

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202390400** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2023.06.21

(51) Int. Cl. *A61K 38/00* (2006.01)
C07K 14/47 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2021.08.10

(54) **ЦИКЛИЧЕСКИЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ХЕМЕРИНА-9**

(31) **20190794.6**

(32) **2020.08.12**

(33) **EP**

(86) **PCT/EP2021/072236**

(87) **WO 2022/034057 2022.02.17**

(71) Заявитель:

**БАЙЕР АКЦИЕНГЕЗЕЛЬШАФТ
(DE)**

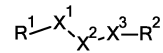
(72) Изобретатель:

**Крэлинг Ян Роберт, Ридль Бернд, Бек-
Зикингер Аннетт, Фишер Тобиас,
Черняк Анна, Эльс-Хайндль Сильвия
(DE)**

(74) Представитель:

Беляева Е.Н. (BY)

(57) Изобретение относится к производным циклического хемерина-9 общей формулы (I) в соответствии с описанием и определением в настоящем документе, способам получения указанных пептидов и применению указанных соединений для лечения или профилактики заболеваний, в частности рака, диабета, ожирения и воспалительных заболеваний.



A1

202390400

202390400

A1

Циклические производные хемерина-9

Настоящее изобретение относится к производным циклического хемерина-9 общей формулы (I) в соответствии с описанием и определением в настоящем документе, способам получения указанных пептидов и применению указанных соединений для лечения или профилактики заболеваний, в частности, рака, диабета, ожирения и воспалительных заболеваний.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Хемерин представляет собой небольшой адипокин, впервые идентифицированный в 2003 г. в работе Wittamer et al. (Wittamer, Franssen et al., *Specific recruitment of antigen-presenting cells by chemerin, a novel processed ligand from human inflammatory fluids*. J Exp Med, 2003, **198**(7): 977-985). В основном он экспрессируется кожей, печенью и жировой тканью (Roh, Song et al., *Chemerin-a new adipokine that modulates adipogenesis via its own receptor*. Biochem Biophys Res Commun, 2007, **362**(4): 1013-1018, Banas, Zabieglo et al., *Chemerin is an antimicrobial agent in human epidermis*. PLoS One, 2013, **8**(3): e58709). Хемерин экспрессируется в неактивной форме, препрохемерин из 163 аминокислот, который секретируется после укорочения на N-конце сигнального пептида. Полученный в результате неактивный прохемерин может быть активирован посредством обработки C-конца различными протеазами, например, калликреин-7 (Schultz, Saalbach et al., *Proteolytic activation of prochemerin by kallikrein 7 breaks an ionic linkage and results in C-terminal rearrangement*. Biochem J, 2013, **452**(2): 271-280), катепсин G (Zabel, Allen et al., *Chemerin activation by serine proteases of the coagulation, fibrinolytic, and inflammatory cascades*. J Biol Chem, 2005, **280**(41): 34661-34666) или плазмин (Yamaguchi, Du et al., *Proteolytic cleavage of chemerin protein is necessary for activation to the active form, Chem157S, which functions as a signaling molecule in glioblastoma*. J Biol Chem, 2011, **286**(45): 39510-39519), чтобы получить активный хемерин. Наиболее активная изоформа образуется в результате расщепления после серина 157 (нумерация белка человека) и, следовательно, обозначается как ChemS157. C-концевая часть этого белка имеет важное значение для биологической активности, а пептид, состоящий из последних девяти аминокислот, проявляет активность, сравнимую с полноразмерным белком (Wittamer, Gregoire et

al., *The C-terminal nonapeptide of mature chemerin activates the chemerin receptor with low nanomolar potency*. J Biol Chem, 2004, **279**(11): 9956-9962). Этот пептид широко известен как хемерин-9.

Хемерин связывается с тремя рецепторами: хемокиноподобным рецептором 1 (CMKLR1), рецептором 1, который связан с G-белком (GPR1), и хемокиновым (СС-мотив) рецептороподобным рецептором 2 (CCRL2). (Wittamer, Franssen et al., *Specific recruitment of antigen-presenting cells by chemerin, a novel processed ligand from human inflammatory fluids*. J Exp Med, 2003, **198**(7): 977-985, Barnea, Strapps et al., *The genetic design of signaling cascades to record receptor activation*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, **105**(1): 64-69, Zabel, Nakae et al., *Mast cell-expressed orphan receptor CCRL2 binds chemerin and is required for optimal induction of IgE-mediated passive cutaneous anaphylaxis*. The Journal of experimental medicine, 2008, **205**(10): 2207-2220) GPR1 и CMKLR1 являются близкородственными, но только последний индуцирует передачу сигналов G-белка. (De Henau, Degroot et al., *Signaling Properties of Chemerin Receptors CMKLR1, GPR1 and CCRL2*. PLoS One, 2016, **11**(10): e0164179) GPR1 часто описывают, как простой рецептор-приманку, хотя он индуцирует передачу сигналов ниже по течению через метаболический путь RhoA/ROCK. (Rourke, Dranse et al., *CMKLR1 and GPR1 mediate chemerin signaling through the RhoA/ROCK pathway*. Mol Cell Endocrinol, 2015, **417**(36-51) В отличие от этого атипичный хемокиновый рецептор CCRL2 не может запускать внутриклеточные сигнальные события или интернализацию, и при этом считается, что он действует путем увеличения локальных концентраций хемерина. (Zabel, Nakae et al., *Mast cell-expressed orphan receptor CCRL2 binds chemerin and is required for optimal induction of IgE-mediated passive cutaneous anaphylaxis*. The Journal of experimental medicine, 2008, **205**(10): 2207-2220) CMKLR1 экспрессируется адипоцитами, а также тканеспецифичными макрофагами и дендритными клетками. (Wittamer, Franssen et al., *Specific recruitment of antigen-presenting cells by chemerin, a novel processed ligand from human inflammatory fluids*. J Exp Med, 2003, **198**(7): 977-985, Luangsay, Wittamer et al., *Mouse ChemR23 is expressed in dendritic cell subsets and macrophages, and mediates an anti-inflammatory activity of chemerin in a lung disease model*. J Immunol, 2009, **183**(10): 6489-6499) Активация CMKLR1 хемеринем приводит к рекрутированию этих клеток в места воспаления, а обработка хондроцитов и синовиоцитов хемеринем запускает высвобождение

провоспалительных цитокинов, таких как TNF- α , CCL2 и интерлейкины. (Berg, Sveinbjörnsson et al., *Human articular chondrocytes express ChemR23 and chemerin; ChemR23 promotes inflammatory signalling upon binding the ligand chemerin 21-157*. *Arthritis Res Ther*, 2010, **12**(6): R228, Kaneko, Miyabe et al., *Chemerin activates fibroblast-like synoviocytes in patients with rheumatoid arthritis*. *Arthritis Res Ther*, 2011, **13**(5): R158) Напротив, С-концевое производное хемерина, обозначаемое как С15, согласно описанию обладает сильным противовоспалительным действием в мышинной модели перитонита. (Cash, Hart et al., *Synthetic chemerin-derived peptides suppress inflammation through ChemR23*. *J Exp Med*, 2008, **205**(4): 767-775) Этот пептид, по-видимому, также улучшает заживление ран *in vivo*, как было показано в работе Cash et al. на мышинной модели. (Cash, Bass et al., *Resolution mediator chemerin15 reprograms the wound microenvironment to promote repair and reduce scarring*. *Curr Biol*, 2014, **24**(12): 1406-1414)

Уровни хемерина в сыворотке коррелируют с индексом массы тела (Bozaoglu, Bolton et al., *Chemerin is a novel adipokine associated with obesity and metabolic syndrome*. *Endocrinology*, 2007, **148**(10): 4687-4694), и поэтому неудивительно, что хемерин вызывает все больший интерес в связи с его ролью в заболеваниях, связанных с ожирением. Обработка клеток 3T3-L1 хемерином увеличивала передачу сигналов инсулина и индуцированное инсулином поглощение глюкозы. (Takahashi, Takahashi et al., *Chemerin enhances insulin signaling and potentiates insulin-stimulated glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes*. *FEBS Lett*, 2008, **582**(5): 573-578). Это многообещающее свойство для лечения диабета, по всей видимости, сохраняется в хемерине-9: В мышинной модели сахарного диабета поджелудочной железы лечение хемерином-9 показало значительное облегчение непереносимости глюкозы за счет повышения уровней экспрессии транспортера глюкозы glut2 и фактора промотора инсулина 1. (Tu, Yang et al., *Regulatory effect of chemerin and therapeutic efficacy of chemerin9 in pancreatic diabetes mellitus*. *Mol Med Rep*, 2020, **21**(3): 981-988)

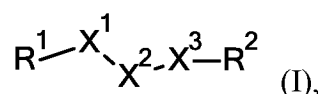
Помимо роли в воспалении и ожирении, появляются доказательства того, что хемерин также является потенциальной мишенью для лечения рака. Хемерин способствует инвазии клеток плоскоклеточного рака пищевода (Kumar, Kandola et al., *The role of chemerin and ChemR23 in stimulating the invasion of squamous oesophageal cancer cells*. *Brit J Cancer*, 2016, **114**(10): 1152-1159), а ингибирование

оси хемерин/CMKLR1 в клетках нейробластомы снижает рост опухоли и жизнеспособность клеток *in vivo*. (Tummler, Snapkov et al., *Inhibition of chemerin/CMKLR1 axis in neuroblastoma cells reduces clonogenicity and cell viability in vitro and impairs tumor growth in vivo*. *Oncotarget*, 2017, **8**(56): 95135-95151) Предполагается, что при колоректальном раке CMKLR1 играет важную роль в росте опухоли, стимулируя ангиогенез. (Kiczmer, Senkowska et al., *Assessment of CMKLR1 level in colorectal cancer and its correlation with angiogenic markers*. *Exp Mol Pathol*, 2020, **113**(104377) С другой стороны, хемерин подавлял метастазы гепатоцеллюлярной карциномы у мышей. (Li, Yin et al., *Chemerin suppresses hepatocellular carcinoma metastasis through CMKLR1-PTEN-Akt axis*. *British Journal of Cancer*, 2018, **118**(10): 1337-1348).

Эти результаты четко демонстрируют потенциал полученных из хемерина пептидов для лечения различных заболеваний, но при этом нативные пептиды характеризуются чрезвычайно низкой стабильностью в плазме, в связи с чем требуются более стабильные и эффективные производные. (Bandholtz, Wichard et al., *Molecular evolution of a peptide GPCR ligand driven by artificial neural networks*. *PLoS One*, 2012, **7**(5): e36948) Предыдущие исследования, направленные на разработку более стабильных производных хемерина-9, были сосредоточены исключительно на введении природных аминокислот, что привело к разработке производных с периодом полувыведения из плазмы в четыре часа. (Shimamura, Matsuda et al., *Identification of a stable chemerin analog with potent activity toward ChemR23*. *Peptides*, 2009, **30**(8): 1529-1538) Это все еще далеко от оптимального для потенциального терапевтического применения. Циклические производные хемерина-9 описаны в *Journal of Medicinal Chemistry* **2021** *64* (6), 3048-3058.

Настоящее изобретение в целом относится к циклическим производным хемерина-9 с улучшенной стабильностью в плазме и к способам их получения и применения.

Настоящее изобретение предоставляет соединения общей формулы (I)



в которой

R¹ отсутствует

или

представляет собой 6-карбокситетраметилпродамин (Tam), ##C(O)R³, C₈-C₂₀ жирную кислоту или последовательность R⁴GFLG##, R⁴-C=N-NH-##, R⁴-S-S-##, R⁴-N=N-##, R⁴-Валин-Цитруллин-##, R⁴-C(O)O-## или R⁴NH-C(O)O-##,

причем

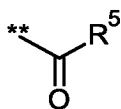
обозначает присоединение к концевой аминогруппе X¹,

R³ представляет собой C₁-C₆-алкилен, арил, гетероарил, C₃-C₈-циклоалкил или C₃-C₇-гетероциклоалкил,

причем C₁-C₆-алкилен до трех раз замещен одинаково или различно радикалом, выбранным из группы, состоящей из гидроксила, метокси, этокси, карбоксии, амино и галогена,

причем арил, гетероарил, C₃-C₈-циклоалкил и C₃-C₇-гетероциклоалкил могут быть до трех раз замещены одинаково или различно радикалом, выбранным из группы C₁-C₄-алкила, гидроксила, метокси, этокси, карбонила, карбоксии, амино и галогена,

R⁴ представляет собой



в которой

R⁵ представляет собой C₁-C₆-алкилен, арил, гетероарил, C₃-C₈-циклоалкил или C₃-C₇-гетероциклоалкил,

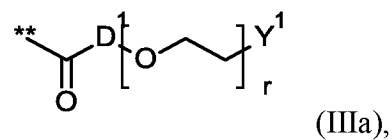
причем C₁-C₆-алкилен до трех раз замещен одинаково или различно радикалом, выбранным из группы, состоящей из гидроксила, метокси, этокси, карбоксии, амино и галогена,

причем арил, гетероарил, C₃-C₈-циклоалкил и C₃-C₇-гетероциклоалкил могут быть до трех раз замещены одинаково или различно радикалом, выбранным из

группы C₁-C₄-алкила, гидроксила, метокси, этокси, карбонила, карбокси, амино и галогена,

или

представляет собой группу формулы (Ша)



в которой

** обозначает присоединение к атому азота,

D¹ представляет собой C₁-C₄-алкилен,

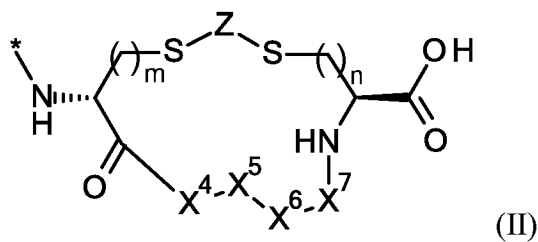
Y¹ выбран из группы, состоящей из гидроксила, метокси, этокси, карбокси, карбоксамида или амино,

причем амино может быть замещен 6-карбокситетраметил-родамином (Tam) посредством амидной связи,

и

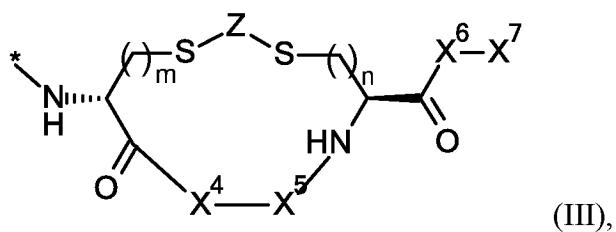
r представляет собой целое число от 2 до 15,

R² представляет собой группу формулы (II)



или

представляет собой группу формулы (III)



в которой

- * представляет собой присоединение к карбонильному атому карбоксильной группы X^3 ,
- Z представляет собой связь или $-CH_2-$,
- m представляет собой 1 или 2,
- n представляет собой 1 или 2,
- X^1 представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из L, I, F, H, M, W, Y или y, или не природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из L-норлейцина (Nle), 2,3,3a,4,5,6,7,7a-октагидроиндол-2-карбоновой кислоты (Oic), 4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2,5-дифторфенилаланина ((2,5-дифтор)F), 2-хлорфенилаланина ((2-хлор)F), 3-хлорфенилаланина ((3-хлор)F), 4-хлорфенилаланина ((4-хлор)F), 2-бромфенилаланина ((2-бром)F), 3-бромфенилаланина ((3-бром)F), 4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2-фторфенилаланина ((2-фтор)F), 3-фторфенилаланина ((3-фтор)F), 4-фторфенилаланина ((4-фтор)F), (2,5-дифторфенил-аланина, 2-метилфенилаланина ((2-Me)F), 3-метилфенилаланина ((3-Me)F), 4-метилфенилаланина ((4-Me)F), (2S)-3-(2,3-дифторфенил)-2-аминопропановой кислоты, фенилглицина (Phg) N-фенилглицина ((N-Ph)G), 3-хлорфенилглицина ((3-хлор-Ph)G), 3-(1,3-бензотиазол-2-ил)-аланин 1-бензилгистидина (H(1-Bn)), 1-метилгистидина (H(1-Me)), 3-метилгистидина (3-Me)H), 2-пиридилаланина (2-Pal), 3-пиридилаланина (3-Pal), 4-пиридилаланина (4-Pal), 3-(аминометил)бензойной кислоты, 1-нафтилаланина (1-Nal), 2-нафтилаланина (2-Nal), (2R)-амино-(1-метил-1H-индазол-5-ил)уксусной кислоты и (2S)-3-(индол-4-ил)-2-(амино)пропановой кислоты, принимая во внимание, что любая природная аминокислота и/или не природная аминокислота из этого списка может находиться в D- или L-стереоконфигурации,
- X^2 представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из L, I, F, H, M, W или Y, или не природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из L-норлейцина (Nle), 2,3,3a,4,5,6,7,7a-октагидроиндол-2-карбоновой кислоты (Oic), L-4-

бромфенилаланина ((4-бром)F), 2,5-дифтор-L-фенилаланина ((2,5-дифтор)F), 2-хлор-L-фенилаланина ((2-хлор)F), 3-хлор-L-фенилаланина ((3-хлор)F), 4-хлор-L-фенилаланина ((4-хлор)F), L-2-бромфенилаланина ((2-бром)F), L-3-бромфенилаланина ((3-бром)F), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2-фтор-L-фенилаланина ((2-фтор)F), 3-фтор-L-фенилаланина ((3-фтор)F), 4-фтор-L-фенилаланина ((4-фтор)F), (2,5-дифтор-L-фенилаланина, 2-метил-L-фенилаланина ((2-Ме)F), 3-метил-L-фенилаланина ((3-Ме)F), 4-метил-L-фенилаланина ((4-Ме)F), (2S)-3-(2,3-дифторфенил)-2-аминопропановой кислоты, L-фенилглицина (Phg) N-фенилглицина ((N-Ph)G), 3-хлорфенилглицина ((3-хлор-Ph)G), 3-(1,3-бензотиазол-2-ил)-L-аланин 1-бензил-L-гистидина (H(1-Bn)), 1-метил-L-гистидина (H(1-Ме)), L-3-метилгистидина (3-Ме)H), L-2-пиридилаланина (2-Pal), L-3-пиридилаланина (3-Pal), L-4-пиридилаланина (4-Pal), 3-(аминометил)бензойной кислоты, L-1-нафтилаланина (1-Nal), L-2-нафтилаланина (2-Nal), (2R)-амино-(1-метил-1H-индазол-5-ил)уксусной кислоты и (2S)-3-(индол-4-ил)-2-(амино)пропановой кислоты,

X³ представляет собой природную аминокислоту P, или неприродную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из 2,3,3а,4,5,6,7,7а-октагидроиндол-2-карбоновой кислоты (Oic), L-гидроксипролина (Hур), (2S,4S)-4-трифторметил-пирролидин-2-карбоновой кислоты ((4-CF₃)P), (2S,4S)-4-фторпролина ((цис-4-фтор)P), транс-4-фторпролина ((транс-4-фтор)P), (2S)-2-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты, L-транс-3-гидроксипролина ((3S-OH)P), L-пипеколиновой кислоты (Pip), (1R,3S,5R)-2-азабицикло[3.1.0]гексан-3-карбоновой кислоты, (6S)-5-азаспиро[2.4]гептан-6-карбоновой кислоты, rel-(1R,3R,5R,6R)-6-(трифторметил)-2-азабицикло[3.1.0]гексан-3-карбоновой кислоты, (2S)-2-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты, (2S,3аS,6аS)-октагидроциклопента[b]пиррол-2-карбоновой кислоты, транс-4-фторпролина ((транс-4-фтор)P), (2S,4S)-4-фторпролина ((цис-4-фтор)P), L-4,4-дифторпролина ((дифтор)P), rel-(3R,6R)-1,1-дифтор-5-азаспиро[2.4]гептан-6-карбоновой кислоты (энантиомер 1) и rel-

(3R,6R)-1,1-дифтор-5-азаспиро[2.4]гептан-6-карбоновой кислоты (энантиомер 2),

- X⁴ представляет собой природную аминокислоту или неприродную аминокислоту, принимая во внимание, что любая природная аминокислота и/или неприродная аминокислота из этого списка может находиться в D- или L-стереоконфигурации,
- X⁵ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F, H, W или Y, или неприродную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из циклогексилаланина (Cha), 2,3,3a,4,5,6,7,7a-октагидроиндол-2-карбоновой кислоты (Oic), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2,5-дифтор-L-фенилаланина ((2,5-дифтор)F), 2-хлор-L-фенилаланина ((2-хлор)F), 3-хлор-L-фенилаланина ((3-хлор)F), 4-хлор-L-фенилаланина ((4-хлор)F), L-2-бромфенилаланина ((2-бром)F), L-3-бромфенилаланина ((3-бром)F), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2-фтор-L-фенилаланина ((2-фтор)F), 3-фтор-L-фенилаланина ((3-фтор)F), 4-фтор-L-фенилаланина ((4-фтор)F), (2,5-дифтор-L-фенилаланина, 2-метил-L-фенилаланина ((2-Me)F), 3-метил-L-фенилаланина ((3-Me)F), 4-метил-L-фенилаланина ((4-Me)F), (2S)-3-(2,3-дифторфенил)-2-аминопропановой кислоты, L-фенилглицина (Phg) N-фенилглицина ((N-Ph)G), 3-хлорфенилглицина ((3-хлор-Ph)G), 3-(1,3-бензотиазол-2-ил)-L-аланин 1-бензил-L-гистидина (H(1-Bn)), 1-метил-L-гистидина (H(1-Me)), L-3-метилгистидина (3-Me)H), L-2-пиридилаланина (2-Pal), L-3-пиридилаланина (3-Pal), L-4-пиридилаланина (4-Pal), 3-(аминометил)бензойной кислоты, L-1-нафтилаланина (1-Nal), L-2-нафтилаланина (2-Nal), (2R)-амино-(1-метил-1H-индазол-5-ил)уксусной кислоты и (2S)-3-(индол-4-ил)-2-(амино)пропановой кислоты,
- X⁶ представляет собой природную аминокислоту или неприродную аминокислоту, принимая во внимание, что любая природная аминокислота и/или неприродная аминокислота из этого списка может находиться в D- или L-стереоконфигурации,

причем любая природная аминокислота и/или неприродная аминокислота, содержащая аминогруппу, может быть замещена β -карбокситетраметилпроламином (Tam) или ##C(O)R³,

причем

обозначает присоединение к концевой аминогруппе X¹,

R³ представляет собой C₁-C₆-алкилен, арил, гетероарил, C₃-C₈-циклоалкил или C₃-C₇-гетероциклоалкил,

причем C₁-C₆-алкилен до трех раз замещен одинаково или различно радикалом, выбранным из группы, состоящей из гидроксила, метокси, этокси, карбокси, амино и галогена,

причем арил, гетероарил, C₃-C₈-циклоалкил и C₃-C₇-гетероциклоалкил могут быть до трех раз замещены одинаково или различно радикалом, выбранным из группы C₁-C₄-алкила, гидроксила, метокси, этокси, карбонила, карбокси, амино и галогена,

X⁷ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F, H, W или Y, или неприродную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из циклогексилаланина (Cha), 2,3,3a,4,5,6,7,7a-октагидроиндол-2-карбоновой кислоты (Oic), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2,5-дифтор-L-фенилаланина ((2,5-дифтор)F), 2-хлор-L-фенилаланина ((2-хлор)F), 3-хлор-L-фенилаланина ((3-хлор)F), 4-хлор-L-фенилаланина ((4-хлор)F), L-2-бромфенилаланина ((2-бром)F), L-3-бромфенилаланина ((3-бром)F), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2-фтор-L-фенилаланина ((2-фтор)F), 3-фтор-L-фенилаланина ((3-фтор)F), 4-фтор-L-фенилаланина ((4-фтор)F), (2,5-дифтор-L-фенилаланина, 2-метил-L-фенилаланина ((2-Me)F), 3-метил-L-фенилаланина ((3-Me)F), 4-метил-L-фенилаланина ((4-Me)F), (2S)-3-(2,3-дифторфенил)-2-аминопропановой кислоты, L-фенилглицина (Phg) N-фенилглицина ((N-Ph)G), 3-хлорфенилглицина ((3-хлор-Ph)G), 3-(1,3-бензотиазол-2-ил)-L-аланин 1-бензил-L-гистидина (H(1-Bn)), 1-метил-L-гистидина (H(1-Me)), L-3-метилгистидина (3-Me)H), L-2-пиридилаланина (2-Pal),

L-3-пиридилаланина (3-Pal), L-4-пиридилаланина (4-Pal), 3-(аминометил)бензойной кислоты, L-1-нафтилаланина (1-Nal), L-2-нафтилаланина (2-Nal), (2R)-амино-(1-метил-1H-индазол-5-ил)уксусной кислоты и (2S)-3-(индол-4-ил)-2-(амино)пропановой кислоты,

или его фармацевтически приемлемой соли, гидрата, сольвата или сольвата соли, при условии, что исключено соединение YFP[cQFAFC].

Соединения по изобретению представляют собой соединения формулы (I) и соли, сольваты, а также сольваты их солей, соединения, которые охватываются формулой (I) и имеют указанные ниже формулы, а также соли, сольваты и сольваты их солей и соединения, охватываемые формулой (I) и представленные ниже в качестве рабочих примеров, а также соли, сольваты и сольваты их солей, если соединения, охватываемые формулой (I) и упомянутые ниже, еще не являются солями, сольватами и сольватами солей.

Соединения по изобретению также представляют собой *N*-оксиды и *S*-оксиды соединений формулы (I), а также соли, сольваты и сольваты их солей.

Если иные определения не предусмотрены для них в настоящем документе, то научно-технические термины, используемые в данной заявке, имеют значения, обычно понятные специалистам в данной области. В целом, номенклатура, используемая в связи с химией, молекулярной биологией, клеточной и раковой биологией, иммунологией, микробиологией, фармакологией и химией белков и нуклеиновых кислот, а также методы, описанные в настоящем документе, хорошо известны и широко используются в данной области.

По всему тексту описания слово «содержать» или его словоформы, такие как «содержит» или «содержащий», следует понимать, как подразумевающее включение указанного целого числа (или компонентов) или группы целых чисел (или компонентов), но не предусматривающее исключение любого другого целого числа (или компонентов) или группы целых чисел (или компонентов). Если иное не предполагается по контексту, то при использовании по тексту настоящего документа формы единственного числа также подразумевается и множественное. Термины «включающий» и «содержащий» используются для обозначения выражения «включая, помимо прочего», и эти выражения могут использоваться

взаимозаменяемо. В частности, выражение «соединение, содержащее пептид» означает соединение, которое содержит определенную пептидную последовательность и может в некоторых случаях содержать дополнительные химические группы или заместители, ковалентно связанные с пептидом, например, аминокислоты, жирные кислоты, химические группы для улучшения фармакодинамических или фармакокинетических свойств пептида или любые другие химические группы. Также следует понимать, что выражение «соединение, содержащее пептид» явно включает определенную пептидную последовательность без каких-либо дополнительных химических групп или заместителей, ковалентно связанных с этим пептидом.

Если не указано иное, при использовании по тексту настоящего документа следующие термины имеют присвоенные им значения. «Преимущественно состоящий из» понимается как пептид, который на, по меньшей мере, 80 %, по меньшей мере, 85 %, по меньшей мере, 90 %, по меньшей мере, 95 %, по меньшей мере, 96 %, по меньшей мере, 97 %, по меньшей мере, 98 % или, по меньшей мере, 99% идентичен пептиду, с которым он сравнивается.

Термины «белок», «полипептид» и «пептид» используются взаимозаменяемо для обозначения в широком смысле последовательности из двух или более аминокислот, связанных вместе, предпочтительно пептидными (амидными) связями. Пептидные (амидные) связи образуются при реакции карбоксильной группы одной кислоты с аминогруппой другой аминокислоты. Также следует понимать, что термины «белок», «полипептид» и «пептид» не указывают на конкретную длину полимера аминокислоты, а также предусматривают возможности, чтобы подразумевать или различать, получен ли полипептид с использованием рекомбинантных методов, химического или ферментативного синтеза, или встречается в природе. Также следует понимать, что пептид может содержать одну или более частей, которые не являются аминокислотами согласно определению настоящей заявки. Эти части предпочтительно находятся на N- и C-концах пептида.

Термин «аминокислота» или «любая аминокислота» при использовании по тексту настоящего документа относится к органическим соединениям, содержащим аминные (-NH₂) и карбоксильные (-COOH) функциональные группы, наряду с боковой цепью, и относится к абсолютно всем аминокислотам, включая

те, которые встречаются в природе (например, α -L-аминокислоты), природные, модифицированные и неприродные аминокислоты. «Природные аминокислоты» включают те, которые встречаются в природе, как, например, 23 аминокислоты, которые объединяются в пептидные цепи с образованием строительных блоков огромного количества белков. В основном это L-стереоизомеры, хотя некоторые D-аминокислоты встречаются в бактериальных оболочках и некоторых антибиотиках. 20 протеиногенных природных аминокислот в стандартном генетическом коде перечислены в таблице 2. «Нестандартными» природными аминокислотами являются пирролизин (обнаружен у метаногенных организмов и других эукариот), селеноцистеин (присутствует у многих неэукариот, а также у большинства эукариот) и N-формилметионин (кодируется стартовым кодоном AUG у бактерий, митохондрий и хлоропластов).

«Ненатуральные» или «неприродные» аминокислоты – это непротеиногенные аминокислоты (т.е. аминокислоты, которые не кодированы естественным образом или не обнаружены в генетическом коде), которые встречаются в природе или синтезируются химическим путем. Известно более 140 природных аминокислот, и возможны тысячи других комбинаций. Примерами «неприродных» аминокислот являются β -аминокислоты ($\beta 3$ и $\beta 2$), гомоаминокислоты, производные пролина и пировиноградной кислоты, 3-замещенные производные аланина, производные глицина, циклозамещенные производные фенилаланина и тирозина, аминокислоты с линейным ядром, диаминокислоты, D-аминокислоты и N-метил аминокислоты. Ненатуральные или неприродные аминокислоты также включают модифицированные аминокислоты. «Модифицированные» аминокислоты включают аминокислоты (например, природные аминокислоты), которые были химически модифицированы для включения группы, групп или химического фрагмента, не присутствующего в аминокислоте в природе. По настоящему изобретению предпочтительные природные аминокислоты перечислены в таблице 1. В таблице 1 представлены природные аминокислоты в виде D- и/или L-стереоизомеров, однако предпочтительными природными аминокислотами согласно изобретению являются как D-, так и L-стереоизомеры природных аминокислот, перечисленных в Таблице 1.

Таблица 1: Предпочтительные неприродные аминокислоты

(1R,2R)-2-амино-1-циклопентанкарбоновая кислота (R,R-ACPC)
 (1R,3S)-3-(амино)циклопентанкарбоновая кислота
 (1R,3S,5R)-2-азабицикло[3.1.0]гексан-3-карбоновая кислота
 (1S,2S)-2-амино-1-циклопентанкарбоновая кислота (S,S-ACPC)
 (1S,2S,5R)-3-азабицикло[3.1.0]гексан-2-карбоновая кислота
 (1R,2S,5S)-3-азабицикло[3.1.0]гексан-2-карбоновая кислота
 (1S,3R)-3-(амино)циклопентанкарбоновая кислота
 (1S,3R)-3-(амино)циклопентанкарбоновая кислота
 (1S,3R,4R)-2-азабицикло[2.2.1]гептан-3-карбоновая кислота
 (2S)-2-(амино)-2-[(1S,3R)-3-гидроксициклогексил]уксусная кислота
 (2S)-2-(амино)-2-[(1S,3S)-3-гидроксициклогексил]уксусная кислота
 (2R)-амино-(1-метил-1H-индазол-5-ил)уксусная кислота
 (2S)-2-амино-5-метил-гексановая кислота
 (2S)-2-[(3R)-3-амино-2-оксопирролидин-1-ил]-4-метилпентановая кислота
 (2S)-2[(амино)-2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)]уксусная кислота
 (2S)-2-амино-3-(1-метилциклопропил)пропановая кислота
 (2S)-2-амино-3-(2,3,4,5,6-пентафторфенил)пропановая кислота
 (2S)-2-амино-3-(4-трет-бутилфенил)пропановая кислота
 (2S)-2-амино-4-(бензиламино)-4-оксобутанкарбоновая кислота
 (2S)-2-амино-4,4,4-трифторбутановая кислота
 (2S)-2-амино-5-метил-гексановая кислота
 (2S)-3-(2,3-дифторфенил)-2-аминопропановая кислота
 (2S)-3-(3-цианофенил)-2-аминопропановая кислота
 (2S)-3-(4-карбоксифенил)-2-аминопропановая кислота
 (2S)-3-(индол-4-ил)-2-(амино)пропановая кислота
 (2S)-3-(триазол-1-ил)-2-(амино)пропановая кислота
 (2S)-амино-(1-метил-1H-индазол-5-ил)уксусная кислота
 (2S)-амино-2-[3-(трифторметил)бицикло[1.1.1]пент-1-ил]уксусная кислота
 (2S)-пирролидин-2-илуксусная кислота (бета-гомо-P)
 (2S,3aS,6aS)-октагидроциклопента[b]пиррол-2-карбоновая кислота
 (2S,3S)-2-((амино)метил)-3-метилпентановая кислота
 (2S,3S)-2-[(3R)-3-амино-2-оксопирролидин-1-ил]-3-метилпентановая кислота

(2S,3S)-2-[(3S)-2-оксопиперазин-1-ил]-3-метилпентановая кислота
 (2S,4S)-4-фторпролин ((цис-4-фтор)P)
 (2S,4S)-4-трифторметил-пирролидин-2-карбоновая кислота ((4-CF₃)P)
 (3R,6R)-1,1-дифтор-5-азаспиро[2.4]гептан-6-карбоновая кислота (энантиомер 1)
 (3R,6R)-1,1-дифтор-5-азаспиро[2.4]гептан-6-карбоновая кислота (энантиомер 2)
 (4aR,6aR,9S,11aS)-11-оксо-2,3,4,4a,6a,7,8,9,11,11a-декагидро-1H-пиридо[3,2-
 e]пирроло[1,2-a]азепин-9-карбоновая кислота
 (6S)-5-азаспиро[2.4]гептан-6-карбоновая кислота
 (R)-3-аминоадипиновая кислота
 (R)-4-амино-6-метилгептановая кислота
 (R)-пиперидин-3-карбоновая кислота
 (R)-пирролидин-3-карбоновая кислота
 (S)-(1-пиперидин-3-ил)-уксусная кислота
 (S)-(трифторметил)-L-цистеин
 (S)-2-(амино)-1,6-гександикарбоновая кислота (AAD)
 (S)-2-амино-2-циклобутилуксусная кислота (Cbg)
 (S)-2-амино-3-этил-пентановая кислота
 (S)-3-(1-пирролидин-2-ил)-пропионовая кислота
 (S)-4-пиперазин-2-карбоновая кислота
 (S)-пиперидин-3-карбоновая кислота
 (S)-пирролидин-2-карбоновая кислота (бета-P)
 [(2R)-4,4-дифторпирролидин-2-ил]уксусная кислота
 1-(аминометил)-циклопропил-1-карбоновая кислота
 1,13-диамино-4,7,10-триоксатридекан-сукцинамовая кислота
 12-амино-4,7,10-триоксадодекановая кислота
 14-амино-3,6,9,12-тетраоксатетрадекановая кислота
 15-амино-4,7,10,13-тетраокса(Пен)тадекановая кислота
 17-амино-3,6,9,12,15-(Пен)таоксагептадекановая кислота
 18-амино-4,7,10,13,16-(Пен)таоксоктадекановая кислота
 1-амино-3,6,9,12,15,18,21,24,27-нонаоксатриаконтан-30-овая кислота
 1-амино-3,6,9,12,15,18,21,24-октаоксагептакозан-27-овая кислота
 1-амино-3,6,9,12,15,18,21-гептаоксатетракозан-24-овая кислота
 1-амино-3,6,9,12,15,18-гексаоксагеникозан-21-овая кислота

1-аминоциклобутан-1-карбоновая кислота (ACBA)
1-бензил-L-гистидина (H(1-Bn))
1-метил-L-гистидина (H(1-Me))
2-(Циклогексиламино)уксусная кислота
2,3,3а,4,5,6,7,7а-октагидроиндол-2-карбоновая кислота (Oic)
2,5-дифтор-L-фенилаланин
2-[(1S,2S)-1-(амино)-2-метилбутил]-1,3-оксазол-4-карбоновая кислота
2-амино-1,7-гептандикарбоновая кислота
2-амино-5,5,5-трифтор-4-метил-пентановая кислота
2-амино-7-(трет-бутокси)-7-оксогептановая кислота
2-аминоизомаляновая кислота (Aib)
2-хлор-L-фенилаланин ((2-хлор)F)
2-фтор-L-фенилаланин ((2-фтор)F)
2-метил-D-аллоизо-лейцин
2-метил-L-фенилаланин ((2-Me)F)
2-метил-L-пролин (2-Me)P,
3-(1,3-бензотиазол-2-ил)-L-аланин ((Bth)A)
3-(аминометил)бензойная кислота
3-(триметилсилил)-L-аланин
3-амино-2,2-диметилпропионовая кислота
3-аминометилфенилуксусная кислота
3-азидо-L-аланин
3-карбоксифенилаланин
3-хлор-L-фенилаланин
3-хлорфенилглицин ((3-хлор-Ph)G)
3-циано-L-фенилаланин
3-этил-L-норвалин
3-фтор-L-фенилаланин
3-метил-L-фенилаланин
4-(3,5-диметил-1,2-оксазол-4-ил)-L-фенилаланин
4-(аминометил)бензойная кислота
4-аминометилфенилуксусная кислота
4-этил-L-норлейцин

4-фтор-лейцин ((4-фтор)L)
4-фтор-L-фенилаланин ((4-фтор)F)
5,5,5-трифтор-L-лейцин ((трифтор)L)
5-азаспиро[2.4]гептан-6-карбоновая кислота
6-аминогексановая кислота (Ahx)
8-аминокубан-1-карбоновая кислота
9-амино-4,7-диоксанонановая кислота
алло-L-изо-лейцин (алло-I)
алло-L-треонин (алло-T)
аминоциклобутанкарбоновая кислота (ACBC)
аминоизомасляная кислота (Aib)
бета-аланин (бета-A)
циклогексилаланин (Cha)
D-2-хлорфенилаланин
D-бета-пролин
D-циклогексилаланин
D-гидроксипролин
D-N-метилаланин
гамма-аминомасляная кислота (гамма-Abu)
гидроксипролин (Hyp)
иминодиуксусная кислота
L- гомосерин (hSer)
L-1-нафтилаланин (1-Nal)
L-2,3-диаминопропионовая кислота (Dap)
L-2,4-диаминомасляная кислота (Dab)
L-2,6-дифторфенилаланин
L-2-амино-4-цианомасляная кислота
L-2-аминомасляная кислота (Abu)
L-2-бромфенилаланин ((2-бром)F)
L-2-нафтилаланин (2-Nal)
L-2-пиридилаланин (2-Pal)
L-2-тиенилаланин
L-3-бромфенилаланин ((3-бром)F)

L-3-метилгистидина (H(3-Me))
L-3-пиридилаланин (3-Pal)
L-4,4-дифторпролин ((дифтор)P)
L-4-аминофенилаланин ((4-амино)F)
L-4-бромфенилаланин
L-4-пиридилаланин
L-цитруллин (Cit)
L-циклобутилаланин (Cba)
L-циклобутилглицинд
L-циклогексилаланин
L-циклогексилглицин
L-циклогексилглицин (Chg)
L-циклопентилаланин
L-циклопентилаланин (Cpa)
L-циклопентилглицин (Cpg)
L-циклопропилметилаланин
L-диформетилаланин
L-дигидрооротовая кислота (Hoo)
L-гомоцистеин
L-гидроксипролин (Hyp)
L-метионин-L-сульфоксид
L-метионин-сульфон
L-N,N-диметилаланин ((N,N-diMe)A)
L-N-метилаланин
L-N-метилцистеин ((N-Me)C)
L-N-метилизолейцин ((N-Me)I)
L-N-метилфенилаланин ((N-Me)F)
L-норлейцин (Nle)
L-норвалин (Nva)
L-орнитин (Orn)
L-пеницилламин (Pen)
L-фенилглицин (Phg)
L-пипеколиновая кислота (Pip)

L-пропаргилглицин
 L-пироглутаминовая кислота (Pyr)
 L-трет-бутилаланин ((tBu)A)
 L-трет-бутилглицин ((tBu)G)
 L-транс-3-гидроксипролин ((3S-OH)P)
 L-трифторметилаланин
 морфолин-3-карбоновая кислота
 N(5)-метил-L-аргинин ((Me)R)
 N-э-изопропил-L-лизин
 N-метил-аланин (N-Me)A
 N-метил-глицин ((N-Me)G)
 N-фенилглицин ((N-Ph)G)
 пальмитиновая кислота (Palm)
 rel-(1R,2S)-2-амино-1-циклопентанкарбоновая кислота (ACPC)
 rel-(1R,3R,5R,6R)-6-(трифторметил)-2-азабицикло[3.1.0]гексан-3-карбоновая
 кислота
 rel-(1R,3S)-3-[(амино)метил]циклогексанкарбоновая кислота
 rel-(3R,6R)-1,1-дифтор-5-азаспиро[2.4]гептан-6-карбоновая кислота (энантиомер 1)
 rel-(3R,6R)-1,1-дифтор-5-азаспиро[2.4]гептан-6-карбоновая кислота (энантиомер 2)
 S-2-амино-3-этил-пентановая кислота
 S-3-1-пирролидин-2-ил-пропионовая кислота
 транексамовая кислота (Tranexamic)
 транс-2-(3-(амино)циклогексил)уксусная кислота
 транс-4-фторпролин ((транс-4-фтор)P)
 3-амино-3-метилмасляная кислота

Более предпочтительные неприродные аминокислоты выбраны из перечня, состоящего из N-метил-аланина (N-Me)A, N-метил-глицина ((N-Me)G), (1R,3S,4S)-2-азабицикло[2.2.1]гептан-3-карбоновой кислоты, L-3-бромфенилаланина ((3-бром)F), L-N,N-диметилаланина ((N,N-diMe)A), N,N-диметилглицина ((N,N-diMe)G), N-фенилглицина ((N-Ph)G), (R)-пиперидин-3-карбоновой кислоты, (S)-пиперидин-3-карбоновой кислоты, L-трет-бутилаланина ((tBu)A), L-2-пиридилаланина (2-Pal), L-3-пиридилаланина (3-Pal), L-4-пиридилаланина (4-Pal), 3-(аминометил)бензойной кислоты, 3-амино-2,2-диметилпропионовой кислоты, 3-

амино-3-метилмасляной кислоты, 4-(аминометил)бензойной кислоты, L-2-аминомасляной кислоты (Abu), 1-аминоциклобутан-1-карбоновой кислоты (ACBA), 6-аминогексановой кислоты (Ahx), 2-аминоизомасляной кислоты (Aib), L-2-тиенилаланина (бета-2-тиенилаланин), бета-аланина (бета-A), бета-пролина (бета-P), L-цитруллина (Cit), L-2,4-диаминомасляной кислоты (Dab), L-2,3-диаминопропионовой кислоты (Dap), гамма-аминомасляной кислоты (гамма-Abu), L-3-метилгистидина (3-MeH), L-дигидрооротовой кислоты (Hoo), L-норлейцина (Nle), N-метил-L-пролина ((N-Me)P), L-Норвалина (Nva), L-Орнитин (Orn), L-пипеколиновой кислоты (Pip), (2S)-2[(амино)-2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)]уксусной кислоты; 2,3,3a,4,5,6,7,7a-октагидроиндол-2-карбоновой кислоты (Oic), L-N-метилцистеина ((N-Me)C), N(5)-метил-L-аргинина ((Me)R), L-пенициллина (Pen) и транексамовой кислоты (Tranexamic).

Наиболее предпочтительные неприродные аминокислоты выбраны из перечня, состоящего из N-метил-L-аланина (N-Me)A, N-метил-глицина ((N-Me)G), L-норлейцина (Nle), L-норвалина (Nva), L-орнитина (Orn), N(5)-метил-L-аргинина ((Me)R), L-трет-бутилаланина ((tBu)A), 2,3,3a,4,5,6,7,7a-октагидроиндол-2-карбоновой кислоты (Oic), L-N-метилцистеина ((N-Me)C) и L-пенициллина (Pen).

Далее следует понимать, что пептид по изобретению может содержать одну или более химических групп, которые не являются аминокислотами по определению настоящего изобретения. Эти химические группы могут присутствовать на N- и/или C-концах пептида и представлены формулами X⁰ и X¹⁵. Следует понимать, что все аминокислоты и химические группы пептидов по настоящему изобретению связаны пептидными (амидными) связями. Обычно пептиды образуются путем связывания α-амино- и карбоксильных групп α-аминокислот, которые затем соединяются α-пептидными связями. По настоящему изобретению пептидная связь может быть образована любой карбоксильной и аминогруппой, присутствующей в соответствующей природной или неприродной аминокислоте. Например, α-аминокислоты, которые содержат вторую аминогруппу в дополнение к α-аминогруппе (например, L-лизин) или α-аминокислоты, которые, помимо α-карбоксильной группы, содержат вторую карбоксильную группу (например, L-аспарагиновая кислота и L-глутаминовая

кислота), могут быть соединены через дополнительную amino- или карбоксильную группу.

В соответствии с пониманием специалиста в данной области, раскрытые в настоящем документе пептидные последовательности представляют собой последовательности аминокислот, которые соединены посредством α -пептидных связей.

В соответствии с пониманием специалиста в данной области, раскрытые в настоящем документе пептидные последовательности показаны слева направо, причем левый конец последовательности представляет собой «N-конец» («аминоконец», «N-терминальный конец») пептида, а правый конец последовательности является «С-концом» («карбоксиконец», «С-конец») пептида. Термин «N-конец» (аминоконец, N-терминальный конец) применяется независимо от того, действительно ли пептид содержит аминогруппу на N-конце. Термин «С-конец» (карбоксиконец, С-терминальный конец) применяется независимо от того, действительно ли пептид содержит аминогруппу на С-конце. Термин «концевая аминогруппа» относится к любой аминогруппе, находящейся на N-конце. Термин «концевая карбоксильная группа» относится к любой аминогруппе, находящейся на С-конце.

По настоящему изобретению N-конец может быть образован за счет X^1 , если отсутствует R^1 . В качестве альтернативы, N-конец может быть образован за счет R^1 .

В настоящем изобретении названия встречающихся в природе и не встречающихся в природе аминокислотных остатков, используемых в настоящем документе, предпочтительно соответствуют соглашениям об именах, предложенных Комиссией ИЮПАК по номенклатуре органической химии и Комиссией ИЮПАК-МСБ по биохимической номенклатуре, как указано в *Номенклатуре α -аминокислот (Рекомендации, 1974), Биохимия, 14(2), (1975)*.

В настоящем описании встречающиеся в природе протеиногенные аминокислоты обычно обозначаются их стандартными однобуквенными сокращениями. В качестве альтернативы они также могут обозначаться их трехбуквенными сокращениями (например, в частности, в списках последовательности) или их полными именами, как показано в Таблице 2 ниже:

Таблица 2: Стандартные сокращения для природных аминокислот

3- буквен ные	1- буквен ные	Аминокислота	3- буквен ные	1- буквен ные	Аминокислота
Ala	A	аланин	Leu	L	лейцин
Arg	R	аргинин	Lys	K	лизин
Asn	N	аспарагин	Met	M	метионин
Asp	D	аспарагиновая кислота	Phe	F	фенилаланин
Cys	C	цистеин	Pro	P	пролин
Glu	E	глутаминовая кислота	Ser	S	серин
Gln	Q	глутамин	Thr	T	треонин
Gly	G	глицин	Trp	W	триптофан
His	H	гистидина	Tyr	Y	тирозин
Ile	I	изо-лейцин	Val	V	валин

В случае с непротеиногенными или не встречающимися в природе аминокислотами, если они не упоминаются по их полному названию (например, орнитин и т.д.), для их радикалов используются часто применяемые трех- или шестизначные коды, включая сокращения, которые указаны в списке сокращений ниже (Таблица 3).

Термин «L-аминокислота» при использовании по тексту настоящего документа относится к изомерной форме аминокислоты «L», и, наоборот, термин «D-аминокислота» относится к изомерной форме аминокислоты «D». Кроме того, общепринятым обозначением L-аминокислоты является использование заглавных букв, таких как Ala / A, Arg / R и т.д., а D-аминокислоту обозначают строчными буквами, такими как ala / a, arg / r и т.д.

Если прямо не указано иное, трехбуквенный код в форме, указанной в таблице 2 выше, т.е. Ala, Arg, Asn и т.д., который обычно используется в настоящем описании, обычно включает D- и L-формы, а также гомо- и нор-формы. Префикс «нор» относится к структурному аналогу, который может быть получен из исходного соединения путем удаления одного атома углерода вместе с сопутствующими атомами водорода. Префикс «гомо» указывает на следующий вышестоящий член гомологического ряда. Ссылка на конкретную изомерную

форму будет обозначаться префиксом из заглавной буквы L- или D- согласно описанию выше (например, D-Arg, L-Arg и т.д.). Соответственно, конкретная ссылка на гомо- или нор-формы будет явно указана с помощью соответствующего префикса (например, гомо-Arg, гомо-R, нор-Arg, нор-R, гомо-Cys, гомо-C и т.д.).

Однобуквенный код в форме, указанной в таблице 2 выше, т.е. A, R, N и т.д., который обычно используется в настоящем описании, обычно включает D- и L-формы, а также гомо- и нор-формы.

Термин «C₁-C₆-алкил» означает линейную или разветвленную, насыщенную, одновалентную углеводородную группу, содержащую 1, 2, 3, 4, 5 или 6 атомов углерода, например, метил, этил, пропил, изопропил, бутил, втор-бутил, изобутил, трет-бутил, пентил, изопентил, 2-метилбутил, 1-метилбутил, 1-этилпропил, 1,2-диметилпропил, нео-пентил, 1,1 -диметилпропил, гексил, 1-метилпентил, 2-метилпентил, 3-метилпентил, 4-метилпентил, 1-этилбутил, 2-этилбутил, 1,1-диметилбутил, 2,2-диметилбутил, 3,3-диметилбутил, 2,3 -диметилбутил, 1,2-диметилбутил или 1,3-диметилбутильная группа или их изомер. В частности, указанная группа имеет 1, 2, 3 или 4 атома углерода («C₁-C₄-алкил»), например, метил, этил, пропил, изопропил, бутил, втор-бутил, изобутил, трет-бутильная группа, в частности, 1, 2 или 3 атома углерода («C₁-C₃-алкил»), например, метил, этил, n-пропил- или изопропильная группа. Особенно предпочтительными являются метил, этил, n-пропил. Наиболее предпочтительным является метил.

Термин «C₁-C₂₀-алкил» означает линейную или разветвленную, насыщенную, одновалентную углеводородную группу, содержащую от 1 до 20 атомов углерода, например, метил, этил, пропил, изопропил, бутил, втор-бутил, изобутил, трет-бутил или пентил, изопентил, гексил, изогексил, гептил, изогептил, октил и изооктил, нонил, децил, додецил или эйкозил.

Термин «C₁-C₄-алкилен» означает углеводородный мостик с прямой или разветвленной цепью, содержащий от 1 до 4 атомов углерода, e.g. метилен, этилен, пропилен, (α-метилэтилен, β-метилэтилен, α-этилэтилен, β-этилэтилен, бутилен, α-метилпропилен, β-метилпропилен и γ-метилпропилен.

Термин «C₁-C₆-алкилен» означает углеводородный мостик с прямой или разветвленной цепью, содержащий от 1 до 6 атомов углерода, e.g. метилен, этилен, пропилен, (α-метилэтилен, β-метилэтилен, α-этилэтилен, β-этилэтилен, бутилен,

α -метилпропилен, β -метилпропилен, γ -метилпропилен, α -этилпропилен, β -этилпропилен, γ -этилпропилен, пентилен и гексилен.

Термин «С₃-С₈-циклоалкил» означает насыщенное углеводородное кольцо, которое содержит 3, 4, 5, 6, 7 или 8 атомов углерода. Указанная С₃-С₈-циклоалкильная группа представляет собой, например, моноциклическое углеводородное кольцо, например, циклопропильную, циклобутильную, циклопентильную, циклогексильную, циклогептильную или циклооктильную группу, бициклическое углеводородное кольцо, например, бицикло[4.2.0]октил или октагидропенталенил, или насыщенные кольцевые группы с мостиком или клеткой, такие как норборан или адамантан и кубан.

Термин «С₃-С₇-гетероциклоалкил» означает насыщенный гетероцикл с 4, 5, 6 или 7 атомами углерода, который содержит один или два одинаковых или разных кольцевых гетероатома из ряда N, O и S, причем указанная гетероциклоалкильная группа может быть присоединена к остальной части молекулы через любой из атомов углерода или, если он присутствует, через атом азота. Указанная С₃-С₇-гетероциклоалкильная группа, помимо этого, может представлять собой 4-членное кольцо, такое как, например, азетидинил, оксетанил или тиетанил; или 5-членное кольцо, такое как, например, тетрагидрофуранил, 1,3-диоксоланил, тиоланил, пирролидинил, имидазолидинил, пиразолидинил, 1,1-диоксидотиоланил, 1,2-оксазолидинил, 1,3-оксазолидинил или 1,3-тиазолидинил; или 6-членное кольцо, такое как, например, тетрагидропиранил, тетрагидротиопиранил, пиперидинил, морфолинил, дитианил, тиоморфолинил, пиперазинил, гексагидропиримидинил, 1,3-диоксанил, 1,4-диоксанил или 1,2-оксазинанил, или 7-членное кольцо, такое как, например, азепанил, 1,4-диазепанил или 1,4-оксазепанил.

Термин «арил» означает ненасыщенный или частично ненасыщенный цикл, содержащий от 6 до 10 атомов углерода. Предпочтительными арильными радикалами являются фенил и нафтил.

Термин «гетероарил» означает моновалентное, моноциклическое бициклическое или трициклическое ароматическое кольцо, имеющее 8, 9, 10, 11, 12, 13 или 14 кольцевых атомов («5-14-членная гетероарильная» группа), в частности, 5, 6, 9 или 10 кольцевых атомов, которое содержит, по крайней мере, один кольцевой гетероатом и, в некоторых случаях, один, два или три

дополнительных кольцевых гетероатома из ряда: N, O и/или S, и которые связаны через кольцевой атом углерода или, при необходимости, через кольцевой атом азота (если это допускается валентностью). Указанная гетероарильная группа может представлять собой 5-членную гетероарильную группу, такую как, например, тиенил, фуриил, пирролил, оксазолил, тиазолил, имидазолил, пиразолил, изоксазолил, изотиазолил, оксадиазолил, триазолил, тиадиазолил или тетразолил; или 6-членную гетероарильную группу, такую как, например, пиридилил, пиридазил, пиримидил, пиразинил или триазинил; или трициклическую гетероарильную группу, такую как, например, карбазолил, акридинил или феназинил; или 9-членную гетероарильную группу, такую как, например, бензофуриил, бензотиенил, бензоксазолил, бензизоксазолил, бензимидазолил, бензотиазолил, бензотриазолил, индазолил, индолил, изоиндолил, индолизинил или пуринил; или 10-членную гетероарильную группу, такую как, например, хинолинил, хиназолинил, изохинолинил, циннолинил, фталазинил, хиноксалинил или птеридинил.

Как правило, и если не указано иное, группы гетероарила или гетероарилена включают все возможные изомерные формы этих соединений, например, таутомеры и позиционные изомеры относительно точки связи с остальной частью молекулы. Таким образом, для некоторых иллюстративных неограничивающих примеров термин пиридилил включает пиридин-2-ил, пиридин-3-ил и пиридин-4-ил; или же термин тиенил включает тиен-2-ил и тиен-3-ил.

Среди разбираемых в настоящем документе последовательностей имеются последовательности, включающие фрагмент «-ОН» или фрагмент «-NH₂» на карбоксильном конце (С-конце) последовательности. Фрагмент «-ОН» или «-NH₂» на С-конце последовательности указывает на гидроксильную группу или аминогруппу, соответствующую присутствию карбоксильной группы или, соответственно, амидогруппы (-(C=O)-NH₂) на С-конце. В каждой последовательности по изобретению С-терминальный фрагмент «-ОН» может быть заменен С-терминальным фрагментом «-NH₂», который в настоящем изобретении также обозначается как «амидированный С-конец» и наоборот. Тем не менее, среди указанных альтернатив предпочтительным является С-терминальный фрагмент «-ОН».

Термин «ацетилированный» (также сокращенно «Ac») относится к ацетильной защите N-терминальной части посредством ацетилирования N-конца пептида (N-конец пептида ацетилирован).

В контексте настоящего изобретения предпочтительными солями являются физиологически приемлемые соли соединений по настоящему изобретению. Также сюда входят соли, которые сами по себе не пригодны для фармацевтического применения, но при этом могут использоваться, например, для выделения, очистки или хранения соединений по настоящему изобретению.

Подходящая фармацевтически приемлемая соль соединений по настоящему изобретению может представлять собой, например, кислотно-аддитивную соль соединения по настоящему изобретению, несущего достаточно основной атом азота в цепи или кольце, такую как кислотно-аддитивная соль с неорганической кислотой или «минеральной кислотой», такой как, например, соляная кислота, бромистоводородная кислота, йодистоводородная кислота, серная кислота, сульфаминовая кислота, бисерная кислота, фосфорная кислота или азотная кислота, или с органической кислотой, такой как, например, муравьиная кислота, уксусная кислота, ацетоуксусная кислота, пировиноградная кислота, трифторуксусная кислота, пропионовая кислота, масляная кислота, гексановая кислота, гептановая кислота, ундекановая кислота, лауриновая кислота, бензойная кислота, салициловая кислота, 2-(4-гидроксибензоил)бензойная кислота, камфорная кислота, коричная кислота, циклопентанпропионовая кислота, диглюконовая кислота, 3-гидрокси-2-нафтойная кислота, никотиновая кислота, памовая кислота, пектиновая кислота, 3-фенилпропионовая кислота, пивалиновая кислота, 2-гидроксиэтансульфоновая кислота, итаконовая кислота, трифторметансульфоновая кислота, додецилсерная кислота, этансульфоновая кислота, бензолсульфонокислота, пара-толуолсульфонокислота, метансульфонокислота, 2-нафталинсульфонокислота, нафталиндисульфокислота, камфорсульфонокислота, лимонная кислота, винная кислота, стеариновая кислота, молочная кислота, щавелевая кислота, малоновая кислота, янтарная кислота, яблочная кислота, адипиновая кислота, альгиновая кислота, малеиновая кислота, фумаровая кислота, D-глюконовая кислота, миндальная кислота, аскорбиновая кислота, глюкогептановая кислота, глицерофосфорная кислота, аспарагиновая кислота, сульфосалициловая кислота или тиоциановая кислота.

Кроме того, также подходящей фармацевтически приемлемой солью соединения по настоящему изобретению, которая является достаточно кислотной, является соль щелочного металла, например, соль натрия или калия, соль щелочноземельного металла, например, соль кальция, магния или стронция или соль алюминия или цинка или соль аммония, полученная из указанного выше Промежуточного соединения, из аммиака или из указанного выше Промежуточного соединения, из органического первичного, вторичного или третичного амина с 1 - 20 атомами углерода, например, этиламина, диэтиламина, триэтиламина, этилдиизопропиламина, моноэтанолamina, диэтанолamina, триэтанолamina, дициклогексиламина, диметиламиноэтанола, диэтиламиноэтанола, трис(гидроксиметил)аминометана, прокаина, дибензиламина, *N*-метилморфолина, аргинина, лизина, 1,2-этилендиаминa, *N*-метилпиперидина, *N*-метил-глюкамина, *N,N*-диметил-глюкамина, *N*-этил-глюкамина, 1,6-гександиамина, глюкозамина, саркозина, серинола, 2-амино-1,3-пропандиола, 3-амино-1,2-пропандиола, 4-амино-1,2,3-бутантриола, или соль с четвертичным ионом аммония с 1 - 20 атомами углерода, таким как тетраметиламмоний, тетраэтиламмоний, тетра(*n*-пропил)аммоний, тетра(*n*-бутил)аммоний, *N*-бензил-*N,N,N*-триметиламмоний, холин или бензалконий.

Специалистам будет понятно, что кислотно-аддитивные соли соединения по настоящему изобретению могут быть получены путем реакции этих соединений с соответствующей неорганической или органической кислотой с использованием любых известных способов. В качестве альтернативы, соли щелочных или щелочноземельных металлов кислотных соединений по изобретению получают путем реакции соединений по изобретению с соответствующим основанием с использованием любых известных способов.

Настоящее изобретение включает все возможные соли соединений по настоящему изобретению, такие как отдельные соли или смеси указанных солей, в любом соотношении.

По тексту настоящего документа, в частности, в Экспериментальном разделе, для синтеза промежуточных соединений и примеров настоящего изобретения при упоминании соединения в качестве солевой формы с соответствующим основанием или кислотой, точный стехиометрический состав указанной солевой формы, полученный в рамках соответствующего процесса

приготовления и/или очистки, в большинстве случаев не известен. Если не указано иное, суффиксы, добавленные к химическим названиям или структурным формулам, относящимся к солям, таким как «гидрохлорид», «трифторацетат», «соль натрия» или «x HCl», «x CF₃COOH», «x Na⁺», например, означают солевую форму, при этом стехиометрия данной соли не указана. Это аналогичным образом распространяется и на случаи, когда синтезируемые промежуточные соединения или примеры соединений или их солей были получены в виде сольватов, например, гидратов с помощью описанных процессов получения и/или очистки.

Сольваты в контексте настоящего изобретения описаны как такие формы соединений по настоящему изобретению, которые в твердом или жидком состоянии формируют комплекс путем координации с молекулами растворителя. Гидраты являются особой формой сольватов, в которых координационная связь устанавливается с участием воды. Предпочтительными сольватами в контексте настоящего изобретения являются гидраты.

Соединения по изобретению, в зависимости от их структуры, могут существовать в различных стереоизомерных формах, т.е. в форме конфигурационных изомеров или, в соответствующих случаях, в виде конформационных изомеров (энантиомеров и/или диастереомеров, включая таковые в случае атропоизомеров). Таким образом, настоящее изобретение охватывает энантиомеры и диастереомеры и их соответствующие смеси. Из таких смесей энантиомеров и/или диастереомеров известным способом можно выделить стереоизомерно гомогенные компоненты. Предпочтение для этой цели отдается использованию хроматографических методов, особенно хроматографии ВЭЖХ на ахиральных или хиральных фазах разделения. В случае, когда в качестве промежуточных или конечных продуктов выступают карбоновые кислоты, разделение также возможно через диастереомерные соли с использованием хиральных аминовых оснований.

В контексте настоящего изобретения термин «энантиомерно чистый» понимается в том смысле, что в отношении абсолютной конфигурации хиральных центров рассматриваемое соединение присутствует в энантиомерном избытке более 95%, предпочтительно более 98%. Энантиомерный избыток, ее, рассчитывается здесь путем оценки хроматограммы анализа ВЭЖХ на хиральной фазе с использованием следующей формулы:

В случае если соединения по настоящему изобретению могут присутствовать в форме таутомеров, настоящее изобретение охватывает все таутомерные формы.

Настоящее изобретение также охватывает все соответствующие изотопные варианты соединений по настоящему изобретению. В настоящем документе под изотопным вариантом соединения по настоящему изобретению подразумевается соединение, в котором, по меньшей мере, один атом заменили на другой атом с таким же атомным числом, но с атомной массой, отличающейся от атомной массы соединения, обычно или преимущественно встречающегося в природе («ненатуральная фракция»). Под выражением «ненатуральная фракция» понимают фракцию такого изотопа выше его собственной частоты. Естественные частоты изотопов, которые следует использовать в этой связи, представлены в работе "Isotopic Compositions of the Elements 1997", Pure Appl. Chem., 70(1), 217-235, 1998. Примеры изотопов, которые могут содержаться в соединении по настоящему изобретению, включают изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, фосфора, серы, фтора, хлора, брома и йода, такие как ^2H (дейтерий), ^3H (третий), ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{32}P , ^{33}P , ^{33}S , ^{34}S , ^{35}S , ^{36}S , ^{18}F , ^{36}Cl , ^{82}Br , ^{123}I , ^{124}I , ^{129}I и ^{131}I . Использование определенных изотопных вариантов соединения по настоящему изобретению может быть предпочтительным, в особенности, тех, в которые введен один или более радиоактивных изотопов, например, для исследования механизма действия или распределения активного ингредиента в организме; из-за сравнительно простого получения и способности к легкому обнаружению, для этих целей особенно пригодны соединения, меченые изотопами ^3H или ^{14}C . В дополнение, введение изотопов, например, дейтерия может обеспечить определенные терапевтические положительные эффекты из-за более высокой метаболической стабильности соединения, например, продление периода полураспада в организме или снижение необходимой дозы; таким образом, такие модификации соединений по изобретению также могут представлять собой предпочтительный вариант реализации настоящего изобретения. Что касается лечения и/или профилактики указанных здесь нарушений, изотопный вариант(ы) соединения общей формулы (I) предпочтительно содержит дейтерий («содержащие дейтерий соединения общей формулы (I)»). Изотопные варианты соединений общей формулы (I), в которые включены один или более радиоактивных изотопов, таких как ^3H или ^{14}C , полезны,

например, в исследованиях распределения лекарственных средств и/или субстрата в тканях. Эти изотопы особенно предпочтительны из-за возможности их легкого включения и обнаружения. Можно включить испускающие позитроны изотопы, такие как ^{18}F или ^{11}C , в соединение общей формулы (I). Эти изотопные варианты соединений общей формулы (I) подходят для использования в приложениях визуализации *in vivo*. Содержащие дейтерий и ^{13}C соединения общей формулы (I) можно использовать в рамках доклинических или клинических исследований в масс-спектрометрическом анализе (H. J. Leis *et al.*, *Curr. Org. Chem.*, 1998, 2, 131). Изотопные варианты соединений формулы по настоящему изобретению могут быть получены с помощью широко используемых процессов, известных специалистам, например, с использованием способов, описанных далее по тексту, а также процедур, описанных в рабочих примерах, с использованием соответствующих изотопных модификаций соответствующих реагентов и/или исходных соединений.

Изотопные варианты соединения общей формулы (I), как правило, могут быть получены с применением способов, известных специалистам в данной области техники, как описано на схемах и/или в примерах, содержащихся в настоящем документе, путем замены реагента изотопным вариантом реагента, предпочтительно реагент с содержанием дейтерия. В соответствии с желательными областями дейтерирования в некоторых случаях можно включать дейтерий из D_2O непосредственно в соединения или в реагенты, которые можно использовать для синтеза таких соединений (Esaki *et al.*, *Tempahedron*, 2006, 62, 10954; Esaki *et al.*, *Chem. Eur. J.*, 2007, 13, 4052). Также был описан метод фотохимического дейтерирования и тритирования (Y. Y. Loh *et al.*, *Science* 10.1126/science.aap9674 (2017)). Другим полезным реагентом для включения дейтерия в молекулы является газообразный дейтерий. Быстрый путь включения дейтерия заключается в каталитическом дейтерировании олефиновых связей (H. J. Leis *et al.*, *Curr. Org. Chem.*, 1998, 2, 131; J. R. Morandi *et al.*, *J. Org. Chem.*, 1969, 34 (6), 1889) и ацетиленовые связи (N. H. Khan, *J. Am. Chem. Soc.*, 1952, 74 (12), 3018; S. Chandrasekhar *et al.*, *Tempahedron*, 2011, 52, 3865). Для прямого обмена водорода на дейтерий в углеводородах, содержащих функциональные группы, также можно использовать металлические катализаторы (т.е., Pd, Pt и Rh) в присутствии газообразного дейтерия (J. G. Atkinson *et al.*, US Patent 3966781). Различные

дейтерированные реагенты и блоки для синтеза производятся и предлагаются такими компаниями, как, например, C/D/N Isotopes, Квебек, Канада; Cambridge Isotope Laboratories Inc., Андовер, штат Массачусетс, США; и CombiPhos Catalysts, Inc., Принстон, штат Нью-Джерси, США. Дополнительную информацию, относящуюся к известному уровню техники в отношении обмена дейтерия и водорода, можно найти, например, в документах Hanzlik *et al.*, *J. Org. Chem.*, **1990**, 55, 3992-3997; R. P. Hanzlik *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1989**, 160, 844; P. J. Reider *et al.*, *J. Org. Chem.*, **1987**, 52, 3326-3334; M. Jarman *et al.*, *Carcinogenesis*, **1993**, 16(4), 683-688; J. Atzrodt *et al.*, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2007**, 46, 7744; K. Matoishi *et al.*, **2000**, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1519-1520; K. Kassahun *et al.*, WO 2012/112363.

Термин «дейтерий-содержащее соединение общей формулы (I)» определяется как соединение общей формулы (I), в котором один или более атомов водорода были замещены одним или несколькими атомами дейтерия, и в котором частота дейтерия в каждом дейтерированном положении соединения общей формулы (I) выше, чем естественная частота дейтерия, которая составляет приблизительно 0,015%. Более конкретно, в содержащем дейтерий соединении общей формулы (I) частота дейтерия в каждом дейтерированном положении соединения общей формулы (I) выше 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или 80%, предпочтительно выше 90%, 95%, 96% или 97%, более предпочтительно выше 98% или 99% в указанной позиции или позициях. Будет очевидно, что частота дейтерия во всех дейтерированных позициях не зависит от частоты дейтерия в других дейтерированных позициях.

Выборочное включение одного или нескольких атомов дейтерия в соединение общей формулы (I) может изменить физико-химические свойства (например, кислотность [A. Streitwieser *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 1963, 85, 2759; C. L. Perrin, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, 129, 4490], basicity [C. L. Perrin *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, 125, 15008; C. L. Perrin in *Advances in Physical Organic Chemistry*, 44, 144; C. L. Perrin *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127, 9641], lipophilicity [B. Testa *et al.*, *Int. J. Pharm.*, 1984, 19(3), 271]) и/или метаболический профиль молекулы и привести к изменениям в отношении родительского соединения к метаболитам или в количестве образовавшихся метаболитов. Такие изменения могут привести к определенным терапевтическим преимуществам и, следовательно, являются более

предпочтительными при определенных обстоятельствах. Было описано уменьшение скорости процессов метаболизма и метаболические модуляции, когда имеют место изменения в отношении метаболитов (D. J. Kushner et al., *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1999, 77, 79; A. E. Mutlib et al., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2000, 169, 102). Эти изменения в воздействии исходного соединения и метаболитов могут иметь важные последствия в отношении фармакодинамики, переносимости и терапевтической эффективности дейтерий-содержащего соединения общей формулы (I). В некоторых случаях замещение дейтерия уменьшает или предотвращает образование нежелательных или токсических метаболитов и усиливает образование желательных метаболитов (e.g. Nevirapine: A. M. Sharma et al., *Chem. Res. Toxicol.*, 2013, 26, 410; Uetrecht et al., *Chemical Research in Toxicology*, 2008, 21, 9, 1862; Efavirenz: A. E. Mutlib et al., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2000, 169, 102). В других случаях, основным эффектом дейтерирования является уменьшение скорости системного клиренса. В результате этого биологический период полураспада соединения увеличивается. Потенциальные клинические преимущества могут включать способность поддерживать одинаковые показатели системного воздействия при снижении пиковых уровней и повышении остаточных уровней. Это может привести к снижению побочных эффектов и усилению эффективности, в зависимости от отношения фармакокинетики и фармакодинамики определенного соединения. Индиплон (A. J. Morales et al., Abstract 285, The 15th North American Meeting of the International Society of Xenobiotics, San Diego, CA, October 12-16, 2008), ML-337 (C. J. Wenthur et al., *J. Med. Chem.*, 2013, 56, 5208), и оданакатиб (K. Kassahun et al., WO2012/112363) являются примерами этого эффекта дейтерия. Также были описаны другие случаи, при которых сниженная скорость метаболизма приводит к увеличению воздействия лекарственного средства без изменения скорости системного клиренса (e.g. Rofecoxib: F. Schneider et al., *Arzneim. Forsch. Drug. Res.*, 2006, 56, 295; Telaprevir: F. Maltais et al., *J. Med. Chem.*, 2009, 52, 7993). К дейтерированным лекарственным средствам, проявляющим такой эффект, могут предъявляться сниженные требования к дозировке (например, при их применении может потребоваться меньшее количество доз или меньшая дозировка для достижения необходимого эффекта), и/или их применение пациент может подвергаться меньшей метаболической нагрузке.

Для соединения общей формулы (I) могут существовать различные потенциальные места воздействия на метаболизм. Для оптимизации вышеописанных эффектов на физико-химические свойства и метаболический профиль могут быть выбраны дейтерий-содержащие соединения общей формулы (I) с определенным профилем одной или нескольких замен дейтерий-водород. В частности, атомы дейтерия в дейтерий-содержащих соединениях общей формулы (I) прикреплены к атому углерода и/или расположены в тех положениях соединения общей формулы (I), которые являются местами воздействия метаболизирующих ферментов, таких как, например, цитохром P₄₅₀.

Настоящее изобретение также дополнительно охватывает пролекарства соединений по изобретению. Термин «пролекарства» относится в настоящем документе к соединениям, которые сами по себе могут быть биологически активными или неактивными, но при этом, находясь в организме, превращаются в соединения по изобретению, например, метаболическим или гидролитическим путем.

Если радикалы в соединениях по изобретению замещены, то, если не указано иное, такие радикалы могут быть моно- или полизамещенными. В контексте настоящего изобретения все радикалы, которые упоминаются более одного раза, определяются независимо друг от друга. Если радикалы в соединениях по изобретению замещены, то, если не указано иное, такие радикалы могут быть моно- или полизамещенными. Предпочтительным является замещение двумя идентичными или разными заместителями.

В контексте настоящего изобретения термин «лечение» или «проведение лечения» предусматривает ингибирование, замедление, сдерживание, облегчение, ослабление, ограничение, уменьшение, подавление, противодействие или лечение заболевания, болезни, расстройства, травмы или проблемы со здоровьем, а также развития, течения или прогрессирования указанных состояний и/или симптомов указанных состояний. По тексту настоящего документа термин «терапия» синонимичен термину «лечение».

В контексте настоящего изобретения термины «профилактика» и «профилактика» используются как синонимы и относятся к предотвращению или уменьшению риска заражения, возникновения или наличия заболевания,

состояния, расстройства, травмы или клинической проблемы, а также развитие или прогрессирование указанных состояний и/или симптомы указанных состояний.

Лечение или профилактика заболевания, болезни, расстройства, травмы или клинической проблемы могут осуществляться в полном объеме или частично.

В контексте настоящего изобретения предпочтительными являются соединения формулы (I), в которых

R^1 отсутствует

или

представляет собой 6-карбокситетраметилпродамин (Tam), $##C(O)R^3$, C_8-C_{20} жирную кислоту или последовательность $R^4GFLG##$, $R^4-C=N-NH-##$, $R^4-S-S-##$, $R^4-N=N-##$, R^4 -Валин-Цитруллин-##, $R^4-C(O)O-##$ или $R^4NH-C(O)O-##$,

причем

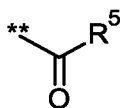
$##$ обозначает присоединение к концевой аминогруппе X^1 ,

R^3 представляет собой C_1-C_6 -алкилен, арил, гетероарил, C_3-C_8 -циклоалкил или C_3-C_7 -гетероциклоалкил,

причем C_1-C_6 -алкилен до трех раз замещен одинаково или различно радикалом, выбранным из группы, состоящей из гидроксила, метокси, этокси, карбоксии, амино и галогена,

причем арил, гетероарил, C_3-C_8 -циклоалкил и C_3-C_7 -гетероциклоалкил могут быть до трех раз замещены одинаково или различно радикалом, выбранным из группы C_1-C_4 -алкила, гидроксила, метокси, этокси, карбонила, карбоксии, амино и галогена,

R^4 представляет собой



в которой

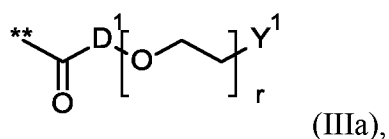
R⁵ представляет собой C₁-C₆-алкилен, арил, гетероарил, C₃-C₈-циклоалкил или C₃-C₇-гетероциклоалкил,

причем C₁-C₆-алкилен до трех раз замещен одинаково или различно радикалом, выбранным из группы, состоящей из гидроксила, метокси, этокси, карбокси, амино и галогена,

причем арил, гетероарил, C₃-C₈-циклоалкил и C₃-C₇-гетероциклоалкил могут быть до трех раз замещены одинаково или различно радикалом, выбранным из группы C₁-C₄-алкила, гидроксила, метокси, этокси, карбонила, карбокси, амино и галогена,

или

представляет собой группу формулы (Ша)



в которой

** обозначает присоединение к атому азота,

D¹ представляет собой C₁-C₄-алкилен,

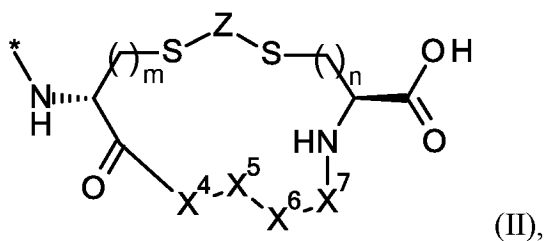
Y¹ выбран из группы, состоящей из гидроксила, метокси, этокси, карбокси, карбоксиамида или амино,

причем амино может быть замещен б-карбокситетраметилродамином (Там) посредством амидной связи,

и

r представляет собой целое число от 2 до 15,

R² представляет собой группу формулы (II)



в которой

* представляет собой присоединение к карбонильному атому карбоксильной группы X^3 ,

Z представляет собой связь или $-CH_2-$,

m представляет собой 1 или 2,

n представляет собой 1 или 2,

X^1 представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из L, I, F, H, M, W, Y или Y, или неприродную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из L-норлейцина (Nle), 2,3,3a,4,5,6,7,7a-октагидроиндол-2-карбоновой кислоты (Oic), 4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2,5-дифторфенилаланина ((2,5-дифтор)F), 2-хлорфенилаланина ((2-хлор)F), 3-хлорфенилаланина ((3-хлор)F), 4-хлорфенилаланина ((4-хлор)F), 2-бромфенилаланина ((2-бром)F), 3-бромфенилаланина ((3-бром)F), 4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2-фторфенилаланина ((2-фтор)F), 3-фторфенилаланина ((3-фтор)F), 4-фторфенилаланина ((4-фтор)F), (2,5-дифтор-фенилаланина, 2-метилфенилаланина ((2-Me)F), 3-метилфенилаланина ((3-Me)F), 4-метилфенилаланина ((4-Me)F), (2S)-3-(2,3-дифторфенил)-2-аминопропановой кислоты, фенилглицина (Phg) N-фенилглицина ((N-Ph)G), 3-хлорфенилглицина ((3-хлор-Ph)G), 3-(1,3-бензотиазол-2-ил)-аланин 1-бензилгистидина (H(1-Bn)), 1-метилгистидина (H(1-Me)), 3-метилгистидина (3-Me)H), 2-пиридилаланина (2-Pal), 3-пиридилаланина (3-Pal), 4-пиридилаланина (4-Pal), 3-(аминометил)бензойной кислоты, 1-нафтилаланина (1-Nal), 2-нафтилаланина (2-Nal), (2R)-амино-(1-метил-1H-индазол-5-ил)уксусной кислоты и (2S)-3-(индол-4-ил)-2-(амино)пропановой кислоты, принимая во внимание, что любая природная аминокислота

и/или неприродная аминокислота из этого списка может находиться в D- или L-стереоконфигурации,

X² представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из L, I, F, H, M, W или Y, или неприродную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из L-норлейцина (Nle), 2,3,3a,4,5,6,7,7a-октагидроиндол-2-карбоновой кислоты (Oic), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2,5-дифтор-L-фенилаланина ((2,5-дифтор)F), 2-хлор-L-фенилаланина ((2-хлор)F), 3-хлор-L-фенилаланина ((3-хлор)F), 4-хлор-L-фенилаланина ((4-хлор)F), L-2-бромфенилаланина ((2-бром)F), L-3-бромфенилаланина ((3-бром)F), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2-фтор-L-фенилаланина ((2-фтор)F), 3-фтор-L-фенилаланина ((3-фтор)F), 4-фтор-L-фенилаланина ((4-фтор)F), (2,5-дифтор-L-фенилаланина, 2-метил-L-фенилаланина ((2-Me)F), 3-метил-L-фенилаланина ((3-Me)F), 4-метил-L-фенилаланина ((4-Me)F), (2S)-3-(2,3-дифторфенил)-2-аминопропановой кислоты, L-фенилглицина (Phg) N-фенилглицина ((N-Ph)G), 3-хлорфенилглицина ((3-хлор-Ph)G), 3-(1,3-бензотиазол-2-ил)-L-аланин 1-бензил-L-гистидина (H(1-Bn)), 1-метил-L-гистидина (H(1-Me)), L-3-метилгистидина (3-Me)H), L-2-пиридилаланина (2-Pal), L-3-пиридилаланина (3-Pal), L-4-пиридилаланина (4-Pal), 3-(аминометил)бензойной кислоты, L-1-нафтилаланина (1-Nal), L-2-нафтилаланина (2-Nal), (2R)-амино-(1-метил-1H-индазол-5-ил)уксусной кислоты и (2S)-3-(индол-4-ил)-2-(амино)пропановой кислоты,

X³ представляет собой природную аминокислоту P, или неприродную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из 2,3,3a,4,5,6,7,7a-октагидроиндол-2-карбоновой кислоты (Oic), L-гидроксипролина (Hyp), (2S,4S)-4-трифторметил-пирролидин-2-карбоновой кислоты ((4-CF₃)P), (2S,4S)-4-фторпролина ((цис-4-фтор)P), транс-4-фторпролина ((транс-4-фтор)P), (2S)-2-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты, L-транс-3-гидроксипролина ((3S-OH)P), L-пипеколиновой кислоты (Pip), (1R,3S,5R)-2-азабицикло[3.1.0]гексан-3-карбоновой кислоты, (6S)-5-азаспиро[2.4]гептан-6-карбоновой кислоты, rel-

(1R,3R,5R,6R)-6-(трифторметил)-2-азабицикло[3.1.0]гексан-3-карбоновой кислоты, (2S)-2-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты, (2S,3aS,6aS)-октагидроциклопента[b]π-пиррол-2-карбоновой кислоты, транс-4-фторпролина ((транс-4-фтор)P), (2S,4S)-4-фторпролина ((цис-4-фтор)P), L-4,4-дифторпролина ((дифтор)P), rel-(3R,6R)-1,1-дифтор-5-азаспиро[2.4]гептан-6-карбоновой кислоты (энантиомер 1) и rel-(3R,6R)-1,1-дифтор-5-азаспиро[2.4]гептан-6-карбоновой кислоты (энантиомер 2),

X⁴ представляет собой природную аминокислоту или неприродную аминокислоту, принимая во внимание, что любая природная аминокислота и/или неприродная аминокислота из этого списка может находиться в D- или L-стереоконфигурации,

X⁵ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F, H, W или Y, или неприродную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из циклогексилаланина (Cha), 2,3,3a,4,5,6,7,7a-октагидроиндол-2-карбоновой кислоты (Oic), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2,5-дифтор-L-фенилаланина ((2,5-дифтор)F), 2-хлор-L-фенилаланина ((2-хлор)F), 3-хлор-L-фенилаланина ((3-хлор)F), 4-хлор-L-фенилаланина ((4-хлор)F), L-2-бромфенилаланина ((2-бром)F), L-3-бромфенилаланина ((3-бром)F), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2-фтор-L-фенилаланина ((2-фтор)F), 3-фтор-L-фенилаланина ((3-фтор)F), 4-фтор-L-фенилаланина ((4-фтор)F), (2,5-дифтор-L-фенилаланина, 2-метил-L-фенилаланина ((2-Me)F), 3-метил-L-фенилаланина ((3-Me)F), 4-метил-L-фенилаланина ((4-Me)F), (2S)-3-(2,3-дифторфенил)-2-аминопропановой кислоты, L-фенилглицина (Phg) N-фенилглицина ((N-Ph)G), 3-хлор-L-фенилглицина ((3-хлор-Ph)G), 3-(1,3-бензотиазол-2-ил)-L-аланин 1-бензил-L-гистидина (H(1-Bn)), 1-метил-L-гистидина (H(1-Me)), L-3-метилгистидина (3-Me)H), L-2-пиридилаланина (2-Pal), L-3-пиридилаланина (3-Pal), L-4-

пиридилаланина (4-Pal), 3-(аминометил)бензойной кислоты, L-1-нафтилаланина (1-Nal), L-2-нафтилаланина (2-Nal), (2R)-амино-(1-метил-1H-индазол-5-ил)уксусной кислоты и (2S)-3-(индол-4-ил)-2-(амино)пропановой кислоты,

X⁶ представляет собой природную аминокислоту или неприродную аминокислоту, принимая во внимание, что любая природная аминокислота и/или неприродная аминокислота из этого списка может находиться в D- или L-стереоконфигурации,

причем любая природная аминокислота и/или неприродная аминокислота, содержащая аминогруппу, может быть замещена б-карбокситетраметилпроламином (Tam) или ##C(O)R³,

причем

обозначает присоединение к концевой аминогруппе X¹,

R³ представляет собой C₁-C₆-алкилен, арил, гетероарил, C₃-C₈-циклоалкил или C₃-C₇-гетероциклоалкил,

причем C₁-C₆-алкилен до трех раз замещен одинаково или различно радикалом, выбранным из группы, состоящей из гидроксила, метокси, этокси, карбокси, amino и галогена,

причем арил, гетероарил, C₃-C₈-циклоалкил и C₃-C₇-гетероциклоалкил могут быть до трех раз замещены одинаково или различно радикалом, выбранным из группы C₁-C₄-алкила, гидроксила, метокси, этокси, карбонила, карбокси, amino и галогена,

X⁷ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F, H, W или Y, или неприродную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из циклогексилаланина (Cha), 2,3,3a,4,5,6,7,7a-октагидроиндол-2-карбоновой кислоты (Oic), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2,5-дифтор-L-фенилаланина ((2,5-дифтор)F), 2-хлор-L-фенилаланина ((2-хлор)F), 3-хлор-L-фенилаланина ((3-хлор)F), 4-хлор-L-фенилаланина ((4-хлор)F), L-2-

бромфенилаланина ((2-бром)F), L-3-бромфенилаланина ((3-бром)F), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2-фтор-L-фенилаланина ((2-фтор)F), 3-фтор-L-фенилаланина ((3-фтор)F), 4-фтор-L-фенилаланина ((4-фтор)F), (2,5-дифтор-L-фенилаланина, 2-метил-L-фенилаланина ((2-Me)F), 3-метил-L-фенилаланина ((3-Me)F), 4-метил-L-фенилаланина ((4-Me)F), (2S)-3-(2,3-дифторфенил)-2-аминопропановой кислоты, L-фенилглицина (Phg) N-фенилглицина ((N-Ph)G), 3-хлор-L-фенилглицина ((3-хлор-Ph)G), 3-(1,3-бензотиазол-2-ил)-L-аланин 1-бензил-L-гистидина (H(1-Bn)), 1-метил-L-гистидина (H(1-Me)), L-3-метилгистидина (3-Me)H), L-2-пиридилаланина (2-Pal), L-3-пиридилаланина (3-Pal), L-4-пиридилаланина (4-Pal), 3-(аминометил)бензойной кислоты, L-1-нафтилаланина (1-Nal), L-2-нафтилаланина (2-Nal), (2R)-амино-(1-метил-1H-индазол-5-ил)уксусной кислоты и (2S)-3-(индол-4-ил)-2-(амино)пропановой кислоты,

или их фармацевтически приемлемая соль, гидрат, сольват или сольват соли,

при условии, что соединение YFP[sQFAFC] исключено.

Дальнейшее предпочтение отдано в контексте настоящего изобретения соединениям формулы (I), в которой

R¹ отсутствует

или

представляет собой 6-карбокситетраметилродамин (Tam), ##C(O)R³ или последовательность R⁴GFLG##,

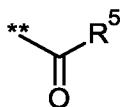
причем

обозначает присоединение к концевой аминогруппе X¹,

R³ представляет собой C₁-C₄-алкилен,

причем C₁-C₄-алкилен до трех раз замещен одинаково или различно радикалом, выбранным из группы, состоящей из гидроксила, метокси, этокси, карбокси, амино, фтора и хлора,

R⁴ представляет собой



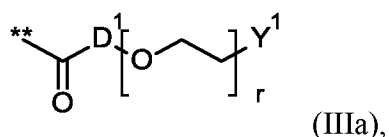
в которой

R^5 представляет собой C_1 - C_4 -алкилен,

причем C_1 - C_4 -алкилен до трех раз замещен одинаково или различно радикалом, выбранным из группы, состоящей из гидроксила, метокси, этокси, карбокси, амино, хлора и фтора,

или

представляет собой группу формулы (IIIa)



в которой

** обозначает присоединение к атому азота,

D^1 представляет собой C_1 - C_4 -алкилен,

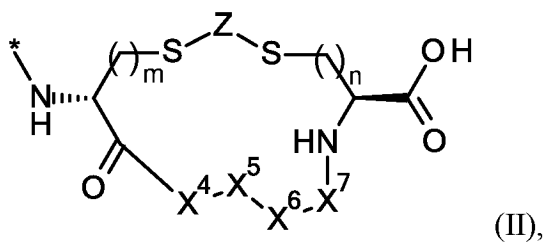
Y^1 выбран из группы, состоящей из гидроксила, метокси, этокси, карбокси, карбоксиамида или амино,

причем амино может быть замещен β -карбокситетраметилпроламином (Tам) посредством амидной связи,

и

r представляет собой целое число от 2 до 6,

R^2 представляет собой группу формулы (II)



в которой

- * представляет собой присоединение к карбонильному атому карбоксильной группы X^3 ,
- Z представляет собой связь или $-CH_2-$,
- m представляет собой 1 или 2,
- n представляет собой 1 или 2,
- X^1 представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из L, I, F, H, M, W, Y или Y, или неприродную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из L-норлейцина (Nle), 2,3,3a,4,5,6,7,7a-октагидроиндол-2-карбоновой кислоты (Oic), 4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2,5-дифторфенилаланина ((2,5-дифтор)F), 2-хлорфенилаланина ((2-хлор)F), 3-хлорфенилаланина ((3-хлор)F), 4-хлорфенилаланина ((4-хлор)F), 2-бромфенилаланина ((2-бром)F), 3-бромфенилаланина ((3-бром)F), 4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2-фторфенилаланина ((2-фтор)F), 3-фторфенилаланина ((3-фтор)F), 4-фторфенилаланина ((4-фтор)F), (2,5-дифтор-фенилаланина, 2-метилфенилаланина ((2-Me)F), 3-метилфенилаланина ((3-Me)F), 4-метилфенилаланина ((4-Me)F), 1-бензилгистидина (H(1-Bn)), 1-метилгистидина (H(1-Me)), 3-метилгистидина (3-Me)H), 2-пиридилаланина (2-Pal), 3-пиридилаланина (3-Pal), 4-пиридилаланина (4-Pal), принимая во внимание, что любая природная аминокислота и/или неприродная аминокислота из этого списка может находиться в D- или L-стереоконфигурации,
- X^2 представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из L, I, F, H, M, W или Y, или неприродную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из L-норлейцина (Nle), 2,3,3a,4,5,6,7,7a-октагидроиндол-2-карбоновой кислоты (Oic), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2,5-дифтор-L-фенилаланина ((2,5-дифтор)F), 2-хлор-L-фенилаланина ((2-хлор)F), 3-хлор-L-фенилаланина ((3-хлор)F), 4-хлор-L-фенилаланина ((4-хлор)F), L-2-бромфенилаланина ((2-бром)F), L-3-бромфенилаланина ((3-бром)F), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2-фтор-L-фенилаланина ((2-

фтор)F), 3-фтор-L-фенилаланина ((3-фтор)F), 4-фтор-L-фенилаланина ((4-фтор)F), (2,5-дифтор-L-фенилаланина, 2-метил-L-фенилаланина ((2-Ме)F), 3-метил-L-фенилаланина ((3-Ме)F), 4-метил-L-фенилаланина ((4-Ме)F), 1-бензил-L-гистидина (H(1-Bn)), 1-метил-L-гистидина (H(1-Ме)), L-3-метилгистидина (3-Ме)H), L-2-пиридилаланина (2-Pal), L-3-пиридилаланина (3-Pal), L-4-пиридилаланина (4-Pal),

X³ представляет собой природную аминокислоту P, или неприродную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из L-гидроксипролина (Hyp), (2S,4S)-4-трифторметил-пирролидин-2-карбоновой кислоты ((4-CF₃)P), (2S,4S)-4-фторпролина ((цис-4-фтор)P), транс-4-фторпролина ((транс-4-фтор)P), (2S)-2-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты, L-транс-3-гидроксипролина ((3S-OH)P), (1R,3S,5R)-2-азабицикло[3.1.0]гексан-3-карбоновой кислоты, (6S)-5-азаспиро[2.4]гептан-6-карбоновой кислоты, rel-(1R,3R,5R,6R)-6-(трифторметил)-2-азабицикло[3.1.0]гексан-3-карбоновой кислоты, (2S)-2-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты, (2S,3aS,6aS)-октагидроциклопента[b]-пиррол-2-карбоновой кислоты, (2S,4S)-4-фторпролина ((цис-4-фтор)P), L-4,4-дифторпролина ((дифтор)P),

X⁴ представляет собой природную аминокислоту, принимая во внимание, что любая природная аминокислота может находиться в D- или L-стереоконфигурации,

X⁵ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F, H, W или Y, или неприродную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из циклогексилаланина (Cha), 2,3,3a,4,5,6,7,7a-октагидроиндол-2-карбоновой кислоты (Oic), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2,5-дифтор-L-фенилаланина ((2,5-дифтор)F), 2-хлор-L-фенилаланина ((2-хлор)F), 3-хлор-L-фенилаланина ((3-хлор)F), 4-хлор-L-фенилаланина ((4-хлор)F), L-2-бромфенилаланина ((2-бром)F), L-3-бромфенилаланина ((3-бром)F), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2-фтор-L-фенилаланина ((2-фтор)F), 3-фтор-L-фенилаланина ((3-фтор)F), 4-фтор-L-фенилаланина ((4-фтор)F), (2,5-дифтор-L-фенилаланина, 2-метил-L-фенилаланина

((2-Me)F), 3-метил-L-фенилаланина ((3-Me)F), 4-метил-L-фенилаланина ((4-Me)F), 1-бензил-L-гистидина (H(1-Bn)), 1-метил-L-гистидина (H(1-Me)), L-3-метилгистидина (3-Me)H), L-2-пиридилаланина (2-Pal), L-3-пиридилаланина (3-Pal), L-4-пиридилаланина (4-Pal),

X⁶ представляет собой природную аминокислоту, принимая во внимание, что любая природная аминокислота может находиться в D- или L-стереоконфигурации,

причем аминогруппа лизина может быть замещена 6-карбокситетраметилпроламином (Tam) или ##C(O)R³,

причем

обозначает присоединение к концевой аминогруппе X¹,

R³ представляет собой C₁-C₆-алкилен, арил, гетероарил, C₃-C₈-циклоалкил или C₃-C₇-гетероциклоалкил,

причем C₁-C₆-алкилен до трех раз замещен одинаково или различно радикалом, выбранным из группы, состоящей из гидроксила, метокси, этокси, карбокси, амино и галогена,

причем арил, гетероарил, C₃-C₈-циклоалкил и C₃-C₇-гетероциклоалкил могут быть до трех раз замещены одинаково или различно радикалом, выбранным из группы C₁-C₄-алкила, гидроксила, метокси, этокси, карбонила, карбокси, амино и галогена,

X⁷ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F, H, W или Y, или неприродную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из циклогексилаланина (Cha), 2,3,3a,4,5,6,7,7a-октагидроиндол-2-карбоновой кислоты (Oic), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2,5-дифтор-L-фенилаланина ((2,5-дифтор)F), 2-хлор-L-фенилаланина ((2-хлор)F), 3-хлор-L-фенилаланина ((3-хлор)F), 4-хлор-L-фенилаланина ((4-хлор)F), L-2-бромфенилаланина ((2-бром)F), L-3-бромфенилаланина ((3-бром)F), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2-фтор-L-фенилаланина ((2-

фтор)F), 3-фтор-L-фенилаланина ((3-фтор)F), 4-фтор-L-фенилаланина ((4-фтор)F), (2,5-дифтор-L-фенилаланина, 2-метил-L-фенилаланина ((2-Me)F), 3-метил-L-фенилаланина ((3-Me)F), 4-метил-L-фенилаланина ((4-Me)F), 1-бензил-L-гистидина (H(1-Bn)), 1-метил-L-гистидина (H(1-Me)), L-3-метилгистидина (3-Me)H), L-2-пиридилаланина (2-Pal), L-3-пиридилаланина (3-Pal), L-4-пиридилаланина (4-Pal),

или их фармацевтически приемлемой соли, гидрату, сольвату или сольвату соли, при условии, что соединение YFP[cQFAFC] исключено.

Дальнейшее предпочтение отдано в контексте настоящего изобретения соединениям формулы (I), в которой

R¹ отсутствует

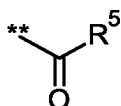
или

представляет собой 6-карбокситетраметилпродамин (Tam) или последовательность R⁴GFLG##,

причем

обозначает присоединение к концевой аминогруппе X¹,

R⁴ представляет собой

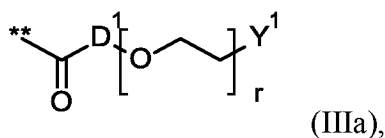


в которой

R⁵ представляет собой метил или этил,

или

представляет собой группу формулы (IIIa)



в которой

** обозначает присоединение к атому азота,

D¹ представляет собой C₁-C₄-алкилен,

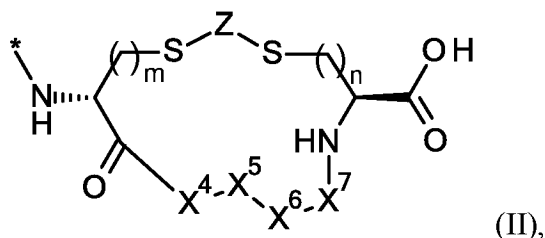
Y¹ выбран из группы, состоящей из гидроксила, метокси, этокси, карбокси, карбоксамида или amino,

причем amino может быть замещен 6-карбокситетраметилпроламином (Tam) посредством амидной связи,

и

r представляет собой целое число от 2 до 4,

R² представляет собой группу формулы (II)



в которой

* представляет собой присоединение к карбонильному атому карбоксильной группы X³,

Z представляет собой связь или -CH₂-,

m представляет собой 1 или 2,

n представляет собой 1 или 2,

X¹ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F, H, Y или y, принимая во внимание, что любая аминокислота из перечня может находиться в D- или L-стереоконфигурации,

X² представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F, H, Y или y, принимая во внимание, что любая аминокислота из перечня может находиться в D- или L-стереоконфигурации,

- X³ представляет собой природную аминокислоту Р, или неприродную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из L-гидроксипролина (Нур), (2S,4S)-4-трифторметил-пирролидин-2-карбоновой кислоты ((4-CF₃)Р), (2S,4S)-4-фторпролина ((цис-4-фтор)Р), транс-4-фторпролина ((транс-4-фтор)Р), (2S)-2-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты, L-транс-3-гидроксипролин, (2S,4S)-4-фторпролина ((цис-4-фтор)Р), L-4,4-дифторпролина ((дифтор)Р),
- X⁴ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из Q, А и К, принимая во внимание, что любая природная аминокислота может находиться в D- или L-стереоконфигурации,
- X⁵ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F, Н, W или Y,
- X⁶ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из Q, А и К, принимая во внимание, что любая природная аминокислота может находиться в D- или L-стереоконфигурации, причем аминокислотная группа К может быть замещена б-карбокситетраметилродамином (Tam),
- X⁷ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F, Н, W или Y,

или фармацевтически приемлемой соли, гидрату, сольвату или сольвату соли, при условии, что соединение YFP[sQFAFC] исключено.

Особое предпочтение отдано в контексте настоящего изобретения соединениям формулы (I), в которой

R¹ отсутствует

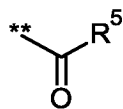
или

представляет собой б-карбокситетраметилродамин (Tam), или последовательность R⁴GFLG##,

причем

обозначает присоединение к концевой аминокислотной группе X¹,

R⁴ представляет собой

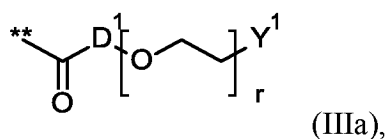


в которой

R^5 представляет собой метил,

или

представляет собой группу формулы (Ша)



в которой

** обозначает присоединение к концевой аминогруппе X^1 ,

D^1 представляет собой этилен,

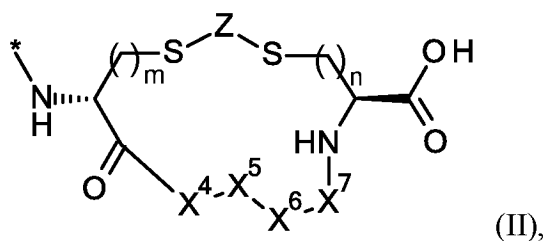
Y^1 представляет собой амина,

причем амина может быть замещен 6-карбокситетраметилпроламином (Там) посредством амидной связи,

и

r представляет собой 4,

R^2 представляет собой группу формулы (II)



в которой

* представляет собой присоединение к карбонильному атому карбоксильной группы X^3 ,

Z представляет собой связь или $-\text{CH}_2-$,

m представляет собой 1 или 2,

- n представляет собой 1 или 2,
 X^1 представляет собой Y или y.
 X^2 представляет собой F,
 X^3 представляет собой P,
 X^4 представляет собой Q,
 X^5 представляет собой F,
 X^6 представляет собой A или K,
 X^7 представляет собой F или W,

или их фармацевтически приемлемой соли, гидрату, сольвату или сольвату соли, при условии, что соединение YFP[sQFAFC] исключено.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления, изобретение предоставляет соединения согласно формуле (I), в которой

R^1 отсутствует

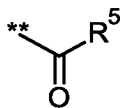
или

представляет собой 6-карбокситетраметилродамин (Tam) или последовательность $R^4GFLG##$,

в которой

обозначает присоединение к концевой аминогруппе X^1 ,

R^4 представляет собой

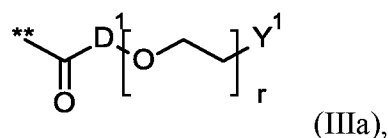


в которой

R^5 представляет собой метил,

или

представляет собой группу формулы (IIIa)



в которой

** обозначает присоединение к концевой аминогруппе X¹,

D¹ представляет собой этилен,

Y¹ представляет собой амино,

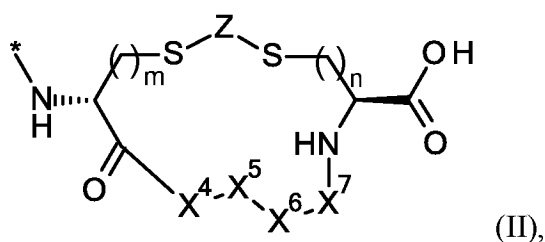
причем амино может быть замещен 6-карбокситетраметилпроламином (Там) посредством амидной связи,

и

r представляет собой 4.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления, изобретение предоставляет соединения согласно формуле (I), в которой

R² представляет собой группу формулы (II)



в которой

* представляет собой присоединение к карбонильному атому карбоксильной группы X³,

Z представляет собой связь или -CH₂-,

m представляет собой 1 или 2,

n представляет собой 1 или 2,

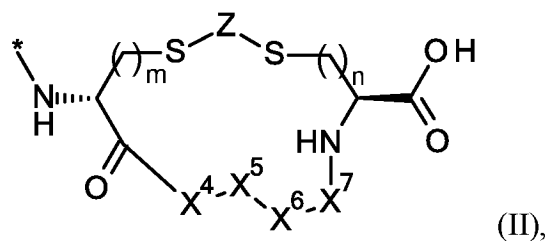
X¹ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F, H, Y или y, принимая во внимание, что любая

аминокислота из перечня может находиться в D- или L-стереоконфигурации,

- X² представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F, H, Y или y, принимая во внимание, что любая аминокислота из перечня может находиться в D- или L-стереоконфигурации,
- X³ представляет собой природную аминокислоту P, или не природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из L-гидроксипролина (Hyp), (2S,4S)-4-трифторметил-пирролидин-2-карбоновой кислоты ((4-CF₃)P), (2S,4S)-4-фторпролина ((цис-4-фтор)P), транс-4-фторпролина ((транс-4-фтор)P), (2S)-2-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты, L-транс-3-гидроксипролина, (2S,4S)-4-фторпролина ((цис-4-фтор)P), L-4,4-дифторпролина ((дифтор)P),
- X⁴ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из Q, A и K, принимая во внимание, что любая природная аминокислота может находиться в D- или L-стереоконфигурации,
- X⁵ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F, H, W или Y,
- X⁶ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из Q, A и K, принимая во внимание, что любая природная аминокислота может находиться в D- или L-стереоконфигурации, причем аминокислота K может быть замещена 6-карбокситетраметилродамином (Tam),
- X⁷ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F, H, W или Y,

В соответствии с еще одним вариантом осуществления, изобретение предоставляет соединения согласно формуле (I), в которой

R² представляет собой группу формулы (II)



в которой

* представляет собой присоединение к карбонильному атому карбоксильной группы X^3 ,

Z представляет собой связь или $-CH_2-$,

m представляет собой 1 или 2,

n представляет собой 1 или 2,

X^1 представляет собой Y или y.

X^2 представляет собой F,

X^3 представляет собой P,

X^4 представляет собой Q,

X^5 представляет собой F,

X^6 представляет собой A или K,

X^7 представляет собой F или W.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления, изобретение предоставляет соединения согласно формуле (I), в которой

X^1 представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F, H, Y или y, принимая во внимание, что любая аминокислота из перечня может находиться в D- или L-стереоконфигурации.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления, изобретение предоставляет соединения согласно формуле (I), в которой

X^2 представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F, H, Y или y, принимая во внимание, что любая

аминокислота из перечня может находиться в D- или L-стереоконфигурации.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления, изобретение предоставляет соединения согласно формуле (I), в которой

X³ представляет собой природную аминокислоту P, или неприродную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из L-гидроксипролина (Нур), (2S,4S)-4-трифторметил-пирролидин-2-карбоновой кислоты ((4-CF₃)P), (2S,4S)-4-фторпролина ((цис-4-фтор)P), транс-4-фторпролина ((транс-4-фтор)P), (2S)-2-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты, L-транс-3-гидроксипролин, (2S,4S)-4-фторпролина ((цис-4-фтор)P), L-4,4-дифторпролина ((дифтор)P).

В соответствии с еще одним вариантом осуществления, изобретение предоставляет соединения согласно формуле (I), в которой

X⁴ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из Q, A и K, принимая во внимание, что любая природная аминокислота может находиться в D- или L-стереоконфигурации.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления, изобретение предоставляет соединения согласно формуле (I), в которой

X⁵ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F, H, W или Y.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления, изобретение предоставляет соединения согласно формуле (I), в которой

X⁶ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из Q, A и K, принимая во внимание, что любая природная аминокислота может находиться в D- или L-стереоконфигурации.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления, изобретение предоставляет соединения согласно формуле (I), в которой

X⁷ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F, H, W или Y.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления, изобретение предоставляет соединения согласно формуле (I), в которой

X¹ представляет собой Y или y.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления, изобретение предоставляет соединения согласно формуле (I), в которой

X² представляет собой F.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления, изобретение предоставляет соединения согласно формуле (I), в которой

X³ представляет собой P.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления, изобретение предоставляет соединения согласно формуле (I), в которой

X⁴ представляет собой Q.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления, изобретение предоставляет соединения согласно формуле (I), в которой

X⁵ представляет собой Q.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления, изобретение предоставляет соединения согласно формуле (I), в которой

X⁶ представляет собой илиг K.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления, изобретение предоставляет соединения согласно формуле (I), в которой

X⁷ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F или Y.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления, изобретение предоставляет соединения согласно формуле (I), в которой

соединения YFP[cQFAFC] и yFP[xQFAWC] исключены.

Пептид по настоящему изобретению может содержать жирную кислоту C₈-C₂₀. Как правило, такая жирная кислота может быть разветвленной или циклической. Жирная кислота C₈-C₂₀ предпочтительно связана с N-концом. Жирная кислота C₈-C₂₀ может быть связана с любой подходящей функциональной

группой химической группы и/или аминокислотой пептида, например, с гидроксильной группой, карбоксильной группой, аминогруппой, тиольной группой, предпочтительно с аминогруппой или карбоксильной группой. Предпочтительно жирная кислота C₈-C₂₀ связана с N-концом посредством амидной связи. Предпочтительно боковая цепь жирной кислоты, образованная R¹, представляет собой жирную кислоту >C₁₀, более предпочтительно жирную кислоту C₁₄-, C₁₆- или C₁₈.

Термин «миметик», при его использовании в контексте с некоторыми аминокислотами в определении нескольких фрагментов пептида в соответствии с формулой (I) или формулой (II) по настоящему изобретению, представляет собой соответствующий миметик аминокислоты, такой как, например, миметик аргинина, миметик изолейцина или миметик пролина. Как правило, «миметик белка» означает молекулу, такую как пептид, модифицированный пептид или любую другую молекулу, которая биологически симулирует действие или активность какого-либо другого белка. В контексте использования термина «миметик» в связи с определенной аминокислотой указанный термин «миметик» аналогичным образом означает любую другую аминокислоту, аналог аминокислоты, производное аминокислоты, конъюгат аминокислоты и тому подобное, который биологически симулирует действие или активность соответствующей аминокислоты.

Миметики пролина согласно настоящему изобретению включают, в частности, (1S,2S,5R)-3-азабицикло[3.1.0]гексан-2-карбоновую кислоту, Нур, морфолин-3-карбоновую кислоту, Pip, (4aR,6aR,9S, 11aS)-11-Оксо-2,3,4,4a,6a,7,8,9,11,11a-декагидро-1H-пиридо[3,2-e]пирроло[1,2-a]азепин-9-карбоновую кислоту или (транс-4-фтор)P, (1R,2S,5S)-3-азабицикло[3.1.0]гексан-2-карбоновую кислоту, Oic, Нур, (4-CF₃)P, (цис-4-фтор)P, 3,3-диметил-1,3-азасилолидин-5-карбоновую кислоту, (3S-OH)P, (1R,3S,5R)-2-азабицикло[3.1.0]гексан-3-карбоновую кислоту, (6S)-5-азаспиро[2,4]гептан-6-карбоновую кислоту, отн-(1R,3R,5R,6R)-6-(трифторметил)-2-азабицикло[3.1.0]гексан-3-карбоновую кислоту, (2S,3aS,6aS)-октагидроциклопента[b]пиррол-2-карбоновую кислоту или дифторпролин, (3R,6R)-1,1-дифтор-5-азаспиро[2,4]гептан-6-карбоновую кислоту (энантиомер 1),

(3R,6R)-1,1-дифтор-5-азаспиро[2,4]гептан-6-карбоновую кислоту (энантиомер 2) и замещенные пролины.

Миметики изолейцина согласно настоящему изобретению включают, в частности, (N-метил)-I, алло-Ile, Cba, Nva, Abu, Leu, Cpg, циклогексил-Gly, (S)-2-амино-3-этил-пентановую кислоту, 3-хлор-Phg, алло-Ile, Chg, циклобутилглицин, алло-Ile, Cbg, (2S,3S)-2-((амино)метил)-3-метилпентановую кислоту, Phg, 2-[(1S,2S)-1-(амино)-2-метилбутил]-1,3-оксазол-4-карбоновую кислоту, 2-метил-D-аллоизо-лейцин, Nva, Abu или Ala.

-миметики лейцина согласно настоящему изобретению включают, в частности, (tBu)A, (2-хлор)F, (2-бром)F, AAD, (2S)-2-амино-4,4,4-трифторбутановую кислоту, Ciba, (4-фтор)L, (S)-(трифторметил)-L-цистеин, (2S)-2-амино-3-(1-метилциклопропил)пропановую кислоту, Gly(tBu), 3-(триметилсилил)-L-аланин, 2,5-дифтор-L-фенилаланин, 2-амино-7-(трет-бутокси)-7-оксогептановую кислоту, 5,5,5-трифтор-L-лейцин ((трифтор)L), (2-Me)F, Cba, Cpa, циклопропилметилаланин, трифторметилаланин или дифторметилаланин, (2-фтор)F, (2S)-3-(2,3-дифторфенил)-2-аминопропановую кислоту, (2S)-3-(3-цианофенил)-2-аминопропановую кислоту, 2-амино-5,5,5-трифтор-4-метилпентановую кислоту, (2S)-2-амино-5-метил-гексановую кислоту или (2S)-3-(индол-4-ил)-2-(амино)пропановую кислоту.

Изобретение дополнительно включает аналоги и производные описанных пептидов. Термин «аналог» или «производное» последовательности пептида или аминокислоты по настоящему изобретению включает, в частности, любую аминокислотную последовательность, имеющую идентичность последовательности, по меньшей мере, 80% или, по меньшей мере, 85%, предпочтительно, по меньшей мере, 90%, более предпочтительно, по меньшей мере, 95%, а еще более предпочтительно, по меньшей мере, 99% с указанной последовательностью и с такими же или сравнимыми свойствами или активностью. Идентичность последовательности можно определить с помощью обычных методов, таких как визуальное сравнение, или с помощью любого компьютерного инструмента, обычно используемого в данной области. В качестве примеров можно привести программы BLAST, используемые с параметрами по умолчанию.

Аналог или производное последовательности пептида или аминокислоты по изобретению могут быть получены в результате изменений, происходящих в результате мутации или изменения последовательностей пептидов по изобретению, включая делецию или вставку одной или нескольких аминокислот или замену одной или нескольких аминокислот, или даже альтернативный сплайсинг. Некоторые из этих модификаций можно использовать совместно. Предпочтительно последовательность аналога аминокислоты по изобретению содержит консервативные замены относительно последовательности аминокислоты.

При использовании по тексту настоящего документа термин «консервативная замена» обозначает, что одна или более аминокислот заменены другим, биологически сходным радикалом. В качестве примеров можно привести замену аминокислотных радикалов с аналогичными характеристиками, например, малые аминокислоты, кислые аминокислоты, полярные аминокислоты, основные аминокислоты, гидрофобные аминокислоты и ароматические аминокислоты. См., например, схему в таблице 4 ниже, где консервативные замены аминокислот сгруппированы по физико-химическим свойствам. I: нейтральные, гидрофильные; II: кислоты и амиды; III: базовые; IV: гидрофобные; V: ароматические, объемные аминокислоты, VI: нейтральные или гидрофобные; VII: кислые; VIII: полярные.

Таблица 4: Аминокислоты сгруппированы по их физико-химическим свойствам

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Ala	Asn	His	Met	Phe	Ala	Glu	Met
Ser	Asp	Arg	Leu	Tyr	Leu	Asp	Ser
Thr	Glu	Lys	Ile	Trp	Ile		Thr
Pro	Gln		Val		Pro		Cys
Gly			Cys		Gly		Asn
					Val		Gln

Если не указано иное, все пептиды по настоящему изобретению представляют собой соли трифторуксусной кислоты. Изобретение включает дополнительные фармацевтически приемлемые соли пептидов согласно определению в настоящем документе и их свободные от солей формы. В данном

случае фармацевтически приемлемые соли представляют собой соли или цвиттер-ионные формы пептидов или соединений по настоящему изобретению, которые могут растворяться или диспергироваться в воде или масле, подходят для лечения заболеваний без чрезмерной токсичности, раздражения и аллергической реакции, и которые соизмеримы с разумным соотношением пользы к риску и эффективны для их предполагаемого использования. Соли могут быть получены во время окончательного выделения и очистки соединений или отдельно путем вступления аминогруппы в реакцию с подходящей кислотой. Типичные кислотнo-аддитивные соли включают ацетат, адипат, альгинат, цитрат, аспарат, бензоат, бензолсульфонат, бисульфат, бутират, камфорат, камфорсульфонат, карбонат, диглюконат, глицерофосфат, гемисульфат, гептаноат, гексаноат, формиат, фумарат, гидрохлорид, гидробромид, гидройодид, 2-гидроксиэтансульфонат (изетионат), лактат, малеат, мезитиленсульфонат, метансульфонат, нафтиленсульфонат, никотинат, 2-нафталинсульфонат, оксалат, памоат, пектинат, персульфат, 3-фенилпропионат, пикрат, пивалат, пропионат, сукцинат, сульфат, тартрат, трихлорацетат, трифторацетат, фосфат, глутамат, бикарбонат, паратолуолсульфонат и ундеканоат. Предпочтительные кислотнo-аддитивные соли включают трифторацетат, формиат, гидрохлорид и ацетат.

Пептид по настоящему изобретению может быть заменен подходящим водорастворимым полимером, который характеризуется повторяющимися звеньями. Подходящие полимеры могут быть выбраны из группы, состоящей из полиалкилоксиполимеров, гиалуроновой кислоты и ее производных, поливиниловых спиртов, полиоксазолинов, полиангидридов, поли(ортоэфиров), поликарбонатов, полиуретанов, полиакриловых кислот, полиакриламидов, полиакрилатов, полиметакрилатов, полиорганофосфазенов, полисилоксанов, поливинилпирролидона, полицианоакрилатов и сложных полиэфиров.

Пептиды по настоящему изобретению могут быть замещены, по меньшей мере, одной полиэтиленовой группой (группой ПЭГ). Группа ПЭГ предпочтительно связана с N-терминальным концом. Группа ПЭГ может быть связана с любой подходящей функциональной группой химической группы и/или аминокислотой пептида, например, с гидроксильной группой, карбоксильной группой, аминогруппой, тиольной группой, предпочтительно с аминогруппой или карбоксильной группой. Предпочтительно пептид по изобретению содержит одну

группу ПЭГ, связанную с N-терминальным концом. Более предпочтительно одна группа ПЭГ связана с N-концом посредством амидной связи.

Группа ПЭГ по настоящему изобретению представляет собой любую группу, содержащую, по меньшей мере, два звена этиленоксида для образования олигомера или полимера этиленоксида.

Также аминогруппы в соединениях по настоящему изобретению могут быть кватернизованы при помощи метил-, этил-, пропил- и бутилхлоридов, бромидов и йодидов; диметил-, диэтил-, дибутил- и диамилсульфатов; децил-, лаурил-, миристил- и стерилхлоридов, бромидов и йодидов; а также бензил- и фенетилбромидов. Примеры кислот, которые можно использовать для образования терапевтически приемлемых аддитивных солей, включают в себя неорганические кислоты, такие как соляная, бромистоводородная, серная и фосфорная, и органические кислоты, такие как щавелевая, малеиновая, янтарная и лимонная кислоты. Фармацевтически приемлемая соль может представлять собой соль, выбранную, например, из кислотно-аддитивных солей и основных солей. Примеры кислотно-аддитивных солей включают в себя хлоридные соли, цитратные соли и ацетатные соли.

Примеры основных солей включают в себя соли, в которых катион выбран из катионов щелочных металлов, таких как ионы натрия или калия, катионов щелочноземельных металлов, таких как ионы кальция или магния, а также замещенных ионов аммония, таких как ионы типа $N(R^1)(R^2)(R^3)(R^4)^+$, где R^1 , R^2 , R^3 и R^4 независимо друг от друга обычно обозначают водород, необязательно замещенный C_{1-6} -алкил или необязательно замещенный C_{2-6} -алкенил. Примеры соответствующих C_{1-6} -алкильных групп включают в себя метил, этил, 1-пропил и 2-пропил группы. Примеры возможно значимых C_{2-6} -алкенильных групп, включают в себя этенил, 1-пропенил и 2-пропенил. При этом предпочтительны соли, в которых катион выбран из таких металлов как натрий, калий и кальций.

Другие примеры фармацевтически приемлемых солей приведены в работе *"Remington's Pharmaceutical Sciences"*, 17ое издание, Alfonso R. Gennaro (Изд.), Mark Publishing Company, Easton, PA, США, 1985 (и более поздние ее издания), в *"Encyclopaedia of Pharmaceutical Technology"*, 3ье издание, James Swarbrick (Изд.), Informa Healthcare USA (Inc.), NY, США, 2007. Также, анализ подходящих солей

представлен в *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use by Stahl and Wermuth (Wiley- VCH, 2002)*. Другие подходящие основные соли образуются из оснований, которые образуют нетоксичные соли. Репрезентативные примеры включают в себя соли алюминия, аргинина, бензатина, кальция, холина, диэтиламина, диоламина, глицина, лизина, магния, меглумина, оламина, калия, натрия, трометамина и цинка, предпочтительно холина. Также могут образовываться полусоли кислот и оснований, например, полусульфатные и гемикальциевые соли.

Изобретение дополнительно включает в себя сольваты пептидов, в соответствии с определением, приведенным по тексту настоящей заявки. По тексту настоящей заявки термин «сольват» обозначает комплекс определенной стехиометрии, образованный растворенным веществом (например, пептидом по изобретению или его фармацевтически приемлемой солью) и растворителем. В качестве растворителя в указанном соединении может выступать, например, вода, этанол или другие фармацевтически приемлемые, как правило, низкомолекулярные органические вещества, включая, помимо прочего, уксусную кислоту или молочную кислоту. В случаях, когда в качестве рассматриваемого растворителя выступает вода, такой сольват обычно называют гидратом.

Соединения по настоящему изобретению демонстрируют неожиданно полезный спектр фармакологической активности.

Соответственно, они могут применяться в качестве лекарственных средств для лечения и/или профилактики заболеваний человека и животных.

С учетом их фармакологических свойств соединения по изобретению можно применять для лечения и/или профилактики сердечно-сосудистых заболеваний, нарушений обмена веществ, в частности, сахарного диабета и сопутствующих симптомов, таких как, например, диабетическая макро- и микроангиопатия, диабетическая нефропатия и нейропатия.

Кроме того, соединения подходят для лечения и/или профилактики ожирения.

Кроме того, соединения подходят для лечения и/или профилактики астматических заболеваний.

Соединения по настоящему изобретению также подходят для лечения и/или профилактики воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта, таких как воспалительное заболевание кишечника, болезнь Крона, язвенный колит и токсические и сосудистые заболевания кишечника, а также для лечения и/или профилактики сепсиса (ССВО), полиорганной недостаточности (СПОН, ПОН), воспалительных заболеваний почек, хронических воспалений кишечника (ВЗК, болезнь Крона, язвенный колит), панкреатита, перитонита, цистита, уретрита, простатита, эпидимитита, оофорита, сальпингита, вульвовагинита, ревматоидных заболеваний, остеоартрита, воспалительных заболеваний центральной нервной системы, рассеянного склероза, воспалительных заболеваний кожи и воспалительных заболеваний глаз.

Кроме того, соединения по изобретению подходят для лечения различных видов рака, например рака кожи, опухолей головного мозга, рака молочной железы, опухолей костного мозга, лейкозов, липосарком, карцином желудочно-кишечного тракта, печени, поджелудочной железы, легких, почек, мочеточников, предстательной железы и половых путей, а также злокачественных опухолей лимфопролиферативной системы, например, лимфомы Ходжкина и неходжкинской лимфомы.

Дополнительно раскрывается способ лечения и/или профилактики нарушений обмена веществ, сахарного диабета, ожирения, астматических заболеваний, воспалительных заболеваний и рака у людей и животных с использованием эффективного количества, по меньшей мере, одного соединения формулы (I), физиологически приемлемой соли, сольвата или сольвата соли по изобретению или одному из вариантов осуществления, предусмотренному настоящим документом, или лекарственного средства, содержащего соединение формулы (I), физиологически приемлемую соль, сольват или сольват соли согласно изобретению или к одному из приведенных в настоящем документе вариантов его осуществления.

Кроме того, настоящим изобретением предусмотрен способ получения соединений формулы (I) или их солей, их сольватов или сольватов их солей.

В контексте настоящего изобретения термин «лечение» или «проведение лечения» предусматривает ингибирование, замедление, сдерживание, облегчение,

ослабление, ограничение, уменьшение, подавление, противодействие или лечение заболевания, болезни, расстройства, травмы или проблемы со здоровьем, а также развития, течения или прогрессирования указанных состояний и/или симптомов указанных состояний. По тексту настоящего документа термин «терапия» синонимичен термину «лечение».

В контексте настоящего изобретения термины «профилактика» и «профилактика» используются как синонимы и относятся к предотвращению или уменьшению риска заражения, возникновения или наличия заболевания, состояния, расстройства, травмы или клинической проблемы, а также развитие или прогрессирование указанных состояний и/или симптомы указанных состояний.

Лечение или профилактика заболевания, болезни, расстройства, травмы или клинической проблемы могут осуществляться в полном объеме или частично.

Соединения формулы (I), физиологически приемлемая соль, сольват или сольват соли по настоящему изобретению могут быть использованы в способе лечения и/или профилактики метаболических нарушений, рака и/или воспалительных заболеваний.

В соответствии с дальнейшим аспектом, the present invention thus further provides применение соединений согласно изобретению для лечения и/или профилактики заболеваний, в частности, вышеуказанных нарушений.

В соответствии с дальнейшим аспектом, настоящее изобретение дополнительно предусматривает применение соединений согласно изобретению для производства лекарственного средства для лечения и/или профилактики заболеваний, в частности, вышеуказанных нарушений.

В соответствии с дальнейшим аспектом, настоящее изобретение дополнительно предусматривает лекарственное средство, содержащее, по меньшей мере, одно из соединений согласно изобретению для лечения и/или профилактики заболеваний, в частности, вышеуказанных нарушений.

В соответствии с дальнейшим аспектом, настоящее изобретение дополнительно предусматривает применение соединений согласно изобретению в способе лечения и/или профилактики заболеваний, в частности, вышеуказанных нарушений.

В соответствии с дальнейшим аспектом, настоящее изобретение дополнительно предусматривает способ лечения и/или профилактики нарушений, в частности, вышеуказанных нарушений, с использованием эффективного количества, по меньшей мере, одного соединения по настоящему изобретению.

В соответствии с дальнейшим аспектом, соединения общей формулы (I), как описано выше, или их стереоизомеры, таутомеры, гидраты, сольваты и соли, особенно их фармацевтически приемлемые соли, или их соли, подходят для лечения и/или профилактики сахарного диабета, ожирения, астматических заболеваний, воспалительных заболеваний и рака.

В соответствии с дальнейшим аспектом, настоящим изобретением предусмотрено применение соединений согласно изобретению для лечения и/или профилактики сахарного диабета, ожирения, астматических заболеваний, воспалительных расстройств и рака.

В соответствии с дальнейшим аспектом, настоящее изобретение дополнительно предусматривает применение соединений согласно изобретению для производства лекарственного средства для лечения и/или профилактики сахарного диабета, ожирения, астматических заболеваний, воспалительных расстройств и рака.

В соответствии с дальнейшим аспектом, настоящее изобретение дополнительно предусматривает лекарственное средство, содержащее, по меньшей мере, одно из соединений согласно изобретению для лечения и/или профилактики сахарного диабета, ожирения, астматических заболеваний, воспалительных расстройств и рака.

В соответствии с дальнейшим аспектом, настоящее изобретение дополнительно предусматривает применение соединений согласно изобретению в способе лечения и/или профилактики сахарного диабета, ожирения, астматических заболеваний, воспалительных расстройств и рака.

В соответствии с дальнейшим аспектом, настоящее изобретение дополнительно предусматривает способ лечения и/или профилактики нарушений, особенно сахарного диабета, ожирения, астматических заболеваний, воспалительных заболеваний и рака, с использованием эффективного количества, по крайней мере, одного из соединений по изобретению.

Циклический пептид хемерин-9 по настоящему изобретению может действовать системно и/или локально. Для этой цели их можно вводить соответствующим способом, например парентеральным, легочным, назальным, сублингвальным, лингвальным, трансбуккальным, дермальным, чрескожным, конъюнктивальным, оптическим путем или в виде имплантата или стента.

Соединения по настоящему изобретению могут применяться в таких лекарственных формах, которые соответствуют этим способам введения препарата.

Парентеральное введение может осуществляться без этапа всасывания (например, внутривенным, внутриартериальным, интракардиальным, интраспинальным или интралюмбальным путем) или включать в себя сасывание (например, внутримышечным, подкожным, внутрикожным, чрескожным или интраперитонеальным путем). Лекарственными формами для парентерального введения, являются, помимо прочего, препараты для инъекций и инфузий в форме растворов, суспензий, эмульсий, лиофилизатов или стерильных порошков.

Для других путей введения подходят, например, фармацевтические формы для ингаляций (включая порошковые ингаляторы, небулайзеры), назальные капли, глазные капли, растворы или спреи; пленки/капсулы или водные суспензии (лосьоны, смеси для встряхивания), липофильные суспензии, мази, кремы, чрескожные терапевтические системы (например, пластыри), молоко, пасты, пены, присыпки, имплантаты или стенты.

Предпочтительно парентеральное введение, особенно внутривенное введение. Также является предпочтительным ингаляционное введение, т.е. с помощью порошковых ингаляторов или небулайзеров.

Соединения по настоящему изобретению могут быть преобразованы в перечисленные формы для применения. Это может происходить способом, известным самим по себе, путем смешивания с инертными, нетоксичными, фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами. Такие вспомогательные вещества включают в себя носители (например, микрокристаллическую целлюлозу, лактозу, маннит), растворители (например, жидкие полиэтиленгликоли), эмульгаторы и диспергаторы или смачивающие агенты (например, додецилсульфат натрия, полиоксисорбитанолеат), связующие

вещества (например, поливинилпирролидон), синтетические и природные полимеры (например, альбумин), стабилизаторы (например, антиоксиданты, например аскорбиновую кислоту), красители (например, неорганические пигменты, например оксиды железа) и маскирующие вкусы и/или запахи.

В принципе было доказано, что в случае парентерального введения для получения эффективных результатов целесообразно вводить количества от порядка 0,001 до 5 мг/кг, предпочтительно от порядка 0,01 до 1 мг/кг массы тела для достижения.

Тем не менее, в некоторых случаях может оказаться необходимым отойти от указанных количественных значений; в частности, с учетом массы тела, пути введения, индивидуальной реакции на активный ингредиент, природы препарата и времени или интервала, в течение которого происходит введение. Например, может быть достаточно количества меньше указанного выше минимального количества, в то время как в других случаях, максимальный предел необходимо превысить. При введении большого количества может быть целесообразно разделить его на несколько индивидуальных доз в течение дня.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления, изобретение позволяет получить фармацевтическую композицию, содержащую, по меньшей мере, одно соединение, в состав которого входит пептид, который может быть выделен и/или очищен, и включает в себя один, преимущественно состоящий или состоящий из формулы (I) или формулы (II), либо производное вещество, пролекарство, аналог, фармацевтически приемлемую соль, сольват или сольват соли в сочетании с одним или несколькими инертными, нетоксичными, фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами.

Соединения по настоящему изобретению могут быть включены в перечисленные формы для применения. Это может происходить известными способами, путем смешивания с фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами. Фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества включают, помимо прочего, следующие вещества:

- наполнители и носители (например, целлюлоза, микрокристаллическая целлюлоза (такая как, например, Avicel[®]), лактоза, маннит, крахмал, фосфат кальция (например, Di-Cafos[®])),

- мазевые основы (например, вазелиновое масло, парафины, триглицериды, воски, шерстяной воск, спирты шерстного воска, ланолин, мазь-эмульсия, полиэтиленгликоли),
- основания для суппозиториев (например, полиэтиленгликоли, какао-масло, твердый жир),
- растворители (например, вода, этанол, изопропанол, глицерин, пропиленгликоль, среднецепочечные триглицериды, жирные масла, жидкие полиэтиленгликоли, парафины),
- поверхностно-активные вещества, эмульгаторы, дисперсанты или смачивающие вещества (например, додецилсульфат натрия), лецитин, фосфолипиды, жирные спирты (такие как, например, Lanette[®]), сложные эфиры жирных кислот сорбита (такие как, например, Span[®]), сложные эфиры жирных кислот полиоксиэтиленсорбитана (такие как, например, Tween[®]), глицериды жирных кислот полиоксиэтилена (такие как, например, Cremophor[®]), сложные эфиры жирных кислот полиоксиэтилена, простые эфиры жирных кислот полиоксиэтилена, сложные эфиры жирных кислот глицерина, полуксамеры (такие как, например, Pluronic[®]),
- буферы, кислоты и основания (например, фосфаты, карбонаты, лимонная кислота, уксусная кислота, соляная кислота, раствор гидроксида натрия, карбонат аммония, триметамол, триэтанолламин),
- изотонические средства (например, глюкоза, хлорид натрия),
- адсорбенты (например, тонко диспергированная двуокись кремния),
- агенты, повышающие вязкость, гелеобразующие вещества, загустители и/или связывающие вещества (например, поливинилпирролидон, метилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза, карбоксиметилцеллюлоза натрия, крахмал, карбомеры, полиакриловые кислоты (такие как, например, Carbopol[®]); альгинаты, желатин),
- разрыхлители (например, модифицированный крахмал, карбоксиметилцеллюлоза натрия, натрия крахмалгликолят (как, например, Explotab[®]), структурированный поливинилпирролидон, кроскармеллоза натрия (как, например, AcDiSol[®])),

- регуляторы потока, лубриканты, вещества, обеспечивающее скольжение и средства, способствующие разъему пресс-формы (например, стеарат магния, стеариновая кислота, тальк, тонкодисперсная окись кремния (например, Aerosil[®])),
- материалы для нанесения покрытия (например, сахар, шеллак) и пленкообразователи для образования пленок или диффузионных мембран, быстрорастворимых или согласно модифицированной кинетике (например, поливинилпирролидоны (такие как, например, Kollidon[®]), поливиниловый спирт, гидроксипропилметилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза, этилцеллюлоза, фталат гидроксипропилметилцеллюлозы, ацетат целлюлозы, целлюлозы ацетат фталат, полиакрилаты, полиметакрилаты, такие как, например, Eudragit[®])),
- материалы для изготовления капсул (например желатин, гидроксипропилметилцеллюлоза),
- синтетические полимеры, (например, полилактиды, полигликолиды, полиакрилаты, полиметакрилаты (такие как, например, Eudragit[®]), поливинилпирролидоны (такие как, например, Kollidon[®]), поливиниловые спирты, поливинилацетаты, полиэтиленоксиды, полиэтиленгликоли и их сополимеры и блок-сополимеры),
- пластификаторы (например, полиэтиленгликоли, пропиленгликоль, глицерин, триацетин, триацетилцитрат, дибутилфталат),
- усилители всасывания,
- стабилизаторы, (например, антиоксиданты, такие как, например, аскорбиновая кислота, аскорбилпальмитат, аскорбинат натрия, бутилгидроксианизол, бутилгидрокситолуол, пропилгаллат),
- консерванты (например, парабены, сорбиновая кислота, тиомерсал, хлорид бензалкония, хлоргексидин ацетат, бензоат натрия),
- красители (например, неорганические пигменты, такие как, например, оксиды железа, диоксид титана),
- ароматизаторы, подсластители, вещества, исправляющие вкус и/или запах.

Кроме того, настоящее изобретение предусматривает фармацевтическую композицию, содержащую, по меньшей мере, один пептид, производное или аналог, в соответствии с определением, приведенной по тексту настоящей заявки,

или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, или комплекс, как определено выше.

В частности, настоящее изобретение предусматривает фармацевтическую композицию, содержащую, по меньшей мере, один пептид, производное или аналог, в соответствии с определением, приведенным по тексту настоящей заявки, или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, или комплекс, как определено выше, обычно вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлимым(-и) вспомогательным(-и) веществом(-ами), а также применение такой композиции в соответствии с настоящим изобретением.

Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может включать в себя, по меньшей мере, один дополнительный активный ингредиент, предпочтительно дополнительный активный ингредиент, который является активным при профилактике и/или лечении нарушений или заболеваний, как определено в тексте настоящей заявки.

По меньшей мере один пептид, производное или аналог, как определено в тексте настоящей заявки, или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, или комплекс, или фармацевтические композиции, как определено выше, можно вводить энтерально или парентерально, в том числе в виде внутривенных, внутримышечных, внутривнутрибрюшинных, интрастернальных, подкожных, внутрикожных и внутрисуставных инъекций и инфузий, перорально, интравагинально, внутривнутрибрюшинно, интравектально, местно или защежно. Подходящие составы для соответствующих путей введения хорошо известны специалистам в данной области и, помимо прочего, включают в себя пилюли, таблетки, таблетки с энтеросолюбильным покрытием, таблетки с пленочным покрытием, многослойные таблетки, составы с замедленным или пролонгированным высвобождением для перорального введения, пластыри, препараты пролонгированного действия для местного применения, драже, пессарии, гели, мази, сироп, гранулы, суппозитории, эмульсии, дисперсии, микрокапсулы, микропрепараты, нанопрепараты, липосомальные препараты, капсулы, капсулы с кишечнорастворимой оболочкой, порошки, порошки для ингаляций, микрокристаллические препараты, ингаляционные спреи, порошки, капли, капли в нос, назальные спреи, аэрозоли, ампулы, растворы, соки, суспензии, инфузионные растворы, растворы для инъекций и т.д.

Подходящая дозировка циклического пептида хемерин-9 по настоящему изобретению может быть определена лечащим врачом на основе своего собственного профессионального сужения. Конкретная терапевтически эффективная дозировка для конкретного пациента зависит от ряда факторов, включая: а) расстройство, которое является предметом лечения, и тяжесть расстройства; б) активность конкретного используемого соединения; с) конкретный используемый состав, возраст, масса тела, общее состояние здоровья, пол и режим питания пациента; г) время введения, способ введения и скорость выведения используемого конкретного аналога гепсидина; д) продолжительность лечения; е) лекарственные средства, применяемые в сочетании или одновременно с применяемым производным циклического хемерина-9 согласно изобретению, и аналогичные факторы, хорошо известные в области медицины.

В конкретных вариантах осуществления изобретения общая суточная доза циклического производного хемерина-9 по изобретению, которую вводят субъекту или пациенту в виде однократной или разделенной дозы, может составлять, например, от 0,0001 до 300 мг/кг массы тела в сутки или от 1 до 300 мг/кг массы тела в сутки или от примерно 0,0001 до примерно 100 мг/кг массы тела в сутки, например, от примерно 0,0005 до примерно 50 мг/кг массы тела в сутки, например, от примерно 0,001 до примерно 10 мг/кг массы тела в сутки, т.е. от примерно 0,01 до примерно 1 мг/кг массы тела в сутки, с введением в виде одной или нескольких доз, например, в количестве от одной до трех доз. Как правило, производное циклического хемерина-9 по изобретению можно вводить непрерывно (например, внутривенно или другим способом непрерывного введения лекарственного средства) либо вводить субъекту через определенные промежутки времени, как правило, через регулярные промежутки времени, в зависимости от желаемой дозировки и фармацевтической композиции, выбранной квалифицированным практиком для конкретного пациента. Регулярная периодичность дозирования может составлять, например, один раз в день, два раза в день, один раз в два, три, четыре, пять или шесть дней, один или два раза в неделю, один или два раза в месяц и т.д.

Изобретение дополнительно предусматривает применение производного циклического хемерина-9, как указано в настоящей заявке, для производства

лекарственного средства, в частности, лекарственного средства для профилактики и/или лечения указанных по тексту настоящей заявки расстройств или заболеваний.

Изобретение дополнительно предусматривает способ производства пептидов по настоящему изобретению, их производных или аналогов, или их фармацевтически приемлемых солей, или сольватов, или комплекса, каждый из которых указан по тексту настоящей заявки. Процесс производства включает в себя этапы, указанные в примерах настоящего изобретения.

Как правило, производное циклического хемерина-9 по настоящему изобретению может быть получено синтетическим или полурекомбинантным путем.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления, изобретение предусматривает способ получения соединения, содержащего пептид, который может быть выделен и/или очищен, и включает в себя один, преимущественно состоящий или состоящий из формулы (I) или формулы (II), либо производное вещество, пролекарство, аналог, фармацевтически приемлемую соль или ее сольват за счет применения твердофазного синтеза пептидов.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления, изобретение предусматривает способ получения соединения, содержащего пептид, который может быть выделен и/или очищен, и включает в себя один, преимущественно состоящий или состоящий из формулы (I) или формулы (II), либо производное вещество, пролекарство, аналог, фармацевтически приемлемую соль, сольват или сольват соли, включая такие этапы как

1. Использование 2-хлортритиловой смолы с загрузкой 0,2-1,0 ммоль/г или смолы Ванга с загрузкой 0,2-1,0 ммоль/г,
2. Нанесение последовательности C-концевых аминокислот на смолу,
3. Снятие *t*мос-защиты 15-25% раствором пиперидина в ДМФ или НМФ,
4. Связывание следующей аминокислоты в последовательности со связывающими реагентами, такими как HBTU, HATU или DIC/Охума, с использованием стехиометрии между 3-8 эквивалентами,
5. Повторение этапов 3 и 4 до завершения последовательности,

6. Отщепление пептида от твердой подложки с использованием коктейля для отщепления, который включает в себя трифторуксусную кислоту и поглотитель тиолов,
7. Циклизация двух цистеинов в последовательности в окислительных условиях (воздух или I₂),
8. Очистка отщепленного пептида с помощью ВЭЖХ на обращенной фазе.

или

1. Использование 2-хлортритиловой смолы с загрузкой 0,2-1,0 ммоль/г или смолы Ванга с загрузкой 0,2-1,0 ммоль/г,
2. Нанесение последовательности С-концевых аминокислот на смолу,
3. Снятие fmoc-защиты 15-25% раствором пиперидина в ДМФ или НМФ,
4. Связывание следующей аминокислоты в последовательности со связующими реагентами, такими как HBTU, HATU или DIC/Охума, с использованием стехиометрии между 3-8 эквивалентами,
5. Повторение этапов 3 и 4 до завершения последовательности,
6. Отщепление пептида от твердой подложки с использованием коктейля для отщепления, который включает в себя трифторуксусную кислоту и поглотитель тиолов,
7. Либо а) циклизация двух цистеинов в последовательности в окислительных условиях (воздух или I₂), либо б) очистка отщепленного пептида при помощи ВЭЖХ на обращенной фазе с последующей циклизацией в ходе реакции с CH₂I₂.
8. Очистка циклического пептида с помощью ВЭЖХ на обращенной фазе.

Изобретение далее поясняется следующими примерами, которые относятся к некоторым конкретным вариантам осуществления настоящего изобретения. За исключением случаев, когда указано иное, примеры реализованы с использованием хорошо известных стандартных методов в рамках в пределах уровня знаний специалиста обычной квалификации в данной области техники. Нижеследующие примеры приведены исключительно для наглядности и не предназначены для того, чтобы быть полностью определяющими в части условий или предмета изобретения. Как таковые, они не могут рассматриваться как ограничивающие предмет настоящего изобретения.

В приведенных ниже тестах и примерах, если не указано иное, процентные соотношения приведены в соотношении по массе; доли также даны по массе. Отношения для растворителей, степень разбавления и данные по концентрации, указанные для жидкостно-жидкостных растворов, основаны на объемном соотношении.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ РАЗДЕЛ — СИНТЕЗ

Сокращения

ACN: ацетонитрил, BRET: резонансный перенос энергии биолюминесценции, CCRL2: Хемокино (CC)-мотив, рецептороподобный 2, CMKLR1: хемокиноподобный рецептор 1, DCM: дихлорметан, Dde: N-[1-(4,4-диметил-2,6-диоксоциклогекс-1-илиден)этил], DIC: N',N'-диизопропилкарбодиимид, DIPEA: N,N-диизопропилэтиламин, DMEM: Модифицированная среда Игла Дульбекко, DMF: диметилформамид, EDTA: этилендиаминтетрауксусная кислота, EG(4): полиэтиленгликоль, состоящий из 4 групп этиленоксида, ESI-MS: масс-спектрометрия с ионизацией электрораспылением, Et₂O: диэтиловый эфир, эквив.: эквиваленты, FBS: эмбриональная бычья сыворотка, Fmoc: 9-флуоренилметоксикарбонил, GPCR: Рецептор, связанный с G-белком, GPR1: Рецептор 1, связанный с G-белком, HATU: O-(7-Азабензотриазол-1-ил)-N,N,N,N-тетраметилуруния гексафторфосфат, HBSS: забуференный солевой раствор Хэнка, НЕК: почка эмбриона человека, HOBt: гидроксibenзотриазол, оксима: 2-циано-2-(гидроксиимино)уксусная кислота, этиловый эфир, MALDI-ToF: лазерная десорбция/ионизация с помощью матрицы – время пролета (МС), PBS: фосфатно-солевой буфер, PEG: полиэтиленгликоль; RP-HPLC: жидкостная хроматография высокого давления с обращенной фазой, КТ: комнатная температура, ТА: тиоацеталь, Там: 6-карбокситетраметилродамин, tBu: трет-бутил, TCEP: трис(2-карбоксиэтил)фосфин гидрохлорид, TFA: трифторуксусная кислота, THF: тетрагидрофуран, X: гомоцистеин, YFP: желтый флуоресцентный белок.

Номенклатура последовательностей аминокислот и пептидных последовательностей согласно:

Международный союз теоретической и прикладной химии и Международный союз биохимии: Номенклатура и символы аминокислот и

пептидов (рекомендации 1983 г.). Журнал «Теоретическая и прикладная химия» 56, вып. 5, 1984, стр. 595–624

Тривиальное название	Символ	Однобуквенный
Аланин	Ala	A
Глутамин	Gln	Q
Глицин	Gly	G
Фенилаланин	Phe	F
Пролин	Pro	P
Серин	Ser	S
Гомоцистеин	Hcys	X
Тирозин	Tyr	Y

Номенклатура непротеиногенных аминокислот:

Тривиальное название	Символ	Однобуквенный
D-Цистеин	D-Cys	c
D-Гомоцистеин	D-Hcys	x
D-Тирозин	D-Tyr	y

Материалы

Синтез пептидов: Fmoc-защищенные аминокислоты были приобретены у компании ORPEGEN (Гейдельберг, Германия). Пептидные смолы, 1-гидроксibenзототриазол (HOBT), дийодметан, этандитиол (EDT), диэтиловый эфир и трифторуксусная кислота (TFA) были поставлены компанией Merck (Дармштадт, Германия). N,N'-диизопропилкарбодиимид (DIC) и этиловый эфир 2-циано-2-(гидроксиимино)уксусной кислоты (оксима) были приобретены у компании Iris Biotech (Марктредвиц, Германия). Диметилформамид (DMF) и дихлорметан (DCM) были приобретены у компании Biosolve (Валкенсвард, Нидерланды), ацетонитрил (ACN) был приобретен у VWR (Дармштадт, Германия), тетрагидрофуран (THF) был приобретен у компании Grüssing (Филсум, Германия). O-(7-Азабензотриазол-1-ил)-N,N,N,N-тетраметилурония гексафторфосфат (HATU), трис(2-карбоксиэтил)фосфина гидрохлорид (TCEP), N,N-диизопропилэтиламин (DIPEA), пиперидин и тиоанизол были приобретены у компании Sigma-Aldrich (Сент-Луис, США). 6-карбокситетраметилродамиин (Tam)

был приобретен у компании emp biotech (Берлин, Германия). Триэтиламин (Et₃N) был приобретен у компании Thermo Fisher Scientific (Уолтем, США).

Среда культивирования: Среды для культивирования клеток (модифицированная среда Игла Дульбекко (DMEM), Ham's F12), а также трипсин-EDTA, фосфатно-солевой буфер Дульбекко (DPBS) и сбалансированный солевой раствор Хенкса (HBSS) были приобретены у компании Lonza (Базель, Швейцария). Фетальную бычью сыворотку (FBS) поставила компания Biochrom GmbH (Берлин, Германия). Гигромицин В был приобретен у компании Invivogen (Тулуза, Франция), а Opti-MEM был поставлен компанией Life Technologies (Базель, Швейцария). Lipofectamin™ 2000 был поставлен компанией Invitrogen (Карлсбад, Калифорния, США). MetafectenePro™ был поставлен компанией Biontex Laboratories GmbH (Мюнхен, Германия). Целентеразин Н был приобретен у компании DiscoverX (Фремонт, Калифорния, США), ядерный краситель Hoechst33342 был поставлен компанией Sigma-Aldrich (Сент-Луис, Миссури, США). Для флуоресцентной микроскопии выполняли слияние бычьего аррестина-3 с белком mCherry или Rluc8 и клонировали в вектор pcDNA3 для BRET-исследований. Плуороник и Fluo-2 AM были поставлены компанией Abcam (Кембридж, Великобритания), пробеницид был приобретен у Sigma-Aldrich (Сент-Луис, США). Последовательность для химерного G-белка GaΔbq14mug была любезно предоставлена Е. Костенисом, университет Фридриха Вильгельма, Бонн, Германия.

Общие методы синтеза пептидов

Все пептиды были синтезированы с использованием стратегии твердофазного синтеза ортогонального 9-флуоренилметоксикарбонил/трет-бутила (Fmoc/tBu). Стандартный синтез всех пептидов проводили на синтезаторе пептидов Sygo II (MultiSynTech, Бохум, Германия) в масштабе 15 мкмоль. За исключением случаев, когда указано иное синтез пептидов выполнялся на смоле Ванга, предварительно загруженной первой аминокислотой. Реакции связывания при автоматизированном синтезе пептидов проводили дважды с 8 эквив. соответствующих Fmoc-защищенных аминокислот, активированных на месте эквимольными количествами охуаи DIC в DMF на протяжении 30 мин. Снятие Fmoc-защиты обеспечивалось путем инкубации с 40% пиперидином в DMF (объемное содержание) в течение 3 мин и 20% пиперидином в DMF (объемное

содержание) в течение 10 мин. За исключением случаев, когда указано иное, все реакции выполнялись при комнатной температуре. Все пептиды очищали методом препаративной ОФ-ВЭЖХ на колонке Kinetex 5 мкм ХВ-С₁₈ 100 Å или Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å С12 (Phenomenex, Торренс, США). Чистоту подтверждали с помощью ОФ-ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å С12 (Phenomenex), Kinetex 5 мкм бифенил 100 Å (Phenomenex) или Aeris 3,6 мкм 100 Å ХВ-С18 (Phenomenex). ОФ-ВЭЖХ выполняли с использованием линейных градиентов элюента В (0,08% трифторуксусной кислоты в АСН) в элюенте А (0,1% трифторуксусной кислоты в Н₂О). Для проверки идентичности продукта использовали MALDI-ToF MS на Ultraflex II и ESI MS на НСТ ESI (Bruker Daltonics, Биллерика, США).

Конкретные примеры:

Список соединений:

№	Название соединения	Последовательность
(§§ 1)	Хемерин-9	YFPGQFAFS
(§§ 2)	Там-хемерин-9	Tam-YFPGQFAFS
(§§ 3)	Там-EG4-хемерин-9	Tam-EG(4)-YFPGQFAFS
(§§ 4)	[c4,C9]-хемерин-9	YFP[cQFAFC]
(§§ 5)	Там-[c4,C9]-хемерин-9	Tam-YFP[cQFAFC]
(§§ 6)	[c4,C7]-хемерин-9	YFP[cQFC]FS
(§§ 7)	[c4,C9-TA]-хемерин-9	YFP[c(CH ₂)QFAFC]
(§§ 8)	Там-[c4,C9-TA]-хемерин-9	Tam-YFP[c(CH ₂)QFAFC]
(§§ 9)	[c4,X9-TA]-хемерин-9	YFP[c(CH ₂)QFAFX]
(§§ 10)	Там-[c4,X9-TA]-хемерин-9	Tam-YFP[c(CH ₂)QFAFX]
(§§ 11)	[y1,c4,X9-TA]-хемерин-9	yFP[c(CH ₂)QFAFX]
(§§ 12)	[y1,c4,K7(Там),C9]-хемерин-9	yFP[cQFK(Tam)FC]
(§§ 13)	[x4,C9]-хемерин-9	YFP[xQFAFC]
(§§ 14)	[x4,W8,C9]-хемерин-9	YFP[xQFAWC]
(§§ 15)	[y1,x4,W8,C9]-хемерин-9	yFP[xQFAWC]
(§§ 16)	EG4-[x4,C9]-хемерин-9	EG(4)-YFP[xQFAFC]
(§§ 17)	Там-EG4-[x4,C9]-хемерин-9	Tam-EG(4)-YFP[xQFAFC]
(§§ 18)	EG4-[x4,W8,C9]-хемерин-9	EG(4)-YFP[xQFAWC]
(§§ 19)	Там-EG4-[x4,W8,C9]-хемерин-9	Tam-EG(4)-YFP[xQFAWC]

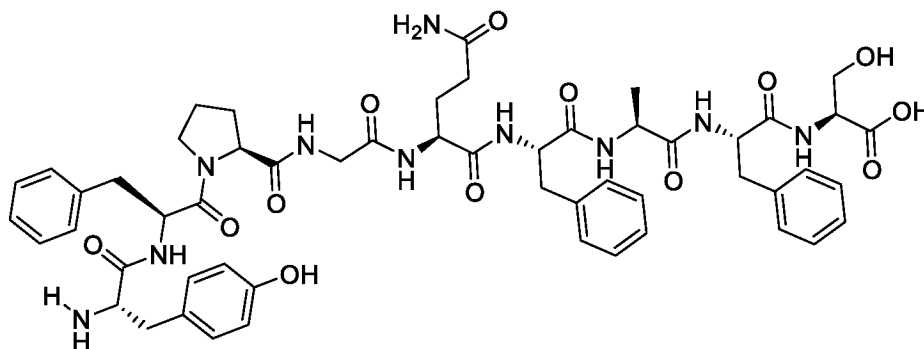
(§§ 20) GFLG-[x4,C9]-хемерин-9

GFLGYFP[xQFAFC]

X = гомоцистеин, x = D-гомоцистеин, ТА = тиоацеталь.

СИНТЕЗ СРАВНИТЕЛЬНЫХ ПРИМЕРОВ:

Сравнительный пример 1: Хемерин-9 (§§ 1)

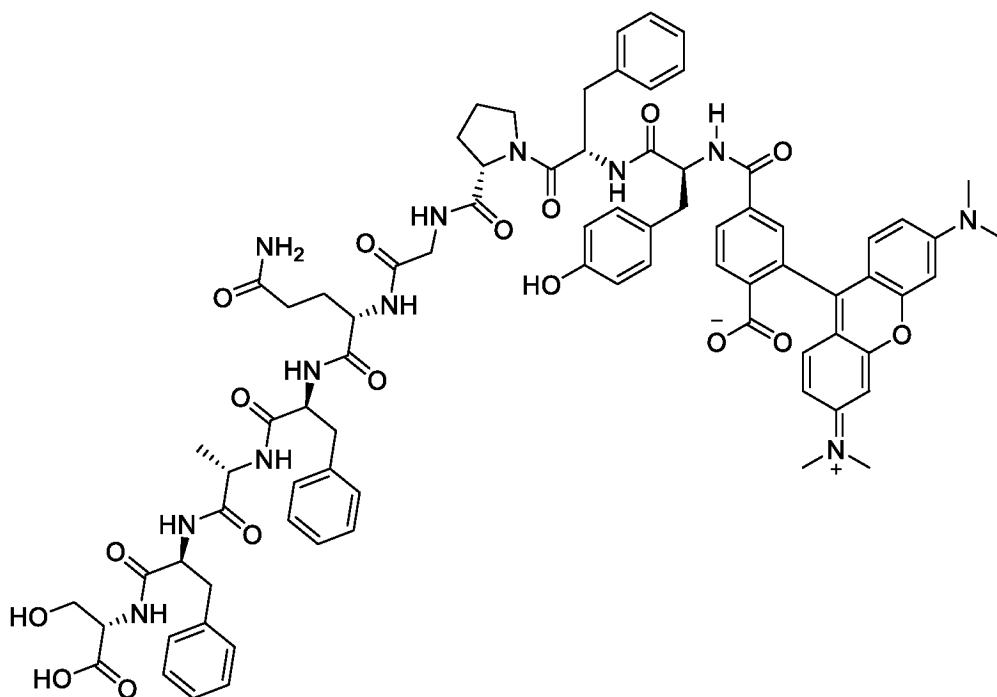


Последовательность

YFPGQFAFS

После автоматизированного синтеза YFPGQFAFS пептид обработали 90% TFA, 7% тиоанизолом, 3% этандитиолом в течение 3 ч для удаления защитной группы всех боковых цепей и отщепления пептида от смолы, с последующим осаждением в охлаждённом льдом Et₂O/гексане (1:3). Осадок промыли, и пептид очистили посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å C12, с использованием градиента 30-60% В в А более 30 минут со скоростью потока 15 мЛ/мин, определяя пептид путем измерения поглощения при $\lambda=220$ нм. Чистый выход составил 5,8 мг (36% теор. вых.). Чистоту определяли посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å C12 и на колонке Aeris 3,6 мкм 100 Å ХВ-С18, с использованием линейных градиентов 20-70% В в А более 40 минут со скоростью потока 1.0 и 1.55 мЛ/мин, соответственно. Пептид показал чистоту более 95%, что было определено посредством абсорбции при 220 нм на обеих колонках, со временем удерживания 17.4 мин и 8.2 мин, соответственно. Химической формулой пептида является C₅₄H₆₆N₁₀O₁₃ (моноизотопная масса: 1062.5 Da, средняя масса: 1063.18 Da). Наблюдаемые массы соответствовали расчетным массам, подтверждая идентичность продукта: В MALDI-ToF, наблюдались сигналы при m/z=1063.6 [M+H]⁺, m/z= 1085.6 [M+Na]⁺ и m/z= 1101.5 [M+K]⁺. В ионной ловушке ESI, наблюдались сигналы при m/z= 1063.3 [M+H]⁺ и m/z=532.3 [M+2H]²⁺.

Сравнительный пример 2: Там-хемерин-9 (§§ 2)



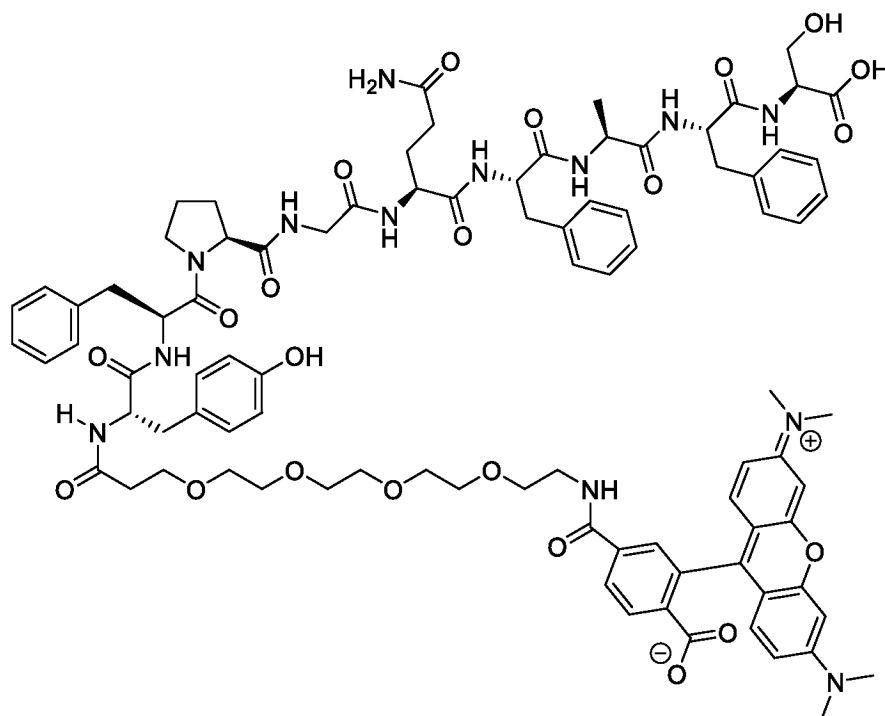
Последовательность

Tam-YFPGQFAFS

После автоматизированного синтеза YFPGQFAFS, N-конец пептидов был модифицирован 6-карбокситетраметилродамином (Tam) путем реакции с 2 эквив. Tam, NATU и DIPEA в ДМФ на протяжении ночи. Пептид обработали 90% TFA, 7% тиоанизолом, 3% этандитиолом в течение 3 ч для удаления защитной группы всех боковых цепей и отщепления пептида от смолы, с последующим осаждением в охлажденном льдом Et₂O/гексане (1:3). Осадок промыли, и пептид очистили посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å C12, с использованием градиента 30-80% В в А более 40 минут со скоростью потока 15 мЛ/мин, определяя пептид путем измерения поглощения при $\lambda=220$ нм. Чистый выход составил 5,3 мг (24% теор. вых.). Чистоту определяли посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å C12 и на колонке Kinetex 5 мкм бифенил 100 Å, с использованием линейных градиентов 20-70% В в А более 40 минут со скоростью потока 1.0 и 1.55 мЛ/мин, соответственно. Пептид показал чистоту более 95%, что было определено посредством абсорбции при 220 нм на обеих колонках, со временем удерживания 24.4 мин и 19.1 мин, соответственно. Химической формулой пептида является C₇₉H₈₆N₁₂O₁₇ (моноизотопная масса: 1474.6 Da, средняя масса: 1475.6 Da). Наблюдаемые массы соответствовали расчетным массам, подтверждая идентичность продукта: В MALDI-ToF,

наблюдались сигналы при $m/z=1475.6 [M+H]^+$, $m/z= 1497.6 [M+Na]^+$ и $m/z= 1513.5 [M+K]^+$. В ионной ловушке ESI, наблюдались сигналы при $m/z= 1475.4 [M+H]^+$ и $m/z=738.3 [M+2H]^{2+}$.

Сравнительный пример 3: Там-EG4-хемерин-9 (§§ 3)

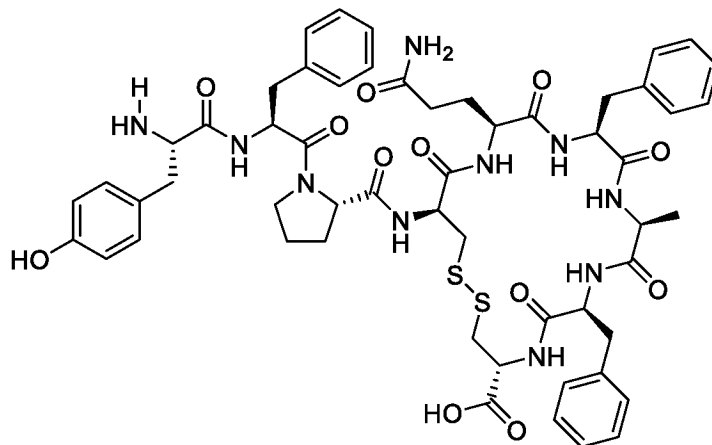


Последовательность Tam-EG(4)-YFPGQFAFS

После автоматизированного синтеза YFPGQFAFS, EG(4) соединили с N-концом пептида путем реакции 5 эквив. Fmoc-15-амино-4,7,10,13-тетраоксапентадекановой кислоты, HOBT и DIC в ДМФ на протяжении ночи. Fmoc-группу расщепляли путем реакции с 20% пиперидином в DMF в течение 10 мин, реакцию повторяли дважды. Пептид был модифицирован по N-концу 6-карбокситетраметилродамином (Tam) путем реакции с 2 эквив. Tam, HATU и DIPEA в ДМФ на протяжении ночи. Пептид обработали 90% TFA, 7% тиоанизолом, 3% этандитиолом в течение 3 ч для удаления защитной группы всех боковых цепей и отщепления пептида от смолы, с последующим осаждением в охлажденном льдом Et₂O/гексане (1:3). Осадок промыли, и пептид очистили посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å C12, с использованием градиента 30-80% В в А более 40 минут со скоростью потока 15 мЛ/мин, определяя пептид путем измерения поглощения при $\lambda=220$ нм. Чистый выход составил 4.8 мг (18,6 % теор. вых.). Чистоту определяли посредством ОФ-

ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å C12 и на колонке Kinetex 5 мкм бифенил 100 Å, с использованием линейных градиентов 20-70% В в А более 40 минут со скоростью потока 1,0 и 1,55 мл/мин, соответственно. Пептид показал чистоту более 95%, что было определено посредством абсорбции при 220 нм на обеих колонках, со временем удерживания 24,8 мин. и 16,4 мин, соответственно. Химической формулой пептида является C₉₀H₁₀₇N₁₃O₂₂ (моноизотопная масса: 1721,7 Da, средняя масса: 1722,9 Da). Наблюдаемые массы соответствовали расчетным массам, подтверждая идентичность продукта: В MALDI-ToF, наблюдались сигналы при m/z=1722,7 [M+H]⁺, m/z= 1745,7 [M+Na]⁺ и m/z= 1760,7 [M+K]⁺. В ионной ловушке ESI, наблюдались сигналы при m/z= 1722,6 [M+H]⁺ и m/z= 862,1 [M+2H]²⁺.

Сравнительный пример 4: [c4,C9]-хемерин-9 (§§ 4)



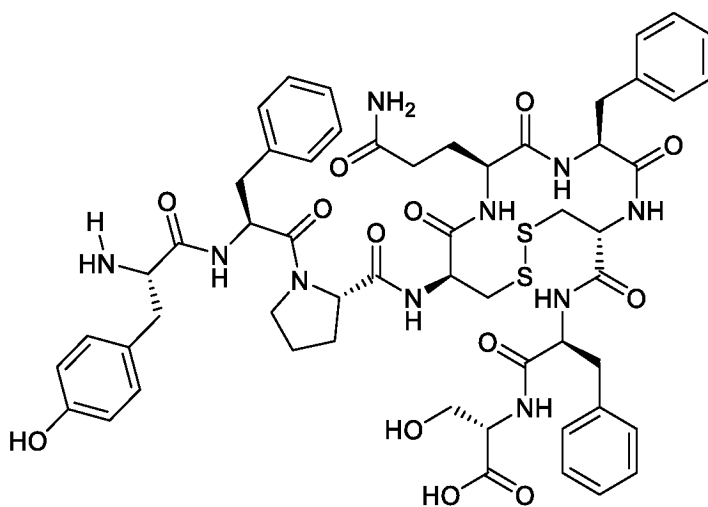
Последовательность

YFP[cQFAFC]

YFPcQFAFC синтезировали автоматически. Пептид обработали 90% TFA, 7% тиоанизолом, 3% этандитиолом в течение 3 ч для удаления защитной группы всех боковых цепей и отщепления пептида от смолы, с последующим осаждением в охлажденном льдом Et₂O/гексане (1:3). Осадок промыли Et₂O, и пептид инкубировали в TBS, 20% ACN, pH 7.8 в течение 48 ч, чтобы способствовать образованию внутримолекулярной дисульфидной связи. Пептид очищали посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Kinetex 5 мкм XB-C18 100 Å, с использованием градиента 25 - 55% В в А более 30 минут со скоростью потока 15 мл/мин, определяя пептид путем измерения поглощения при λ=220 нм. Чистый выход составил 1.9 мг (11.1 % теор. вых.). Чистоту определяли посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å C12 и на колонке Aeris 3,6 мкм 100 Å XB-C18, с

использованием линейных градиентов 20-70% В в А более 40 минут со скоростью потока 1.0 и 1.55 мЛ/мин, соответственно. Пептид показал чистоту более 95%, что было определено посредством абсорбции при 220 нм на обеих колонках, со временем удерживания 21.2 мин и 11.4 мин, соответственно. Химической формулой пептида является $C_{55}H_{66}N_{10}O_{12}S_2$ (моноизотопная масса: 1122.4 Da, средняя масса: 1123.3 Da). Наблюдаемые массы соответствовали расчетным массам, подтверждая идентичность продукта. В ионной ловушке ESI, наблюдались сигналы при $m/z = 1123.2 [M+H]^+$ и $m/z = 562.3 [M+2H]^{2+}$.

Сравнительный пример 5: [c4,C7]-хемерин-9 (§§ 6)



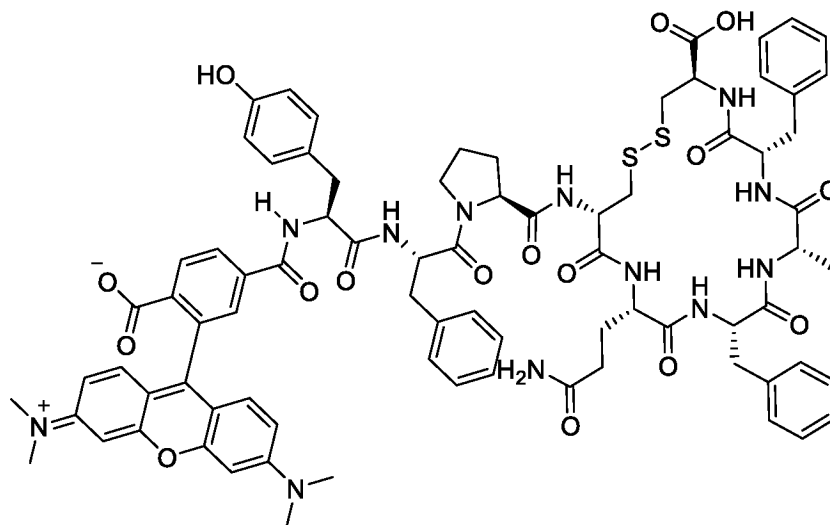
Последовательность

YFP[cQFC]FS

YFPcQFCFS синтезировали с помощью автоматизированного пептидного синтеза. Пептид обработали 90% TFA, 7% тиоанизолом, 3% этандитиолом в течение 3 ч для удаления защитной группы всех боковых цепей и отщепления пептида от смолы, с последующим осаждением в охлаждённом льдом **Et₂O/гексане** (1:3). Осадок промыли Et₂O, и пептид инкубировали в TBS, 20% ACN, pH 7.8 в течение 48 ч, чтобы способствовать образованию внутримолекулярной дисульфидной связи. Пептид очищали посредством **ОФ-ВЭЖХ** на колонке Kinetex 5 мкм ХВ-С18 100 Å с использованием градиента 25 - 55% В в А более 30 минут со скоростью потока 15 мЛ/мин, определяя пептид путем измерения поглощения при $\lambda=220$ нм. Чистый выход составил 1.9 мг (11.1 % теор. вых.). **Чистоту определяли посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å С12 и на колонке Aeris 3,6 мкм 100 Å ХВ-С18**, с использованием линейных градиентов 20-70% В в А более 40 минут со скоростью потока 1.0 и 1.55 мЛ/мин, соответственно. Пептид показал чистоту более 95%, что было определено посредством абсорбции при 220 нм на обеих колонках, со временем удерживания 21.0 мин и 11.7 мин, соответственно. Химической формулой пептида является C₅₅H₆₈N₁₀O₁₂S₂ (моноизотопная масса: 1138.4 Da, средняя масса: 1139.3 Da). Наблюдаемые массы соответствовали расчетным массам, подтверждая идентичность продукта. В ионной ловушке ESI, наблюдались сигналы при m/z= 1139.2 [M+H]⁺ и m/z=570.3 [M+2H]²⁺.

СИНТЕЗ ПРИМЕРОВ:

Пример 1: Tam-[c4,C9]-хемерин-9 (§§ 5)

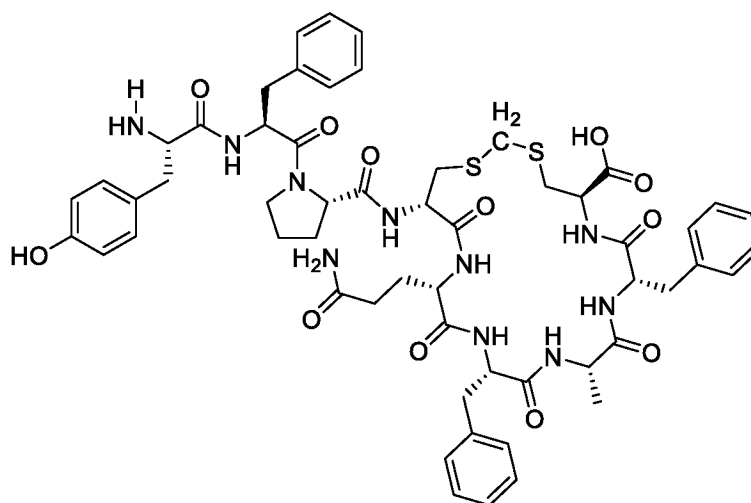


Последовательность

Tam-YFP[cQFAFC]

После автоматизированного синтеза YFPcQFAFC, N-конец пептидов был модифицирован 6-карбокситетраметилродамином (Tam) путем реакции с 2 эквив. Tam, NATU и DIPEA в ДМФ на протяжении ночи. Пептид обработали 90% TFA, 7% тиоанизолом, 3% этандитиолом в течение 3 ч для удаления защитной группы всех боковых цепей и отщепления пептида от смолы, с последующим осаждением в охлажденном льдом Et₂O/гексане (1:3). Осадок промыли, и пептид инкубировали в TBS, 20% ACN, pH 7.8 в течение 48 ч, чтобы способствовать образованию внутримолекулярной дисульфидной связи. Пептид очищали посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Kinetex 5 мкм XB-C18 100 Å, с использованием градиента 30 - 65% В в А более 40 минут со скоростью потока 15 мЛ/мин, определяя пептид путем измерения поглощения при $\lambda=220$ нм. Чистый выход составил 0.7 мг (3% теор. вых.). Чистоту определяли посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å C12 и на колонке Kinetex 5 мкм бифенил 100 Å, с использованием линейных градиентов 20-70% В в А более 40 минут со скоростью потока 1.0 и 1.55 мЛ/мин, соответственно. Пептид показал чистоту более 95%, что было определено посредством абсорбции при 220 нм на обеих колонках, со временем удерживания 27.5 мин и 22.3 мин, соответственно. Химической формулой пептида является C₈₀H₈₆N₁₂O₁₆S₂ (моноизотопная масса: 1534.6 Da, средняя масса: 1535.8 Da). Наблюдаемые массы соответствовали расчетным массам, подтверждая идентичность продукта: В MALDI-ToF, наблюдался сигнал при m/z=1535.6 [M+H]⁺. В ионной ловушке ESI, наблюдались сигналы при m/z= 1535.3 [M+H]⁺ и m/z=768.7 [M+2H]²⁺.

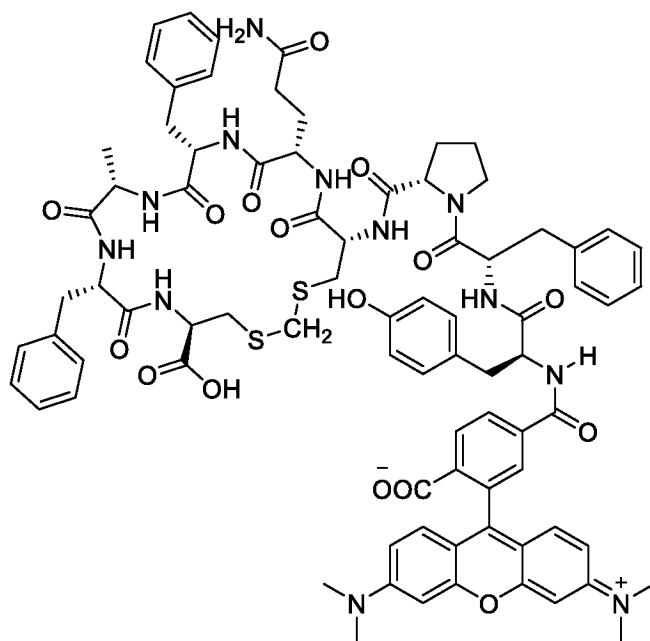
Пример 2: [c4,C9-TA]-хемерин-9 (§§ 7)



Последовательность:

YFP[c(CH₂)QFAFC]

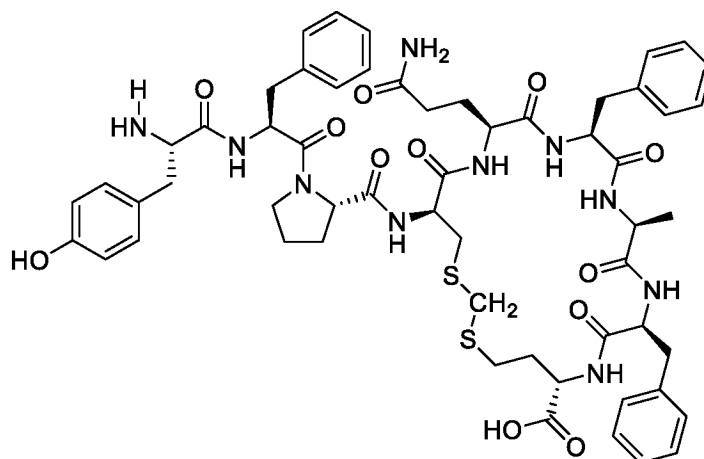
После автоматизированного синтеза YFPcQFAFC пептид обработали 90% TFA, 7% тиоанизолом, 3% этандитиолом в течение 3 ч для удаления защитной группы всех боковых цепей и отщепления пептида от смолы, с последующим осаждением в охлаждённом льдом Et₂O/гексане (1:3). Осадок промыли, и пептид очистили посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å C12, с использованием градиента 20-70% В в А более 40 минут со скоростью потока 15 мЛ/мин, определяя пептид путем измерения поглощения при $\lambda=220$ нм. Чистый выход линейного пептида составил 5.3 мг (31% теор. вых.). 0.6 мг пептида растворили в ТГФ/Н₂О (1:2) в присутствии 3 эквив. К₂СО₃, 3 эквив. ТСЕР, и 20 эквив. Et₃N. Этот раствор поэтапно добавили к раствору 20 эквив. СН₂I₂ в ТГФ. Реакцию завершили после встряхивания при кт в течение 12 ч. Пептид осущали на полупрепаративной колонке Kinetex 5 мкм ХВ-С18 100 Å, с использованием линейных градиентов 30-60% В в А более 30 минут со скоростью потока 5 мЛ/мин. Чистый выход циклического пептида составил 0.5 мг (83% теор. вых.). Чистоту определяли посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å C12, с использованием линейных градиентов 20-70% В в А более 40 минут со скоростью потока 1.0 мЛ/мин. Пептид показал чистоту более 95%, что было определено посредством абсорбции при 220 нм, со временем удерживания 20.4 мин. Химической формулой пептида является C₅₆H₆₈N₁₀O₁₂S₂ (моноизотопная масса: 1136.5 Da, средняя масса: 1137.3 Da). Наблюдаемые массы соответствовали расчетным массам, подтверждая идентичность продукта: В MALDI-ToF, наблюдались сигналы при m/z=1137.5 [M+H]⁺, 1159.5 [M+Na]⁺, и 1175.4 [M+K]⁺. В ионной ловушке ESI, наблюдались сигналы при m/z= 1137.3 [M+H]⁺ и m/z=569.3 [M+2H]²⁺.

Пример 3: Там-[с4,С9-ТА]-хемерин-9 (§§ 8)**Последовательность:**Tam-YFP[c(CH₂)QFAFC]

После автоматизированного синтеза YFcGQFAFC, N-конец пептидов был модифицирован 6-карбокситетраметилпроламином (Там) путем реакции с 2 эквив. Там, НАТУ и DIPEA в ДМФ на протяжении ночи. Пептид обработали 90% TFA, 7% тиоанизолом, 3% этандитиолом в течение 3 ч для удаления защитной группы всех боковых цепей и отщепления пептида от смолы, с последующим осаждением в охлажденном льдом Et₂O/гексане (1:3). Осадок промыли, и пептид очистили посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Kinetex 5 мкм ХВ-С18 100 Å, с использованием линейных градиентов 30-80% В в А более 40 минут, определяя пептид путем измерения поглощения при λ=220 нм. Чистый выход линейного пептида составил 2.3 мг (10% теор. вых.). Пептид растворили в ТГФ/Н₂О (1:2) в присутствии 3 эквив. К₂СО₃, 3 эквив. ТСЕР, и 20 эквив. Et₃N. Этот раствор поэтапно добавили к раствору 20 эквив. Сh₂I₂ в ТГФ. Реакцию завершили после встряхивания при кт в течение 12 ч. пептид очищали на полупрепаративной колонке Kinetex 5 мкм ХВ-С18 100 Å, с использованием линейных градиентов 30-60% В в А более 30 минут со скоростью потока 5 мл/мин. Чистый выход циклического пептида составил 0.73 мг (31% теор. вых.). Чистоту определяли посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å С12 и на колонке Kinetex 5 мкм бифенил 100 Å, с использованием линейных градиентов 20-70% В в А более 40 минут со скоростью потока 1.0 и 1.55 мл/мин, соответственно. Пептид показал чистоту более 95%, что было определено

посредством абсорбции при 220 нм на обеих колонках, со временем удерживания 26.9 мин и 22.6 мин, соответственно. Химической формулой пептида является $C_{81}H_{88}N_{12}O_{16}S_2$ (моноизотопная масса: 1548.6 Da, средняя масса: 1549.8 Da). Наблюдаемые массы соответствовали расчетным массам, подтверждая идентичность продукта: В MALDI-ToF, наблюдался сигнал при $m/z=1549.6$ $[M+H]^+$. В ионной ловушке ESI, наблюдались сигналы при $m/z=1549.4$ $[M+H]^+$ и $m/z=775.3$ $[M+2H]^{2+}$.

Пример 4: [c4,X9-TA]-хемерин-9 (§§ 9)



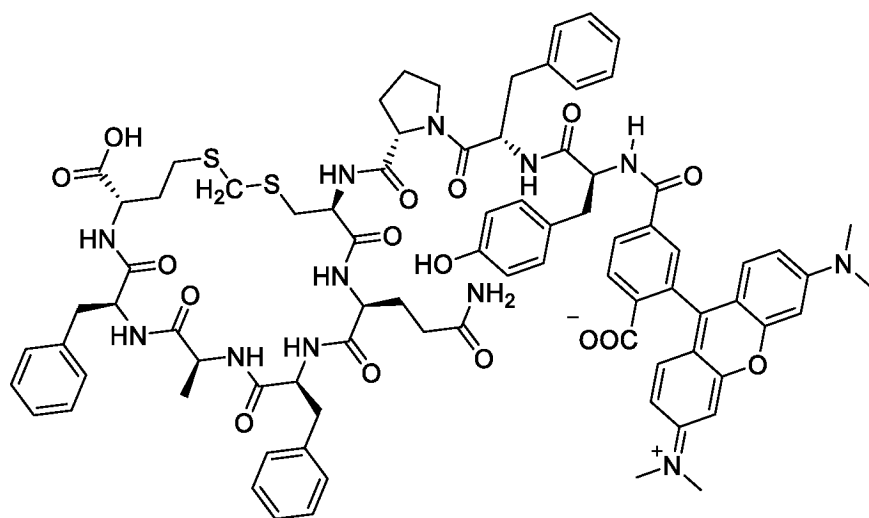
Последовательность:

YFP[c(CH₂)QFAFX]

В 2-хлортритилхлоридную смолу добавляли Fmoc-гомоцистеин путем взаимодействия смолы с 1.5 эквив. аминокислоты и 5 эквив. DIPEA на протяжении ночи. Загрузку определяли путем отщепления Fmoc-группы от определенного количества смолы с использованием пиперидина и измерения абсорбции пиперидин-Fmoc аддукта при $\lambda=301$ нм. После последующего автоматизированного синтеза YFPcQFAF, пептид обработали 90% TFA, 7% тианизолом, 3% этандитиолом в течение 3 ч для удаления защитной группы всех боковых цепей и отщепления пептида от смолы, с последующим осаждением в охлажденном льдом Et₂O/гексане (1:3). Осадок промыли, и пептид очистили посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å C12, с использованием градиента 30-65% В в А over 35 min со скоростью потока 15 мЛ/мин, определяя пептид путем измерения поглощения при $\lambda=220$ нм. Чистый выход линейного пептида составил 1.3 мг (7.5% теор. вых.). Пептид растворили в ТГФ/Н₂O (1:2) в присутствии 3 эквив. K₂CO₃, 3 эквив. TCEP, и 20 эквив. Et₃N. Этот раствор поэтапно добавили к раствору 20 эквив. CH₂I₂ в ТГФ. Реакцию завершили

после встряхивания при кт в течение 12 ч. пептид очищали на полупрепаративной колонке Kinetex 5 мкм ХВ-С18 100 Å, с использованием линейных градиентов 20-70% В в А более 40 минут со скоростью потока 5 мл/мин. Чистый выход циклического пептида составил 0.7 мг (53% теор. вых.). Чистоту определяли посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å С12 и на колонке Kinetex 5 мкм ХВ-С18 100 Å, с использованием линейных градиентов 20-70% В в А более 40 минут со скоростью потока 1.0 и 1.55 мл/мин, соответственно. Пептид показал чистоту более 95%, что было определено посредством абсорбции при 220 нм, со временем удерживания 20.9 мин и 13.9 мин, соответственно. Химической формулой пептида является $C_{57}H_{70}N_{10}O_{12}S_2$ (моноизотопная масса: 1150.5 Da, средняя масса: 1151.4 Da). Наблюдаемые массы соответствовали расчетным массам, подтверждая идентичность продукта: В MALDI-ToF, наблюдались сигналы при $m/z=1151.5 [M+H]^+$, $1173.5 [M+Na]^+$, и $1189.5 [M+K]^+$. В ионной ловушке ESI, наблюдались сигналы при $m/z=1151.3 [M+H]^+$ и $m/z=576.2 [M+2H]^{2+}$.

Пример 5: Там-[с4,Х9-ТА]-хемерин-9 (\$\$ 10)



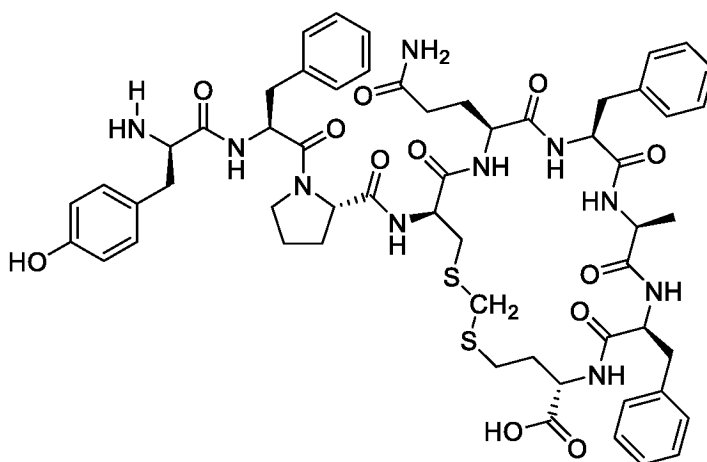
Последовательность:

Tam-YFP[c(CH₂)QFAFX]

В 2-хлортритилхлоридную смолу добавляли Fmoc-гомоцистеин путем взаимодействия смолы с 1.5 эквив. аминокислоты и 5 эквив. DIPEA на протяжении ночи. Загрузку определяли путем отщепления Fmoc-группы от определенного количества смолы с использованием и измерения абсорбции пиперидин-Fmoc аддукта при $\lambda=301$ нм. После последующего автоматизированного синтеза YFPcQFAF, N-конец пептидов был модифицирован 6-

карбокситетраметилпроламином (Tам) путем реакции с 2 эквив. Там, НАТУ и DIPEA в ДМФ на протяжении ночи. Пептид обработали 90% TFA, 7% тиоанизолом, 3% этандитиолом в течение 3 ч для удаления защитной группы всех боковых цепей и отщепления пептида от смолы, с последующим осаждением в охлажденном льдом Et₂O/гексане (1:3). Осадок промыли, и пептид очистили посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Kinetex 5 мкм ХВ-С18 100 Å, с использованием линейных градиентов 30-80% В в А более 40 минут, определяя пептид путем измерения поглощения при λ=220 нм. Чистый выход линейного пептида составил 2.3 мг (10% теор. вых.). Пептид растворили в ТГФ/Н₂О (1:2) в присутствии 3 эквив. К₂СО₃, 3 эквив. ТСЕР, и 20 эквив. Et₃N. Этот раствор поэтапно добавили к раствору 20 эквив. Сh₂I₂ в ТГФ. Реакцию завершили после встряхивания при кт в течение 12 ч. Пептид очищали на полупрепаративной колонке Kinetex 5 мкм ХВ-С18 100 Å, с использованием линейных градиентов 30-60% В в А более 30 минут со скоростью потока 5 мл/мин. Чистый выход циклического пептида составил 0.73 мг (31% теор. вых.). Чистоту определяли посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å С12 и на колонке Kinetex 5 мкм бифенил 100 Å, с использованием линейных градиентов 20-70% В в А более 40 минут со скоростью потока 1.0 и 1.55 мл/мин, соответственно. Пептид показал чистоту более 95%, что было определено посредством абсорбции при 220 нм на обеих колонках, со временем удерживания 26.9 мин и 22.6 мин, соответственно.

Пример 6: [y1,c4,X9-TA]-хемерин-9 (§§ 11)



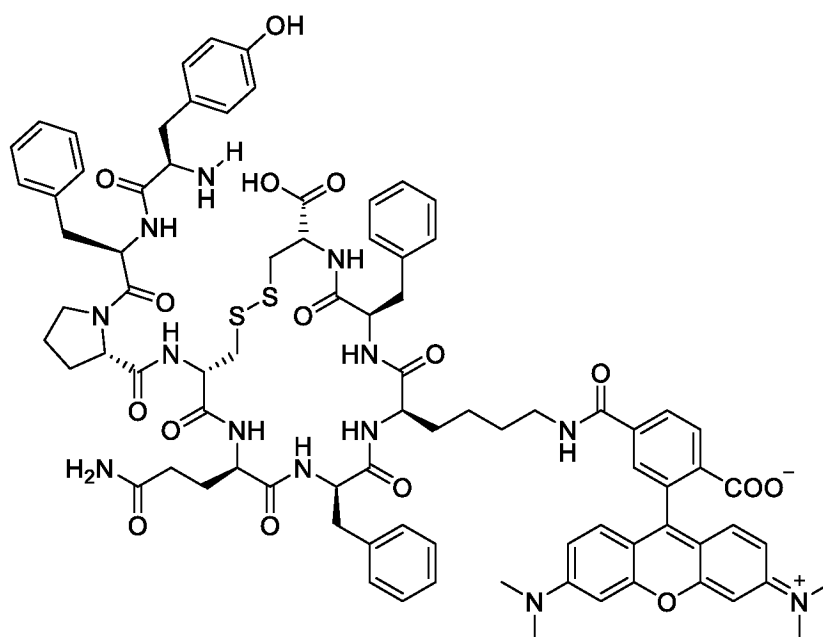
Последовательность:

yFP[c(CH₂)QFAFX]

В 2-хлортритилхлоридную смолу добавляли Fmoc-гомоцистеин путем взаимодействия смолы с 1.5 эквив. аминокислоты и 5 эквив. DIPEA на протяжении

ночи. Загрузку определяли путем отщепления Fmoc-группы от определенного количества смолы с использованием пиперидина и измерения абсорбции пиперидин-Fmoc аддукта при $\lambda=301$ нм. После последующего автоматизированного синтеза YFPcQFAF, пептид обработали 90% TFA, 7% тианизолом, 3% этандитиолом в течение 3 ч для удаления защитной группы всех боковых цепей и отщепления пептида от смолы, с последующим осаждением в охлажденном льдом Et₂O/гексане e (1:3). Осадок промыли, и пептид очистили посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å C12, с использованием градиента 30-65% B в A over 35 min со скоростью потока 15 мЛ/мин, определяя пептид путем измерения поглощения при $\lambda=220$ нм. Чистый выход линейного пептида составил 2.5 мг (11% теор. вых.). Пептид растворили в ТГФ/Н₂O (1:2) в присутствии 3 эквив. K₂CO₃, 3 эквив. TCEP, и 20 эквив. Et₃N. Этот раствор поэтапно добавили к раствору 20 эквив. CH₂I₂ в ТГФ. Реакцию завершили после встряхивания при кт в течение 12 ч. пептид очищали на полупрепаративной колонке Kinetex 5 мкм XB-C18 100 Å, с использованием линейных градиентов 20-70% B в A более 40 минут со скоростью потока 5 мЛ/мин. Чистый выход циклического пептида составил 0.8 мг (32% теор. вых.). Чистоту определяли посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å C12 и на колонке Aeris 3,6 мкм 100 Å XB-C18, с использованием линейных градиентов 20-70% B в A более 40 минут со скоростью потока 1.0 и 1.55 мЛ/мин, соответственно. Пептид показал чистоту более 95%, что было определено посредством абсорбции при 220 нм, со временем удерживания 22.3 мин и 12.9 мин, соответственно. Химической формулой пептида является C₅₇H₇₀N₁₀O₁₂S₂ (моноизотопная масса: 1150.5 Da, средняя масса: 1151.4 Da). Наблюдаемые массы соответствовали расчетным массам, подтверждая идентичность продукта: В MALDI-ToF, наблюдался сигнал при m/z=1151.4 [M+H]⁺. В ионной ловушке ESI, наблюдались сигналы при m/z=1151.3 [M+H]⁺ и m/z=576.3 [M+2H]²⁺.

Пример 7: [y1,c4,K7(Tam),C9]-хемерин-9 (§§ 12)



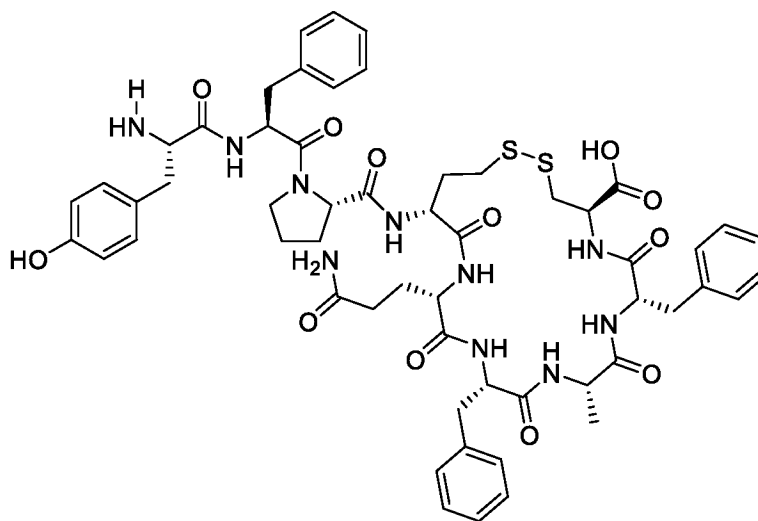
Последовательность:

yFP[cQFK(Tam)FC]

Пептид был синтезирован включением Dde защищенного лизина в положении 7, чтобы обеспечить селективную модификацию пептида в указанной цепи лизина. После автоматизированного синтеза yFPcQFK(Dde)FC, Dde защитную группу расщепляли повторной реакцией с 2% гидразина в ДМФ, реакцию контролировали путем измерения УФ-поглощения аддукта Dde-гидразина при $\lambda=300$ нм. Пептид был модифицирован с помощью 6-карбокситетраметилродамина (Tam) путем реакции с 2 эквив. Tam, NHTU и DIPEA в ДМФ на протяжении ночи. Пептид обработали 90% TFA, 7% тиоанизолом, 3% этандитиолом в течение 3 ч для удаления защитной группы всех боковых цепей и отщепления пептида от смолы, с последующим осаждением в охлажденном льдом Et₂O/гексане e (1:3). Осадок промыли, и пептид инкубировали в TBS, 20% ACN, pH 7.8 в течение 48 ч, чтобы способствовать образованию внутримолекулярной дисульфидной связи. Пептид очищали посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Aeris 3,6 мкм 100 Å XB-C18, с использованием линейных градиентов 30-60% В в А более 30 минут, определяя пептид путем измерения поглощения при $\lambda=220$ нм. Выход чистого пептида составил 1.2 мг (5% теор. вых.). Чистоту определяли посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å C12 и на колонке Aeris 3,6 мкм 100 Å XB-C18, с использованием линейных градиентов 20-70% В в А более 40 минут со скоростью потока 1.0 и 1.55 мЛ/мин, соответственно. Пептид показал чистоту

более 95%, что было определено посредством абсорбции при 220 нм, со временем удерживания 24.1 мин и 15.9 мин, соответственно. Химической формулой пептида является $C_{83}H_{93}N_{13}O_{16}S_2$ (моноизотопная масса: 1591.6 Da, средняя масса: 1592.9 Da). Наблюдаемые массы соответствовали расчетным массам, подтверждая идентичность продукта: В MALDI-ToF, наблюдались сигналы при $m/z=1592.7$ $[M+H]^+$, $m/z=1614.7$ $[M+Na]^+$, и при $m/z=1630.6$ $[M+K]^+$. В ионной ловушке ESI, наблюдались сигналы при $m/z=797.0$ $[M+2H]^{2+}$ и $m/z=531.7$ $[M+3H]^{3+}$.

Пример 8: [x4,C9]-хемерин-9 (\$\$ 13)



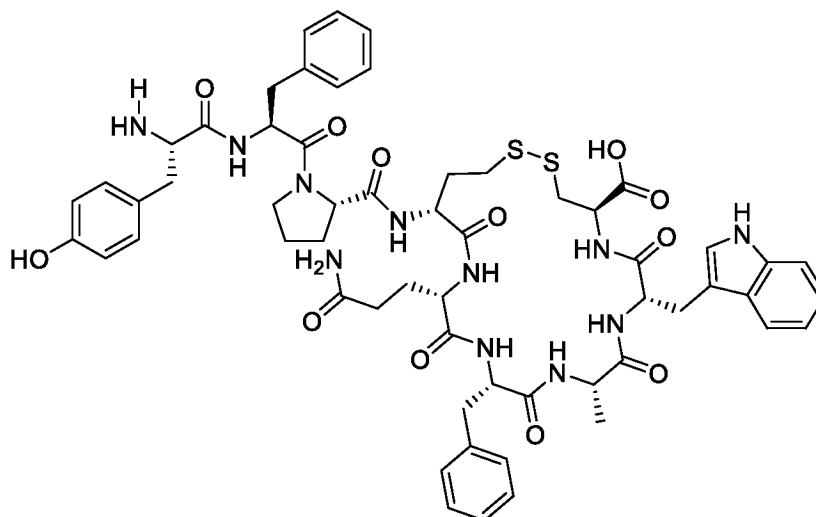
Последовательность:

YFP[xQFAFC]

После автоматизированного синтеза QFAFC, D-гомоцистеин (x) соединили путем реакции 5 эквив. HOBT, DIC и Fmoc-D-гомоцистеин(Trt)-OH в ДМФ на протяжении ночи, с последующим автоматизированным синтезом YFP. Пептид обработали 90% TFA, 7% тиоанизолом, 3% этандитиолом в течение 3 ч для удаления защитной группы всех боковых цепей и отщепления пептида от смолы, с последующим осаждением в охлажденном льдом Et_2O /гексане e (1:3). Осадок промыли Et_2O , и пептид инкубировали в TBS, 20% ACN, pH 7.8 в течение 48 ч, чтобы способствовать образованию внутримолекулярной дисульфидной связи. Пептид очищали посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Kinetex 5 мкм ХВ-C18 100 Å с использованием градиента 25 - 55% В в А более 30 минут со скоростью потока 15 мЛ/мин, определяя пептид путем измерения поглощения при $\lambda=220$ нм. Чистый выход составил 1.9 мг (11.1 % теор. вых.). Чистоту определяли посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å C12 и на колонке Kinetex 5 мкм бифенил 100 Å, с использованием линейных градиентов 20-70% В в А более 40 минут со

скоростью потока 1.0 и 1.55 мЛ/мин, соответственно. Пептид показал чистоту более 95%, что было определено посредством абсорбции при 220 нм на обеих колонках, со временем удерживания 20.5 мин и 11.3 мин, соответственно. Химической формулой пептида является $C_{56}H_{68}N_{10}O_{12}S_2$ (моноизотопная масса: 1136.5 Da, средняя масса: 1137.3 Da). Наблюдаемые массы соответствовали расчетным массам, подтверждая идентичность продукта: В MALDI-ToF, наблюдались сигналы при $m/z=1137.5 [M+H]^+$, при $m/z=1159.5 [M+Na]^+$, и $m/z=1175.5 [M+K]^+$. В ионной ловушке ESI, наблюдались сигналы при $m/z=1137.2 [M+H]^+$ и $m/z=569.2 [M+2H]^{2+}$.

Пример 9: [x4,W8,C9]-хемерин-9 (§§ 14)



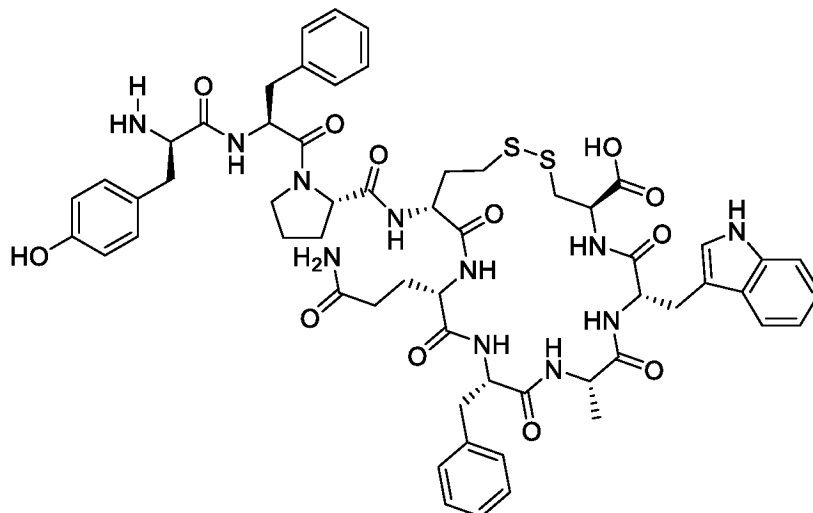
Последовательность:

YFP[xQFAWC]

После автоматизированного синтеза QFAWC, D-гомоцистеин (x) соединили путем реакции 5 эквив. HOBT, DIC и Fmoc-D-гомоцистеин(Trt)-OH в ДМФ на протяжении ночи, с последующим автоматизированным синтезом YFP. Пептид обработали 90% TFA, 7% тиоанизолом, 3% этандитиолом в течение 3 ч для удаления защитной группы всех боковых цепей и отщепления пептида от смолы, с последующим осаждением в охлажденном льдом Et_2O /гексане (1:3). Осадок промыли Et_2O , и пептид инкубировали в TBS, 20% ACN, pH 7.8 в течение 48 ч, чтобы способствовать образованию внутримолекулярной дисульфидной связи. Пептид очищали посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å C12 использованием градиента 30 - 60% В в А более 30 минут со скоростью потока 15 мЛ/мин, определяя пептид путем измерения поглощения при $\lambda=220$ нм. Чистый выход составил 2.0 мг (11.3 % теор. вых.). Чистоту определяли посредством ОФ-

ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å C12 и на колонке Kinetex 5 мкм бифенил 100 Å, с использованием линейных градиентов 20-70% В в А более 40 минут со скоростью потока 1.0 и 1.55 мЛ/мин, соответственно. Пептид показал чистоту более 95%, что было определено посредством абсорбции при 220 нм на обеих колонках, со временем удерживания 20.6 мин и 12.1 мин, соответственно. Химической формулой пептида является C₅₈H₆₉N₁₁O₁₂S₂ (моноизотопная масса: 1175.5 Da, средняя масса: 1176.4 Da). Наблюдаемые массы соответствовали расчетным массам, подтверждая идентичность продукта: В MALDI-ToF, наблюдались сигналы при m/z=1176.5 [M+H]⁺, и при m/z= 1198.5 [M+Na]⁺. В ионной ловушке ESI, наблюдались сигналы при m/z= 1176.2 [M+H]⁺ и m/z=588.8 [M+2H]²⁺.

Пример 10: [y1,x4,W8,C9]-хемерин-9 (\$\$ 15)

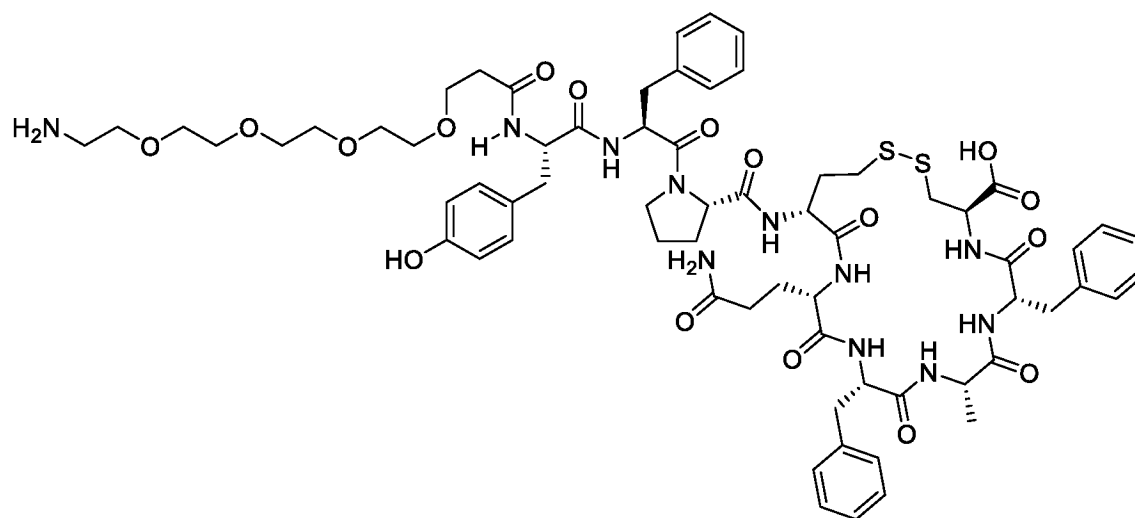


Последовательность: yFP[xQFAWC]

После автоматизированного синтеза QFAWC, D-гомоцистеин (x) соединили путем реакции 5 эквив. HOBT, DIC и Fmoc-D-гомоцистеин(Trt)-OH в ДМФ на протяжении ночи, с последующим автоматизированным синтезом yFP. Пептид обработали 90% TFA, 7% тиоанизолом, 3% этандитиолом в течение 3 ч для удаления защитной группы всех боковых цепей и отщепления пептида от смолы, с последующим осаждением в охлажденном льдом Et₂O/гексане (1:3). Осадок промыли Et₂O, и пептид инкубировали в TBS, 20% ACN, pH 7.8 в течение 48 ч, чтобы способствовать образованию внутримолекулярной дисульфидной связи. Пептид очищали посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Aeris 3,6 мкм 100 Å XB-C18, с использованием градиента 20 - 50% В в А более 30 минут со скоростью потока 15

мЛ/мин, определяя пептид путем измерения поглощения при $\lambda=220$ нм. Чистый выход составил 1.8 мг (10.2 % теор. вых.). Чистоту определяли посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å C12 и на колонке Aeris 3,6 мкм 100 Å ХВ-С18, с использованием линейных градиентов 20-70% В в А более 40 минут со скоростью потока 0.6 и 1.55 мЛ/мин, соответственно. Пептид показал чистоту более 95%, что было определено посредством абсорбции при 220 нм на обеих колонках, со временем удерживания 22.7 мин и 14.2 мин, соответственно. Химической формулой пептида является $C_{58}H_{69}N_{11}O_{12}S_2$ (моноизотопная масса: 1175.46 Da; средняя масса: 1176.38 Da). Наблюдаемые массы соответствовали расчетным массам, подтверждая идентичность продукта: В MALDI-ToF наблюдался сигнал при $m/z=1176.5 [M+H]^+$. В ионной ловушке ESI, наблюдались сигналы при $m/z= 1176.2 [M+H]^+$ и $m/z=588.8 [M+2H]^{2+}$.

Пример 11: EG4-[x4,C9]-хемерин-9 (\$\$ 16)



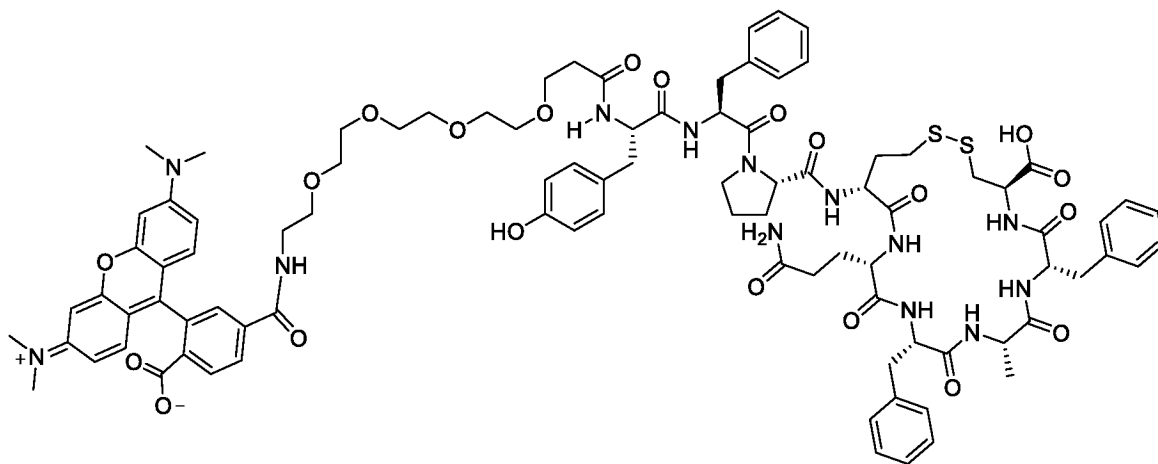
Последовательность:

EG(4)-YFP[xQFAFC]

После автоматизированного синтеза QFAFC, D-гомоцистеин (x) соединили путем реакции 5 эквив. HOBT, DIC и Fmoc-D-гомоцистеин(Trt)-ОН в ДМФ на протяжении ночи, с последующим автоматизированным синтезом YFP. EG(4) соединили с N-концом пептида путем реакции 5 эквив. Fmoc-15-амино-4,7,10,13-тетраоксапентадекановая кислота, HOBT и DIC в ДМФ на протяжении ночи. Fmoc-группу разделили путем реакции с 20% пиперидина в ДМФ в течение 10 мин, реакцию повторяли дважды. Пептид обработали 90% TFA, 7% тиоанизолом, 3% этандитиолом в течение 3 ч для удаления защитной группы всех боковых цепей и отщепления пептида от смолы, с последующим осаждением в охлажденном льдом

Et₂O/гексане (1:3). Осадок промыли Et₂O, и пептид инкубировали в TBS, 20% ACN, pH 7.8 в течение 48 ч, чтобы способствовать образованию внутримолекулярной дисульфидной связи. Пептид очищали посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Aeris 3,6 мкм 100 Å XB-C18, с использованием градиента 20 - 50% В в А более 30 минут со скоростью потока 15 мЛ/мин, определяя пептид путем измерения поглощения при λ=220 нм. Чистый выход составил 4.5 мг (21.6 % теор. вых.). Чистоту определяли посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å C12 и на колонке Aeris 3,6 мкм 100 Å XB-C18, с использованием линейных градиентов 20-70% В в А более 40 минут со скоростью потока 0.6 и 1.55 мЛ/мин, соответственно. Пептид показал чистоту более 95%, что было определено посредством абсорбции при 220 нм на обеих колонках, со временем удерживания 21.9 мин и 13.9 мин, соответственно. Химической формулой пептида является C₆₇H₈₉N₁₁O₁₇S₂ (моноизотопная масса: 1383.59 Da; средняя масса: 1384.63 Da). Наблюдаемые массы соответствовали расчетным массам, подтверждая идентичность продукта: В MALDI-ToF наблюдался сигнал при m/z=1384.6 [M+H]⁺. В ионной ловушке ESI, наблюдались сигналы при m/z= 1384.3 [M+H]⁺ и m/z=692.9 [M+2H]²⁺.

Пример 12: Там-EG4-[x4,C9]-хемерин-9 (§§ 17)



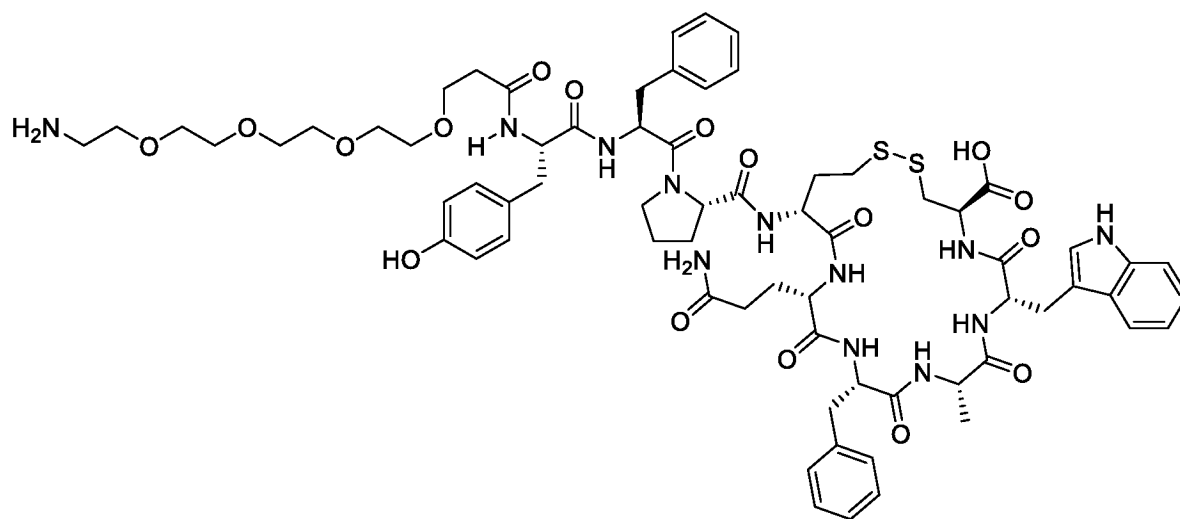
Последовательность:

Tam-EG(4)-YFP[xQFAFC]

После автоматизированного синтеза QFAFC, D-гомоцистеин (x) соединили путем реакции 5 эквив. HOBT, DIC и Fmoc-D-гомоцистеин(Trt)-ОН в ДМФ на протяжении ночи, с последующим автоматизированным синтезом YFP. EG(4) соединили с N-концом пептида путем реакции 5 эквив. Fmoc-15-амино-4,7,10,13-тетраоксапентадекановая кислота, HOBT и DIC в ДМФ на протяжении ночи. Fmoc-группу разделили путем реакции с 20% пиперидина в ДМФ в течение 10 мин,

реакцию повторяли дважды. Пептид был на N-конце модифицирован с помощью 6-карбокситетраметилродамина (Tam) путем реакции с 2 эквив. Tam, NUTU и DIPEA в ДМФ на протяжении ночи. Пептид обработали 90% TFA, 7% тиоанизолом, 3% этандитиолом в течение 3 ч для удаления защитной группы всех боковых цепей и отщепления пептида от смолы, с последующим осаждением в охлажденном льдом Et₂O/гексане (1:3). Осадок промыли Et₂O, и пептид инкубировали в TBS, 20% ACN, pH 7.8 в течение 48 ч, чтобы способствовать образованию внутримолекулярной дисульфидной связи. Пептид очищали посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Aegis 3,6 мкм 100 Å XB-C18, с использованием градиента 20 - 50% В в А более 30 минут со скоростью потока 15 мЛ/мин, определяя пептид путем измерения поглощения при $\lambda=220$ нм. Чистый выход составил 1.8 мг (6.7 % теор. вых.). Чистоту определяли посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å C12 и на колонке Aegis 3,6 мкм 100 Å XB-C18, с использованием линейных градиентов 20-70% В в А более 40 минут со скоростью потока 0.6 и 1.55 мЛ/мин, соответственно. Пептид показал чистоту более 95%, что было определено посредством абсорбции при 220 нм на обеих колонках, со временем удерживания 22.9 мин и 14.9 мин, соответственно. Химической формулой пептида является C₉₂H₁₀₉N₁₃O₂₁S₂ (моноизотопная масса: 1795.73 Da; средняя масса: 1797.07 Da). Наблюдаемые массы соответствовали расчетным массам, подтверждая идентичность продукта: В MALDI-ToF наблюдался сигнал при m/z=1796.7 [M+H]⁺. В ионной ловушке ESI, наблюдались сигналы при m/z= 1797.3 [M+H]⁺ и m/z=599.7 [M+2H]²⁺.

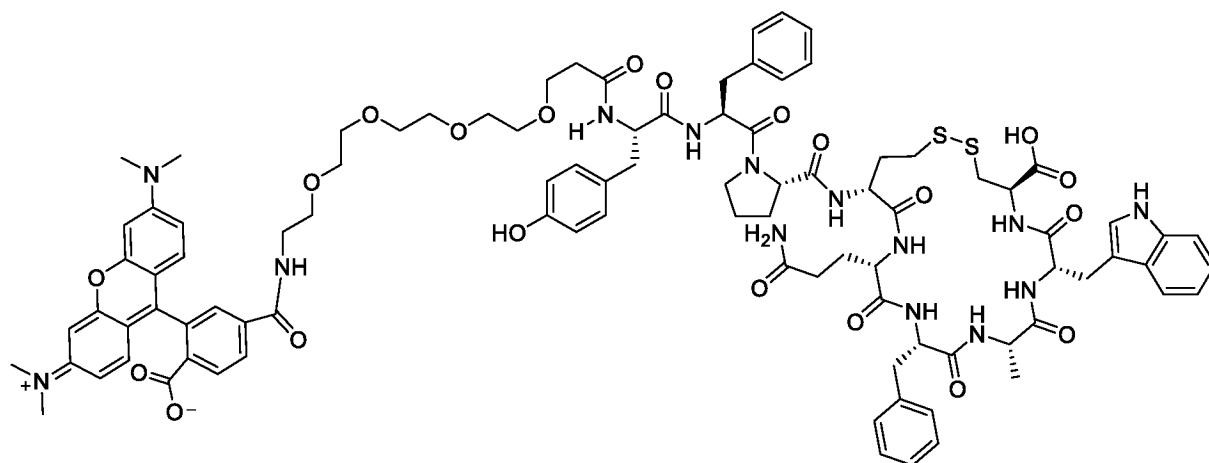
Пример 13: EG4-[x4,W8,C9]-хемерин-9 (§§ 18)



Последовательность:

EG(4)-YFP[xQFAWC]

После автоматизированного синтеза QFAWC, D-гомоцистеин (x) соединили путем реакции 5 эквив. HOBT, DIC и Fmoc-D-гомоцистеин(Trt)-ОН в ДМФ на протяжении ночи, с последующим автоматизированным синтезом YFP. EG(4) соединили с N-концом пептида путем реакции 5 эквив. Fmoc-15-амино-4,7,10,13-тетраоксапентадекановая кислота, HOBT и DIC в ДМФ на протяжении ночи. Fmoc-группу разделили путем реакции с 20% пиперидина в ДМФ в течение 10 мин, реакцию повторяли дважды. Пептид обработали 90% TFA, 7% тиоанизолом, 3% этандитиолом в течение 3 ч для удаления защитной группы всех боковых цепей и отщепления пептида от смолы, с последующим осаждением в охлажденном льдом Et₂O/гексане (1:3). Осадок промыли Et₂O, и пептид инкубировали в TBS, 20% ACN, pH 7.8 в течение 48 ч, чтобы способствовать образованию внутримолекулярной дисульфидной связи. Пептид очищали посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Aeris 3,6 мкм 100 Å XB-C18, с использованием градиента 20 - 50% В в А более 30 минут со скоростью потока 15 мЛ/мин, определяя пептид путем измерения поглощения при $\lambda=220$ нм. Чистый выход составил 4.6 мг (22.2 % теор. вых.). Чистоту определяли посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å C12 и на колонке Aeris 3,6 мкм 100 Å XB-C18, с использованием линейных градиентов 20-70% В в А более 40 минут со скоростью потока 0.6 и 1.55 мЛ/мин, соответственно. Пептид показал чистоту более 95%, что было определено посредством абсорбции при 220 нм на обеих колонках, со временем удерживания 21.4 мин и 13.4 мин, соответственно. Химической формулой пептида является C₆₇H₈₉N₁₁O₁₇S₂ (моноизотопная масса: 1383.59 Da; средняя масса: 1384.63 Da). Наблюдаемые массы соответствовали расчетным массам, подтверждая идентичность продукта: В MALDI-ToF наблюдался сигнал при m/z=1384.6 [M+H]⁺. В ионной ловушке ESI, наблюдались сигналы при m/z= 1384.3 [M+H]⁺ и m/z=692.9 [M+2H]²⁺.

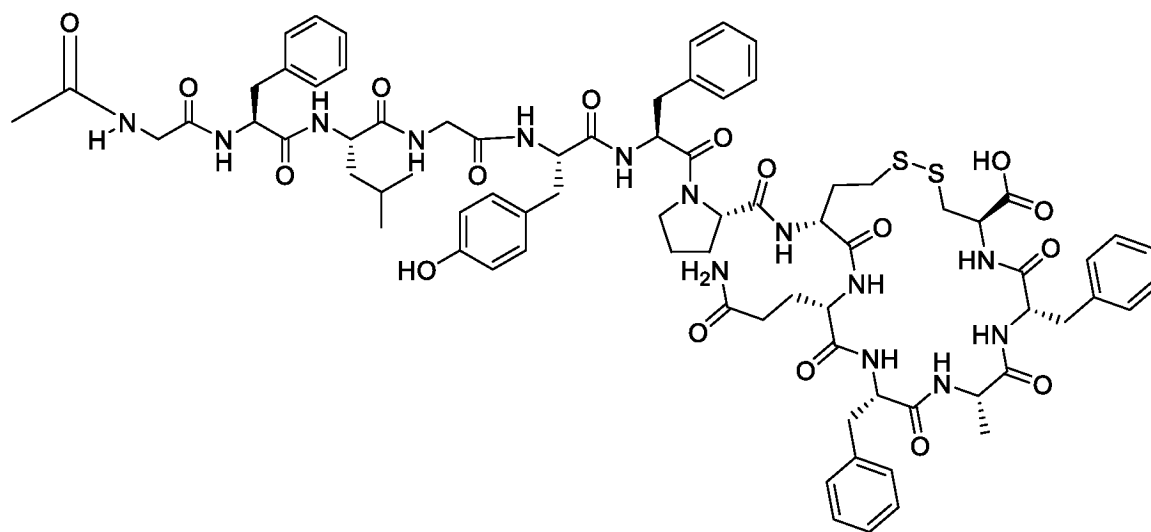
Пример 14: Tam-EG4-[x4,W8,C9]-хемерин-9 (§§ 19)**Последовательность:**

Tam-EG(4)-YFP[xQFAWC]

После автоматизированного синтеза QFAFC, D-гомоцистеин (x) соединили путем реакции 5 эквив. HOBT, DIC и Fmoc-D-гомоцистеин(Trt)-OH в ДМФ на протяжении ночи, с последующим автоматизированным синтезом YFP. EG(4) соединили с N-концом пептида путем реакции 5 эквив. Fmoc-15-амино-4,7,10,13-тетраоксапентадекановая кислота, HOBT и DIC в ДМФ на протяжении ночи. Fmoc-группу разделили путем реакции с 20% пиперидина в ДМФ в течение 10 мин, реакцию повторяли дважды. Пептид был на N-конце модифицирован с помощью 6-карбокситетраметилродамина (Tam) путем реакции с 2 эквив. Tam, HATU и DIPEA в ДМФ на протяжении ночи. Пептид обработали 90% TFA, 7% тиоанизолом, 3% этандитиолом в течение 3 ч для удаления защитной группы всех боковых цепей и отщепления пептида от смолы, с последующим осаждением в охлажденном льдом Et₂O/гексане (1:3). Осадок промыли Et₂O, и пептид инкубировали в TBS, 20% ACN, pH 7.8 в течение 48 ч, чтобы способствовать образованию внутримолекулярной дисульфидной связи. Пептид очищали посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Aeris 3,6 мкм 100 Å XB-C18, с использованием градиента 20 - 50% В в А более 30 минут со скоростью потока 15 мЛ/мин, определяя пептид путем измерения поглощения при λ=220 нм. Чистый выход составил 1.9 мг (6.69 % теор. вых.). Чистоту определяли посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å C12 и на колонке Aeris 3,6 мкм 100 Å XB-C18, с использованием линейных градиентов 20-70% В в А более 40 минут со скоростью потока 0.6 и 1.55 мЛ/мин, соответственно. Пептид показал чистоту более 95%, что было определено посредством абсорбции при 220 нм на обеих колонках, со

временем удерживания 22.4 мин и 14.4 мин, соответственно. Химической формулой пептида является $C_{92}H_{109}N_{13}O_{21}S_2$ (моноизотопная масса: 1795.73 Da; средняя масса: 1797.07 Da). Наблюдаемые массы соответствовали расчетным массам, подтверждая идентичность продукта: В MALDI-ToF наблюдался сигнал при $m/z=1796.7 [M+H]^+$. В ионной ловушке ESI, наблюдались сигналы при $m/z=1797.3 [M+H]^+$ и $m/z=599.7 [M+2H]^{2+}$.

Пример 15: GFLG-[x4,C9]-хемерин-9 (SS 20)



Последовательность:

GFLGYFP[xQFAFC]

После автоматизированного синтеза QFAFC, D-гомоцистеин (x) соединили путем реакции 5 эквив. HOBT, DIC и Fmoc-D-гомоцистеин(Trt)-OH в ДМФ на протяжении ночи, с последующим автоматизированным синтезом GFLGYFP. N-конец пептида ацетилировали на смоле с помощью Ac_2O и DIPEA в DCM в течение 15 мин. Пептид обработали 90% TFA, 7% тиоанизолом, 3% этандитиолом в течение 3 ч для удаления защитной группы всех боковых цепей и отщепления пептида от смолы, с последующим осаждением в охлажденном льдом Et_2O /гексане (1:3). Осадок промыли Et_2O , и пептид инкубировали в TBS, 20% ACN, pH 7.8 в течение 48 ч, чтобы способствовать образованию внутримолекулярной дисульфидной связи. Пептид очищали посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Aeris 3,6 мкм 100 Å XB-C18, с использованием градиента 20 - 50% В в А более 30 минут со скоростью потока 15 мЛ/мин, определяя пептид путем измерения поглощения при $\lambda=220$ нм. Чистый выход составил 1.7 мг (7.3 % теор. вых.). Чистоту определяли посредством ОФ-ВЭЖХ на колонке Jupiter 4 мкм Proteo 90 Å C12 и на колонке

Aeris 3,6 мкм 100 Å XB-C18, с использованием линейных градиентов 20-70% В в А более 40 минут со скоростью потока 0.6 и 1.55 мЛ/мин, соответственно. Пептид показал чистоту более 95%, что было определено посредством абсорбции при 220 нм на обеих колонках, со временем удерживания 22.5 мин и 14.1 мин, соответственно. Химической формулой пептида является $C_{77}H_{96}N_{14}O_{17}S_2$ (моноизотопная масса: 1552.65 Da; средняя масса: 1553.82 Da). Наблюдаемые массы соответствовали расчетным массам, подтверждая идентичность продукта: В MALDI-ToF наблюдался сигнал при $m/z=1575.6 [M+Na]^+$. В ионной ловушке ESI, наблюдались сигналы при $m/z=1554.6 [M+H]^+$ и $m/z=777.3 [M+2H]^{2+}$.

III ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ РАЗДЕЛ — БИОЛОГИЧЕСКИЕ АНАЛИЗЫ

Системы и методы исследований

Среда культивирования

Клетки COS-7 и НЕК293 культивировали в среде DMEM с добавлением 10% FBS или в среде DMEM/Ham's F12 с добавлением 15% FBS, соответственно. Все клетки содержали в колбах для клеточных культур T75 при 37°C, влажности 95% и 5% CO₂ (стандартные условия).

1. Анализ стабильности плазмы

Исследование стабильности пептида в плазме крови проводили описанным выше способом. (Hoppenz, Els-Heindl et al., *A Selective Carborane-Functionalized Gastrin-Releasing Peptide Receptor Agonist as Boron Delivery Agent for Boron Neutron Capture Therapy*. (Хоппенс, Ельс-Хейндл и др., Селективный карборан-функционализированный агонист рецептора, высвобождающего гастрин пептида в качестве агента доставки бора для бор-нейтронозахватной терапии) *J Org Chem*, 2020, **85**(3): 1446-1457) Там-меченые пептиды растворяли в плазме крови человека в концентрации 10^{-5} М и инкубировали при 37°C и 250 об/мин. Образцы, отобранные в соответствующие моменты времени, добавляли к раствору 0,1% SDS в ACN/EtOH (1:1). После инкубации при температуре -20°C в течение 20 мин супернатант переносили в новую пробирку и снова инкубировали при -20°C в

течение как минимум 3 ч. Раствор фильтровали центрифугированием с использованием пробирок Costar Spin-X (0,22 мкм) и анализировали фильтрат методом ОФ-ВЭЖХ на колонке VariTide RPC, 6 мкм, 200 Å (Agilent Technologies, Санта-Клара, США), с использованием линейных градиентов 15-65% (объемное содержание) А в В более 40 минут. Флуоресценцию пептида определяли при $\lambda = 573$ нм. Пики интегрировали, и пик, содержащий интактный пептид, нормализовали к образцу, взятому при $t = 0$ мин (100%). Период полувыведения из плазмы определяли с помощью однофазного распада в GraphPad Prism 5.03.

2. Анализ мобилизации кальция

Клетки COS-7 трансфицировали в культуральных флаконах площадью 75 см² с использованием 12 мкг плазмиды hCMKLR1_eYFP_G α Δ 6qi4myr_pV2 на протяжении ночи с использованием Metafectene Pro. Трансфицированные клетки высевали в 96-луночные планшеты (100 мкл клеточной суспензии в DMEM+10%FBS на лунку) и инкубировали на протяжении ночи. На следующий день выполняли мобилизацию Ca²⁺-, как описано выше. (Hoppenz, Els-Heindl et al., *A Selective Carborane-Functionalized Gastrin-Releasing Peptide Receptor Agonist as Boron Delivery Agent for Boron Neutron Capture Therapy*. (Хоппенс, Ельс-Хейндл и др., Селективный карборан-функционализированный агонист рецептора, высвобождающего гастрин пептида в качестве агента доставки бора для бор-нейтронозахватной терапии) *J Org Chem*, 2020, **85**(3): 1446-1457)) Вкратце, клетки инкубировали с использованием раствора Fluo-2-AM (2,3 мкм Fluo-2-AM, 0,06% (объемное содержание) Pluronic-F127 в аналитическом буфере). Через 1 ч раствор Fluo-2-am заменяли аналитическим буфером (20 mM HEPES, 2,5 mM Пробенецид в HBSS, pH 7,5) и измеряли базальный уровень Ca²⁺ в течение 20 с при помощи Flexstation 3 ($\lambda_{ex}=485$ нм, $\lambda_{em}=525$ нм). Добавляли лиганд и в течение 40 с измеряли Ca²⁺-ответ. Полученные максимальные значения, превышающие базальные, рассчитывали для каждой лунки и нормализовали к верхнему и нижнему значениям контрольной кривой (хемерин-9 \$\$\$1). Все эксперименты выполнялись в трехкратной повторности, каждый эксперимент повторяли не менее двух раз. Нелинейную регрессию рассчитывали с помощью GraphPad Prism 5.

3. Резонансный перенос энергии биолюминесценции (BRET)

Клетки HEK293 временно трансфицировали с использованием флаконов для клеточных культур площадью 75 см² с клеточными монослоями (слияние ~80%). Плазмидная ДНК CMKLR1 человека, меченного eYFP на С-конце, и химерный G-белок GαΔbq14mut в векторе pVito2 (7,8 мкг), а также аррестин 3, меченный Renilla-люциферазой 8, в pcDNA3 (0,2 мкг) и 24 мкл MetafectenePro отдельно добавляли к 900 мкл DMEM/Ham's F12 и инкубировали в течение 10 мин перед слиянием и инкубацией при комнатной температуре в течение 20 мин. К клеточному монослою добавляли 6 мл DMEM/Ham's F12 с 15 % FCS при 37 °С. Добавляли раствор плазмиды, и клетки инкубировали в течение суток перед посевом. Посев клеток проводили в белые 96-луночные полистироловые культуральные микропланшеты, покрытые поли-D-лизином. Трансфицированные клетки отделяли 1 мл трипсина/EDTA, добавляли 21 мл DMEM/Ham's F12 с 15 % FCS и высевали 100000 – 200000 клеток в 100 мкл на лунку. После этого клетки инкубировали в течение суток при 37°С. Анализ выполняли в нестерильных условиях. Сначала среду заменяли 100 мкл буфера BRET (HBSS, 25 mM HEPES, pH 7,3) и добавляли 50 мкл субстрата люциферазы коэлюцентеразин-ч (конечная концентрация 4,2 мкМ). После этого клетки стимулировали пептидами разных концентраций (от 10⁻⁵ до 10⁻¹² M), растворенными в буфере BRET. 50 мкл разведенного пептида использовали для стимуляции клеток. Буфер без пептида использовали в качестве отрицательного контроля. Эффект BRET измеряли через 15 минут после добавления агониста с помощью планшетного ридера Tecan с использованием двух наборов фильтров при 37 °С (люминесцентный фильтр 400 – 470 нм и флуоресцентный фильтр 505 – 590 нм) и отмечали на графике как функцию соотношения флуоресценции/люминесценции. Значения отрицательного контроля вычитали, нелинейную регрессию рассчитывали с помощью GraphPad Prism. Кривые были нормализованы к положительному контролю хемерина 9 дикого типа (\$\$1). Все измерения выполнялись в четырех технических повторах, все эксперименты выполнялись не менее двух раз.

4. Флуоресцентная микроскопия

Рекрутирование клеточного аррестина 3 было подтверждено, и поглощение рецептора CMKLR1 было протестировано в клетках HEK293. Перед посевом

клеток Ividi 15 μ -препараты покрывали поли-D-лизином. Перед отсоединением при помощи 1 мл трипсина/EDTA клетки промывали DPBS. Камеру Нейбауэра использовали для подсчета количества клеток/мл среды после добавления 9 мл DMEM/Ham's F12 с 15 % FCS. Суспензию клеток разбавляли до 140 000 клеток/200 мкл, которые высевали. Инкубацию выполняли в течение четырех ночей при 37°C. После этого клетки временно трансфицировали. Плазмидную ДНК hCMKLR1_eYFP_G α Δ 6q14myr_pV2 (0,9 мкг) и mCherry_Arg3_pcDNA3 (0,1 мкг) и 8 мкл липофектамина отдельно добавляли к 100 мкл DMEM/Ham's F12 и инкубировали в течение 10 минут до объединения и инкубации при комнатной температуре в течение 20 минут. Инкубацию выполняли в течение четырех ночей при 37°C. Затем клетки выдерживали в 200 мкл OptiMEM и 1 мкл Hoechst 33342 в течение 30 минут. Среду заменили на 200 мкл OptiMEM и зафиксировать статус t0. После этого OptiMEM заменили на 200 мкл 1 мкм пептида в OptiMEM. Возбуждение флуорофора анализировали с использованием различных фильтров в зависимости от длины волны испускания флуорофора, а время экспозиции подбирали для каждого флуорофора индивидуально. Все изображения были обработаны одинаково с помощью программного обеспечения AxioVision (компания Carl Zeiss AG, Оберкохен, Германия).

Таблица 1: Наборы фильтров (Zeiss), используемые для обнаружения флуорофоров.

Флуорофор	Используется для	Возбуждение [нм]	Эмиссия [нм]
	маркировки		
Hoechst33342	ядро клетки	352	455
mCherry	арестин 3	549	577
желтый флуоресцентный белок	hCMKLR1	514	526
Hoechst33342:	2'-(4-этоксифенил)-6-(4-метил-1-пиперазинил)-1 <i>H</i> ,3' <i>H</i> -2,5'-бибензимидазол;		
YFP:	желтый флуоресцентный белок;		
hCMKLR1:	хемокиноподобный рецептор 1;		

Результаты

Исследования активности в анализе мобилизации Ca^{2+}

Для проверки способности синтезированных пептидов индуцировать опосредованную G-белком передачу сигналов в CMKLR1, был выполнен анализ мобилизации Ca^{2+} . Все исследованные варианты циклического хемерина-9 в разной степени продемонстрировали передачу сигналов G-белком. (Таблица 2). Наиболее активное циклическое производное Пример 8: [x4,C9]-хемерин-9 (§§ 13) продемонстрировало в 2 раза более высокую активность, чем линейный хемерин-9 (Сравнительный пример 1). Введение триптофана в положение 8 еще больше повышало активность (§§ 14), однако объединение модификаций Trp8 и D-Tyr1 в один пептид приводило к значительному снижению активности (§§ 15).

Таблица 2: Данные об активности производных хемерина-9 в CMKLR1 в рамках анализа мобилизации Ca^{2+} .

Срд	Код	EC ₅₀ [nM]	pEC ₅₀ ±SEM
§§ 1	Сравнительный пример 1: Хемерин-9 (§§ 1)	10	8.021 ± 0.039
§§ 4	Сравнительный пример 4: [c4,C9]-хемерин-9 (§§ 4)	64	7.192 ± 0.147
§§ 6	Сравнительный пример 5: [c4,C7]-хемерин-9 (§§ 6)	63	7.204 ± 0.106
§§ 7	Пример 2: [c4,C9-TA]-хемерин-9 (§§ 7)	13	7.888 ± 0.130
§§ 9	Пример 4: [c4,X9-TA]-хемерин-9 (§§ 9)	37	7.429 ± 0.110
§§ 11	Пример 6: [y1,c4,X9-TA]-хемерин-9 (§§ 11)	28	7.553 ± 0.067
§§ 13	Пример 8: [x4,C9]-хемерин-9 (§§ 13)	5	8.259 ± 0.074
§§ 14	Пример 9: [x4,W8,C9]-хемерин-9 (§§ 14)	3	8.499 ± 0.058
§§ 15	Пример 10: [y1,x4,W8,C9]-хемерин-9 (§§ 15)	207	6.683 ± 0.101
§§ 16	Пример 11: EG4-[x4,C9]-хемерин-9 (§§ 16)	17	7.766 ± 0.226
§§ 18	Пример 13: EG4-[x4,W8,C9]-хемерин-9 (§§ 18)	193	6.714 ± 0.088
§§ 20	Пример 15: GFLG-[x4,C9]-хемерин-9 (§§ 20)	21	7.676 ± 0.221

X = гомоцистеин, x = D-гомоцистеин, TA=тиоацеталь.

Исследования стабильности плазмы

Стабильность различных пептидов в плазме крови исследовали для Там-модифицированных производных с тем, чтобы можно было отслеживать деградацию пептидов в ОФ-ВЭЖХ. Все варианты циклического хемерина-9 с N-концевой меткой Там (\$\$5, \$\$8, \$\$9) были полностью стабильны в плазме крови в течение 24 часов. Введение Там-метки в боковую цепь при одновременной индукции N-концевого D-Туг дало столь же стабильный Пример 7: [y1,c4,K7(Там),C9]-хемерин-9 (\$\$ 12). Это свидетельствует о том, что можно прогнозировать, что все циклические варианты со стабилизацией N-конца будут стабильными в плазме крови. Это было подтверждено тестированием вариантов хемерина-9, несущих N-концевой этиленгликолевый линкер (\$\$ 17, \$\$ 19), оба были полностью стабильны в течение как минимум 48 ч).

Таблица 3: Стабильность плазмы Там-модифицированные производные хемерина-9.

Spd	Код	t _{1/2} [h]
\$\$ 2	Сравнительный пример 2: Там-хемерин-9 (\$\$ 2)	< 0.2
\$\$ 5	Пример 1: Там-[c4,C9]-хемерин-9 (\$\$ 5)	> 24
\$\$ 8	Пример 3: Там-[c4,C9-ТА]-хемерин-9 (\$\$ 8)	> 24
\$\$ 10	Пример 5: Там-[c4,X9-ТА]-хемерин-9 (\$\$ 10)	> 24
\$\$ 12	Пример 7: [y1,c4,K7(Там),C9]-хемерин-9 (\$\$ 12)	> 24
\$\$ 17	Пример 12: Там-EG4-[x4,C9]-хемерин-9 (\$\$ 17)	>48 ч
\$\$ 19		>48 ч

Пример 14: Там-EG4-[x4,W8,C9]-хемерин-9 (\$\$ 19)

Исследования интернализации в рамках BRET и микроскопии

Рекрутирование аррестина является первым шагом в процессе интернализации GPCR, который идет за активацией пути G-белка. Анализ биоллюминесцентного резонансного переноса энергии (BRET) использовали для определения способности вариантов циклического хемерина рекрутировать аррестин 3 к рецептору CMKLR1 после стимуляции. Клетки HEK293 временно трансфицировали рецептором CMKLR1, слитым с флуорофором eYFP, и аррестином 3, меченным люциферазой Rluc8. Трансфицированные клетки высевали, инкубировали с субстратом люциферазы коэлюцентеразином-h и стимулировали различными концентрациями пептида, что позволяло получить измеримые сигналы BRET. Сигмоидальные кривые концентрации-реакции были нормализованы к положительному контролю WT хемерин 9 (\$\$1). В рамках анализа BRET было продемонстрировано, что все протестированные пептиды, кроме одного, по-прежнему способны индуцировать рекрутирование аррестина 3 на активированный рецептор CMKLR1 с различной эффективностью (Таблица 4).

Таблица 4: Данные рекрутирования аррестина для выбранных пептидов, полученные по результатам анализа на основе BRET. Все данные были получены, как минимум, из двух отдельных экспериментов и нормализованы к контрольному соединению хемерин-9 (\$\$ 1).

Срд	Код	EC ₅₀ [nM]	pEC ₅₀ ± SEM	E _{max} [%] ± SEM
(\$\$ 1)	Сравнительный пример 1: Хемерин-9 (\$\$ 1)	37	7.4 ± 0.05	96 ± 2
(\$\$ 13)	Пример 8: [x4,C9]-хемерин-9 (\$\$ 13)	78	7.1 ± 0.1	86.8 ± 4
(\$\$ 14)	Пример 9: [x4,W8,C9]-хемерин-9 (\$\$ 14)	158	6.8 ± 0.2	97 ± 10
(\$\$ 15)	Пример 10: [y1,x4,W8,C9]-хемерин-9 (\$\$ 15)	-	-	-
(\$\$ 16)	Пример 11: EG4-[x4,C9]-хемерин-9 (\$\$ 16)	101	6.8 ± 0.08	102 ± 5
(\$\$ 18)	Пример 13: EG4-[x4,W8,C9]-хемерин-9 (\$\$ 18)	418	6.4 ± 0.2	69 ± 8
(\$\$ 20)	Пример 15: GFLG-[x4,C9]-хемерин-9 (\$\$ 20)	100	7.0 ± 0.2	89 ± 5

x= D-гомоцистеин

Циклизация хемерина 9 дисульфидной связью (\$\$13) приводит лишь к незначительному смещению значений EC_{50} и E_{max} по сравнению с хемерином 9 дикого типа. Также допускается дополнительный обмен в позиции 8 на триптофан (\$\$14). Интересно, что дальнейшая модификация с D-тирозином в положении 1 дает пептид, который больше не способен индуцировать рекрутирование аррестина-3, несмотря на его активность в активации G-белка в анализе Ca^{2+} (\$\$15), что делает его смещенным лигандом. Удлинение N-конца циклических пептидов с помощью этиленгликолевого линкера (\$\$16, \$\$18) или короткого пептидного линкера (\$\$20) допускается в отношении рекрутирования аррестина.

Фигура 1: Рекрутирование аррестина 3 в CMKLR1 после стимуляции вариантами хемерина-9. Влияние циклизации и аминокислотных замен на активность хемерина-9

Влияние циклизации и аминокислотных замен на активность хемерина-9 показаны на Фигуре 1. *A)* Циклизация (\$\$13) приводит к незначительной потере активности по сравнению с линейным хемерином-9 (\$\$ 1). Замена позиции 8 на триптофан (\$\$14) не оказывает никакого влияния, в то время как замена позиции 8 на триптофан и позиции 1 на D-тирозин полностью отменяет рекрутирование аррестина (\$\$ 15). *B)* N-концевое удлинение циклических пептидов полиэтиленгликолем или пептидным линкером не имеет значения (\$\$ 16, \$\$ 20) за исключением случаев, когда в положении 8 присутствует триптофан (\$\$ 18).

Для проверки рекрутирования аррестина и анализа интернализации самого рецептора CMKLR1 использовали клетки HEK293, которые временно трансфицировали флуоресцентно меченными вариантами двух молекул. Указанные клетки экспрессируют человеческий CMKLR1, слитый с C-концевым желтым флуоресцентным белком (YFP), и аррестин 3 с красным флуоресцентным белком mCherry.

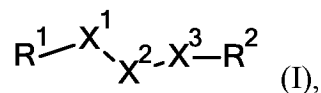
Фигура 2: Интернализация CMKLR1 и рекрутирование аррестина 3. Для исследования интернализации использовали клетки HEK293, экспрессирующие hCMKLR1 (зеленый) и аррестин 3 (Arp3, красный) в результате транзиторной трансфекции. Интернализация рецептора наблюдалась при 30-минутной стимуляции 1 мкМ с помощью флуоресцентной микроскопии после окрашивания ядер (синий цвет). Репрезентативные изображения для временной точки 15 минут

были выбраны и обработаны также, как и в случае с программным обеспечением AxioVision; масштабная линейка: 15 мкм; $n \geq 2$;

Без стимуляции рецептор располагался на клеточной мембране, а аррестин распределялся в цитозоле (фиг. 2, 0 минут). После стимуляции хемерином-9 (Сравнительный пример 1, \$\$1) аррестин 3 рекрутировался на рецептор CMKLR1 с последующей интернализацией комплекса CMKLR1-аррестин. Аналогичное поведение было зафиксировано для циклических вариантов Пример 8: [x4,C9]-хемерин-9 (\$\$ 13), Пример 9: [x4,W8,C9]-хемерин-9 (\$\$ 14) и Пример 11: EG4-[x4,C9]-хемерин-9 (\$\$ 16). Пример 13: EG4-[x4,W8,C9]-хемерин-9 (\$\$ 18) демонстрирует хорошее рекрутирование аррестина 3, но при этом немного более низкую интернализацию рецептора по сравнению с хемерином-9 (Сравнительный пример 1, \$\$ 1). Напротив, ни интернализация hCMKLR1, ни рекрутирование аррестина 3 не были определены для Пример 10: [y1,x4,W8,C9]-хемерин-9 (\$\$ 15). Таким образом, динамика смещения для данного соединения была подтверждена. Указанные результаты, полученные с помощью флуоресцентной микроскопии, подтверждают результаты, полученные в рамках анализа на основе BRET по всем пептидам.

Формула изобретения

1. Соединение общей формулы (I):



в которой

R^1 отсутствует

или

представляет собой 6-карбокситетраметилпродамин (Tam), ##C(O)R³, C₈-C₂₀ жирную кислоту или последовательность R⁴GFLG##, R⁴-C=N-NH-##, R⁴-S-S-##, R⁴-N=N-##, R⁴-Валин-Цитруллин-##, R⁴-C(O)O-## или R⁴NH-C(O)O-##,

причем

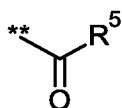
обозначает присоединение к концевой аминогруппе X¹,

R³ представляет собой C₁-C₆-алкилен, арил, гетероарил, C₃-C₈-циклоалкил или C₃-C₇-гетероциклоалкил,

причем C₁-C₆-алкилен до трех раз замещен одинаково или различно радикалом, выбранным из группы, состоящей из гидроксила, метокси, этокси, карбоксы, амино и галогена,

причем арил, гетероарил, C₃-C₈-циклоалкил и C₃-C₇-гетероциклоалкил могут быть до трех раз замещены одинаково или различно радикалом, выбранным из группы C₁-C₄-алкила, гидроксила, метокси, этокси, карбонила, карбоксы, амино и галогена,

R⁴ представляет собой



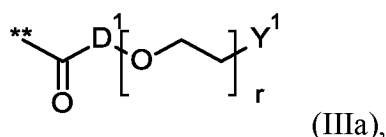
в которой

R⁵ представляет собой C₁-C₆-алкилен, арил, гетероарил, C₃-C₈-циклоалкил или C₃-C₇-гетероциклоалкил,

причем C₁-C₆-алкилен до трех раз замещен одинаково или различно радикалом, выбранным из группы, состоящей из гидроксила, метокси, этокси, карбокси, амино и галогена, причем арил, гетероарил, C₃-C₈-циклоалкил и C₃-C₇-гетероциклоалкил могут быть до трех раз замещены одинаково или различно радикалом, выбранным из группы C₁-C₄-алкила, гидроксила, метокси, этокси, карбонила, карбокси, амино и галогена,

или

представляет собой группу формулы (Ша)



в которой

** обозначает присоединение к атому азота,

D¹ представляет собой C₁-C₄-алкилен,

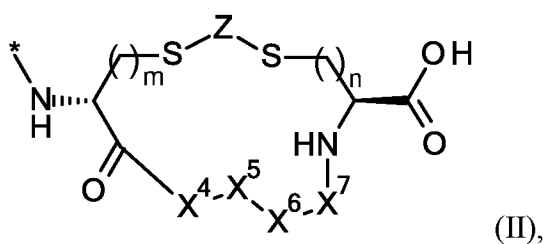
Y¹ выбран из группы, состоящей из гидроксила, метокси, этокси, карбокси, карбоксамида или амино,

причем амино может быть замещен 6-карбокситетраметилпроламином (Там) посредством амидной связи,

и

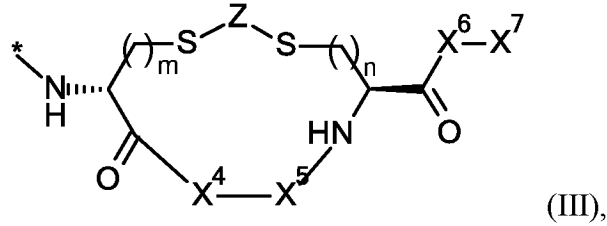
r представляет собой целое число от 2 до 15,

R² представляет собой группу формулы (II)



или

представляет собой группу формулы (III)



в которой

* представляет собой присоединение к карбонильному атому карбоксильной группы X^3 ,

Z представляет собой связь или $-CH_2-$,

m представляет собой 1 или 2,

n представляет собой 1 или 2,

X^1 представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из L, I, F, H, M, W, Y или Y, или неприродную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из L-норлейцина (Nle), 2,3,3a,4,5,6,7,7a-октагидроиндол-2-карбоновой кислоты (Oic), 4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2,5-дифторфенилаланина ((2,5-дифтор)F), 2-хлорфенилаланина ((2-хлор)F), 3-хлорфенилаланина ((3-хлор)F), 4-хлорфенилаланина ((4-хлор)F), 2-бромфенилаланина ((2-бром)F), 3-бромфенилаланина ((3-бром)F), 4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2-фторфенилаланина ((2-фтор)F), 3-фторфенилаланина ((3-фтор)F), 4-фторфенилаланина ((4-фтор)F), (2,5-дифторфенилаланина, 2-метил-фенилаланина ((2-Me)F), 3-метил-фенилаланина ((3-Me)F), 4-метилфенилаланина ((4-Me)F), (2S)-3-(2,3-дифторфенил)-2-аминопропановой кислоты, фенилглицина (Phg) N-фенилглицина ((N-Ph)G), 3-хлорфенилглицина ((3-хлор-Ph)G), 3-(1,3-бензотиазол-2-ил)-аланин 1-бензилгистидина (H(1-Bn)), 1-метилгистидина (H(1-Me)), 3-метилгистидина (3-Me)H), 2-пиридилаланина (2-Pal), 3-пиридилаланина (3-Pal), 4-пиридилаланина (4-Pal), 3-(аминометил)бензойной кислоты, 1-нафтилаланина (1-Nal), 2-нафтилаланина (2-Nal), (2R)-амино-(1-метил-1H-индазол-5-ил)уксусной кислоты и (2S)-3-(индол-4-ил)-2-(амино)пропановой кислоты, принимая во внимание, что любая природная аминокислота и/или неприродная аминокислота из этого списка может находиться в D- или L-стереоконфигурации,

- X² представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из L, I, F, H, M, W или Y, или неприродную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из L-норлейцина (Nle), 2,3,3a,4,5,6,7,7a-октагидроиндол-2-карбоновой кислоты (Oic), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2,5-дифтор-L-фенилаланина ((2,5-дифтор)F), 2-хлор-L-фенилаланина ((2-хлор)F), 3-хлор-L-фенилаланина ((3-хлор)F), 4-хлор-L-фенилаланина ((4-хлор)F), L-2-бромфенилаланина ((2-бром)F), L-3-бромфенилаланина ((3-бром)F), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2-фтор-L-фенилаланина ((2-фтор)F), 3-фтор-L-фенилаланина ((3-фтор)F), 4-фтор-L-фенилаланина ((4-фтор)F), (2,5-дифтор-L-фенилаланина, 2-метил-L-фенилаланина ((2-Me)F), 3-метил-L-фенилаланина ((3-Me)F), 4-метил-L-фенилаланина ((4-Me)F), (2S)-3-(2,3-дифторфенил)-2-аминопропановой кислоты, L-фенилглицина (Phg) N-фенилглицина ((N-Ph)G), 3-хлорфенилглицина ((3-хлор-Ph)G), 3-(1,3-бензотиазол-2-ил)-L-аланин 1-бензил-L-гистидина (H(1-Bn)), 1-метил-L-гистидина (H(1-Me)), L-3-метилгистидина (3-Me)H), L-2-пиридилаланина (2-Pal), L-3-пиридилаланина (3-Pal), L-4-пиридилаланина (4-Pal), 3-(аминометил)бензойной кислоты, L-1-нафтилаланина (1-Nal), L-2-нафтилаланина (2-Nal), (2R)-амино-(1-метил-1H-индазол-5-ил)уксусной кислоты и (2S)-3-(индол-4-ил)-2-(амино)пропановой кислоты,
- X³ представляет собой природную аминокислоту P, или неприродную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из 2,3,3a,4,5,6,7,7a-октагидроиндол-2-карбоновой кислоты (Oic), L-гидроксипролина (Hyp), (2S,4S)-4-трифторметил-пирролидин-2-карбоновой кислоты ((4-CF₃)P), (2S,4S)-4-фторпролина ((цис-4-фтор)P), транс-4-фторпролина ((транс-4-фтор)P), (2S)-2-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты, L-транс-3-гидроксипролина ((3S-OH)P), L-пипеколиновой кислоты (Pip), (1R,3S,5R)-2-азабицикло[3.1.0]гексан-3-карбоновой кислоты, (6S)-5-азаспиро[2.4]гептан-6-карбоновой кислоты, gel-(1R,3R,5R,6R)-6-(трифторметил)-2-азабицикло[3.1.0]гексан-3-карбоновой кислоты, (2S)-2-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты, (2S,3aS,6aS)-октагидроциклопента[b]пиррол-2-карбоновой кислоты,

транс-4-фторпролина ((транс-4-фтор)P), (2S,4S)-4-фторпролина ((цис-4-фтор)P), L-4,4-дифторпролина ((дифтор)P), rel-(3R,6R)-1,1-дифтор-5-азаспиро[2.4]гептан-6-карбоновой кислоты (энантиомер 1) и rel-(3R,6R)-1,1-дифтор-5-азаспиро[2.4]гептан-6-карбоновой кислоты (энантиомер 2),

- X⁴ представляет собой природную аминокислоту или неприродную аминокислоту, принимая во внимание, что любая природная аминокислота и/или неприродная аминокислота из этого списка может находиться в D- или L-стереоконфигурации,
- X⁵ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F, H, W или Y, или неприродную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из циклогексилаланина (Cha), 2,3,3a,4,5,6,7,7a-октагидроиндол-2-карбоновой кислоты (Oic), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2,5-дифтор-L-фенилаланина ((2,5-дифтор)F), 2-хлор-L-фенилаланина ((2-хлор)F), 3-хлор-L-фенилаланина ((3-хлор)F), 4-хлор-L-фенилаланина ((4-хлор)F), L-2-бромфенилаланина ((2-бром)F), L-3-бромфенилаланина ((3-бром)F), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2-фтор-L-фенилаланина ((2-фтор)F), 3-фтор-L-фенилаланина ((3-фтор)F), 4-фтор-L-фенилаланина ((4-фтор)F), (2,5-дифтор-L-фенилаланина, 2-метил-L-фенилаланина ((2-Me)F), 3-метил-L-фенилаланина ((3-Me)F), 4-метил-L-фенилаланина ((4-Me)F), (2S)-3-(2,3-дифторфенил)-2-аминопропановой кислоты, L-фенилглицина (Phg) N-фенилглицина ((N-Ph)G), 3-хлорфенилглицина ((3-хлор-Ph)G), 3-(1,3-бензотиазол-2-ил)-L-аланин 1-бензил-L-гистидина (H(1-Bn)), 1-метил-L-гистидина (H(1-Me)), L-3-метилгистидина (3-Me)H), L-2-пиридилаланина (2-Pal), L-3-пиридилаланина (3-Pal), L-4-пиридилаланина (4-Pal), 3-(аминометил)бензойной кислоты, L-1-нафтилаланина (1-Nal), L-2-нафтилаланина (2-Nal), (2R)-амино-(1-метил-1H-индазол-5-ил)уксусной кислоты и (2S)-3-(индол-4-ил)-2-(амино)пропановой кислоты,
- X⁶ представляет собой природную аминокислоту или неприродную аминокислоту, принимая во внимание, что любая природная

аминокислота и/или неприродная аминокислота из этого списка может находиться в D- или L-стереоконфигурации,

причем любая природная аминокислота и/или неприродная аминокислота, содержащая аминогруппу, может быть замещена б-карбокситетраметилпроламином (Tam) или ##C(O)R³,

причем

обозначает присоединение к концевой аминогруппе X¹,

R³ представляет собой C₁-C₆-алкилен, арил, гетероарил, C₃-C₈-циклоалкил или C₃-C₇-гетероциклоалкил,

причем C₁-C₆-алкилен до трех раз замещен одинаково или различно радикалом, выбранным из группы, состоящей из гидроксила, метокси, этокси, карбокси, амино и галогена,

причем арил, гетероарил, C₃-C₈-циклоалкил и C₃-C₇-гетероциклоалкил могут быть до трех раз замещены одинаково или различно радикалом, выбранным из группы C₁-C₄-алкила, гидроксила, метокси, этокси, карбонила, карбокси, амино и галогена,

X⁷ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F, H, W или Y, или неприродную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из циклогексилаланина (Cha), 2,3,3a,4,5,6,7,7a-октагидроиндол-2-карбоновой кислоты (Oic), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2,5-дифтор-L-фенилаланина ((2,5-дифтор)F), 2-хлор-L-фенилаланина ((2-хлор)F), 3-хлор-L-фенилаланина ((3-хлор)F), 4-хлор-L-фенилаланина ((4-хлор)F), L-2-бромфенилаланина ((2-бром)F), L-3-бромфенилаланина ((3-бром)F), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2-фтор-L-фенилаланина ((2-фтор)F), 3-фтор-L-фенилаланина ((3-фтор)F), 4-фтор-L-фенилаланина ((4-фтор)F), (2S)-3-(2,3-дифторфенил)-2-аминопропановой кислоты, L-фенилглицина (Phg) N-фенилглицина ((N-Ph)G), 3-хлорфенилглицина ((3-хлор-Ph)G), 3-(1,3-бензотиазол-2-ил)-L-аланин 1-бензил-L-гистидина (H(1-Bn)), 1-метил-

L-гистидина (H(1-Me)), L-3-метилгистидина (3-MeH), L-2-пиридилаланина (2-Pal), L-3-пиридилаланина (3-Pal), L-4-пиридилаланина (4-Pal), 3-(аминометил)бензойной кислоты, L-1-нафтилаланина (1-Nal), L-2-нафтилаланина (2-Nal), (2R)-амино-(1-метил-1H-индазол-5-ил)уксусной кислоты и (2S)-3-(индол-4-ил)-2-(амино)пропановой кислоты,

или его фармацевтически приемлемая соль, гидрат, сольват или сольват соли, при условии, что соединения YFP[cQFAFC] и yFP[xQFAWC] исключены.

2. Соединение общей формулы (I) по п. 1, в которой

R^1 отсутствует

или

представляет собой 6-карбокситетраметилпродамин (Tam), ##C(O)R³ или последовательность R⁴GFLG##,

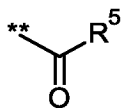
причем

обозначает присоединение к концевой аминогруппе X¹,

R³ представляет собой C₁-C₄-алкилен,

причем C₁-C₄-алкилен до трех раз замещен одинаково или различно радикалом, выбранным из группы, состоящей из гидроксила, метокси, этокси, карбоксии, амино, фтора и хлора,

R⁴ представляет собой



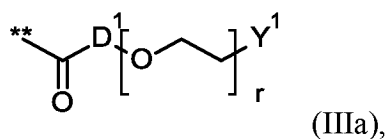
в которой

R⁵ представляет собой C₁-C₄-алкилен,

причем C₁-C₄-алкилен до трех раз замещен одинаково или различно радикалом, выбранным из группы, состоящей из гидроксила, метокси, этокси, карбоксии, амино, хлора и фтора,

или

представляет собой группу формулы (Ша)



в которой

** обозначает присоединение к атому азота,

D¹ представляет собой C₁-C₄-алкилен,

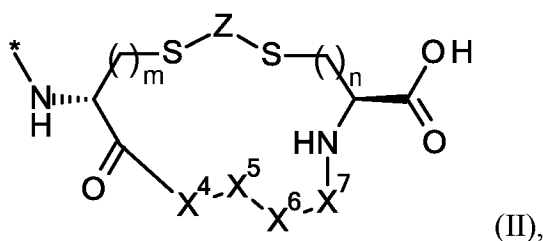
Y¹ выбран из группы, состоящей из гидроксила, метокси, этокси, карбокси, карбоксамида или амина,

причем амина может быть замещен 6-карбокситетраметилпроламином (Там) посредством амидной связи,

и

r представляет собой целое число от 2 до 6,

R² представляет собой группу формулы (II)



в которой

* представляет собой присоединение к карбонильному атому карбоксильной группы X³,

Z представляет собой связь или -CH₂-,

m представляет собой 1 или 2,

n представляет собой 1 или 2,

X¹ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из L, I, F, H, M, W, Y или Y, или неприродную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из L-норлейцина

(Nle), 2,3,3a,4,5,6,7,7a-октагидроиндол-2-карбоновой кислоты (Oic), 4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2,5-дифторфенилаланина ((2,5-дифтор)F), 2-хлорфенилаланина ((2-хлор)F), 3-хлорфенилаланина ((3-хлор)F), 4-хлорфенилаланина ((4-хлор)F), 2-бромфенилаланина ((2-бром)F), 3-бромфенилаланина ((3-бром)F), 4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2-фторфенилаланина ((2-фтор)F), 3-фторфенилаланина ((3-фтор)F), 4-фторфенилаланина ((4-фтор)F), (2,5-дифторфенилаланина, 2-метил-фенилаланина ((2-Me)F), 3-метил-фенилаланина ((3-Me)F), 4-метилфенилаланина ((4-Me)F), 1-бензил-гистидина (H(1-Bn)), 1-метилгистидина (H(1-Me)), 3-метилгистидина (3-Me)H), 2-пиридилаланина (2-Pal), 3-пиридилаланина (3-Pal), 4-пиридилаланина (4-Pal), принимая во внимание, что любая природная аминокислота и/или неприродная аминокислота из этого списка может находиться в D- или L-стереоконфигурации,

X² представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из L, I, F, H, M, W или Y, или неприродную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из L-норлейцина (Nle), 2,3,3a,4,5,6,7,7a-октагидроиндол-2-карбоновой кислоты (Oic), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2,5-дифтор-L-фенилаланина ((2,5-дифтор)F), 2-хлор-L-фенилаланина ((2-хлор)F), 3-хлор-L-фенилаланина ((3-хлор)F), 4-хлор-L-фенилаланина ((4-хлор)F), L-2-бромфенилаланина ((2-бром)F), L-3-бромфенилаланина ((3-бром)F), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2-фтор-L-фенилаланина ((2-фтор)F), 3-фтор-L-фенилаланина ((3-фтор)F), 4-фтор-L-фенилаланина ((4-фтор)F), (2,5-дифтор-L-фенилаланина, 2-метил-L-фенилаланина ((2-Me)F), 3-метил-L-фенилаланина ((3-Me)F), 4-метил-L-фенилаланина ((4-Me)F), 1-бензил-L-гистидина (H(1-Bn)), 1-метил-L-гистидина (H(1-Me)), L-3-метилгистидина (3-Me)H), L-2-пиридилаланина (2-Pal), L-3-пиридилаланина (3-Pal), L-4-пиридилаланина (4-Pal),

X³ представляет собой природную аминокислоту P, или неприродную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из L-гидроксипролина (Hyp), (2S,4S)-4-трифторметил-пирролидин-2-карбоновой кислоты ((4-CF₃)P), (2S,4S)-4-фторпролина ((цис-4-

фтор)P), транс-4-фторпролина ((транс-4-фтор)P), (2S)-2-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты, L-транс-3-гидроксипролина ((3S-OH)P), (1R,3S,5R)-2-азабицикло[3.1.0]гексан-3-карбоновой кислоты, (6S)-5-азаспиро[2.4]гептан-6-карбоновой кислоты, rel-(1R,3R,5R,6R)-6-(трифторметил)-2-азабицикло[3.1.0]гексан-3-карбоновой кислоты, (2S)-2-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты, (2S,3aS,6aS)-октагидроциклопента[b]пиррол-2-карбоновой кислоты, (2S,4S)-4-фторпролина ((цис-4-фтор)P), L-4,4-дифторпролина ((дифтор)P),

X⁴ представляет собой природную аминокислоту, принимая во внимание, что любая природная аминокислота может находиться в D- или L-стереоконфигурации,

X⁵ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F, H, W или Y или неприродную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из циклогексилаланина (Cha), 2,3,3a,4,5,6,7,7a-октагидроиндол-2-карбоновой кислоты (Oic), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2,5-дифтор-L-фенилаланина ((2,5-дифтор)F), 2-хлор-L-фенилаланина ((2-хлор)F), 3-хлор-L-фенилаланина ((3-хлор)F), 4-хлор-L-фенилаланина ((4-хлор)F), L-2-бромфенилаланина ((2-бром)F), L-3-бромфенилаланина ((3-бром)F), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2-фтор-L-фенилаланина ((2-фтор)F), 3-фтор-L-фенилаланина ((3-фтор)F), 4-фтор-L-фенилаланина ((4-фтор)F), (2,5-дифтор-L-фенилаланина, 2-метил-L-фенилаланина ((2-Me)F), 3-метил-L-фенилаланина ((3-Me)F), 4-метил-L-фенилаланина ((4-Me)F), 1-бензил-L-гистидина (H(1-Bn)), 1-метил-L-гистидина (H(1-Me)), L-3-метилгистидина (3-Me)H), L-2-пиридилаланина (2-Pal), L-3-пиридилаланина (3-Pal), L-4-пиридилаланина (4-Pal),

X⁶ представляет собой природную аминокислоту, принимая во внимание, что любая природная аминокислота может находиться в D- или L-стереоконфигурации,

причем аминогруппа лизина может быть замещена 6-карбокситетраметилродамином (Tam) или ##C(O)R³,

причем

обозначает присоединение к концевой аминогруппе X^1 ,

R^3 представляет собой C_1 - C_6 -алкилен, арил, гетероарил, C_3 - C_8 -циклоалкил или C_3 - C_7 -гетероциклоалкил,

причем C_1 - C_6 -алкилен до трех раз замещен одинаково или различно радикалом, выбранным из группы, состоящей из гидроксила, метокси, этокси, карбокси, амино и галогена,

причем арил, гетероарил, C_3 - C_8 -циклоалкил и C_3 - C_7 -гетероциклоалкил могут быть до трех раз замещены одинаково или различно радикалом, выбранным из группы C_1 - C_4 -алкила, гидроксила, метокси, этокси, карбонила, карбокси, амино и галогена,

X^7 представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F, H, W или Y, или неприродную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из циклогексилаланина (Cha), 2,3,3a,4,5,6,7,7a-октагидроиндол-2-карбоновой кислоты (Oic), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2,5-дифтор-L-фенилаланина ((2,5-дифтор)F), 2-хлор-L-фенилаланина ((2-хлор)F), 3-хлор-L-фенилаланина ((3-хлор)F), 4-хлор-L-фенилаланина ((4-хлор)F), L-2-бромфенилаланина ((2-бром)F), L-3-бромфенилаланина ((3-бром)F), L-4-бромфенилаланина ((4-бром)F), 2-фтор-L-фенилаланина ((2-фтор)F), 3-фтор-L-фенилаланина ((3-фтор)F), 4-фтор-L-фенилаланина ((4-фтор)F), (2,5-дифтор-L-фенилаланина, 2-метил-L-фенилаланина ((2-Me)F), 3-метил-L-фенилаланина ((3-Me)F), 4-метил-L-фенилаланина ((4-Me)F), 1-бензил-L-гистидина (H(1-Bn)), 1-метил-L-гистидина (H(1-Me)), L-3-метилгистидина (3-Me)H), L-2-пиридилаланина (2-Pal), L-3-пиридилаланина (3-Pal), L-4-пиридилаланина (4-Pal),

или его фармацевтически приемлемая соль, гидрат, сольват или сольват соли, при условии, что соединения YFP[cQFAFC] и yFP[xQFAWC] исключены.

3. Соединение общей формулы (I) по п. 1 или 2, в которой

R^1 отсутствует

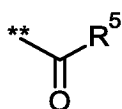
или

представляет собой 6-карбокситетраметилпродамин (Там) или последовательность R⁴GFLG##,

причем

обозначает присоединение к концевой аминогруппе X¹,

R⁴ представляет собой

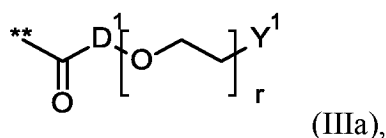


в которой

R⁵ представляет собой метил или этил,

или

представляет собой группу формулы (Ша)



в которой

** обозначает присоединение к атому азота,

D¹ представляет собой C₁-C₄-алкилен,

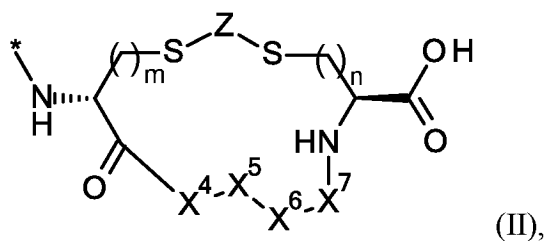
Y¹ выбран из группы, состоящей из гидроксила, метокси, этокси, карбокси, карбоксиамида или amino,

причем amino может быть замещен 6-карбокситетраметилпродамином (Там) посредством амидной связи,

и

r представляет собой целое число от 2 до 4,

R² представляет собой группу формулы (II)



в которой

- * представляет собой присоединение к карбонильному атому карбоксильной группы X^3 ,
- Z представляет собой связь или $-CH_2-$,
- m представляет собой 1 или 2,
- n представляет собой 1 или 2,
- X^1 представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F, H, Y или y, принимая во внимание, что любая аминокислота из перечня может находиться в D- или L-стереоконфигурации,
- X^2 представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F, H, Y или y, принимая во внимание, что любая аминокислота из перечня может находиться в D- или L-стереоконфигурации,
- X^3 представляет собой природную аминокислоту P, или неприродную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из L-гидроксипролина (Нур), (2S,4S)-4-трифторметил-пирролидин-2-карбоновой кислоты ((4-CF₃)P), (2S,4S)-4-фторпролина ((цис-4-фтор)P), транс-4-фторпролина ((транс-4-фтор)P), (2S)-2-амино-4,4,4-трифторбутановой кислоты, L-транс-3-гидроксипролина, (2S,4S)-4-фторпролина ((цис-4-фтор)P), L-4,4-дифторпролина ((дифтор)P),
- X^4 представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из Q, A и K, принимая во внимание, что любая природная аминокислота может находиться в D- или L-стереоконфигурации,
- X^5 представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F, H, W или Y,

X⁶ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из Q, A и K, принимая во внимание, что любая природная аминокислота может находиться в D- или L-стереоконфигурации, причем аминогруппа of K может быть замещена 6-карбокситетраметилпроламином (Tam),

X⁷ представляет собой природную аминокислоту, выбранную из перечня, состоящего из F, H, W или Y,

или фармацевтически приемлемая соль, гидрат, сольват или сольват соли, при условии, что соединения YFP[sQFAFC] и yFP[xQFAWC] исключены.

4. Соединение общей формулы (I) по п. 1, 2 или 3, в которой

R¹ отсутствует

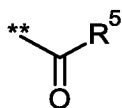
или

представляет собой 6-карбокситетраметилпроламин (Tam) или последовательность R⁴GFLG##,

причем

обозначает присоединение к концевой аминогруппе X¹,

R⁴ представляет собой

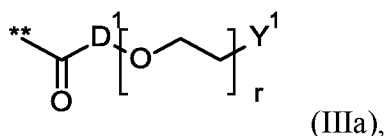


в которой

R⁵ представляет собой метил,

или

представляет собой группу формулы (IIIa)



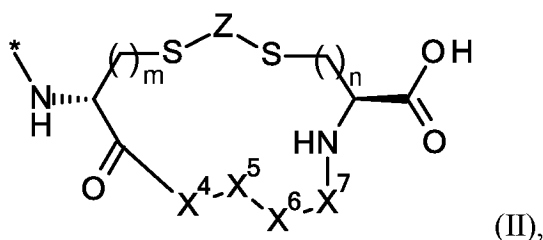
в которой

- ** обозначает присоединение к атому азота,
 D^1 представляет собой этилен,
 Y^1 представляет собой амина,
 причем амина может быть замещен 6-карбокситетраметилпроламином
 (Tam) посредством амидной связи,

и

r представляет собой 4,

R^2 представляет собой группу формулы (II)



в которой

- * представляет собой присоединение к карбонильному атому карбоксильной группы X^3 ,
 Z представляет собой связь или $-CH_2-$,
 m представляет собой 1 или 2,
 n представляет собой 1 или 2,
 X^1 представляет собой Y или y .
 X^2 представляет собой F,
 X^3 представляет собой R,
 X^4 представляет собой Q,
 X^5 представляет собой F,
 X^6 представляет собой A или K,
 X^7 представляет собой F или W,

или его фармацевтически приемлемая соль, гидрат, сольват или сольват соли,
 при условии, что соединения $YFP[cQFAFC]$ и $yFP[xQFAWC]$ исключены.

5. Соединения по любому из предшествующих пп. 1 - 4 для применения при лечении или профилактике заболевания.

6. Соединения по любому из предшествующих пп. 1 - 4 для применения в способе лечения и/или профилактики метаболических нарушений, рака и/или воспалительных заболеваний.

7. Соединения по любому из пп. 1 - 4 для применения в способе лечения и/или профилактики сахарного диабета, ожирения, астматических заболеваний, воспалительных расстройств и рака.

8. Применение соединения формулы (I), как определено в любом из пп. 1 - 4, для производства лекарственного средства для лечения и/или профилактики сахарного диабета, ожирения, астматических заболеваний, воспалительных расстройств и рака.

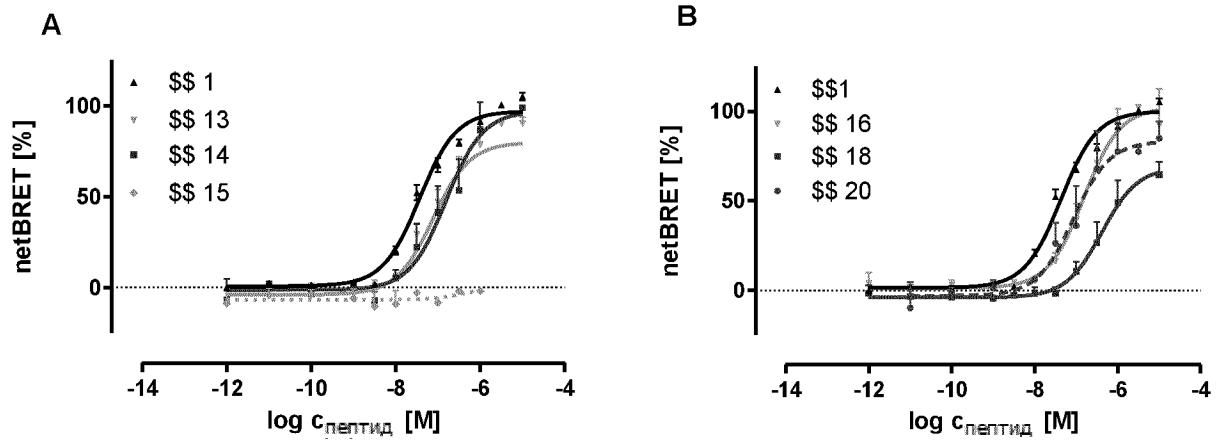
9. Лекарственное средство, содержащее соединение формулы (I), как определено в любом из пп. 1 - 4, в комбинации с инертным, нетоксичным, фармацевтически приемлемым вспомогательным средством.

10. Лекарственное средство по п. 9 для лечения и/или профилактики сахарного диабета, ожирения, астматических заболеваний, воспалительных расстройств и рака.

11. Применение соединения формулы (I) по любому из пп. 1 - 4 для приготовления лекарственного средства для лечения или профилактики заболевания.

12. Способ лечения и/или профилактики сахарного диабета, ожирения, астматических заболеваний, воспалительных расстройств и рака человека и животных с использованием эффективного количества соединения формулы (I), как определено в любом из пп. 1 - 4, для лекарственного средства, как определено в любом из пп. 8 - 10.

Фигура 1:



Фигура 2:

