазоліна.

#### Методика G31

При перемішуванні при -78°C, до розчину 1екв. броміду в THF додали 1,6M n-BuLi (1,05екв.) по краплях. Через 0,5 години додали 1,1екв. альдегіду в THF через канюлю при -78°C і перемішували реакційну суміш при -78°C. Через 2 години реакцію погасили доданням 2екв. холодного (-78°C) HOAc в THF. Суміш нагріли до кімнатної температури, концентрували під вакуумом, і масляний залишок розділили між Et<sub>2</sub>O і H<sub>2</sub>O. Водний шар екстрагували Et<sub>2</sub>O. Об'єднані органічні шари висушили над MgSO<sub>4</sub>, профільтрували і концентрували під вакуумом. Залишок очистили з використанням флеш-хроматографії на силікагелі (7:3 гексан/Et<sub>2</sub>O).

#### Методика G32

Оксазоліновий спирт розчинили в суміші 13:1 етанолу і сірчаної кислоти, потім нагрівали при зрошуванні протягом 3 днів. Реакційну суміш концентрували під вакуумом, а залишок розділили між Et<sub>2</sub>O і H<sub>2</sub>O. Водний шар екстрагували Et<sub>2</sub>O. Об'єднані органічні шари висушили над MgSO<sub>4</sub>, профільтрували і концентрували під вакуумом. Залишок очистили з використанням флеш-хроматографії на силікагелі (1:1 гексан/Et<sub>2</sub>O) з отриманням чистого етилового ефіру.

#### Методика G33

До свіжепромитої смоли додали 2,2екв. DIPEA і 2,2екв. відповідного ізоціаната (R) в 1,2-дихлоретані і перемішували протягом ночі. Смолу промили 10% піперидина в NMP, THF, 30% HOAc в DCM і MeOH.

#### Методика G34

1екв. смоли 4-бензоксibenзилового спирту (смоли Wang) промили DMA і DCM. До смоли додали 3екв. відповідної Fmoc-захисненої амінокислоти, 3екв. DIPC і 0,5екв. DMAP в DCM. Смолу перемішували протягом 2 годин, промили DCM і DMA. Потім смолу обробили 10% оцтового ангідрида в DCM протягом 5 хвилин. Смолу промили DCM і MeOH і потім висушили під вакуумом.

#### Методика G35

Смолу промили DCM і хлороформом. Свіжий 0,14M розчин тетракіс(трифенілфосфін)паладія(0) в 2,5% NMM, 5% HOAc в хлороформі додали до смоли. Після перемішування протягом 1 години смолу випробували нінгідриним тестом Кайзера. Якщо тест Кайзера був негативним, готували новий розчин паладія Pd(0) і знов проводили реакцію, поки не отримали позитивні результати в тесті Кайзера. Смолу промили DCM, MeOH і DCM.

#### Методика G36

Смолу з видаленими захисними групами обробили протягом 1 години розчином 10екв. бензофеноніміна і 1,3кв. HOAc в DMA для утворення гліцинбензофеноніміна. Після промивки DMA смолу обробили 3,5екв. 2-трет-бутиліміно-2-діетиламіно-1,3-диметилпергідро-1,2,3-діазафосфорина протягом 1 години. Додали 3екв. відповідного алкілюючого агента і перемішували суміш протягом 2 годин. Злили розчинник і промили смолу NMP, 20% DIPEA в DCM, DCM, 10% HOAc в DCM і DCM. Бензофенон видалили розчином 10екв. гідроксиламіна-HCl в THF/H<sub>2</sub>O протягом 2 годин. Смолу промили H<sub>2</sub>O, THF, 20% DDPEA в DCM і DCM.

#### Методика G37

10екв. 2-бромтерефталевої кислоти, 20екв. HBTU, 20екв. Hobt і 22екв. DIPEA розчинили в DMA і перемішували 15 хвилин для отримання ефіру 2-бромтерефталевої кислоти. До цього розчину додали 15екв. 3-гідроксибензиламіна, Методика G38, і 15екв. DIPEA з отриманням активного ефіру Сполуки E. Реакційну суміш перемішували 30 хвилин і потім додали її до смоли, яку потім перемішували протягом ночі.

#### Методика G38

1екв. 3-ціанофенола вмістили в колбу Парра з EtOH, 0,02екв. HCl і 10% (вар/вар.) 10% Pd на вуглеці. Судину вмістили в шейкер Парра, заповнений воднем H<sub>2</sub> при тиску 50 фунтів/кв. дюйм, і

струшували протягом 12 годин. Реакційну суміш профільтрували через прокладку з целіту і розбавили 1:10 Et<sub>2</sub>O. Після відстоювання протягом ночі утворилися тонкі білі голки. Продукт профільтрували, промили Et<sub>2</sub>O і висушили під вакуумом. Отриманий гідрохлорид використали потім без подальшого очищення.

#### Методика G39

Смоли промили DCM і хлороформом. Свіжий 0,14M розчин тетракіс(трифенілфосфін)паладію(0) в 2,5% NMM, 5% HOAc в хлороформі додали до смоли. Після перемішування протягом 2 годин злили розчинник, а смоли промили DCM і DMA. Смоли обробили 10% DIPEA в DMA протягом 10 хвилин, кілька разів промили DMA, а потім 5% розчином діетилдитіокарбаїмінової кислоти в DMA протягом 15 хвилин. Потім смоли промили DMA, DCM, MeOH і DCM.

#### Методика G40

Смоли суспендували в ACN і охолодили до 0°C. Після охолодження додали 3екв. Ph<sub>3</sub>P і 3екв. NCS і перемішували смоли 5 хвилин. До смоли додали 6екв. відповідного аніліну і перемішували смоли під час її нагрівання до кімнатної температури. Ще через 10 хвилин при кімнатній температурі реакцію погасили 3екв. HOAc і промили смоли 10% HOAc в ACN, DCM і MeOH.

#### Методика G41

Смоли заздалегідь активували за допомогою 3екв. HBTU, 3екв. Hobt і 6екв. DIPEA в DMA протягом 10мін. Додали 2екв. відповідного аміна і перемішували смоли 30хв. Процедуру повторили знов. Смоли промили DMA і DCM.

#### Методика G42

Смоли промили DMA, DCM і дихлоретаном. Додали 1,1екв. відповідного сульфонілхлорида і 3екв. DIPEA в дихлоретані і перемішували смоли протягом 12 годин. Реакцію перевіряли нінгідриним тестом Кайзера і повторювали процедуру до появи негативних результатів тесту. Смоли промили дихлоретаном і DCM.

#### Методика G43

Смоли промили DMA, DCM і дихлоретаном. Додали 1,1екв. відповідного хлорформата і 3екв. DIPEA в дихлоретані і перемішували смоли протягом 12 годин. Реакцію перевіряли нінгідриним тестом Кайзера і повторювали процедуру до появи негативних результатів тесту. Смоли промили дихлоретаном і DCM.

#### Методика G44

1екв. відповідного аміна розчинили в розчині 3:2 THF/H<sub>2</sub>O. Додали 1,1екв. твердого NaHCO<sub>3</sub> і 1,1екв. Вос<sub>2</sub>O і перемішували розчин протягом ночі. Реакційну суміш концентрували і розділили залишок між H<sub>2</sub>O і Et<sub>2</sub>O. Водний шар екстрагували Et<sub>2</sub>O, а об'єднані органічні шари висушили над MgSO<sub>4</sub> і концентрували під вакуумом до твердого стану. Перекристалізацією з Et<sub>2</sub>O/гексана отримали чистий продукт.

#### Методика G45

1екв. відповідного фенолу розчинили в DCM, що містить 2,6екв. 2,6-лутидина, і охолодили суміш до 78°C. Після додавання 1,25екв. трифлінового ангідрида реакційну суміш залишили нагріватися до кімнатної температури при перемішуванні протягом ночі. Реакційну суміш концентрували і розді-

лили залишок між H<sub>2</sub>O і Et<sub>2</sub>O. Водний шар екстрагували Et<sub>2</sub>O, а об'єднані органічні шари висушили над MgSO<sub>4</sub> і концентрували під вакуумом. Залишок очистили шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (9:1 гексан/Et<sub>2</sub>O) для отримання чистого трифлата.

#### Методика G46

При перемішуванні до розчину 1екв. трифлата в суміші 2/1 DMF/MeOH додали 0,15екв. 1,3-біс(дифенілфосфін)-пропана і 2,5екв. TEA. Газо-подібний монооксид вуглецю пропускали через цей розчин протягом 15 хвилин, потім додали 0,15екв. Pd(OAc)<sub>2</sub> і перемішували реакційну суміш при 70°C протягом 5-7 годин в атмосфері CO (з використанням балона, заповненого CO). Реакційну суміш концентрували під вакуумом, і розділили залишок між Et<sub>2</sub>O і H<sub>2</sub>O. Водний шар двічі екстрагували Et<sub>2</sub>O, а об'єднані органічні шари висушили над MgSO<sub>4</sub>, профільтрували через пробку з силікагеля і концентрували під вакуумом. Залишок очистили шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (9:1:0,02 гексан/DCM/Et<sub>2</sub>O) для отримання чистого метилового ефіру.

#### Методика G47

1екв. відповідного Вос-аніліну розчинили в метанолі і насичили розчин HCl. Реакційну суміш нагрівали при 50°C протягом 3 годин, потім концентрували під вакуумом. Блідо-жовту тверду речовину нагрівали в 35% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> до повного розчинення. Після охолодження суміші шляхом додавання льодяної води випав осадок бісульфата аміна. Реакційну колбу охолодили в льодяній бані і при сильному перемішуванні суміші по краплях додали 1,1екв. нітрита натрію в H<sub>2</sub>O. Реакційну суміш перемішували при 0°C ще 1,5 години. Після розбавлення реакційної суміші H<sub>2</sub>O суміш нагрівали при 80°C протягом 10 годин. Реакційну суміш охолодили до кімнатної температури і екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні шари висушили над MgSO<sub>4</sub> і концентрували під вакуумом. Залишок очистили шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (14:6:1 гексан/DCM/Et<sub>2</sub>O) для отримання чистого фенолу.

#### Методика G48

1екв. відповідного метилбензоата розчинили в DCM і додали 1,5екв. 1,0M розчину BBr<sub>3</sub>. Після перемішування реакційної суміші протягом ночі реакцію погасили льодом і перемішували ще 1,5 години. Реакційну суміш тричі екстрагували Et<sub>2</sub>O і об'єднані органічні шари висушили над MgSO<sub>4</sub> і концентрували під вакуумом. Залишок вмістили в мінімальну кількість насиченого NaHCO<sub>3</sub>. Продукт осадили з цього водного розчину шляхом додавання концентрованої HCl і потім екстрагували в Et<sub>2</sub>O. Об'єднані органічні шари висушили над MgSO<sub>4</sub> і концентрували під вакуумом для отримання чистої бензойної кислоти.

#### Методика G49

1екв. відповідної карбонової кислоти розчинили в DMF. Додали 1,1екв. твердого NaHCO<sub>3</sub> і 5екв. алілброміда і перемішували реакційну суміш при 45°C протягом ночі. Реакційну суміш потім концентрували і розділили залишок між Et<sub>2</sub>O і H<sub>2</sub>O. Водний шар тричі екстрагували Et<sub>2</sub>O, а об'єднані органічні шари висушили над MgSO<sub>4</sub> і концентрували під вакуумом. Залишок очистили шляхом флеш-

хроматографії на силікагелі (7:3 гексан/ $\text{Et}_2\text{O}$ ) для отримання чистого алілового ефіру.

#### Методика G50

До розчину 1екв. відповідного алілового ефіру в THF додали 0,1екв. тетракіс(трифенілфосфіна) паладія(0) і 10екв. морфоліна. Реакційну суміш перемішували 1,5 години, потім концентрували під вакуумом. Залишок вмістили в DCM, тричі екстрагували 1Н HCl, висушили над  $\text{MgSO}_4$  і концентрували під вакуумом. Залишок розтерли з 1:1 гексан/ $\text{Et}_2\text{O}$ , профільтрували через пробку з скловати і концентрували під вакуумом для отримання чистої бензойної кислоти.

#### Методика G51

1екв. фенолу розчинили в DMF і додали 2,05екв.  $\text{K}_2\text{CO}_3$  і 4екв. 1,3-дибромпропана. Реакційну суміш перемішували протягом ночі з одночасним нагріванням реакційної колби в масляній бані при  $50^\circ\text{C}$ . Після концентрування суміші під вакуумом залишок розділили між  $\text{Et}_2\text{O}$  і  $\text{H}_2\text{O}$ . Водний шар тричі екстрагували  $\text{Et}_2\text{O}$ , а об'єднані органічні шари висушили над  $\text{MgSO}_4$  і концентрували під вакуумом. Залишок очистили шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (95:5 гексан/ $\text{Et}_2\text{O}$ ) для отримання чистого броміду.

#### Методика G52

1екв. відповідного гідроксифенола і 1екв.  $\text{K}_2\text{CO}_3$  додали до розчину 0,5екв. броміду в DMF. Після перемішування протягом ночі реакційну суміш концентрували під вакуумом. Залишок розділили між  $\text{Et}_2\text{O}$  і  $\text{H}_2\text{O}$ . Водний шар тричі екстрагували  $\text{Et}_2\text{O}$ , а об'єднані органічні шари висушили над  $\text{MgSO}_4$  і концентрували під вакуумом. Залишок очистили шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (18:1 DCM/ $\text{Et}_2\text{O}$ ) для отримання чистого фенолу.

#### Методика G53

У скляну напірну трубку, що продувається азотом, вмістили 1екв. відповідного броміду, 5екв. п-бутилвінілового ефіру, 15екв. TEA, 0,1екв. 1,3-біс(дифенілфосфін)пропана, 1екв. ацетату талію, 0,09екв. ацетату паладію і DMF. Трубку закупорили і нагрівали до  $100^\circ\text{C}$  протягом ночі. Реакційну суміш охолодили і відфільтрували каталізатор. Суміш розбавили  $\text{EtOAc}$ , промили  $\text{H}_2\text{O}$  і висушили над  $\text{MgSO}_4$ . Неочищений продукт очистили на силікагелі (4/1 гексан/DCM), потім розчинили в THF і 4Н HCl в діоксані і перемішували протягом ночі. Розчинники випарили, і продукт очистили на силікагелі (4/1 гексан/ $\text{EtOAc}$ ) для отримання чистого продукту.

#### Методика G54

1екв. відповідного Вос-аніліну розчинили в метанолі і насичили розчин HCl. Реакційну суміш нагрівали при  $50^\circ\text{C}$  протягом 3 годин, потім концентрували під вакуумом. Блідо-жовту тверду речовину нагрівали в 35%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  до повного розчинення. Після охолодження суміші шляхом додання льодяної води випав осадок бісульфата аміна. Реакційну колбу охолодили в льодяній бані і при сильному перемішуванні суміші по краплях додали 1,1екв. нітрита натрію в  $\text{H}_2\text{O}$ . Реакційну суміш перемішували при  $0^\circ\text{C}$  ще 1,5 години. Додали водний розчин 10екв. KI і відразу після цього 17екв. CuI. Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі 14 годин, потім тричі екстрагували  $\text{Et}_2\text{O}$ .

Об'єднані органічні шари промили 1М  $\text{NaHCO}_3$ , розчином солі, висушили над  $\text{MgSO}_4$  і потім концентрували під вакуумом. Залишок очистили шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (95:5 гексан/ $\text{Et}_2\text{O}$ ) для отримання чистого йодіда.

#### Методика G55

2,3екв. йодіда літію додали до 1екв. метил-2,6-дихлор-4-йодбензоата в піридині і нагрівали суміш при зрошуванні протягом 8 годин. Реакційну суміш концентрували під вакуумом і залишок розділили між  $\text{EtOAc}$  і 1Н HCl. Водний шар тричі екстрагували  $\text{EtOAc}$ , а об'єднані органічні шари промили 1М  $\text{NaHCO}_3$ , висушили над  $\text{MgSO}_4$  і концентрували під вакуумом. Залишок розчинили в NMM і розчин концентрували під вакуумом. Залишок вмістили в DCM і потім тричі промили 1Н HCl. Органічний шар висушили над  $\text{MgSO}_4$  і концентрували під вакуумом для отримання бензойної кислоти досить високої чистоти, щоб використати її без подальшого очищення.

#### Методика G56

1,3екв. DIPEA додали до гетерогенної суміші 1екв. 3-гідроксибензойної кислоти, 1,3екв. N, O-диметилгідроксиламіна гідрохлориду, 1,3екв. HOBt і 1,3екв. EDC при перемішуванні в DMF. Всі тверді речовини згодом розчинилися по мірі перемішування при кімнатній температурі протягом 28 годин. Після концентрування суміші залишок розділили між  $\text{Et}_2\text{O}$  і  $\text{H}_2\text{O}$ . Водний шар тричі екстрагували  $\text{Et}_2\text{O}$ , а об'єднані органічні шари висушили над  $\text{MgSO}_4$  і концентрували під вакуумом. Залишок очистили шляхом флеш-хроматографії на силікагелі ( $\text{Et}_2\text{O}$ ) для отримання чистого гідроксамата.

#### Методика G57

При перемішуванні при  $-78^\circ\text{C}$  до розчину 1екв. відповідного захищеного гідроксамата в THF додали розчин 1,2М DIBAL в толуолі по краплях. Реакційну суміш перемішували ще 3 години при  $-78^\circ\text{C}$  або поки TLC не показала чисте утворення продукту лише зі слідами вихідної речовини. Реакцію погасили, виливши суміш в ділільну воронку, що містить  $\text{Et}_2\text{O}$  і 0,35М  $\text{NaHSO}_4$ . Шари розділили. Водний шар тричі екстрагували етиловим ефіром. Об'єднані органічні шари двічі промили 1Н HCl, насиченим водним  $\text{NaHCO}_3$ , висушили над  $\text{MgSO}_4$ , профільтрували через пробку з силікагеля і концентрували під вакуумом. Подальшого очищення альдегіду не було потрібно.

#### Методика G58

Розчин 1екв. відповідного альдегіду в THF охолодили до  $-78^\circ\text{C}$  і додали 1,1екв. 0,5М етиніл-магнія броміду в THF. Після перемішування реакційної суміші при кімнатній температурі протягом 3 годин її розбавили  $\text{Et}_2\text{O}$  і двічі промили 10% лимонною кислотою. У об'єднаних водних шарах зробили однократну зворотну екстракцію  $\text{Et}_2\text{O}$ . Об'єднані органічні шари двічі промили насиченим водним розчином  $\text{NaHCO}_3$ , висушили над  $\text{MgSO}_4$  і концентрували під вакуумом. Залишок очистили шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (від 4:1 до 3:2 гексан/ $\text{Et}_2\text{O}$ ) для отримання чистого алкіна.

#### Методика G59

1екв. арил-йодіда розчинили в  $\text{EtOAc}$  і розчин дегазували шляхом пропущення  $\text{N}_2$  через піпетку в розчин протягом 10 хвилин. Додали 1,25екв. алкі-

на, а потім 0,02екв. дихлорбіс(трифенілфосфін)паладія (II), 0,04екв. CuI і 5екв. TEA. Реакційну суміш перемішували 14 годин, розбавили EtOAc, двічі промили 5% Na<sub>2</sub>-EDTA, розчином солі, висушили над MgSO<sub>4</sub> і концентрували під вакуумом. Залишок очистили шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (градієнтне елюювання з використанням Et<sub>2</sub>O-EtOAc) для отримання чистого арилалкіна.

#### Методика G60

1екв. арилалкіна розчинили в MeOH і розчин дегазували шляхом пропущення N<sub>2</sub> через піпетку в розчин протягом 10 хвилин. Додали 5% Rh/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, пропустили через розчин повний балон водня і перемішували реакційну суміш в атмосфері водня (з використанням балона) протягом 7 годин, після чого реакційну суміш профільтрували через прокладку з целіту і концентрували під вакуумом. Залишок очистили шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (градієнтне елюювання з використанням Et<sub>2</sub>O-EtOAc) для отримання чистого продукту.

#### Методика G61

2екв. відповідної захищеної амінокислоти і 2екв. Ph<sub>3</sub>P суспендували в DCM. Додали 2,2екв. NCS і перемішували суміш протягом 30 хвилин. 1Екв. анілін-утримуючої смоли і 1,1екв. NMM суспендували в DCM і додали прозорий розчин кислоти. Смолу перемішували 2 години, промили DCM, DMA і DCM. Процедуру повторили знов.

#### Методика G62

Відповідний бензальдегід перетворили в гідантоїн за Методикою G63 і потім гідролізували до амінокислоти за Методикою G64. Чисту рацемічну амінокислоту захистили за Методикою G5.

#### Методика G63

1екв. відповідного бензальдегіда, 2екв. ціаніда калію і 4екв. карбонату амонія зрошували в 50% EtOH протягом 2,5 годин. Після охолодження до 0°C розчин підкислили до pH 2 концентрованою HCl. Після відстоювання в холодильнику протягом ночі відфільтрували кристали, промили їх водою і перекристалізували з киплячої суміші H<sub>2</sub>O/EtOH.

#### Методика G64

Чистий гідантоїн зрошували в 10% NaOH протягом ночі. Після охолодження додали активоване вугілля і профільтрували розчин через целіт. Розчин підкислили до pH 7 концентрованою HCl і залишили на ніч в холодильнику. Отримані кристали відфільтрували, промили водою і висушили протягом ночі під вакуумом для отримання чистої рацемічної амінокислоти.

#### Методика G65

4-бром-2-хлорбензойну кислоту перетворили в трет-бутиловий ефір за Методикою G10. Трет-бутилвініловий ефір з'єднали з бромідом за Методикою G53 з отриманням 4-ацетил-2-хлорбензойної кислоти трет-бутилового ефіру. Кетон відновили в спирт за Методикою G66 і розклали рацемічну суміш за Методикою G67 з отриманням чистого S-ізомеру. Фталамід з'єднали зі спиртом за Методикою G68 і гідролізували продукт за Методикою G69 з отриманням аміна.

#### Методика G66

2екв. відповідного кетону розчинили в MeOH і додали 1екв. NaBH<sub>4</sub>. Після перемішування протя-

гом 1 години реакцію погасили концентрованою HCl і концентрували під вакуумом. Залишок розділили між Et<sub>2</sub>O і H<sub>2</sub>O. Органічну частину висушили над MgSO<sub>4</sub> і концентрували під вакуумом. Спирт може бути використаний без подальшого очищення.

#### Методика G67

1екв. спиртовій суміші розчинили в діізопропиловому ефірі і додали по 2екв. вінілацетату і аманоліпази P (100mg). Суспензію перемішували протягом ночі і потім концентрували під вакуумом. Залишок очистили шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (5/1 EtOAc/гексан) для отримання чистих ізомерів R і S.

#### Методика G68

Розчин 1екв. спирту і 3екв. Ph<sub>3</sub>P в THF охолодили до -10°C в етанольно-льодяній бані. При перемішуванні додали по краплях розчин 3екв. аміна і 3екв. DEAD в THF. Холодну баню забрали і перемішували реакційну суміш при кімнатній температурі протягом ночі. Реакційну суміш концентрували під вакуумом і результируючий залишок вмістили в мінімальну кількість DCM і профільтрували через пробку з силікагеля з використанням DCM в якості елюента. Після концентрування цього розчину під вакуумом залишок очистили з використанням флеш-хроматографії на силікагелі (8/2/0,5 гексан/DCM/Et<sub>2</sub>O) для отримання продукту.

#### Методика G69

1екв. фталаміда розчинили в етанолі і THF і додали 8екв. гідразингідрата. Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 1,5 години, потім при 50°C протягом 1 години. Розчин охолодили, профільтрували і промили тверді речовини EtOAc. Прозорий розчин концентрували під вакуумом і очистили залишок шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (94/4 DCM/MeOH) для отримання чистого аміна.

#### Методика G70

1екв. відповідного кетону, що серійно випускається, 5екв. гідроксиламіна гідрохлориду і 10екв. ацетату натрію змішали в MeOH і перемішували протягом ночі. Реакційну суміш концентрували під вакуумом і розділили залишок між EtOAc і насиченим NaHCO<sub>3</sub>. Органічний шар промили один раз розчином солі, висушили над MgSO<sub>4</sub> і концентрували під вакуумом. Продукт очистили шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (Et<sub>2</sub>O) для отримання чистого оксима.

#### Методика G71

1екв. відповідного бензальдегіда обробили 2,5екв. відповідного R'MgBr в THF при -20°C в атмосфері азоту. Після нагрівання до кімнатної температури реакційну суміш вилили в суспензію з 0,1N сірчаної кислоти і льоду і екстрагували продукт EtOAc. Після розділення і промивки розчином солі органічну фазу висушили над MgSO<sub>4</sub> і концентрували під вакуумом з отриманням неочищеного продукту. Окислення до кетону проводили в діоксані з 1,1екв. 2,3-дихлор-5,6-диціано-1,4-бензохінона протягом 48 годин. Реакційну суміш профільтрували і фільтрат концентрували під вакуумом. Залишок очистили шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (1:1 гексан/EtOAc) з отриманням продукту у вигляді жовтої твердої речовини.

**Методика G72**

Смолу з S-третіловою або O-третіловою захищеною групою тричі промили DCM. Потім її тричі промивали протягом 10 хвилин розчином, що складається з 1% TFA, 1% TES в DCM. Потім її тричі промили DCM. Потім випробували смолу, вмістивши невелику її кількість в тестову пробірку і обробивши концентрованою TFA. Якщо жовте забарвлення не з'являлося, видалення було повним. Якщо жовте забарвлення з'являлося, вищеописану процедуру повторювали, поки не виходив чистий тест.

**Методика G73**

Смолу, що містить відповідний вільний гідроксил, тричі промили DCM. До смоли додали розчин 10% DIPEA в DCM і 0,3M розчин фосгена в толуолі. Реакцію залишили на 10 хвилин при кімнатній температурі, після чого злили розчинник і тричі промили смолу DCM. До смоли додали 0,3M розчин в DCM відповідного аміна і залишили реакцію на ніч. Потім злили розчинник і тричі промили смолу DCM.

**Методика G74**

Відповідну смолу тричі промили DCM і потім обробили 0,3M розчином відповідного хлорформата (R) в 0,33M DIPEA в NMP протягом ночі. З'єднання контролювали за допомогою нінгідрінового тесту Кайзера. Якщо тест Кайзера був позитивним, відповідний хлорформат знов з'єднували тим же способом. Потім смолу тричі промили MMPітричі DCM.

**Методика G75**

Відповідний 2,6-дизаміщений фенол (2,6-дихлорфенол для Сполуки F, 2,6-диметилфенол для Сполуки H і 2,6-дифторфенол для Сполуки I) алкілювали за Методикою G76. Результуючий фталімід гідролізували і захистили за Методикою G77. Потім фенол перетворили в трифлат за Методикою G78 і карбонілювали за Методикою G79 з отриманням бажаної двічі захищеної сполуки.

**Методика G76**

Круглодонну колбу забезпечили ефективною підвісною мішалкою і заповнили концентрованою  $H_2SO_4$  (2,7 × об'єми  $H_2O$ ) і  $H_2O$  і охолодили до  $-5^\circ C$  в етанольно-льодяній бані. Після охолодження додали при сильному перемішуванні 1екв. відповідного дизаміщеного фенолу і 1екв. N-(гідроксиметил)фталіміда. Реакційну суміш підтримували охолодженою протягом 4 годин і потім дали нагрітися до кімнатної температури протягом ночі при постійному перемішуванні. Реакція звичайно продовжується до моменту, коли в круглодонній колбі залишається тільки тверда речовина. У цей момент додали EtOAc і  $H_2O$  і змішали з твердою речовиною. Великі шматки роздрібнили і потім залишок профільтрували і промили додатковою кількістю EtOAc і  $H_2O$ . Продукт використали без подальшого очищення після сушки протягом ночі у вакуумному ексикаторі.

**Методика G77**

1екв. продукту з Методики G76 і (22,5мл × # г вихідного матеріалу) метанолу додали в круглодонну колбу, оснащену водяним конденсатором і мішалкою. Додали 1,2екв. гідразина моногідрата і зрошували суміш протягом 4 годин. Після охолодження до кімнатної температури обережно до-

дали (4,5мл × # г вихідного матеріалу) концентрованої HCl. По закінченні додання суміш знов зрошували протягом ночі (більш 8 годин). Реакційну суміш охолодили до  $0^\circ C$  і осаджений побічний продукт відфільтрували. Потім фільтрат концентрували під вакуумом. Залишок захистили групою Вос за Методикою G44, за винятком того, що продукт перекристалізували з гарячого метанолу і води.

**Методика G78**

1екв. відповідного фенолу і 1,5екв. 2,6-лутидина розчинили (якщо необхідно, при помірному нагріві) в DCM в круглодонній колбі. Після повного розчинення вихідної речовини суміш охолодили до  $-78^\circ C$  в атмосфері азоту в сухій етанольно-льодяній бані. Після охолодження додали 2,5екв. трифлінового ангідрида і залишили реакційну суміш повільно нагріватися до кімнатної температури при перемішуванні. Реакція контролюється за допомогою TLC і звичайно проводиться за 4 години. По закінченні реакційну суміш концентрували під вакуумом і розділили залишок між EtOAc і  $H_2O$ . Органічний шар двічі промили 0,1N  $H_2SO_4$ , двічі насиченим  $NaHCO_3$ , один раз розчином солі, висушили над сульфатом магнію і концентрували під вакуумом. Залишок очистили на силікагелі, використовуючи DCM в якості елюента.

**Методика G79**

1екв. трифлата розчинили в DMF і MeOH в скляній вставці автоклава високого тиску Парра. Вихідну речовину потім дегазували при перемішуванні з CO протягом 10 хвилин. Додали 0,15екв. ацетату паладія (II) і 0,15екв. 1,3-біс(дифенілфосфін)-пропана і дегазували суміш при перемішуванні з CO протягом ще 10 хвилин. Додали 2,5екв. діізопропілетиламіна і зібрали автоклав Парра. Після належного складання автоклава його заповнили газоподібним CO при тиску 300 фунтів/кв. дюйм і нагрівали до  $70^\circ C$  при перемішуванні протягом ночі. Автоклав охолодили і спустили газ. Суміш перенесли в круглодонну колбу і концентрували під вакуумом. Залишок очистили на силікагелі, використовуючи DCM з 1% ацетону і 1% TEA в якості елюента.

**Методика G81**

1екв. відповідного алкена і 1,5екв. KOH розчинили в  $H_2O$  у відповідній за розміром колбі шейкера Парра. Додали малу кількість (біля 100мг на 50ммоль алкена) 5% Pd/C каталізатора, заповнили колбу воднем під тиском 50 фунтів/кв. дюйм і струшували протягом ночі. Суміш профільтрували через целіт і концентрували під вакуумом. Отриманий продукт використали без подальшого очищення.

**Методика G80**

1екв. відповідного етилового ефіру і 1,5екв. KOH розчинили у воді і зрошували протягом 3 годин. По закінченні реакційну суміш концентрували під вакуумом і продукт використали без подальшого очищення.

**Методика G82**

1,2екв. NaH (60% дисперсія в мінеральному маслі) суспендували в бензолі і охолодили до  $0^\circ C$  в бані з льодяної води. Повільно додали 1,2екв. триетилфосфоацетата і залишили реакцію при перемішуванні до освітлення розчину. Повільно

додали 1екв. відповідного кетону (R) і перемішували реакційну суміш протягом 4 годин. По закінченні реакційну суміш розділили толуолом і водою. У водному шарі зробили зворотну екстракцію. Об'єднані органічні шари висушили над  $\text{MgSO}_4$  і концентрували під вакуумом. Залишок очистили шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (85:15 гексан/ $\text{EtOAc}$ ).

#### Методика G83

1,2екв.  $\text{NaN}$  (60% дисперсія в мінеральному маслі) суспендували в бензолі і охолодили до  $-10^\circ\text{C}$  в сухій льодяній бані. Повільно додали 1,2екв. триетилфосфоновпропіонату і залишили реакцію при перемішуванні до освітлення розчину. Повільно додали 1екв. відповідного альдегіду (R) і перемішували реакційну суміш протягом 4 годин. По закінченні реакційну суміш розділили толуолом і водою. У водному шарі зробили зворотну екстракцію. Об'єднані органічні шари висушили над  $\text{MgSO}_4$  і концентрували під вакуумом. Залишок очистили шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (85:15 гексан/ $\text{EtOAc}$ ).

#### Методика G84

1екв. відповідним образом захищеного толуола розчинили в оцтовому ангідриді і  $\text{HOAc}$ , потім охолодили в льодо-сольовій бані ( $-5^\circ\text{C}$ ) перед доданням концентрованої сірчаної кислоти. Розчин  $\text{CrO}_3$  (2,6екв.) в оцтовому ангідриді і  $\text{HOAc}$  додали по краплях і перемішували реакційну суміш 3,5 годин при  $-5^\circ\text{C}$ . Реакційну суміш вилили в льодяну воду і перемішували 30 хвилин. Суміш тричі екстрагували етиловим ефіром. Об'єднані органічні шари промили насиченим  $\text{NaHCO}_3$ , розчином солі, висушили над  $\text{MgSO}_4$  і концентрували під вакуумом до масла. До масла додали толуол і розчин знов концентрували під вакуумом. Цю операцію повторювали до отримання кристалічної твердої речовини. Тверду речовину розчинили в метанолі і концентрованої  $\text{HCl}$  і нагрівали при зрошуванні 12 годин. Реакційну суміш концентрували під вакуумом і очистили залишок шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (9:1 гексан/ $\text{Et}_2\text{O}$ ) для отримання чистого альдегіду.

#### Методика G85

1екв. відповідного спирту розчинили в  $\text{DMF}$  і охолодили до  $-5^\circ\text{C}$  в льодо-сольовій бані. Додали по краплях 1,4екв. біс(триметилсиліл)аміда літію. Реакційну суміш перемішували протягом 0,5 години, потім додали 1екв. метилйодида і перемішували реакційну суміш протягом ночі в атмосфері азоту. Реакційну суміш розділили між етиловим ефіром і 10% лимонною кислотою. Водний шар екстрагували етиловим ефіром, об'єднані органічні шари промили насиченим  $\text{NaHCO}_3$  і розчином солі, потім висушили над  $\text{MgSO}_4$  і концентрували під вакуумом до масла. Залишок очистили шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (9:1 гексан/ $\text{Et}_2\text{O}$ ) для отримання чистого метилового ефіру.

#### Методика G86

Нітротерефталеву кислоту, що серійно випускається, перетворили в її діетиловий ефір за Методикою G87. Нітрогрупу замінили бензилмеркаптаном за Методикою G88 і зняли захист за допомогою  $\text{AlBr}_3$  за Методикою G89. Тіол алкілювали бромацетальдегіда діетилацеталем за Мето-

дикую G90 і потім дегідратували за Методикою G91. Діетиловий ефір обробили  $\text{LiOH}$  (Методика G4) і потім з'єднали за Методикою G3 з 3-гідроксибензиламіном (Методика G38). Кінцевий етиловий ефір видалили за Методикою G4.

#### Методика G87

1екв. відповідної карбонової кислоти, що серійно випускається, розчинили в толуолі з надлишком етанолу і 0,6 екв.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  і зрошували суміш протягом 4 днів. По закінченні реакційну суміш концентрували під вакуумом і розділили між  $\text{EtOAc}$  і  $\text{H}_2\text{O}$ . Органічний шар промили насиченим  $\text{NaHCO}_3$ , розчином солі, висушили над  $\text{MgSO}_4$  і концентрували під вакуумом. Продукт використали без подальшого очищення.

#### Методика G88

1,25екв. 95%  $\text{NaN}$  суспендували в  $\text{DMF}$  і охолодили в атмосфері азоту до  $-5^\circ\text{C}$  в льодяній бані. По краплях додали 1,25екв. бензилмеркаптана і залишили реакцію при перемішуванні на 40 хвилин. Протягом 20 хвилин додали 1екв. відповідної арилнітросполуки і перемішували суміш ще 30 хвилин. Після посвідчення в тому, що реакцію закінчено, розчин вилили в лід і перемішували до повного розплавлення льоду. Водний розчин тричі розділили  $\text{EtOAc}$ , а об'єднані органічні шари промили розчином солі, висушили над  $\text{MgSO}_4$  і концентрували під вакуумом. Залишок очистили шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (1:4 гексан/ $\text{EtOAc}$ ) для отримання продукту.

#### Методика G89

1екв. бензил-захищеної речовини і 2,2екв.  $\text{AlBr}_3$  зрошували в толуолі протягом 3 годин. За цей час додали  $\text{H}_2\text{O}$  і достатню кількість  $\text{EtOAc}$  для розділення суміші. Органічний шар тричі промили  $\text{H}_2\text{O}$ , розчином солі, висушили над  $\text{MgSO}_4$  і концентрували під вакуумом. Залишок очистили шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (4:1 гексан/ $\text{EtOAc}$ ) для отримання продукту.

#### Методика G90

1екв. тіола розчинили в  $\text{DMF}$  і додали 2екв.  $\text{K}_2\text{CO}_3$ . Повільно, за 20 хвилин, додали 1,1екв. бромацетальдегіду діетилацеталю і потім порціями додали 0,1екв.  $\text{NaI}$ . Реакційну суміш перемішували 2 години і потім розділили між  $\text{EtOAc}$  і  $\text{H}_2\text{O}$ . Органічний шар тричі промили  $\text{H}_2\text{O}$ , розчином солі, висушили над  $\text{MgSO}_4$  і концентрували під вакуумом. Залишок очистили шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (9:1 гексан/ $\text{EtOAc}$ ) для отримання продукту.

#### Методика G91

1екв. (за вагою) відповідного діетилацеталю і 2екв. (за вагою) поліфосфорної кислоти розчинили в хлорбензолі. Реакцію контролювали за допомогою TLC. По закінченні реакції суміш концентрували під вакуумом і потім розділили між  $\text{EtOAc}$  і насиченим  $\text{NaHCO}_3$ . Органічний шар ще двічі промили насиченим  $\text{NaHCO}_3$ , розчином солі, висушили над  $\text{MgSO}_4$  і концентрували під вакуумом. Залишок очистили шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (4:1 гексан/ $\text{EtOAc}$ ) для отримання продукту.

#### Методика G92

1екв. відповідної карбонової кислоти розчинили в  $\text{DCM}$  і охолодили до  $0^\circ\text{C}$  в бані з льодяною води. Після охолодження додали 3 краплі  $\text{DMF}$  і

1,5екв. оксалілхлориду. Реакційну суміш перемішували при 0°C протягом 1,5 години і потім 0,5 години при кімнатній температурі. Після цього реакційну суміш концентрували під вакуумом і використали відразу ж.

#### Методика G93

1екв. бис-N-карбоксibenzoїлцистина дибензилового ефіру розчинили в HOAc/H<sub>2</sub>O (9/1) і обробили газоподібним хлором протягом 10 хвилин. Реакційну суміш концентрували під вакуумом, розчинили в толуолі і концентрували під вакуумом знов для отримання твердої білої речовини. Цей продукт розчинили в DCM і додали 0,5екв. відповідного аміна (R). Реакційну суміш перемішували 30 хвилин і потім розбавили EtOAc і розділили 0,1N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, а потім розчином солі. Органічний шар очистили шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (1:1 EtOAc/гексан) для отримання чистого продукту. Захисні групи видалили за Методикою G38 і використали продукт без подальшого очищення.

#### Приклади специфічних методик

##### Методика S1

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі Fmoc-L-діаїнопропіонової кислоти-(алок)-p-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Fmoc-L-Dapa(alloc)-)(Wang). Смолу отримали за Методикою G34 з використанням N-(-Fmoc-N-(-алок-L-діаїнопропіонової кислоти, що серійно випускається. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Групу Alloc видалили за Методикою G35. Відповідний ізоціанат (R) приєднали за Методикою G33. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

##### Методика S2

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі Fmoc-L-діаїномасляної кислоти-(алок)-p-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Fmoc-L-Daba(alloc)-)(Wang). Смолу отримали за Методикою G34 з використанням N-α-Fmoc-N-γ-алок-L-діаїномасляної кислоти, що серійно випускається. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Групу Alloc видалили за Методикою G35. Відповідний ізоціанат (R) приєднали за Методикою G33. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

##### Методика S3

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі Fmoc-L-орнітин-(алок)-p-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Fmoc-L-Orn(alloc)-)(Wang). Смолу отримали за Методикою G34 з використанням амінокислоти, що серійно випускається, N-α-Fmoc-N-δ-алок-L-орнітин. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Групу Alloc видалили за Методикою G35. Відповідний ізоціанат (R) приєднали за Методикою G33. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

##### Методика S4

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі Fmoc-L-лізин-(алок)-p-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Fmoc-L-Lys(alloc)-)(Wang). Смолу отримали за Методикою G34 з використанням амінокислоти, що серійно випускається, N-α-Fmoc-N-ε-алок-L-лізин. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Групу Alloc видалили за Методикою G35. Відповідний ізоціанат (R) приєднали за Методикою G33. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

##### Методика S5

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі Fmoc-L-діаїнопропіонової кислоти-(алок)-p-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Fmoc-L-Dapa(alloc)-)(Wang). Смолу отримали за Методикою G34 з використанням N-α-Fmoc-N-β-алок-L-діаїнопропіонової кислоти, що серійно випускається. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Групу Alloc видалили за Методикою G35. Відповідну карбонову кислоту (R) приєднали за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

##### Методика S6

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі Fmoc-L-діаїномасляної кислоти-(алок)-p-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Fmoc-L-Daba(alloc)-)(Wang). Смолу отримали за Методикою G34 з використанням N-α-Fmoc-N-γ-алок-L-діаїномасляної кислоти, що серійно випускається. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Групу Alloc видалили за Методикою G35. Відповідну карбонову кислоту (R) приєднали за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

##### Методика S7

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі Fmoc-L-орнітин-(алок)-p-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Fmoc-L-Orn(alloc)-)(Wang). Смолу отримали за Методикою G34 з використанням амінокислоти, що серійно випускається, N-α-Fmoc-N-δ-алок-L-орнітин. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Групу Alloc видалили за Методикою G35. Відповідну карбонову кислоту (R) приєднали за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

##### Методика S8

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі Fmoc-L-лізин-(алок)-p-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Fmoc-L-Lys(alloc)-)(Wang). Смолу отримали за Методикою G34 з використанням амінокислоти, що серійно випускається, N-α-Fmoc-N-ε-Alloc-L-lysine. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Групу Alloc видалили за Методикою G35. Від-



Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі Fmoc-L-орнітин-(алок)-р-алкоксибензильового спирту (0,5ммоль/г) (смола Fmoc-L-Orn(alloc)-)(Wang). Смолу отримали за Методикою G34 з використанням амінокислоти, що серійно випускається, N- $\alpha$ -Fmoc-N- $\delta$ -алок-L-орнітин. Групу Fmoc відщепили за Методикою

випускається, N- $\alpha$ -Fmoc-N- $\delta$ -алок-L-орнітин. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Групу Alloc видалили за Методикою G35. Амінокислоту, що серійно випускається, Fmoc- $\beta$ -аланін приєднали за Методикою G20. Групу Fmoc видалили за Методикою G19 і приєднали відповідну карбонову кислоту (R) за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

## Методика S21

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі Fmoc-L-орнітин-(алок)-p-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Fmoc-L-Orn(alloc)-)(Wang). Смолу отримали за Методикою G34 з використанням амінокислоти, що серійно випускається, N- $\alpha$ -Fmoc-N- $\delta$ -алок-L-орнітин. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Групу Alloc видалили за Методикою G35. Амінокислоту, що серійно випускається, Fmoc-гліцин приєднали за Методикою G20. Групу Fmoc видалили за Методикою G19 і приєднали відповідну карбонову кислоту (R) за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

## Методика S22

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі Fmoc-L-діаміномасляної кислоти-(алок)-р-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Fmoc-L-Daba(alloc)-)(Wang). Смолу отримали за Методикою G34 з використанням N- $\alpha$ -Fmoc-N- $\gamma$ -алок-L-діаміномасляної кислоти, що серійно випускається. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19.

Сполуку С, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Групу Allos видалили за Методикою G35. Fмос-ніпекотинову кислоту, що серійно випускається, приєднали за Методикою G20. Групу Fмос видалили за Методикою G19 і приєднали відповідну карбонову кислоту (R) за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

## Методика S23

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі Fmoc-L-діаміномасляної кислоти-(алок)-р-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Fmoc-L-Daba(alloc)-)(Wang). Смоли отримали за Методикою G34 з використанням N- $\alpha$ -Fmoc-N- $\gamma$ -алок-L-діаміномасляної кислоти, що серійно випускається. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Групу Alloc видалили за Методикою G35. Fmoc-ізоніпекотинову кислоту, що серійно випускається, приєднали за Методикою G20. Групу Fmoc видалили за Методикою G19 і приєднали відповідну карбонову кислоту (R) за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

## Методика S24

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі Fmoc-L-діаміномасляної кислоти-(алок)-р-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc.

на смолі Fmoc-L-лізин-(алок)-р-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Fmoc-L-Lys(alloc)-(Wang)). Смолу отримали за Методикою G34 з використанням амінокислоти, що серійно випускається, N- $\alpha$ -Fmoc-N- $\epsilon$ -алок-L-лізин. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Групу Alloc видалили за Методикою G35. Fmoc-3-амінометилбензойну кислоту, що серійно випускається, приєднали за Методикою G20. Групу Fmoc видалили за Методикою G19 і приєднали відповідну карбонову кислоту (R) за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S33

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі Fmoc-L-лізин-(алок)-р-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Fmoc-L-Lys(alloc)-(Wang)). Смолу отримали за Методикою G34 з використанням амінокислоти, що серійно випускається, N- $\alpha$ -Fmoc-N- $\epsilon$ -алок-L-лізин. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Групу Alloc видалили за Методикою G35. Fmoc-4-амінометилбензойну кислоту, що серійно випускається, приєднали за Методикою G20. Групу Fmoc видалили за Методикою G19 і приєднали відповідну карбонову кислоту (R) за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S34

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі Fmoc-L-лізин-(алок)-р-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Fmoc-L-Lys(alloc)-(Wang)). Смолу отримали за Методикою G34 з використанням амінокислоти, що серійно випускається, N- $\alpha$ -Fmoc-N- $\epsilon$ -алок-L-лізин. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Групу Alloc видалили за Методикою G35. Амінокислоту, що серійно випускається, Fmoc- $\beta$ -аланін приєднали за Методикою G20. Групу Fmoc видалили за Методикою G19 і приєднали відповідну карбонову кислоту (R) за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S35

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі Fmoc-L-лізин-(алок)-р-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Fmoc-L-Lys(alloc)-(Wang)). Смолу отримали за Методикою G34 з використанням амінокислоти, що серійно випускається, N- $\alpha$ -Fmoc-N- $\epsilon$ -алок-L-лізин. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Групу Alloc видалили за Методикою G35. Амінокислоту, що серійно випускається, Fmoc-гліцин приєднали за Методикою G20. Групу Fmoc видалили за Методикою G19 і приєднали відповідну карбонову кислоту (R) за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S36

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc,

на смолі Fmoc-L-діамінопропіонової кислоти-(алок)-р-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Fmoc-L-Dapa(alloc)-(Wang)). Смолу отримали за Методикою G34 з використанням N- $\alpha$ -Fmoc-N- $\beta$ -алок-L-діамінопропіонової кислоти, що серійно випускається. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Групу Alloc видалили за Методикою G35. Відповідний хлорформат (R) приєднали за Методикою G74. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S37

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі, що серійно випускається Fmoc-L-триптофан(Boc)-Wang (0,5ммоль/г). Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку D, Методика G14, приєднали за Методикою G20. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Відповідну карбонову кислоту (R) приєднали за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S38

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі, що серійно випускається Fmoc-L-аланін-Wang (0,5ммоль/г). Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку D, Методика G14, приєднали за Методикою G20. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Відповідну карбонову кислоту (R) приєднали за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S39

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі, що серійно випускається, Fmoc-L-аспарагін(Trt)-Wang (0,5ммоль/г). Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку D, Методика G14, приєднали за Методикою G20. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Відповідну карбонову кислоту (R) приєднали за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S40

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі, що серійно випускається, Fmoc-L-триптофан(Boc)-Wang (0,5ммоль/г). Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. 4-аміно-2-метилбензойну кислоту приєднали за Методикою G20. Відповідну карбонову кислоту (R) захистили силілом, Методика G18, отримали хлорид кислоти за Методикою G92 і приєднали його в DCM протягом ночі до аміну. Після промивки смоли DCM і THF додали 3 екв. тетрабутиламонія фториду в THF. Через 20 хвилин смолу промили THF, H<sub>2</sub>O і розбавленою HOAc. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S41

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолах, що серійно випускаються, Fmoc-L-амінокислота-Wang (0,5ммоль/г). Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. 4-аміно-2-метилбензойну кислоту приєднали за Методикою G20. 3-гідроксифенілоцтову кислоту (R) захистили силілом, Методика G18, отримали хлорид кислоти за Методикою G92 і приєднали його в DCM протя-

гом ночі до аміну. Після промивки смоли DCM і THF додали Зекв. тетрабутиламонія фториду в THF. Через 20 хвилин смолу промили THF, H<sub>2</sub>O і розбавленою HOAc. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S42

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі, що серійно випускається, Fmoc-L-аланін-Wang (0,5ммоль/г). Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. 4-Аміно-2-хлорбензойну кислоту, що серійно випускається, приєднали за Методикою G20. Fmoc-гліцин з'єднали з аніліном за Методикою G61. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Відповідну карбонову кислоту (R) приєднали за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S43

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі, що серійно випускається, Fmoc-L-аланін-Wang (0,5ммоль/г). Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. 4-Аміно-2-хлорбензойну кислоту, що серійно випускається, приєднали за Методикою G20. Fmoc-L-аланін з'єднали з аніліном за Методикою G61. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Відповідну карбонову кислоту (R) приєднали за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S44

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі, що серійно випускається, Fmoc-L-аланін-Wang (0,5ммоль/г). Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. 4-Аміно-2-хлорбензойну кислоту, що серійно випускається, приєднали за Методикою G20. Fmoc-L-фенілгліцин з'єднали з аніліном за Методикою G61. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Відповідну карбонову кислоту (R) приєднали за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S45

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі, що серійно випускається, Fmoc-L-аланін-Wang (0,5ммоль/г). Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. 4-Аміно-2-хлорбензойну кислоту, що серійно випускається, приєднали за Методикою G20. Fmoc-L-глутамін з'єднали з аніліном за Методикою G61. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Відповідну карбонову кислоту (R) приєднали за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S46

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі, що серійно випускається, Fmoc-L-аланін-Wang (0,5ммоль/г). Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. 4-Аміно-2-хлорбензойну кислоту, що серійно випускається, приєднали за Методикою G20. 3-хлорбензальдегід перетворили в Fmoc-3-хлорфенілгліцин за Методикою G62 і з'єднали з аніліном за Методикою G61. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Відповідну карбонову кислоту (R) приєднали за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S47

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі Fmoc-L-діамінопропіонової кислоти, що серійно випускається (алок)-Wang (0,5ммоль/г). Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку D, Методика G14, приєднали за Методикою G20. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Відповідну карбонову кислоту (R) приєднали за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S48

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі, що серійно випускається, Fmoc-L-лізін(Woc)-Wang (0,5ммоль/г). Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку D, Методика G14, приєднали за Методикою G20. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Відповідну карбонову кислоту (R) приєднали за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S49

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі, що серійно випускається, Fmoc-L-аланін-Wang (0,5ммоль/г). Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. 4-Аміно-2-хлорбензойну кислоту, що серійно випускається, приєднали за Методикою G20. 3-метоксибензальдегід перетворили в Fmoc-3-хлор-фенілгліцин за Методикою G62 і з'єднали з аніліном за Методикою G61. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Відповідну карбонову кислоту (R) приєднали за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S50

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі, що серійно випускається, Fmoc-L-аланін-Wang (0,5ммоль/г). Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. 4-Аміно-2-хлорбензойну кислоту, що серійно випускається, приєднали за Методикою G20. Fmoc-мета-тирозин з'єднали з аніліном за Методикою G61. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Відповідну карбонову кислоту (R) приєднали за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S51

3-гідроксианілін з'єднали з амінокислотою, що серійно випускається, Woc-d-серін за Методикою G3. Групу Woc видалили за Методикою G1 і цей амін з'єднали з Сполукою А, Методика G8. Трет-бутиловий ефір видалили за Методикою G11, і кислоту з'єднали з о-трет-бутиловим ефіром відповідної амінокислоти (R) за Методикою G3. Кінцевий трет-бутиловий ефір видалили за Методикою G11, і остаточну молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною масс-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S52

Групу Woc в з'єднанні F, Методика G75, видалили за Методикою G2 і фурилакрилову кислоту з'єднали з аміном після виділення вільної основи, Методика G2, за Методикою G3. Метильний ефір видалили за Методикою G55 і результуючу кислоту з'єднали за Методикою G20 з відповідною

Фмос-захищеною амінокислотою смолою Wang, що серійно випускається, з видаленням захистом (0,5ммоль/г) (R). Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S53

Метилловий ефір із Сполуки F, Методика G75, видалили за Методикою G55 і результуючу кислоту з'єднали за Методикою G20 з L-аспарагіна трет-бутиловим ефіром, що серійно випускається. Групу Вос видалили за Методикою G1 і відповідну карбонову кислоту (R) приєднали за Методикою G3. Після видалення кінцевого трет-бутилового ефіру за Методикою G11 молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною масс-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S54

Групу Вос в З'єднанні F, Методика G75, видалили за Методикою G2 і фурилакрилову кислоту з'єднали з аміном після виділення вільної основи, Методика G2, за Методикою G3. Метилловий ефір видалили за Методикою G55 і результуючу кислоту з'єднали за Методикою G20 з β-Вос-діамінопропіонової кислоти метиловим зфіром, що серійно випускається. Вос-групу видалили за Методикою G1 і відповідну карбонову кислоту (R) приєднали за Методикою G3. Після омилення за Методикою G4 молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною масс-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S55

Групу Вос в З'єднанні I, Методика G75, видалили за Методикою G1 і 3-гідроксибензойну кислоту з'єднали з аміном після виділення вільної основи, Методика G2, за Методикою G3. Метилловий ефір видалили за Методикою G55 і результуючу кислоту з'єднали за Методикою G20 з L-триптофана метиловим ефіром, що серійно випускається. Після омилення за Методикою G4 молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною масс-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S56

Групу Вос в З'єднанні H, Методика G75, видалили за Методикою G1 і 3-гідроксибензойну кислоту з'єднали з аміном після виділення вільної основи, Методика G2, за Методикою G3. Метилловий ефір видалили за Методикою G55 і результуючу кислоту з'єднали за Методикою G20 з метиловим ефіром амінокислоти, що серійно випускається (R). После омилення за Методикою G4 молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною масс-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S57

Групу Вос в З'єднанні H, Методика G75, видалили за Методикою G1 і фурилакрилову кислоту з'єднали з аміном після виділення вільної основи, Методика G2, за Методикою G3. Метилловий ефір видалили за Методикою G55 і результуючу кислоту з'єднали за Методикою G20 з відповідним метиловим ефіром амінокислоти, що серійно випускається (R). Групу Вос видалили за Методикою G1, якщо необхідно, і після омилення за Методикою G4 молекулу очистили обернено-фазовою HPLC,

перевірили електророзпилювальною масс-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S58

Групу Вос в З'єднанні H, Методика G75, видалили за Методикою G1 і 3-(2-тієніл)акрилову кислоту з'єднали з аміном після виділення вільної основи, Методика G2, за Методикою G3. Метилловий ефір видалили за Методикою G55 і результуючу кислоту з'єднали за Методикою G20 з відповідним метиловим ефіром амінокислоти, що серійно випускається (R). Групу Вос видалили за Методикою G1, якщо необхідно, і після омилення за Методикою G4 молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною масс-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S59

Групу Вос в З'єднанні H, Методика G75, видалили за Методикою G1 і фурилакрилову кислоту з'єднали з аміном після виділення вільної основи, Методика G2, за Методикою G3. Метилловий ефір видалили за Методикою G55 і результуючу кислоту з'єднали за Методикою G20 з відповідним метиловим ефіром β-Вос-діамінопропіонової кислоти, що серійно випускається. Групу Вос видалили за Методикою G1 і приєднали відповідну карбонову кислоту (R) за Методикою G3. Після омилення за Методикою G4 молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною масс-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S60

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Фмос, на смолі Фмос-L-лізин-(алок)-p-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Фмос-L-Lys(alloc)-)(Wang). Смолу отримали за Методикою G34 з використанням амінокислоти, що серійно випускається, N-α-Фмос-N-ε-алок-L-лізин. Групу Фмос відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Групу Alloc видалили за Методикою G35. Відповідний альдегід (R) приєднали за Методикою G23. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S61

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Фмос, на смолі Фмос-L-діамінопропіонової кислоти-(алок)-p-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Фмос-L-Dapa(alloc)-)(Wang). Смолу отримали за Методикою G34 з використанням N-α-Фмос-N-β-алок-L-діамінопропіонової кислоти, що серійно випускається. Групу Фмос відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Групу Alloc видалили за Методикою G35. Відповідний альдегід (R) приєднали за Методикою G23. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S62

Відповідний амін (R) приєднали до Сполуки A, Методика G8, за Методикою G3. Трет-бутиловий ефір видалили за Методикою G11. Результуючу кислоту приєднали за Методикою G3 до смоли, отриманої за Методикою G34 з використанням N-α-Фмос-N-β-алок-L-діамінопропіонової кислоти, що

серійно випускається, з якої групу Fmoc видалили за Методикою G19. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S63

Відповідний амін (R) приєднали до Сполуки А, Методика G8, за Методикою G3. Трет-бутиловий ефір видалили за Методикою G11. Результуючу кислоту приєднали за Методикою G3 до смоли, що серійно випускається, Fmoc-L-аспарагін(Trt)-Wang (0,5ммоль/г), з якої групу Fmoc видалили за Методикою G19. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S64

Групу Boc в З'єднанні F, Методика G75, видалили за Методикою G1 і фурилакрилову кислоту, Методика G81, з'єднали з аміном після виділення вільної основи, Методика G2, за Методикою G3. Метилловий ефір видалили за Методикою G55 і результуючу кислоту з'єднали за Методикою G20 з метиловим ефіром  $\beta$ -Boc-діамінопропіонової кислоти, що серійно випускається. Групу Boc видалили за Методикою G1 і приєднали тіофен-2-карбонову кислоту (R) за Методикою G3. Після омилення за Методикою G4 молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S65

Групу Boc в З'єднанні F, Методика G75, видалили за Методикою G1. 2-ацетилфуран перетворили в метилакрилової кислоти етиловий ефір за Методикою G82 і після омилення за Методикою G80 з'єднали з аміном після виділення вільної основи, Методика G2, за Методикою G3. Метилловий ефір видалили за Методикою G55 і результуючу кислоту з'єднали за Методикою G20 з метиловим ефіром  $\beta$ -Boc-діамінопропіонової кислоти, що серійно випускається. Групу Boc видалили за Методикою G1 і приєднали тіофен-2-карбонову кислоту (R) за Методикою G3. Після омилення за Методикою G4 молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S66

Групу Boc в З'єднанні F, Методика G75, видалили за Методикою G1. Після перетворення 2-ацетилфурана в етиловий ефір метилакрилової кислоти за Методикою G82, омилення за Методикою G80 і відновлення за Методикою G81 його з'єднали з аміном після виділення вільної основи, Методика G2, за Методикою G3. Метилловий ефір видалили за Методикою G55 і результуючу кислоту з'єднали за Методикою G20 з метиловим ефіром  $\beta$ -Boc-діамінопропіонової кислоти, що серійно випускається. Групу Boc видалили за Методикою G1 і приєднали тіофен-2-карбонову кислоту за Методикою G3. Після омилення за Методикою G4 молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S67

Групу Boc в З'єднанні F, Методика G75, видалили за Методикою G1. Фуриальдегід перетворили в етиловий ефір метилакрилової кислоти за Методикою G83 і після омилення за Методикою G80 з'єднали з аміном після виділення вільної ос-

нови, Методика G2, за Методикою G3. Метилловий ефір видалили за Методикою G55 і результуючу кислоту з'єднали за Методикою G20 з метиловим ефіром  $\beta$ -Boc-діамінопропіонової кислоти, що серійно випускається. Групу Boc видалили за Методикою G1 і приєднали тіофен-2-карбонову кислоту за Методикою G3. Після омилення за Методикою G4 молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S68

Групу Boc в З'єднанні F, Методика G75, видалили за Методикою G1. Після перетворення фуриальдегіда в етиловий ефір метилакрилової кислоти за Методикою G83, омилення за Методикою G80 і відновлення за Методикою G81 його з'єднали з аміном після виділення вільної основи, Методика G2, за Методикою G3. Метилловий ефір видалили за Методикою G55 і результуючу кислоту з'єднали за Методикою G20 з метиловим ефіром  $\beta$ -Boc-діамінопропіонової кислоти, що серійно випускається. Групу Boc видалили за Методикою G1 і приєднали тіофен-2-карбонову кислоту за Методикою G3. Після омилення за Методикою G4 молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S69

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на відповідній смолі, що серійно випускається, Fmoc-L-амінокислота-Wang (0,5ммоль/г) (R). Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. 2,6-Диметилтерефталеву кислоту, що серійно випускається, приєднали за Методикою G20. 3-гідроксибензиламін, Методика G38, приєднали за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21 і правильну стереохімію встановили за активністю.

#### Методика S70

Сполуки синтезували на смолі, отриманій за Методикою G34 з використанням N- $\alpha$ -Fmoc-N- $\beta$ -алок-L-діамінопропіонової кислоти. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. 2,6-Диметилтерефталеву кислоту, що серійно випускається, приєднали за Методикою G20. 3-гідроксибензиламін, Методика G38, приєднали за Методикою G20. Групу Alloc видалили за Методикою G35 і приєднали відповідну карбонову кислоту (R) за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21 і правильну стереохімію встановили за активністю.

#### Методика S71

Групу Boc в З'єднанні F, Методика G75, видалили за Методикою G1 і відповідну карбонову кислоту (R) з'єднали з аміном після виділення вільної основи, Методика G2, за Методикою G3. Метилловий ефір видалили за Методикою G55 і результуючу кислоту з'єднали за Методикою G20 з метиловим ефіром  $\beta$ -Boc-діамінопропіонової кислоти, що серійно випускається. Групу Boc видалили за Методикою G1 і приєднали тіофен-2-карбонову кислоту за Методикою G3. Після омилення за Методикою G4 молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

## Методика S72

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі, що серійно випускається, Fmoc-L-триптофан(Boc)-Wang (0,5ммоль/г). Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. 2-Бромтерефталеву кислоту, що серійно випускається, захистили групою Fmoc за Методикою G6 і результуючий продукт приєднали за Методикою G20. Відповідний амін (R) приєднали за Методикою G22. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

## Методика S73

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі, що серійно випускається, Fmoc-L-аланін-Wang (0,5ммоль/г). Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. 2-Бромтерефталеву кислоту, що серійно випускається, захистили групою Fmoc за Методикою G6 і результуючий продукт приєднали за Методикою G20. Відповідний амін (R) приєднали за Методикою G22. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

## Методика S74

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі Fmoc-L-діаїномасляної кислоти-(алок)-р-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Fmoc-L-Daba(alloc)-)(Wang). Смоли отримали за Методикою G34 з використанням N- $\alpha$ -Fmoc-N- $\gamma$ -алок-L-діаїномасляної кислоти, що серійно випускається. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19.

Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Групу Alloc видалили за Методикою G35. Відповідний сульфонілхлорид, що серійно випускається (R), приєднали за Методикою G42. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

## Методика S75

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі N- $\alpha$ -Fmoc-N- $\delta$ -алок-L-орнітин-р-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Fmoc-L-Orn(alloc)-Wang). Смоли отримали за Методикою G34 з використанням амінокислоти, що серійно випускається, N- $\alpha$ -Fmoc-N- $\delta$ -алок-L-орнітин. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Групу Alloc видалили за Методикою G35. Відповідний сульфонілхлорид, що серійно випускається (R), приєднали за Методикою G42. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

## Методика S76

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі Fmoc-L-лізін-(алок)-р-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Fmoc-L-Lys(alloc)-)(Wang). Смоли отримали за Методикою G34 з використанням амінокислоти, що серійно випускається, N- $\alpha$ -Fmoc-N- $\epsilon$ -алок-L-лізін. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Групу Alloc видалили за Методикою G35. Відповідний сульфонілхлорид, що серійно випускається (R), приєднали за Методикою G42. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

## Методика S77

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі Fmoc-L-діаїномасляної кислоти-(алок)-р-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Fmoc-L-Daba(alloc)-)(Wang). Смоли отримали за Методикою G34 з використанням N- $\alpha$ -Fmoc-N- $\delta$ -алок-L-діаїномасляної кислоти, що серійно випускається. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Групу Alloc видалили за Методикою G35. Відповідний хлорформат, що серійно випускається (R), приєднали за Методикою G43. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

## Методика S78

1екв. відповідного фенолу и 1,5екв. 2,6-лутидина розчинили (якщо необхідно, при помірному нагріванні) в DCM в круглодонній колбі. Після повного розчинення вихідної речовини суміш охолодили до -78°C в атмосфері азоту в сухій етанольно-льодяній бані. Після охолодження добавили 2,5екв. трифлінового ангідриду и залишили реакційну суміш повільно нагріватися до кімнатної температури при перемішуванні. Реакція контролюється за допомогою TLC и звичайно проводиться за 4 години. По закінченні реакційну суміш концентрували під вакуумом и розділили залишок між EtOAc и H<sub>2</sub>O. Органічний шар двічі промили 0,1N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, двічі -насиченим NaHCO<sub>3</sub>, один раз - розчином солі, висушили над сульфатом магнію и концентрували під вакуумом. Залишок очистили на силікагелі, використовуючи DCM у якості елюента.

## Методика S79

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі Fmoc-L-лізін-(алок)-р-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Fmoc-L-Lys(alloc)-)(Wang). Смоли отримали за Методикою G34 з використанням амінокислоти, що серійно випускається, N- $\alpha$ -Fmoc-N- $\epsilon$ -алок-L-лізін. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Групу Alloc видалили за Методикою G35. Відповідний хлорформат, що серійно випускається (R), приєднали за Методикою G43. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

## Методика S80

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі, що серійно випускається Fmoc-L-аспарагін(Trt)-Wang (0,5ммоль/г). Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. 2-Бромтерефталеву кислоту, що серійно випускається, захистили групою Fmoc за Методикою G6 і результуючий продукт приєднали за Методикою G20. Відповідний амін (R) приєднали за Методикою G22. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

## Методика S81

Сполуки синтезували на смолі, отриманій за Методикою G34 з використанням N- $\alpha$ -Fmoc-N- $\beta$ -алок-L-діаїнопропіонової кислоти, що серійно випускається. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. 2-Бромтерефталеву кислоту, що серійно випускається, захистили групою Fmoc за Методикою G6 і результуючий продукт приєднали за Ме-



тодією G20. Відповідний амін (R) приєднали за Методикою G22. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S82

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на відповідній смолі Fmoc-амінокислота- $\alpha$ -алкоксибензилового спирту, що серійно випускається (R) (смола Wang) (0,5ммоль/г). Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S83

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на відповідній смолі Fmoc-амінокислота- $\alpha$ -алкоксибензилового спирту, що серійно випускається (R) (смола Wang) (0,5ммоль/г). Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку B, Методика G12, приєднали за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S84

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі Fmoc-L-триптофан(Woc)-Wang (0,5ммоль/г). Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. 4-Аміно-2-хлорбензойну кислоту, що серійно випускається, приєднали за Методикою G20. Смола обробили надмірною кількістю 0,5M 4-нітрофенілхлорформата і 0,5M DIPEA протягом 45 хвилин. Після двократної промивки смоли THF/DCM додали надлишок відповідного аміна (R) в 0,5M DIPEA/DMF і залишили смола при барботуванні на 20 хвилин. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S85

Відповідну амінокислоту (R) перетворили в її метиловий ефір за Методикою G15. Після виділення вільної основи аміна за Методикою G2, з'єднали Сполуку C, Методика G13, з метиловим ефіром амінокислоти за Методикою G3. Після омилання за Методикою G4 молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S86

3-гідроксиацетофенон перетворили в оксим за Методикою G70 і потім гідрогенізували за Методикою G38 для отримання аміна. Цей амін з'єднали з Сполукою A, Методика G8, за Методикою G24. Після видалення трет-бутилового ефіру за Методикою G11, кислоту з'єднали з трет-бутиловим ефіром L-аспарагіна, що серійно випускається, за Методикою G24. Кінцевий трет-бутиловий ефір видалили за Методикою G11 і остаточну молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S87

3-гідроксиацетофенон перетворили в оксим за Методикою G70 і потім гідрогенізували за Методикою G38 для отримання аміна. Цей амін з'єднали з Сполукою A, Методика G8, за Методикою G24. Після видалення трет-бутилового ефіру за Методикою G11, кислоту з'єднали з метиловим ефіром L-триптофана, що серійно випускається, за Методикою G24.

дією G24. Кінцевий метиловий ефір видалили за Методикою G4 і остаточну молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S88

3-гідроксибензальдегід і етилмагнія бромід перетворили в кетон за Методикою G71. Кетон перетворили в оксим за Методикою G70 і потім гідрогенізували за Методикою G38 для отримання аміна. Цей амін з'єднали з Сполукою A, Методика G8, за Методикою G24. Після видалення трет-бутилового ефіру за Методикою G11, кислоту з'єднали з трет-бутиловим ефіром L-аспарагіна, що серійно випускається, за Методикою G24. Кінцевий трет-бутиловий ефір видалили за Методикою G11 і остаточну молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S89

3-гідроксибензальдегід і етилмагнія бромід перетворили в кетон за Методикою G71. Кетон перетворили в оксим за Методикою G70 і потім гідрогенізували за Методикою G38 для отримання аміна. Цей амін з'єднали з Сполукою A, Методика G8, за Методикою G24. Після видалення трет-бутилового ефіру за Методикою G11, кислоту з'єднали з метиловим ефіром L-триптофана, що серійно випускається, за Методикою G24. Кінцевий метиловий ефір видалили за Методикою G4 і остаточну молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S90

3-гідроксибензальдегід і N-пропилмагнія бромід перетворили в кетон за Методикою G71. Кетон перетворили в оксим за Методикою G70 і потім гідрогенізували за Методикою G38 для отримання аміна. Цей амін з'єднали з Сполукою A, Методика G8, за Методикою G24. Після видалення трет-бутилового ефіру за Методикою G11, кислоту з'єднали з трет-бутиловим ефіром L-аспарагіна, що серійно випускається, за Методикою G24. Кінцевий трет-бутиловий ефір видалили за Методикою G11 і остаточну молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S91

3-гідроксибензальдегід і N-пропилмагнія бромід перетворили в кетон за Методикою G71. Кетон перетворили в оксим за Методикою G70 і потім гідрогенізували за Методикою G38 для отримання аміна. Цей амін з'єднали з Сполукою A, Методика G8, за Методикою G24. Після видалення трет-бутилового ефіру за Методикою G11, кислоту з'єднали з метиловим ефіром L-триптофана, що серійно випускається, за Методикою G24. Кінцевий метиловий ефір видалили за Методикою G4 і остаточну молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S92

Відповідний сульфонамід синтезували за Методикою G93 з використанням аміаку в якості аміна (R) і цей продукт перетворили в метиловий ефір за Методикою G15. Сполуку C, Методика

G13, з'єднали з сульфонаміда метиловим ефіром за Методикою G3. Кінцевий метиловий ефір видалили за Методикою G4. Остаточну молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S93

Сполуки синтезували на смолі, що серійно випускається, Fmoc-L-аспарагін(Trt)-Wang (0,5ммоль/г). Групу Fmoc видалили за Методикою G19. Продукт Методики G65, за винятком того, що його не розщеплювали за Методикою G67, захистили групою Fmoc за Методикою G5 і видалили трет-бутиловий ефір за Методикою G11. Цей продукт з'єднали зі смолою за Методикою G20. Групу Fmoc видалили за Методикою G19 і приєднали відповідну карбонову кислоту (R) за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S94

Сполуки синтезували на смолі, що серійно випускається, Fmoc-L-аспарагін (Trt)-Wang (0,5ммоль/г). Групу Fmoc видалили за Методикою G19. S-ізомер за Методикою G65 захистили групою Fmoc за Методикою G5 і видалили трет-бутиловий ефір за Методикою G11. Цей продукт з'єднали зі смолою за Методикою G20. Групу Fmoc видалили за Методикою G19 і приєднали відповідну карбонову кислоту (R) за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S95

Сполуки синтезували на смолі, що серійно випускається Fmoc-L-аланін-Wang (0,5ммоль/г). Групу Fmoc видалили за Методикою G19. S-ізомер за Методикою G65 захистили групою Fmoc за Методикою G5 і видалили трет-бутиловий ефір за Методикою G11. Цей продукт з'єднали зі смолою за Методикою G20. Групу Fmoc видалили за Методикою G19 і приєднали відповідну карбонову кислоту (R) за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S96

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі, що серійно випускається, Fmoc-L-триптофан(Boc)-Wang (0,5ммоль/г). Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Відповідну дикислоту, що серійно випускається (R) приєднали за Методикою G20. 3-гідроксibenзиламін, Методика G38, приєднали за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21 і правильну стереохімію встановили за активністю.

#### Методика S97

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі, що серійно випускається Fmoc-L-аспарагін (Trt)-Wang (0,5ммоль/г). Групу Fmoc видалили за Методикою G19. Відповідну дикислоту, що серійно випускається (R), приєднали за Методикою G20. 3-гідроксibenзиламін, Методика G38, приєднали за Методикою G20. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21 і правильну стереохімію встановили за активністю.

#### Методика S98

Продукт Методики G86 приєднали за Методикою G20 до відповідної смоли, що серійно випус-

кається, Fmoc-L-амінокислота-Wang (R) після видалення групи Fmoc за Методикою G19. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21 і правильну стереохімію встановили за активністю.

#### Методика S99

3-гідроксимигдалеву кислоту перетворили в її відповідний спирт за Методикою G25 і з'єднали з метиловим ефіром 4-гідрокси-2-хлорбензойної кислоти, Методика G15, за Методикою G26. Метиловий ефір видалили за Методикою G4 і карбонову кислоту з'єднали з L-аспарагіна трет-бутиловим ефіром за Методикою G3. Кінцевий трет-бутиловий ефір видалили за Методикою G11 і молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S100

3-гідроксимигдалеву кислоту перетворили в її відповідний спирт за Методикою G25 і з'єднали з метиловим ефіром 4-гідрокси-2-хлорбензойної кислоти, Методика G15, за Методикою G26. Метиловий ефір видалили за Методикою G4 і карбонову кислоту з'єднали з L-аланіна трет-бутиловим ефіром за Методикою G3. Кінцевий трет-бутиловий ефір видалили за Методикою G11 і молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S101

Метиловий ефір 3-(3-гідроксифеніл)-пропіонової кислоти отримали за Методикою G15 і перетворили в альдегід за Методикою G29. Оксазолін 4-бром-2-хлорбензойної кислоти отримали за Методикою G30. Альдегід з'єднали з бромідом за Методикою G31, а оксазолін перетворили в етиловий ефір за Методикою G32. Після омилення за Методикою G4 молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S102

Метиловий ефір 3-(3-гідроксифеніл)-пропіонової кислоти отримали за Методикою G15 і перетворили в альдегід за Методикою G29. Оксазолін 4-бром-2-хлорбензойної кислоти отримали за Методикою G30. Альдегід з'єднали з бромідом за Методикою G31, а оксазолін перетворили в етиловий ефір за Методикою G32. Аліловий спирт оксидували в кетон за Методикою G27, а етиловий ефір омилили за Методикою G4. Карбонову кислоту з'єднали з L-аланіна метиловим ефіром за Методикою G3, і після омилення за Методикою G4 молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S103

Метиловий ефір 4-гідрокси-2-хлорбензойної кислоти отримали за Методикою G15. 1,2-диброметан з'єднали з фенолом за Методикою G51. Відповідний гідроксифенол (R) приєднали за Методикою G52 і видалили метиловий ефір за Методикою G4. L-аланіна o-трет-бутиловий ефір приєднали за Методикою G3. Трет-бутиловий ефір видалили за Методикою G11 і кінцеву сполуку очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили

рили електророзпилювальною мас-  
спектрометрією і ліофілізували в порошок.

### Методика S107

4-аміно-2,6-дихлорфенол захистили групою Вос за Методикою G44 і перетворили фенол в його відповідний трифлат за Методикою G45. Трифлат перетворили в карбонової кислоти метиловий ефір за Методикою G46. Вос-анілін перетворили в фенол за Методикою G47 і потім видалили метиловий ефір за Методикою G48. Результуючу карбонову кислоту перетворили в її аліловий ефір за Методикою G49 (Сполука G). 1,2-дибромпропан з'єднали з фенолом (Сполука G) за Методикою G51. 3-гідроксифенол приєднали за Методикою G52, а метиловий ефір видалили за Методикою G4. Аліловий ефір видалили за Методикою G50. Результуючу бензойну кислоту з'єднали з L-аланіна-о-трет-бутиловим ефіром, що серійно випускається, за Методикою G3. Трет-бутиловий ефір видалили за Методикою G11 без TES. Остаточну молекулу концентрували під вакуумом, очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

### Методика S108

4-аміно-2,6-дихлорфенол захистили групою Вос за Методикою G44 і перетворили фенол в його відповідний трифлат за Методикою G45. Трифлат перетворили в карбонової кислоти метиловий ефір за Методикою G46. Вос-анілін перетворили в йодид за Методикою G54 і потім видалили метиловий ефір за Методикою G55. Цю бензойну кислоту з'єднали з L-аспарагіна-о-трет-бутиловим ефіром за Методикою G3. 3-гідроксибензойну кислоту перетворили в гідроксамат за Методикою G56. Гідроксил захистили як трет-бутиловий простий ефір за Методикою G10, а гідроксамат перетворили в альдегід за Методикою G57. Альдегід з'єднали з етинілмагнія бромідом за Методикою G58, а результатуючий продукт з'єднали з вищеописаним ариліюодидом за Методикою GS9. Алкін відновили в алкан за Методикою G60. Трет-бутиловий складний ефір і простий ефір видалили за Методикою G11 без TES. Остаточну молекулу концентрували під вакуумом, очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальну мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

## Методика S109

4-аміно-2,6-дихлорфенол захистили групою Вос за Методикою G44 і перетворили фенол в його відповідний трифлат за Методикою G45. Трифлат перетворили в карбонової кислоти метиловий ефір за Методикою G46. Вос-анілін перетворили в йодид за Методикою G54 і потім видалили метиловий ефір за Методикою G55. Цю бензойну кислоту з'єднали з L-аспарагіна-о-трет-бутиловим ефіром за Методикою G3. 3-гідроксибензойну кислоту перетворили в гідроксамат за Методикою G56. Гідроксил захистили як трет-бутиловий ефір за Методикою G10, а гідроксамат перетворили в альдегід за Методикою G57. Альдегід з'єднали з етинілмагнія бромідом за Методикою G58, а результуючий продукт з'єднали з вищеописаним арилйодидом за Методикою G59. Алкін відновили в алкан за Методикою G60. Трет-

бутиловий складний ефір і простий ефір видалили за Методикою G11. Остаточну молекулу концентрували під вакуумом, очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S110

3,5-диметил-4-гідроксибензальдегід з'єднали з етинілмагнія бромідом за Методикою G58, і цей продукт з'єднали з 3-йоданізолом за Методикою G59. Алкінол гідрогенізували в алкан за Методикою G38, за винятком того, що продукт очищали флеш-хроматографією на силікагелі (3/6/1 гексан/DCM/Et<sub>2</sub>O) для отримання чистого арилового спирту. Спирт захистили силіловою групою за Методикою G18. Фенол перетворили у відповідний трифлат за Методикою G45. Трифлат перетворили в карбонової кислоти метиловий ефір за Методикою G46. Метиловий простий ефір і складний ефір видалили за Методикою G55. Кислоту з'єднали з L-аспарагіна-о-трет-бутиловим ефіром за Методикою G3. Трет-бутиловий ефір видалили за Методикою G11 без TES, а силіловий простий ефір видалили в ході тієї ж реакції шляхом додання 3 екв. TBAF. Остаточну молекулу концентрували під вакуумом, очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S111

4-аміно-2,6-дихлорфенол захистили групою Вос за Методикою G44 і перетворили фенол в його відповідний трифлат за Методикою G45. Трифлат перетворили в карбонової кислоти метиловий ефір за Методикою G46. Вос-анілін перетворили в йодид за Методикою G54 і потім видалили метиловий ефір за Методикою G55. Цю бензойну кислоту з'єднали з L-аспарагіна-о-трет-бутиловим ефіром за Методикою G3. 3'-гідроксиацетофенон перетворили в трет-бутиловий ефір за Методикою G10. Результуючий алкін з'єднали з арилйодидом за Методикою G59. Алкін гідрогенізували в алкан за Методикою G60. Відновне видалення бензилового спирту, а також відщеплення груп трет-бутилового простого ефіру і складного ефіру виконували за Методикою G11 (з використанням надлишкового TES). Неочищений продукт ізолювали шляхом концентрування під вакуумом, очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S112

2,6-дихлор-4-метилфенол перетворили в трифлат за Методикою G45. Цей трифлат карбонілували в метиловий ефір за Методикою G46, а потім перетворили в альдегід за Методикою G84. Альдегід обробили етинілмагнія бромідом за Методикою G58 і результуючий алкін з'єднали з 3-йодфенолом за Методикою G59. Алкін гідрогенізували в алкан за Методикою G60, а метиловий ефір відщепили за Методикою G55. Результуючу карбонову кислоту з'єднали з L-аспарагіна-о-трет-бутиловим ефіром за Методикою G3. Відщеплення трет-бутилової складноєфірної групи виконували за Методикою G11 (без TES). Неочищений продукт ізолювали шляхом концентрування під вакуумом, очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили

електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S113

2,6-дихлор-4-метилфенол перетворили в трифлат за Методикою G45. Цей трифлат карбонілували в метиловий ефір за Методикою G46, а потім перетворили в альдегід за Методикою G84. 3-йодфенол силілували за Методикою G18 з отриманням о-трет-бутилдиметилсиліл-3-йодфенола. Альдегід обробили етинілмагнія бромідом за Методикою G58 і результуючий алкін з'єднали з о-трет-бутилдиметилсиліл-3-йодфенолом за Методикою G59. Алкін гідрогенізували в алкан за Методикою G60. Результуючий спирт перетворили в метиловий ефір за Методикою G85, а метиловий ефір відщепили за Методикою G55. Результуючу карбонову кислоту з'єднали з L-аспарагіна о-трет-бутиловим ефіром за Методикою G3. Відщеплення трет-бутилової складноєфірної групи виконали за Методикою G11 без TES, а силіловий простий ефір видалили в ході тієї ж реакції шляхом додання 3 екв. TBAF. Неочищений продукт ізолювали шляхом концентрування під вакуумом, очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S114

2,6-дихлор-4-метилфенол перетворили в трифлат за Методикою G45. Цей трифлат карбонілували в метиловий ефір за Методикою G46, а потім перетворили в альдегід за Методикою G84. 3-йодфенол силілували за Методикою G18 з отриманням о-трет-бутилдиметилсиліл-3-йодфенола. Альдегід обробили етинілмагнія бромідом за Методикою G58 і результуючий алкін з'єднали з о-трет-бутилдиметилсиліл-3-йодфенолом за Методикою G59. Алкін гідрогенізували в алкан за Методикою G60, а метиловий ефір відщепили за Методикою G55. Результуючу карбонову кислоту з'єднали з N-β-alloc-L-α,β-діамінопропіонової кислоти метиловим ефіром за Методикою G3 (при доданні 1 екв. DIPEA). Силіловий простий ефір видалили за Методикою G11 без TES з доданням 3 екв. TBAF. Метиловий ефір омилили за Методикою G4. Неочищений продукт ізолювали шляхом концентрування під вакуумом, очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S115

2,6-дихлор-4-метилфенол перетворили в трифлат за Методикою G45. Цей трифлат карбонілували в метиловий ефір за Методикою G46, а потім перетворили в альдегід за Методикою G84. 3-йодфенол силілували за Методикою G18 з отриманням про-трет-бутилдиметилсиліл-3-йодфенола. Альдегід обробили етанілмагнія бромідом за Методикою G58 і результуючий алкін з'єднали з о-трет-бутилдиметилсиліл-3-йодфенолом за Методикою G59. Алкін гідрогенізували в алкан за Методикою G60, а метиловий ефір відщепили за Методикою G55. Результуючу карбонову кислоту з'єднали з N-ε-Boc-L-лізіна метиловим ефіром за Методикою G3 (при доданні 1 екв. DEPEA). Метиловий ефір омилили за Методикою G4, групу Вос видалили за Методикою G11 без

TES, а силіловий простий ефір видалили в ході тієї ж реакції шляхом додання Зекв. TBAF. Неочищений продукт ізолювали шляхом концентрування під вакуумом, очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S116

3-гідроксибензойну кислоту перетворили в N-метокси-N-метиламід за Методикою G56. Гідроксильну групу захистили як трет-бутиловий простий ефір за Методикою G10. N-метокси-N-метиламід відновили в альдегід за Методикою G57. Альдегід обробили етинілмагнія бромідом за Методикою G58. 4-аміно-2,6-дихлорфенол захистили групою Вос за Методикою G44 і перетворили фенол в його відповідний трифлат за Методикою G45. Трифлат перетворили в карбонової кислоти метиловий ефір за Методикою G46. Вос-анілін перетворили в йодид за Методикою G54. Результуючий арилйодид з'єднали з вищеописаним алкіном за Методикою G59. Алкін гідрогенізували в алкан за Методикою G60. Метиловий ефір відщепили за Методикою G55. Карбонову кислоту з'єднали з N-β-allo-L-α,β-діамінопропіонової кислоти метиловим ефіром за Методикою G3 (при доданні 1 екв. DIPEA). Метиловий ефір омилили за Методикою G4. Відщеплення трет-бутилової простої ефірної групи виконали за Методикою G11 (без TES). Неочищений продукт ізолювали шляхом концентрування під вакуумом, очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S117

3-гідроксибензойну кислоту перетворили в N-метокси-N-метиламід за Методикою G56. Гідроксильну групу захистили як трет-бутиловий простий ефір за Методикою G10. N-метокси-N-метиламід відновили в альдегід за Методикою G57. Альдегід обробили етинілмагнія бромідом за Методикою G58. 4-аміно-2,6-дихлорфенол захистили групою Вос за Методикою G44 і перетворили фенол в його відповідний трифлат за Методикою G45. Трифлат перетворили в карбонової кислоти метиловий ефір за Методикою G46. Вос-анілін перетворили в йодид за Методикою G54. Результуючий арилйодид з'єднали з вищеописаним алкіном за Методикою G59. Алкін гідрогенізували в алкан за Методикою G60. Результуючий спирт перетворили в метиловий простий ефір за Методикою G85, а метиловий ефір відщепили за Методикою G55. Результуючу карбонову кислоту з'єднали з L-аспарагіна о-трет-бутиловим ефіром за Методикою G3. Відщеплення трет-бутилової складноєфірної групи виконали за Методикою G11 (без TES), а силіловий простий ефір видалили в ході тієї ж реакції шляхом додання Зекв. TBAF. Неочищений продукт ізолювали шляхом концентрування під вакуумом, очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S118

4-аміно-2,6-дихлорфенол захистили групою Вос за Методикою G44 і перетворили фенол в його відповідний трифлат за Методикою G45. Трифлат перетворили в карбонової кислоти метиловий ефір за Методикою G46. Вос-анілін перет-

ворили в йодид за Методикою G54. 3-хлорбензальдегід обробили етинілмагнія бромідом за Методикою G58, і результуючий алкін з'єднали з вищеописаним арилйодидом за Методикою G59. Алкін гідрогенізували в алкан за Методикою G60. Метиловий ефір відщепили за Методикою G55. Карбонову кислоту з'єднали з N-β-алок-L-α,β-діамінопропіонової кислоти метиловим ефіром за Методикою G3 (при доданні 1 екв. DIPEA). Метиловий ефір омилили за Методикою G4. Неочищений продукт ізолювали шляхом концентрування під вакуумом, очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S119

4-аміно-2,6-дихлорфенол захистили групою Вос за Методикою G44 і перетворили фенол в його відповідний трифлат за Методикою G45. Трифлат перетворили в карбонової кислоти метиловий ефір за Методикою G46. Вос-анілін перетворили в йодид за Методикою G54. 3-хлорбензальдегід обробили етинілмагнія бромідом за Методикою G58, і результуючий алкін з'єднали з вищеописаним арилйодидом за Методикою G59. Алкін гідрогенізували в алкан за Методикою G60, і результуючу кислоту з'єднали за Методикою G20 з β-Вос-діамінопропіонової кислоти метиловим ефіром, що серійно випускається. Групу Вос видалили за Методикою G1 і приєднали тіофен-2-карбонову кислоту за Методикою G3. Після омилання за Методикою G4 молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S120

3-гідроксибензойну кислоту перетворили в M-метокси-K-метиламід за Методикою G56. Гідроксильну групу захистили як трет-бутиловий простий ефір за Методикою G10. M-метокси-I4-метиламід відновили в альдегід за Методикою G57. Альдегід обробили етинілмагнія бромідом за Методикою G58. 4-аміно-2,6-дихлорфенол захистили групою Вос за Методикою G44 і перетворили фенол в його відповідний трифлат за Методикою G45. Трифлат перетворили в карбонової кислоти метиловий ефір за Методикою G46. Вос-анілін перетворили в йодид за Методикою G54. Результуючий арилйодид з'єднали з вищеописаним алкіном за Методикою G59. Алкін гідрогенізували в алкан за Методикою G60. Метиловий ефір відщепили за Методикою G55, а результуючу кислоту з'єднали за Методикою G20 з β-Вос-діамінопропіонової кислоти метиловим ефіром, що серійно випускається. Групу Вос видалили за Методикою G1 і приєднали тіофен-2-карбонову кислоту за Методикою G3. Після омилання за Методикою G4 молекулу очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S121

4-аміно-2,6-дихлорфенол захистили групою Вос за Методикою G44 і перетворили фенол в його відповідний трифлат за Методикою G45. Трифлат перетворили в карбонової кислоти метиловий ефір за Методикою G46. Вос-анілін перетворили в йодид за Методикою G54. 3-

хлорбензальдегід обробили етинілмагнія бромідом за Методикою G58, і результуючий алкін з'єднали з вищеписаним арилідодидом за Методикою G59. Алкін гідрогенізували в алкан за Методикою G60. Метилловий складний ефір видалили за Методикою G55, а результуючу кислоту з'єднали за Методикою G20 з N-ε-Вос-L-лізіна метиловим ефіром, що серійно випускається, за Методикою G3 (при доданні 1екв. DIPEA). Метилловий ефір омилили за Методикою G4, групу Вос видалили за Методикою G11 (без TES), а силіловий простий ефір видалили в ході тієї ж реакції шляхом додання Зекв. TBAF. Неочищений продукт ізолювали шляхом концентрування під вакуумом, очистили обернено-фазовою HPLC, перевірили електророзпилювальною мас-спектрометрією і ліофілізували в порошок.

#### Методика S122

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі, що серійно випускається, Fmoc-гліцин-Wang (0,5ммоль/г). Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. α-вуглець α-гліцина алкілували відповідним бромідом або хлоридом, що серійно випускається, за Методикою G36, отримавши відповідну рацемічну амінокислоту. Сполуку E з'єднали зі смолою за Методикою G37, і остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S123

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі Fmoc-L-аспарагінової кислоти(аліл)-р-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г). Смоли отримували за Методикою G34 з використанням N-α-Fmoc-β-аліл-L-аспарагінової кислоти, що серійно випускається. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку E з'єднали зі смолою за Методикою G37. Алільну групу видалили за Методикою G39. Відповідний анілін (R) приєднали за Методикою G40. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S124

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі Fmoc-L-аспарагінової кислоти(аліл)-р-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Fmoc-L-asp(alloc)-(Wang)). Смоли отримували за Методикою G34 з використанням N-α-Fmoc-β-аліл-L-аспарагінової кислоти, що серійно випускається. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Алільну групу видалили за Методикою G39. Відповідний амін (R) приєднали за Методикою G41. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S125

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі Fmoc-L-глутамінової кислоти(аліл)-р-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Fmoc-L-glu(alloc)-(Wang)). Смоли отримували за Методикою G34 з використанням N-α-Fmoc-β-аліл-L-глутамінової кислоти, що серійно випускається. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Алільну групу видалили за Методикою G39.

Відповідний амін (R) приєднали за Методикою G41. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

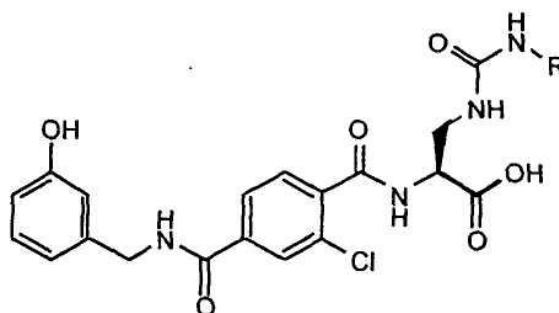
#### Методика S126

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі N-α-Fmoc-O-третил-L-серин-р-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Fmoc-L-Ser(trityl)-Wang). Смоли отримували за Методикою G34 з використанням амінокислоти, що серійно випускається, N-α-Fmoc-O-третил-L-серина. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Тритильну групу видалили за Методикою G72. Відповідний амін (R) приєднали за Методикою G73. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Методика S127

Сполуки синтезували за допомогою стандартних твердофазних методик з використанням Fmoc, на смолі N-α-Fmoc-O-третил-L-треонін-р-алкоксибензилового спирту (0,5ммоль/г) (смола Fmoc-L-thr(trityl)-Wang). Смоли отримували за Методикою G34 з використанням амінокислоти, що серійно випускається, N-α-Fmoc-O-третил-L-треоніна. Групу Fmoc відщепили за Методикою G19. Сполуку C, Методика G13, приєднали за Методикою G20. Тритильну групу видалили за Методикою G72. Відповідний амін (R) приєднали за Методикою G73. Остаточну молекулу обробили за Методикою G21.

#### Приклади 1-39



Приклади 1-39 синтезували за Методикою S1.

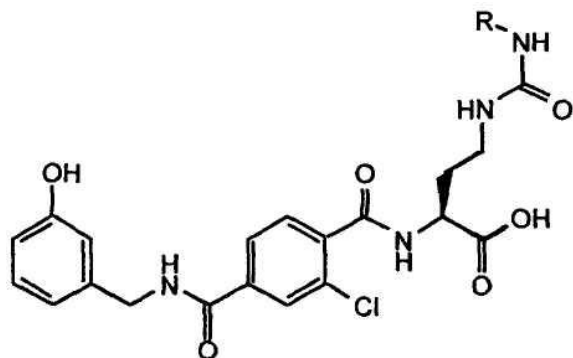
Приклад №	Група R
1	2-ізопропілфенілізоціанат
2	фенетилізоціанат
3	1-нафтиллізоціанат
4	(S)-(-)-α-метилбензилізоціанат
5	циклогексилізоціанат
6	етоксикарбонілізоціанат
7	ізопропілізоціанат
8	транс-2-фенілциклопропілізоціанат
9	1-адамантилізоціанат
10	фенілізоціанат
11	4-(метилтіо)фенілізоціанат
12	3-(метилтіо)фенілізоціанат
13	3-етоксикарбонілфенілізоціанат
14	4-етоксикарбонілфенілізоціанат
15	4-фторфенілізоціанат
16	2-фторфенілізоціанат
17	2-(трифторметоксифенілізоціанат
18	3-фторфенілізоціанат
19	3-бромфенілізоціанат

## 125

- 20 4-метоксифенілізоціанат
- 21 4-ізопропилфенілізоціанат
- 22 3-(2-гідрокси)етилфенілізоціанат
- 23 4-етилфенілізоціанат
- 24 2-нітрофенілізоціанат
- 25 3-нітрофенілізоціанат
- 26 4-нітрофенілізоціанат
- 27 3-ціанофенілізоціанат
- 28 4-трифторметилізоціанат
- 29 3-трифторметилізоціанат
- 30 2-трифторметилізоціанат
- 31 3-метилфенілізоціанат
- 32 4-хлорфенілізоціанат
- 33 3-хлорфенілізоціанат
- 34 3-хлор-4-метилфенілізоціанат
- 35 3-етилфеніл ізоціанат
- 36 алілізоціанат
- 37 (S)-(-)-α-метилбензилізоціанат
- 38 циклогексилізоціанат
- 39 транс-2-фенілциклопропилізоціанат

Приклади 40-43

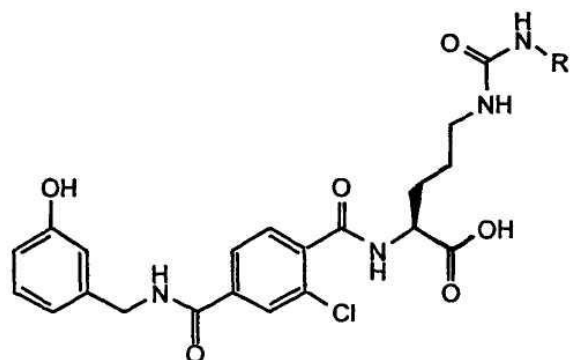
Приклади 40-43 синтезували за Методикою S2.



Приклад №	Група R
40	бензил ізоціанат
41	етоксикарбонілізоціанат
42	2-хлор-6-метилфенілізоціанат
43	етоксикарбонілізоціанат

Приклади 44-62

Приклади 44-62 синтезували за Методикою S3.



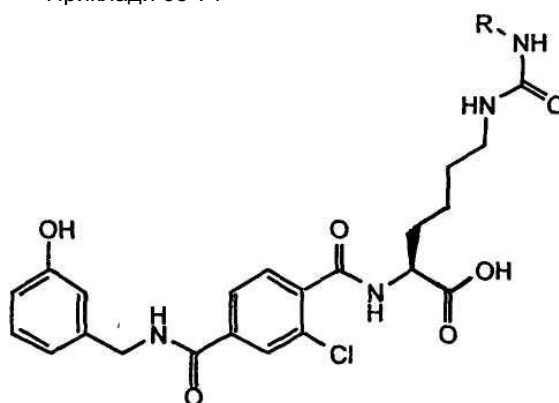
Приклад №	Група R
44	фенетилізоціанат
45	ізопропилізоціанат
46	циклогексилізоціанат

## 74531

## 126

- 47 3-етоксикарбонілфенілізоціанат
- 48 4-етоксикарбонілфенілізоціанат
- 49 4-фторфенілізоціанат
- 50 2-фторфенілізоціанат
- 51 3-фторфенілізоціанат
- 52 4-метоксифенілізоціанат
- 53 4-ізопропилфенілізоціанат
- 54 3-(2-гідроксиетил)фенілізоціанат
- 55 2-нітрофенілізоціанат
- 56 4-нітрофенілізоціанат
- 57 3-ціанофенілізоціанат
- 58 3-метилфенілізоціанат
- 59 4-хлорфенілізоціанат
- 60 3-хлор-4-метилфенілізоціанат
- 61 2-хлор-6-метилфенілізоціанат
- 62 4-етилфенілізоціанат

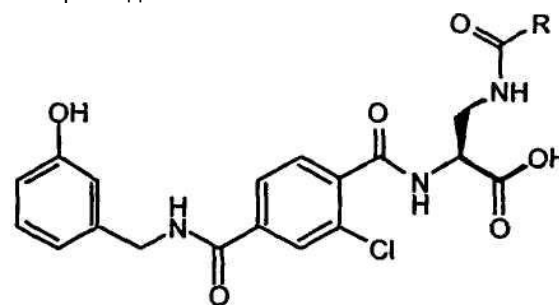
Приклади 63-71



Приклади 63-71 синтезували за Методикою S4.

Приклад №	група R
63	фенетилізоціанат
64	ізопропилізоціанат
65	бензилізоціанат
66	пропилізоціанат
67	етоксикарбонілізоціанат
68	етил-2-ізоціанат-4-метилвалерат
69	(S)-(-)-α-метилбензилізоціанат
70	бензилсульфонілізоціанат
71	бензилізоціанат

Приклади 72-95

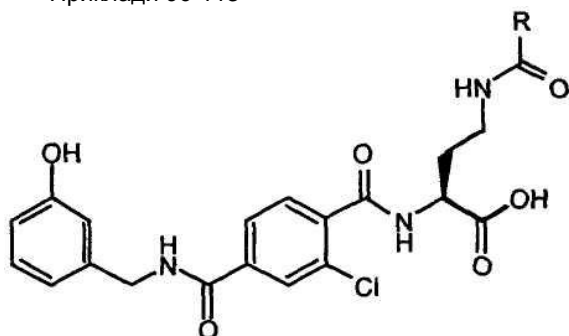


Приклади 72-95 синтезували за Методикою S5.

Приклад №	Група R
72	3-метилінден-2-карбонова кислота

	127
73	3-метилбензофуран-2-карбонова кислота
74	4-оксо-4,5,6,7-тетрагідробензофуран-3-карбонова кислота
75	1,2,5-триметил-1Н-пірол-3-карбонова кислота
76	4-метил-[1,2,3]тіадіазол-5-карбонова кислота
77	4-феніл-[1,2,3]тіадіазол-5-карбонова кислота
78	3-хлор-2-тіофенкарбонова кислота
79	3,5-диметил-ізоксазол-4-карбонова кислота
80	3-метил-2-фуранкарбонова кислота
81	3-бромтіофен-2-карбонова кислота
82	2-фуранкарбонова кислота
83	3-фуранкарбонова кислота
84	2-тіофенкарбонова кислота
85	3-тіофенкарбонова кислота
86	5-хлор-2-тіофенкарбонова кислота
87	5-бром-2-тіофенкарбонова кислота
88	індол-5-карбонова кислота
89	індол-4-карбонова кислота
90	індол-6-карбонова кислота
91	бензойна кислота
92	циклогексилкарбонова кислота
93	оцтова кислота
94	ізоніпекотинова кислота
95	піпеколінова кислота

Приклади 96-113



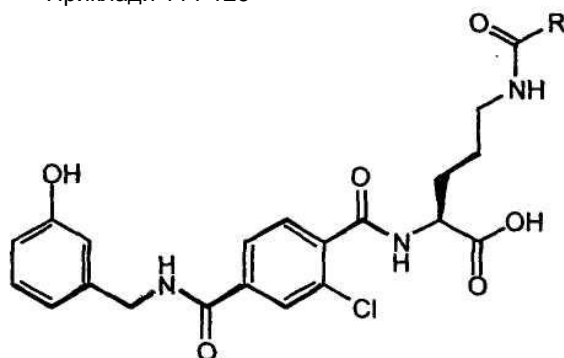
Приклади 96-113 синтезували за Методикою S6.

Приклад №	Група R
96	3,4,5-триметоксибензойна кислота
97	пропіонова кислота
98	циклопропилкарбонова кислота
99	триметилоцтова кислота
100	1,2,5-триметил-1Н-пірол-3-карбонова кислота
101	3-хлор-4-метансульфоніл-тіофен-2-карбонова кислота
102	4-метил-[1,2,3]тіадіазол-5-карбонова кислота
103	4-феніл-[1,2,3]тіадіазол-5-карбонова кислота
104	4-бром-2-етил-5-метил-2Н-піразол-3-карбонова кислота
105	3-хлортіофен-2-карбонова кислота
106	3,5-диметил-ізоксазол-4-карбонова кислота
107	5-метил-2-феніл-2Н-[1,2,3]тріазол-4-

74531

	128
108	карбонова кислота
109	3-метил-2-фуранкарбонова кислота
110	3-бромтіофен-2-карбонова кислота
111	бензойна кислота
112	циклогексилкарбонова кислота
113	оцтова кислота
	нет

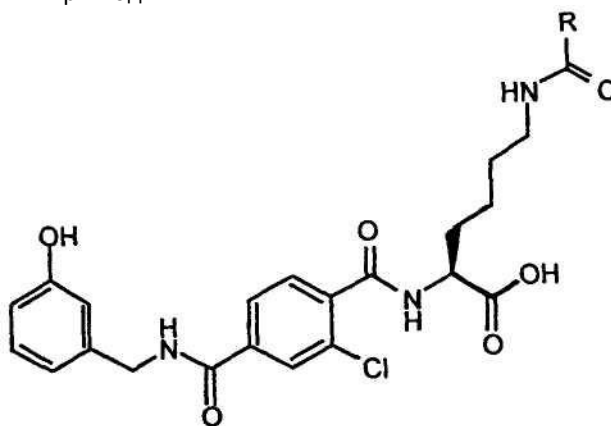
Приклади 114-126



Приклади 114-126 синтезували за Методикою S7.

Приклад №	Група R
114	триметилоцтова кислота
115	3-хлор-бензо[b]тіофен-2-карбонова кислота
116	3-хлортіофен-2-карбонова кислота
117	3,5-диметил-ізоксазол-4-карбонова кислота
118	3-бромтіофен-2-карбонова кислота
119	3-метилінден-2-карбонова кислота
120	4-оксо-4,5,6,7-тетрагідробензофуран-3-карбонова кислота
121	3-хлор-4-метансульфоніл-тіофен-2-карбонова кислота
122	4-метил-[1,2,3]тіадіазол-5-карбонова кислота
123	4-бром-2-етил-5-метил-2Н-піразол-3-карбонова кислота
124	бензойна кислота
125	циклогексанкарбонова кислота
126	оцтова кислота

Приклади 127-144

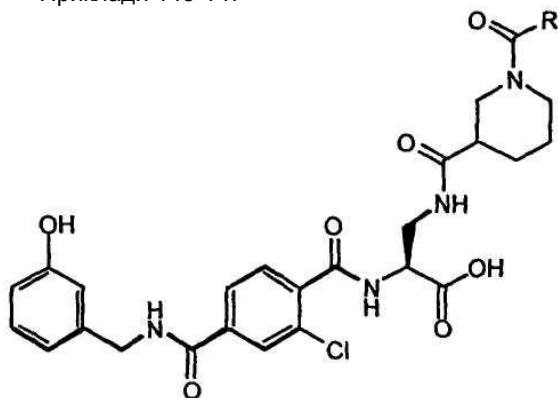




Приклади 127-144 синтезували за Методикою S8.

Приклад №	Група R
127	3,4,5-триметоксибензойна кислота
128	ізовалеріанова кислота
129	пропіонова кислота
130	циклопропилкарбонова кислота
131	4-ацетил-3,5-диметил-2-піролкарбонова кислота
132	3-метилінден-2-карбонова кислота
133	4-оксо-4,5,6,7-тетрагідробензофуран-3-карбонова кислота
134	1,2,5-триметил-1Н-пірол-3-карбонова кислота
135	3-хлор-4-метансульфоніл-тіофен-2-карбонова кислота
136	4-метил-[1,2,3]тіадіазол-5-карбонова кислота
137	4-феніл-[1,2,3]тіадіазол-5-карбонова кислота
138	4-бром-2-етил-5-метил-2Н-піразол-3-карбонова кислота
139	3-хлортіофен-2-карбонова кислота
140	3,5-диметил-ізоксазол-4-карбонова кислота
141	5-метил-2-феніл-2Н-[1,2,3]триазол-4-карбонова кислота
142	3-бромтіофен-2-карбонова кислота
143	бензойна кислота
144	циклогексилкарбонова кислота

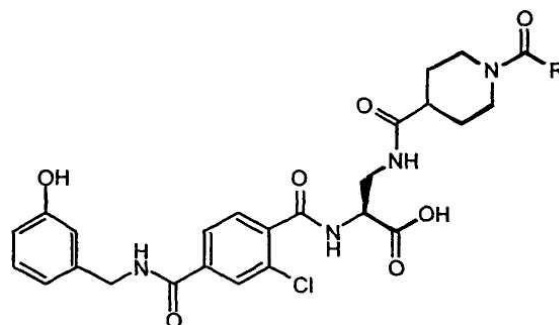
Приклади 145-147



Приклади 145-147 синтезували за Методикою S9.

Приклад №	Група R
145	пропіонова кислота
146	оцтова кислота
147	нет

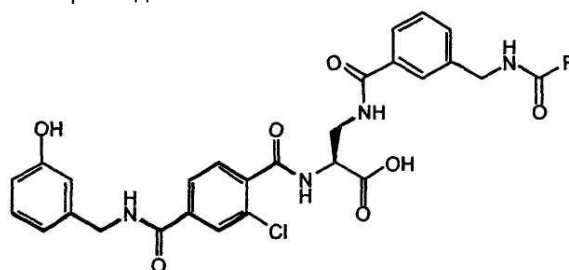
Приклади 148-150



Приклади 148-150 синтезували за Методикою S10

Приклад №	Група R
148	пропіонова кислота
149	масляна кислота
150	оцтова кислота

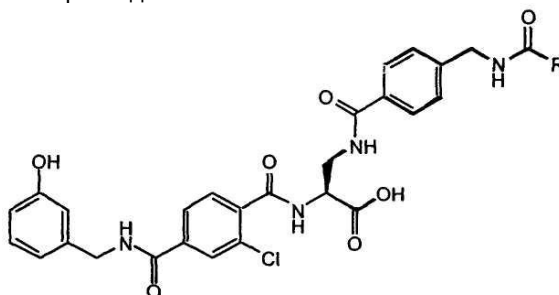
Приклади 151-154



Приклади 151-154 синтезували за Методикою S11.

Приклад №	Група R
151	пропіонова кислота
152	масляна кислота
153	оцтова кислота
154	нет

Приклади 155-158



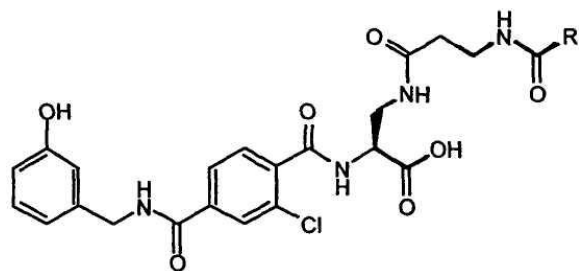
Приклади 155-158 синтезували за Методикою S12.

Приклад №	Група R
155	пропіонова кислота
156	масляна кислота
157	оцтова кислота
158	нет

Приклади 159-161

131

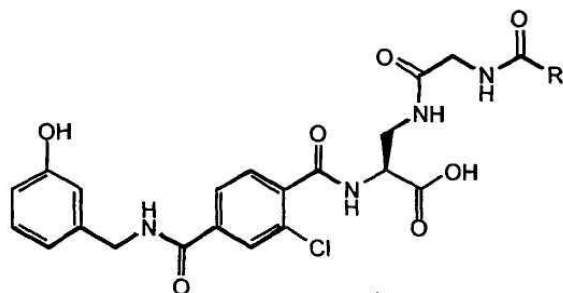
74531



Приклади 159-161 синтезували за Методикою S13.

Приклад №	Група R
159	пропіонова кислота
160	оцтова кислота
161	нет

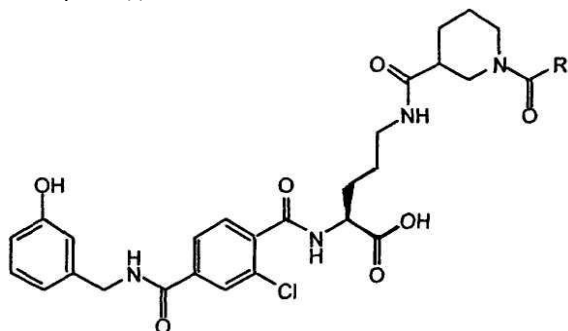
Приклади 162-163



Приклади 162-163 синтезували за Методикою S14.

Приклад №	Група R
162	оцтова кислота
163	нет

Приклади 164-167

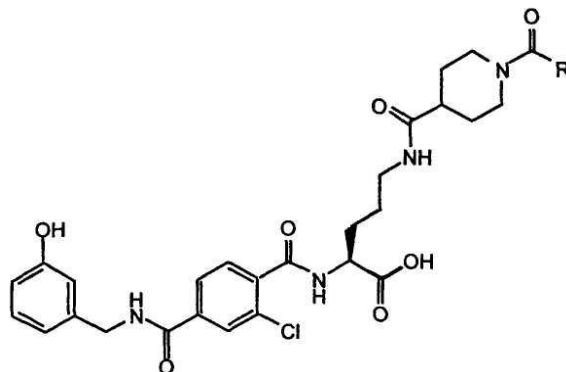


Приклади 164-167 синтезували за Методикою S15.

Приклад №	Група R
164	пропіонова кислота
165	масляна кислота
166	оцтова кислота
167	нет

Приклади 168-171

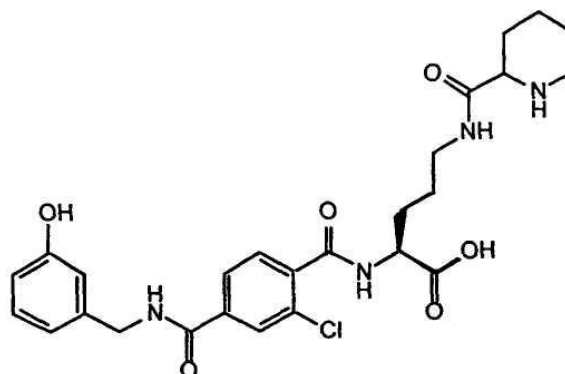
132



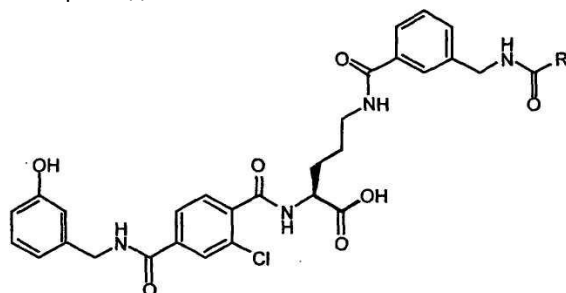
Приклади 168-171 синтезували за Методикою S16.

Приклад №	Група R
168	пропіонова кислота
169	масляна кислота
170	оцтова кислота
171	нет

Приклад 172



Приклад 172 синтезували за Методикою S17.  
Приклади 173-176



Приклади 173-176 синтезували за Методикою S18.

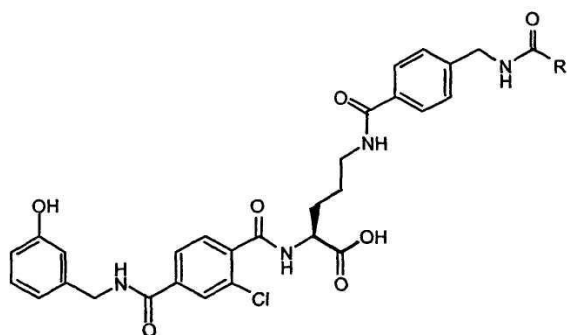
Приклад №	Група R
173	пропіонова кислота
174	масляна кислота
175	оцтова кислота
176	нет

Приклади 177-180

133

74531

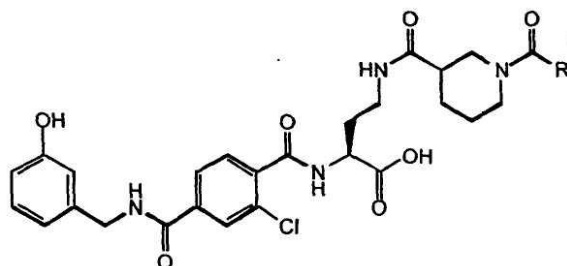
134



188

нет

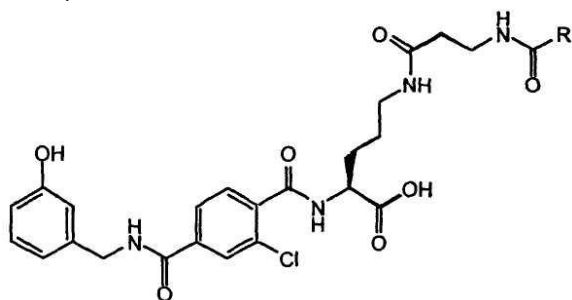
Приклади 189-192



Приклади 177-180 синтезували за Методикою S19.

Приклад №	Група R
177	пропіонова кислота
178	масляна кислота
179	оцтова кислота
180	нет

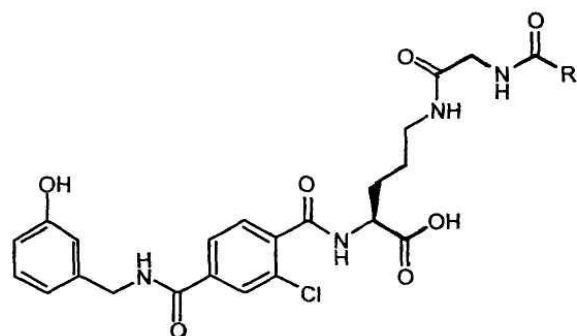
Приклади 181-184



Приклади 181-184 синтезували за Методикою S20.

Приклад №	Група R
181	пропіонова кислота
182	масляна кислота
183	оцтова кислота
184	нет

Приклади 185-188

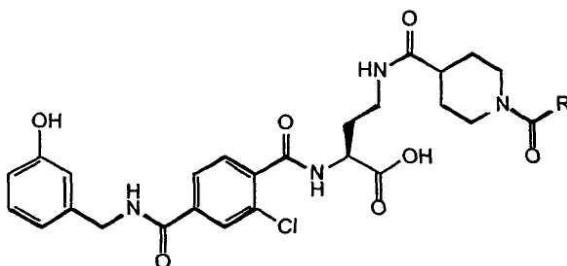


Приклади 185-188 синтезували за Методикою S21.

Приклад №	Група R
185	пропіонова кислота
186	масляна кислота
187	оцтова кислота

Приклад №	Група R
189	пропіонова кислота
190	масляна кислота
191	оцтова кислота
192	нет

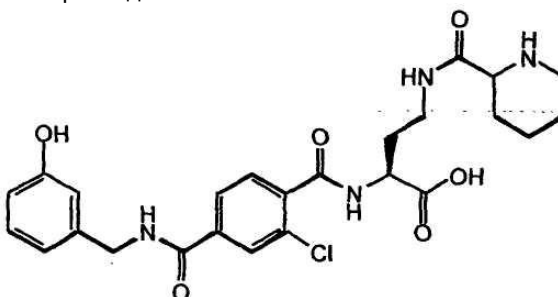
Приклади 193-196



Приклади 193-196 синтезували за Методикою S23.

Приклад №	Група R
193	пропіонова кислота
194	масляна кислота
195	оцтова кислота
196	нет

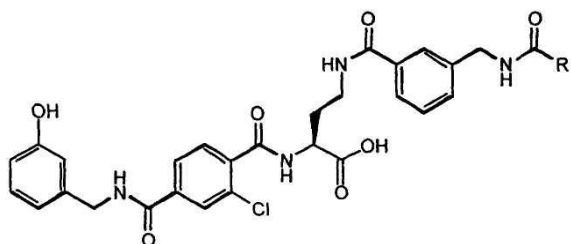
Приклад 197



Приклад 197 синтезували за Методикою S24.  
Приклади 198-201

135

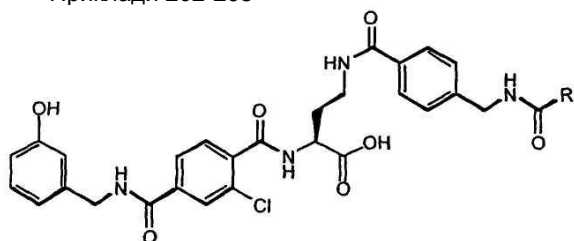
74531



Приклади 198-201 синтезували за Методикою S25.

Приклад №	Група R
198	пропіонова кислота
199	масляна кислота
200	оцтова кислота
201	нет

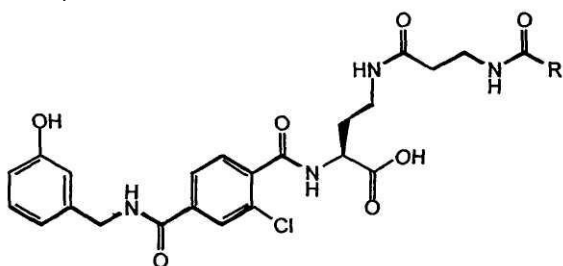
Приклади 202-205



Приклади 202-205 синтезували за Методикою S26.

Приклад №	Група R
202	пропіонова кислота
203	масляна кислота
204	оцтова кислота
205	нет

Приклади 206-209

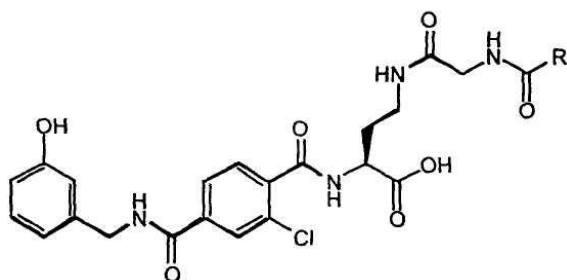


Приклади 206-209 синтезували за Методикою S27.

Приклад №	Група R
206	пропіонова кислота
207	масляна кислота
208	оцтова кислота
209	нет

Приклади 210-213

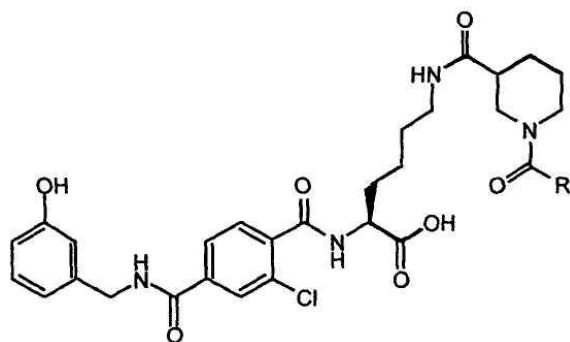
136



Приклади 210-213 синтезували за Методикою S28.

Приклад №	Група R
210	пропіонова кислота
211	масляна кислота
212	оцтова кислота
213	нет

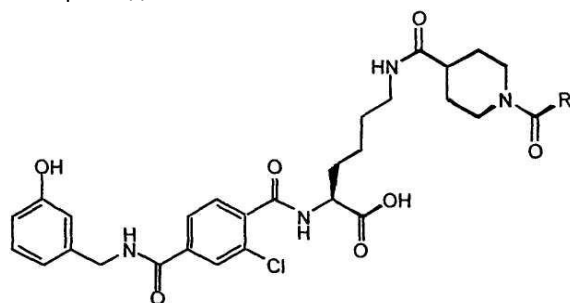
Приклади 214-217



Приклади 214-217 синтезували за Методикою S29.

Приклад №	Група R
214	пропіонова кислота
215	масляна кислота
216	оцтова кислота
217	нет

Приклади 218-221

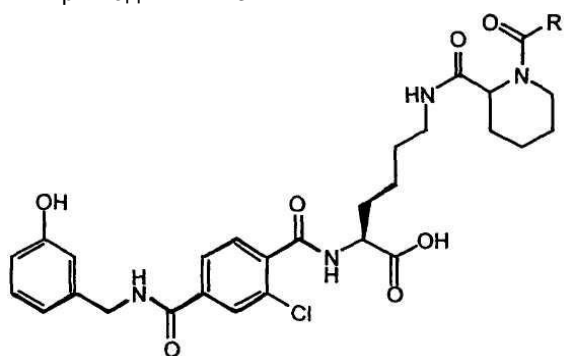


Приклади 218-221 синтезували за Методикою S30.

Приклад №	Група R
218	пропіонова кислота
219	масляна кислота
220	оцтова кислота
221	нет

137

Приклади 222-223

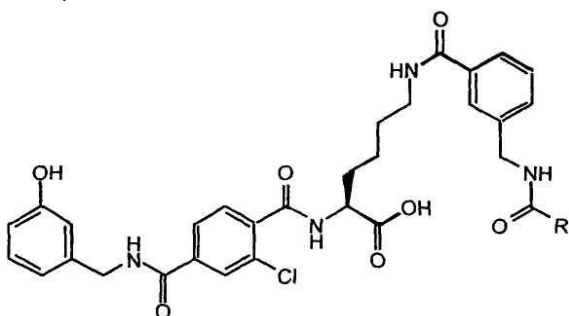


Приклади 222-223 синтезували за Методикою S31.

Приклад №  
222  
223

Група R  
оцтова кислота  
нет

Приклади 224-225

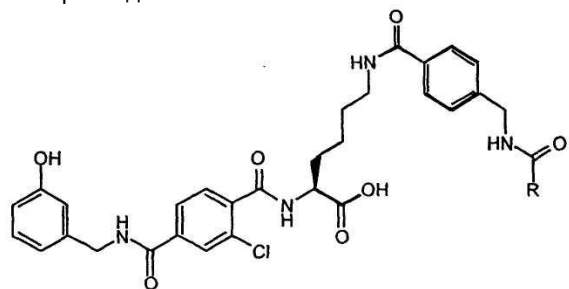


Приклади 224-225 синтезували за Методикою S32.

Приклад №  
224  
225

Група R  
пропіонова кислота  
нет

Приклади 226-227



Приклади 226-227 синтезували за Методикою S33.

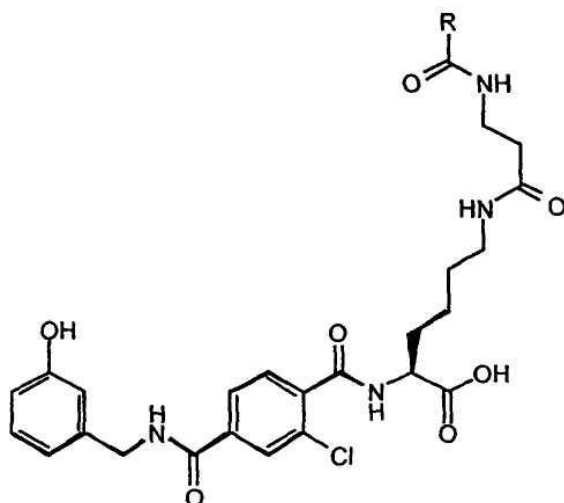
Приклад №  
226  
227

Група R  
оцтова кислота  
нет

Приклади 228-229

74531

138

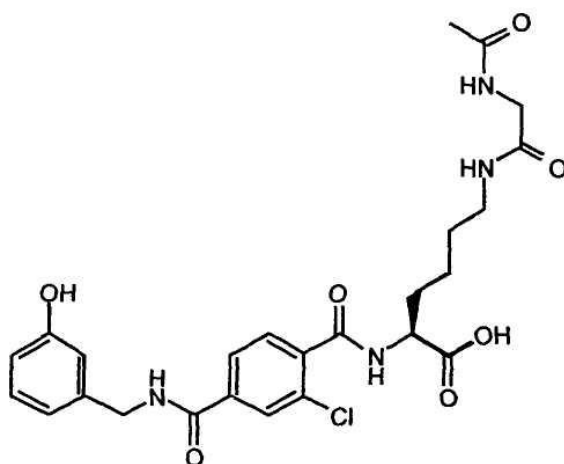


Приклади 228-229 синтезували за Методикою S34.

Приклад №  
228  
229

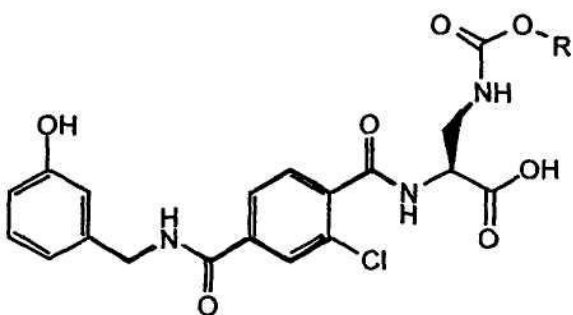
Група R  
оцтова кислота  
нет

Приклад 230



Приклад 230 синтезували за Методикою S35.

Приклади 231-237



Приклади 231-237 синтезували за Методикою S36.

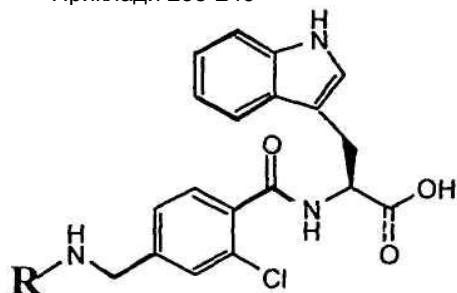
Приклад №  
231

Група R  
пропилхлорформат

## 139

- 232 бензилхлорформат  
 233 ізопропилхлорформат  
 234 метилхлорформат  
 235 етилхлорформат  
 236 бутилхлорформат  
 237 3-бутенілхлорформат

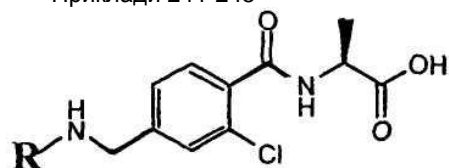
Приклади 238-240



Приклади 238-240 синтезували за Методикою S37.

Приклад №	Група R
238	3-гідроксибензойна кислота
239	2-гідроксикорична кислота
240	3-гідроксибензойна кислота

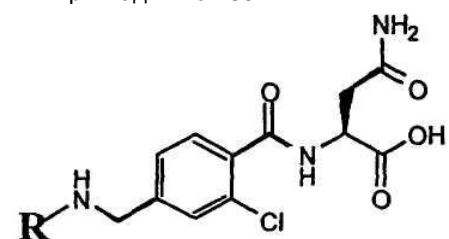
Приклади 241-245



Приклади 241-245 синтезували за Методикою S38.

Приклад №	Група R
241	3-гідроксибензойна кислота
242	2-гідроксикорична кислота
243	3-хлорбензойна кислота
244	індол-5-карбонова кислота
245	3-(2-тієніл)акрилова кислота

Приклади 246-253



Приклади 246-253 синтезували за Методикою S39.

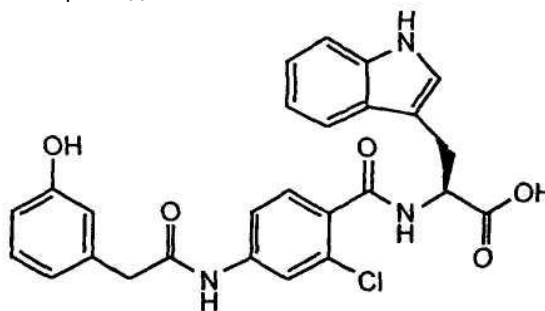
Приклад №	Група R
246	3-хлорбензойна кислота
247	3-(2-тієніл)акрилова кислота
248	2-фуранакрилова кислота
249	3-гідроксибензойна кислота
250	індол-5-карбонова кислота

## 74531

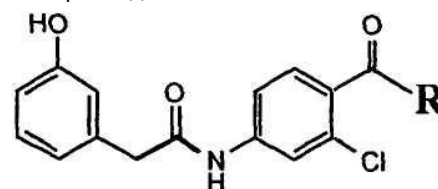
## 140

- 251 бензофуран-5-карбонова кислота  
 252 бензофуран-4-карбонова кислота  
 253 індол-6-карбонова кислота

Приклад 254



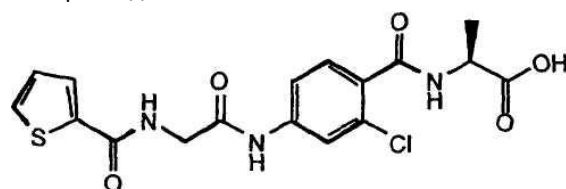
Приклад 254 синтезували за Методикою S40.  
 Приклади 255-256



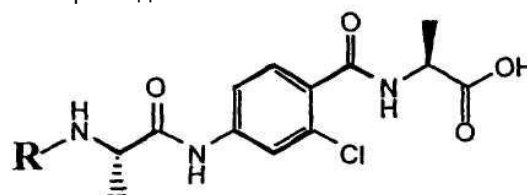
Приклади 255-256 синтезували за Методикою S41.

Приклад №	Група R
255	L-Ala
256	L-Thr

Приклад 257



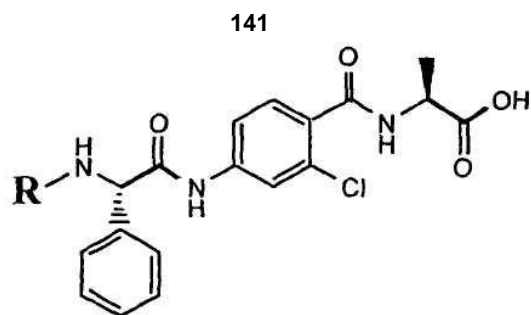
Приклад 257 синтезували за Методикою S42.  
 Приклади 258-259



Приклади 258-259 синтезували за Методикою S43.

Приклад №	Група R
258	2-тієнкарбонова кислота
259	3-гідроксибензойна кислота

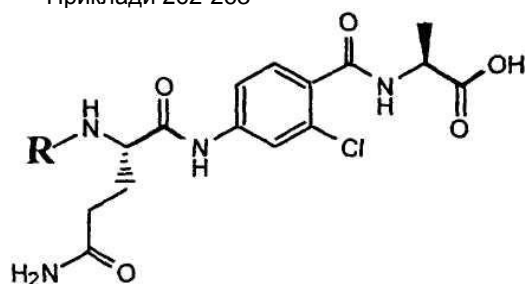
Приклади 260-261



Приклади 260-261 синтезували за Методикою S44.

Приклад №	Група R
260	3-гідроксибензойна кислота
261	2-тіофенкарбонова кислота

Приклади 262-263

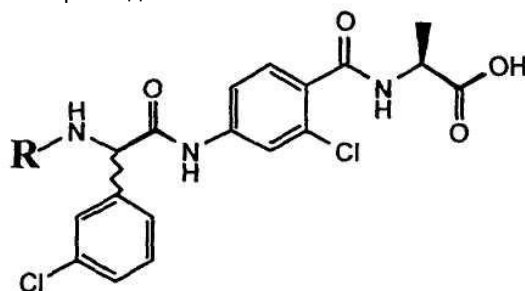


Приклади 262-263 синтезували за Методикою S45.

Приклад № група R

262	бензойна кислота
263	2-тіофенкарбонова кислота

Приклади 264-265

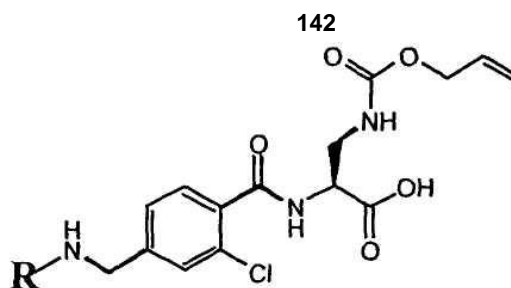


Приклади 264-265 синтезували за Методикою S46.

Приклад №	Група R
264	3-гідроксибензойна кислота
265	2-тіофенкарбонова кислота

Приклади 266-267

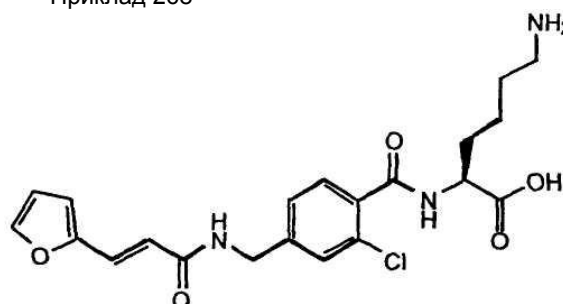
74531



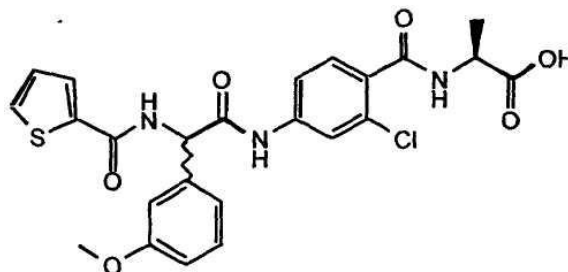
Приклади 266-267 синтезували за Методикою S47.

Приклад №	Група R
266	3-(2-тієніл)-акрилова кислота
267	фурилакрилова кислота

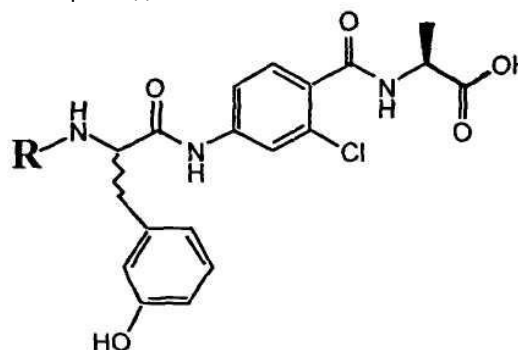
Приклад 268



Приклад 268 синтезували за Методикою S48.  
Приклад 269



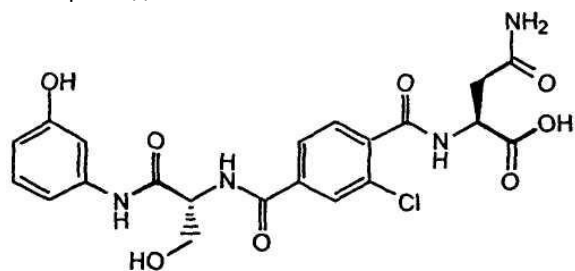
Приклад 269 синтезували за Методикою S49.  
Приклади 270-271



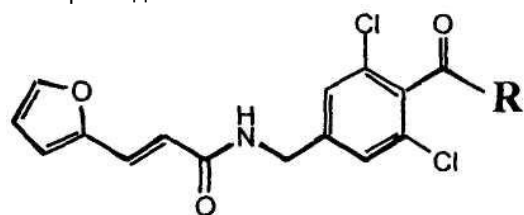
Приклади 270-271 синтезували за Методикою S50.

Приклад №	Група R
270	3-гідроксибензойна кислота
271	2-тіофенкарбонова кислота

Приклад 272



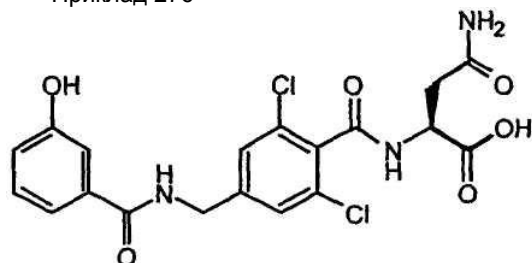
Приклад 272 синтезували за Методикою S51.  
Приклади 273-275



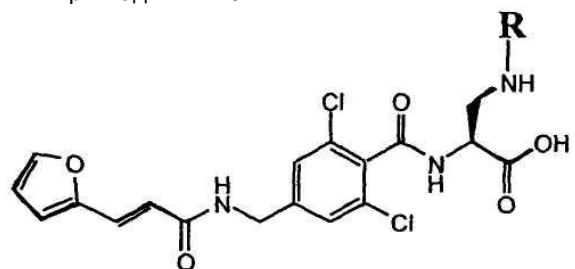
Приклади 273-275 синтезували за Методикою S52.

Приклад №	Група R
273	L-Ala
274	L-Asn
275	L-діамінопропіонова кислота(алок)

Приклад 276



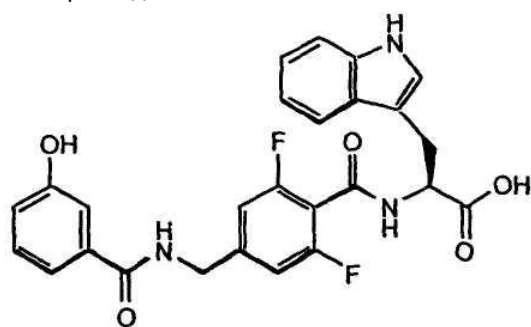
Приклад 276 синтезували за Методикою S53.  
Приклади 277-282



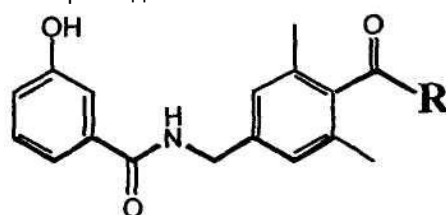
Приклади 277-282 синтезували за Методикою S54.

Приклад №	Група R
277	тіофен-2-карбонова кислота
278	2-фуранкарбонова кислота
279	2-піразинкарбонова кислота
280	3-метилтіофен-2-карбонова кислота
281	3-метил-2-фуранкарбонова кислота
282	3-хлортіофен-2-карбонова кислота

Приклад 283



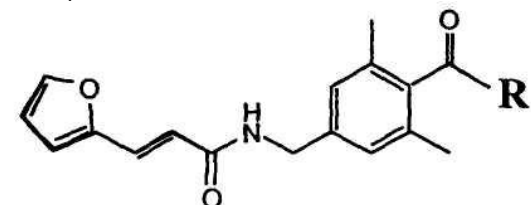
Приклад 283 синтезували за Методикою S55.  
Приклади 284-285



Приклади 284-285 синтезували за Методикою S56.

Приклад №	Група R
284	L-Ala
285	L-Asn

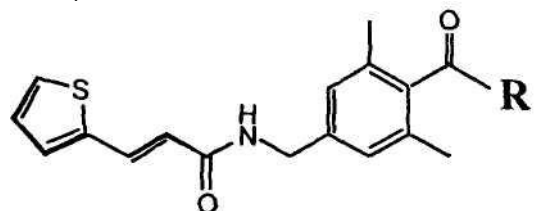
Приклади 286-287



Приклади 286-287 синтезували за Методикою S57.

Приклад №	Група R
286	L-діамінопропіонова кислота(алок)
287	L-Lys

Приклади 288-289



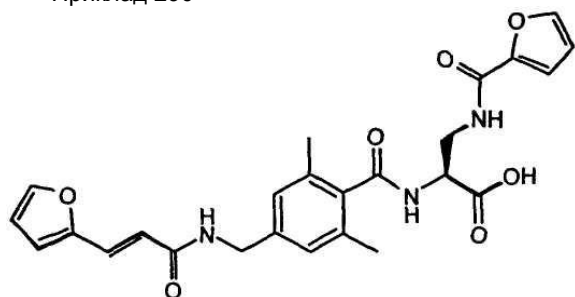
Приклади 288-289 синтезували за Методикою S58.

Приклад №	Група R
288	L-діамінопропіонова кислота(алок)
289	L-Lys

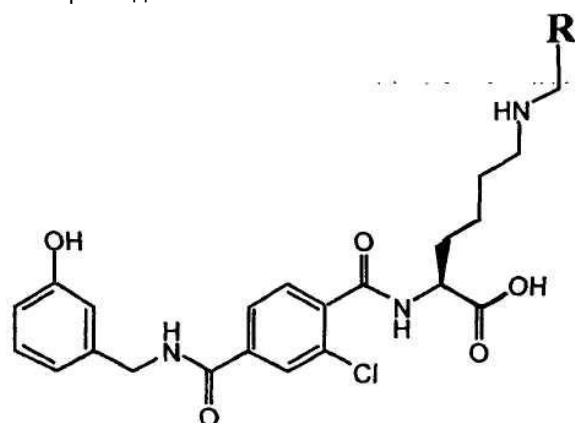


145

Приклад 290



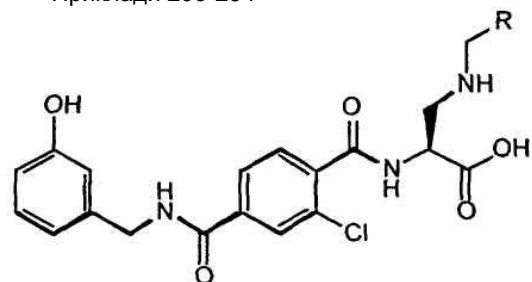
Приклад 290 синтезували за Методикою S59.  
Приклади 291-292



Приклади 291-292 синтезували за Методикою S60.

Приклад №	Група R
291	2-фуральдегід
292	3-метил-2-фуральдегід

Приклади 293-294



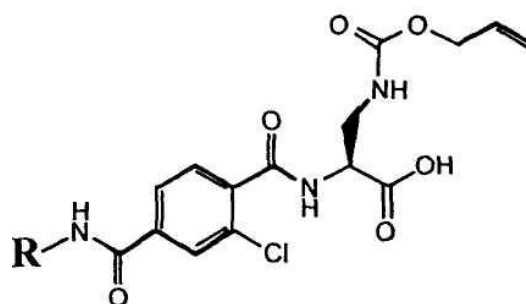
Приклади 293-294 синтезували за Методикою S61.

Приклад №	Група R
293	2-фуральдегід
294	3-метил-2-фуральдегід

Приклади 295-296

74531

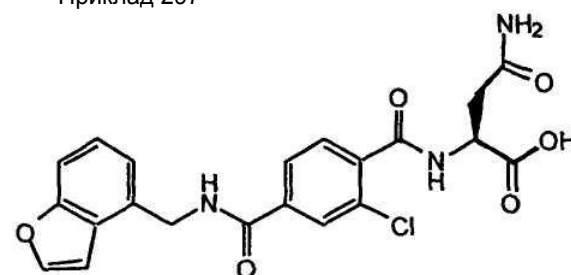
146



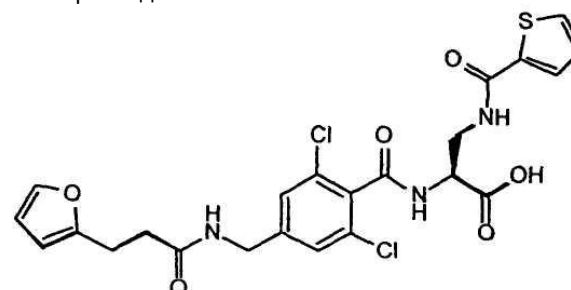
Приклади 295-296 синтезували за Методикою S62.

Приклад №	Група R
295	6-амінометилбензофуран
296	4-амінометилбензофуран

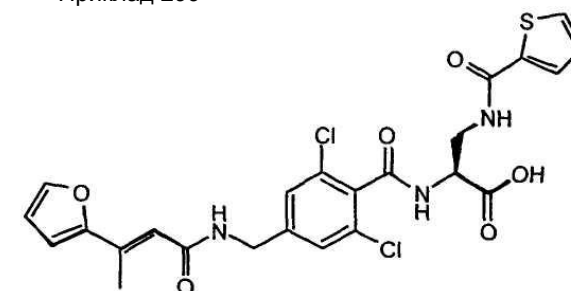
Приклад 297



Приклад 297 синтезували за Методикою S63.  
Приклад 298



Приклад 298 синтезували за Методикою S64.  
Приклад 299

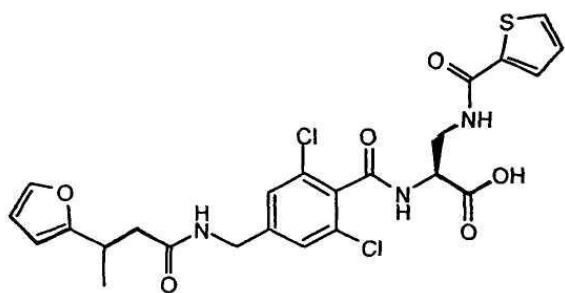


Приклад 299 синтезували за Методикою S65.  
Приклад 300

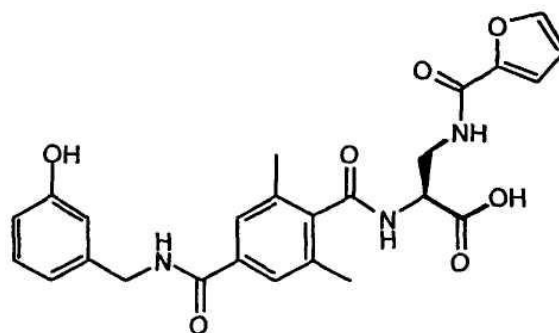
147

74531

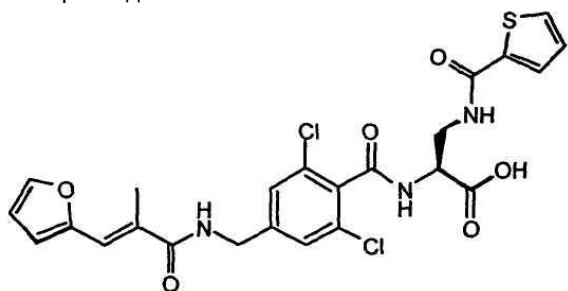
148



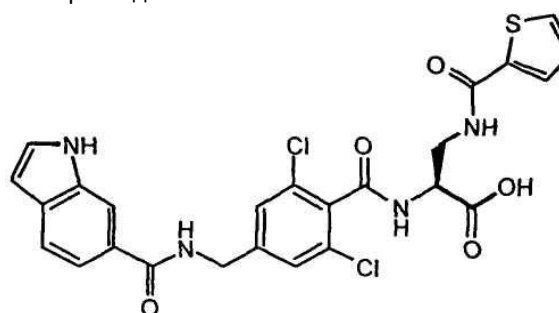
Приклад 300 синтезували за Методикою S66.  
Приклад 301



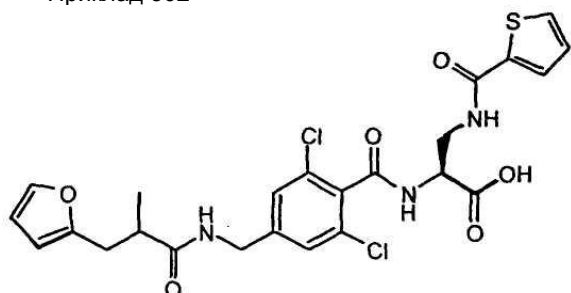
Приклад 306 синтезували за Методикою S70.  
Приклад 307



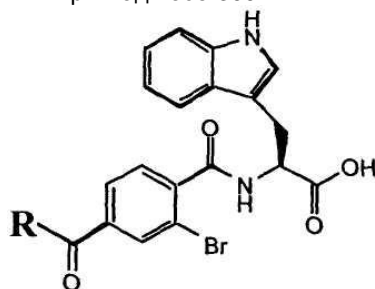
Приклад 301 синтезували за Методикою S67.  
Приклад 302



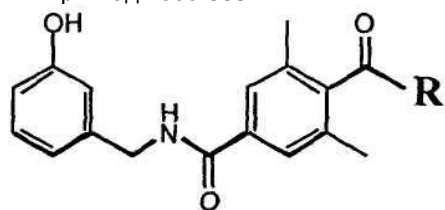
Приклад 307 синтезували за Методикою S71.  
Приклади 308-309



Приклад 302 синтезували за Методикою S68.  
Приклади 303-305



Приклади 308-309 синтезували за Методикою S72.



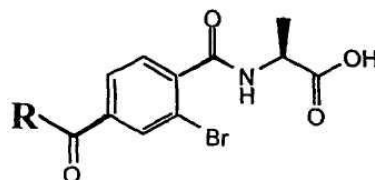
Приклади 303-305 синтезували за Методикою S69.

Приклад №	група R
303	L-Asn
304	L-діамінопропіонова кислота(алок)
305	L-lys

Приклад 306

Приклад №	Група R
308	3-гідроксибензиламін
309	3-(3-гідроксифеніл)пропаргіламін

Приклади 310-312

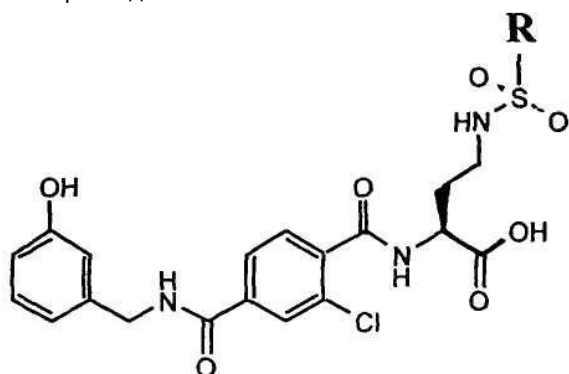


Приклади 310-312 синтезували за Методикою S73.

Приклад №	Група R
310	3-фторбензиламін
311	бензиламін
312	3-(3-гідроксифеніл)пропаргіламін

149

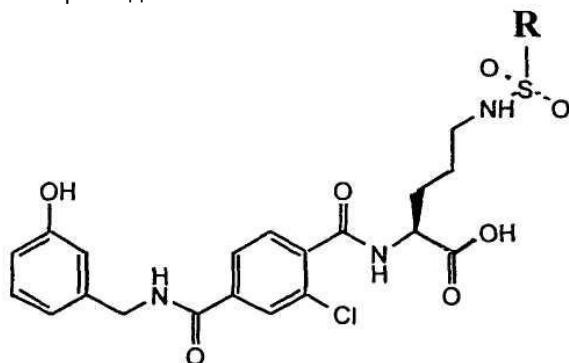
Приклади 313-315



Приклади 313-315 синтезували за Методикою S74.

Приклад №	Група R
313	N-ацетилсульфанілілхлорид
314	2-бромбензолсульфонілілхлорид
315	2-тіофенсульфонілілхлорид

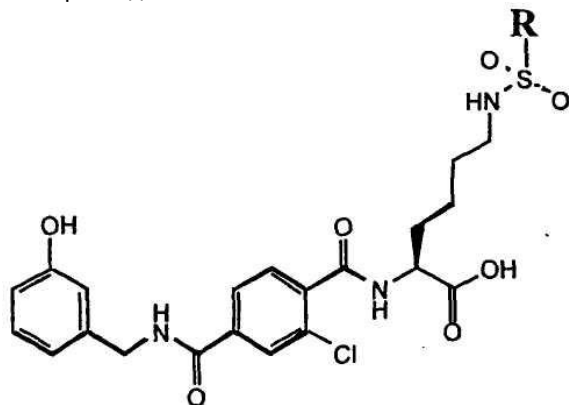
Приклади 316-317



Приклади 316-317 синтезували за Методикою S75.

Приклад №	Група R
316	2-тіофенсульфонілілхлорид
317	8-хінолінсульфонілілхлорид

Приклади 318-322



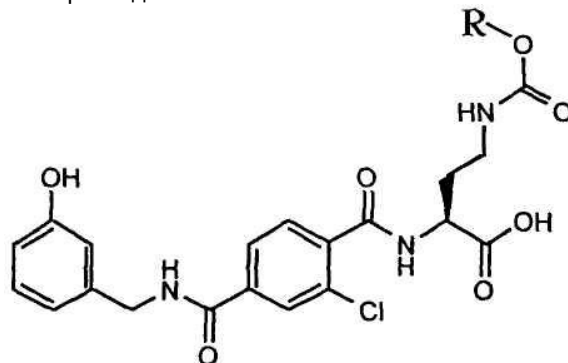
Приклади 318-322 синтезували за Методикою S76.

74531

Приклад №

Приклад №	Група R
318	бензолсульфонілілхлорид
319	N-ацетилсульфанілілхлорид
320	2-тіофенсульфонілілхлорид
321	2-бромбензолсульфонілілхлорид
322	2-ацетамід-4-метил-5-тіазолсульфонілілхлорид

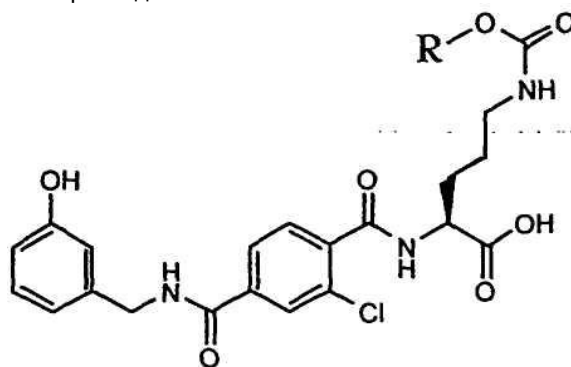
Приклади 323-328



Приклади 323-328 синтезували за Методикою S77.

Приклад №	Група R
323	ізобутилхлорформат
324	алілхлорформат
325	бутилхлорформат
326	етилхлорформат
327	ізопропілхлорформат
328	пропілхлорформат

Приклади 329-333



Приклади 329-333 синтезували за Методикою S78.

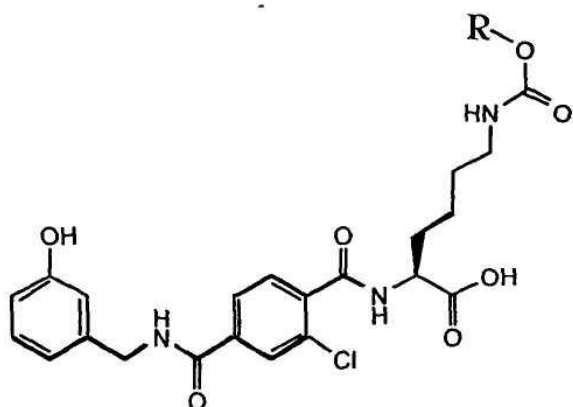
Приклад №	група R
329	ізобутилхлорформат
330	циклопропілхлорформат
331	етилхлорформат
332	метилхлорформат
333	2,2,2-трихлоретилхлорформат

Приклади 334-337

151

74531

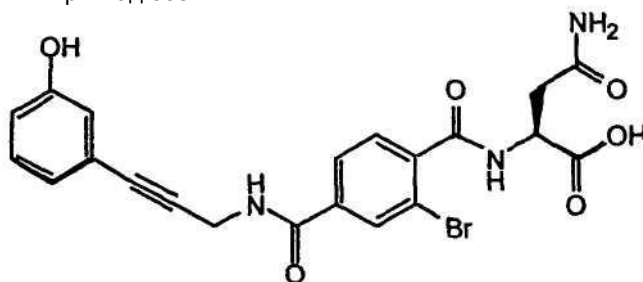
152



Приклади 334-337 синтезували за Методикою S79.

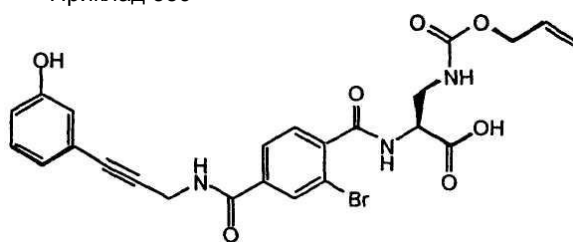
Приклад №	Група R
334	бутилхлорформат
335	пропилхлорформат
336	етилхлорформат
337	метилхлорформат

Приклад 338



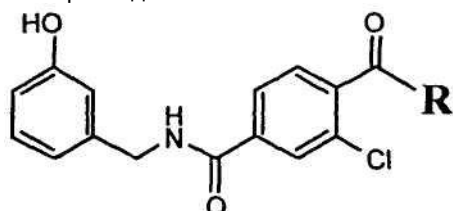
Приклад 338 синтезували за Методикою S80.

Приклад 339



Приклад 339 синтезували за Методикою S81.

Приклади 340-354

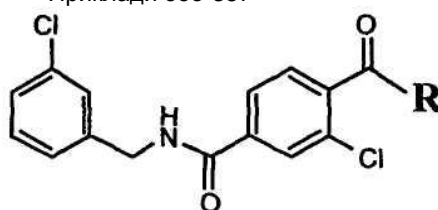


Приклади 340-354 синтезували за Методикою S82.

Приклад №	Група R
340	L-Ala
341	L-Thr

342	L-Trp
343	L-aza Trp
344	L-Ser(OBzl)
345	L-Asn
346	L-Lys
347	L-His
348	L-Lys(N-e-Ac)
349	L-Gln
350	L-діамінопропіонова(алок) кислота
351	L-діаміномасляна(алок) кислота
352	L-Lys(алок)
353	L-Orn(алок)
354	L-Tyr

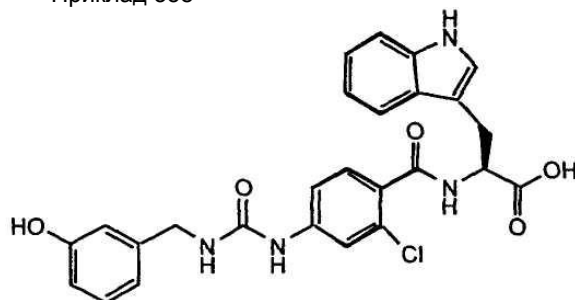
Приклади 355-357



Приклади 355-357 синтезували за Методикою S83.

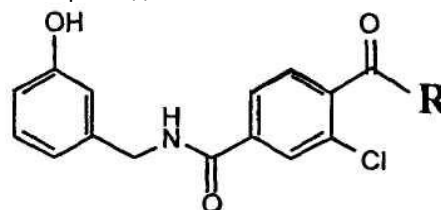
Приклад №	Група R
355	L-Ala
356	L-His
357	L-Asn

Приклад 358



Приклад 358 синтезували за Методикою S84.

Приклади 359-362

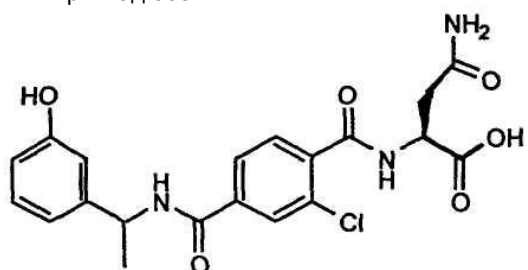


Приклади 359-362 синтезували за Методикою S85.

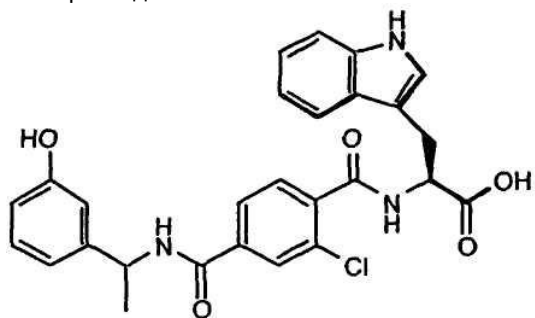
Приклад №	група R
359	1-аміно-1-циклопропанкарбонова кислота
360	m-тирозин
361	o-гідрокситирозин
362	L-йодтирозин

153

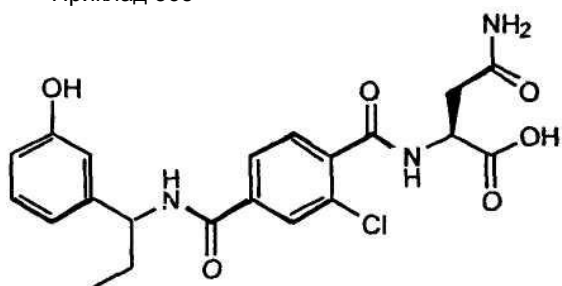
Приклад 363



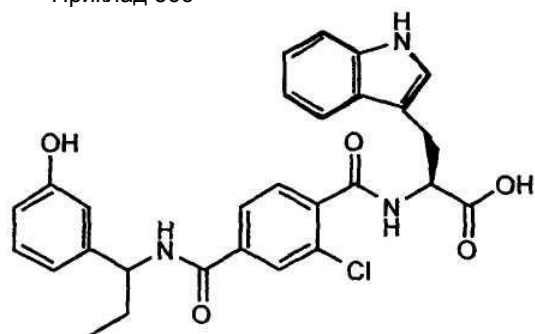
Приклад 363 синтезували за Методикою S86.  
Приклад 364



Приклад 364 синтезували за Методикою S87.  
Приклад 365



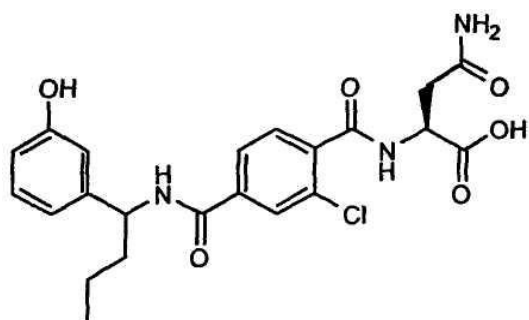
Приклад 365 синтезували за Методикою S88.  
Приклад 366



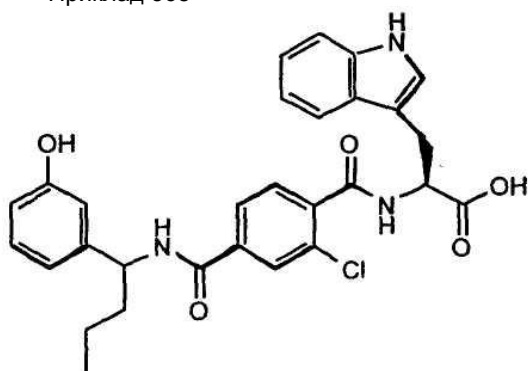
Приклад 366 синтезували за Методикою S89.  
Приклад 367

74531

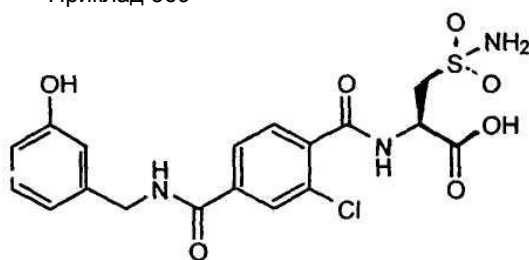
154



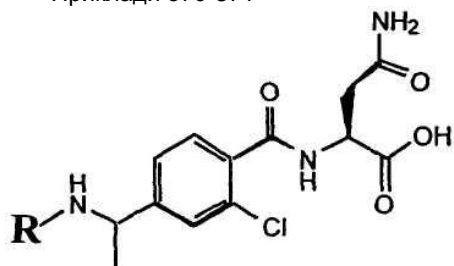
Приклад 367 синтезували за Методикою S90.  
Приклад 368



Приклад 368 синтезували за Методикою S91.  
Приклад 369



Приклад 369 синтезували за Методикою S92.  
Приклади 370-371

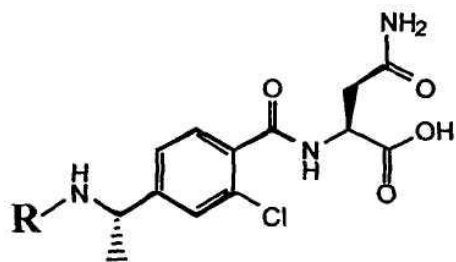


Приклади 370-371 синтезували за Методикою S93.

Приклад №	Група R
370	3-гідроксибензойна кислота
371	бензойна кислота

Приклади 372-375

155

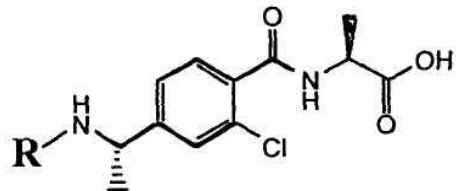


Приклади 372-375 синтезували за Методикою S94.

Приклад № група R

- |     |                               |
|-----|-------------------------------|
| 372 | фурилакрилова кислота         |
| 373 | 3-(2-тієніл)-акрилова кислота |
| 374 | 3-гідроксибензойна кислота    |
| 375 | бензойна кислота              |

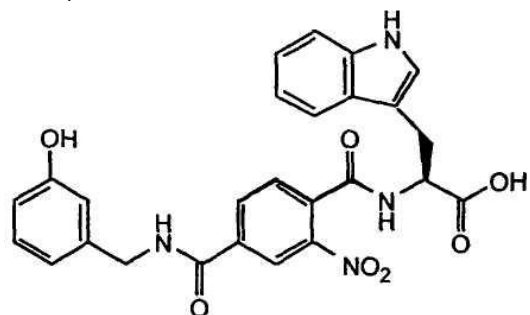
Приклади 376-377



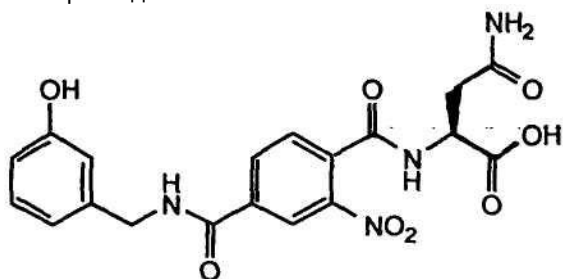
Приклади 376-377 синтезували за Методикою S95.

- |           |                               |
|-----------|-------------------------------|
| Приклад № | Група R                       |
| 376       | 3-гідроксибензойна кислота    |
| 377       | 3-(2-тієніл)-акрилова кислота |

Приклад 378



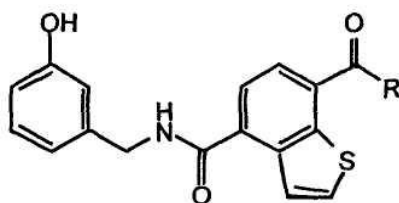
Приклад 378 синтезували за Методикою S96.  
Приклад 379



Приклад 379 синтезували за Методикою S97.  
Приклади 380-383

74531

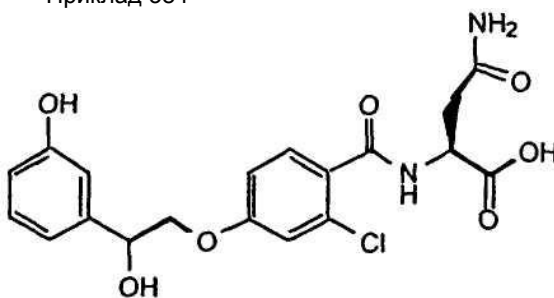
156



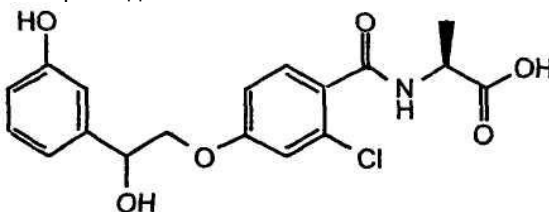
Приклади 380-383 синтезували за Методикою S98.

- |           |               |
|-----------|---------------|
| Приклад № | Група R       |
| 380       | L-Trp         |
| 381       | L-Asn         |
| 382       | L-dapa(alloc) |
| 383       | L-Lys         |

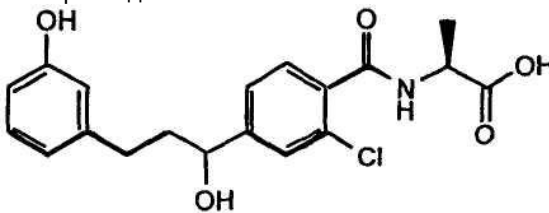
Приклад 384



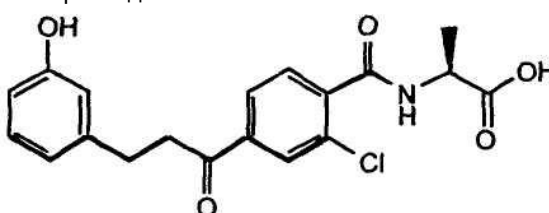
Приклад 384 синтезували за Методикою S99.  
Приклад 385



Приклад 385 синтезували за Методикою S100.  
Приклад 386

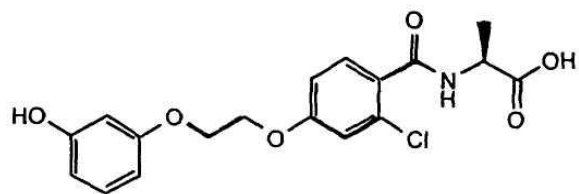


Приклад 386 синтезували за Методикою S101.  
Приклад 387

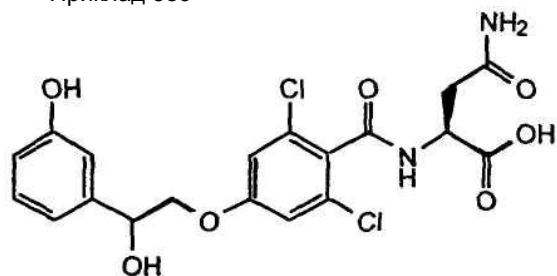


Приклад 387 синтезували за Методикою S102.  
Приклад 388

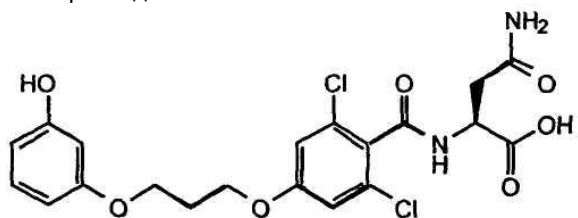
157



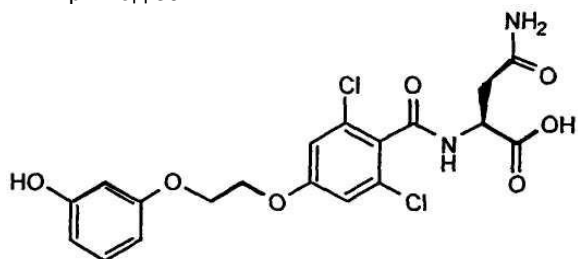
Приклад 388 синтезували за Методикою S103.  
Приклад 389



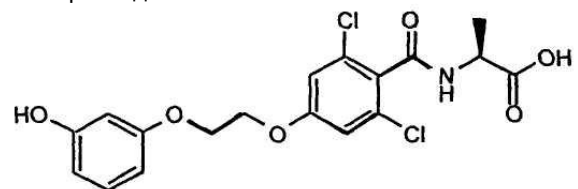
Приклад 389 синтезували за Методикою S104.  
Приклад 390



Приклад 390 синтезували за Методикою S105.  
Приклад 391



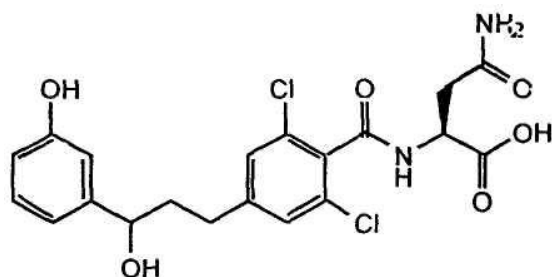
Приклад 391 синтезували за Методикою S106.  
Приклад 392



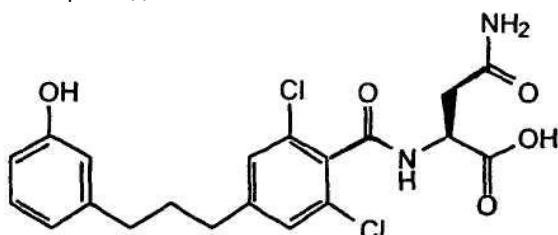
Приклад 392 синтезували за Методикою S107.  
Приклад 393

74531

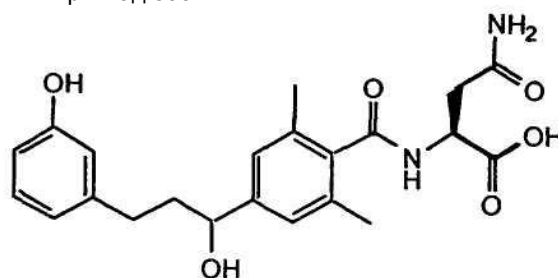
158



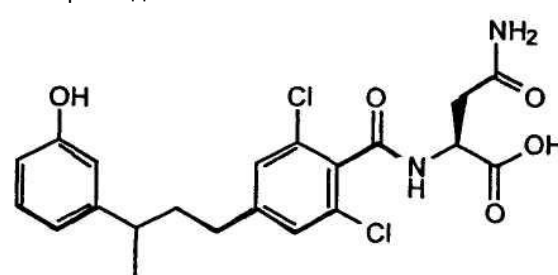
Приклад 393 синтезували за Методикою S108.  
Приклад 394



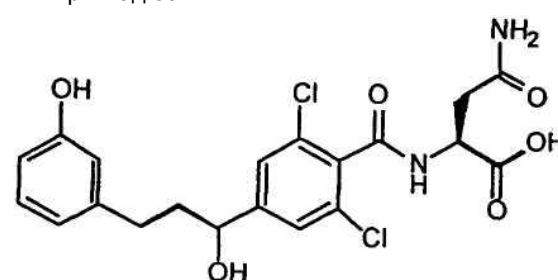
Приклад 394 синтезували за Методикою S109.  
Приклад 395



Приклад 395 синтезували за Методикою S110.  
Приклад 396

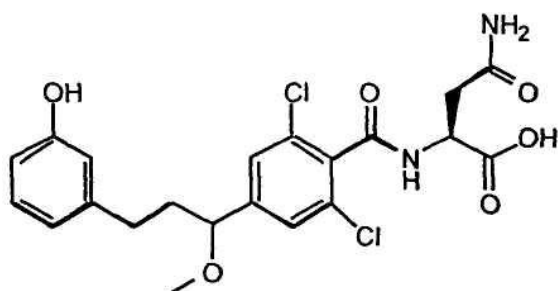


Приклад 396 синтезували за Методикою S111.  
Приклад 397

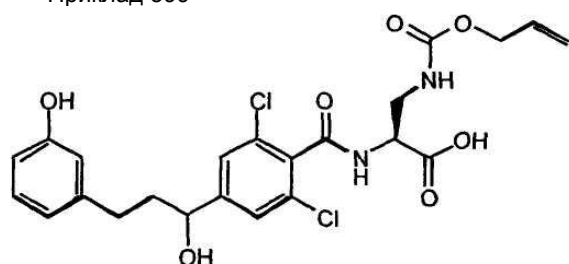


Приклад 397 синтезували за Методикою S112.  
Приклад 398

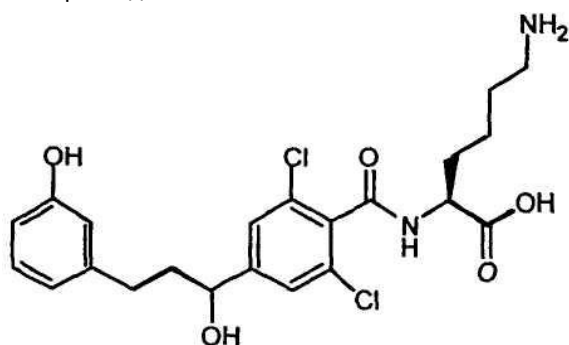
159



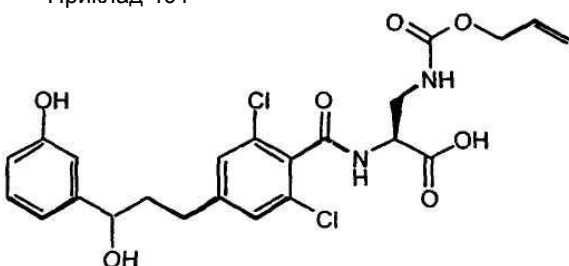
Приклад 398 синтезували за Методикою S113.  
Приклад 399



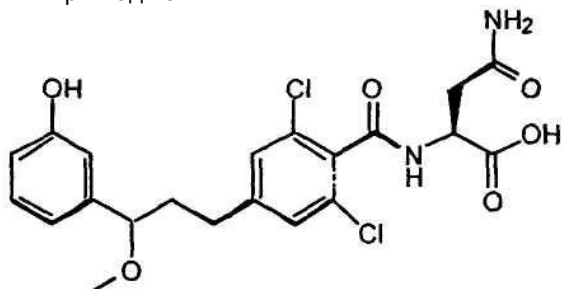
Приклад 399 синтезували за Методикою S114.  
Приклад 400



Приклад 400 синтезували за Методикою S115.  
Приклад 401



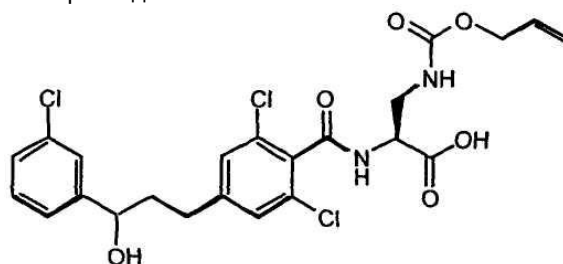
Приклад 401 синтезували за Методикою S116.  
Приклад 402



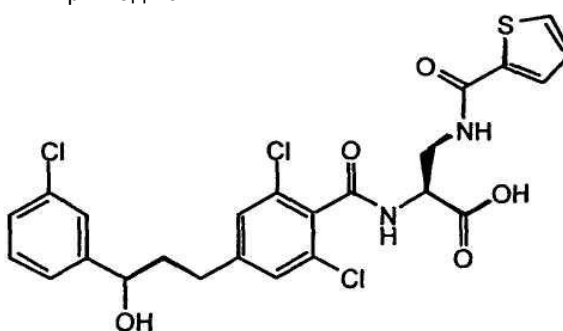
74531

160

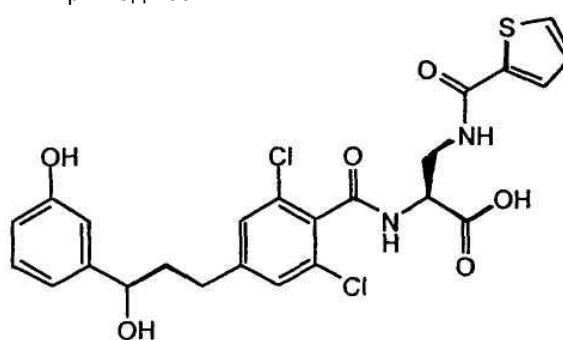
Приклад 402 синтезували за Методикою S117.  
Приклад 403



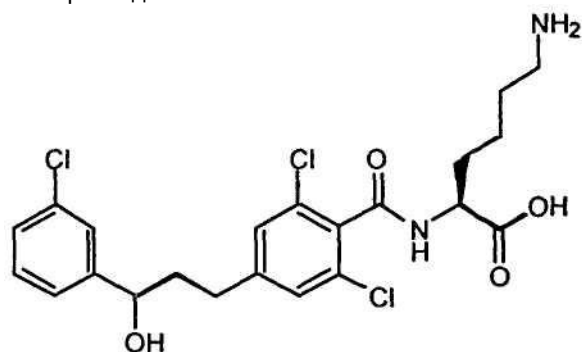
Приклад 403 синтезували за Методикою S118.  
Приклад 404



Приклад 404 синтезували за Методикою S119.  
Приклад 405



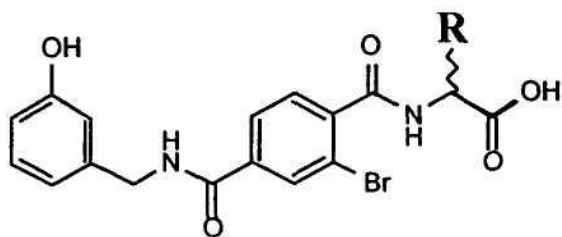
Приклад 405 синтезували за Методикою S120.  
Приклад 406



Приклад 406 синтезували за Методикою S121.  
Приклади 407-416



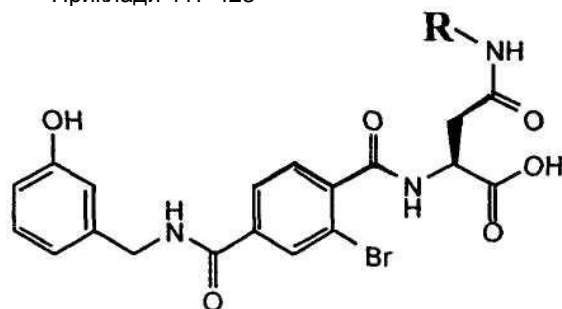
161



Приклади 407-416 синтезували за Методикою S122.

Приклад №	Група R
407	3-метоксибензилбромід
408	3-бромбензилбромід
409	3,5-диметоксибензилбромід
410	5-бромвалеронітрил
411	6-бромгексаннітрил
412	3-нітробензилбромід
413	3-ціанобензил бромід
414	5-бромметил-фуран-2-карбонової ки- слоти етиловий ефір
415	5-бромметил-фуран-2-карбонової ки- слоти етиловий ефір
416	3-бромметилбензамід

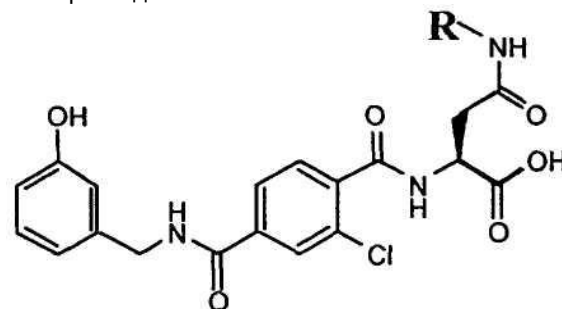
Приклади 417-423



Приклади 417-423 синтезували за Методикою S123.

Приклад №	Група R
417	1-амінонафтален
418	2-ціаноанілін
419	3-ціаноанілін
420	2-фторанілін
421	3-фторанілін
422	4-фторанілін
423	3-метоксианілін

Приклади 424-436



Приклади 424-436 синтезували за Методикою

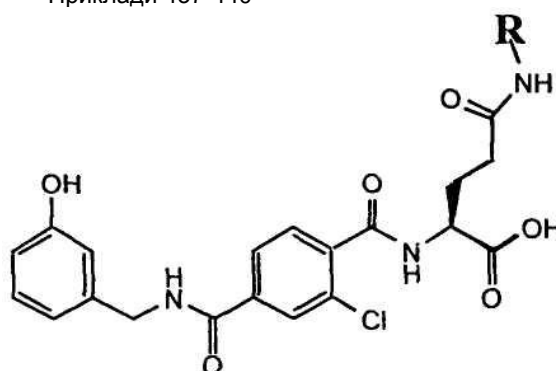
74531

S124.

162

Приклад №	Група R
424	2-(амінометил)піридин
425	3-фторбензиламін
426	бензиламін
427	аліламін
428	фенетиламін
429	гистамін
430	4-фторбензиламін
431	3-метоксифенетиламін
432	4-амінобензиламін
433	2-амінобензиламін
434	2-[1,3]діоксан-5-іл-етиламін
435	піпероніламін
436	анілін

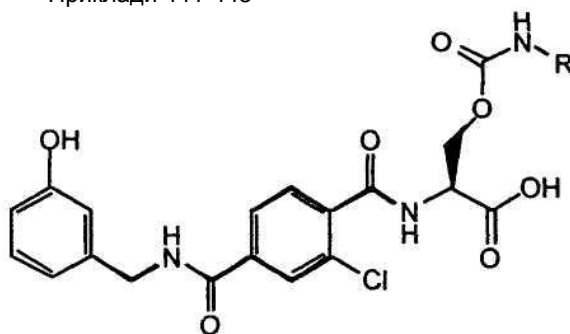
Приклади 437-440



Приклади 437-440 синтезували за Методикою S125.

Приклад №	Група R
437	ізоаміламін
438	4-(амінометил)піридин
439	2-[1,3]діоксан-5-іл-етиламін
440	анілін

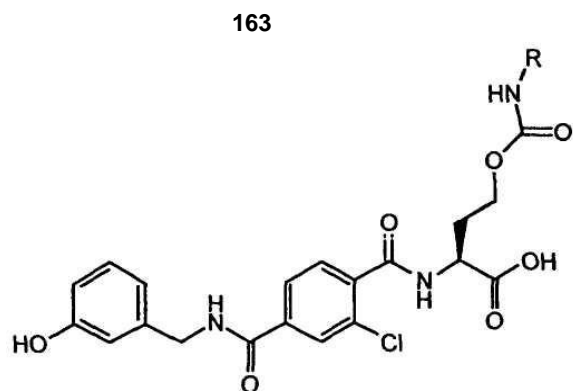
Приклади 441-443



Приклади 441-443 синтезували за Методикою S126.

Приклад №	Група R
441	o-толуїдин
442	аліламін
443	пропиламін

Приклади 444-459



Приклади 444-459 синтезували за Методикою S127.

Приклад №	Група R
444	пропиламін
445	3-(амінометил)піридин
446	4-(амінометил)піридин
447	2-метилбензиламін
448	3-метилбензиламін

164
449 4-метилбензиламін
450 (S)-(-)-α-метилбензиламін
451 2-(амінометил)піридин
452 2-фторбензиламін
453 3-фторбензиламін
454 4-фторбензиламін
455 3-хлорбензиламін
456 4-хлорбензиламін
457 4-метоксибензиламін
458 1-нафталенметиламін
459 бензиламін

В Таблиці 3 представлені дані біологічного аналізу для сполук, отриманих за методиками, описаними вище. Дані представлені для двох форматів аналізу: поступальний аналіз LFA/ICAM (PPFF) і аналіз на захоплення антитіла PLM2 при взаємодії LFA/ICAM (PLM2).

Таблиця 3  
Дані аналізів PPFF і PLM2 для сполук із Прикладів

Приклад №	PPFF (мкМ)	PLM2 (мкМ)
1	0,149	0,028
2		0,035
3		0,069
4		0,038
5		0,013
6		0,045
7		0,004
8		0,021
9		0,033
10		0,003
11		0,065
12		0,029
13		0,064
14		0,024
15		0,010
16		0,011
17		0,036
18		0,010
19		0,037
20		0,029
21		0,023
22		0,019
23		0,072
24		0,012
25		0,019
26		0,021
27		0,008
28		0,092
29		0,055
30		0,064
31		0,014
32		0,047
33		0,023
34		0,078
35		0,069
36		0,013
37		0,038
38		0,013
39		0,021
40		0,076
41		0,098

165	74531	166
42		0,046
43		0,098
44		0,095
45		0,059
46		0,066
47		0,070
48		0,046
49		0,038
50		0,052
51		0,056
52		0,050
53		0,094
54		0,014
55		0,047
56		0,052
57		0,036
58		0,080
59		0,066
60		0,078
61		0,052
62		0,046
63		0,062
64		0,055
65		0,044
66		0,072
67		0,046
68		0,071
69		0,084
70		0,088
71		0,040
72		0,063
73		0,063
74		0,087
75		0,011
76		0,010
77		0,017
78		0,031
79		0,033
80		0,005
81		0,008
82		0,004
83		0,006
84		0,001
85		0,003
86		0,012
87		0,009
88		0,005
89		0,004
90		0,021
91		0,004
92		0,066
93		0,024
94		0,002
95		0,006
96		0,070
97		0,042
98		0,033
99		0,046
100		0,031
101		0,022
102		0,025
103		0,044
104		0,044
105		0,004
106		0,026
107		0,087

167	74531	168
108		0,021
109		0,026
110		0,052
111		0,007
112		0,036
113		0,086
114		0,018
115		0,073
116		0,026
117		0,045
118		0,031
119		0,077
120		0,064
121		0,055
122		0,050
123		0,054
124		0,035
125		0,058
126		0,033
127		0,017
128		0,035
129		0,029
130		0,036
131		0,025
132		0,057
133		0,020
134		0,053
135		0,021
136		0,029
137		0,039
138		0,071
139		0,064
140		0,023
141		0,068
142		0,074
143		0,031
144		0,093
145		0,004
146		0,004
147		0,004
148		0,004
149		0,004
150		0,004
151		0,004
152		0,004
153		0,003
154		0,003
155		0,006
156		0,009
157		0,007
158		0,004
159		0,017
160		0,004
161		0,004
162		0,004
163		0,005
164		0,012
165		0,015
166		0,018
167		0,017
168		0,012
169		0,006
170		0,007
171		0,011
172		0,037
173		0,010

169	74531	170
174		0,004
175		0,005
176		0,011
177		0,006
178		0,011
179		0,009
180		0,011
181		0,016
182		0,011
183		0,013
184		0,016
185		0,016
186		0,015
187		0,017
188		0,018
189		0,018
190		0,016
191		0,016
192		0,029
193		0,014
194		0,012
195		0,016
196		0,019
197		0,017
198		0,019
199		0,029
200		0,018
201		0,013
202		0,023
203		0,037
204		0,025
205		0,082
206		0,023
207		0,062
208		0,021
209		0,053
210		0,022
211		0,019
212		0,016
213		0,035
214		0,028
215		0,027
216		0,022
217		0,031
218		0,018
219		0,018
220		0,016
221		0,042
222		0,021
223		0,035
224		0,026
225		0,029
226		0,025
227		0,034
228		0,018
229		0,026
230		0,016
231		0,003
232		0,005
233		0,001
234		0,044
235		0,002
236		0,004
237		0,003
238	0,099	
239	0,180	0,053

171	74531	172
240	0,085	
241	0,053	
242	0,054	
243	0,082	
244	0,077	0,078
245	0,058	0,164
246	0,067	0,059
247	0,022	0,034
248	0,027	0,026
249	0,030	
250		0,034
251		0,038
252		0,060
253		0,014
254	0,094	0,036
255	0,042	
256	0,076	
257		0,042
258		0,038
259		0,049
260		0,071
261		0,052
262		0,075
263		0,066
264		0,093
265		0,045
266		0,046
267		0,021
268		0,019
269		0,046
270		0,055
271		0,086
272		0,080
273		0,016
274		0,006
275		0,006
276		0,012
277		0,003
278		0,002
279		0,004
280		0,007
281		0,004
282		0,024
283	0,092	
284	0,093	0,079
285	0,064	
286		0,014
287		0,043
288		0,023
289		0,074
290		0,009
291		0,007
292		0,015
293		0,083
294		0,100
295		0,047
296		0,017
297		0,028
298		0,009
299		0,016
300		0,074
301		0,025
302		0,023
303		0,005
304		0,003
305		0,015

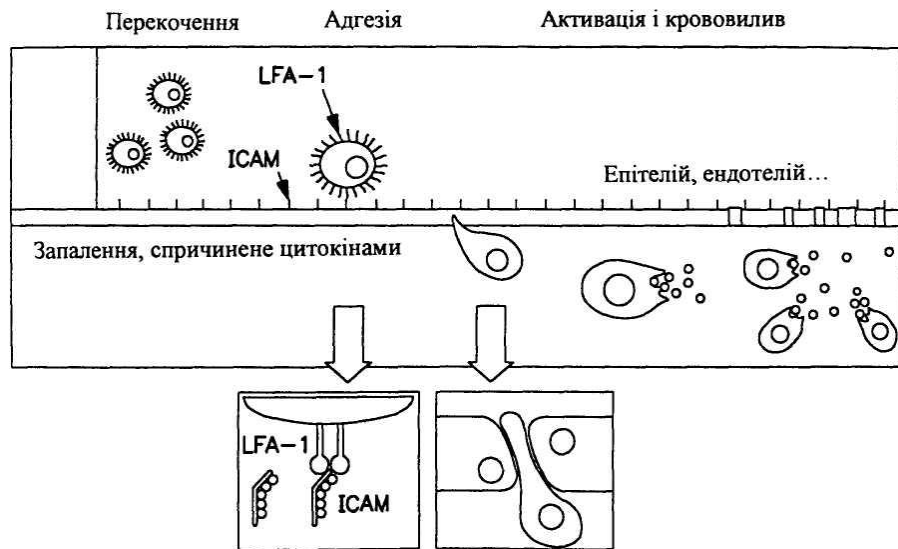
173	74531	174
306		0,004
307		0,004
308	0,061	
309		0,057
310	0,082	
311	0,079	
312		0,089
313		0,069
314		0,028
315		0,037
316		0,030
317		0,055
318		0,031
319		0,023
320		0,007
321		0,020
322		0,011
323		0,036
324		0,042
325		0,056
326		0,042
327		0,070
328		0,074
329		0,033
330		0,009
331		0,027
332		0,057
333		0,090
334		0,072
335		0,096
336		0,066
337		0,079
338		0,060
339		0,020
340	0,014	0,006
341	0,031	
342	0,057	0,004
343	0,030	
344	0,183	0,053
345	0,019	0,004
346	0,071	
347	0,044	0,004
348	0,090	0,023
349	0,042	
350	0,027	0,005
351	0,067	0,032
352		0,042
353		0,074
354		0,008
355	0,100	0,094
356	0,068	
357	0,057	0,023
358	0,230	0,032
359		0,016
360		0,018
361		0,018
362		0,005
363	0,014	0,010
364	0,087	0,035
365		0,024
366		0,062
367		0,020
368		0,043
369		0,019
370	0,055	0,025
371	0,055	0,037

175	74531	176
372		0,013
373		0,021
374		0,021
375		0,040
376	0,078	0,061
377	0,016	0,051
378		0,007
379		0,010
380		0,096
381		0,035
382		0,012
383		0,060
384	0,046	0,018
385	0,070	0,048
386	0,030	
387	0,098	0,043
388	0,050	
389	0,054	0,010
390		0,079
391		0,007
392		0,025
393		0,003
394		0,012
395		0,006
396		0,062
397		0,005
398		0,015
399		0,002
400		0,007
401		0,002
402		0,004
403		0,009
404		0,002
405		0,001
406		0,022
407		0,045
408		0,071
409		0,054
410		0,065
411		0,055
412		0,074
413	0,051	0,045
414		0,087
415		0,059
416		0,036
417		0,086
418		0,056
419		0,079
420		0,015
421		0,056
422		0,083
423		0,032
424		0,038
425		0,082
426		0,057
427		0,044
428		0,029
429		0,094
430		0,070
431		0,070
432		0,070
433		0,046
434		0,050
435		0,074
436		0,011
437	0,083	0,034



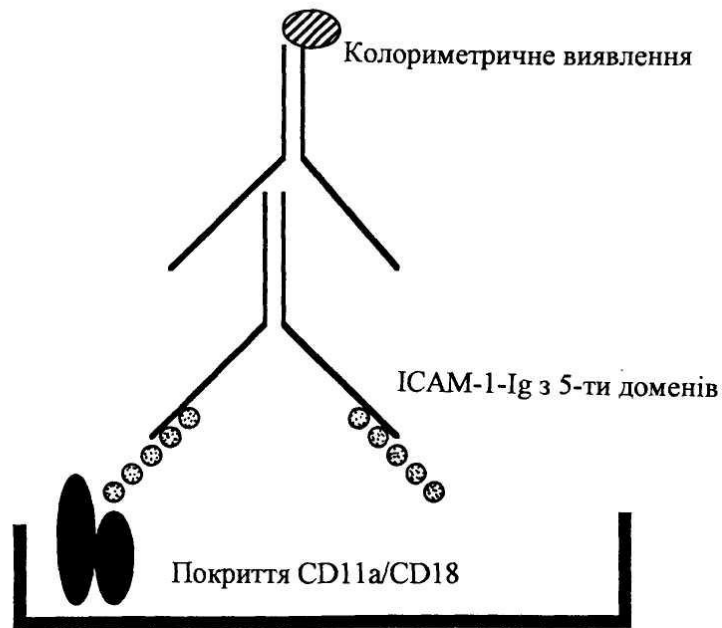
438	0,082
439	0,089
440	0,068
441	0,015
442	0,006
443	0,010
444	0,041
445	0,029
446	0,020
447	0,085
448	0,094
449	0,071
450	0,061
451	0,030
452	0,040
453	0,056
454	0,046
455	0,071
456	0,064
457	0,036
458	0,083
459	0,058

# Накопичення лімфоцитів



Фіг. 1

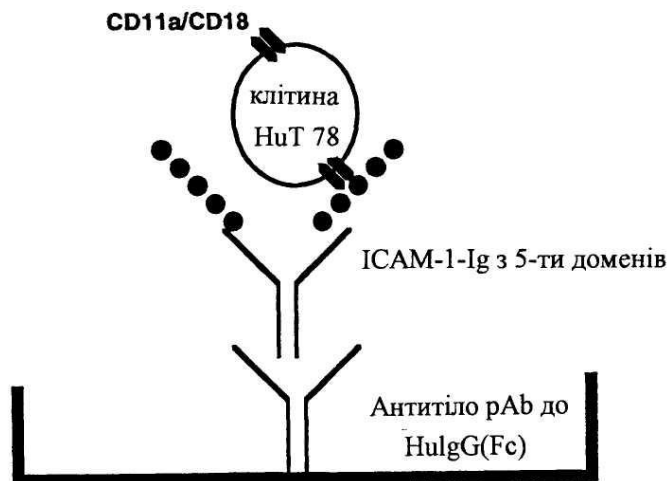
Аналіз на зв'язування людського ICAM з рецептором LFA-1



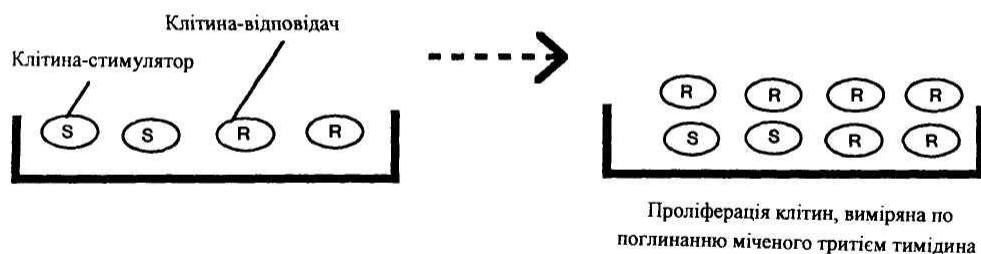
Фіг. 2

Аналіз на адгезію людських Т-кліток

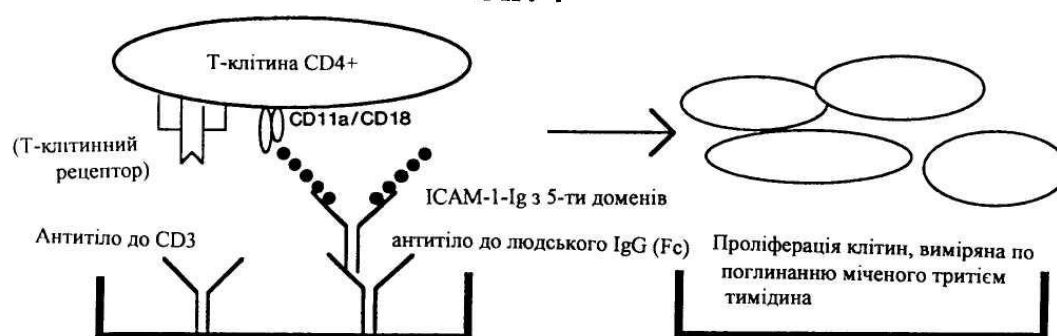
Колориметричне виявлення



Фіг. 3



Фіг. 4



Козяче антитіло до Fc, 2 мкг/мл і антитіло до CD3, 0,07 мкг/мл, протягом ночі

Захоплення 5-dICAM-Ig 17 нг/мл (100 мкл)

Культура 72 години, пульсуючі (мічені) клітки останні 6 годин

Фіг. 5