

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202393580 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.02.12

(51) Int. Cl. *A61K 47/54* (2017.01)
C07D 235/06 (2006.01)
A61K 31/4184 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.06.20

(54) КОНЬЮГАТЫ ПЕПТИДОВ С ЛЕКАРСТВЕННЫМИ СРЕДСТВАМИ

(31) 2108818.2

(72) Изобретатель:

(32) 2021.06.18

Бермехо Гомес Антонио, Кумар

(33) GB

Чинтхакинди Правин, Деммер

(86) PCT/EP2022/066756

Чарльз, Фернегорд Катарина,

(87) WO 2022/263679 2022.12.22

Фернегорд Матиас, Леманн Фредрик,

(71) Заявитель:

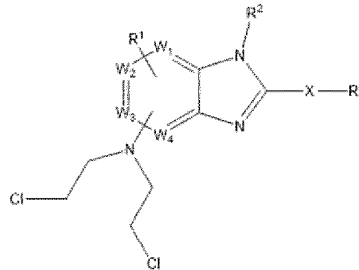
Сантанджело Эллен (SE)

ОНКОПЕПТАЙДС АБ (SE)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение обеспечивает соединения формулы (I), которые являются цитотоксическими средствами, усиленными пептидазами



Изобретение также обеспечивает фармацевтические композиции, содержащие соединения, и применение соединений или фармацевтических композиций в качестве лекарственного препарата, в особенности, для применения для лечения или профилактики злокачественных новообразований, таких как множественная миелома, остеосаркома, рак молочной железы, рак легких, рак яичников, лейкоз и лимфома.

A1

202393580

202393580

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-580142EA/55

КОНЬЮГАТЫ ПЕПТИДОВ С ЛЕКАРСТВЕННЫМИ СРЕДСТВАМИ

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к соединениям, которые представляют собой конъюгаты пептидов с лекарственными средствами (PDC), и к применению таких соединений для лечения заболеваний, таких как злокачественное новообразование.

Уровень техники

Повышенная экспрессия различных гидролитических ферментов, таких как пептидазы, эстеразы и протеазы, была описана при различных типах злокачественных новообразований у людей, в особенности тех, которые характеризуются быстрорастущим и агрессивным фенотипом (Pharmacol Ther. 1999; 83: 67-123). Zn^{2+} -зависимая мембранносвязанная эктопептидаза аминопептидаза N (APN, также известная как CD13), широко экспрессируемая в клетках млекопитающих, играет важную роль в развитии злокачественного новообразования, включая такие процессы, как инвазия опухолевых клеток, дифференциация, пролиферация, апоптоз, подвижность и ангиогенез (Cancer Lett. 2006; 243: 135-43; Curr Med Chem. 2007; 14: 639-47; Curr Med Chem. 2008; 15: 2850-65). Многочисленные функции APN привели к тому, что ее стали называть “эктоферментом, работающим по совместительству” (Trends Mol Med. 2008; 14: 361-71). В совокупности эти способности позволяют рассматривать APN как потенциальную терапевтическую мишень при лечении злокачественного новообразования. Для разработки новых лекарственных средств, направленных на эту мишень, используются различные подходы, включая ингибиторы фермента и конструкции носителей, нацеленные на APN (Cancer Sci. 2011; 102: 501-8).

Одним из классов лекарственных средств, которые могут найти применение при лечении злокачественных новообразований путем использования гидролитических ферментов, таких как пептидазы, эстеразы и протеазы, которые присутствуют в злокачественных опухолях, являются конъюгаты пептидов с лекарственными средствами (PDC). Изобретатели настоящего изобретения обнаружили новое семейство конъюгата пептида с лекарственным средством, которые находят применение для лечения злокачественных новообразований.

Сущность изобретения

Настоящее изобретение обеспечивает соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, сложный эфир, амид или карбамат, включая соль такого сложного эфира, амида или карбамата по пункту 1.

Изобретатели настоящего изобретения обнаружили, что соединения формулы (I) являются мощными противоопухолевыми средствами. В частности, изобретатели настоящего изобретения продемонстрировали в анализе цитотоксичности в условиях *in vitro*, что соединения формулы (I) проявляют чрезвычайно хорошую цитотоксичность в условиях *in vitro* по отношению к клеточным линиям гематологических злокачественных

опухолей. Изобретателями настоящего изобретения также было обнаружено, что соединения формулы (I) эффективно уменьшают рост опухоли на модели ксенотрансплантата лимфомы куриного эмбриона *in ovo*. Кроме того, изобретатели настоящего изобретения обнаружили, что соединения формулы (I) легко гидролизуются в злокачественных клетках с образованием метаболитов, которые предпочтительно секвестрируются и удерживаются внутри клеток и обладают сильной алкилирующей активностью.

Изобретение также обеспечивает фармацевтическую композицию, содержащую соединение в соответствии с изобретением вместе с фармацевтически приемлемым носителем. Фармацевтическая композиция необязательно может содержать один или несколько дополнительных терапевтических средств, например, стероид, ингибитор контрольных точек, ингибитор ядерного транспорта, антиапоптотический ингибитор, клеточную терапию (включая адоптивную клеточную терапию), привлекающий Т-клетки биспецифический активатор (BiTE), иммуномодулирующее лекарственное средство на основе имида (IMiD), ингибитор протеасом (PI), ингибитор гистондеацетилазы (HDAC), конъюгат пептида с лекарственным средством (PDC), алкилятор или интеркалятор ДНК.

Изобретение также обеспечивает соединение или фармацевтическую композицию в соответствии с изобретением для применения в качестве лекарственного препарата. Дополнительно также обеспечивается соединение или фармацевтическая композиция в соответствии с изобретением для применения для лечения или профилактики злокачественного новообразования, например, множественной миеломы, остеосаркомы, рака молочной железы, рака легких, рака яичников, лейкоза и лимфомы.

Изобретение также обеспечивает способ лечения пациента, который включает введение фармацевтически эффективного количества соединения или фармацевтической композиции в соответствии с изобретением.

Изобретение также обеспечивает применение соединения в соответствии с изобретением для приготовления лекарственного препарата для лечения или профилактики злокачественного новообразования.

Настоящее изобретение дополнительно обеспечивает дальнейшие соединения в соответствии с изобретением согласно пункту 25.

Краткое описание графических материалов

На Фигуре 1 показаны результаты измерений внутриклеточной и внеклеточной концентрации метаболита соединения (Соединение согласно примеру 18) согласно изобретению (обнаруженных после лечения с применением Соединения согласно примеру 1 согласно изобретению) (Фиг. 1А), и сравнительных соединений бендамустин (Фиг. 1А) и мелфалан (Фиг. 1В) после применения на MM.1S клетках в условиях *in vitro*.

На Фигуре 2 показано влияние соединений согласно примеру 1 на рост опухоли на ксенотрансплантатах, полученных из клеточной линии лимфомы человека SU-DHL-4 на модели куриного эмбриона *in ovo*.

На Фигурах 3(A) - (G) показаны результаты измерений внутриклеточной и

внеклеточной концентрации соединений согласно изобретению и их метаболитов после обработки MM.1S клеток в условиях *in vitro*.

На Фигурах 4 (А) - (С) показаны результаты анализа повреждения ДНК, вызванного соединениями согласно изобретению и контрольными веществами.

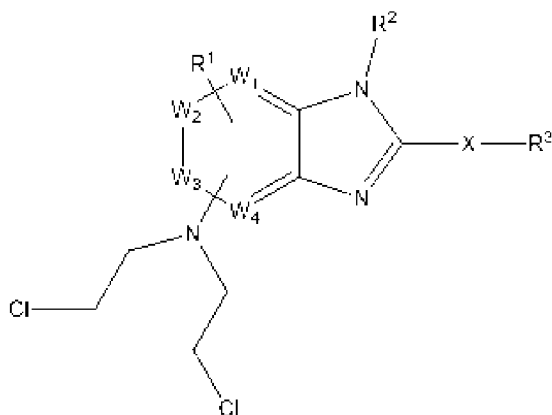
На Фигурах 5 (А) и (В) представлены результаты анализа фрагментации ДНК, вызванной соединениями согласно изобретению и контрольными веществами.

Подробное описание изобретения

Изобретатели настоящего изобретения обнаружили новый класс PDC, обладающих высокой цитотоксичностью по отношению к злокачественным клеткам человека, и, в особенности, клеткам гематологических злокачественных опухолей человека. Как описано в разделе Примеры, были синтезированы различные примеры соединений согласно изобретению и их цитотоксичность по отношению к некоторым клеточным линиям гематологических злокачественных опухолей тестировали в анализе цитотоксичности в условиях *in vitro*. Изобретатели настоящего изобретения обнаружили, что соединения согласно настоящему изобретению обладают высокой эффективностью и селективностью в отношении клеток гематологических злокачественных опухолей, что подтверждается более низкой цитотоксичностью соединений в отношении клеточной линии фибробластов, ВJ. Изобретателями настоящего изобретения также было обнаружено, что Соединение согласно примеру 1 чрезвычайно эффективно ингибирует рост опухоли на модели ксенотрансплантата в куриных эмбрионах *in ovo*, используя клеточную линию лимфомы человека SU-DHL-4.

В ходе дальнейшего исследования изобретатели настоящего изобретения обнаружили, что соединения, раскрытые в изобретении, легко гидролизуются в злокачественных клетках MM.1S с образованием метаболитов, которые секвестрируются и удерживаются внутри клеток и обладают сильной алкилирующей активностью, демонстрируя тем самым, что соединения согласно настоящему изобретению представляют собой эффективный новый класс PDC для лечения или профилактики злокачественного новообразования и, в частности, для лечения или профилактики гематологических злокачественных опухолей.

Настоящее изобретение обеспечивает соединения формулы (I):



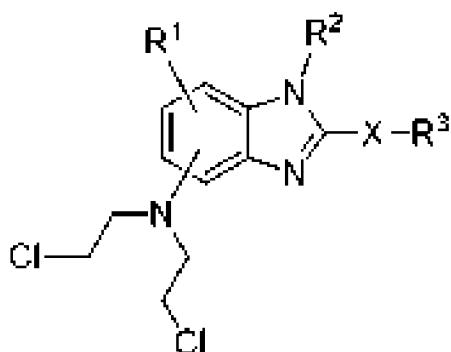
(I)

W_1 , W_2 , W_3 и W_4 каждый представляет собой СН или один из W_1 , W_2 , W_3 и W_4 представляет собой N, а другие представляют собой СН.

В варианте осуществления изобретения, W_2 , W_3 и W_4 каждый представляет собой СН, и W_1 представляет собой N.

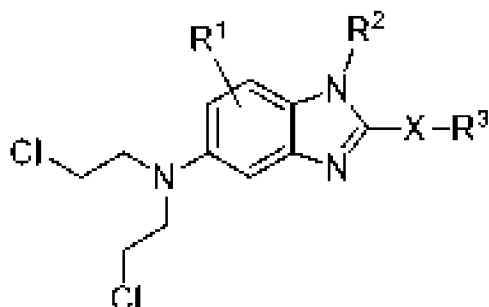
Легко заметить, что $-N(CH_2CH_2Cl)_2$ группа присоединена к основной части молекулы через атом углерода на кольце. Для релевантной W группы, Н в СН группе, соответственно, отсутствует.

В предпочтительных вариантах осуществления изобретения W_1 , W_2 , W_3 и W_4 каждый представляет собой СН и, таким образом, формула (I) представляет собой формулу (Ia):



(Ia).

В предпочтительных вариантах осуществления изобретения формула (I) представляет собой формулу (Ib),



(Ib)

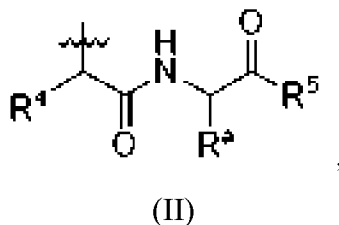
В соединениях формулы (I) X представляет собой C_{1-6} алкилен. Например, X может представлять собой C_{1-4} алкилен, C_{1-3} алкилен, C_{1-2} алкилен, C_2 алкилен или C_1 алкилен. X может представлять собой линейный или разветвленный алкилен. Алкилен в положении X образует связь между имидазольным компонентом и пептидной частью соединения согласно изобретению (то есть, R^3 частью соединения, как описано ниже). Было обнаружено, что особенно эффективными являются алкиленовые линкеры в положении X, имеющие длину один или два углерода. Таким образом, в предпочтительных вариантах осуществления изобретения X представляет собой C_1 алкилен (то есть, $-CH_2-$) или линейный C_2 алкилен (то есть, $-CH_2-CH_2-$).

В соединениях формулы (I) R^1 выбран из группы, состоящей из H; C_{1-4} алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена; и

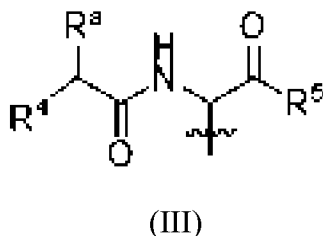
галогена (например, выбран из группы, состоящей из H; C₁₋₄алкила; и галогена). Например, R¹ может быть выбран из группы, состоящей из H, метила, этила, пропила, изопропила, бутила, изобутила, *втор*-бутила, *трет*-бутила, F, Cl, Br и I. Необязательно, эти группы могут быть замещены 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена. В определенных вариантах осуществления изобретения R¹ выбран из группы, состоящей из H, метила, этила, пропила, изопропила, бутила, изобутила, *втор*-бутила, *трет*-бутила, F и Cl. В определенных предпочтительных вариантах осуществления изобретения R¹ представляет собой H.

В соединениях формулы (I) R² выбран из группы, состоящей из H; фенила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена; и -C₁₋₆алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена. Например, R² может быть выбран из группы, состоящей из H; фенила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 атомами F или Cl; и -C₁₋₄алкила (например, метила, этила, пропила, изопропила, бутила, изобутила, *втор*-бутила или *трет*-бутила), необязательно замещенного 1, 2 или 3 атомами F или Cl. В варианте осуществления изобретения, R² выбран из группы, состоящей из фенила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена; и -C₁₋₆алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена, например, -C₁₋₄алкила (например, метила), необязательно замещенного 1, 2 или 3 группами, выбранными из галогена. В определенных вариантах осуществления изобретения R² представляет собой незамещенный -C₁₋₂алкил (например, метил) или незамещенный фенил.

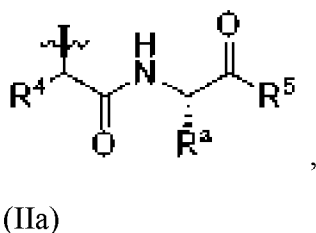
В соединениях формулы (I) R³ представляет собой группу формулы (II):



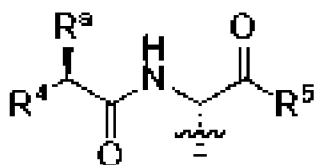
или формулы (III):



В предпочтительных вариантах осуществления изобретения R³ представляет собой группу формулы (IIa):



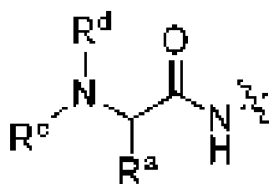
или формулы (IIIa):



(IIIa)

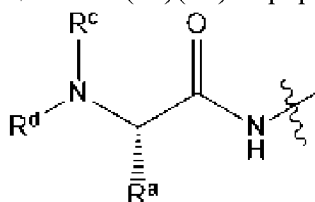
Во избежание неопределенности, \sim в формулах (II), (III), (IIIa) и (IIIa) представляет собой точку присоединения формулы (II), (III), (IIIa) или (IIIa) к формуле (I), (Ia) или (IIIa).

В формулах (II), (IIIa), (III) и (IIIa), R^4 выбран из группы, состоящей из $N(R^c)(R^d)$ и формулы (IV):



(IV)

В предпочтительных вариантах осуществления изобретения R^4 выбран из группы, состоящей из $N(R^c)(R^d)$ и формулы (IVa):



(IVa)

Во избежание неопределенности, \sim в формуле (IV) и (IVa) представляет собой точку присоединения формулы (IV) или (IVa) к формуле (II), (III), (IIIa) или (IIIa).

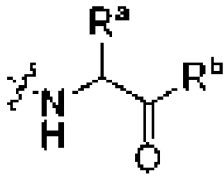
В соединениях формулы (I), когда R^4 представляет собой формулу (IV) или (IVa), R^5 представляет собой R^b .

R^b выбран из группы, состоящей из -OH; $-N(R^c)(R^d)$; и $-OC_{1-6}$ алкила, необязательно замещенного одной или несколькими группами, выбранными из галогена, -OH, -CN, $-N(R^c)(R^d)$, $-C_{6-10}$ арила, или 3-12 членного гетероцикла, содержащего один или несколько O, N или S атомов и необязательно замещенного 1, 2 или 3 галогенами, и/или где указанный алкил необязательно прерван 1, 2 или 3 O, N или S атомами.

Например, когда R^4 представляет собой формулу (IV) или (IVa), то R^5 (который представляет собой R^b) может быть выбран из группы, состоящей из -OH и $-OC_{1-4}$ алкил (например, метокси, этокси, пропокси, изопропокси, бутокси, изобутокси, *втор*-бутокси или *трет*-бутокси). Предпочтительно, когда R^4 представляет собой формулу (IV) или (IVa), то R^5 выбран из группы, состоящей из -OH, и $-OC_{1-3}$ алкила (например, метокси, этокси, пропокси или изопропокси). Более предпочтительно, когда R^4 представляет собой формулу

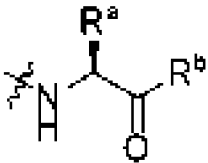
(IV) или (IVa), R⁵ выбран из группы, состоящей из метокси, этокси или изопропокси.

В соединениях формулы (Ia), когда R⁴ представляет собой N(R^c)(R^d), то R⁵ выбран из группы, состоящей из R^b и формулы (V):




(V)

В предпочтительных вариантах осуществления изобретения, когда R⁴ представляет собой N(R^c)(R^d), то R⁵ представляет собой -OH, -OC₁₋₆алкил или формулу (Va):



(Va)

Во избежание неопределенности,  в формуле (V) и (Va) представляет собой точку присоединения формулы (V) или (Va) к формуле (II), (III), (IIa) или (IIIa).

В вариантах осуществления изобретения, в которых R⁴ представляет собой N(R^c)(R^d), R⁵ (являющийся R^b) может быть выбран из группы, состоящей из -OH, -OC₁₋₄алкила (например, метокси, этокси, пропокси, изопропокси, бутокси, изобутокси, *втор-*бутокси или *трет-*бутокси), или R⁵ может быть выбран из формулы (V) и формулы (Va). Предпочтительно, когда R⁴ представляет собой N(R^c)(R^d), R⁵ выбран из группы, состоящей из -OH, -OC₁₋₃алкила (например, метокси, этокси, пропокси или изопропокси) и формулы (Va). Более предпочтительно, когда R⁴ представляет собой N(R^c)(R^d), R⁵ выбран из группы, состоящей из метокси, этокси или изопропокси.

Изобретатели настоящего изобретения обнаружили, что соединения формулы (I), в которых R⁴ представляет собой N(R^c)(R^d), формулу (IV) или (IVa), и R⁵ (являющийся R^b) представляет собой -OC₁₋₃алкил (например, метокси, этокси или изопропокси), являются чрезвычайно цитотоксичными по отношению к злокачественным клеткам. Таким образом, в определенных предпочтительных вариантах осуществления изобретения в соединениях формулы (I), R⁵ представляет собой -OC₁₋₃алкил (например, метокси, этокси или изопропокси). То есть, когда R⁴ представляет собой N(R^c)(R^d), формула (IV) или (IVa), то R⁵ предпочтительно представляет собой -OC₁₋₃алкил (например, метокси, этокси или изопропокси).

В определенных вариантах осуществления изобретения R⁵ представляет собой -OH.

В соединениях формулы (I), каждый R^a независимо выбран из группы, состоящей из H; C₁₋₆алкила; -CH₂-фенила; или -CH₂-3-12-членного гетероцикла, содержащего 1, 2, 3 или 4 гетероатома, выбранных из N, O и S; где указанный C₁₋₆алкил необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из -OH, -OC₁₋

алкила, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{SH}$, $-\text{SCH}_3$, и галоген; и указанный фенил или гетероцикл необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена, $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$, $-\text{OC}_{1-6}$ алкила и $-\text{NO}_2$. В определенных вариантах осуществления изобретения, каждый R^a независимо выбран из группы, состоящей из H; $-\text{C}_{1-6}$ алкила; $-\text{CH}_2$ -индолила; $-\text{CH}_2$ -фенила; и $-\text{CH}_2$ -5-членного гетероарила, содержащего 1, 2, 3 или 4 атома N или S; где C_{1-6} алкил необязательно замещен $-\text{OH}$; $-\text{NH}_2$; $-\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$; $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$; $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$; $-\text{SH}$; $-\text{SCH}_3$; или галогеном (например, F, Cl, Br или I); и фенила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена (например, F, Cl, Br или I); $-\text{NH}_2$; $-\text{OH}$; $-\text{OC}_{1-6}$ алкила; и $-\text{NO}_2$. Предпочтительно, каждый R^a независимо выбран из группы, состоящей из H; C_{1-4} алкила; и $-\text{CH}_2$ -фенила; где алкил или фенил необязательно замещен 1 или 2 галогенами (например, F или Cl). Например, каждый R^a независимо может представлять собой метил, этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, *втор*-бутил, $-\text{CH}_2$ -фенил, $-\text{CH}_2$ -фторфенил, $-\text{CH}_2$ -хлорфенил, $-\text{CH}_2$ -дифторфенил, или $-\text{CH}_2$ -дихлорфенил. В определенных предпочтительных вариантах осуществления изобретения каждый R^a независимо может представлять собой изопропил, изобутил, *втор*-бутил, $-\text{CH}_2$ -фенил или $-\text{CH}_2$ -фторфенил (то есть, 2-фторбензил, 3-фторбензил или 4-фторбензил).

В соединениях формулы (I), R^b выбран из группы, состоящей из $-\text{OH}$; $-\text{N}(\text{R}^e)(\text{R}^f)$; и $-\text{OC}_{1-6}$ алкила, необязательно замещенного одной или несколькими группами, выбранными из галогена, $-\text{OH}$, $-\text{CN}$, $-\text{N}(\text{R}^e)(\text{R}^f)$, $-\text{C}_{6-10}$ арила, или 3-12 членного гетероцикла, содержащего один или несколько O, N или S атомов и необязательно замещенного 1, 2 или 3 галогенами, и/или где указанный алкил необязательно прерван 1, 2 или 3 O, N или S атомами. В определенных вариантах осуществления изобретения R^b представляет собой $-\text{OH}$ или $-\text{OC}_{1-6}$ алкил, где указанный алкил необязательно прерван 1, 2 или 3 атомами O или N. В определенных дальнейших вариантах осуществления изобретения R^b представляет собой $-\text{OH}$ или $-\text{OC}_{1-6}$ алкил, например, $-\text{OC}_{1-6}$ алкил. Предпочтительно, R^b представляет собой $-\text{OC}_{1-4}$ алкил. Например, R^b может представлять собой метокси, этокси, пропокси, изопропокси, бутокси, изобутокси или *втор*-бутокси. В определенных предпочтительных вариантах осуществления изобретения R^b представляет собой метокси, этокси или изопропокси. Более предпочтительно, R^b представляет собой этокси.

В определенных вариантах осуществления изобретения R^b представляет собой $-\text{OH}$.

R^c и R^d каждый независимо выбран из группы, состоящей из H, $-\text{C}_{1-6}$ алкила, $-\text{C}(\text{O})\text{C}_{1-6}$ алкила и $-\text{CH}_2$ -фенила, где указанный алкил или указанный фенил необязательно замещен 1, 2 или 3 группами, выбранными из галогена. В предпочтительных соединениях R^c представляет собой H и R^d выбран из H, $-\text{C}_{1-6}$ алкила и $-\text{C}(\text{O})\text{C}_{1-6}$ алкила, где указанный алкил необязательно замещен 1, 2 или 3 группами, выбранными из галогена. Например, R^c представляет собой H и R^d выбран из H, $-\text{C}_{1-4}$ алкила и $\text{C}(\text{O})\text{C}_{1-4}$ алкила. Например, R^c представляет собой H и R^d выбран из H, метила, этила, пропила, изопропила, бутила, изобутила, *втор*-бутила, $-\text{C}(\text{O})$ метила, $-\text{C}(\text{O})$ этила, $-\text{C}(\text{O})$ пропила, $-\text{C}(\text{O})$ изопропила, $-\text{C}(\text{O})$ бутила, $-\text{C}(\text{O})$ изобутила и $-\text{C}(\text{O})$ *втор*-бутила. Предпочтительно, R^c представляет собой

H и R^d выбран из H, метила и -C(O)метила. Предпочтительно, R^e представляет собой H и R^d представляет собой H.

В соединениях формулы (I), R^e и R^f каждый независимо выбран из группы, состоящей из H и -C₁₋₆алкила, где указанный алкил необязательно замещен 1, 2 или 3 группами, выбранными из галогена; или R^e и R^f вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют 4-, 5- или 6-членный гетероцикл, который необязательно замещен 1, 2 или 3 группами, выбранными из галогена. В предпочтительных соединениях, R^e и R^f каждый независимо выбран из группы, состоящей из H, метила, этила, пропила, изопропила, бутила, изобутила и *втор*-бутила. Например, R^e и R^f каждый независимо выбран из группы, состоящей из H и метила. Предпочтительно, R^e и R^f оба представляют собой H, оба представляют собой метил, или один из R^e и R^f представляет собой H, а другой представляет собой метил.

В определенных вариантах осуществления соединения согласно изобретению имеют формулу (Ia), где,

X представляет собой -C₁₋₂алкилен (то есть, -CH₂- или -CH₂-CH₂-);

R¹ представляет собой H;

R² представляет собой -C₁₋₂алкил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 атомами F, или фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 атомами F, например, R² может представлять собой незамещенный -C₁₋₂алкил или незамещенный фенил;

R³ представляет собой формулу (IIa) или (IIIa);

R⁴ выбран из группы, состоящей из N(R^c)(R^d) и формулы (IVa);

когда R⁴ представляет собой формулу (IVa), то R⁵ (являющийся R^b) представляет собой -OC₁₋₄алкил; и когда R⁴ представляет собой N(R^c)(R^d), то R⁵ представляет собой -OC₁₋₄алкил или формулу (Va);

каждый R^a независимо выбран из группы, состоящей из H; -C₁₋₆алкила; -CH₂-индолила; -CH₂-фенила; или -CH₂-5-членного гетероарила, содержащего 1, 2, 3 или 4 атома N или S; где указанный -C₁₋₆алкил необязательно замещен -OH; -NH₂; -NHC(=NH)NH₂; -C(O)OH; -C(O)NH₂; -SH; -SCH₃; или галогеном; и указанный фенил необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена; -NH₂; -OH; -O-C₁₋₆алкила; и -NO₂;

R^b представляет собой -OC₁₋₆алкил; и

R^c представляет собой H и R^d выбран из H, -C₁₋₄алкила и -C(O)C₁₋₄алкила;

или его фармацевтически приемлемую соль, сложный эфир, амид или карбамат, включая соль такого сложного эфира, амида или карбамата.

В определенных других вариантах осуществления соединение согласно настоящему изобретению представляет собой формулу (Ia), где,

X представляет собой -C₁₋₂алкилен (то есть, -CH₂- или -CH₂-CH₂-);

R¹ представляет собой H;

R² представляет собой метил или фенил;

R³ представляет собой формулу (IIa) или (IIIa);

R^4 представляет собой $N(R^c)(R^d)$ или формулы (IVa);

R^5 (являющийся R^b) представляет собой $-OC_{1-3}$ алкил; и

каждый R^a независимо выбран из группы, состоящей из H; $-C_{1-6}$ алкила; $-CH_2$ -индолила; $-CH_2$ -фенила; или $-CH_2$ -5-членного гетероарила, содержащего 1, 2, 3 или 4 атома N или S; где C_{1-6} алкил необязательно замещен $-OH$; $-NH_2$; $-NHC(=NH)NH_2$; $-C(O)OH$; $-C(O)NH_2$; $-SH$; $-SCH_3$; или галогеном; и фенила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена; $-NH_2$; $-OH$; $-OC_{1-6}$ алкила; и $-NO_2$;

или его фармацевтически приемлемую соль, сложный эфир, амид или карбамат, включая соль такого сложного эфира, амида или карбамата.

Изобретатели настоящего изобретения обнаружили, что соединения согласно настоящему изобретению являются особенно цитотоксичными по отношению к клеткам гематологических злокачественных опухолей в анализе цитотоксичности в условиях *in vitro* и на модели ксенотрансплантата лимфомы куриного эмбриона *in ovo*, где соединение представляет собой формулу (Ia), где,

X представляет собой $-C_{1-2}$ алкилен (то есть, $-CH_2-$ или $-CH_2-CH_2-$);

R^1 представляет собой H;

R^2 представляет собой метил или фенил;

R^3 представляет собой формулу (IIa) или (IIIa);

R^4 представляет собой $N(R^c)(R^d)$ или формулы (IVa);

R^5 (являющийся R^b) представляет собой $-OC_{1-3}$ алкил; и

каждый R^a независимо выбран из группы, состоящей из изопропила, изобутила и $-CH_2$ -фенила, необязательно замещенного 1 атомом F (например, 2-фторбензил, 3-фторбензил или 4-фторбензил);

или его фармацевтически приемлемую соль, сложный эфир, амид или карбамат, включая соль такого сложного эфира, амида или карбамата.

В определенных других вариантах осуществления соединения согласно изобретению имеют формулу (Ia), где,

X представляет собой $-C_{1-2}$ алкилен (то есть, $-CH_2-$ или $-CH_2-CH_2-$);

R^1 представляет собой H;

R^2 представляет собой $-C_{1-2}$ алкил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 атомами F, или фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 атомами F, например, R^2 может представлять собой незамещенный $-C_{1-2}$ алкил или незамещенный фенил;

R^3 представляет собой формулу (IIa);

R^4 представляет собой NH_2 ;

R^5 (являющийся R^b) представляет собой $-OC_{1-4}$ алкил; и

каждый R^a независимо выбран из группы, состоящей из H; $-C_{1-6}$ алкила; $-CH_2$ -индолила; $-CH_2$ -фенила; или $-CH_2$ -5-членного гетероарила, содержащего 1, 2, 3 или 4 атома N или S; где C_{1-6} алкил необязательно замещен $-OH$; $-NH_2$; $-NHC(=NH)NH_2$; $-C(O)OH$; $-C(O)NH_2$; $-SH$; $-SCH_3$; или галогеном; и фенила, необязательно замещенного 1, 2 или 3

заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена; $-\text{NH}_2$; $-\text{OH}$; $-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ алкила; и $-\text{NO}_2$;

или его фармацевтически приемлемую соль, сложный эфир, амид или карбамат, включая соль такого сложного эфира, амида или карбамата.

В определенных других вариантах осуществления, соединения согласно изобретению имеют формулу (Ia), где,

X представляет собой $-\text{C}_{1-2}$ алкилен (то есть, $-\text{CH}_2-$ или $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$);

R^1 представляет собой H;

R^2 представляет собой $-\text{C}_{1-2}$ алкил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 атомами F, или фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 атомами F, например, R^2 может представлять собой незамещенный $-\text{C}_{1-2}$ алкил или незамещенный фенил;

R^3 представляет собой формулу (IIIa);

R^4 представляет собой NH_2 ;

R^5 представляет собой $-\text{OC}_{1-4}$ алкил; и

каждый R^a независимо выбран из группы, состоящей из H; $-\text{C}_{1-6}$ алкила; $-\text{CH}_2$ -индолила; $-\text{CH}_2$ -фенила; или $-\text{CH}_2$ -5-членного гетероарила, содержащего 1, 2, 3 или 4 атома N или S; где $-\text{C}_{1-6}$ алкил необязательно замещен $-\text{OH}$; $-\text{NH}_2$; $-\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$; $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$; $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$; $-\text{SH}$; $-\text{SCH}_3$; или галогеном; и фенила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена; $-\text{NH}_2$; $-\text{OH}$; $-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ алкила; и $-\text{NO}_2$;

или его фармацевтически приемлемую соль, сложный эфир, амид или карбамат, включая соль такого сложного эфира, амида или карбамата.

В определенных других вариантах осуществления соединения согласно изобретению имеют формулу (Ia), где

X представляет собой $-\text{C}_{1-2}$ алкилен (то есть, $-\text{CH}_2-$ или $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$);

R^1 представляет собой H;

R^2 представляет собой $-\text{C}_{1-2}$ алкил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 атомами F, или фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 атомами F, например, R^2 может представлять собой незамещенный $-\text{C}_{1-2}$ алкил или незамещенный фенил;

R^3 представляет собой формулу (IIIa);

R^4 представляет собой формулу (IVa);

R^5 представляет собой $-\text{OC}_{1-4}$ алкил; и

каждый R^a независимо выбран из группы, состоящей из H; $-\text{C}_{1-6}$ алкила; $-\text{CH}_2$ -индолила; $-\text{CH}_2$ -фенила; или $-\text{CH}_2$ -5-членного гетероарила, содержащего 1, 2, 3 или 4 атома N или S; где $-\text{C}_{1-6}$ алкил необязательно замещен $-\text{OH}$; $-\text{NH}_2$; $-\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$; $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$; $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$; $-\text{SH}$; $-\text{SCH}_3$; или галогеном; и фенила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена; $-\text{NH}_2$; $-\text{OH}$; $-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ алкила; и $-\text{NO}_2$;

или его фармацевтически приемлемая соль, сложный эфир, амид или карбамат, включая соль такого сложного эфира, амида или карбамата.

В определенных предпочтительных вариантах осуществления изобретения соединение согласно изобретению представляет собой:

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (Соединение согласно примеру 1);

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат (Соединение согласно примеру 2);

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-3-метил-бутаноат (Соединение согласно примеру 3);

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-4-метил-пентаноат (Соединение согласно примеру 4);

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат (Соединение согласно примеру 5);

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-3-метил-бутаноат (Соединение согласно примеру 6);

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-метил-пентаноил]амино]-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноат (Соединение согласно примеру 7);

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноат (Соединение согласно примеру 8);

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-метил-бутаноил]амино]-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноат (Соединение согласно примеру 9);

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-метил-пентаноил]амино]-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноат (Соединение согласно примеру 10);

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноат (Соединение согласно примеру 11);

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-метил-бутаноил]амино]-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноат (Соединение согласно примеру 12);

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-фенил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (Соединение согласно примеру 13);

Метил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-4-метил-пентаноат (Соединение согласно примеру 14);

Изопропил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-4-метил-пентаноат (Соединение согласно примеру 15);

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноил]амино]-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноат (Соединение согласно примеру 16);

Этил (2S)-2-[[[(2R)-2-[[[(2S)-2-амино-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноил]амино]-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноат

(Соединение согласно примеру 21)

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат (Соединение согласно примеру 22)

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноил]амино]-4-метил-пентаноат (Соединение согласно примеру 23)

2-Морфолиноэтил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (Соединение согласно примеру 24)

2-Изопропоксиэтил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (Соединение согласно примеру 25)

Изопропил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (Соединение согласно примеру 26)

Метил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (Соединение согласно примеру 27)

3-(Диметиламино)пропил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (Соединение согласно примеру 28)

(2-Метокси-1-метил-этил) (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (Соединение согласно примеру 29)

(2S)-2-[[[(2S)-2-Амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-N,N,4-триметил-пентанамид (Соединение согласно примеру 30)

(2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-N,4-диметил-пентанамид (Соединение согласно примеру 31)

Этил (2S)-2-[[[(2S)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(метиламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (Соединение согласно примеру 32)

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-ацетиамидо-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат (Соединение согласно примеру 34)

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-ацетиамидо-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-4-метил-пентаноат (Соединение согласно примеру 35)

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-ацетиамидо-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат (Соединение согласно примеру 36)

Этил (2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-

ил]бутаноат (Соединение согласно примеру 38) Этил (2R)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (Соединение согласно примеру 45)

Этил (2S)-2-[[[(2R)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (Соединение согласно примеру 46)

Этил (2R)-2-[[[(2R)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (Соединение согласно примеру 47)

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[6-[бис(2-хлорэтил)амино]-3-метил-имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (Соединение согласно примеру 48); и

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлор-1,1,2,2-тетрадейтерио-этил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (Соединение согласно примеру 50)

или его фармацевтически приемлемую соль, амид или карбамат, включая соль такого амида или карбамата.

Соединения согласно настоящему изобретению могут быть получены с помощью методов, хорошо известных специалистам в области органической химии. Типичные процедуры получения соединений формулы (I) описаны в разделе «Примеры».

В вариантах осуществления изобретения соединение согласно изобретению может содержать изотопный атом. Как определено в настоящей заявке, изотопный атом представляет собой атом элемента, который не является наиболее распространенным изотопом, встречающимся в природе. Дейтерий является безопасным и стабильным изотопом водорода. В одном варианте осуществления соединение согласно изобретению имеет уровень содержания дейтерия больше, чем встречающееся в природе содержание дейтерия. Встречающееся в природе содержание дейтерия составляет 0,0156 мол. %, где мол. % представляет собой процентное содержание дейтерия от общего количества молей водорода в образце. Таким образом, 1 моль встречающегося в природе водорода содержит 0,156 ммоль дейтерия, или образец из $6,022 \times 10^{23}$ встречающихся в природе атомов водорода содержит $9,39 \times 10^{19}$ атомов дейтерия, или образец из 6413 атомов водорода природного происхождения содержит один атом дейтерия. Уровень содержания дейтерия, превышающий встречающееся в природе содержание дейтерия, может составлять по меньшей мере 1 мол. %, 5 мол. %, 10 мол. %, 50 мол. %, 90 мол. % или 98 мол. % дейтерия. В определенных вариантах осуществления изобретения соединение согласно изобретению имеет уровень содержания дейтерия по меньшей мере 1 мол. %, 5 мол. %, 10 мол. %, 50 мол. %, 90 мол. % или 98 мол. % дейтерия. В данной области техники известны методики для приготовления дейтерированных соединений. См., например, Sajiki, *New Horizons of Process Chemistry* (2017), изд-во Springer, сс. 29-40, и Hanson, *The Organic Chemistry of Isotopic Labelling* (2011), раздел 3, RSC Publishing.

В зависимости от заместителей, присутствующих в соединениях согласно изобретению, соединения могут образовывать сложные эфиры, амиды, карбаматы и/или соли. Соли соединений согласно изобретению, пригодные для использования в медицине,

представляют собой соли, в которых противоион является фармацевтически приемлемым. Однако соли, имеющие фармацевтически неприемлемые противоионы, охватываются объемом настоящего изобретения, например, для применения в качестве промежуточных продуктов при получении соединений согласно изобретению и их фармацевтически приемлемых солей и физиологически функциональных производных. Термин “физиологически функциональное производное” относится к химическому производному соединения согласно изобретению, которое имеет такую же физиологическую функцию, что и соединение согласно изобретению, например, преобразуясь в организме в это соединение. Сложные эфиры, амиды и карбаматы являются примерами физиологически функциональных производных.

Подходящие формы солей, пригодные для применения в настоящем изобретении, включают те, которые образованные с органическими или неорганическими кислотами или основаниями. В частности, подходящие соли, образованные с кислотами в соответствии с изобретением, включают соли, образованные с минеральными кислотами, сильными органическими карбоновыми кислотами, такими как алканкарбоновые кислоты с 1-4 атомами углерода, незамещенные или замещенные, например, галогеном, или такими как насыщенные или ненасыщенные дикарбоновые кислоты, или такими как гидроксикарбоновые кислоты, или такими как аминокислоты, или с органическими сульфоновыми кислотами, такими как (C₁-C₄)-алкил- или арил-сульфоновые кислоты, которые незамещены или замещены, например, галогеном. Фармацевтически приемлемые соли присоединения кислот включают соли, образованные с соляной, бромистоводородной, серной, азотной, лимонной, винной, уксусной, фосфорной, молочной, пировиноградной, уксусной, трифторуксусной, янтарной, перхлорной, фумаровой, малеиновой, гликолевой, молочной, салициловой, щавелево-уксусной, метансульфоновой, этансульфоновой, *пара*-толуосульфоновой, муравьиной, бензойной, маловоной, нафталин-2-сульфоновой, бензолсульфоновой, изетионовой, аскорбиновой, яблочной, фталевой, аспарагиновой и глутаминовой кислотами, лизином и аргинином. Другие кислоты, такие как щавелевая, которые сами по себе не являются фармацевтически приемлемыми, может быть полезны в качестве промежуточных продуктов для получения соединений согласно изобретению и их фармацевтически приемлемых солей присоединения кислот.

Фармацевтически приемлемые соли с основаниями включают соли аммония, соли щелочных металлов, например, соли калия и натрия, соли щелочно-земельных металлов, например, соли кальция и магния, и соли с органическими основаниями, например, дициклогексиламин, N-метил-D-глюкомин, морфолин, тиоморфолин, пиперидин, пирролидин, моно-, ди- или три-низший алкиламин, например, этил-, *трет*-бутил-, диэтил-, диизопропил-, триэтил-, трибутил- или диметил-пропиламин, или моно-, ди- или тригидрокси-низший алкиламин, например, моно-, ди- или триэтаноламин. Также могут образовываться соответствующие внутренние соли.

Предпочтительные соли соединений согласно настоящему изобретению включают соли присоединения кислот, такие как соли, образованные с соляной, бромистоводородной,

уксусной, *para*-толуолсульфоновой, винной, серной, янтарной, фосфорной, шавелевой, азотной, метансульфоновой, яблочной, малеиновой и лимонной кислотой. Более предпочтительно, соль соединения согласно настоящему изобретению представляет собой гидрохлоридную соль (то есть, соль присоединения, образованную с соляной кислотой).

Соединение, которое само по себе неактивно, но которое при введении реципиенту способно превращаться в активное лекарственное соединение, известно как "пролекарство". Пролекарство может, например, преобразовываться в организме, например, путем гидролиза в крови, в активную форму, оказывающую медицинские эффекты. Фармацевтически приемлемые пролекарства описаны в T. Higuchi и V. Stella, *Prodrugs as Novel Delivery Systems*, том 14 A. C. S. Symposium Series (1976); "Design of Prodrugs" ред. H. Bundgaard, Elsevier, 1985; и в Edward B. Roche, ред., *Bioreversible Carriers in Drug Design*, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987.

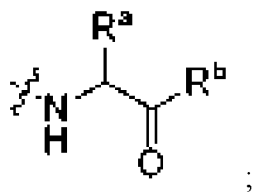
Соединения по пункту 1 или пункту 25 согласно настоящему изобретению (и их соответствующие зависимые пункты) могут быть представлены в форме пролекарства. Примеры пролекарств включают сложные эфиры, амиды и карбаматы.

Соединения согласно изобретению могут иметь соответствующую группу, превращаемую в сложный эфир, амид или карбамат. Таким образом, типичные сложнлэфирные и амидные группы, образованные из кислотной группы в соединении согласно изобретению, включают $-\text{COOR}^G$, $-\text{CONR}^G_2$, $-\text{SO}_2\text{OR}^G$ или $-\text{SO}_2\text{N}(\text{R}^G)_2$, а типичные сложнэфирные, амидные и карбаматные группы, образованные из $-\text{OH}$ или $-\text{NHR}^G$ группы в соединении согласно изобретению, включают $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^G$, $-\text{NR}^G\text{C}(\text{O})\text{R}^G$, $-\text{NR}^G\text{CO}_2\text{R}^G$, $-\text{OSO}_2\text{R}^G$, и $-\text{NR}^G\text{SO}_2\text{R}^G$, где R^G выбран из группы, состоящей из C_{1-8} алкила, C_{2-8} алкенила, C_{2-8} алкинила, C_{3-8} циклоалкила и C_{3-8} циклоалкил C_{1-8} алкила, гало C_{1-8} алкила, дигало C_{1-8} алкила, тригало C_{1-8} алкила, фенила и фенил C_{1-4} алкила; более предпочтительно R^G выбран из группы, состоящей из C_{1-6} алкила, C_{2-6} алкенила, C_{2-6} алкинила, C_{3-8} циклоалкила и C_{3-8} циклоалкил C_{1-6} алкила.

Специалистам в области органической химии будет понятно, что многие органические соединения могут образовывать комплексы с растворителями, в которых они реагируют или из которые они осаждаются или кристаллизуются. Эти комплексы известны как "сольваты". Например, комплекс с водой известен как "гидрат". Комплекс может включать растворитель в стехиометрическом нестехиометрическом количестве. Сольваты описаны в *Water-Insoluble Drug Formulation*, 2-е изд, R. Lui, CRC Press, стр. 553, и Вурн и др., *Pharm. Res.*, 12(7), 1995, 945-954. Перед получением в растворе соединение согласно настоящему изобретению, а также его сложные эфиры, амиды, карбаматы и/или соли, могут находиться в форме сольвата. Сольваты соединения согласно настоящему изобретению, пригодные для применения в качестве лекарственного препарата, представляют собой такие сольваты, в которых связанный растворитель является фармацевтически приемлемым. Например, гидрат представляет собой фармацевтически приемлемый сольват.

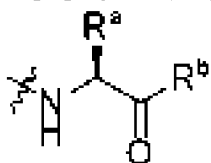
Изобретатели настоящего изобретения обнаружили, что соединения согласно

настоящему изобретению, в которых R^5 выбран из группы, состоящей из $-OC_{1-6}$ алкила, формулы (V)



(V)

и формулы (Va)



(Va)

и R^b представляет собой группу, выбранную из $-N(R^e)(R^f)$ и $-OC_{1-6}$ алкила, легко гидролизуются в злокачественных клетках с образованием метаболитов, которые предпочтительно секвестрируются и удерживаются внутри клеток и обладают сильной алкилирующей активностью.

Таким образом, настоящее изобретение также обеспечивает метаболит, где указанный метаболит имеет структуру формулы (I), (Ia) или (Ib), где,

X представляет собой C_{1-6} алкилен;

W_1 , W_2 , W_3 и W_4 каждый представляет собой CH или один из W_1 , W_2 , W_3 и W_4 представляет собой N, а другие представляют собой CH;

R^1 выбран из группы, состоящей из H; C_{1-4} алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена; и галогена;

R^2 выбран из группы, состоящей из H; фенила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена; и C_{1-6} алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена;

R^3 представляет собой группу формулы (II), (III), (IIIa) или (IIIa);

R^4 выбран из группы, состоящей из $N(R^c)(R^d)$, формулы (IV) или (IVa);

когда R^4 представляет собой формулу (IV) или (IVa), то R^5 представляет собой $-OH$; и когда R^4 представляет собой $N(R^c)(R^d)$, то R^5 представляет собой $-OH$, формула (V) или (Va);

каждый R^a независимо выбран из группы, состоящей из H; $-C_{1-6}$ алкила; $-CH_2$ -фенила; или $-CH_2$ -3-12-членного гетероцикла, содержащего 1, 2, 3 или 4 гетероатома, выбранных из N, O и S; где указанный $-C_{1-6}$ алкил необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из $-OH$, $-OC_{1-6}$ алкила, $-NH_2$, $-NHC(=NH)NH_2$, $-C(O)OH$, $-C(O)NH_2$, $-SH$, $-SCH_3$, и галогена; и указанный фенил или гетероцикл необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена, $-NH_2$, $-OH$, $-OC_{1-6}$ алкил и $-NO_2$ и

R^b представляет собой OH;

или его соль.

Предпочтительные радикалы в метаболитных соединениях, описанных непосредственно выше, являются такими, как описано выше в отношении соединений формулы (I), (Ia) и (Ib). Например, в определенных вариантах осуществления изобретения, метаболит имеет структуру формулы (I), (Ia) или (Ib), где,

X представляет собой $-C_{1-2}$ алкилен (то есть, $-CH_2-$ или $-CH_2-CH_2-$);

R^1 представляет собой H;

R^2 представляет собой метил или фенил;

R^3 представляет собой формулу (IIa) или (IIIa);

R^4 выбран из группы, состоящей из $N(R^c)(R^d)$ или формулы (IVa);

когда R^4 представляет собой формулу (IVa), то R^5 представляет собой $-OH$; и когда R^4 представляет собой $N(R^c)(R^d)$, то R^5 представляет собой $-OH$ или формулы (Va);

каждый R^a независимо выбран из группы, состоящей из H; $-C_{1-6}$ алкила; $-CH_2$ -индолила; $-CH_2$ -фенила; или $-CH_2$ -5-членного гетероарила, содержащего 1, 2, 3 или 4 атома N или S; где $-C_{1-6}$ алкил необязательно замещен $-OH$; $-NH_2$; $-NHC(=NH)NH_2$; $-C(O)OH$; $-C(O)NH_2$; $-SH$; $-SCH_3$; или галогеном; и фенила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена; $-NH_2$; $-OH$; $-O-C_{1-6}$ алкила; и $-NO_2$; и

R^b представляет собой OH ;

или его соль.

В определенных вариантах осуществления изобретения метаболит имеет структуру формулы (I), (Ia) или (Ib), где,

X представляет собой $-C_{1-2}$ алкилен (то есть, $-CH_2-$ или $-CH_2-CH_2-$);

R^1 представляет собой H;

R^2 представляет собой метил или фенил;

R^3 представляет собой формулу (IIa) или (IIIa);

R^4 представляет собой NH_2 или формулы (IVa);

R^5 представляет собой $-OH$;

каждый R^a независимо выбран из группы, состоящей из H; $-C_{1-6}$ алкила; $-CH_2$ -индолила; $-CH_2$ -фенила; или $-CH_2$ -5-членного гетероарила, содержащего 1, 2, 3 или 4 атома N или S; где $-C_{1-6}$ алкил необязательно замещен $-OH$; $-NH_2$; $-NHC(=NH)NH_2$; $-C(O)OH$; $-C(O)NH_2$; $-SH$; $-SCH_3$; или галогеном; и фенила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена; $-NH_2$; $-OH$; $-OC_{1-6}$ алкила; и $-NO_2$. Предпочтительно, каждый R^a независимо выбран из группы, состоящей из изопропила, изобутила и $-CH_2$ -фенила, необязательно замещенного 1 атомом F (например, 2-фторбензил, 3-фторбензил или 4-фторбензил);

или его соль.

В определенных предпочтительных вариантах осуществления изобретения метаболит представляет собой:

(2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-

ил]бутаноил]амино]-3-метил-бутановую кислоту (Соединение согласно примеру 19); и
 (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентановую кислоту (Соединение согласно примеру 20);
 (2S)-2-[[[(2S)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(метиламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентановую кислоту (Соединение согласно примеру 33)

(2S)-2-[[[(2S)-2-Амино-4-метил-пентаноил]амино]-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутановую кислоту (Соединение согласно примеру 37)

(2S)-2-[[[(2S)-2-Амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропановую кислоту (Соединение согласно примеру 39) (2S)-2-[[[(2S)-2-Амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-фенил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентановую кислоту (Соединение согласно примеру 40)

2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-3-метил-бутановую кислоту (Соединение согласно примеру 42) (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-метил-пентаноил]амино]-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропановую кислоту (Соединение согласно примеру 43) (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-4-метил-пентановую кислоту (Соединение согласно примеру 44); и

(2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлор-1,1,2,2-тетрадейтерио-этил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентановую кислоту (Соединение согласно примеру 51),

или ее соль.

Изобретатели настоящего изобретения также обнаружили, что соединения согласно настоящему изобретению легко подвергаются дальнейшему гидролизу в злокачественных клетках с образованием дальнейших, более совершенных метаболитов, которые предпочтительно секвестрируются и удерживаются внутри клеток и обладают сильной алкилирующей активностью. Таким образом, настоящее изобретение также обеспечивает метаболит, который имеет структуру формулы (I), (Ia) или (Ib), где,

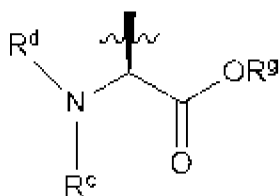
X представляет собой C₁₋₆алкилен;

W₁, W₂, W₃ и W₄ каждый представляет собой СН или один из W₁, W₂, W₃ и W₄ представляет собой N, а другие представляют собой СН;

R¹ выбран из группы, состоящей из Н; -С₁₋₄алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена; и галогена (например, F или Cl);

R² выбран из группы, состоящей из Н; фенила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена (например, F или Cl); и -С₁₋₆алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена (например, F или Cl); и

R³ представляет собой формулу (VIa)



(VIa)

где, R^c и R^d каждый независимо выбран из группы, состоящей из H, $-C_{1-6}$ алкила, $-C(O)C_{1-6}$ алкила и $-CH_2$ -фенила, где указанный алкил или указанный фенил необязательно замещен 1, 2 или 3 группами, выбранными из галогена (предпочтительно, R^c и R^d оба представляют собой H); и

R^g выбран из группы, состоящей из H и $-C_{1-6}$ алкила, где указанный алкил необязательно замещен 1, 2 или 3 группами, выбранными из галогена (предпочтительно R^g представляет собой H).

Во избежание неопределенности, \sim в формулах (VI) и (VIa) представляет собой точку присоединения формулы (VI) или (VIa) к формуле (I), (Ia) или (Ib).

В определенных вариантах осуществления изобретения метаболит имеет структуру формулы (I), (Ia) или (Ib), где,

X представляет собой C_{1-6} алкилен;

R^1 выбран из группы, состоящей из H; $-C_{1-4}$ алкила; и галогена (например, F или Cl);

R^2 выбран из группы, состоящей из H; фенила замещенного 1, 2 или 3 галогенами (например, F или Cl); и $-C_{1-6}$ алкила, замещенного 1, 2 или 3 галогенами (например, F или Cl) (например, выбранного из группы, состоящей из фенила, замещенного 1, 2 или 3 галогенами (например, F или Cl); и $-C_{1-6}$ алкила, замещенного 1, 2 или 3 галогенами (например, F или Cl));

R^3 представляет собой формулу (VIa); и

R^c и R^d оба представляют собой H;

или его соль.

В определенных других вариантах осуществления изобретения метаболит имеет структуру формулы (I), (Ia) или (Ib), где,

X представляет собой C_1 алкилен (то есть, $-CH_2-$) или C_2 алкилен (то есть, $-CH_2-CH_2-$);

R^1 выбран из группы, состоящей из H; $-C_{1-4}$ алкила; и галогена (например, F или Cl);

R^2 выбран из группы, состоящей из H; фенила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 галогенами (например, F или Cl); и $-C_{1-6}$ алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 галогенами (например, F или Cl); и

R^3 представляет собой формулу (VIa); и

R^c и R^d оба представляют собой H;

или его соль.

Предпочтительно, соединение представляет собой соединение формулы (Ia) или (Ib).

Таким образом, настоящее изобретение также обеспечивает соединение, которое имеет структуру формулы (I), (Ia) или (Ib), где,

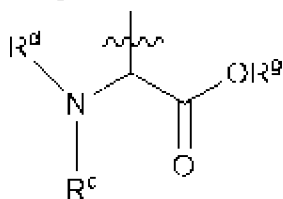
X представляет собой C₂₋₆алкилен;

W₁, W₂, W₃ и W₄ каждый представляет собой СН или один из W₁, W₂, W₃ и W₄ представляет собой N, а другие представляют собой СН;

R¹ выбран из группы, состоящей из H; -C₁₋₄алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена; и галогена (например, F или Cl);

R² выбран из группы, состоящей из H; фенила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена (например, F или Cl); и -C₁₋₆алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена (например, F или Cl); и

R³ представляет собой формулу (VI)

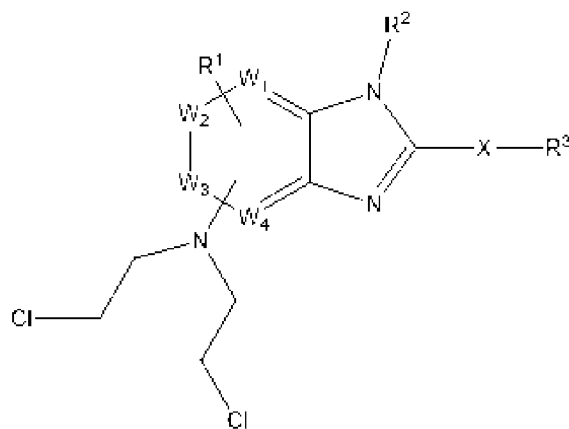


(VI)

где, R^c и R^d каждый независимо выбран из группы, состоящей из H, -C₁₋₆алкила, -C(O)C₁₋₆алкила и -CH₂-фенила, где указанный алкил или указанный фенил необязательно замещен 1, 2 или 3 группами, выбранными из галогена (например, R^c и R^d оба представляют собой H); и

R^g выбран из группы, состоящей из H и -C₁₋₆алкил, где указанный алкил необязательно замещен 1, 2 или 3 группами, выбранными из галогена (например, R^g представляет собой H).

Более совершенные метаболитные соединения могут быть использованы для лечения. Таким образом, изобретение в дальнейшем обеспечивает соединение формулы (I) или его соль или сольват



(I)

где,

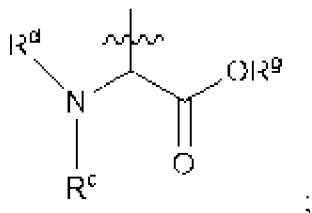
X представляет собой C₁₋₆алкилен;

W_1 , W_2 , W_3 и W_4 каждый представляет собой СН или один из W_1 , W_2 , W_3 и W_4 представляет собой N, а другие представляют собой СН;

R^1 выбран из группы, состоящей из H; $-C_{1-4}$ алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена; и галогена;

R^2 выбран из группы, состоящей из H; фенила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена; и $-C_{1-6}$ алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена;

R^3 представляет собой формулу (VI)



(VI)

где, R^c и R^d каждый независимо выбран из группы, состоящей из H, $-C_{1-6}$ алкила, $-C(O)C_{1-6}$ алкила и $-CH_2$ -фенила, где указанный алкил или указанный фенил необязательно замещен 1, 2 или 3 группами, выбранными из галогена; и

R^g выбран из группы, состоящей из H и $-C_{1-6}$ алкила, где указанный алкил необязательно замещен 1, 2 или 3 группами, выбранными из галогена,

для применения в качестве лекарственного препарата, например, для лечения злокачественного новообразования, выбранного из группы, состоящей из множественной миеломы, остеосаркомы, рака молочной железы, рака легких, рака яичников, лейкоза и лимфомы; например, множественной миеломы, острого миелоидного лейкоза или лимфомы.

Предпочтительные варианты осуществления этих соединений для применения в качестве лекарственного препарата описаны выше в связи с другими аспектами изобретения.

В определенных предпочтительных вариантах осуществления изобретения, дальнейший, более совершенный метаболит представляет собой:

(2*S*)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропановую кислоту (Соединение согласно примеру 17);

(*S*)-2-амино-4-(5-(бис(2-хлорэтил)амино)-1-метил-1*H*-бензо[*d*]имидазол-2-ил)бутановую кислоту (Соединение согласно примеру 18);

Этил (2*S*)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноат (Соединение согласно примеру 38)

(2*S*)-2-Амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-фенил-бензимидазол-2-ил]бутановую кислоту (Соединение согласно примеру 41); или

(2*S*)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлор-1,1,2,2-тетрадейтерио-этил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутановую кислоту (Соединение согласно примеру 49);

или его соль.

Метаболиты, описанные в настоящей заявке, могут быть выделены из клеток, обработанных одним или несколькими соединениями формулы (I) и/или могут быть получены с помощью стандартных методов органической химии. Типичные процедуры получения метаболитов согласно настоящему изобретению описаны в разделе «Примеры». Во избежание неопределенности, метаболиты, описанные в настоящей заявке, представляют собой дополнительные примеры соединений согласно настоящему изобретению и могут быть использованы в форме композиции и/или в качестве лекарственных средств таким же образом, как описано в настоящей заявке для других соединений формулы (I).

Следующие определения применяются к терминам, используемым в настоящем описании, если иное не ограничено в конкретных случаях.

Как используется в настоящей заявке, термин "алкил" означает насыщенные углеводородные группы как с прямой, так и с разветвленной цепью. Примеры алкильных групп включают метил, этил, *n*-пропил, *изо*-пропил, *n*-бутил, *трет*-бутил, *изо*-бутил, *втор*-бутил, пентил и гексил. Среди неразветвленных алкильных групп предпочтительными являются метильная, этильная, *n*-пропильная, *изо*-пропильная и *n*-бутильная группы. Среди разветвленных алкильных групп можно упомянуть *трет*-бутильную, *изо*-бутильную, 1-этилпропильную и 1-этилбутильную группы.

Как используется в настоящей заявке, термин "циклоалкил" обозначает насыщенную группу в кольцевой системе. Примеры циклоалкильных групп включают циклопропил, циклобутил, циклопентил и циклогексил.

Как используется в настоящей заявке, термин "галоген" обозначает фтор, хлор, бром или йод. Фтор, хлор и бром являются предпочтительными, а фтор и хлор - особенно предпочтительными.

Как используется в настоящей заявке, термин "гетероарил, содержащий 1, 2, 3 или 4 атома азота, кислорода или серы" обозначает ароматическую циклическую группы, состоящую из атомов углерода, в которой один, два, три или четыре атома углерода заменены одним, двумя, тремя или четырьмя гетероатомами, независимо выбранными из азота, кислорода и серы (предпочтительно азота и серы). Примеры 5-членного гетероарила, содержащего 1, 2 или 3 атома азота и/или серы, включают тиофен, тиазол, изотиазол, пиррол, пирролин, пиразол, пиразолин, имидазол, имидазолин, триазол и тиадиазол.

Фармацевтические композиции

Соединения, композиции и фармацевтические композиции в соответствии с изобретением могут применяться для лечения и/или профилактики злокачественного новообразования, уменьшения роста опухоли и/или уничтожения опухолевых клеток. Таким образом соединение согласно изобретению можно применять для излечения и/или продления выживаемости пациентов, страдающих от злокачественных новообразований. Настоящее изобретение особенно полезно для лечения и/или профилактики карциномы, саркомы, миеломы, лейкоза, лимфомы или злокачественного новообразования смешанного типа. Например, множественная миелома, остеосаркома, рак молочной железы, рак легких,

рак яичников, лейкоз и лимфома.

Несмотря на то, что соединение в соответствии с изобретением можно вводить отдельно, является предпочтительным, чтобы оно присутствовало в композиции и, в особенности, в фармацевтической композиции. Фармацевтические композиции включают композиции, пригодные для перорального, парентерального (включая подкожное, внутривенное, внутримышечное, внутрисосудистое (болус или инфузию), интравитреальное и интрамедуллярное), внутрибрюшинное, трансмукозальное, трансдермальное, ректальное и местное (включая дермальное, буккальное, сублингвальное и внутриглазное) введения, хотя наиболее подходящий путь может зависеть, например, от состояния и нарушения субъекта, подвергаемого лечению.

Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению, подходящие для перорального введения, могут быть представлены в виде отдельных единиц, таких как капсулы, облатки или таблетки, каждая из которых содержит заранее определенное количество активного компонента; в виде порошка или гранул; в виде раствора или суспензии в водной жидкости или неводной жидкости; или в виде жидкой эмульсии типа «масло в воде» или жидкой эмульсии типа «вода в масле». Соединение согласно изобретению также может быть представлено в виде болуса, электуария или пасты. Различные фармацевтически приемлемые носители и их лекарственные формы описаны в монографиях о стандартных лекарственных формах, например, Remington's Pharmaceutical Sciences под ред. E. W. Martin. См. также Wang, Y. J. и Hanson, M. A., Journal of Parenteral Science and Technology, технический отчет № 10, доп. 42:2S, 1988.

Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению, подходящие для парентерального введения, включают водные и неводные стерильные растворы для инъекций, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостатики и растворенные вещества, которые придают лекарственной форме изотоничность по отношению к крови предполагаемого реципиента; и водные и неводные стерильные суспензии, которые могут включать суспендирующие агенты и загустители. Предпочтительно лекарственные формы могут быть представлены в контейнерах с единичной или делимой дозировкой, например, в запаянных ампулах и флаконах. Лекарственная форма может храниться в сублимированном (лиофилизированном) состоянии, требующем только добавления стерильного жидкого носителя, например, физиологического раствора или воды для инъекции, непосредственно перед применением. Экстемпоральные инъекционные и инфузионные растворы и суспензии могут быть приготовлены из стерильных порошков, гранул или других безводных композиций. Примеры композиций для парентерального введения включают растворы или суспензии для инъекций, которые могут содержать, например, подходящие нетоксичные, парентерально приемлемые растворенные вещества, разбавители или растворители, такие как маннит, 1,3-бутандиол, вода, раствор Рингера, изотонический раствор хлорида натрия, или другие подходящие диспергирующие или смачивающие и суспендирующие агенты, в том числе синтетические моно- или диглицериды и жирные кислоты, включая олеиновую

кислоту или Cremaphor.

Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению, подходящие для назального, аэрозольного или ингаляционного введения, включают растворы в солевом растворе, которые могут содержать, например, бензиловый спирт или другие подходящие консерванты, стимуляторы абсорбции для повышения биодоступности и/или другие солюбилизующие или диспергирующие агенты, такие как средства, известные в данной области техники.

Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению, подходящие для ректального введения, могут быть представлены в виде суппозитория с обычными носителями, такими как масло какао, синтетические сложные эфиры глицеридов или полиэтиленгликоль. Указанные носители, как правило, являются твердыми при обычных температурах, но разжижаются и/или растворяются в ректальной полости с высвобождением лекарственного средства.

Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению, подходящие для местного введения в ротовую полость, например, буккально или сублингвально, включают пастилки для рассасывания, содержащие активный компонент в ароматизированной основе, такой как сахароза и аравийская камедь или трагакантовая камедь, и пастилки, содержащие активный компонент в такой основе, как желатин и глицерин или сахароза и аравийская камедь. Примеры композиций для местного введения включают носитель для местного применения, такой как Plastibase (минеральное масло, желатинизированное полиэтиленом).

Предпочтительные композиции, содержащие разовую дозу, являются такими, которые содержат поисковую дозу или терапевтическую дозу, или ее соответствующую часть, соединения согласно изобретению.

В предпочтительных вариантах осуществления изобретения композиция в соответствии с изобретением состоит в основном из соединения согласно изобретению и по меньшей мере одного фармацевтически приемлемого носителя.

Следует понимать, что помимо ингредиентов, в особенности указанных выше, композиции для применения согласно настоящему изобретению могут включать другие агенты, общепринятые в данной области техники для композиции данного типа.

Композиции в соответствии с изобретением могут содержать одно или несколько дополнительных терапевтических средств. Примеры дополнительных терапевтических средств, которые могут присутствовать в композиции согласно настоящему изобретению включают, но не ограничиваясь только ими, стероиды (преднизон и дексаметазон), ингибиторы контрольных точек (например, CTLA-4 ингибиторы и PD-1/PD-L1 ингибиторы), ингибиторы ядерного транспорта (например, селинексор), антиапоптотические ингибиторы (например, венетоклакс), адоптивную клеточную терапию (например, терапию лимфоцитами, инфильтрирующими опухоль (TIL), клеточную терапию клетками-киллерами (NK), терапию с использованием Т-клеток с химерными антигенными рецепторами (CAR) и терапию с использованием

сконструированных рецепторов Т-клеток), привлекающие Т-клетки биспецифические активаторы (BiTE), иммуномодулирующие лекарственные средства на основе имида (IMiD) (например, талидомид, леналидомид и помалидомид), ингибиторы протеасом (PI) (например, бортезомиб, карфилзомиб, иксазомиб и маризомиб), ингибиторы гистондеацетилазы (HDAC) (например, панобиностат), конъюгат пептида с лекарственным средством (PDC), отличающийся от соединения согласно настоящему изобретению (например, мелфлуфен), и общепринятую химиотерапию, такую как алкиляторы (например, мелфалан, циклофосфамид) и интеркаляторы ДНК (например, доксорубин).

Лечения

Как указано выше, соединения согласно настоящему изобретению представляют собой конъюгаты пептидов с лекарственными средствами (PDC). Изобретение обеспечивает соединение в соответствии с изобретением или композицию, содержащую соединение в соответствии с изобретением вместе с фармацевтически приемлемым носителем, для применения в качестве лекарственного препарата.

В особенности, соединения и композиции согласно настоящему изобретению находят применение для лечения и/или профилактики злокачественного новообразования. Конкретными примерами злокачественных новообразований, которые можно лечить или предотвращать путем введения соединения или композиции согласно изобретению, включают карциному, саркому, миелому, лейкоз, лимфому или злокачественное новообразование смешанного типа. Примеры злокачественных новообразований, которые можно лечить или предотвращать путем введения соединения или композиции согласно изобретению, включают, но не ограничиваясь только ими, гематологические злокачественные новообразования/системы крови, такие как лейкоз (например, острый лимфобластный лейкоз, включая острый лимфобластный лейкоз у взрослых и у детей; острый миелоидный лейкоз, включая острый миелоидный лейкоз у взрослых и у детей; хронический лимфоцитарный лейкоз, такой как В-клеточный хронический лимфоцитарный лейкоз; хронический миелоидный лейкоз; и волосатоклеточный лейкоз); лимфома (например, СПИД-ассоциированная лимфома; кожная Т-клеточная лимфома; лимфома Ходжкина, включая лимфому Ходжкина у взрослых и у детей и лимфому Ходжкина во время беременности; неходжкинская лимфома, включая неходжкинскую лимфому у взрослых и у детей и неходжкинскую лимфому во время беременности; фунгоидный микоз; синдром Сезари; макроглобулинемия Вальденстрема; первичная медиастинальная В-крупноклеточная лимфома; лимфома из клеток зоны мантии; диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома; и первичная лимфома центральной нервной системы); и другие гематологические злокачественные новообразования (например, хронические миелопролиферативные нарушения; множественная миелома/новообразования из плазматических клеток; миелодиспластические синдромы; и миелодиспластические/миелопролиферативные нарушения); остеосаркому, рак яичников, рак молочной железы; рак легких; глиобластому; ретинобластому и метастазы вышеуказанных злокачественных новообразований.

Изобретатели настоящего изобретения обнаружили, что соединения согласно настоящему изобретению являются особенно цитотоксичными по отношению к гематологическим злокачественным клеткам. Таким образом, соединения согласно настоящему изобретению являются особенно полезными для лечения или предотвращения одного или нескольких вышеуказанных гематологических злокачественных новообразований.

Кроме того, соединения также могут применяться для лечения солидных опухолей. Соединения и композиции согласно изобретению также находят применение в способе лечения или предотвращения заболевания или нарушения, при этом указанный способ включает стадию введения соединения согласно изобретению или композиции согласно изобретению субъекту, который в этом нуждается. Таким образом, соединение или композиция согласно изобретению может вводиться субъекту, страдающему или имеющему риск развития злокачественного новообразования, в особенности гематологического злокачественного новообразования.

Соединения согласно изобретению также находят применение для приготовления лекарственного средства, в особенности применение для приготовления лекарственного средства для введения субъекту, страдающему или имеющему риск развития злокачественного новообразования, в особенности гематологического злокачественного новообразования.

Количество соединения согласно изобретению, необходимое для достижения терапевтического эффекта, будет изменяться в зависимости от конкретного пути введения и характеристик субъекта, подвергаемого лечению, например, вида, возраста, веса, пола, медицинских состояний, конкретного заболевания или состояния и его тяжести, и других релевантных медицинских и физических факторов. Квалифицированный специалист в данной области техники может легко определить и вводить эффективное количество соединения согласно изобретению, необходимое для лечения или профилактики заболевания или состояния.

Соединение согласно изобретению или его соль и/или сольват может вводиться ежедневно (включая несколько раз в сутки), через день или раз в три дня, еженедельно, один раз в две, три или четыре недели или даже в более высокой однократной дозе, в зависимости от субъекта и заболевания или нарушения, подвергаемого лечению. Предпочтительно, соединение согласно изобретению, или метаболит согласно изобретению его или соль и/или сольват (исключая массу любого противоиона или растворителя), может вводиться в количестве от приблизительно 1 мг до 150 мг на введение. Например, 1 мг, 2 мг, 3 мг, 5 мг, 10 мг, 15 мг, 20 мг, 25 мг, 40 мг, 50 мг, 60 мг, 70 мг, 80 мг, 90 мг, 100 мг, 110 мг, 120 мг, 130 мг, 140 мг или 150 мг. Альтернативно, соединение согласно изобретению или его соль и/или сольват (исключая массу любого противоиона или растворителя), может вводиться в единичной высокой дозе. Единичная высокая доза может составлять приблизительно 150 мг - 800 мг. Например, 150 мг, 200 мг, 300 мг, 400 мг, 500 мг, 600 мг, 700 мг или 800 мг.

Несмотря на то, что соединение согласно изобретению может быть использовано в качестве единственного активного компонента в настоящем изобретении, также возможно его применение в комбинации с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами, и применение таких комбинаций обеспечивает один из предпочтительных вариантов осуществления изобретения. Такими дополнительными терапевтическими средствами могут быть средства, пригодные для лечения или профилактики злокачественного новообразования, или другие фармацевтически активные материалы. Такие средства известны в данной области техники. Примеры дополнительных терапевтических средств, подходящих для применения в настоящем изобретении, описаны в настоящей заявке.

Одно или несколько дополнительных терапевтических средств могут использоваться одновременно, последовательно или раздельно от введения соединения согласно изобретению. Индивидуальные компоненты таких комбинаций могут вводиться отдельно в разное время в течение курса терапии или одновременно в разделенных или единых формах комбинации.

Предпочтительными композициями для применения в виде единичных доз в соответствии с изобретением являются композиции, содержащие эффективную дозу или ее соответствующую часть соединения согласно изобретению.

Наборы

В настоящем изобретении предложен набор, содержащий соединение формулы (I), один или несколько фармацевтически приемлемых носителей, и необязательно один или несколько дополнительных терапевтических средств. Примеры таких дополнительных терапевтических средств включают те, которые описаны в настоящей заявке, в качестве подходящих для применения в настоящем изобретении и необязательно присутствующих в фармацевтической композиции в соответствии с изобретением в качестве дополнительного терапевтического средства.

Наборы согласно настоящему изобретению находят применение для лечения и/или профилактики злокачественных новообразований, в особенности гематологических злокачественных опухолей.

В определенных вариантах осуществления изобретения набор включает один или несколько контейнеров и также может включать оборудование для взятия образцов, например, бутылки, пакеты (такие как пакеты для внутривенных жидкостей), флаконы, шприцы и пробирки. Другие компоненты могут включать иглы, разбавители, промывочные реагенты и буферы. Кроме того, набор может включать по меньшей мере один контейнер, содержащий фармацевтически приемлемый органический растворитель или фармацевтически приемлемый буфер, такой как физиологический раствор с фосфатным буфером, раствор Рингера и раствор декстрозы.

Предпочтительно, набор согласно изобретению содержит инструкции, например, инструкции, которые предписывают пользователю смешивать указанное количество соединения или композиции согласно настоящему изобретению с указанным количеством

физиологически приемлемого водного растворителя или разбавителя, фармацевтически приемлемого органического растворителя и/или необязательно одного или нескольких дополнительных терапевтических средств. Такие инструкции могут также содержать указания по условиям хранения и/или инструкции по введению.

Во избежание неопределенности, соединение или композицию согласно настоящему изобретению, необязательный физиологически приемлемый водный растворитель или разбавитель, необязательный один или несколько фармацевтически приемлемых органических растворителей, и необязательный один или несколько дополнительных терапевтических средств присутствуют в наборе в соответствии с настоящим изобретением в форме и количестве, подходящем для приготовления фармацевтического препарата в соответствии с изобретением. Квалифицированный специалист в данной области техники легко может определить количество соединения или композиции согласно настоящему изобретению, физиологически приемлемого водного растворителя или разбавителя, фармацевтически приемлемого органического растворителя, и необязательного одного или нескольких дополнительных терапевтических средств, подходящим для применения в соответствии с настоящим изобретением.

Эквиваленты

Изобретение описано в настоящей заявке широко и в общих чертах. Квалифицированные специалисты в данной области техники легко поймут, что все параметры, величины, материалы и/или конфигурации, описанные в настоящей заявке, являются примерными и что фактические параметры, величины, материалы и/или конфигурации будут зависеть от специфического применения или применений, для которых используют сведения, раскрытые в настоящем изобретении. Квалифицированные специалисты в данной области техники смогут найти или определить с помощью обычных экспериментов множество эквивалентов конкретных вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящей заявке. Таким образом, следует понимать, что варианты осуществления изобретения, изложенные выше, представлены только в качестве примера и что в пределах объема прилагаемой формулы изобретения и их эквивалентов, изобретение может быть осуществлено иначе, чем конкретно описано и заявлено. Настоящее изобретение относится к каждому отдельному характерному признаку, системе, изделию, материалу, набору и/или способу, описанным в настоящей заявке. Кроме того, в объем настоящего изобретения включена любая комбинация двух или более таких характерных признаков, систем, изделий, материалов, наборов и/или способов, если такие характерные признаки, системы, изделия, материалы, наборы и/или способы не являются взаимно противоречивыми. Кроме того, каждый из более узких видов и подгрупповых групп, подпадающих под общее раскрытие, также является частью настоящего изобретения. Это включает в себя общее определение в соответствии с изобретением с условием или отрицательным ограничением, исключаящим любой объект из вида, независимо от того, указывается или нет исключенный материал конкретно в настоящем изобретении.

Включение путем ссылки

Содержание статей, патентов и патентных заявок, а также всех других документов и информации в электронном виде, упомянутых или процитированных в настоящей заявке, включено в нее путем ссылки в полном объеме в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация была специально и индивидуально указана для включения путем ссылки. Заявитель оставляет за собой право физически включать в данную заявку любые и все материалы и информацию из любых таких статей, патентов, патентных заявок или других физических и электронных документов.

Последующие примеры иллюстрируют изобретение.

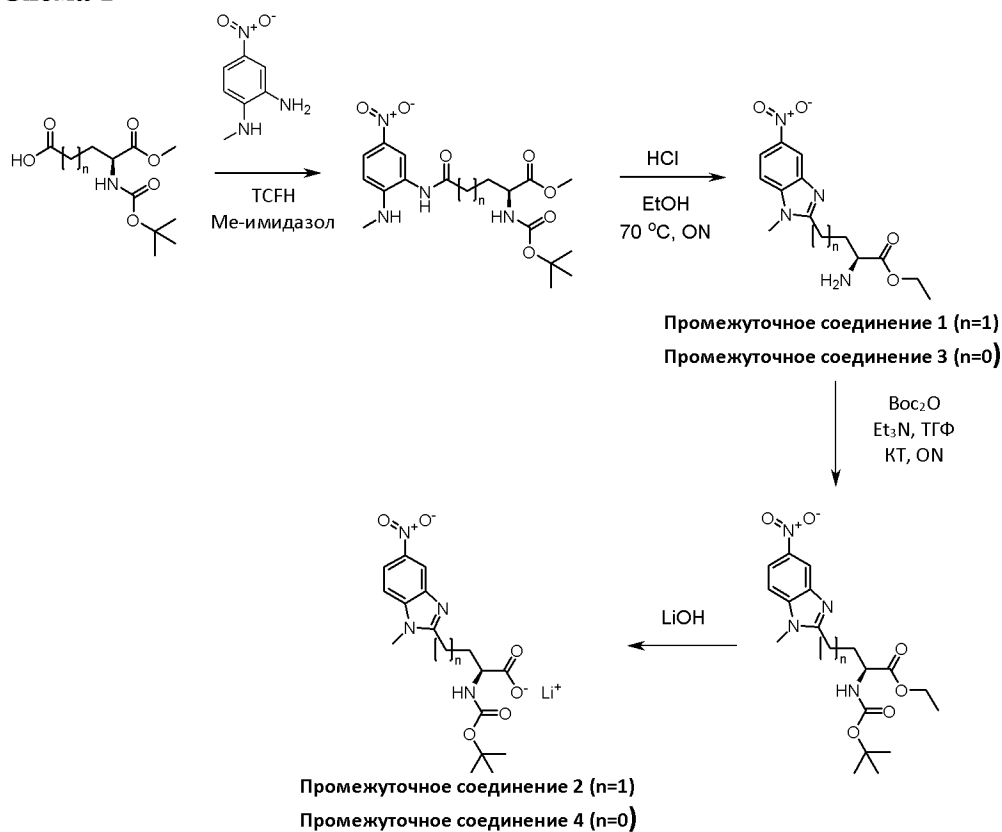
Примеры:

Соединения из примеров:

Соединения согласно изобретению могут быть получены в соответствии с методами, известными квалифицированным специалистам в данной области техники. Другие схемы реакций, а также различные растворители, температуры и другие условия реакций, легко могут быть разработаны квалифицированными специалистами в данной области техники.

Промежуточные соединения 1-4 были синтезированы в соответствии с общей Схемой 1. Сначала, осуществляли реакцию амидирования между соответствующей защищенной аминокислотой и анилином. Полученный продукт циклизировали в кислых условиях с образованием бензимидазольного гетероцикла и последующих промежуточных соединений **1** ($n=1$) и **3** ($n=0$). Защита ВОО с последующим омылением позволила получить оба промежуточных соединения **3** ($n=1$) и **4** ($n=0$).

Схема 1

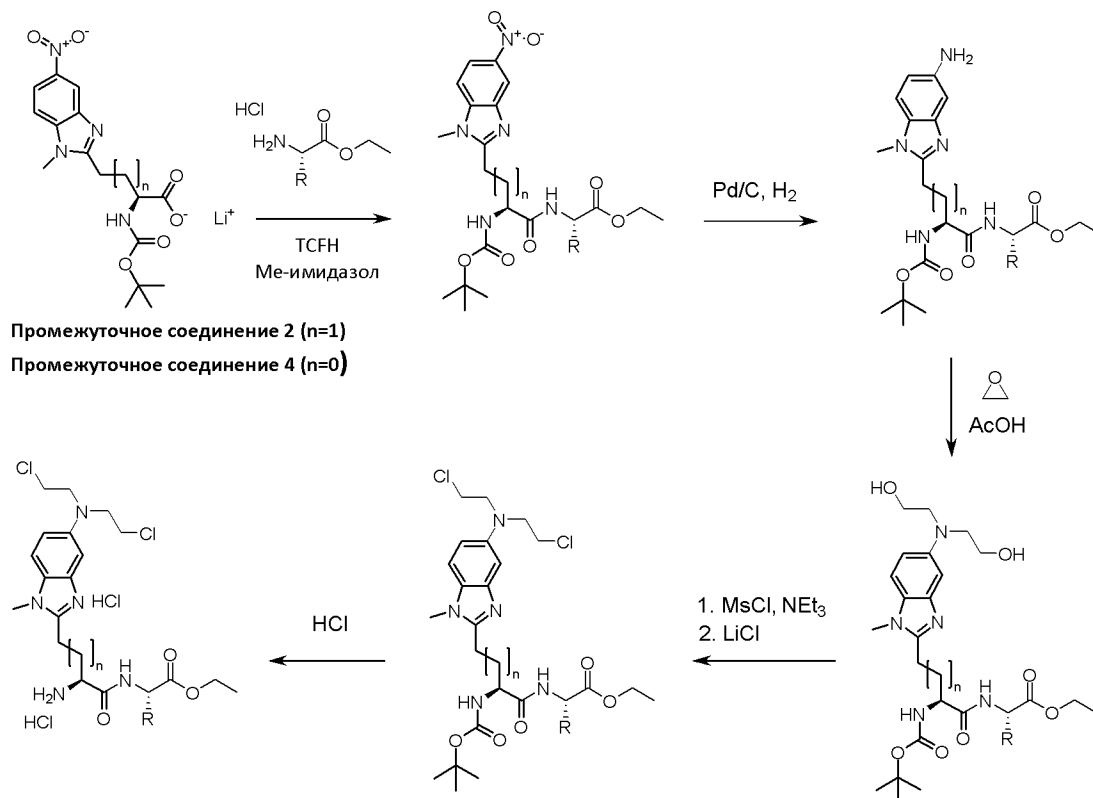


Пептидное сочетание с TCFH между промежуточным соединением (2 или 4) и

соответствующей защищенной аминокислотой обеспечивало получение желательного дипептида. Восстановление нитрогруппы проводили Pd/C в атмосфере водорода под давлением. Образовавшийся анилин алкилировали в кислых условиях этиленоксидом. Мезилирование с последующим вытеснением хлора позволило получить азотистый ипритный компонент. В завершение, удаление ВОС защищенной группы с помощью HCl или ТФУ позволило получить желательные аналоги (Схема 2).

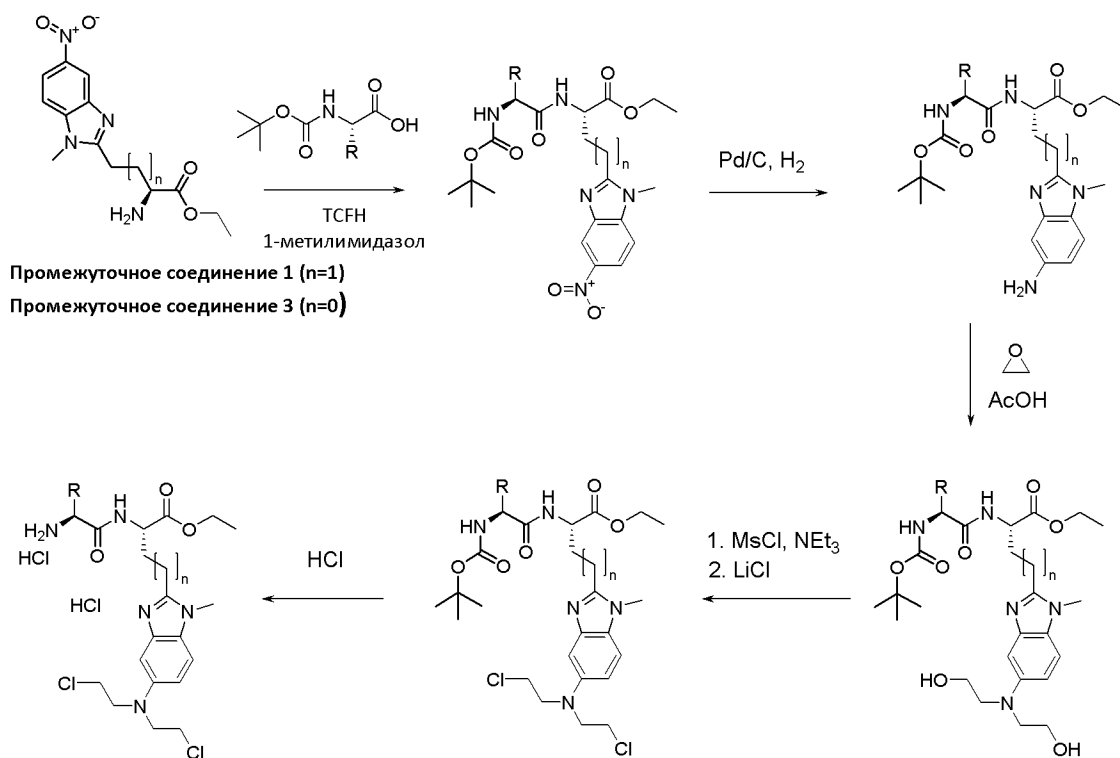
Промежуточные соединения 2 и 4 также могут быть синтезированы в соответствии со Схемой 13.

Схема 2



Соединения из примеров 1-6 были синтезированы в соответствии с путем синтеза, представленным на Схеме 2. Соединения из примеров 13-15, 19, 20, 22-36, 39, 40-42 и 44-51 были синтезированы, как подробно описано ниже. Аналогичная стратегия, как описано выше, применялась для синтеза Соединений из примеров 7-12, которые имеют бензимидазольный заместитель на С-конце дипептида (Схема 3). Соединения из примеров 16, 21, 37 и 43 были синтезированы, как подробно описано ниже.

Схема 3



Материалы и Методы

Общие методы А

Препаративную ВЭЖХ осуществляли на ВЭЖХ системе Gilson, используя колонку Kinetex XB C₁₈ (5 мкм, 21×100 мм) с 0,1% ТФУ в MilliQ H₂O/CH₃CN в качестве подвижной фазы (кислые условия) (поток 25 мл/мин, градиент в течение 15 минут). Фракции собирали на основании УФ-сигнала. Анализы осуществляли на системе Agilent Series 1100 двумя методами, используя либо колонку Kinetex XB C₁₈ (2,6 мкм, 3,0×50 мм) с 0,1% ТФУ в MilliQ H₂O/CH₃CN в качестве подвижной фазы (кислые условия) или на колонке Kinetex EVO C₁₈ (2,6 мкм, 3,0×50 мм) с 10 мМ NH₄HCO₃ (pH10) в MilliQ H₂O/CH₃CN в качестве подвижной фазы (щелочные условия) (поток 1 мл/мин). Осуществляли масс-спектрометрию с ионизацией электрораспылением (ИЭР-МС), используя жидкостный хроматограф/масс-селективный детектор (MSD) Agilent 1100 Series для получения псевдомолекулярных ионов [M+H]⁺ целевых молекул.

Спектры ядерного магнитного резонанса (ЯМР) регистрировали при 25°C на приборе Varian Inova 600 МГц, оснащенный 5 мм зондом тройного резонанса.

Общие методы В

Общие методы В использовали для определенных примеров. Флэш-хроматографию осуществляли на силикагеле 60А, 40-63 мкм. Препаративную ВЭЖХ осуществляли на системе Gilson, оборудованной УФ-детектором, с использованием колонки ACE 5 C₈ Prep, 100×21,2 мм. Аналитическую ВЭЖХ-МС осуществляли на жидкостном хроматографе/масс-селективном детекторе (MSD) серии Agilent 1100 (одиночный квадрупольный), оснащенный интерфейсом электрораспыления и УФ-детектором на

диодной матрице. Анализы осуществляли двумя методами, используя либо колонку ACE 3 C₈ (3,0×50 мм) с градиентом ацетонитрила в 0,1% водной ТФУ в течение 3 минут и поток 1 мл/мин, или колонку Xbridge C₁₈ (3,0×50 мм) с градиентом ацетонитрила в 10 мМ бикарбонате аммония в течение 3 минут и поток 1 мл/мин. Спектры ¹H-ЯМР регистрировали на приборе Bruker 400 МГц при 25 °С.

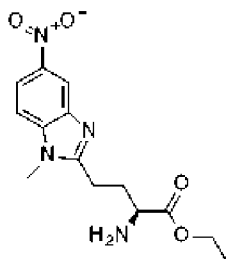
Общепринятые общие методы

Соединения из примеров, полученные в виде гидрохлоридных солей, HCl (например, 4M в 1,4-диоксане) добавляли к объединенным чистым фракциям, полученным в ходе препаративной хроматографии, чтобы заменить трифторуксусную кислоту на HCl.

Названия соединений были даны с помощью программного обеспечения от Biovia, Dotmatics и PerkinElmer (ChemDraw). Кроме того, для коммерческих исходных материалов и реагентов использовались коммерческие названия или тривиальные наименования.

Спектры обрабатывали, используя MestReNova, поставляемой компанией Mestrelab Research S.L. Химические сдвиги записывали в виде част. на млн (δ), используя остаточный растворитель в качестве внутреннего стандарта. Мультиплетности пиков, представленные в Гц, выражены следующим образом: s, синглет; d, дублет; dd, дублет дублетов; ddd, дублет дублета дублетов; t, триплет; dt, дублет триплетов; q, квартет; dq, дублет квартетов; p, пентет; h, гептет; m, мультиплет; br s, широкий синглет. Один слабопольный протон (приблизительно 14,5-14,9 част. на млн) иногда выходил за пределы диапазона и не всегда был включен в мультиплетный отчет.

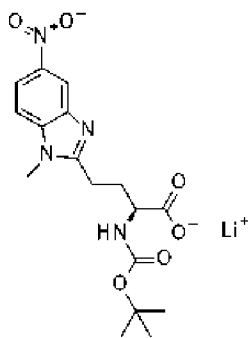
Промежуточное соединение 1: Этил (2S)-2-амино-4-(1-метил-5-нитробензимидазол-2-ил)бутаноат



К раствору (4S)-4-(*трет*-бутоксикарбониламино)-5-метокси-5-оксо-пентановой кислоты (7,46 г, 28,6 ммоль), N1-метил-4-нитро-бензол-1,2-диамина (5,01 г, 30,0 ммоль), 1-метилимидазола (4,78 мл, 60,0 ммоль) в MeCN (220 мл) добавляли [хлор(диметиламино)метилен]-диметил-аммонийгексафторфосфат (8,81 г, 31,4 ммоль) при комнатной температуре [незначительное выделение тепла]. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа и летучие вещества упаривали при пониженном давлении. Неочищенное вещество растворяли в ДХМ (400 мл) и промывали раствором 2 н. HCl:вода 1:4 (200 мл). Органическую фазу отделяли, высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали, получая коричневое твердое вещество. Неочищенный продукт, метил (2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-5-[2-(метиламино)-5-нитро-анилино]-5-оксо-пентаноат (13,4 г, 28,4 ммоль, выход: 99%), использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 87%; МС (ИЭР+) m/z=354 [M+H-tBu]⁺.

К раствору метил (2*S*)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-5-[2-(метиламино)-5-нитро-анилино]-5-оксо-пентаноата (11,7 г, 28,5 ммоль) в EtOH (400 мл) добавляли хлористый водород (12,0 моль/л, 42,3 мл, 507 ммоль) и смесь перемешивали при 70 °С в течение ночи. Реакционную смесь упаривали при пониженном давлении и добавляли воду (500 мл). Водную фазу промывали EtOAc (2×200 мл). Органические фазы отбрасывали. Водную фазу смешивали с EtOAc (500 мл) и нейтрализовали с твердым K₂CO₃ до получения значения pH 9-10. Водную фазу экстрагировали с помощью EtOAc (2×300 мл). Органические вещества высушивали над MgSO₄, фильтровали и упаривали при пониженном давлении, получая неочищенный продукт, этил (2*S*)-2-амино-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)бутаноат (Промежуточное соединение 1), которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 83%; МС (ИЭР+) $m/z=307$ [M+H]⁺.

Промежуточное соединение 2: Литий;(2*S*)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)бутаноат

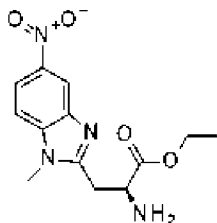


К раствору неочищенного этил (2*S*)-2-амино-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)бутаноата (Промежуточное соединение 1) (5,73 г, 18,7 ммоль) в ТГФ (100 мл) добавляли триэтиламин (3,13 мл, 22,4 ммоль) и ди-*трет*-бутил дикарбонат (4,49 г, 20,6 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Неочищенное вещество концентрировали при пониженном давлении, растворяли с EtOAc (200 мл) и промывали 0,5 н. HCl (200 мл). Фазы разделяли и водную фазу экстрагировали с помощью EtOAc (2×50 мл). Органические вещества высушивали над MgSO₄, фильтровали и упаривали при пониженном давлении. Добавляли Et₂O (150 мл) и твердое вещество начинало осаждаться. Колбу охлаждали до 0 °С и оставляли отстаиваться в течение 30 минут. Твердое вещество собирали путем фильтрации и промывали холодным Et₂O (3×50 мл). Твердое вещество высушивали при пониженном давлении, получая этил (2*S*)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)бутаноат (4,70 г, 11,6 ммоль, выход за 3 стадии: 55%), в виде светло-желтого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 96%, МС (ИЭР+) $m/z=407$ [M+H]⁺.

К раствору этил (2*S*)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)бутаноата (1,47 г, 3,62 ммоль) в ТГФ (20 мл) и MeOH (20 мл) добавляли воду (5 мл) и LiOH·H₂O (0,159 г, 3,80 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Неочищенный продукт, литий;(2*S*)-2-(*трет*-

бутоксикарбониламино)-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)бутаноат (Промежуточное соединение 2), использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 100%; МС (ИЭР+) $m/z=379$ [M(карбоновая кислота)+H]⁺.

Промежуточное соединение 3: Этил (2S)-2-амино-3-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)пропаноат

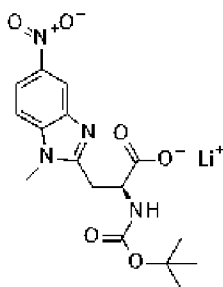


Промежуточное соединение 3 синтезировали согласно такой же методике, что и Промежуточное соединение 1, но используя в качестве исходного вещества (3S)-3-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-метокси-4-оксо-бутановую кислоту:

Стадия 1: Неочищенный продукт, метил (2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-[2-(метиламино)-5-нитро-анилино]-4-оксо-бутаноат, выделяли в виде коричневого твердого вещества (выход 71%). ВЭЖХ чистота: 71%; $m/z=341$ (M+H-tBu)⁺.

Стадия 2: Этил (2S)-2-амино-3-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)пропаноат (Промежуточное соединение 3) выделяли в виде желто-оранжевого твердого вещества (выход 98%). ВЭЖХ чистота: 91%; $m/z=293$ (M+H)⁺.

Промежуточное соединение 4: Литий;(2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)пропаноат

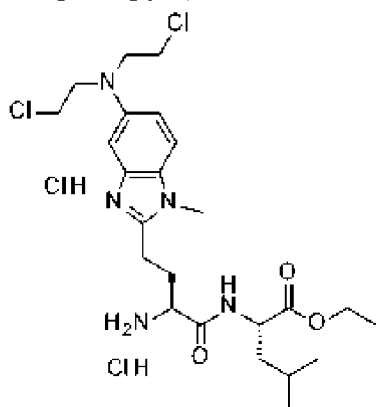


Промежуточное соединение 4 синтезировали согласно такой же методике, что и Промежуточное соединение 2, но используя в качестве исходного вещества этил (2S)-2-амино-3-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)пропаноат (Промежуточное соединение 3).

Стадия 1: Неочищенный продукт, этил (2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)пропаноат, выделяли в виде коричневого твердого вещества (выход 83%). ВЭЖХ чистота: 97%; $m/z=393$ [M+H]⁺.

Стадия 2: Литий;(2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)пропаноат (промежуточное соединение 4) выделяли в виде желто-оранжевого твердого вещества (количественный выход). ВЭЖХ чистота: 91%; $m/z=365$ [M(карбоновая кислота)+H]⁺.

Пример 1: Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 1)



Стадия 1: К раствору этил (2S)-2-амино-4-метил-пентаноата; гидрохлорида (0,581 г, 2,97 ммоль), литий;(2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)бутаноата (Промежуточное соединение 2) (1,04 г, 2,70 ммоль) и 1-метилимидазола (0,452 мл, 5,67 ммоль) в MeCN (30 мл) добавляли [хлор(диметиламино)метилен]-диметил-аммоний;гексафторфосфат (0,834 г, 2,97 ммоль) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Реакционную смесь гасили раствором лимонной кислоты (10% в воде) и летучие вещества упаривали. Неочищенное вещество разводили водой и экстрагировали с помощью EtOAc (x3). Органические вещества высушивали над MgSO₄, фильтровали и упаривали при пониженном давлении. Неочищенное вещество очищали путем хроматографии на силикагеле (ДХМ --> ДХМ/MeOH (10%)), получая этил (2S)-2-[[[(2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат в виде светло-желтой пены (1,27 г, 2,44 ммоль, выход 90%). ВЭЖХ чистота: 96%; МС (ИЭР+) m/z=520 [M+H]⁺.

Стадия 2: Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (1,27 г, 0,00244 моль) растворяли в EtOH (30 мл) и помещали в H-реактор. Добавляли Pd/C (10%, 0,130 г, 0,000122 моль) и реактор герметизировали. Осуществляли продувку азотом. H₂ подавали в реактор под давлением 3 бар и реакционную смесь перемешивали при 35°C в течение 1,5 часа. Водород удаляли с помощью продувки азотом. Катализатор удаляли путем фильтрации через целит. Растворитель упаривали и выделяли неочищенный продукт,

этил (2S)-2-[[[(2S)-4-(5-амино-1-метил-бензимидазол-2-ил)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (0,670 г, 1,37 ммоль, выход 85%), и использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 93%; МС (ИЭР+) m/z=490 [M+H]⁺.

Стадия 3: Этил (2S)-2-[[[(2S)-4-(5-амино-1-метил-бензимидазол-2-ил)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (670 мг, 0,00137 моль) растворяли в уксусной кислоте (5 мл) и добавляли оксиран (2,30 моль/л, 5,95 мл, 0,0137

моль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 часов. Летучие вещества удаляли в вакууме, неочищенное вещество растворяли в ДХМ и промывали насыщенным водным NaHCO_3 . Органический слой промывали водой и соевым раствором, пропускали через разделитель фаз и концентрировали. Неочищенное вещество очищали путем хроматографии на силикагеле, используя ДХМ-->ДХМ/MeOH (10%), и получали этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-4-[5-[бис(2-гидроксиэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (0,340 г, 0,589 ммоль, выход 43%) в виде пепельно-белой пены. ВЭЖХ чистота: 96%; МС (ИЭР+) $m/z=578$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Стадия 4: К раствору этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-4-[5-[бис(2-гидроксиэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноата (340 мг, 0,589 ммоль) и триэтиламин (0,238 г, 2,35 ммоль) в ДХМ (10 мл) добавляли метансульфонил хлорид (0,141 мл, 1,82 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 минут и затем промывали смесью NaHCO_3 (нас.) : вода (2/5) (20 мл), 0,3М HCl (20 мл) и солевой раствор (20 мл). Органическую фазу высушивали над MgSO_4 , фильтровали и упаривали при пониженном давлении.

Неочищенную смесь (мезилированное промежуточное соединение) и хлорид лития (0,374 г, 8,83 ммоль) в ДМФА (10 мл) нагревали до 60 °С в течение 2,5 часов. Реакционную смесь разводили смесью толуола (40 мл) и EtOAc (40 мл), затем промывали соевым раствором (3×50 мл), высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель упаривали, получая неочищенный остаток. Неочищенное вещество очищали путем флэш-хроматографии, используя ДХМ-->ДХМ/MeOH(5%) в качестве элюента. Конечное соединение, этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат, получали в виде светло-желтой пены (0,308 г, 0,481 ммоль, выход 82%). ВЭЖХ мезилированного промежуточного соединения: МС (ИЭР+) $m/z=734$ $[\text{M}+\text{H}]^+$. ВЭЖХ чистота желательного продукта: 96%; МС (ИЭР+) $m/z=614$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

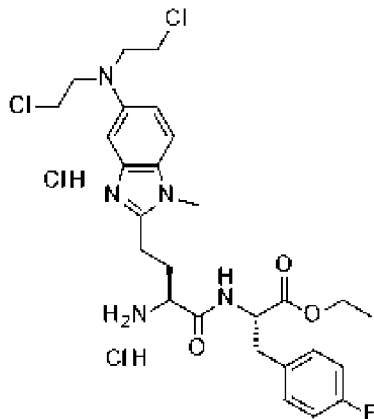
Стадия 5: К раствору этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноата (308 мг, 0,476 ммоль) в EtOH (15 мл) добавляли хлористый водород в диоксане (4 М) (4,00 моль/л, 1,79 мл, 7,14 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Растворители упаривали, получая неочищенный продукт, который перемешивали в Et_2O . Образованное не совсем белое твердое вещество фильтровали, промывали Et_2O (2×10 мл) и промывали EtOAc (2 мл) и высушивали в вакууме, получая конечный продукт, этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 1) в виде не совсем белого твердого вещества (0,170 г, 0,272 ммоль, выход: 57%). ВЭЖХ чистота: 95%, МС (ИЭР+) $m/z=514$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

^1H ЯМР (600 МГц, DMSO-d_6) δ 14,86 (br s, 1H), 9,31 (d, $J=7,0$ Гц, 1H), 8,60 (d, $J=5,3$

Гц, 3H), 7,75 (d, J=9,2 Гц, 1H), 7,15 (dd, J=9,4, 2,4 Гц, 1H), 6,93 (d, J=2,4 Гц, 1H), 4,34-4,27 (m, 1H), 4,15-4,06 (m, 3H), 3,91 (s, 3H), 3,83 (t, J=6,8 Гц, 4H), 3,78 (t, J=6,9 Гц, 4H), 3,43-3,30 (m, 2H), 2,41-2,25 (m, 2H), 1,81-1,71 (m, 1H), 1,64 (ddd, J=13,7, 10,4, 5,1 Гц, 1H), 1,54 (ddd, J=13,8, 9,2, 4,7 Гц, 1H), 1,18 (t, J=7,1 Гц, 3H), 0,92 (d, J=6,6 Гц, 3H), 0,88 (d, J=6,5 Гц, 3H).

Пример 1 также был синтезирован в соответствии с процедурой, описанной для примера 46.

Пример 2: Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метилбензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 2)



Указанное в заглавии соединение получали за 5 стадий, используя метод, описанный в Примере 1.

Стадия 1: Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-(1-метил-5-нитробензимидазол-2-ил)бутаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат (5,14 г, 8,99 ммоль, выход 86%) выделяли в виде белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 99%; МС (ИЭР+) m/z=572 [M+H]⁺.

¹H ЯМР (600 МГц, ДМСО-d₆, присутствие ротамеров) δ 8,44 (d, J=2,3 Гц, 1H), 8,37 (d, J=7,5 Гц, 1H), 8,15 (dd, J=8,9, 2,2 Гц, 1H), 7,75 (d, J=9,0 Гц, 1H), 7,26 (dd, J=8,4, 5,6 Гц, 2H), 7,10-7,01 (m, 3H), 4,51-4,44 (m, 1H), 4,10-4,04 (m, 1H), 4,02 (t, J=7,1 Гц, 2H), 3,79 (s, 3H), 3,06-2,92 (m, 2H), 2,92-2,83 (m, 2H), 2,13-2,02 (m, 2H), 1,37 (s, 8H, главный ротамер), 1,21 (s, 1H, минорный ротамер), 1,08 (t, J=7,1 Гц, 3H).

Стадия 2: Неочищенный продукт этил (2S)-2-[[[(2S)-4-(5-амино-1-метилбензимидазол-2-ил)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат (4,83 г, 0,00892 моль, выход 93%) выделяли в виде светло-желтой пены. Неочищенное вещество использовали непосредственно на следующей стадии. ВЭЖХ чистота: 96%; МС (ИЭР+) m/z=542 [M+H]⁺.

¹H ЯМР (600 МГц, ДМСО-d₆, присутствие ротамеров) δ 8,49 (d, J=7,5 Гц, 1H), 7,28 (dd, J=8,5, 5,7 Гц, 2H), 7,14-7,03 (m, 4H), 6,69 (d, J=2,0 Гц, 1H), 6,53 (dd, J=8,5, 2,1 Гц, 1H), 4,68 (s, 2H), 4,49-4,41 (m, 1H), 4,07-3,98 (m, 3H), 3,58 (s, 3H), 3,07-2,94 (m, 2H), 2,82-2,70 (m, 2H), 2,08-1,98 (m, 1H), 1,98-1,87 (m, 1H), 1,37 (s, 8H, главный ротамер), 1,19 (s, 1H, минорный ротамер), 1,13-1,03 (m, 3H).

Стадия 3: Желательный продукт, этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-4-[5-[бис(2-гидроксиэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат (3,00 г, 4,76 ммоль, выход 54%) выделяли в виде белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 100%, МС (ИЭР+) $m/z=630$ [M+H]⁺.

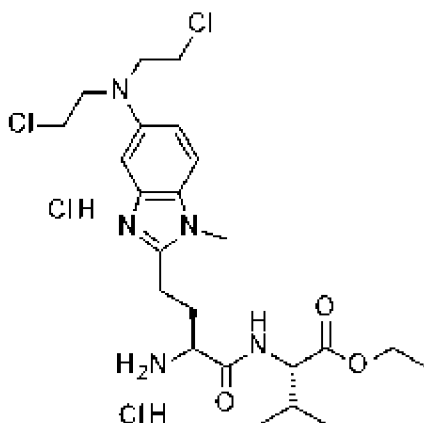
¹H ЯМР (600 МГц, ДМСО-d₆, присутствие ротамеров) δ 8,47-8,43 (m, 1H), 7,30-7,23 (m, 3H), 7,13 (d, J=8,1 Гц, 1H), 7,06 (t, J=8,8 Гц, 2H), 6,82 (d, J=2,4 Гц, 1H), 6,73-6,69 (m, 1H), 4,71 (t, J=5,4 Гц, 2H), 4,46 (q, J=7,4 Гц, 1H), 4,07-3,98 (m, 3H), 3,61 (s, 3H), 3,53 (q, J=6,2 Гц, 4H), 3,42-3,35 (m, 4H), 3,07-2,93 (m, 2H), 2,80-2,74 (m, 2H), 2,09-2,00 (m, 1H), 2,00-1,92 (m, 1H), 1,37 (s, 8H, главный ротамер), 1,20 (s, 1H, минорный ротамер), 1,11-1,05 (m, 3H).

Стадия 4: Неочищенный продукт очищали с помощью автоматической флэш-системы Vichi (колонка 80 г, ДХМ/MeOH, от 100:0 до 92:8), получая этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат (1,60 г, 2,40 ммоль, выход 50%) в виде светло-желтого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 97%, МС (ИЭР+) $m/z=666$ [M+H]⁺.

Стадия 5: Этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 2) (1,46 г, 2,28 ммоль, выход: 95%) выделяли в виде не совсем белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 97%, МС (ИЭР+) $m/z=566$ [M+H]⁺.

¹H ЯМР (600 МГц, ДМСО-d₆) δ 14,75 (br s, 1H), 9,42-9,38 (m, 1H), 8,56 (s, 3H), 7,75 (d, J=9,2 Гц, 1H), 7,35 (dd, J=8,5, 5,6 Гц, 2H), 7,18-7,09 (m, 3H), 6,93 (d, J=2,3 Гц, 1H), 4,52 (q, J=7,1 Гц, 1H), 4,11-4,00 (m, 3H), 3,90 (s, 3H), 3,85-3,82 (m, 4H), 3,79-3,76 (m, 4H), 3,41-3,26 (m, 2H), 3,10-3,01 (m, 2H), 2,36-2,27 (m, 2H), 1,11 (t, J=7,1 Гц, 3H).

Пример 3: Этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-3-метил-бутаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 3)



Указанное в заглавии соединение получали за 5 стадий, используя метод, описанный в Примере 1.

Стадия 1: Этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-(1-метил-5-нитро-

бензимидазол-2-ил)бутаноил]амино]-3-метил-бутаноат (1,27 г, 2,27 ммоль, выход 84%) выделяли в виде светло-желтой пены. ВЭЖХ чистота: 93%, МС (ИЭР+) $m/z=506$ [M+H]⁺.

Стадия 2: Неочищенный продукт, этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-4-(5-амино-1-метил-бензимидазол-2-ил)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-3-метил-бутаноат (1,2 г, выход 97%), получали в виде бежевого твердого вещества, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 97%, МС (ИЭР+) $m/z=476$ [M+H]⁺.

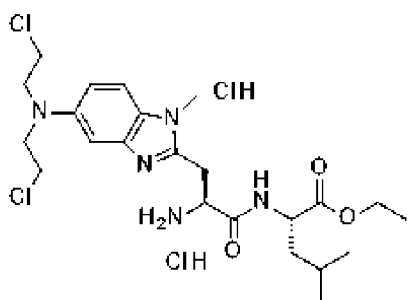
Стадия 3: Этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-4-[5-[бис(2-гидроксиэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-3-метил-бутаноат (1,38 г, выход 98%) получали в виде коричневого масла, которое затвердевало при отстаивании. Соединение использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 98%, МС (ИЭР+) $m/z=564$ [M+H]⁺.

Стадия 4: Желательное соединение, этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-3-метил-бутаноат (836 мг, выход 65%) получали в виде коричневого масла. ВЭЖХ чистота: 93%, МС (ИЭР+) $m/z=600$ [M+H]⁺. ВЭЖХ мезилированного промежуточного соединения: МС (ИЭР+) $m/z=720$ [M+H]⁺.

Стадия 5: К раствору этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-3-метил-бутаноата (93% чистота, 216 мг, 0,334 ммоль) в EtOH (2 мл) добавляли хлористый водород в диоксане (4,00 моль/л, 0,836 мл, 3,34 ммоль) и перемешивали при 25°C в течение 3 часов. Неочищенное вещество упаривали и очищали путем препаративной хроматографии (кислый буфер). Фракции, полученные при осуществлении препаративной хроматографии, хранили на ледяной бане до осуществления анализа ЖХ-МС. Добавляли HCl в диоксане (4M, 1 мл) и образец сразу лиофилизировали, получая этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-3-метил-бутаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 3) (54 мг, выход 28%) в виде светло-розового твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 98%, МС (ИЭР+) $m/z=500$ [M+H]⁺.

¹H ЯМР (600 МГц, ДМСО-d₆) δ 14,78 (s, 1H), 9,07 (d, J=7,3 Гц, 1H), 8,67-8,50 (m, 3H), 7,75 (d, J=9,1 Гц, 1H), 7,15 (d, J=9,2 Гц, 1H), 6,93 (d, J=2,4 Гц, 1H), 4,21 (dd, J=7,3, 5,5 Гц, 2H), 4,18-4,07 (m, 2H), 3,90 (s, 3H), 3,83 (t, J=6,7 Гц, 4H), 3,78 (t, J=6,2 Гц, 4H), 3,33 (dq, J=24,7, 8,5 Гц, 2H), 2,40-2,22 (m, 2H), 2,14 (ddt, J=14,0, 12,5, 6,9 Гц, 1H), 1,19 (t, J=7,1 Гц, 3H), 0,97 (dd, J=6,9, 5,4 Гц, 6H).

Пример 4: Этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-4-метил-пентаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 4)



Указанное в заглавии соединение получали за 5 стадий, используя метод, описанный в Примере 1.

Стадия 1: Этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноат (1,36 г, 2,42 ммоль, выход 89%) выделяли в виде светло-желтой пены. ВЭЖХ чистота: 90%, МС (ИЭР+) $m/z=506$ [M+H]⁺.

Стадия 2: Неочищенный продукт, этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-3-(5-амино-1-метил-бензимидазол-2-ил)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноат (1,47 г, 2,78 ммоль, выход 100%) выделяли в виде желтого масла и использовали непосредственно на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 90%, МС (ИЭР+) $m/z=476$ [M+H]⁺.

Стадия 3: Неочищенный продукт, этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-3-[5-[бис(2-гидроксиэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноат (1,50 г, 2,42 ммоль, выход 86%) получали в виде коричневого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 91%, МС (ИЭР+) $m/z=564$ [M+H]⁺.

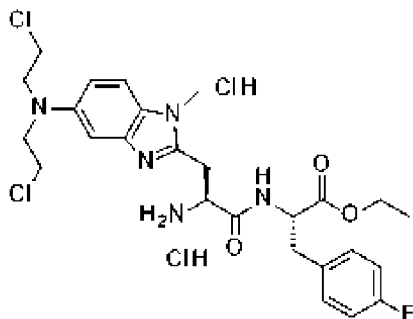
Стадия 4: Этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноат (0,550 г, 0,870 ммоль, выход 33%) выделяли в виде желтого масла. ВЭЖХ чистота: 95%, МС (ИЭР+) $m/z=600$ [M+H]⁺. ВЭЖХ мезилированного промежуточного соединения: МС (ИЭР+) $m/z=720$ [M+H]⁺.

Стадия 5: К раствору этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноата (95%, 200 мг, 0,316 ммоль) в EtOH (15 мл) добавляли хлористый водород в диоксане (4 М) (4,00 моль/л, 1,19 мл, 4,75 ммоль), и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Неочищенное вещество получали путем упаривания растворителей и очищали путем препаративной хроматографии, получая этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-4-метил-пентаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 4) (0,112 г, 0,189 ммоль, выход 60%) в виде белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 100%, МС (ИЭР+) $m/z=500$ [M+H]⁺.

¹H ЯМР (600 МГц, ДМСО-d₆) δ 14,75 (br s, 1H), 9,29 (dd, J=7,8, 2,5 Гц, 1H), 8,86 (s, 3H), 7,78 (d, J=9,2 Гц, 1H), 7,18 (dd, J=9,4, 2,4 Гц, 1H), 6,91 (d, J=2,4 Гц, 1H), 4,49 (d, J=6,8 Гц, 1H), 4,34 (ddd, J=10,0, 7,5, 4,9 Гц, 1H), 4,06-4,01 (m, 2H), 3,99 (s, 3H), 3,90-3,74 (m, 9H),

3,65 (dd, $J=15,4$, 6,6 Гц, 1H), 1,72 (ddd, $J=11,9$, 7,9, 5,9 Гц, 1H), 1,56 (ddd, $J=13,7$, 10,0, 5,2 Гц, 1H), 1,50 (ddd, $J=13,9$, 9,0, 5,0 Гц, 1H), 1,15 (t, $J=7,1$ Гц, 3H), 0,88 (dd, $J=16,2$, 6,6 Гц, 6H).

Пример 5: Этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 5)



Указанное в заглавии соединение получали за 5 стадий, используя метод, описанный в Примере 1.

Стадия 1: Этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)пропаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат (1,36 г, 2,19 ммоль, выход 81%) выделяли в виде светло-желтой пены. ВЭЖХ чистота: 90%, МС (ИЭР+) $m/z=558$ $[M+H]^+$.

Стадия 2: Неочищенное вещество этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-3-(5-амино-1-метил-бензимидазол-2-ил)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)пропаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат (954 мг, выход 73%) получали в виде не совсем белого твердого вещества, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 98%, МС (ИЭР+) $m/z=528$ $[M+H]^+$.

Стадия 3: Неочищенный продукт этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-3-[5-[бис(2-гидроксиэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)пропаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат (964 мг, выход 85%) получали в виде коричневого масла, которое затвердевало при отстаивании. Соединение использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 96%, МС (ИЭР+) $m/z=616$ $[M+H]^+$.

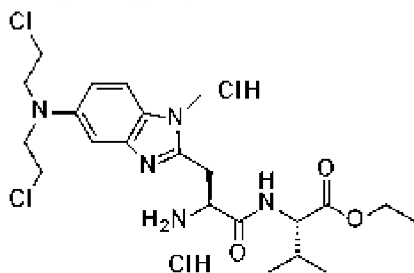
Стадия 4: Этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)пропаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат (0,635 г, 0,924 ммоль, выход 69%) выделяли в виде желтого масла. ВЭЖХ чистота: 95%, МС (ИЭР+) $m/z=652$ $[M+H]^+$. ВЭЖХ мезилированное промежуточное соединение: МС (ИЭР+) $m/z=772$ $[M+H]^+$.

Стадия 5: Неочищенный продукт очищали путем преп-ВЭЖХ (кислые условия; поток 25 мл/мин, градиент в течение 15 минут от 12%В до 42%В. Фракции собирали на основании УФ-сигнала при 239 нм). 4 н. НСl в диоксане (1 мл) добавляли к объединенным фракциям, которые лиофилизировали, получая этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 5) (78 мг, 0,121

ммоль, выход 13%) в виде не совсем белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 97%, МС (ИЭР+) $m/z=552$ $[M+H]^+$.

1H ЯМР (600 МГц, ДМСО- d_6) δ 14,66 (br s, 1H), 9,31 (d, $J=7,5$ Гц, 1H), 8,79 (s, 3H), 7,81-7,67 (m, 1H), 7,33-7,28 (m, 2H), 7,15 (d, $J=9,2$ Гц, 1H), 7,12-7,06 (m, 2H), 6,88 (d, $J=2,4$ Гц, 1H), 4,59 (p, $J=8,4, 7,7$ Гц, 1H), 4,41 (s, 1H), 4,01 (dddd, $J=13,6, 10,8, 7,2, 3,8$ Гц, 2H), 3,95 (s, 3H), 3,84 (ddt, $J=23,1, 12,2, 6,2$ Гц, 4H), 3,77 (ddd, $J=9,3, 7,2, 4,8$ Гц, 5H), 3,63 (s, 1H), 3,05-2,95 (m, 2H), 1,10 (t, $J=7,1$ Гц, 3H).

Пример 6: Этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-3-метил-бутаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 6)



Указанное в заглавии соединение получали за 5 стадий, используя метод, описанный в Примере 1.

Стадия 1: Желательный продукт, этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)пропаноил]амино]-3-метил-бутаноат (0,992 г, 1,82 ммоль, выход 67%), выделяли в виде светло-желтой пены. ВЭЖХ чистота: 90%, МС (ИЭР+) $m/z=492$ $[M+H]^+$.

Стадия 2: Неочищенный продукт, этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-3-(5-амино-1-метил-бензимидазол-2-ил)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)пропаноил]амино]-3-метил-бутаноат (931 мг, выход 98%), получали в виде коричневого масла, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 98%, МС (ИЭР+) $m/z=462$ $[M+H]^+$.

Стадия 3: Неочищенный продукт, этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-3-[5-[бис(2-гидроксиэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)пропаноил]амино]-3-метил-бутаноат (0,848 г, 1,39 ммоль, выход 70%), получали в виде желтого масла и использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 90%, МС (ИЭР+) $m/z=550$ $[M+H]^+$.

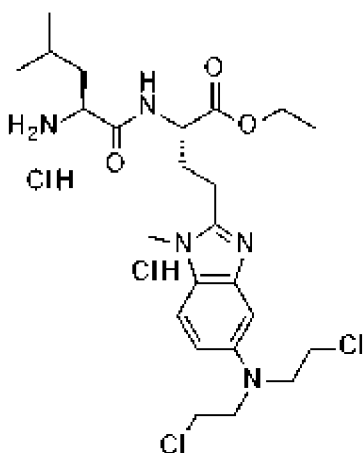
Стадия 4: Этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)пропаноил]амино]-3-метил-бутаноат (0,210 г, 0,340 ммоль, выход: 22%) выделяли в виде желтого масла. ВЭЖХ чистота: 95%, МС (ИЭР+) $m/z=586$ $[M+H]^+$. ВЭЖХ мезилированное промежуточное соединение: МС (ИЭР+) $m/z=706$ $[M+H]^+$.

Стадия 5: Неочищенный продукт очищали путем препаративной ВЭЖХ (поток 25 мл/мин, градиент в течение 15 минут от 8%В до 38%В; фракции собирали на основании УФ-сигнала при 239 нм), получая этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-

1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-3-метил-бутаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 6) (85 мг, 0,147 ммоль, выход 43%) в виде не совсем белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 97%, МС (ИЭР+) $m/z=486$ $[M+H]^+$.

1H ЯМР (600 МГц, ДМСО- d_6) δ 14,77 (br s, 1H), 9,04 (d, $J=7,9$ Гц, 1H), 8,85 (s, 3H), 7,78 (d, $J=9,2$ Гц, 1H), 7,17 (dd, $J=9,6, 2,3$ Гц, 1H), 6,90 (d, $J=2,4$ Гц, 1H), 4,59 (s, 1H), 4,26 (dd, $J=7,9, 5,5$ Гц, 1H), 4,07-3,99 (m, 2H), 3,98 (s, 3H), 3,89-3,75 (m, 9H), 3,59 (dd, $J=15,5, 6,8$ Гц, 1H), 2,12-2,03 (m, 1H), 1,15 (t, $J=7,1$ Гц, 3H), 0,92 (d, $J=6,8$ Гц, 6H).

Пример 7: Этил (2*S*)-2-[[*(2S)*]-2-амино-4-метил-пентаноил]амино]-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 7)



Стадия 1: К раствору этил (*2S*)-2-амино-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)бутаноата (Промежуточное соединение 1) (1,00 г, 3,26 ммоль), (*2S*)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-метил-пентановой кислоты,гидрат (0,814 г, 3,26 ммоль) и 1-метилимидазола (0,546 мл, 6,86 ммоль) в MeCN (30 мл) добавляли [хлор(диметиламино)метилен]-диметил-аммоний;гексафторфосфат (1,01 г, 3,59 ммоль) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Реакционную смесь гасили раствором лимонной кислоты (10% в воде) и летучие компоненты упаривали. Неочищенное вещество разводили водой и экстрагировали с помощью EtOAc (x3). Органическую фазу высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и упаривали при пониженном давлении. Неочищенное вещество очищали путем хроматографии на силикагеле, используя ДХМ --> ДХМ/MeOH (10%), получая этил (*2S*)-2-[[*(2S)*]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-метил-пентаноил]амино]-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)бутаноат (90%, 1,47 г, 2,54 ммоль, выход 78%) в виде светло-желтой пены. ВЭЖХ чистота: 90%; МС (ИЭР+) $m/z=520$ $[M+H]^+$.

Стадия 2: Этил (*2S*)-2-[[*(2S)*]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-метил-пентаноил]амино]-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)бутаноат (1,47 г, 0,00283 моль) растворяли в EtOH (30 мл) и помещали в Н-реактор. Добавляли Pd/C (10%, 0,151 г, 0,000141 моль) и реактор герметизировали. Осуществляли продувку азотом. H_2 подавали в реактор под давлением 3 бар и реакционную смесь перемешивали при 35°C в течение 1,5 часа. Водород удаляли с помощью продувки азотом. Катализатор удаляли путем фильтрации

через целит. Растворитель упаривали и неочищенный продукт, этил (2*S*)-4-(5-амино-1-метил-бензимидазол-2-ил)-2-[[*(2S)*-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-метил-пентаноил]амино]бутаноат (1,20 г, 2,21 ммоль, выход 78%), получали в виде коричневой пены, которую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 90%; МС (ИЭР+) $m/z=490$ [M+H]⁺.

Стадия 3: Этил (2*S*)-4-(5-амино-1-метил-бензимидазол-2-ил)-2-[[*(2S)*-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-метил-пентаноил]амино]бутаноат (1,26 г, 2,45 ммоль, чистота 95%) растворяли в уксусной кислоте (5 мл). Добавляли оксиран (2,3М, 10,6 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре при 24 часов. Летучие вещества удаляли в вакууме, неочищенное вещество растворяли в ДХМ, и промывали насыщенным водным NaHCO₃. Органический слой промывали водой и соевым раствором, пропускали через картридж для разделения фаз и концентрировали, получая этил (2*S*)-4-[5-[бис(2-гидроксиэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-[[*(2S)*-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-метил-пентаноил]амино]бутаноат (1,38 г, выход 93%) в виде коричневого масла, которое затвердевало при отстаивании. Продукт использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 95%; МС (ИЭР+) $m/z=578$ [M+H]⁺.

Стадия 4: К раствору этил (2*S*)-4-[5-[бис(2-гидроксиэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-[[*(2S)*-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-метил-пентаноил]амино]бутаноат (1,38 г, 2,27 ммоль, 95% чистота) и триэтиламина (1,27 мл, 9,08 ммоль) в ДХМ (50 мл) добавляли метансульфонил хлорид (0,544 мл, 7,03 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 минут. Реакционную смесь промывали смесью NaHCO₃(нас.):вода (2:5) (100 мл), 0,3 М HCl (100 мл) и соевым раствором (100 мл). Органическую фазу пропускали через картридж для разделения фаз и упаривали при пониженном давлении. Неочищенное вещество этил (2*S*)-4-[5-[бис(2-метилсульфонилоксиэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-[[*(2S)*-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-метил-пентаноил]амино]бутаноат немедленно использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

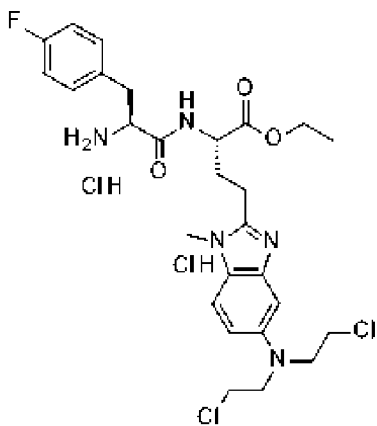
Этил (2*S*)-4-[5-[бис(2-метилсульфонилоксиэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-[[*(2S)*-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-метил-пентаноил]амино]бутаноат (1,82 г, 1,64 ммоль, 66% чистота) растворяли в ДМФА (5 мл). Добавляли LiCl (1,04 г, 24,6 ммоль) и реакционную смесь нагревали при 60°C в течение 1 ч. Реакционную смесь разводили смесью толуола (10 мл) и EtOAc (10 мл), затем промывали соевым раствором (3×20 мл), высушивали над MgSO₄, фильтровали и упаривали. Полученное неочищенное вещество очищали путем флэш-хроматографии, используя градиент этилацетата в ДХМ от 0-20%. Фракции, содержащие желательное соединение, объединяли и концентрировали, получая этил (2*S*)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-[[*(2S)*-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-метил-пентаноил]амино]бутаноат (652 мг, выход 62%) в виде коричневого масла. ВЭЖХ мезилированного промежуточного соединения: МС (ИЭР+) $m/z=734$ [M+H]⁺. ВЭЖХ чистота желательного продукта: 96%; МС (ИЭР+) $m/z=614$

$[M+H]^+$.

Стадия 5: К раствору этил (2*S*)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-[[*(2S)*-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-метил-пентаноил]амино]бутаноата (205 мг, 0,316 ммоль, 95% чистота) в EtOH (2 мл) добавляли хлористый водород в диоксане (4,00 моль/л, 1,19 мл, 4,75 ммоль) и смесь перемешивали при 25°C в течение 3 часов. Неочищенное вещество получали путем упаривания растворителей и очищали путем препаративной хроматографии (кислый буфер, поток 25 мл/мин, градиент в течение 15 минут от 7%В до 37%В. Фракции собирали на основании УФ-сигнала при 235 нм). Фракции хранили на ледяной бане до осуществления ЖХ-МС анализа. Добавляли HCl в диоксане (4М, 1 мл) и образец сразу лиофилизировали, получая этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-амино-4-метил-пентаноил]амино]-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 7) (50 мг, выход 26%) в виде желтого масла. ВЭЖХ чистота: 95%, МС (ИЭР+) $m/z=514 [M+H]^+$.

¹H ЯМР (600 МГц, ДМСО-d₆) δ 14,41 (s, 1H), 9,04 (d, J=7,9 Гц, 1H), 8,22 (d, J=5,3 Гц, 3H), 7,74 (d, J=9,2 Гц, 1H), 7,15 (dd, J=9,4, 2,3 Гц, 1H), 6,90 (d, J=2,4 Гц, 1H), 4,51 (ddd, J=9,6, 8,0, 4,9 Гц, 2H), 4,10 (d, J=7,1 Гц, 2H), 3,88 (s, 3H), 3,84 (t, J=6,7 Гц, 4H), 3,78 (t, J=6,9 Гц, 4H), 3,18 (d, J=8,6 Гц, 2H), 2,42-2,32 (m, 1H), 2,19-2,09 (m, 1H), 1,70 (dp, J=13,4, 6,8 Гц, 1H), 1,61 (dt, J=13,9, 7,0 Гц, 1H), 1,55 (dt, J=14,1, 7,5 Гц, 1H), 1,19 (t, J=7,1 Гц, 3H), 0,92 (dd, J=16,4, 6,5 Гц, 6H).

Пример 8: Этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-амино-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 8)



Указанное в заглавии соединение получали за 5 стадий, используя метод, описанный в Примере 7.

Стадия 1: Этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)бутаноат (1,87 г, 2,94 ммоль, выход 90%) выделяли в виде светло-желтой пены. ВЭЖХ чистота: 90%, МС (ИЭР+) $m/z=572 [M+H]^+$.

Стадия 2: Неочищенное вещество этил (2*S*)-4-(5-амино-1-метил-бензимидазол-2-ил)-2-[[*(2S)*-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]бутаноат

(1,78 г, выход 90%) получали в виде светло-желтого твердого вещества, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 90%, МС (ИЭР+) $m/z=542$ $[M+H]^+$.

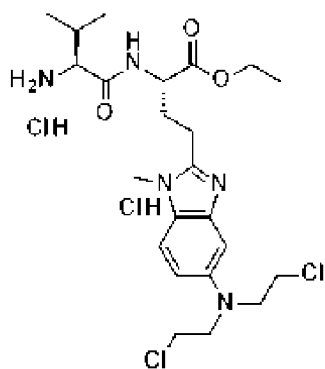
Стадия 3: Неочищенный продукт, этил (2*S*)-4-[5-[бис(2-гидроксиэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-[[*(2S)*-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]бутаноат (1,74 г, выход 86%), получали в виде светло-коричневого твердого вещества. Соединение использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 92%, МС (ИЭР+) $m/z=630$ $[M+H]^+$.

Стадия 4: Этил (2*S*)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-[[*(2S)*-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]бутаноат (628 мг, выход 37%) выделяли в виде коричневого масла. ВЭЖХ чистота: 92%, МС (ИЭР+) $m/z=666$ $[M+H]^+$. ВЭЖХ мезилированное промежуточное соединение: МС (ИЭР+) $m/z=786$ $[M+H]^+$.

Стадия 5: Неочищенный продукт очищали путем препаративной ВЭЖХ (кислые условия; поток 25 мл/мин, градиент в течение 15 минут от 11%В до 40%В. Фракции собирали на основании УФ-сигнала при 235 нм). Добавляли HCl в диоксане (4М, 1 мл) к объединенным фракциям и образец сразу лиофилизировали, получая этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-амино-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 8) (35 мг, выход 23%) в виде не совсем белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 95%, МС (ИЭР+) $m/z=566$ $[M+H]^+$.

¹H ЯМР (600 МГц, ДМСО-d₆) δ 14,61 (s, 1H), 9,57 (d, J=7,6 Гц, 1H), 8,40 (d, J=5,5 Гц, 3H), 7,75 (d, J=9,2 Гц, 1H), 7,45-7,36 (m, 2H), 7,15 (dtd, J=9,4, 7,4, 6,9, 2,3 Гц, 3H), 6,91 (d, J=2,4 Гц, 1H), 4,44 (ddd, J=9,5, 7,6, 4,3 Гц, 1H), 4,22 (d, J=6,8 Гц, 1H), 4,08 (q, J=7,1 Гц, 2H), 3,95 (s, 3H), 3,83 (t, J=6,8 Гц, 4H), 3,78 (t, J=6,1 Гц, 4H), 3,36-3,25 (m, 2H), 3,19 (dd, J=14,0, 5,7 Гц, 1H), 2,98 (dd, J=14,0, 8,0 Гц, 1H), 2,40-2,31 (m, 1H), 2,17 (dtd, J=14,6, 9,5, 5,5 Гц, 1H), 1,18 (t, J=7,1 Гц, 3H).

Пример 9: Этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-амино-3-метил-бутаноил]амино]-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 9)



Указанное в заглавии соединение получали за 5 стадий, используя метод, описанный в Примере 7.

Стадия 1: Этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-метил-бутаноил]амино]-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)бутаноат (0,757 г, 1,35 ммоль, выход 41%) выделяли в виде светло-желтой пены. ВЭЖХ чистота: 90%, МС (ИЭР+) $m/z=506 [M+H]^+$.

Стадия 2: Неочищенный продукт, этил (2*S*)-4-(5-амино-1-метил-бензимидазол-2-ил)-2-[[*(2S)*-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-метил-бутаноил]амино]бутаноат (0,642 г, 1,28 ммоль, выход: 86%) получали в виде светло-коричневого твердого вещества, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 95%, МС (ИЭР+) $m/z=476 [M+H]^+$.

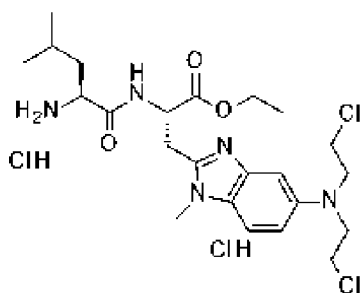
Стадия 3: Неочищенный продукт, этил (2*S*)-4-[5-[бис(2-гидроксиэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-[[*(2S)*-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-метил-бутаноил]амино]бутаноат (0,685 г, 1,09 ммоль, выход 85%) получали в виде коричневого масла, которое затвердевало при отстаивании. Соединение использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 90%, МС (ИЭР+) $m/z=564 [M+H]^+$.

Стадия 4: Этил (2*S*)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-[[*(2S)*-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-метил-бутаноил]амино]бутаноат (0,402 г, 0,623 ммоль, выход 58%) выделяли в виде светло-коричневого масла. ВЭЖХ чистота: 93%, МС (ИЭР+) $m/z=600 [M+H]^+$. ВЭЖХ мезилированное промежуточное соединение: МС (ИЭР+) $m/z=720 [M+H]^+$.

Стадия 5: Неочищенный продукт упаривали и очищали путем препаративной хроматографии (кислый буфер; поток 25 мл/мин, градиент в течение 15 минут от 7%В до 36%В. Фракции собирали на основании УФ-сигнала при 235 нм). Фракции, полученные при осуществлении препаративной хроматографии, хранили на ледяной бане, добавляли HCl в диоксане (4М, 1 мл) и образец сразу лиофилизировали, получая этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-амино-3-метил-бутаноил]амино]-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 9) (12 мг, выход 6,3%) в виде не совсем белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 95%, МС (ИЭР+) $m/z=500 [M+H]^+$.

¹H ЯМР (600 МГц, ДМСО-d₆) δ 14,70 (s, 1H), 9,37 (d, J=7,6 Гц, 1H), 8,44 (d, J=5,7 Гц, 3H), 7,75 (d, J=9,2 Гц, 1H), 7,15 (dd, J=9,3, 2,4 Гц, 1H), 6,91 (d, J=2,4 Гц, 1H), 4,46 (ddd, J=10,0, 7,6, 4,0 Гц, 1H), 4,10 (d, J=7,1 Гц, 2H), 3,96 (s, 3H), 3,83 (t, J=6,6 Гц, 4H), 3,80-3,77 (m, 4H), 3,74-3,63 (m, 1H), 3,52-3,41 (m, 1H), 3,31 (ddd, J=15,9, 9,6, 6,8 Гц, 1H), 2,37 (dt, J=13,3, 4,9 Гц, 1H), 2,20-2,10 (m, 2H), 1,18 (t, J=7,1 Гц, 3H), 1,04-0,94 (m, 6H).

Пример 10: Этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-амино-4-метил-пентаноил]амино]-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 10)



Указанное в заглавии соединение получали за 5 стадий, используя метод, описанный в Примере 7.

Стадия 1: Этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-(*tert*-бутоксикарбониламино)-4-метил-пентаноил]амино]-3-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)пропаноат (1,68 г, 2,99 ммоль, выход 87%) выделяли в виде светло-желтой пены. ВЭЖХ чистота: 90%, МС (ИЭР+) $m/z=506$ [M+H]⁺.

Стадия 2: Неочищенный продукт, этил (2*S*)-3-(5-амино-1-метил-бензимидазол-2-ил)-2-[[[(2*S*)-2-(*tert*-бутоксикарбониламино)-4-метил-пентаноил]амино]пропаноат (1,50 г, 2,90 ммоль, выход 87%), получали в виде коричневой пены, которую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 92%, МС (ИЭР+) $m/z=476$ [M+H]⁺.

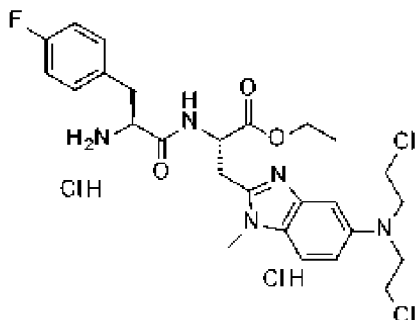
Стадия 3: Неочищенный продукт, этил (2*S*)-3-[5-[бис(2-гидроксиэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-[[[(2*S*)-2-(*tert*-бутоксикарбониламино)-4-метил-пентаноил]амино]пропаноат (1,20 г, 1,60 ммоль, выход 52%) получали в виде коричневого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 75%, МС (ИЭР+) $m/z=564$ [M+H]⁺.

Стадия 4: Этил (2*S*)-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-[[[(2*S*)-2-(*tert*-бутоксикарбониламино)-4-метил-пентаноил]амино]пропаноат (0,430 г, 0,680 ммоль, выход 32%) выделяли в виде желтого масла. ВЭЖХ чистота: 95%, МС (ИЭР+) $m/z=600$ [M+H]⁺. ВЭЖХ мезилированное промежуточное соединение: МС (ИЭР+) $m/z=720$ [M+H]⁺.

Стадия 5: Неочищенный продукт очищали путем преп-ВЭЖХ (кислые условия; поток 25 мл/мин, градиент в течение 15 минут от 6%В до 36%В. Фракции собирали на основании УФ-сигнала при 237 нм). 4 н. НСl в диоксане (1 мл) добавляли к объединенным фракциям, которые лиофилизировали, получая этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-амино-4-метил-пентаноил]амино]-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 10) (0,102 г, 0,169 ммоль, выход 53%) в виде белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 95%, МС (ИЭР+) $m/z=500$ [M+H]⁺.

¹H ЯМР (600 МГц, ДМСО-d₆) δ 14,85 (br s, 1H), 9,56 (d, J=7,7 Гц, 1H), 8,40 (s, 3H), 7,76 (d, J=9,2 Гц, 1H), 7,16 (d, J=9,2 Гц, 1H), 6,95 (d, J=2,5 Гц, 1H), 5,02 (q, J=7,6 Гц, 1H), 4,12 (q, J=7,1 Гц, 2H), 3,97 (s, 3H), 3,87-3,73 (m, 9H), 3,67 (dd, J=15,8, 6,1 Гц, 1H), 3,58 (dd, J=15,6, 8,2 Гц, 1H), 1,64 (dt, J=13,4, 6,7 Гц, 1H), 1,52 (hept, J=6,8 Гц, 2H), 1,14 (t, J=7,1 Гц, 3H), 0,87 (dd, J=9,5, 6,5 Гц, 6H).

Пример 11: Этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-амино-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 11)



Указанное в заглавии соединение получали за 5 стадий, используя метод, описанный в Примере 7.

Стадия 1: Этил (*(2S)*-2-[[*(2S)*-2-(*tert*-бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-3-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)пропаноат (0,794 г, 1,14 ммоль, выход 29%) выделяли в виде светло-желтого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 80%, МС (ИЭР+) $m/z=558$ $[M+H]^+$.

Стадия 2: Неочищенное вещество этил (*(2S)*-3-(5-амино-1-метил-бензимидазол-2-ил)-2-[[*(2S)*-2-(*tert*-бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]пропаноат (772 мг, выход 93%) получали в виде светло-коричневого твердого вещества, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 91%, МС (ИЭР+) $m/z=528$ $[M+H]^+$.

Стадия 3: Неочищенный продукт, этил (*(2S)*-3-[5-[бис(2-гидроксиэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-[[*(2S)*-2-(*tert*-бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]пропаноат (817 мг, выход 91%) получали в виде коричневого масла, которое затвердевало при отстаивании. Соединение использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 95%, МС (ИЭР+) $m/z=616$ $[M+H]^+$.

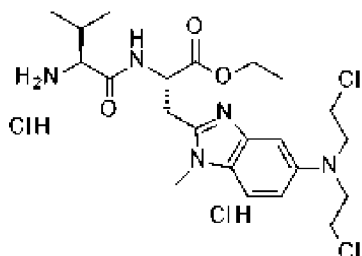
Стадия 4: Этил (*(2S)*-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-[[*(2S)*-2-(*tert*-бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]пропаноат (449 мг, выход 51%) выделяли в виде коричневого масла. ВЭЖХ чистота: 86%, МС (ИЭР+) $m/z=652$ $[M+H]^+$ ВЭЖХ мезилированное промежуточное соединение: МС (ИЭР+) $m/z=772$ $[M+H]^+$.

Стадия 5: Неочищенный продукт очищали путем препаративной хроматографии (кислый буфер; поток 25 мл/мин, градиент в течение 15 минут от 10%В до 40%В. Фракции собирали на основании УФ-сигнала при 237 нм). Добавляли HCl в диоксане (4М, 1 мл) к объединенным фракциям и образец сразу лиофилизировали, получая этил (*(2S)*-2-[[*(2S)*-2-амино-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 11) (12 мг, выход 15%) в виде не совсем белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 96%, МС (ИЭР+) $m/z=552$ $[M+H]^+$.

^1H ЯМР (600 МГц, ДМСО- d_6) δ 14,73 (s, 1H), 9,64 (s, 1H), 8,32 (s, 3H), 7,77-7,67 (m,

1H), 7,33 (dt, J=9,6, 4,9 Гц, 2H), 7,14 (t, J=8,7 Гц, 3H), 6,94 (d, J=2,4 Гц, 1H), 4,98 (q, J=7,5 Гц, 1H), 4,12 (dtt, J=10,8, 6,7, 3,7 Гц, 3H), 3,96 (s, 3H), 3,83 (t, J=6,8 Гц, 4H), 3,77 (t, J=6,4 Гц, 4H), 3,14 (dd, J=14,1, 6,0 Гц, 1H), 2,97 (dd, J=14,1, 7,8 Гц, 1H), 1,13 (t, J=7,1 Гц, 3H), 0,87-0,81 (m, 2H).

Пример 12: Этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-амино-3-метил-бутаноил]амино]-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 12)



Указанное в заглавии соединение получали за 5 стадий, используя метод, описанный в Примере 7.

Стадия 1: Этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-метил-бутаноил]амино]-3-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)пропаноат (0,428 г, 0,784 ммоль, выход 23%) выделяли в виде желтого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 90%, МС (ИЭР+) $m/z=492$ [M+H]⁺.

Стадия 2: Неочищенное вещество этил (2*S*)-3-(5-амино-1-метил-бензимидазол-2-ил)-2-[[*(2S)*-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-метил-бутаноил]амино]пропаноат (393 мг, выход 93%) получали в виде желтого твердого вещества, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 95%, МС (ИЭР+) $m/z=462$ [M+H]⁺.

Стадия 3: Неочищенный продукт, этил (2*S*)-3-[5-[бис(2-гидроксиэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-[[*(2S)*-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-метил-бутаноил]амино]пропаноат (0,305 г, 0,499 ммоль, выход 58%) получали в виде коричневого твердого вещества. Соединение использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 90%, МС (ИЭР+) $m/z=550$ [M+H]⁺.

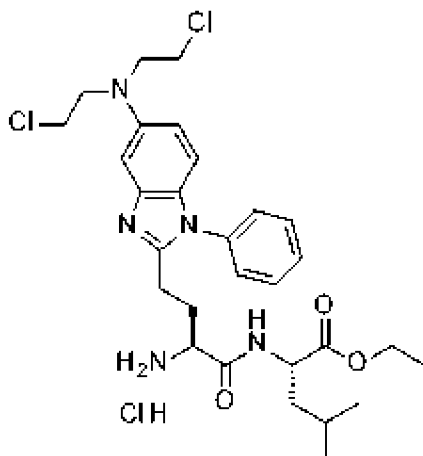
Стадия 4: Этил (2*S*)-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-[[*(2S)*-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-метил-бутаноил]амино]пропаноат (0,168 г, 0,272 ммоль, выход 37%) выделяли в виде желтого масла. ВЭЖХ чистота: 95%, МС (ИЭР+) $m/z=586$ [M+H]⁺ ВЭЖХ мезилированное промежуточное соединение: МС (ИЭР+) $m/z=706$ [M+H]⁺.

Стадия 5: Неочищенный продукт упаривали и очищали путем препаративной ВЭЖХ (кислые условия; поток 25 мл/мин, градиент в течение 15 минут от 5%В до 34%В). Фракции собирали на основании УФ-сигнала при 238 нм). Добавляли HCl в диоксане (4М, 1 мл) к объединенным фракциям и раствор немедленно лиофилизировали, получая этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-амино-3-метил-бутаноил]амино]-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 12) (45 мг,

0,0724 ммоль, выход 27%). ВЭЖХ чистота: 90%, МС (ИЭР+) $m/z=486 [M+H]^+$.

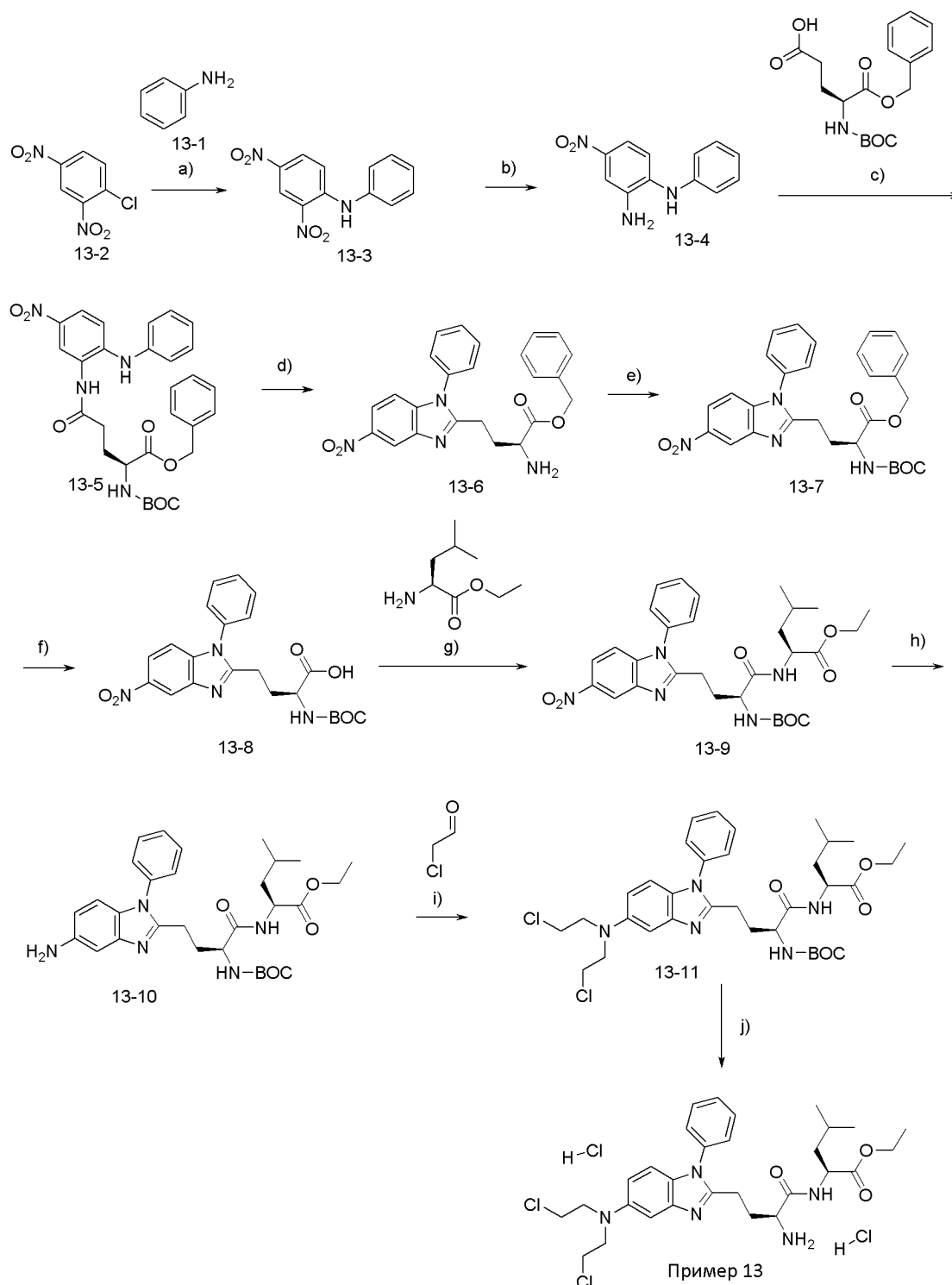
^1H ЯМР (600 МГц, ДМСО- d_6) δ 13,82 (br s, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,49-7,30 (m, 3H), 6,85 (d, $J=9,2$ Гц, 1H), 6,25 (d, $J=9,3$ Гц, 1H), 6,05 (d, $J=2,5$ Гц, 1H), 4,15 (q, $J=7,4$ Гц, 1H), 3,22 (q, $J=7,1$ Гц, 2H), 3,06 (s, 3H), 2,96-2,86 (m, 8H), 2,80 (dt, $J=9,3, 4,1$ Гц, 2H), 2,66 (d, $J=8,2$ Гц, 1H), 1,22 (dq, $J=13,4, 6,7$ Гц, 1H), 0,23 (t, $J=7,1$ Гц, 3H), 0,11-0,00 (m, 6H).

Пример 13: Этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-фенил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат; гидрохлорид (Соединение согласно примеру 13)



Пример 13 синтезировали в соответствии со Схемой 4 ниже:

Схема 4: а) ТЕА, МеОН, 60 °С; б) Дитионит натрия, ЕтОН, 80 °С; в) НАТУ, ТЕА, ДМФА, кт; д) 12 М НСl, ЕтОН, 70 °С; е) ВОС2О, ТЕА, ТГФ, кт; ф) LiОН-Н2О, 1,4-диоксан, вода, 50 °С; г) НАТУ, ТЕА, ДМФА, кт; г) Pd/С 10%, атмосфера Н2, ЕтОН, кт; и) NaВН3СN, ТФУ, ЕтОН, кт; ж) ТФУ, ДХМ, затем 12 М НСl, комнатная температура.



2,4-Динитро-*N*-фенил-анилин (соединение 13-3)

TEA (6,19 мл, 44,4 ммоль) добавляли к раствору 1-хлор-2,4-динитро-бензола (3,00 г, 14,8 ммоль, соединение 13-2) и анилина (1,35 мл, 14,8 ммоль, соединение 13-1) в MeOH (150 мл). Реакционную смесь перемешивали при 60 °С в течение ночи. Реакционную смесь прекращали нагревать и образовывалось светлое кирпично-красное твердое вещество. Твердое вещество отфильтровали и промывали ледяным MeOH, получая указанное в заглавии соединение (3,26 г, 12,54 ммоль, выход 85%). ВЭЖХ чистота: 95%, МС (ИЭР+) $m/z=260 [M+H]^+$.

4-Нитро-*N*1-фенил-бензол-1,2-диамин (соединение 13-4)

Дитионит натрия (6,57 г, 37,7 ммоль) добавляли к 2,4-динитро-*N*-фенил-анилину (3,26 г, 12,6 ммоль) в смеси растворителей EtOH (120 мл) и воду (30 мл) при 80 °С. Реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч. Органический растворитель упаривали, и добавляли дополнительное количество воды. Соединение экстрагировали с помощью ДХМ. Водную фазу отбрасывали. ДХМ фаза содержала твердое вещество, которое отфильтровали. Фильтрат промывали солевым раствором, высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель упаривали, получая указанное в заглавии соединение (1,25 г, 5,45 ммоль, выход 43%). ВЭЖХ чистота: 95%, МС (ИЭР+) $m/z=230$ [M+H]⁺.

Бензил (2*S*)-5-(2-анилино-5-нитро-анилино)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-5-оксо-пентаноат (соединение 13-5)

НАТУ (2,28 г, 6,00 ммоль) добавляли к (4*S*)-5-бензилокси-4-(*трет*-бутоксикарбониламино)-5-оксо-пентановой кислоте (1,93 г, 5,73 ммоль) и ТЕА (2,28 мл, 16,4 ммоль) в ДМФА (15 мл). К этой смеси добавляли 4-нитро-*N*1-фенил-бензол-1,2-диамин (1,25 г, 5,45 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи. Добавляли толуол (70 мл) и органическую фазу промывали водой (100 мл) и солевым раствором (60 мл). Органическую фазу высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель упаривали, получая указанное в заглавии соединение (2,90 г, 5,45 ммоль, выход 97%). ВЭЖХ чистота: 88%, МС (ИЭР+) $m/z=449$ [M+H-ВОС]⁺. Вещество использовали как таковое на следующей стадии.

Бензил (2*S*)-2-амино-4-(5-нитро-1-фенил-бензимидазол-2-ил)бутаноат (соединение 13-6)

К раствору бензил (2*S*)-5-(2-анилино-5-нитро-анилино)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-5-оксо-пентаноата (2,99 г, 5,45 ммоль) в EtOH (37 мл) добавляли 12 М HCl (8,18 мл, 98,1 ммоль) и смесь перемешивали при 70°C в течение 40 минут. Неочищенное вещество разводили водой (200 мл) и осторожно нейтрализовали до pH 7 с помощью 4 М NaOH. Продукт экстрагировали этилацетатом (3×100 мл) и органическую фазу высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель упаривали, получая указанное в заглавии соединение (2,35 г, 5,45 ммоль, количественный выход). ВЭЖХ чистота: 65%, МС (ИЭР+) $m/z=431$ [M+H]⁺. Вещество использовали как таковое на следующей стадии.

Бензил (2*S*)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-(5-нитро-1-фенил-бензимидазол-2-ил)бутаноат (соединение 13-7)

Бензил (2*S*)-2-амино-4-(6-нитро-3-фенил-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-ил)бутаноат (2,35 г, 0,00545 моль) в ТГФ (25 мл) добавляли ТЕА (2,28 мл, 0,0163 моль) и *трет*-бутоксикарбонил *трет*-бутил карбонат (1,43 г, 6,54 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение выходных. Для удаления избытка ВОС₂О добавляли имидазол (0,111 г, 1,63 моль) и реакционную смесь дополнительно перемешивали в течение 1 ч. Растворитель упаривали и остаток растворяли в этилацетате. Органическую фазу промывали 5% лимонной кислотой, высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель упаривали. Неочищенное вещество подвергали флэш-хроматографии на градиенте

диоксиде кремния, элюируя с применением от 20 до 30% этилацетата в п-эфире, получая указанное в заглавии соединение (2,21 г, 4,17 ммоль, выход 76%). ВЭЖХ чистота: 77%, МС (ИЭР+) $m/z=531$ $[M+H]^+$.

(2S)-2-(трет-Бутоксикарбониламино)-4-(5-нитро-1-фенил-бензимидазол-2-ил)бутановая кислота (соединение 13-8)

К раствору бензил (2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-4-(5-нитро-1-фенил-бензимидазол-2-ил)бутаноата (2,21 г, 4,17 ммоль) в 1,4-диоксане (30 мл), содержащему воду (10 мл), добавляли LiOH-H₂O (0,699 г, 16,7 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 50°C в течение 40 минут и при комнатной температуре разводили этилацетатом и промывали 5% лимонной кислотой. Органическую фазу высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель упаривали, получая указанное в заглавии соединение (1,83 г, 0,00415 моль, количественный выход). ВЭЖХ чистота: 80%, МС (ИЭР+) $m/z=441$ $[M+H]^+$. Вещество использовали как таковое на следующей стадии.

Этил (2S)-2-[[2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-4-(5-нитро-1-фенил-бензимидазол-2-ил) бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (соединение 13-9)

НАТУ (1,74 г, 0,00457 моль) добавляли к смеси (2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-4-(5-нитро-1-фенил-бензимидазол-2-ил)бутановой кислоты (1,83 г, 0,00415 моль), этил (2S)-2-амино-4-метил-пентаноат; гидрохлорида (0,894 г, 0,00457 моль) и триэтиламина (2,32 мл, 0,0166 моль) в ДМФА (30 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 1 часа. Добавляли толуол и смесь промывали 5% лимонной кислотой и соевым раствором. Органическую фазу высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель упаривали, получая указанное в заглавии соединение (1,82 г, 0,00312 моль, выход 75%). ВЭЖХ чистота: 95%, МС (ИЭР+) $m/z=582$ $[M+H]^+$. Вещество использовали как таковое на следующей стадии.

Этил (2S)-2-[[2S)-4-(5-амино-1-фенил-бензимидазол-2-ил)-2-(трет-бутоксикарбонил амино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (соединение 13-10)

Смесь этил (2S)-2-[[2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-4-(5-нитро-1-фенил-бензимидазол-2-ил)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноата (1,81 г, 0,00311 моль) и Pd/C 10% (0,331 г, 0,00311 моль) в этаноле (90 мл) перемешивали в атмосфере H₂ в течение 4 часов. Твердый вещество отфильтровали и растворитель упаривали, получая указанное в заглавии соединение (1,71 г, 0,00311 моль, количественный выход). Вещество использовали как таковое на следующей стадии. ВЭЖХ чистота: 93%, МС (ИЭР+) $m/z=552$ $[M+H]^+$.

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 8,26 (d, J=7,6 Гц, 1H), 7,60 (t, J=7,5 Гц, 2H), 7,55-7,49 (m, 1H), 7,43 (d, J=7,0 Гц, 2H), 6,92 (d, J=8,2 Гц, 1H), 6,80-6,75 (m, 2H), 6,52 (dd, J=8,5, 2,1 Гц, 1H), 4,81 (s, 2H), 4,24 (ddd, J=9,9, 7,6, 5,0 Гц, 1H), 4,09-3,96 (m, 3H), 2,77-2,64 (m, 2H), 2,20-2,09 (m, 1H), 1,99-1,87 (m, 1H), 1,70-1,44 (m, 3H), 1,33 (s, 9H), 1,14 (t, J=7,1 Гц, 3H), 0,89 (d, J=6,6 Гц, 3H), 0,82 (d, J=6,5 Гц, 3H).

Этил (2S)-2-[[2S)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-фенил-бензимидазол-2-ил]-2-(трет-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (соединение 13-11)

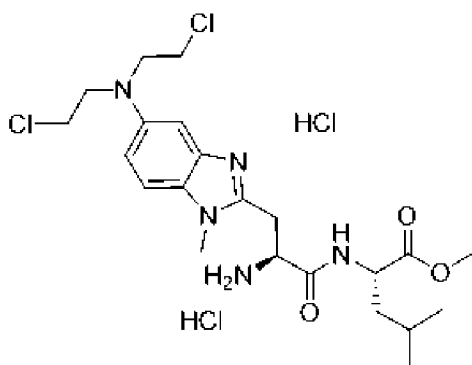
NaBH₃CN (0,137 г, 0,00218 моль) добавляли к перемешиваемой смеси этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-4-(5-амино-1-фенил-бензимидазол-2-ил)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноата (0,300 г, 0,000544 моль), 2-хлорацетальдегида (50,0% в воде, 0,344 мл, 0,00272 моль) и ТФУ (0,242 мл, 3,26 ммоль) в EtOH (6 мл) при комнатной температуре. Через 20 минут дополнительно добавляли 2-хлорацетальдегид (50% в воде, 0,344 мл, 2,72 ммоль) и NaBH₃CN (0,137 г, 2,18 ммоль). В завершение, через 10 минут дополнительно добавляли 2-хлорацетальдегид (50% в воде, 0,344 мл, 2,72 ммоль), NaBH₃CN (0,137 г, 2,18 ммоль) и ТФУ (0,242 мл, 3,26 ммоль). К смеси добавляли этилацетат и органическую фазу промывали насыщенным раствором бикарбоната натрия и солевым раствором. Соединение подвергали флэш-хроматографии два раза на диоксиде кремния, сначала элюируя с помощью 2% EtOH в ДХМ, затем от 20 до 30% этилацетата в петролейном эфире, получая указанное в заглавии соединение (0,158 г, 0,00234 моль, выход 43%). ВЭЖХ чистота: 97%, МС (ИЭР+) *m/z*=676 [M+H]⁺.

Этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-фенил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат; гидрохлорид (Соединение согласно примеру 13)

Этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-фенил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (190 мг, 0,281 ммоль) обрабатывали с применением ТФУ (2 мл) в ДХМ (2 мл). Растворитель упаривали, и неочищенный остаток очищали путем препаративной ВЭЖХ, с несколькими инъекциями, осуществляемыми на системе Gilson, оснащенной УФ-детектором, используя колонку ACE 5 C8 Prep, 100*21,2 мм (0,1% ТФУ в воде) с градиентом 25-50% ацетонитрила. Чистые фракции объединяли, получая 750 мл раствора. К ледяному раствору добавляли 12 М HCl (3 мл), получая 0,05 М HCl раствор. Растворитель удаляли путем лиофилизации, получая указанное в заглавии соединение (Соединение согласно примеру 13) (92 мг, 0,159 ммоль, выход 53%). МС (ИЭР+) *m/z* 576 [M+H]⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 9,04 (d, J=7,1 Гц, 1H), 8,54-8,42 (m, 3H), 7,73-7,62 (m, 4H), 7,16-7,01 (m, 3H), 4,28-4,20 (m, 2H), 4,06-3,97 (m, 3H), 3,88-3,73 (m, 8H), 3,14 (t, J=7,2 Гц, 2H), 2,41-2,24 (m, 2H), 1,76-1,65 (m, 1H), 1,61-1,46 (m, 2H), 1,13 (t, J=7,1 Гц, 3H), 0,89 (dd, J=18,0, 6,5 Гц, 6H).

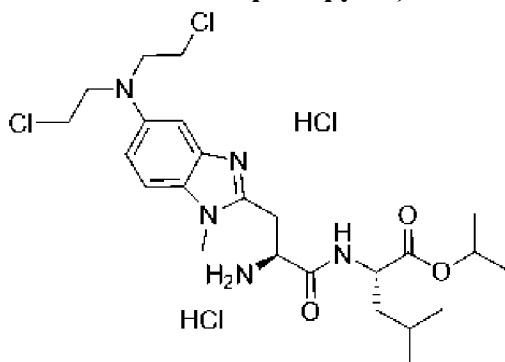
Пример 14: Метил (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-4-метил-пентаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 14)



Этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-4-метил-пентаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 4) (11 мг, 0,0182 ммоль) растворяли в MeOH (2 мл). Добавляли одну каплю HCl и реакционную смесь перемешивали при 70°C в течение ночи. Образец очищали путем препаративной хроматографии (кислый буфер; поток 25 мл/мин, градиент в течение 15 минут от 10%В до 40%В. Фракции собирали на основании УФ-сигнала при 238 нм). К объединенным фракциям добавляли HCl в диоксане (4М, 0,01 мл) и образец сразу лиофилизировали, получая метил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-4-метил-пентаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 14) (3,5 мг, 0,00619 ммоль, выход 34%) в виде желтого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 99%; МС (ИЭР+) $m/z=486$ [M+H]⁺.

¹H ЯМР (600 МГц, ДМСО-d₆) δ 14,8 (s, 1H), 9,09 (d, J=7,6 Гц, 1H), 8,59 (s, 3H), 7,62 (s, 1H), 6,89 (d, J=2,4 Гц, 1H), 6,54 (s, 1H), 4,37 (dt, J=31,5, 7,6 Гц, 2H), 3,93-3,70 (m, 11H), 3,54 (s, 3H), 2,51 (t, J=5,6 Гц, 1H), 1,63 (dq, J=12,5, 6,3 Гц, 1H), 1,56-1,45 (m, 2H), 1,31-1,17 (m, 1H), 0,85 (dd, J=13,8, 6,5 Гц, 6H).

Пример 15: Изопропил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-4-метил-пентаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 15)



Этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-4-метил-пентаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 4) (10 мг, 0,0166 ммоль) растворяли в изопропиловом спирте (2 мл). Добавляли одну каплю HCl и реакционную смесь перемешивали при 70°C в течение ночи. Образец очищали путем препаративной хроматографии (кислый буфер; поток 25 мл/мин, градиент в течение 15 минут от 11%В до 42%В. Фракции собирали на основании УФ-сигнала при 239 нм). К

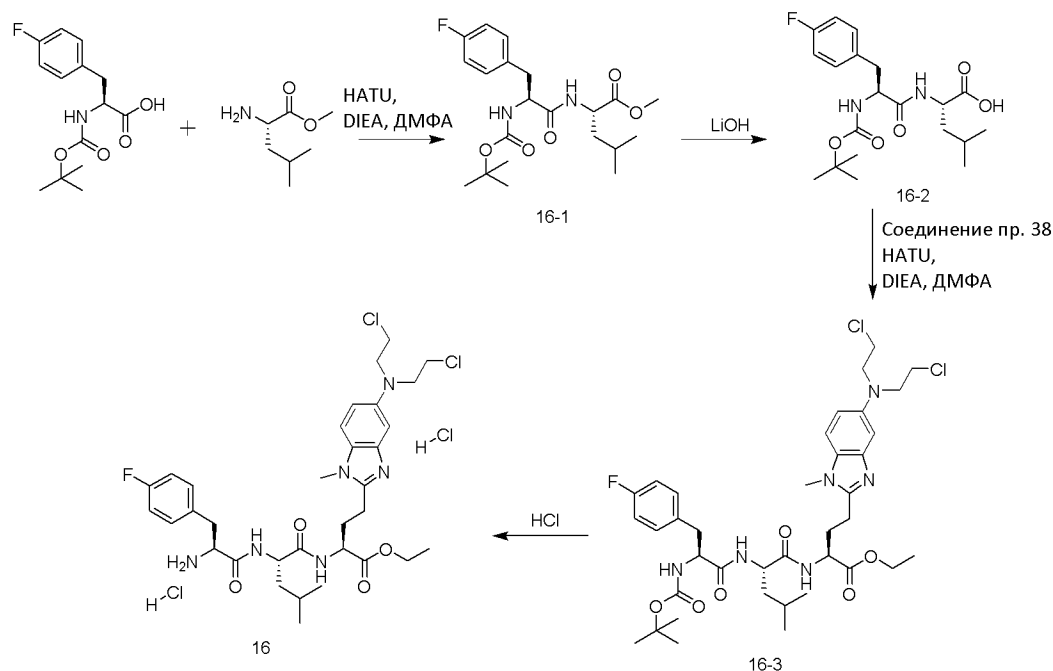
объединенным фракциям добавляли HCl в диоксане (4M, 0,01 мл) и образец сразу лиофилизировали, получая изопропил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-4-метил-пентаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 15) (4,8 мг, 0,00793 ммоль, выход 48%) в виде желтого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 97%; МС (ИЭР+) $m/z=514$ [M+H]⁺.

¹H ЯМР (600 МГц, ДМСО-d₆) δ 14,60 (s, 1H), 9,14 (d, J=7,6 Гц, 1H), 8,68 (s, 3H), 7,71 (s, 1H), 7,11 (s, 1H), 6,89 (d, J=2,4 Гц, 1H), 4,83 (h, J=6,3 Гц, 1H), 4,44 (t, J=6,9 Гц, 1H), 4,28 (ddd, J=9,8, 7,6, 5,2 Гц, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,81 (dt, J=12,4, 6,9 Гц, 4H), 3,75 (dd, J=9,9, 4,8 Гц, 4H), 3,58 (s, 2H), 1,68 (ddt, J=15,3, 12,9, 6,6 Гц, 1H), 1,50 (qdd, J=13,8, 9,3, 5,3 Гц, 2H), 1,14 (dd, J=36,1, 6,3 Гц, 6H), 0,86 (dd, J=17,3, 6,6 Гц, 6H).

Пример 16: **Этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-амино-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноил]амино]-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 16)**

Пример 16 синтезировали в соответствии со Схемой 5 ниже:

Схема 5



(2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-(*tert*-Бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноат (соединение 16-1)

К раствору (2*S*)-2-(*tert*-бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропановой кислоты (0,700 г, 0,00247 моль) в ДМФА (5,0 мл) при кт добавляли HATU (0,940 г, 0,00247 моль) и DIEA (0,423 мл, 0,00247 моль), затем добавляли метил (2*S*)-2-амино-4-метил-пентаноат (0,395 г, 0,00272 моль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь разводили H₂O и экстрагировали с помощью ДХМ. Органический слой высушивали (Na₂SO₄) и концентрировали в вакууме ниже 20 °С. Неочищенное вещество очищали с помощью автоматической флэш-системы

ВУСНІ (колонка 10 г, EtOAc/петролейный эфир), получая метил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноат (0,420 г, 1,02 ммоль, выход 41%) в виде белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 75%; МС (ИЭР+) $m/z=411$ [M+H]⁺.

(2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-(*трет*-Бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентановая кислота (соединение 16-2)

К раствору метил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноата (420 мг, 1,02 ммоль) в ТГФ (1,5 мл) добавляли раствор LiOH · H₂O (47,2 мг, 1,13 ммоль) в воде (0,5 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Осажденное твердое вещество фильтровали и высушивали, получая (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентановой кислоты (350 мг, 0,883 ммоль, выход 86%) в виде белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 85%; МС (ИЭР+) $m/z=341$ [M+H-*t*Bu]⁺.

Этил (2*S*)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-[[[(2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноил]амино]бутаноат (соединение 16-3)

К раствору (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентановой кислоты (95,0 мг, 0,240 ммоль) в ДМФА (3,0 мл) при комнатной температуре добавляли НАТУ (91,1 мг, 0,240 ммоль), DIEA (0,0820 мл, 0,479 ммоль и этил (2*S*)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 38) (125 мг, 0,264 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь разводили H₂O и экстрагировали с помощью ДХМ, используя фазовый разделитель. Органический слой высушивали (Na₂SO₄) и концентрировали в вакууме ниже 20 °С. Неочищенное вещество очищали путем препаративной ВЭЖХ (кислый буфер; поток 25 мл/мин, градиент в течение 15 минут от 31%В до 57%В. Фракции собирали на основании УФ-сигнала при 235 нм), получая этил (2*S*)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-[[[(2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноил]амино]бутаноат (80,0 мг, 0,103 ммоль, выход: 43%) в виде не совсем белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 100%; МС (ИЭР+) $m/z=779$ [M+H]⁺.

Этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-амино-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноил]амино]-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 16)

К этил (2*S*)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-[[[(2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноил]амино]бутаноату (80,0 мг, 0,103 ммоль) в EtOH (1 мл), добавляли HCl в диоксане (4,00 моль/л, 0,128 мл, 0,513 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение ночи. После завершения реакции, растворитель упаривали под прилбл. 15°С и остаток немедленно

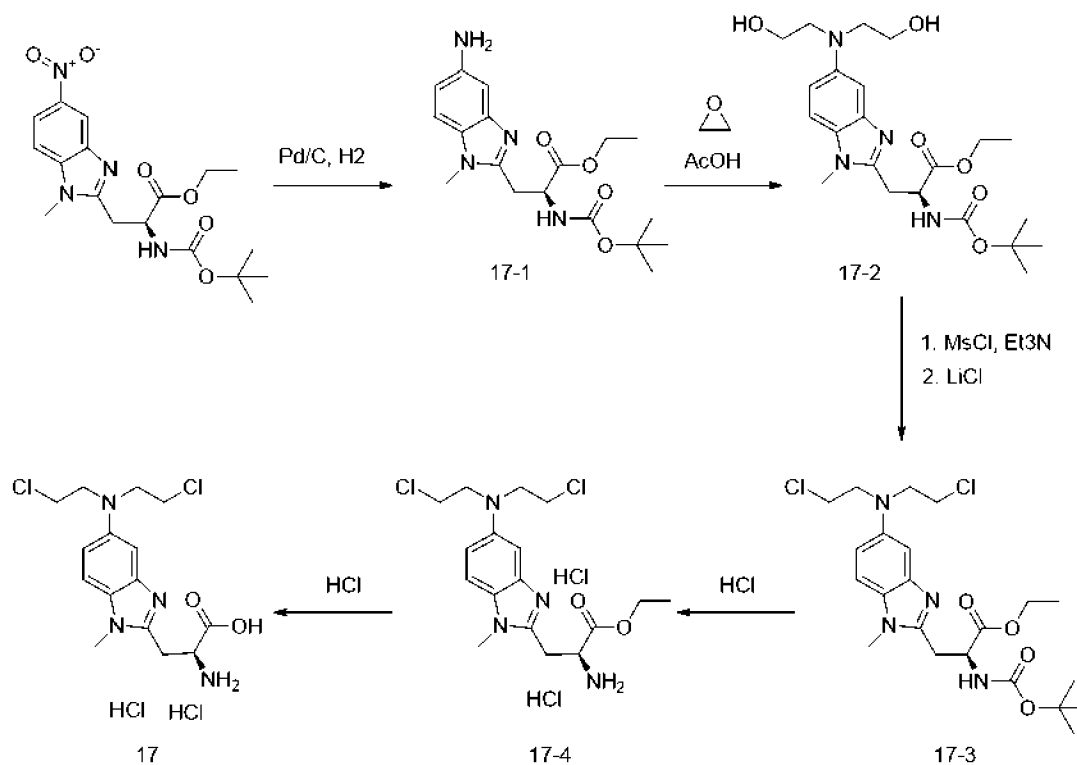
подвергали препаративной ВЭЖХ (кислый буфер; поток 25 мл/мин, градиент в течение 15 минут от 12%В до 44%В. Фракции собирали на основании УФ-сигнала при 235 нм). Все собранные чистые ВЭЖХ фракции выдерживали на Mivacuum для упаривания ацетонитрила, и к полученным объединенным фракциям HCl в диоксане добавляли (4M, 0,01 мл). Смесь немедленно замораживали на охлаждающей бане с сухим льдом и оставляли на лиофильной сушке, получая этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-амино-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноил]амино]-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 16) (6,00 мг, 0,00797 ммоль, выход 8%) в виде белого порошка. ВЭЖХ чистота: 95%; МС (ИЭР+) $m/z=679$ [M+H]⁺.

¹H ЯМР (600 МГц, ДМСО-d₆) δ 14,4 (br s, 1H), 8,80-8,71 (m, 2H), 8,24-8,01 (m, 3H), 7,36-7,25 (m, 2H), 7,18-7,08 (m, 2H), 6,97-6,82 (m, 1H), 4,53-4,32 (m, 2H), 4,19-3,99 (m, 3H), 3,90-3,67 (m, 12H), 3,09 (m, 4H), 2,88 (dd, J=14,2, 8,3 Гц, 1H), 2,38 -2,26 (m, 1H), 2,21-2,09 (m, 1H), 1,67 (dq, J=13,5, 6,6 Гц, 1H), 1,55-1,43 (m, 2H), 1,17 (t, J=7,1 Гц, 3H), 0,93 (d, J=6,6 Гц, 3H), 0,89 (d, J=6,6 Гц, 3H).

Пример 17: (2*S*)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропановая кислота;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 17)

Пример 17 синтезировали в соответствии со Схемой 6 ниже:

Схема 6



Этил (2*S*)-3-(5-амино-1-метил-бензимидазол-2-ил)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)пропаноат (соединение 17-1)

Этил (2*S*)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)пропаноат (Схема 1) (573 мг, 1,42 ммоль) растворяли в EtOH (10 мл) и помещали в Н-реактор. Добавляли 10% Pd/C (75,4 мг) и реактор герметизировали. Осуществляли продувку

азотом. H_2 подавали в реактор под давлением 3 бар и реакционную смесь перемешивали при 35°C в течение 3 часов. Водород удаляли с помощью продувки азотом. Катализатор удаляли путем фильтрации через целит. Растворитель упаривали и неочищенное вещество этил (2*S*)-3-(5-амино-1-метил-бензимидазол-2-ил)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)пропаноат (421 мг, 1,13 ммоль, выход 74%) получали в виде желтого твердого вещества, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 90%; МС (ИЭР+) $m/z=363$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Этил (2*S*)-3-[5-[бис(2-гидроксиэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)пропаноат (соединение 17-2)

Этил (2*S*)-3-(5-амино-1-метил-бензимидазол-2-ил)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)пропаноат (421 мг, 1,13 ммоль) растворяли в уксусной кислоте (5 мл). Добавляли оксиран (2,3М, 4,55 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре при 24 часов. Растворитель упаривали и неочищенное вещество растворяли в ДХМ, и промывали насыщенным водным NaHCO_3 . Органический слой промывали водой и соевым раствором и пропускали через разделитель фаз. Вещество концентрировали, получая этил (2*S*)-3-[5-[бис(2-гидроксиэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)пропаноат (0,421 г, 0,888 ммоль, выход 85%) в виде коричневого масла, которое было достаточно чистым для использования на следующей стадии. ВЭЖХ чистота: 95%; МС (ИЭР+) $m/z=451$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Этил (2*S*)-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)пропаноат (соединение 17-3)

К раствору этил (2*S*)-3-[5-[бис(2-гидроксиэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)пропаноата (421 г, 0,888 ммоль, 95% чистота) и триэтиламин (0,495 мл, 3,55 ммоль) в ДХМ (10 мл) добавляли метан сульфонил хлорид (0,213 мл, 2,75 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 минут. Реакционную смесь промывали смесью NaHCO_3 (нас.):вода (2:5) (50 мл), 0,3 М HCl (50 мл) и соевым раствором (50 мл). Органическую фазу пропускали через разделитель фаз и упаривали при пониженном давлении. Неочищенное вещество этил (2*S*)-3-[5-[бис(2-метилсульфонилоксиэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)пропаноат немедленно использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

Этил (2*S*)-3-[5-[бис(2-метилсульфонилоксиэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)пропаноат (521 мг, 0,79 ммоль, 92% чистота) растворяли в ДМФА (5 мл). Добавляли LiCl (0,502 г, 11,9 ммоль) и реакционную смесь нагревали при 60°C в течение 2 ч. Реакционную смесь разводили смесью толуола (10 мл) и EtOAc (10 мл), затем промывали соевым раствором (3×20 мл), высушивали над MgSO_4 , фильтровали и упаривали. Полученное неочищенное вещество очищали путем флэш-хроматографии, используя градиент этилацетата в ДХМ от 0-20%. Фракции, содержащие желательное соединение, объединяли и концентрировали, получая этил (2*S*)-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)пропаноат

(375 мг, 0,692 ммоль, выход 88%) в виде коричневого масла. ВЭЖХ чистота: 90%; МС (ИЭР+) $m/z=487$ $[M+H]^+$ ВЭЖХ чистота (мезилированное промежуточное соединение): 95%; МС (ИЭР+) $m/z=607$ $[M+H]^+$.

Этил (2S)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноат; дигидрохлорид (соединение 17-4)

К раствору этил (2S)-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)пропаноата (375 мг, 0,692 ммоль, 90% чистота) в EtOH (5 мл) добавляли хлористый водород в диоксане (4,00 моль/л, 1,73 мл, 6,92 ммоль) и перемешивали при 25°C в течение 3 часов. Растворитель упаривали при пониженном давлении, получая этил (2S)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноат; дигидрохлорид (0,307 г, 0,660 ммоль, выход 95%) в виде не совсем белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 99%; МС (ИЭР+) $m/z=387$ $[M+H]^+$.

(2S)-2-Амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропановая кислота; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 17)

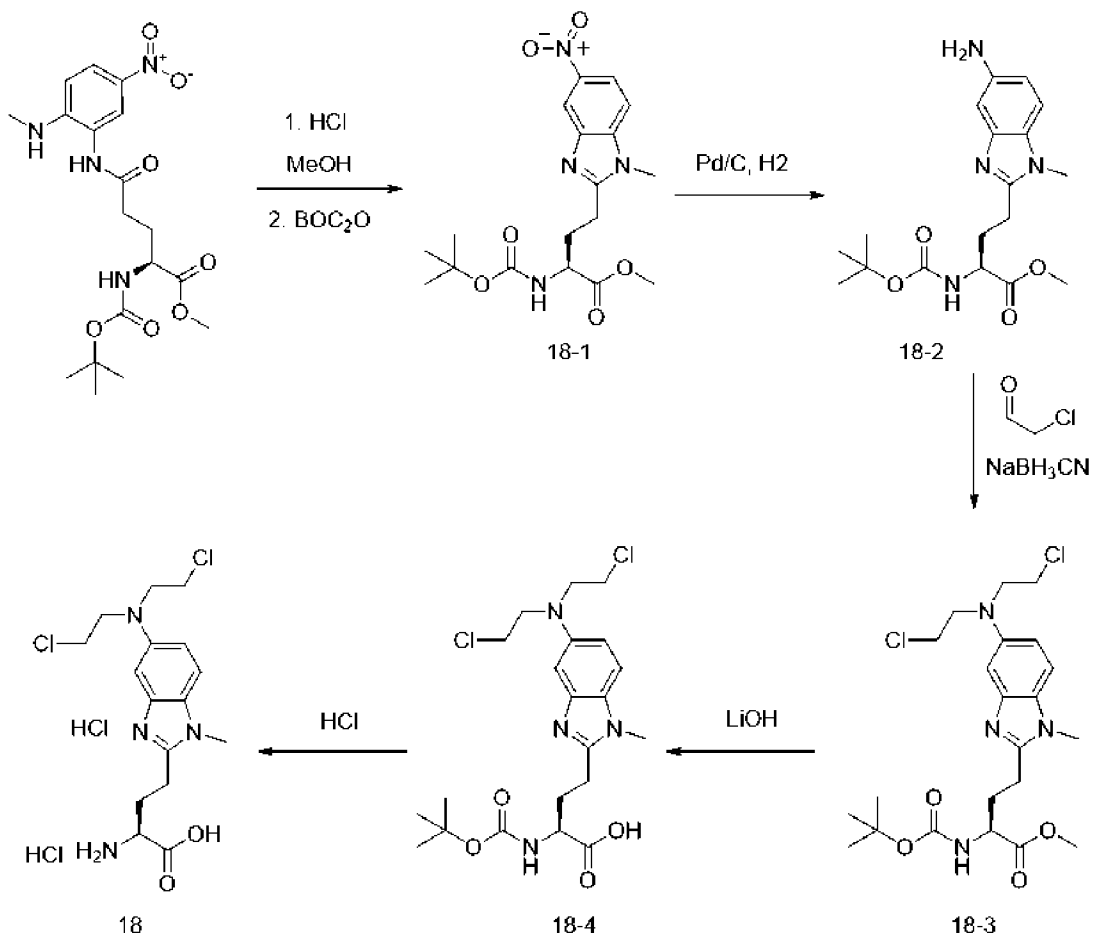
Этил (2S)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноат (30 мг, 0,064 ммоль) и 5 н. HCl (0,025 мл) перемешивали при комнатной температуре при 4 часов. Температуру медленно повышали до 60°C. Температуру доводили до 100°C и перемешивали в течение 30 минут. Реакционную смесь позволяли охладиться до кт и летучие вещества удаляли в вакууме. Неочищенное вещество очищали путем препаративной ВЭЖХ (кислый буфер; поток 25 мл/мин, градиент в течение 15 минут от 1%В до 28%В. Фракции собирали на основании УФ-сигнала при 236 нм), получая (2S)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропановой кислоты; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 17) (8 мг, 0,022 ммоль, выход 26%) в виде светло-розового твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 95%; МС (ИЭР+) $m/z=359$ $[M+H]^+$.

1H ЯМР (600 МГц, ДМСО- d_6) δ 14,90 (s, 1H), 8,93 (s, 3H), 7,75 (d, $J=9,2$ Гц, 1H), 7,15 (dd, $J=9,3, 2,4$ Гц, 1H), 6,91 (d, $J=2,3$ Гц, 1H), 4,65 (t, $J=7,6$ Гц, 1H), 3,84-3,71 (m, 13H).

Пример 18: (S)-2-амино-4-(5-(бис(2-хлорэтил)амино)-1-метил-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)бутановой кислоты дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 18)

Пример 18 синтезировали в соответствии со Схемой 7 ниже:

Схема 7



Этил (2*S*)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)бутаноат (соединение 18-1)

К раствору метил (2*S*)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-5-[2-(метиламино)-5-нитро-анилино]-5-оксо-пентаноата (Схема 1) (50 г, 98,2 ммоль) в MeOH (150 мл) добавляли водный хлористый водород (12,0 моль/л, 73,6 мл, 884 ммоль) и смесь перемешивали при 70 °С в течение 30 минут. Реакционную смесь растворяли водой (500 мл) и промывали EtOAc (2×150 мл). Водную фазу смешивали с EtOAc (300 мл) и нейтрализовали с твердым K₂CO₃ до получения значения pH 9-10. Водную фазу экстрагировали с помощью EtOAc (2×100 мл). Органические вещества высушивали над MgSO₄, фильтровали и упаривали при пониженном давлении, получая метил (2*S*)-2-амино-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)бутаноат (26,0 г, 82,7 ммоль, выход 84%) в виде красноватого твердого вещества. Неочищенное вещество использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 93%; МС (ИЭР+) m/z=293 [M+H]⁺.

К раствору метил (2*S*)-2-амино-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)бутаноата (26 г, 82,7 ммоль) в ТГФ (100 мл) добавляли триэтиламин (13,8 мл, 99,3 ммоль) и *трет*-бутоксикарбонил *трет*-бутил карбонат (20,9 мл, 91 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Неочищенное вещество концентрировали при пониженном давлении и растворяли с EtOAc (400 мл) и промывали 0,5 н. HCl (400 мл). Фазы разделяли и водную фазу экстрагировали с помощью EtOAc (2×200 мл).

Органические вещества высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и упаривали при пониженном давлении. Неочищенное вещество растворяли в небольшом количестве ТГФ и Et_2O добавляли. Смесь was охлаждали до $0^\circ C$ и оставляли отстаиваться в течение 30 минут. Твердое вещество фильтровали и промывали холодным Et_2O . Твердое вещество высушивали при пониженном давлении, получая этил (2*S*)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)бутаноат (27 г, 68,8 ммоль, выход 83%) в виде не совсем белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 100%; МС (ИЭР+) $m/z=393 [M+H]^+$.

Метил (2*S*)-4-(5-амино-1-метил-бензимидазол-2-ил)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноат (соединение 18-2)

Метил (2*S*)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)бутаноат (1,95 г, 4,97 ммоль) растворяли в $MeOH$ (15 мл) и помещали в Н-реактор. Добавляли 10% Pd/C (264 мг) и реактор герметизировали. Осуществляли продувку азотом. H_2 подавали в реактор под давлением 3 бар и реакционную смесь перемешивали при $35^\circ C$ в течение 2 ч. Водород удаляли с помощью продувки азотом. Катализатор удаляли путем фильтрации через целит. Растворитель упаривали и неочищенное вещество метил (2*S*)-4-(5-амино-1-метил-бензимидазол-2-ил)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноат (1,8 г, количественный выход) получали в виде не совсем белого (светло-розового) твердого вещества, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 95%; МС (ИЭР+) $m/z 363 [M+H]^+$.

Метил (2*S*)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноат (соединение 18-3)

2-Хлорацетальдегид (1,30 г, 1,05 мл, 8,28 ммоль, 50%, 10 экв.) добавляли к раствору метил (2*S*)-4-(5-амино-1-метил-бензимидазол-2-ил)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноата (300 мг, 0,83 ммоль), ТФУ (0,369 мл, 4,97 ммоль, 6 экв.) и $MeOH$ (10 мл). Реакционную смесь перемешивали при $0^\circ C$ в течение 15 минут, затем добавляли $NaBH_3CN$ (104 мг, 1,66 ммоль, 2 экв.) в течение 5 минут и смесь перемешивали при $0^\circ C$ в течение 20 мин. Добавляли воду (10 мл), $NaHCO_3$ (10 мл) и $EtOAc$ (10 мл) и слои распределяли. Водный слой экстрагировали с помощью $EtOAc$ (3×10 мл). Объединенные органическое слои промывали солевым раствором (2×20 мл), высушивали над безводным $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный остаток очищали на колонке с диоксидом кремния, элюируя продукт с помощью 80% $EtOAc$ в п-эфире. Фракции объединяли и концентрировали, получая метил (2*S*)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноат (207 мг, 0,425 ммоль, выход 51%). ВЭЖХ чистота: 93%; МС (ИЭР+) $m/z 487 [M+H]^+$.

(2*S*)-4-[5-[Бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбонил-амино)бутановая кислота (соединение 18-4)

Смесь метил (2*S*)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноата (207 мг, 0,425 ммоль) и $LiOH \cdot H_2O$ (54 мг, 1,27 ммоль) суспендировали в 1,4-диоксане (12 мл) и воду (4 мл). Реакционную смесь нагревали

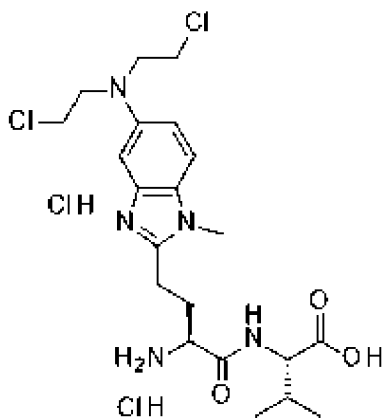
при 50°C в течение 20 мин. Раствор позволяли достичь кт и добавляли воду (20 мл). После этого смесь подкисляли с помощью 1 М НСl до рН 5 и продукт экстрагировали с помощью EtOAc (3×70 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (100 мл), высушивали над безводным MgSO₄, фильтровали и концентрировали на роторном испарителе, получая (2*S*)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбонил-амино)бутановую кислоту (188 мг, 0,397 ммоль, выход 94%). ВЭЖХ чистота: 95%; МС (ИЭР+) *m/z* 473 [M+H]⁺.

дигидрохлорид (S)-2-амино-4-(5-(бис(2-хлорэтил)амино)-1-метил-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)бутановой кислоты (Соединение согласно примеру 18)

(2*S*)-4-[5-[Бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбонил-амино)бутановой кислоты (188 мг, 0,397 ммоль) растворяли в дихлорметане (3 мл) и 4 М НСl в диоксане (1,0 мл) добавляли по каплям. Реакционную смесь перемешивали при кт в течение 3 ч, затем добавляли диэтиловый эфир (15 мл). При добавлении диэтилового эфира образовывался осадок, который выделяли путем фильтрации и высушивали в вакууме, получая дигидрохлорид (*S*)-2-амино-4-(5-(бис(2-хлорэтил)амино)-1-метил-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)бутановой кислоты (Соединение согласно примеру 18) (118 мг, 0,288 ммоль, выход 73%). ВЭЖХ чистота: 95%; МС (ИЭР+) *m/z* 373 [M+H]⁺.

¹H ЯМР (600 МГц, CD₃OD) δ 7,71 (d, *J*=9,3 Гц, 1H), 7,18 (dd, *J*=9,3, 2,4 Гц, 1H), 6,97 (d, *J*=2,4 Гц, 1H), 4,23 (dd, *J*=7,3, 5,5 Гц, 1H), 3,99 (s, 3H), 3,89 (t, *J*=6,8 Гц, 4H), 3,76 (t, *J*=6,7 Гц, 4H), 3,54-3,44 (m, 1H), 3,44-3,35 (m, 1H), 2,61-2,49 (m, 1H), 2,49-2,37 (m, 1H).

Пример 19: (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-3-метил-бутановая кислота; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 19)

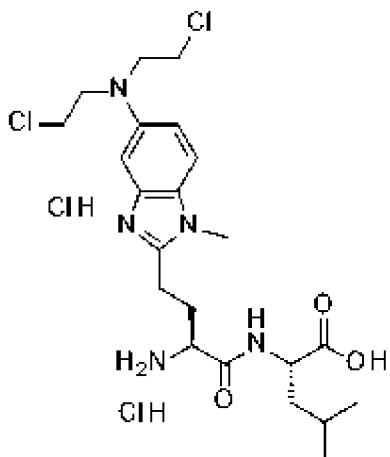


К раствору этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-3-метил-бутаноата; дигидрохлорида (Соединение согласно примеру 3) (15,3 мг, 0,0264 ммоль) в ТГФ:МеОН (2:1, 1 мл) добавляли раствор моногидрата гидроксида лития в воде (0,5 М, 0,0555 мл). Смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Образец фильтровали и очищали путем препаративной хроматографии (кислый буфер; поток 25 мл/мин, градиент в течение 15 минут от 2%В до 31%В. Фракции собирали на основании УФ-сигнала при 235 нм). НСl в этаноле (2,5М, 1

мл) добавляли к объединенным фракциям и образец сразу лиофилизировали, получая (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-3-метил-бутановой кислоты;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 19) (5,8 мг, 0,0106 ммоль, выход 40%) в виде белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 99%; МС (ИЭР+) $m/z=472$ $[M+H]^+$.

¹H ЯМР (600 МГц, ДМСО-d₆) δ 14,72 (s, 1H), 12,91 (s, 1H), 8,86 (d, $J=7,7$ Гц, 1H), 8,55 (d, $J=5,2$ Гц, 3H), 7,73 (d, $J=9,2$ Гц, 1H), 7,13 (dd, $J=9,4, 2,4$ Гц, 1H), 6,90 (d, $J=2,4$ Гц, 1H), 4,19 (dd, $J=7,7, 5,1$ Гц, 2H), 3,86 (s, 3H), 3,81 (t, $J=6,8$ Гц, 4H), 3,76 (t, $J=6,9$ Гц, 4H), 3,31 (h, $J=9,4$ Гц, 2H), 2,33 (ddd, $J=13,1, 9,4, 6,8$ Гц, 1H), 2,23 (ddt, $J=13,9, 9,5, 6,9$ Гц, 1H), 2,19-2,10 (m, 1H), 0,94 (dd, $J=6,9, 3,6$ Гц, 6H).

Пример 20: (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентановая кислота;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 20)

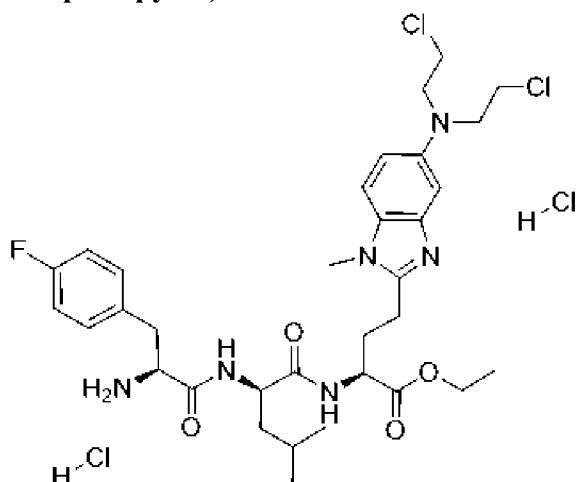


Этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 1) (15 мг, 0,0255 ммоль) растворяли в HCl (4М в диоксане, 0,319 мл) и перемешивали при комнатной температуре при 48 часов. Неочищенное вещество очищали путем препаративной хроматографии (кислый буфер; поток 25 мл/мин, градиент в течение 15 минут от 9%В до 42%В. Фракции собирали на основании УФ-сигнала при 235 нм), получая (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентановую кислоту;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 20) (7,3 мг, 0,013 ммоль, выход 51%) в виде белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 99%; МС (ИЭР+) $m/z=486$ $[M+H]^+$.

¹H ЯМР (600 МГц, ДМСО-d₆) δ 14,64 (s, 1H), 12,92 (s, 1H), 9,00 (d, $J=7,4$ Гц, 1H), 8,49 (d, $J=5,6$ Гц, 3H), 7,73 (d, $J=9,2$ Гц, 1H), 7,13 (d, $J=9,0$ Гц, 1H), 6,90 (d, $J=2,4$ Гц, 1H), 4,26 (ddd, $J=10,0, 7,3, 5,1$ Гц, 1H), 4,05-3,99 (m, 1H), 3,86 (s, 3H), 3,82 (t, $J=6,9$ Гц, 4H), 3,76 (d, $J=6,3$ Гц, 4H), 3,30 (s, 2H), 2,32 (p, $J=7,2$ Гц, 1H), 2,26-2,19 (m, 1H), 1,76-1,69 (m, 1H), 1,57 (pt, $J=9,4, 5,0$ Гц, 2H), 0,89 (dd, $J=24,6, 6,6$ Гц, 6H).

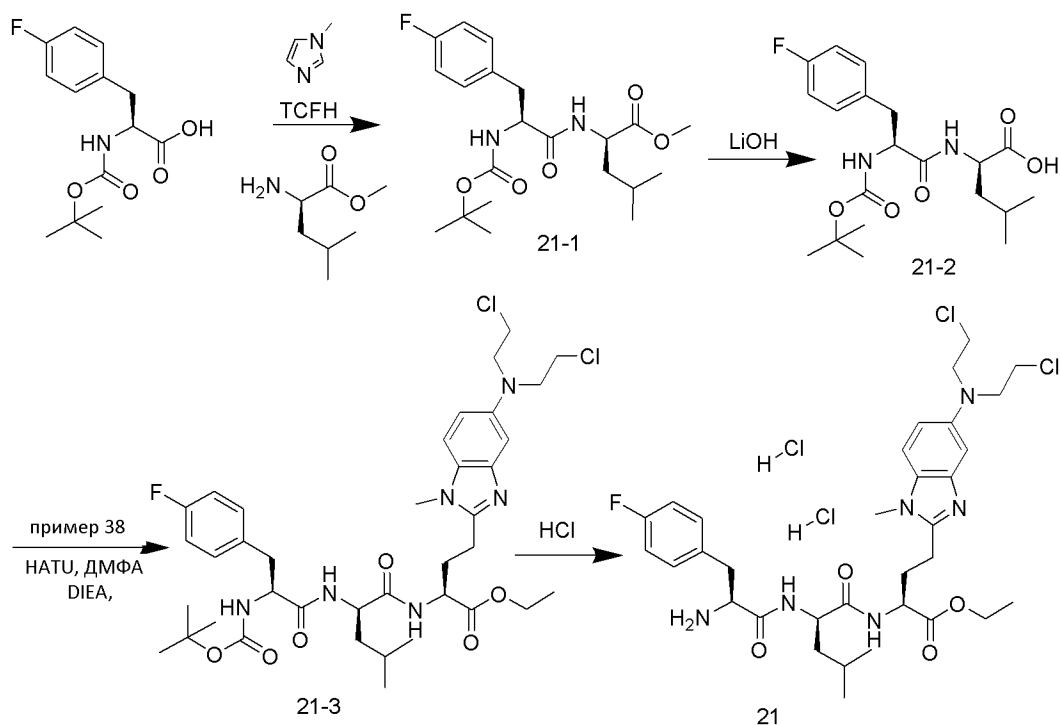
Пример 21: Этил (2*S*)-2-[[*(2R)*-2-[[*(2S)*-2-амино-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноил]амино]-4-[5-[бис(2-

хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 21)



Пример 21 синтезировали в соответствии со Схемой 8 ниже:

Схема 8



Метил (2R)-2-[[2(2S)-2-(*tert*-бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноат (соединение 21-1)

К раствору (2S)-2-(*tert*-бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропановой кислоты (500 мг, 0,00176 моль), метил (2R)-2-амино-4-метил-пентаноата;гидрохлорид (0,417 г, 0,00229 моль), 1-метилимидазола (0,436 мл, 0,00547 моль) в MeCN (8 мл) добавляли [хлор(диметиламино)метил]-диметил-аммоний;гексафторфосфат (0,545 г, 0,00194 моль) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. EtOAc (10 мл) добавляли затем добавляли H₂O (10 мл). Фазы разделяли и водную фазу промывали EtOAc (5 мл) и объединенную органическую фазу высушивали над MgSO₄, упаривали при пониженном давлении. Неочищенный продукт

абсорбировали на целите и очищали на флэш-системе Buchi Pure C-810 Flash (колонка 20 г, EtOAc:Петролейный эфир от 0:100 до 50:50), получая метил (2R)-2-[[[(2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноат (480 мг, 0,00117 моль, выход 66%) в виде белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 95%; МС (ИЭР+) m/z 411 [M+H]⁺.

(2R)-2-[[[(2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентановая кислота (соединение 21-2)

К раствору метил (2R)-2-[[[(2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноата (200 мг, 0,000487 моль) в ТГФ (10 мл) добавляли раствор моногидрата гидроксида лития (0,0215 г, 0,000512 моль) в воде (0,5 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа, затем добавляли EtOAc (10 мл), 1 н. HCl (0,5 мл) и H₂O (10 мл). Фазы разделяли и водную фазу дополнительно экстрагировали с помощью EtOAc (10 мл). Объединенную органическую фазу промывали солевым раствором (10 мл) и высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и упаривали при пониженном давлении, получая (2R)-2-[[[(2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентановой кислоты (0,185 г, 0,000467 моль, выход 96%) в виде бесцветного вязкого масла. ВЭЖХ чистота: 94%; МС (ИЭР+) m/z 341 [M-tBu]⁺.

Этил (2S)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноил]амино]бутаноат (соединение 21-3)

(2R)-2-[[[(2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метилпентановую кислоту (95,0 мг, 0,240 ммоль) в ДМФА (3,0 мл) при кт добавляли NATU (91,1 мг, 0,240 ммоль) и DIEA (0,0820 мл, 0,479 ммоль), затем добавляли этил (2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 38) (125 мг, 0,264 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь разводили H₂O и экстрагировали с помощью ДХМ. Органический слой высушивали (Na₂SO₄) и концентрировали в вакууме и очищали путем препаративной хроматографии. Чистые фракции лиофилизировали, получая этил (2S)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноил]амино]бутаноат (0,080 г, 0,103 ммоль, выход 43%) в виде белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 97%; МС (ИЭР+) m/z=779 [M+H]⁺.

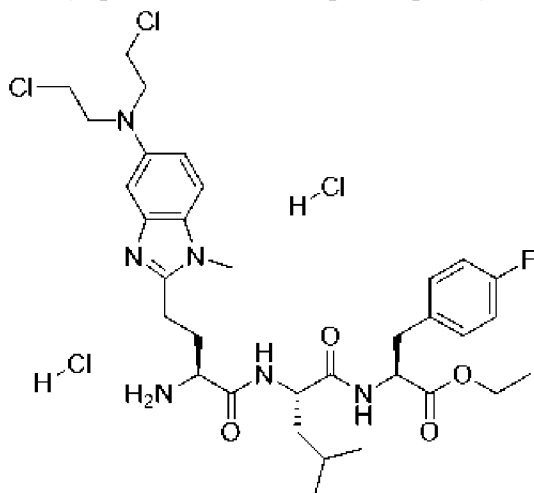
Этил (2S)-2-[[[(2R)-2-[[[(2S)-2-амино-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноил]амино]-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 21)

К этил (2S)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-[[[(2R)-2-[[[(2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноил]амино]бутаноату (80,0 мг, 0,103 ммоль) в EtOH (1 мл), добавляли HCl в диоксане (4,00 моль/л, 0,128 мл, 0,513 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в

течение ночи. После завершения реакции растворитель упаривали и неочищенное вещество очищали путем препаративной хроматографии. Чистые фракции собирали и лиофилизировали, получая этил (2S)-2-[[[(2R)-2-[[[(2S)-2-амино-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноил]амино]-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 21) (6 мг, 0,0079 ммоль, выход 8%) в виде белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 99%; МС (ИЭР+) $m/z=679$ $[M+H]^+$.

1H ЯМР (600 МГц, ДМСО- d_6) δ 14,15 (s, 1H), 8,80-8,64 (m, 2H), 8,06 (s, 3H), 7,38-7,22 (m, 2H), 7,22-7,08 (m, 2H), 6,95- 6,81 (m, 1H), 4,51-4,27 (m, 2H), 4,14-3,96 (m, 3H), 3,89-3,67 (m, 12H), 3,13 (s, 1H), 3,14 (m, 2H), 3,07 (dd, $J=14,3,4,9$ Гц, 1H), 2,87 (dd, $J=14,2, 8,3$ Гц, 1H), 2,35-2,25 (m, 1H), 2,21-2,07 (m, 1H), 1,76-1,60 (m, 1H), 1,58 -1,39 (m, 2H), 1,17 (t, $J=7,1$ Гц, 3H), 0,93 (d, $J=6,6$ Гц, 3H), 0,90 (d, $J=6,5$ Гц, 3H).

Пример 22: Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 22)

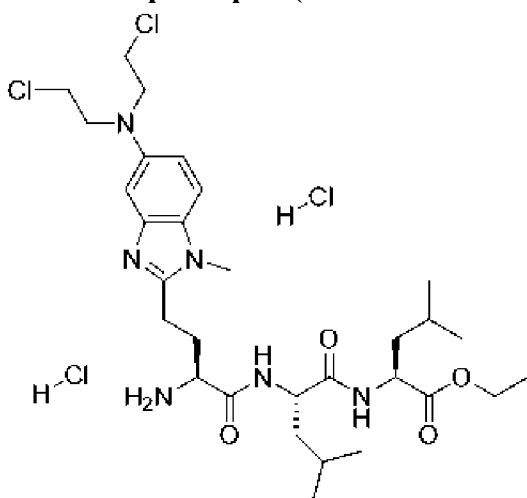


1-(3-Диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимид гидрохлорид (1,15 экв., 68 мг, 0,355 ммоль) добавляли к смеси 4-метилморфолина (1,15 экв., 0,039 мл, 0,355 ммоль), этил цианоглиоксилат-2-оксима (1,00 экв., 44 мг, 0,308 ммоль), этил (2S)-2-амино-3-(4-фторфенил)пропаноата (1,15 экв., 74,9 мг, 0,355 ммоль) и (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентановой кислоты (Соединение согласно примеру 20) (1,00 экв., 150 мг, 0,308 ммоль) в ДМФА (2 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. Добавляли воду и смесь экстрагировали с помощью ДХМ. Органическую фазу промывали 10% K_2HPO_4 и 10% NaCl, затем добавляли кислотную промывку, используя 0,25M HCl и 10% NaCl, пропускали через картридж для разделения фаз и упаривали. Неочищенное вещество очищали путем препаративной хроматографии, получая этил (2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 22) (4 мг, 0,0053 ммоль, выход 2%) в виде белого твердого вещества.

ВЭЖХ чистота: 99%; МС (ИЭР+) $m/z=679$ $[M+H]^+$.

1H ЯМР (600 МГц, ДМСО- d_6) δ 14,34 (br s, 1H), 8,72 (d, $J=7,7$ Гц, 2H), 8,34 (s, 3H), 7,68 (s, 1H), 7,25 (dd, $J=8,3, 5,5$ Гц, 2H), 7,01 (t, $J=8,7$ Гц, 2H), 6,90 (d, $J=2,4$ Гц, 1H), 4,43 (dq, $J=15,5, 7,7$ Гц, 2H), 4,05-3,96 (m, 2H), 3,95 (q, $J=6,5, 5,8$ Гц, 1H), 3,84-3,69 (m, 11H), 3,13-2,98 (m, 4H), 2,93 (dd, $J=13,9, 9,0$ Гц, 1H), 2,23 (dq, $J=13,4, 6,8, 6,1$ Гц, 1H), 2,10 (dd, $J=15,9, 8,1$ Гц, 1H), 1,69 (dp, $J=13,5, 6,7$ Гц, 1H), 1,47 (t, $J=7,4$ Гц, 2H), 1,08 (t, $J=7,1$ Гц, 3H), 0,91 (dd, $J=19,1, 6,5$ Гц, 6H).

Пример 23: Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноил]амино]-4-метил-пентаноат дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 23)

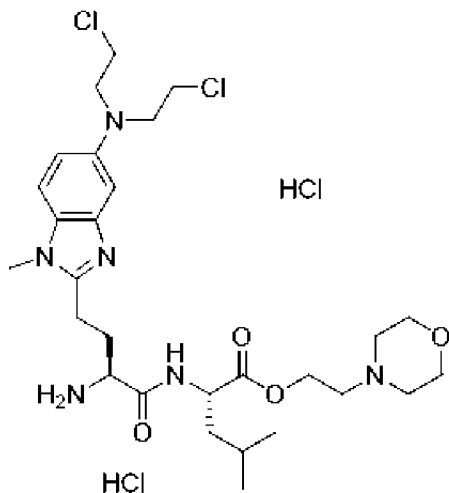


4-Метилморфолин (1,15 экв., 0,039 мл, 0,355 ммоль) добавляли к смеси (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентановой кислоты (Соединение согласно примеру 20) (1,00 экв., 150 мг, 0,308 ммоль), этил (2S)-2-амино-4-метил-пентаноата (1,15 экв., 56 мг, 0,355 ммоль), 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимид гидрохлорида (1,15 экв., 68 мг, 0,355 ммоль) и этил цианоглиоксилат-2-оксима (1,00 экв., 44 мг, 0,308 ммоль) в ДМФА (2 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. Добавляли воду, и смесь экстрагировали с помощью ДХМ. Органическую фазу промывали 10% K_2HPO_4 и 10% NaCl, затем добавляли кислотную промывку, используя 0,25M HCl и 10% NaCl, пропускали через картридж для разделения фаз и упаривали. Полученное неочищенное вещество очищали путем препаративной хроматографии, получая этил (2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноил]амино]-4-метил-пентаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 23) (5,1 мг, 0,00728 ммоль, выход 2%) в виде твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 95%; МС (ИЭР+) $m/z=627$ $[M+H]^+$.

1H ЯМР (600 МГц, ДМСО- d_6) δ 14,41 (br s, 1H), 8,76 (s, 1H), 8,54 (d, $J=7,6$ Гц, 1H), 8,24 (d, $J=123,3$ Гц, 3H), 7,70 (s, 1H), 6,90 (d, $J=2,3$ Гц, 1H), 6,57 (s, 1H), 4,39 (dt, $J=13,0, 6,5$ Гц, 1H), 4,27 (ddd, $J=10,6, 7,5, 4,9$ Гц, 1H), 4,10-4,00 (m, 2H), 3,97 (d, $J=7,5$ Гц, 1H), 3,91-3,71 (m, 11H), 3,1 (m, 2H), 2,25 (dt, $J=13,5, 7,2$ Гц, 1H), 2,13 (s, 1H), 1,73 (dt, $J=13,4, 6,3$ Гц, 1H),

1,64 (dd, J=13,9, 7,0 Гц, 1H), 1,53 (tddd, J=22,7, 14,1, 9,6, 5,1 Гц, 4H), 1,15 (t, J=7,1 Гц, 3H), 0,95 (d, J=6,5 Гц, 3H), 0,92 (d, J=6,5 Гц, 3H), 0,87 (d, J=6,6 Гц, 3H), 0,78 (d, J=6,5 Гц, 3H).

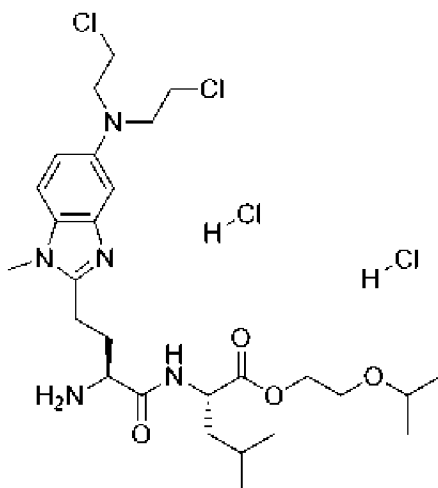
Пример 24: 2-Морфолиноэтил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 24)



(2S)-2-[[[(2S)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*мет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентановую кислоту; дигидрохлорид) (1,00 экв., 50 мг, 0,0758 ммоль) суспендировали в ТГФ (2 мл) и добавляли тионилхлорид (5,53 экв., 31 мкл, 0,420 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре при 30 минут и затем добавляли 4-(2-гидроксиэтил)морфолин (5,00 экв., 0,046 мл, 0,379 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. Реакционную смесь фильтровали и очищали путем препаративной хроматографии, получая 2-морфолиноэтил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат ; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 24) (6 мг, 0,0089 ммоль, выход 12%) в виде твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 99%; МС (ИЭР+) m/z=599 [M+H]⁺.

¹H ЯМР (600 МГц, ДМСО-d₆) δ 14,79 (s, 1H), 11,42 (s, 1H), 9,36 (d, J=7,3 Гц, 1H), 8,55 (s, 2H), 7,72 (s, 1H), 7,12 (s, 1H), 6,93 (s, 1H), 4,50 (s, 1H), 4,44 (td, J=13,5, 11,9, 5,2 Гц, 2H), 4,11 (s, 1H), 3,96-3,74 (m, 15H), 3,56 (s, 2H), 3,15 (s, 6H), 2,32 (q, J=7,6 Гц, 2H), 1,74 (dq, J=13,3, 6,6, 6,1 Гц, 1H), 1,63 (dddd, J=18,6, 13,8, 9,1, 4,6 Гц, 2H), 0,91 (dd, J=20,5, 6,5 Гц, 6H).

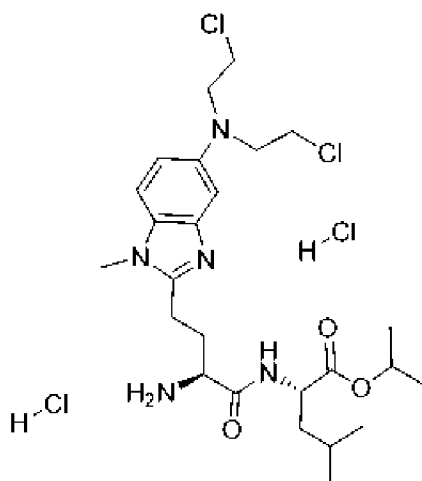
Пример 25: 2-Изопропоксиэтил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 25)



(2S)-2-[[[(2S)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентановую кислоту; дигидрохлорид (1,00 экв., 50 мг, 0,0758 ммоль) добавляли порциями к раствору моноизопропилового эфира этиленгликоля (5,00 экв., 0,042 мл, 0,379 ммоль) в MeCN (2 мл) и тионилхлориде (5,53 экв., 31 мкл, 0,420 ммоль) при $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Реакционной смеси позволяли достичь комнатной температуры и затем нагревали при $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 3 часов. Растворитель удаляли в вакууме в виде азеотропа с толуолом и затем высушивали с помощью высоковакуумного насоса. Полученное неочищенное вещество очищали путем препаративной хроматографии, получая 2-изопропоксиэтил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат]дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 25) (6,2 мг, 0,0096 ммоль, выход 12%) в виде твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 95%; МС (ИЭР+) $m/z=572$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

^1H ЯМР (600 МГц, ДМСО- d_6) δ 14,77 (s, 1H), 9,25 (d, $J=7,0$ Гц, 1H), 8,56 (s, 2H), 7,72 (s, 1H), 7,12 (s, 1H), 6,93 (dd, $J=10,1, 2,4$ Гц, 1H), 6,55 (s, 1H), 4,37-4,28 (m, 1H), 4,23 (dq, $J=8,1, 4,4, 3,9$ Гц, 1H), 4,09 (ddt, $J=13,8, 10,7, 5,5$ Гц, 2H), 3,90-3,74 (m, 11H), 3,54 (td, $J=8,6, 7,0, 3,6$ Гц, 3H), 2,36-2,24 (m, 2H), 1,77 (dd, $J=13,9, 6,7$ Гц, 1H), 1,60 (ddt, $J=28,1, 13,4, 8,4$ Гц, 2H), 1,05 (dd, $J=18,5, 6,1$ Гц, 6H), 0,91 (dd, $J=25,5, 6,5$ Гц, 6H). Один CH_2 скрыт под сигналом H_2O .

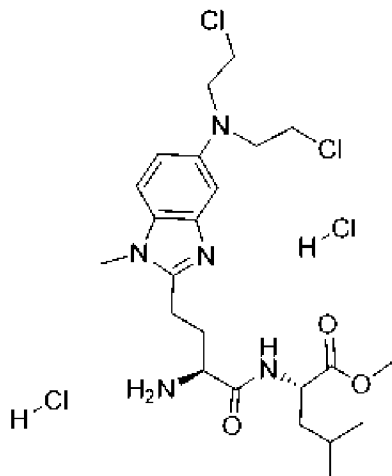
Пример 26: Изопропил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат]дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 26)



(2S)-2-[[[(2S)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(проп-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентановой кислоты, дигидрохлорид (1,00 экв., 50 мг, 0,0758 ммоль) добавляли порциями к раствору изопропанола (200 экв., 1,2 мл, 15,2 ммоль) и тионилхлорид (5,53 экв., 31 мкл, 0,420 ммоль) при -5°C . Реакционной смеси позволяли достичь комнатной температуры и ее перемешивали в течение 3 часов. Растворитель упаривали в виде азеотропа с толуолом и затем высушивали с помощью высоковакуумного насоса. Полученное неочищенное вещество очищали путем препаративной хроматографии, получая изопропил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 26) (32 мг, 0,053 ммоль, выход 69%) в виде не совсем белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 98%; МС (ИЭР+) $m/z=528$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

^1H ЯМР (600 МГц, ДМСО- d_6) δ 14,79 (s, 1H), 9,20 (d, $J=7,0$ Гц, 1H), 8,55 (s, 3H), 7,74 (d, $J=9,2$ Гц, 1H), 7,15 (d, $J=9,2$ Гц, 1H), 6,93 (s, 1H), 4,90 (p, $J=6,3$ Гц, 1H), 4,26 (dt, $J=11,0, 5,7$ Гц, 1H), 4,08 (s, 1H), 3,90 (s, 3H), 3,80 (dt, $J=33,7, 6,9$ Гц, 8H), 3,37-3,32 (m, 2H), 2,31 (dh, $J=22,0, 7,3$ Гц, 2H), 1,75 (p, $J=6,7$ Гц, 1H), 1,62 (ddd, $J=15,0, 10,2, 5,1$ Гц, 1H), 1,53 (ddd, $J=13,9, 9,2, 4,9$ Гц, 1H), 1,18 (dd, $J=11,4, 6,3$ Гц, 6H), 0,90 (dd, $J=27,2, 6,5$ Гц, 6H).

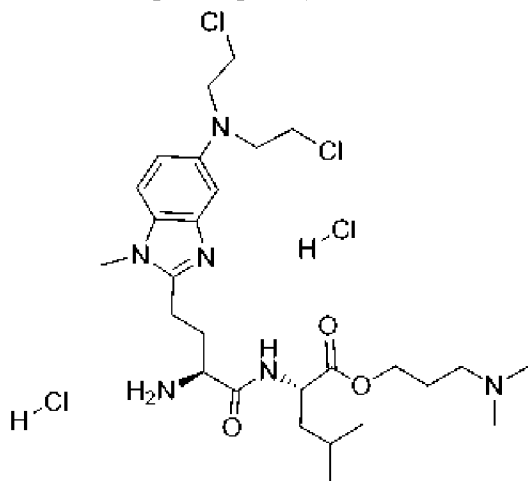
Пример 27- Метил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 27)



(2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентановую кислоту (Соединение согласно примеру 20) (1,00 экв., 35 мг, 0,06260 ммоль) растворяли в 0,4 мл MeOH (137 экв.). К раствору при комнатной температуре добавляли по каплям тионилхлорид (5,72 экв., 30 мкл, 0,411 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4,5 часов. Неочищенную реакционную смесь очищали путем препаративной хроматографии, получая метил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 27) (14 мг, 0,0244 ммоль, выход 33%) в виде не совсем белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 97%; МС (ИЭР+) $m/z=500$ $[M+H]^+$.

1H ЯМР (600 МГц, ДМСО- d_6) δ 14,86 (s, 1H), 9,32 (d, $J=7,1$ Гц, 1H), 8,61 (s, 3H), 7,74 (d, $J=9,2$ Гц, 1H), 7,15 (d, $J=9,2$ Гц, 1H), 6,94 (s, 1H), 4,33 (dt, $J=11,1, 5,5$ Гц, 1H), 4,10 (s, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,80 (dt, $J=33,0, 6,9$ Гц, 8H), 3,65 (s, 3H), 3,35 (h, $J=10,1, 8,5$ Гц, 2H), 2,33 (ddq, $J=30,2, 15,1, 7,5$ Гц, 2H), 1,75 (p, $J=6,7$ Гц, 1H), 1,65 (td, $J=12,2, 10,3, 5,1$ Гц, 1H), 1,54 (ddd, $J=14,2, 9,6, 4,7$ Гц, 1H), 0,90 (dd, $J=23,3, 6,5$ Гц, 6H).

Пример 28-3-(Диметиламино)пропил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 28)

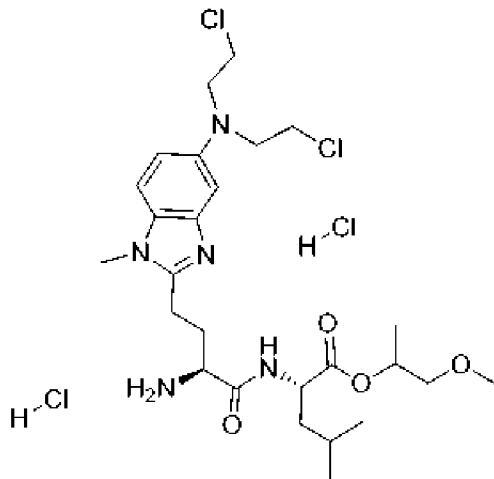


Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 1) (1,00 экв., 50 мг, 0,0851 ммоль) растворяли в ТГФ (1 мл). Добавляли HCl (4M в EtOAc) (10,0 экв., 0,21 мл, 0,851 ммоль), затем добавляли 3-диметиламино-1-пропанол (10,0 экв., 0,10 мл, 0,851 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 80°C в течение 4 часов. Смесь фильтровали и очищали путем препаративной хроматографии, получая 3-(диметиламино)пропил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 28) (2 мг, 0,0031 ммоль, выход 3%) в виде не совсем белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 95%; МС (ИЭР+) $m/z=571$ $[M+H]^+$.

1H ЯМР (600 МГц, ДМСО- d_6) δ 15,9 (br s, 1H), 10,7 (br s, 1H), 9,43 (d, $J=7,1$ Гц, 1H), 8,55 (d, $J=73,7$ Гц, 3H), 7,79 (m, 1H), 6,93 (s, 1H), 4,34 (s, 1H), 4,18-4,12 (m, 2H), 3,76 (s, 11H),

3,09 (s, 1H), 2,73 (d, J=20,6 Гц, 6H), 2,34 (s, 1H), 2,01 (q, J=7,8, 7,3 Гц, 2H), 1,81-1,52 (m, 4H), 1,23 (s, 4H), 0,97-0,89 (m, 6H).

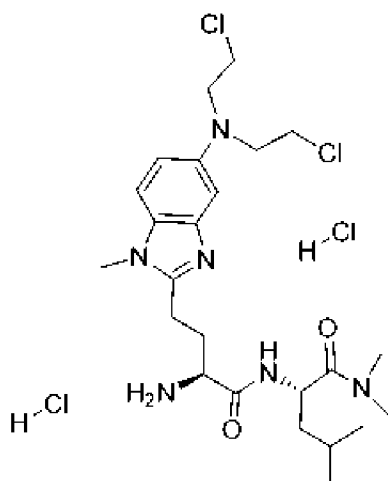
Пример 29 - (2-Метокси-1-метил-этил) (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 29)



(2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентановую кислоту;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 20) (1,0 экв., 36 мг, 0,0644 ммоль) растворяли в 1-метокси-2-пропанол (55 экв., 0,40 мл, 4,07 ммоль) и по каплям добавляли тионилхлорид (5,6 экв., 30 мкл, 0,411 ммоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа и затем нагревали при 40°C в течение 21 часов. Неочищенную реакционную смесь очищали путем препаративной хроматографии, получая (2-метокси-1-метил-этил) (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 29) (2,7 мг 0,0043 ммоль, выход 6%) в виде не совсем белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 99%; МС (ИЭР+) m/z=558 [M+H]⁺.

¹H ЯМР (600 МГц, ДМСО-d₆) δ 14,88 (s, 1H), 9,30 (p, J=6,1 Гц, 1H), 8,60 (s, 3H), 7,75 (d, J=9,2 Гц, 1H), 7,15 (d, J=9,1 Гц, 1H), 6,94 (s, 1H), 4,96 (dtd, J=16,3, 6,5, 4,0 Гц, 1H), 4,28 (qd, J=11,2, 10,4, 6,1 Гц, 1H), 4,13-4,05 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,83 (t, J=6,8 Гц, 4H), 3,78 (t, J=6,5 Гц, 4H), 3,40-3,33 (m, 4H), 3,22 (d, J=13,7 Гц, 3H), 2,34 (dd, J=18,1, 9,2 Гц, 2H), 1,77 (td, J=9,9, 9,3, 4,6 Гц, 1H), 1,62 (ddd, J=15,1, 12,3, 7,7 Гц, 1H), 1,53 (ddt, J=13,8, 9,6, 4,8 Гц, 1H), 1,14 (dd, J=11,9, 6,5 Гц, 3H), 0,90 (dd, J=26,5, 6,6 Гц, 6H).

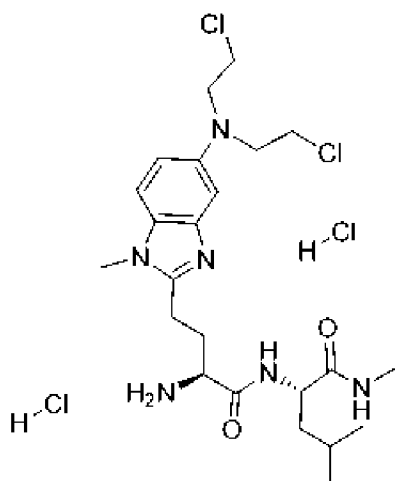
Пример 30 - (2S)-2-[[[(2S)-2-Амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-N,N,4-триметил-пентанамид;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 30)



3-(3-Диметиламинопропил)-1-этил-карбодиимид гидрохлорид (1,15 экв., 59 мг, 0,308 ммоль) добавляли к смеси (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентановой кислоты]дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 20) (1,00 экв., 150 мг, 0,268 ммоль), диметиламин гидрохлорида (1,15 экв., 25 мг, 0,308 ммоль), этил (2E)-циано(гидроксиимино)ацетата (1,00 экв., 38 мг, 0,268 ммоль) и N-метилморфолина (2,00 экв., 0,059 мл, 0,536 ммоль) в ДМФА (1 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. Добавляли воду и ДХМ, и смесь два раза экстрагировали с помощью 10% K_2HPO_4 и 10% NaCl, затем добавляли кислотную промывку, используя 0,25M HCl и 10% NaCl. Органическую фазу концентрировали и полученное неочищенное вещество очищали путем препаративной хроматографии, получая (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-N,N,4-триметил-пентанамид]дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 30) (13 мг, 0,022 ммоль, выход 8%) в виде твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 95%; МС (ИЭР+) $m/z=513 [M+H]^+$.

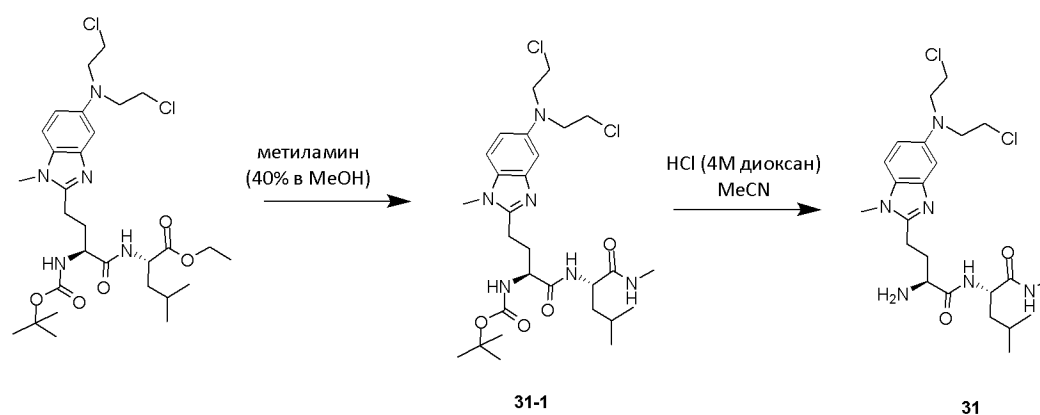
1H ЯМР (600 МГц, ДМСО- d_6) δ 14,63 (s, 1H), 8,87 (s, 1H), 8,51 (s, 3H), 7,73 (s, 1H), 7,14 (s, 1H), 6,91 (d, $J=2,4$ Гц, 1H), 4,72 (ddd, $J=11,0, 7,5, 3,6$ Гц, 1H), 4,00 (s, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,82 (d, $J=6,7$ Гц, 4H), 3,77 (t, $J=6,4$ Гц, 4H), 3,3 (m, 2H), 3,04 (s, 3H), 2,84 (s, 3H), 2,39-2,30 (m, 1H), 2,19 (dq, $J=14,3, 7,3$ Гц, 1H), 1,75-1,67 (m, 1H), 1,50 (ddd, $J=14,7, 10,8, 4,2$ Гц, 1H), 1,39 (ddd, $J=13,7, 9,8, 3,6$ Гц, 1H), 0,92 (t, $J=6,1$ Гц, 6H).

Пример 31 - (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-N,4-диметил-пентанамид]дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 31)



Пример 31 синтезировали в соответствии со Схемой 9 ниже:

Схема 9



***трет*-Бутил N-[(1S)-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-1-[[[(1S)-3-метил-1-(метилкарбамоил)бутил]карбамоил]пропил]карбамат; дигидрохлорид (соединение 31-1)**

Этил (2S)-2-[[[(2S)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-ил]-2-[[[(1S)-3-метил-1-(метилкарбамоил)бутил]карбамоил]пропил]карбамат; дигидрохлорид (35 мг, 0,0586 ммоль, выход 64%) в виде белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 99%; МС (ИЭР+) $m/z=599$ $[M+H]^+$.

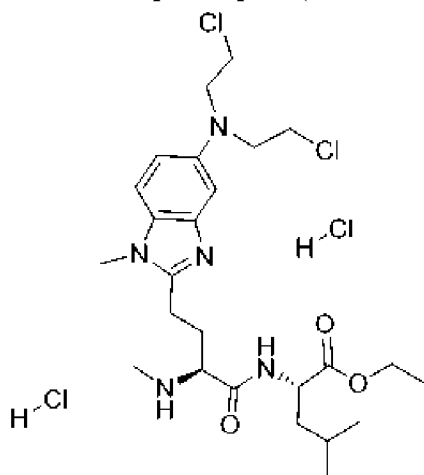
(2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-N,4-диметил-пентанамид; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 31)

трет-Бутил N-[(1S)-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-1-

[[*(1S)*-3-метил-1-(метилкарбамоил)бутил]карбамоил]пропил]карбамат (35 мг, 0,0586 ммоль) растворяли в MeCN (1 мл). Добавляли хлористоводородную кислоту (4М в диоксане) (0,15 мл, 0,586 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре при 3 часов. Реакционную смесь очищали путем препаративной хроматографии, получая (*2S*)-2-[[*(2S)*-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-*N*,4-диметил-пентанамид;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 31) (14 мг, 0,024 ммоль, выход 40%) в виде не совсем белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 95%; МС (ИЭР+) $m/z=499$ $[M+H]^+$.

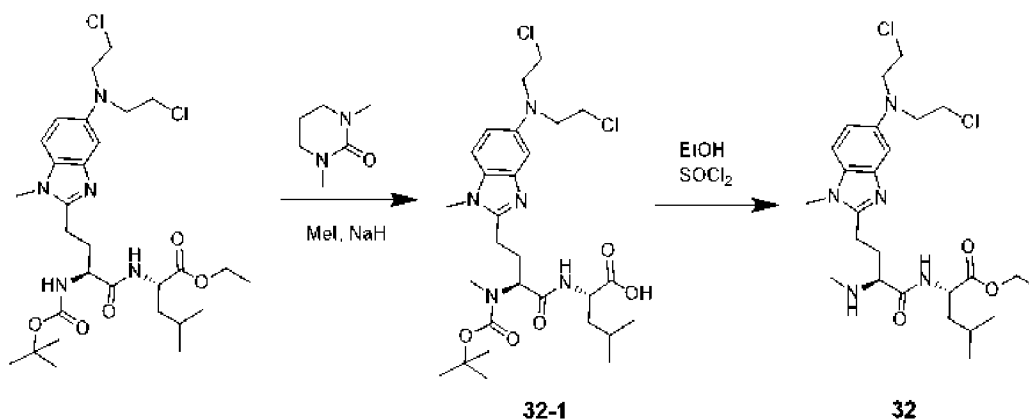
1H ЯМР (600 МГц, ДМСО- d_6) δ 14,62 (s, 1H), 8,79 (s, 1H), 8,48 (s, 3H), 8,18 (q, $J=4,6$ Гц, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,15 (s, 1H), 6,91 (d, $J=2,4$ Гц, 1H), 4,29 (ddd, $J=10,0, 7,6, 5,0$ Гц, 1H), 3,98 (s, 1H), 3,90 (s, 3H), 3,82 (s, 4H), 3,77 (t, $J=6,4$ Гц, 4H), 3,3 (m, 2H), 2,59 (d, $J=4,6$ Гц, 3H), 2,33 (s, 1H), 2,21 (dq, $J=14,0, 7,2$ Гц, 1H), 1,66 (dt, $J=13,3, 6,5$ Гц, 1H), 1,52 (ddd, $J=14,7, 10,0, 5,1$ Гц, 1H), 1,43 (ddd, $J=13,8, 9,0, 5,1$ Гц, 1H), 0,90 (dd, $J=15,6, 6,6$ Гц, 6H).

Пример 32 - Этил (*2S*)-2-[[*(2S)*-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(метиламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 32)



Пример 32 синтезировали в соответствии со Схемой 10 ниже:

Схема 10



(*2S*)-2-[[*(2S)*-4-[5-[бис(2-Хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-[трет-бутоксикарбонил(метил)амино]бутаноил]амино]-4-метил-пентановая кислота

(соединение 32-1)

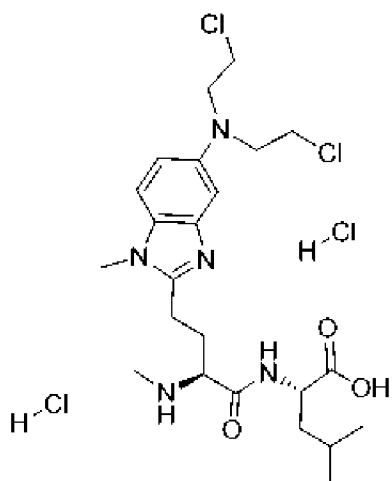
К раствору этил (2S)-2-[[[(2S)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноата (стадия 4, в пути синтеза для получения Соединения согласно примеру 1) (300 мг, 0,488 ммоль) в безводном ТГФ (3 мл) добавляли гидрид натрия (50%; 59 мг, 1,46 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре до окончания выделения газа. К реакционной смеси добавляли 1,3-диметил-3,4,5,6-тетрагидро-2(1H)-пиримидинон (0,12 мл, 1,03 ммоль), затем добавляли йодметан (0,27 мл, 4,39 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь закаливали осторожно водой и очищали путем препаративной хроматографии, получая (2S)-2-[[[(2S)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-[*трет*-бутоксикарбонил(метил)амино]бутаноил]амино]-4-метил-пентановой кислоты (105 мг, 0,175 ммоль, выход 36%) в виде белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 99%; МС (ИЭР+) $m/z=600$ [M+H]⁺.

Этил (2S)-2-[[[(2S)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(метиламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 32)

(2S)-2-[[[(2S)-4-[5-[бис(2-Хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-[*трет*-бутоксикарбонил(метил)амино]бутаноил]амино]-4-метил-пентановую кислоту (42 мг, 0,0699 ммоль) добавляли порциями к раствору этанола (2 мл) и тионилхлорида (31 мкл, 0,420 ммоль) при -5 °С. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре при 5 минут и затем нагревали в колбе с обратным холодильником в течение 2 часов. Реакционной смеси позволяли достичь температуры и растворитель упаривали в вакууме в виде азеотропа с толуолом, а после этого высушивали с помощью высоковакуумного насоса. Неочищенное вещество очищали путем препаративной хроматографии, получая этил (2S)-2-[[[(2S)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(метиламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 32) (25 мг, 0,041 ммоль, выход 59%) в виде не совсем белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 99%; МС (ИЭР+) $m/z=528$ [M+H]⁺.

¹H ЯМР (600 МГц, ДМСО-d₆) δ 14,84 (s, 1H), 9,43 (d, J=7,0 Гц, 3H), 7,73 (d, J=9,2 Гц, 1H), 7,14 (d, J=9,4 Гц, 1H), 6,93 (d, J=2,5 Гц, 1H), 4,35 (ddd, J=11,0, 7,0, 4,7 Гц, 1H), 4,12 (p, J=7,0 Гц, 2H), 4,04 (dd, J=8,0, 4,8 Гц, 1H), 3,90 (s, 3H), 3,83 (t, J=6,8 Гц, 4H), 3,77 (t, J=6,5 Гц, 4H), 3,30 (t, J=8,4 Гц, 2H), 2,55 (s, 3H), 2,47 (dd, J=8,5, 4,9 Гц, 1H), 2,28 (dq, J=14,8, 7,9 Гц, 1H), 1,69 (dddd, J=39,0, 15,1, 9,7, 5,6 Гц, 2H), 1,57 (ddd, J=13,8, 9,2, 4,8 Гц, 1H), 1,19 (t, J=7,1 Гц, 3H), 0,91 (dd, J=26,6, 6,5 Гц, 6H).

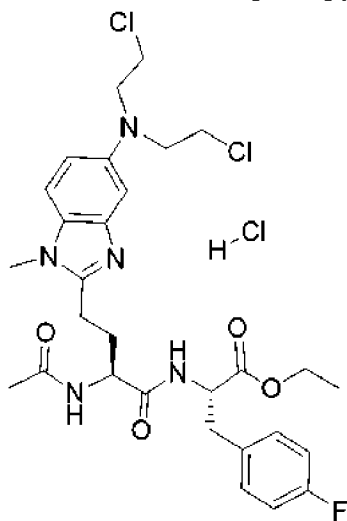
Пример 33: (2S)-2-[[[(2S)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(метиламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентановая кислота; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 33)



(2S)-2-[[[(2S)-4-[5-[бис(2-Хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-[(проп-1-ен-1-ил)амино]бутаноил]амино]-4-метил-пентановую кислоту (соединение 32-1) (12 мг, 0,0200 ммоль) растворяли в этаноле (1 мл). Добавляли HCl (4M в диоксане) (50 мкл, 0,200 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. Реакционную смесь фильтровали и очищали путем препаративной хроматографии, получая (2S)-2-[[[(2S)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(метиламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентановую кислоту;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 33) (4 мг, 0,0069 ммоль, выход 34%) в виде не совсем белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 97%; МС (ИЭР+) $m/z=500$ $[M+H]^+$.

1H ЯМР (600 МГц, ДМСО- d_6) δ 14,43 (s, 1H), 13,03 (s, 1H), 9,13 (s, 2H), 7,63 (s, 1H), 7,16-6,98 (m, 1H), 6,92 (d, $J=2,4$ Гц, 1H), 4,34 (q, $J=7,5$ Гц, 1H), 3,95 (dd, $J=7,8, 4,7$ Гц, 1H), 3,87-3,72 (m, 1H), 3,14 (s, 3H), 2,57 (s, 3H), 2,44-2,36 (m, 1H), 2,21 (ddt, $J=19,1, 13,7, 5,8$ Гц, 1H), 1,70 (dp, $J=13,2, 6,6$ Гц, 1H), 1,62 (t, $J=7,4$ Гц, 2H), 0,92 (dd, $J=28,5, 6,5$ Гц, 6H).

Пример 34: Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-ацетиламино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат;гидрохлорид (Соединение согласно примеру 34)

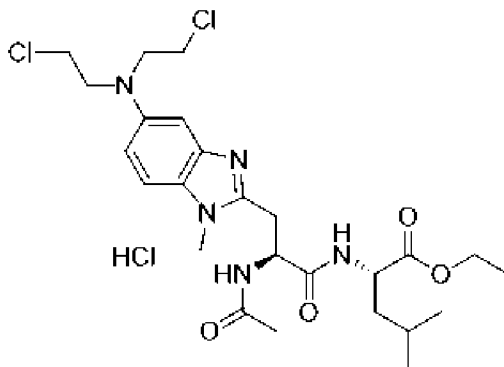


Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-

ил]бутаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат;гидрохлорид (Соединение согласно примеру 2) (15 мг, 0,0233 ммоль) растворяли в ацетонитриле (1 мл). Добавляли *N,N*-диизопропилэтиламин (0,00553 мл, 0,0317 ммоль), затем добавляли ацетил хлорид (0,00227 мл, 0,0318 ммоль) и реакцию смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. Реакционную смесь очищали путем препаративной хроматографии, получая этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-ацетиамидо-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат;гидрохлорид (Соединение согласно примеру 34) (7 мг, 0,0108 ммоль, выход 41%) в виде не совсем белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 99%; МС (ИЭР+) $m/z=608$ [M+H]⁺.

¹H ЯМР (600 МГц, ДМСО-d₆) δ 14,20 (s, 1H), 8,49 (d, J=7,2 Гц, 1H), 8,18 (d, J=8,3 Гц, 1H), 7,70 (d, J=9,1 Гц, 1H), 7,29-7,19 (m, 2H), 7,14-7,04 (m, 3H), 6,86 (d, J=2,4 Гц, 1H), 4,40 (dtd, J=20,2, 8,2, 6,1 Гц, 2H), 4,00 (qd, J=7,2, 2,2 Гц, 2H), 3,84-3,74 (m, 11H), 3,05 (q, J=9,3, 8,4 Гц, 2H), 3,00-2,88 (m, 2H), 2,09 (ddd, J=13,9, 8,2, 4,3 Гц, 1H), 2,04-1,94 (m, 1H), 1,76 (s, 3H), 1,06 (t, J=7,1 Гц, 3H).

Пример 35: Этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-ацетиамидо-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-4-метил-пентаноат;гидрохлорид (Соединение согласно примеру 35)

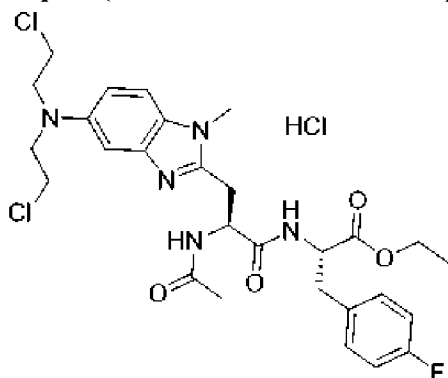


Этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-4-метил-пентаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 4) (11 мг, 0,0182 ммоль) растворяли в ацетонитриле (1 мл). Добавляли *N,N*-диизопропилэтиламин (0,00381 мл, 0,0219 ммоль), затем добавляли ацетил хлорид (0,00156 мл, 0,0219 ммоль) и реакцию смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. Реакционную смесь очищали путем препаративной хроматографии, получая этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-ацетиамидо-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-4-метил-пентаноат;гидрохлорид (Соединение согласно примеру 35) (8 мг, 0,0138 ммоль, выход 76%) в виде белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 99%; МС (ИЭР+) $m/z=542$ [M+H]⁺.

¹H ЯМР (600 МГц, ДМСО-d₆) δ 14,16 (s, 1H), 8,56 (d, J=7,7 Гц, 1H), 8,41 (d, J=8,2 Гц, 1H), 7,72 (d, J=9,2 Гц, 1H), 7,12 (dd, J=9,2, 2,4 Гц, 1H), 6,87 (d, J=2,3 Гц, 1H), 4,83 (td, J=8,0, 6,5 Гц, 1H), 4,26 (ddd, J=9,8, 7,6, 5,2 Гц, 1H), 4,00 (qd, J=7,2, 1,2 Гц, 2H), 3,91 (s, 3H), 3,81 (dd, J=8,9, 6,4 Гц, 4H), 3,76 (t, J=6,1 Гц, 4H), 3,29 (dd, J=15,0, 7,8 Гц, 2H), 1,80 (s, 3H), 1,61-1,49 (m, 2H), 1,46 (ddd, J=13,7, 8,9, 5,1 Гц, 1H), 1,11 (t, J=7,1 Гц, 3H), 0,83 (dd, J=25,2, 6,4 Гц,

6H).

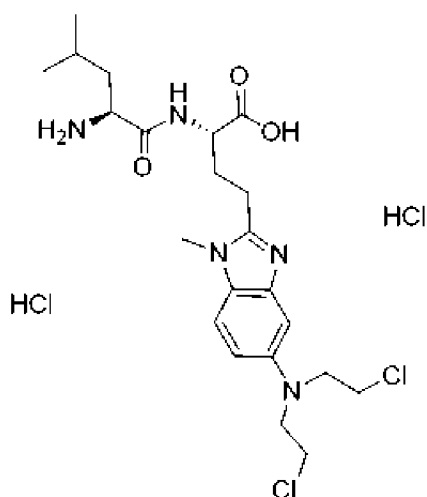
Пример 36: Этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-ацетиламино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат; гидрохлорид (Соединение согласно примеру 36)



Этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 5) (15 мг, 0,0228 ммоль) растворяли в ацетонитриле (1 мл). Добавляли *N,N*-диизопропилэтиламин (0,00476 мл, 0,0273 ммоль) затем добавляли ацетил хлорид (0,00195 мл, 0,0273 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. Реакционную смесь очищали путем препаративной хроматографии, получая этил (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-ацетиламино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат; гидрохлорид (Соединение согласно примеру 36) (10,6 мг, 0,0168 ммоль, выход 71%) в виде белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 97%; МС (ИЭР+) $m/z=594$ $[M+H]^+$.

^1H ЯМР (600 МГц, ДМСО- d_6) δ 14,18 (s, 1H), 8,62 (d, $J=7,6$ Гц, 1H), 8,34 (d, $J=8,2$ Гц, 1H), 7,71 (d, $J=9,2$ Гц, 1H), 7,24-7,18 (m, 2H), 7,12 (dd, $J=9,2, 2,4$ Гц, 1H), 7,10-7,03 (m, 2H), 6,86 (d, $J=2,4$ Гц, 1H), 4,83 (td, $J=8,0, 6,5$ Гц, 1H), 4,45 (td, $J=8,0, 6,1$ Гц, 1H), 3,97 (qd, $J=7,1, 2,1$ Гц, 2H), 3,88 (s, 3H), 3,85-3,79 (m, 4H), 3,75 (t, $J=7,1$ Гц, 4H), 3,25 (dd, $J=15,0, 7,9$ Гц, 2H), 3,01-2,89 (m, 2H), 1,79 (s, 3H), 1,04 (t, $J=7,1$ Гц, 3H).

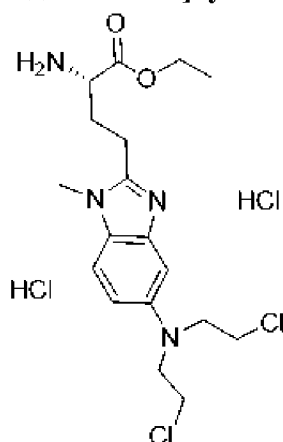
Пример 37: (2*S*)-2-[[*(2S)*-2-Амино-4-метил-пентаноил]амино]-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутановая кислота; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 37)



К раствору этил (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-амино-4-метил-пентаноил]амино]-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноата;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 7) (6 мг, 0,0102 ммоль) в ТГФ:МеОН (2:1, 1 мл) добавляли раствор моногидрата гидроксида лития в воде (0,5 М, 0,0238 мл). Смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, и затем фильтровали и очищали путем препаративной хроматографии, получая (2*S*)-2-[[[(2*S*)-2-амино-4-метил-пентаноил]амино]-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутановой кислоты;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 37) (1 мг, 0,00177 ммоль, выход 16%) в виде белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 99%; МС (ИЭР+) $m/z=486$ $[M+H]^+$.

^1H ЯМР (600 МГц, ДМСО- d_6) δ 14,50 (s, 1H), 13,04 (s, 1H), 9,14 (d, $J=8,0$ Гц, 1H), 8,38 (d, $J=5,4$ Гц, 3H), 7,73 (d, $J=9,2$ Гц, 1H), 7,13 (dd, $J=9,3, 2,4$ Гц, 1H), 6,88 (d, $J=2,4$ Гц, 1H), 4,37 (td, $J=8,8, 4,0$ Гц, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,86 (q, $J=6,6$ Гц, 1H), 3,81 (t, $J=6,8$ Гц, 4H), 3,76 (t, $J=6,6$ Гц, 4H), 3,32-3,22 (m, 2H), 2,36 (t, $J=8,8$ Гц, 1H), 2,12 (ddt, $J=14,0, 9,2, 4,7$ Гц, 1H), 1,69 (dq, $J=13,3, 6,6$ Гц, 1H), 1,59 (dt, $J=13,9, 7,1$ Гц, 1H), 1,51 (dt, $J=14,2, 7,4$ Гц, 1H), 0,90 (dd, $J=22,4, 6,5$ Гц, 6H).

Пример 38: Этил (2*S*)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 38)

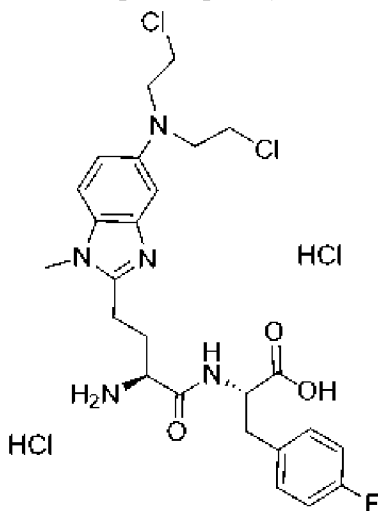


К раствору этил (2*S*)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноата (синтезированного в соответствии со Схемой 6, используя этил (2*S*)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-

2ил)бутаноат, представленный на Схеме 1 в качестве исходного вещества) (559 мг, 1,06 ммоль, 95% чистота) в EtOH (5 мл), добавляли хлористый водород в диоксане (4,00 моль/л, 2,65 мл, 10,6 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 3 часов. Растворители упаривали при пониженном давлении, получая неочищенный продукт, который очищали путем препаративной хроматографии, получая этил (2*S*)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 38) (416 мг, 0,877 ммоль, выход 83%) в виде белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 99%; МС (ИЭР+) $m/z=401$ [M+H]⁺.

¹H ЯМР (600 МГц, ДМСО-d₆) δ 14,81 (s, 1H), 8,86 (s, 3H), 7,85-7,68 (m, 1H), 7,15 (d, J=9,6 Гц, 1H), 6,92 (d, J=5,0 Гц, 1H), 4,27 (s, 1H), 4,21 (t, J=6,5 Гц, 2H), 3,93 (t, J=4,4 Гц, 3H), 3,84 (q, J=6,0 Гц, 4H), 3,78 (t, J=5,8 Гц, 4H), 3,36 (dq, J=16,9, 6,1 Гц, 2H), 2,44-2,31 (m, 2H), 1,25 (q, J=6,3 Гц, 3H).

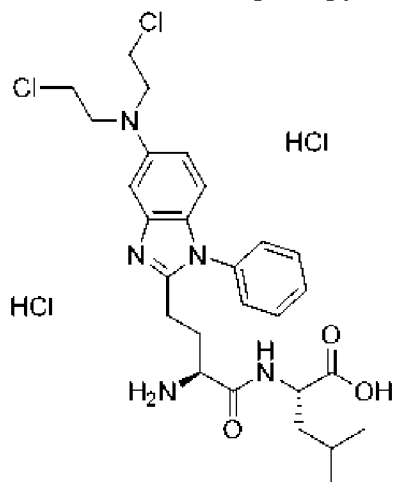
Пример 39: (2*S*)-2-[[*(2S)*]-2-Амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропановая кислота; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 39)



Этил (2*S*)-2-[[*(2S)*]-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 2) (10,2 мг, 0,015 ммоль) растворяли в HCl (4М в диоксане, 0,0758 мл) и перемешивали при комнатной температуре при 48 часов. Реакционную смесь очищали путем препаративной хроматографии, получая (2*S*)-2-[[*(2S)*]-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропановой кислоты; дигидрохлорид бутаноат (Соединение согласно примеру 39) (2,3 мг, 0,00348 ммоль, выход 25%) в виде белого твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 99%; МС (ИЭР+) $m/z=538$ [M+H]⁺.

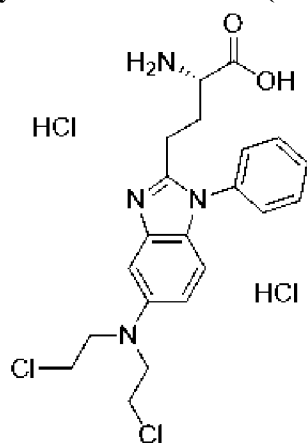
¹H ЯМР (600 МГц, ДМСО-d₆) δ 14,74 (s, 1H), 13,10 (s, 1H), 9,23 (s, 1H), 8,54 (s, 3H), 7,73 (d, J=9,3 Гц, 1H), 7,36 (ddd, J=8,1, 5,6, 2,1 Гц, 2H), 7,16-7,07 (m, 3H), 6,91 (d, J=2,3 Гц, 1H), 4,47 (td, J=8,4, 4,8 Гц, 1H), 4,04 (q, J=5,9 Гц, 1H), 3,87 (d, J=1,5 Гц, 3H), 3,82 (d, J=6,9 Гц, 4H), 3,76 (d, J=6,2 Гц, 4H), 3,32 (s, 2H), 3,10 (dd, J=14,1, 4,7 Гц, 1H), 2,98 (dd, J=14,1, 8,9 Гц, 1H), 2,38-2,22 (m, 2H).

Пример 40: (2S)-2-[[[(2S)-2-Амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-фенил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентановая кислота;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 40)



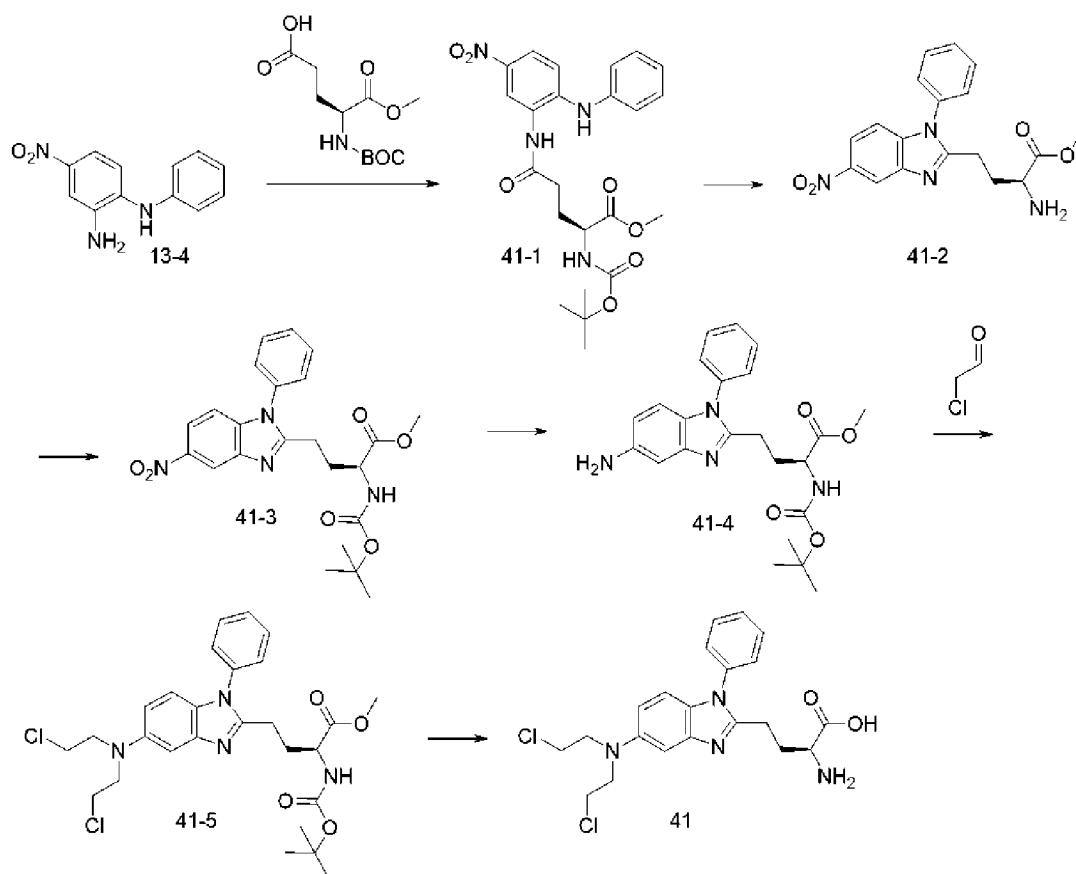
Этил (2S)-2-[[[(2S)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-фенил-бензимидазол-2-ил]-2-(*tert*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (соединение 13-11) (90,0 мг, 0,000133 моль) растворяли в 1,4-диоксане (5,0 мл) и затем добавляли воду (1,0 мл) и LiOH·H₂O (3 экв., 16 мг). Смесь перемешивали при 50°C в течение 2 ч. Добавляли воду (10 мл) и ДХМ (10 мл) и значение pH доводили до 5-6 с помощью HCl (водн.). Различные фазы смеси разделяли и органическую фазу промывали водой и высушивали над MgSO₄. Растворители удаляли в вакууме. Остаток повторно растворяли в ДХМ (2 мл), затем добавляли HCl (4M в 1,4-диоксане, 1,0 мл) и раствор перемешивали в течение 30 минут при кт. Смесь упаривали досуха, получая (2S)-2-[[[(2S)-2-Амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-фенил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентановую кислоту;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 40) (70 мг, 0,113 ммоль, выход 90%) в виде твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 89%; МС (ИЭР+) m/z=548 [M+H]⁺.

Пример 41: (2S)-2-Амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-фенил-бензимидазол-2-ил]бутановая кислота (соединение согласно примеру 41)



Пример 41 синтезировали в соответствии со Схемой 11 ниже:

Схема 11



Метил (2S)-5-(2-анилино-5-нитро-анилино)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-5-оксо-пентаноат (соединение 41-1)

Вос-Glu-OMe (1,63 г, 0,00624 моль) растворяли в безводном ДМФА (15 мл). Добавляли DIEA (2,97 мл, 0,0170 моль), затем добавляли 4-нитро-N1-фенил-бензол-1,2-диамин (1,30 г, 0,00567 моль; 13-4) и COMU (2,91 г, 0,00681 моль). Реакционную смесь перемешивали при кт в течение ночи. Большую часть ДМФА удаляли путем упаривания в вакууме, затем добавляли толуол (10 мл) и органическую фазу промывали водой (3×100 мл). Органическую фазу высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель упаривали, получая указанное в заглавии соединение (41-1) в виде темно-коричневого, маслянистого, неочищенного продукта (5,61 г). ВЭЖХ чистота: 48%; (ИЭР+) m/z 373 [M+H-BOC]⁺. Вещество использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

Метил (2S)-2-амино-4-(5-нитро-1-фенил-бензимидазол-2-ил)бутаноат (соединение 41-2)

К раствору неочищенного вещества метил (2S)-5-(2-анилино-5-нитро-анилино)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-5-оксо-пентаноата (5,61 г, 48% чистота; 41-1) в EtOH (100 мл) добавляли 12 М HCl (15 мл) и смесь перемешивали при 70°C в течение 45 минут. Реакционную смесь разводили водой (100 мл), осторожно нейтрализовали до pH 7 с помощью 4М NaOH (прибл. 45 мл) и экстрагировали EtOAc (3×100 мл). Органическую фазу высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель упаривали, получая указанное в заглавии соединение (41-2) в виде буро-коричневого твердого продукта (2,04 г). ВЭЖХ чистота: 60%; МС (ИЭР+) m/z 355 [M+H]⁺. Вещество использовали на следующей стадии

без дополнительной очистки.

Метил (2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-(5-нитро-1-фенил-бензимидазол-2-ил)бутаноат (соединение 41-3)

К раствору неочищенного вещества метил (2S)-2-амино-4-(5-нитро-1-фенил-бензимидазол-2-ил)бутаноат (2,04 г) в ТГФ (25 мл) добавляли ТЕА (2,38 мл) и *трет*-бутоксикарбонил *трет*-бутил карбонат (1,49 г) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Растворитель упаривали и остаток растворяли в EtOAc. Органическую фазу промывали 5% лимонной кислотой, высушивали над MgSO₄, фильтровали и затем растворитель упаривали. Неочищенное вещество очищали путем флэш-хроматографии на диоксиде кремния, элюируя с помощью от 20% до 80% EtOAc в петролейном эфире в качестве градиента, получая указанное в заглавии соединение (41-3) (1,13 г, 0,00249 ммоль, выход 44%). ВЭЖХ чистота: 95%; МС (ИЭР+) m/z 455 [M+H]⁺.

Метил (2S)-4-(5-амино-1-фенил-бензимидазол-2-ил)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноат (соединение 41-4)

К раствору метил (2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-(5-нитро-1-фенил-бензимидазол-2-ил)бутаноата (0,330 г, 0,000581 моль, 80% чистота) в MeOH (20 мл) добавляли Pd/C (10,0%, 0,0734 г, 0,000069 моль) и его откачивали. Присоединяли газообразный водород в баллоне и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 часов. Pd/C удаляли путем фильтрации и растворитель упаривали досуха, получая метил (2S)-4-(5-амино-1-фенил-бензимидазол-2-ил)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноат (190 мг, 0,000636 моль; 41-4). ВЭЖХ чистота: 90%; МС (ИЭР+) m/z 425 [M+H]⁺.

Метил (2S)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-фенил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноат (соединение 41-5)

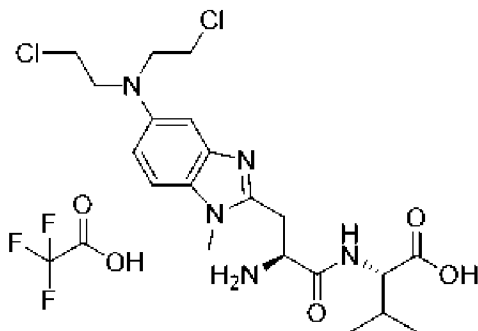
NaBH₃CN (120 мг) добавляли к смеси метил (2S)-4-(5-амино-1-фенил-бензимидазол-2-ил)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноата (90%, 300 мг, 0,636 ммоль, 90% чистота), 2-хлорацетальдегида (50%, 0,24 мл) и ТФУ (0,19 мл) в EtOH (20 мл). Смесь перемешивали при кт в течение 3 часов. Добавляли 3 дополнительных эквивалента NaBH₃CN, 2-хлорацетальдегида и ТФУ и реакционную смесь перемешивали при кт в течение 1 ч. Добавляли толуол и нас. NaHCO₃ и органическую фазу отделяли и промывали водой. Растворитель упаривали и светло-коричневый твердый остаток очищали путем флэш-хроматографии на диоксиде кремния, элюируя с помощью 50-100% EtOAc в петролейном эфире, получая метил (2S)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-фенил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноат (190 мг, 0,000311 моль, выход 49%). ВЭЖХ чистота: 90%; МС (ИЭР+) m/z=550 [M+H]⁺.

(2S)-2-Амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-фенил-бензимидазол-2-ил]бутановая кислота; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 41)

Метил (2S)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-фенил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноат (190 мг, 0,000311 моль) растворяли в 1,4-диоксане (5,00 мл), и затем добавляли воду (1,5 мл) и LiOH·H₂O (44 мг). Смесь перемешивали при 50°C в течение 20 мин, после этого добавляли воду (10 мл) и ДХМ (10 мл) и значение pH доводили

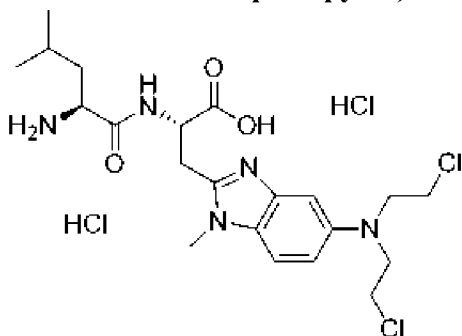
до 6-7 с помощью 1M HCl (водн.). Фазы разделяли, и органическую фазу промывали водой и высушивали над MgSO₄. HCl (4M в 1,4-диоксане, 0,50 мл, 0,004 моль) добавляли к органической фазе и прозрачный раствор перемешивали в течение 1 ч при кт. Фазу с растворителем удаляли из осадка, который промывали диэтиловым эфиром. После этого его повторно растворяли в небольшом количестве воды и сразу лиофилизировали, получая (2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-фенил-бензимидазол-2-ил]бутановую кислоту; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 41) (138 мг, 0,000242 моль, выход 78%) в виде твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 89%; МС (ИЭР+) m/z=435 [M+H]⁺.

Пример 42: (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-3-метил-бутановая кислота; 2,2,2-трифторуксусная кислота (Соединение согласно примеру 42)

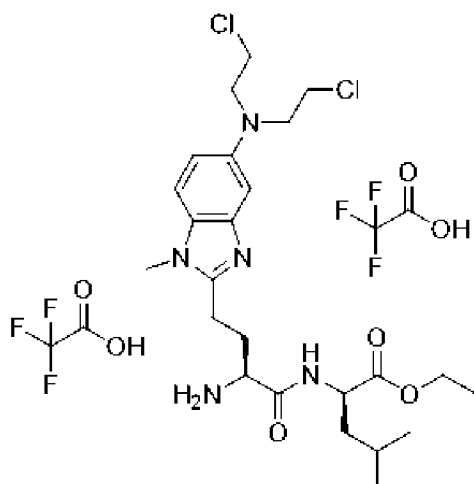


Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-3-метил-бутаноат; дигидрохлорид (соединение 6) (12 мг, 0,02 ммоль) растворяли в смеси ТГФ (1 мл), MeOH (0,5 мл), и 0,5M LiOH (водн., 0,13 мл, 0,065 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Органические растворители упаривали и остаток очищали путем препаративной ВЭЖХ, получая (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-3-метил-бутановую кислоту; в форме соли с 2,2,2-трифторуксусной кислотой (Соединение согласно примеру 42) (2,6 мг, 0,00454 ммоль, выход 21%) в виде твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 95%; МС (ИЭР+) m/z=458 [M+H]⁺.

Пример 43: (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-метил-пентаноил]амино]-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропановая кислота; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 43)



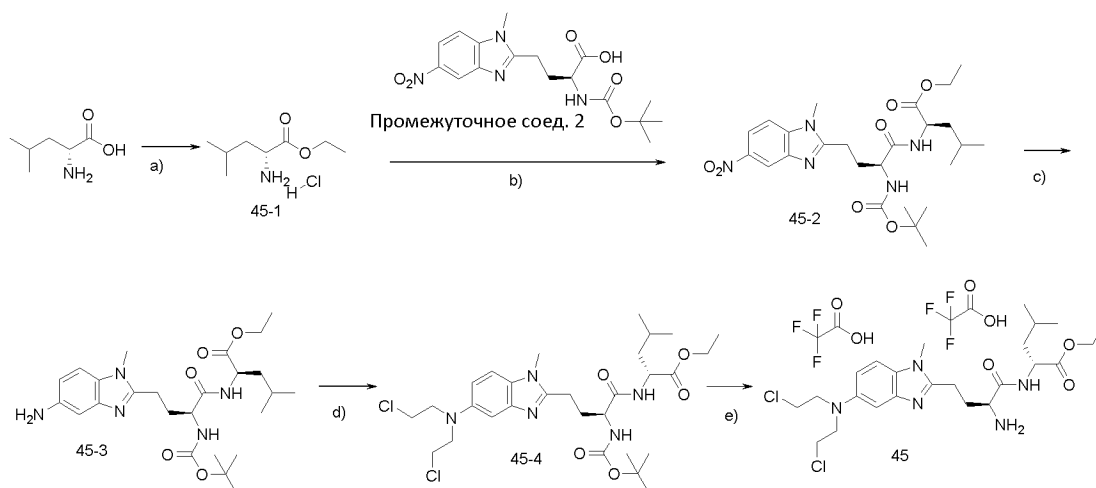
К этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-метил-пентаноил]амино]-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноату; дигидрохлорид (Соединение



Пример 45 синтезировали в соответствии со Схемой 12 ниже:

Схема 12. Реагенты и условия: а) 1,2 экв. SOCl_2 , этанол, 0°C до дефлегмирования; б) НАТУ, ТЕА, ДМФА; с) Палладий 10% на угле (смоченный с прибл. 55% воды, EtOH, 5% AcOH); д) 2-хлорацетальдегид (15 экв.), NaBH_3CN (10 экв.), ТФУ (12 экв.), EtOH; е) 4 М HCl в диоксане: EtOH : ДХМ

Схема 12



Гидрохлорид сложного этилового эфира R-лейцина (соединение 45-1)

В колбу объемом 25 мл добавляли (2R)-2-амино-4-метил-пентановую кислоту (1,00 г, 0,00762 моль) и безводный этанол (6,00 мл). Реакционную смесь охлаждали на ледяной бане и добавляли по каплям тионилхлорид (0,667 мл, 0,00915 моль), получая взвесь. После добавления реакционную смесь перемешивали в колбе с обратным холодильником в течение 2 часов 30 минут. Растворитель упаривали и остаток суспендировали в Et_2O (16 мл) и перемешивали в течение 1 ч. Продукт отфильтровали, получая указанное в заглавии соединение (45-1) (1,36 г, 0,00693 моль, выход 91%). ВЭЖХ чистота: 99%; МС (ИЭР+) $m/z=160$ $[\text{M}+\text{H}]^+$

Этил ((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-(1-метил-5-нитро-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)бутаноил)-D-лейцинат (соединение 45-2)

К смеси (2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-

ил)бутановой кислоты (Промежуточное соединение 2) (0,500 г, 0,00132 моль), гидрохлорида сложного этилового эфира R-лейцина (0,259 г, 0,00132 моль) и ТЕА (0,553 мл, 0,00396 моль) в ДМФА (4,60 мл) добавляли НАТУ (0,502 г, 0,00132 моль). Реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов и затем добавляли воду (9 мл). Продукт промасливали. Жидкость удаляли с помощью пипетки. К влажному полутвердому веществу добавляли EtOH (5 мл). Полутвердое вещество растворяли путем нагревания до 80 °С. Добавляли воду (5 мл) до появления признаков осаждения. Нагревание прекращали. Продукт промасливали. Растворитель упаривали и остаток растворяли в толуоле и промывали водой. Органическую фазу высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель упаривали, получая указанное в заглавии соединение (45-2) (0,575 г, 0,00111 моль, выход: 84%). ВЭЖХ чистота: 97%; МС (ИЭР+) m/z=520 [M+H]⁺. Вещество использовали без дополнительной очистки на следующей стадии.

Этил (2R)-2-[[[(2S)-4-(5-амино-1-метил-бензимидазол-2-ил)-2-(трет-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (соединение 45-3)

Смесь этил (2R)-2-[[[(2S)-2-(трет-бутоксикарбониламино)-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноата (575 мг, 0,00111 моль) и палладий 10% на угле (смоченный с прибл. 55% воды (0,262 г, 0,00111 моль) перемешивали в EtOH (25,0 мл), содержащий AcOH (1,30 мл) в течение ночи. Твердые вещества отфильтровали на целите, получая указанное в заглавии соединение (542 мг, 1,11 ммоль, выход 100%). ВЭЖХ чистота: 98%; МС (ИЭР+) m/z=490 [M+H]⁺. Вещество использовали без дополнительной очистки на следующей стадии.

Этил (2R)-2-[[[(2S)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(трет-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (соединение 45-4)

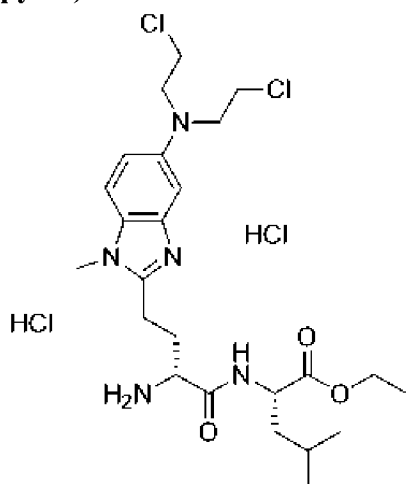
При комнатной температуре NaBH₃CN (0,348 г, 0,00554 моль) добавляли к смеси этил (2R)-2-[[[(2S)-4-(5-амино-1-метил-бензимидазол-2-ил)-2-(трет-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноата (0,542 г, 0,00111 моль; 45-3), 2-хлорацетальдегида (50%, 0,701 мл, 0,00554 моль) и ТФУ (0,493 мл, 0,00664 моль) в EtOH (30 мл). Через 20 минут перемешивания дополнительно добавляли NaBH₃CN (0,348 г, 0,00554 моль) и 2-хлорацетальдегид (5,0%, 0,701 мл, 0,00554 моль). Реакционную смесь дополнительно перемешивали в течение 20 минут, затем добавляли 2-хлорацетальдегид (50%, 0,701 мл, 0,00554 моль). Реакционную смесь дополнительно перемешивали в течение 2 часов, после этого добавляли толуол и органическую фазу промывали бикарбонатом натрия и соевым раствором. Органические вещества высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель упаривали. Соединение очищали путем флэш-хроматографии на сферическом силикагеле, элюируя с помощью 2% EtOH в ДХМ, получая указанное в заглавии соединение 45-4 (209 мг, 0,340 ммоль, выход 31%). ВЭЖХ чистота: 95%; МС (ИЭР+) m/z=614 [M+H]⁺.

Этил (2R)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат ди-2,2,2-трифторуксусная кислота (соединение Пример 45)

4М HCl в диоксане (1,40 мл) добавляли к этил (2R)-2-[[[(2S)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноату (0,209 г, 0,000340 моль) в смеси ДХМ (1,40 мл) и EtOH (0,860 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 5 ч и затем растворитель упаривали, получая неочищенный продукт, который имел чистоту 90%. Неочищенный продукт растворяли в MeCN, содержащем 30% воды и очищали путем препаративной ВЭЖХ, на ACE колонке, элюируя с помощью от 10 до 60% MeCN/вода (0,1% ТФУ), получая указанное в заглавии соединение (Соединение согласно примеру 45) (104 мг, 0,140 ммоль, выход 49%). ВЭЖХ чистота: 99%; MS (ИЭР+) $m/z=514$ [M+H]⁺.

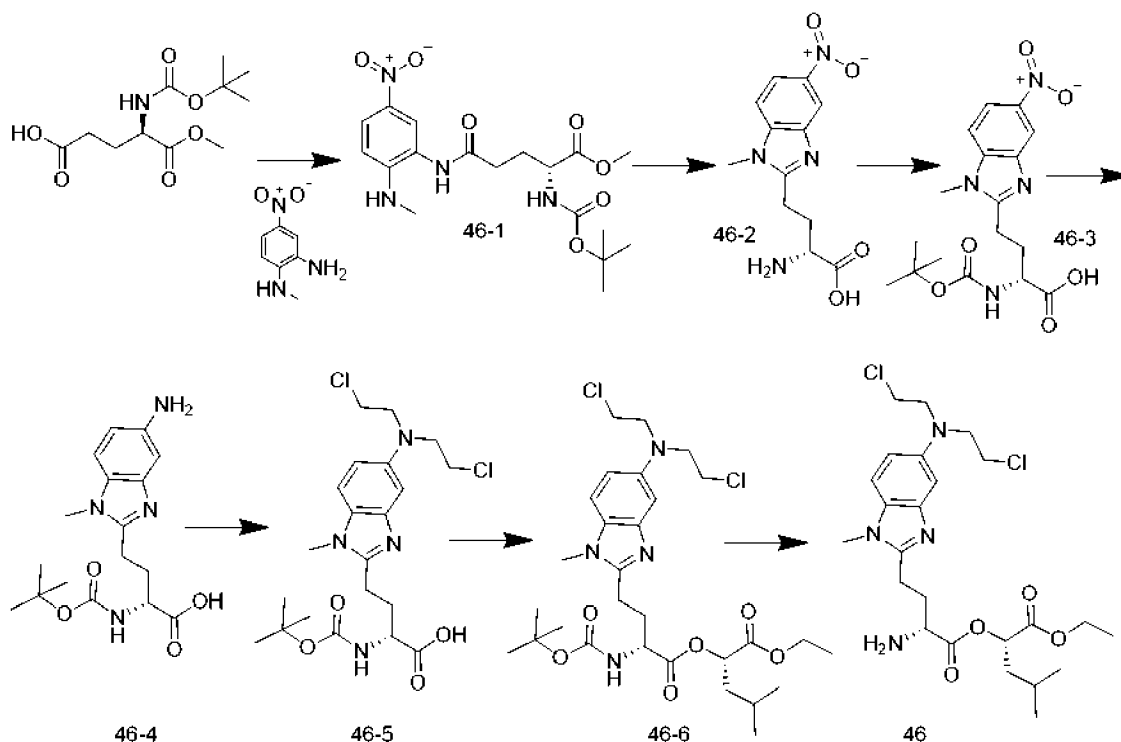
¹H ЯМР (600 МГц, ДМСО-d₆ δ 9,18-8,99 (m, 1H), 8,41 (s, 3H), 7,70-7,59 (m, 1H), 7,13-7,02 (m, 1H), 6,94 (d, J=2,3 Гц, 1H), 4,33 (q, J=7,8 Гц, 1H), 4,13 (q, J=7,1 Гц, 2H), 4,07-4,01 (m, 1H), 3,85-3,71 (m, 11H), 3,17-3,07 (m, 2H), 2,25 (q, J=7,4 Гц, 2H), 1,65-1,52 (m, 3H), 1,21 (t, J=7,1 Гц, 3H), 0,89 (d, J=6,1 Гц, 3H), 0,86 (d, J=6,1 Гц, 3H).

Пример 46: Этил (2S)-2-[[[(2R)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (Соединение согласно примеру 46)



Пример 46 синтезировали в соответствии со Схемой 13 ниже:

Схема 13



Метил (2R)-2-(*tert*-бутоксикарбониламино)-5-[2-(метиламино)-5-нитро-анилино]-5-оксо-пентаноат (соединение 46-1)

К раствору сложного α -метилового эфира *N-tert*-бутоксикарбонил-D-глутаминовой кислоты (1,00 экв., 2,00 г, 7,65 ммоль), 1-метилимидазола (1,00 экв., 0,61 мл, 7,65 ммоль) и N1-метил-4-нитро-бензол-1,2-диамина (1,34 г, 8,037 ммоль) в MeCN (20 мл) медленно добавляли гексафторфосфат хлор(диметиламино)-N,N-диметилметаниминия (ТСФН) (1,10 экв., 2,36 г, 8,42 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа и затем добавляли воду (200 мл). Органическую фазу пропускали через картридж для разделения фаз, упаривали, и высушивали в вакууме, получая метил (2R)-2-(*tert*-бутоксикарбониламино)-5-[2-(метиламино)-5-нитро-анилино]-5-оксо-пентаноат (3,1 г, 7,55 ммоль, выход 99%) в виде твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 99%; МС (ИЭР+) $m/z=843 [2M+Na]^+$

(2R)-2-Амино-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)бутановая кислота (соединение 46-2)

Метил (2R)-2-(*tert*-бутоксикарбониламино)-5-[2-(метиламино)-5-нитро-анилино]-5-оксо-пентаноат (1,00 экв., 3,10 г, 7,55 ммоль) добавляли к хлористоводородной кислоте (4М, водн.) (18,0 экв., 34 мл, 136 ммоль). После добавления смесь нагревали и перемешивали при 100 °С без пробки в течение 2 часов. Реакционной смеси позволяли достичь комнатной температуры и небольшое количество коричневого твердого вещества отфильтровали. Фильтрат охлаждали на ледяной бане и осторожно добавляли 10М NaOH до достижения значения pH 2. После этого добавляли 4М NaOH раствор до получения значения pH 5,2. Полученное твердое вещество фильтровали, промывали водой и Et₂O и высушивали в вакууме, получая (2R)-2-амино-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-

ил)бутановую кислоту (2,3 г, 7,52 ммоль, выход >99%) в виде твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 91%; МС (ИЭР+) $m/z=279$ $[M+H]^+$

(2R)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)бутановая кислота (соединение 46-3)

К раствору (2R)-2-амино-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)бутановой кислоты (1,00 экв., 2,30 г, 7,52 ммоль) в воде (10 мл) добавляли NaOH (4М, водн.) (1,10 экв., 2,1 мл, 8,27 ммоль). К раствору добавляли ди-*трет*-бутил дикарбонат (1,40 экв., 2,4 мл, 10,5 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Образовывался осадок. Дополнительно добавляли 4М NaOH (0,5 экв.) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. Значение рН доводили до 9,2 и реакционную смесь промывали Et₂O (3×300 мл). Полученную органическую фазу отбрасывали и водную фазу упаривали для удаления остатка Et₂O. 4М HCl добавляли по каплям к водной фазе. Полученное твердое вещество собирали, промывали водой, и высушивали, получая (2R)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)бутановую кислоту (1,85 г, 4,59 ммоль, выход 61%) в виде твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 94%; МС (ИЭР+) $m/z=379$ $[M+H]^+$.

(2R)-4-(5-Амино-1-метил-бензимидазол-2-ил)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутановая кислота (соединение 46-4)

(2R)-2-(*трет*-Бутоксикарбониламино)-4-(1-метил-5-нитро-бензимидазол-2-ил)бутановой кислоты (1,00 экв., 300 мг, 0,769 ммоль) растворяли в этаноле (5 мл) и помещали в Н-реактор. Добавляли Pd/C 10% (0,0500 экв., 8,2 мг, 0,0385 ммоль) и реактор герметизировали. Осуществляли продувку азотом. H₂ подавали в реактор под давлением 3 бар и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Водород удаляли с помощью продувки азотом. Катализатор удаляли путем фильтрации через целит. Растворитель упаривали, получая (2R)-4-(5-амино-1-метил-бензимидазол-2-ил)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутановую кислоту (235 мг, 0,690 ммоль, выход 94%). ВЭЖХ чистота: 95%; МС (ИЭР+) $m/z=349$ $[M+H]^+$

(2R)-4-[5-[бис(2-Хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутановая кислота (соединение 46-5)

(2R)-4-(5-Амино-1-метил-бензимидазол-2-ил)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутановую кислоту (1,00 экв., 253 мг, 0,690 ммоль) суспендировали в этаноле (2 мл). Добавляли цианоборогидрид натрия (3,00 экв., 130 мг, 2,07 ммоль), затем добавляли трифторуксусную кислоту (1,50 экв., 0,079 мл, 1,03 ммоль) и после этого по каплям добавляли хлорацетальдегид (50%, 3,00 экв., 0,26 мл, 2,07 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут. Добавляли 2 дополнительных эквивалента NaBH₃CN, хлорацетальдегид и ТФУ, и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Значение рН доводили до 3,6 путем добавления 4М NaOH по каплям. Этанол упаривали, добавляли воду и водную фазу экстрагировали с помощью EtOAc. Органическую фазу упаривали и неочищенное вещество (2R)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-

бутоксикарбониламино)бутановую кислоту (303 мг, 0,557 ммоль, выход 81%) выделяли в виде твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 87%; МС (ИЭР+) $m/z=473$ $[M+H]^+$

Этил (2S)-2-[[[(2R)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (соединение 46-б)

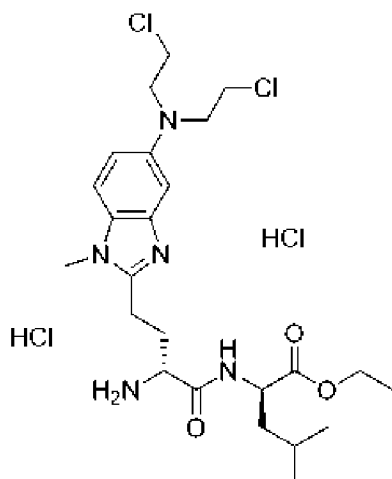
1-(3-Диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимид гидрохлорид (1,15 экв., 41 мг, 0,211 ммоль) добавляли к смеси (2R)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутановой кислоты (1,00 экв., 100 мг, 0,184 ммоль), этил (2S)-2-амино-4-метил-пентаноата (1,15 экв., 34 мг, 0,211 ммоль), этил цианоглиоксилат-2-оксима (1,00 экв., 26 мг, 0,184 ммоль) и 4-метилморфолина (1,15 экв., 23 мкл, 0,211 ммоль) в MeCN (3 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь фильтровали и очищали путем препаративной хроматографии. Чистые фракции лиофилизировали, получая этил (2S)-2-[[[(2R)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (17 мг, 0,0275 ммоль, выход 15%). ВЭЖХ чистота: 99%; МС (ИЭР+) $m/z=614$ $[M+H]^+$.

Этил (2S)-2-[[[(2R)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 46)

Этил (2S)-2-[[[(2R)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (1,00 экв., 17,1 мг, 0,0275 ммоль) растворяли в MeCN (2 мл) и добавляли хлористоводородную кислоту (4M в диоксане) (5,00 экв., 35 мкл, 0,139 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Смесь фильтровали и очищали путем препаративной хроматографии и чистые фракции объединяли и лиофилизировали, получая этил (2S)-2-[[[(2R)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат;дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 46) (14,3 мг, 0,0234 ммоль, выход 84%) в виде твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 96%; МС (ИЭР+) $m/z=514$ $[M+H]^+$.

^1H ЯМР (600 МГц, ДМСО- d_6) δ 14,81 (s, 1H), 9,23 (d, $J=7,6$ Гц, 1H), 8,59 (s, 3H), 7,75 (d, $J=9,1$ Гц, 1H), 7,15 (d, $J=9,2$ Гц, 1H), 6,94 (d, $J=2,3$ Гц, 1H), 4,30-4,24 (m, 1H), 4,11 (q, $J=7,1$ Гц, 2H), 4,04 (s, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,83 (t, $J=6,7$ Гц, 4H), 3,77 (t, $J=6,6$ Гц, 4H), 3,2-3-3 (m, 2H), 2,32 (dp, $J=29,8$, 7,6 Гц, 2H), 1,69-1,57 (m, 2H), 1,53 (ddd, $J=13,8$, 8,5, 5,6 Гц, 1H), 1,20 (t, $J=7,1$ Гц, 3H), 0,87 (dd, $J=21,4$, 6,3 Гц, 6H).

Пример 47: Этил (2R)-2-[[[(2R)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 47)

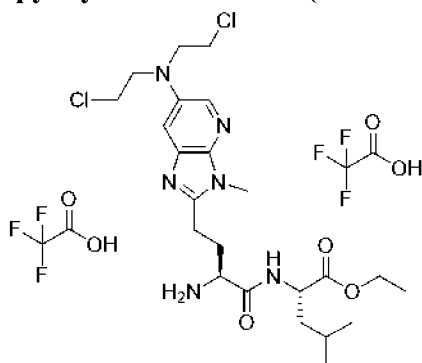


Пример 47 синтезировали в соответствии со Схемой 13, но используя гидрохлорид сложного этилового эфира D-Лейцина, (1,15 экв., 41 мг, 0,211 ммоль) в качестве исходного вещества в пептидном сочетании с соединением 46-5, получая этил (2R)-2-[[[(2R)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат; 2,2,2-трифторуксусной кислоты (27 мг, 0,0375 ммоль, выход 20%), выделенный в виде твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 99%; МС (ИЭР+) $m/z=614$ $[M+H]^+$.

Этил (2R)-2-[[[(2R)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 47) (6 мг, 0,0097 ммоль, выход 25%) выделяли в виде твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 95%; МС (ИЭР+) $m/z=514$ $[M+H]^+$.

1H ЯМР (600 МГц, ДМСО- d_6) δ 14,79 (s, 1H), 9,25 (d, $J=7,0$ Гц, 1H), 8,69-8,47 (m, 3H), 7,75 (d, $J=9,1$ Гц, 1H), 7,15 (d, $J=9,2$ Гц, 1H), 6,93 (s, 1H), 4,31 (dt, $J=11,3, 5,7$ Гц, 1H), 4,16-4,04 (m, 3H), 3,90 (s, 3H), 3,83 (d, $J=6,7$ Гц, 4H), 3,78 (d, $J=6,4$ Гц, 4H), 3,38-3,33 (m, 2H), 2,32 (dp, $J=23,6, 7,6, 7,0$ Гц, 2H), 1,75 (h, $J=6,9$ Гц, 1H), 1,64 (td, $J=12,3, 10,8, 5,1$ Гц, 1H), 1,55 (ddd, $J=14,0, 9,4, 4,8$ Гц, 1H), 1,18 (t, $J=7,2$ Гц, 3H), 0,90 (dd, $J=25,1, 6,5$ Гц, 6H).

Пример 48: Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[6-[бис(2-хлорэтил)амино]-3-метил-имидазо[4,5-b] пиридин-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат ди-2,2,2-трифторуксусной кислоты (Соединение согласно примеру 48)

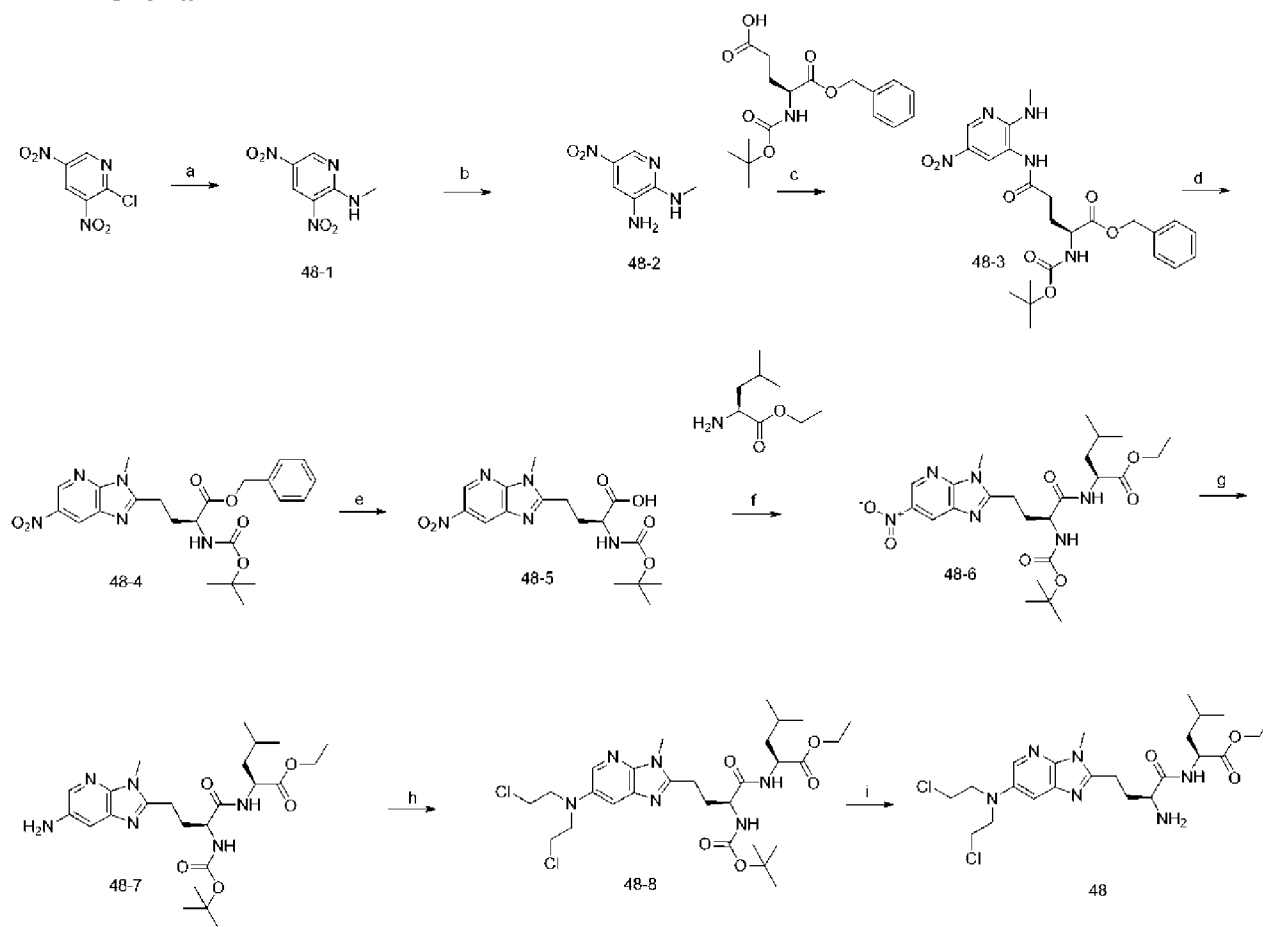


Пример 48 синтезировали в соответствии со Схемой 14 ниже:

Схема 14. Реагенты и условия. а) $MeNH_2$, MeOH, $0^\circ C$; б) 20% водн. сульфид аммония, MeOH, нагрев.; в) HATU, DIPEA, ДМФА, кг; д) n-PrOH, $100^\circ C$; е) $LiOH \cdot H_2O$,

ТГФ, MeOH, H₂O, кт; f) HATU, DIPEA, ДМФА, кт; g) Pd/C 10%, H₂, EtOH; h) раствор хлорацетальдегида (~55 мас. % в H₂O), NaBH₃CN, ТФУ, EtOH; i) ТФУ, ДХМ 0 °С-кт, затем 12 М HCl.

Схема 14



N-Метил-3,5-динитро-пиридин-2-амин (соединение 48-1)

К суспензии 2-хлор-3,5-динитропиридина (4,0 г, 0,0196 моль) в MeOH (40 мл) добавляли по каплям, при 0-5 °С, смесь водного раствора MeNH₂ (4,32 мл, 40 об.%, 0,059 моль) и MeOH (16 мл). Образовывался желтый осадок и собирали путем фильтрации, промывали MeOH и водой, и высушивали в вакууме в течение ночи, получая N-метил-3,5-динитро-пиридин-2-амин (3,00 г, 0,0151 моль, выход 77%). ВЭЖХ чистота: 95%; MS (ИЭР+) m/z=199 [M+H]⁺.

N2-Метил-5-нитро-пиридине-2,3-диамин (соединение 48-2)

N-Метил-3,5-динитро-пиридин-2-амин (2,80 г, 14,1 ммоль) суспендировали в метанол (60 мл) и добавляли 20% водный раствор сульфида аммония (24,1 мл). Температуру повышали до 75°C и смесь перемешивали в течение 2,5 часов. После этого реакцию смесь перемешивали при кт в течение ночи. Смесь помещали на ледяную баню и образовывался осадок. Твердое вещество собирали путем фильтрации и высушивали в течение ночи в вакууме, получая N2-Метил-5-нитро-пиридин-2,3-диамин (3,39 г, больше, чем теоретический выход) в виде красно-коричневатого твердого вещества. Вещество использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 90%; MS

(ИЭР+) $m/z=169$ $[M+H]^+$.

Бензил (2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-5-[[2-(метиламино)-5-нитро-3-пиридил]амино]-5-оксо-пентаноат (соединение 48-3)

К раствору (4S)-5-бензилокси-4-(*трет*-бутоксикарбониламино)-5-оксо-пентановой кислоты (1,00 г, 2,97 ммоль) в диметилформаиде (7,50 мл) добавляли НАТУ (1,36 г, 3,57 ммоль) и DIEA (1,04 мл, 5,45 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение 2 минут, затем добавляли N2-метил-5-нитро-пиридине-2,3-диамин (соединение 48-2) (0,500 г, 2,97 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при кт в течение 22 ч. EtOAc добавляли, и органическую фазу промывали солевым раствором (3х), высушивали над сульфатом магния, отбрасывали и концентрировали, получая бензил (2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-5-[[2-(метиламино)-5-нитро-3-пиридил]амино]-5-оксо-пентаноат (2,74 г, больше, чем теоретический выход). Вещество использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 80%; МС (ИЭР+) $m/z=488$ $[M+H]^+$.

Бензил (2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-(3-метил-6-нитро-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-ил)бутаноат (соединение 48-4)

Бензил (2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-5-[[2-(метиламино)-5-нитро-3-пиридил]амино]-5-оксо-пентаноат (1,07 г, 2,19 ммоль) в 1-пропанол (20,0 мл) нагревали при 100°C в течение 6 дней (более медленная реакция по сравнению с осуществлению в небольшом масштабе). 1-пропанол упаривали и добавляли EtOAc. Органическую фазу промывали солевым раствором, высушивали над сульфатом магния и концентрировали. Неочищенное вещество очищали путем флэш-хроматографии (SiO₂, 12 г, петролейный эфир/EtOAc 0-100%), получая бензил (2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-(3-метил-6-нитро-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-ил)бутаноат (280 мг, выход 27%). ВЭЖХ чистота: 90%; МС (ИЭР+) $m/z=470$ $[M+H]^+$.

(2S)-2-(*трет*-Бутоксикарбониламино)-4-(3-метил-6-нитро-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-ил) бутановая кислота (соединение 48-5)

К раствору бензил (2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-(3-метил-6-нитро-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-ил)бутаноата (0,280 г, 0,596 ммоль) в тетрагидрофуране (1,20 мл)/метаноле (1,20 мл), содержащем воду (0,2 мл), добавляли LiOH · H₂O (0,0425 г, 1,01 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при кт в течение 2 ч. Добавляли EtOAc и 5% лимонную кислоту и фазы разделяли. Органическую фазу высушивали над сульфатом магния, фильтровали и растворитель упаривали, получая (2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-(3-метил-6-нитро-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-ил) бутановую кислоту (0,240 г). Вещество использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 95%; МС (ИЭР+) $m/z=380$ $[M+H]^+$.

Этил (2S)-2-[[2-(2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-(3-метил-6-нитро-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-ил)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (соединение 48-6)

К раствору (2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-(3-метил-6-нитро-имидазо[4,5-*b*]пиридин-2-ил)бутановой кислоты (0,240 г, 0,633 ммоль) в N,N-диметилформаиде (1,50 мл) добавляли этил (2S)-2-амино-4-метил-пентаноат;гидрохлорид (0,124 г, 0,633 ммоль) и

НATU (0,289 г, 0,759 ммоль), затем добавляли N,N-диизопропилэтиламин (0,204 г, 1,58 ммоль). После этого реакционную смесь перемешивали при кт в течение ночи. Добавляли EtOAc и органическую фазу промывали солевым раствором (3x), высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали. Неочищенное вещество очищали путем флэш-хроматографии (SiO₂, петролейный эфир/EtOAc 0-100%), получая этил (2S)-2-[[[(2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-(3-метил-6-нитро-имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (0,340 г). ВЭЖХ чистота: 90%; МС (ИЭР+) m/z= 521 [M+H]⁺.

Этил (2S)-2-[[[(2S)-4-(6-амино-3-метил-имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)-2-(*трет*-бутокси карбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (соединение 48-7)

Смесь этил (2S)-2-[[[(2S)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)-4-(3-метил-6-нитро-имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноата (0,340 г, 0,653 ммоль) и Pd/C 10% (0,0695 г, 0,653 ммоль) в этаноле (20,0 мл) перемешивали в атмосфере H₂ (атмосферное давление) в течение ночи. Катализатор отфильтровали и растворитель упаривали, получая этил (2S)-2-[[[(2S)-4-(6-амино-3-метил-имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)-2-(*трет*-бутокси карбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (0,273 г, выход 85%) указанного в заглавии соединения в виде прозрачного, вязкого масла. Вещество использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ВЭЖХ чистота: 90%; МС (ИЭР+) m/z= 491 [M+H]⁺.

Этил (2S)-2-[[[(2S)-4-[6-[бис(2-хлорэтил)амино]-3-метил-имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (соединение 48-8)

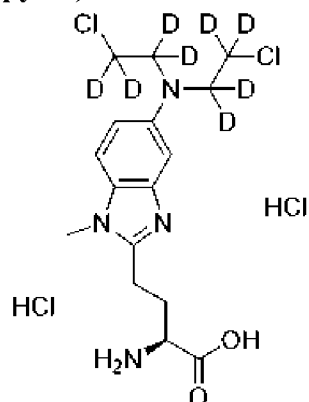
К этил (2S)-2-[[[(2S)-4-(6-амино-3-метил-имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил)-2-(*трет*-бутокси карбонил амино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноату (170 мг, 0,346 ммоль), добавляли хлорацетальдегид (0,22 мл, 50% раствор в воде) и ТФУ (0,12 мл) при кт. Затем добавляли цианоборогидрид натрия (109 мг, 1,73 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при кт в течение 30 минут, в этот момент наблюдалось 50% превращение. Снова, добавляли аналогичные количества всех вышеуказанных реагентов и реакционную смесь перемешивали дополнительно в течение 30 минут. Летучие вещества упаривали в вакууме. Неочищенный продукт растворяли в этилацетате и промывали водным насыщенным раствором карбоната натрия, солевым раствором, высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Неочищенное вещество очищали путем флэш-хроматографии (колонка диоксида кремния 12, 70-90% MeOH в ДХМ), получая этил (2S)-2-[[[(2S)-4-[6-[бис(2-хлорэтил)амино]-3-метил-имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (75 мг, выход 35%) указанного в заглавии соединения в виде густого бесцветного масла. ВЭЖХ чистота: 95%; МС (ИЭР+) m/z= 615 [M+H]⁺.

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[6-[бис(2-хлорэтил)амино]-3-метил-имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат; ди-2,2,2-трифторуксусной кислоты (Соединение согласно примеру 48)

К раствору этил (2S)-2-[[[(2S)-4-[6-[бис(2-хлорэтил)амино]-3-метил-имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноата (соединение 48-8) (35 мг, 0,057 ммоль) в ДХМ (2 мл) добавляли ТФУ (0,1 мл) при 5 °С. Реакционную смесь перемешивали при 5°С в течение 30 минут, затем позволяли нагреться до кт. Затем дополнительно добавляли ТФУ (0,2 мл) и реакционную смесь перемешивали при кт в течение 3 ч. Неочищенное вещество очищали путем кислой препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой (10-90% ацетонитрил, 0,1% ТФУ в воде). Чистые фракции концентрировали, получая этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[6-[бис(2-хлорэтил)амино]-3-метил-имидазо[4,5-b] пиридин-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат; ди-2,2,2-трифторуксусной кислоты (Соединение согласно примеру 48) (11,3 мг, выход 39%) в виде твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 95%; МС (ИЭР+) $m/z = 515 [M+H]^+$.

^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 9,04 (d, $J=7,2$ Гц, 1H), 8,57-8,26 (m, 3H), 8,10 (d, $J=2,6$ Гц, 1H), 7,43 (d, $J=2,7$ Гц, 1H), 4,38-4,30 (m, 1H), 4,12-4,08 (m, 2H), 4,05-4,02 (m, 1H), 3,81-3,73 (m, 11H), 3,13 (t, $J=8,0$ Гц, 2H), 2,39-2,22 (m, 2H), 1,77-1,67 (m, 1H), 1,65-1,52 (m, 2H), 1,17 (t, $J=7,1$ Гц, 3H), 0,93 (d, $J=6,6$ Гц, 3H), 0,89 (d, $J=6,5$ Гц, 3H).

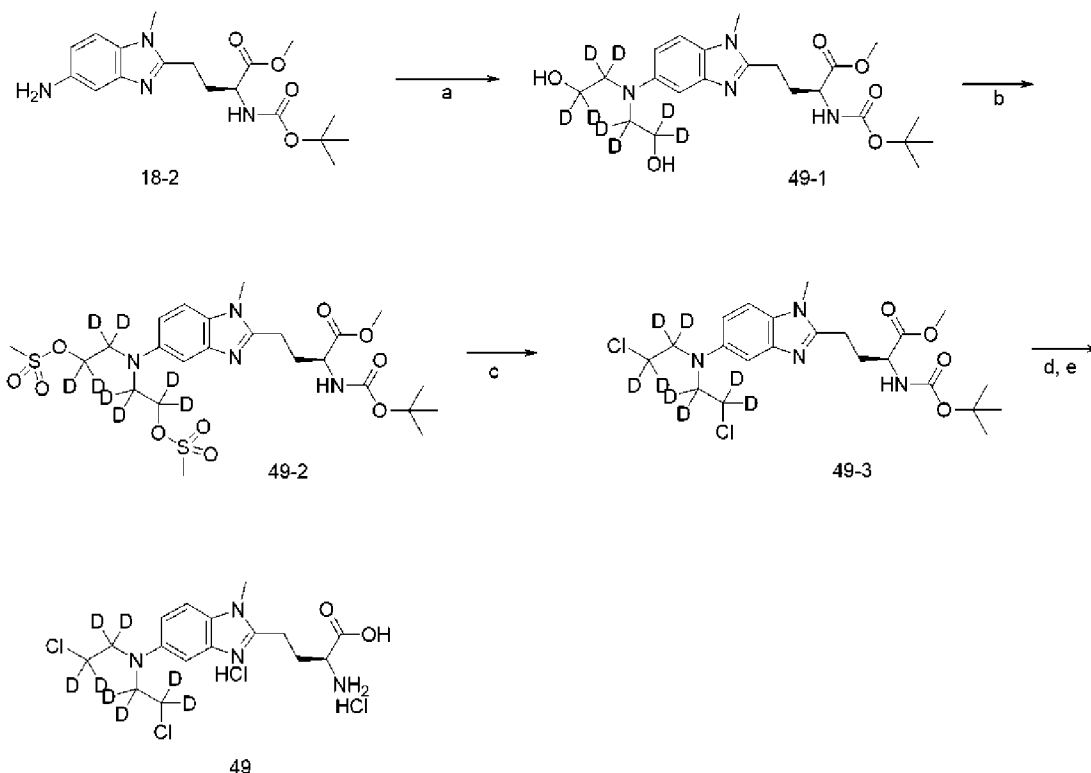
Пример 49: (2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлор-1,1,2,2-тетрадейтерио-этил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутановая кислота; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 49)



Пример 49 синтезировали в соответствии со Схемой 15 ниже:

Схема 15

Схема 15. Реагенты и условия: а) 2-бромэтанол- d_4 , KI, CaCO_3 , 1,4-диоксан/вода, 90°С, 17 ч; б) мезил хлорид, триэтиламин, кт, 1 ч; в) LiCl, ДМФА, 60°С, 2 ч; д) LiOH· H_2O , 1,4-диоксан, 50°С, 20 мин; е) HCl в 1,4-диоксане, ДХМ, кт, 1 ч.



Метил (2S)-4-[5-[бис(1,1,2,2-тетрадейтерио-2-гидрокси-этил)амино]-1-метил-бенз имидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноат (соединение 49-1)

К раствору метил (2S)-4-(5-амино-1-метил-бензимидазол-2-ил)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноата (соединение 18-2) (50 мг, 0,138 ммоль) в смеси 1,4-диоксан (1,00 мл) / вода (0,500 мл) в закрытой реакционной пробирке добавляли CaCO₃ (21,5 мг, 0,214 ммоль) и каталитическое количество KI (5,1 мг, 0,0306 ммоль), затем добавляли 2-бромэтанол-d₄ (39,5 мг, 0,306 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 90°C в течение 17 часов, после этого смесь разводили ацетонитрилом и очищали путем препаративной ВЭЖХ на колонке XBridge, элюируя с помощью от 10 до 80% MeCN в воде, содержащем 50 mM NH₄HCO₃. Указанное в заглавии соединение (49-1) получали в виде белого твердого вещества, содержащего вплоть до 19% моноалкилированных и 2% сверхалкилированных побочных продуктов (29 мг). МС (ИЭР+) m/z=459 [M+H]⁺.

Метил (2S)-4-[5-[бис(1,1,2,2-тетрадейтерио-2-метилсульфонилокси-этил)амино]-1-метил -бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноат (соединение 49-2)

Метил (2S)-4-[5-[бис(1,1,2,2-тетрадейтерио-2-гидрокси-этил)амино]-1-метил-бенз имидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноат (29 мг, 0,06 ммоль) растворяли в безводном дихлорметане (1,00 мл) и охлаждали до 0°C. Затем добавляли триэтиламин (20 мг, 0,20 ммоль) и мезил хлорид (0,0096 мл, 0,124 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре до завершения превращения. Добавляли воду и ДХМ фазу промывали и высушивали, получая указанное в заглавии соединение (49-2) в виде коричневого маслянистого продукта, который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки (31 мг). МС (ИЭР+) m/z=615 [M+H]⁺.

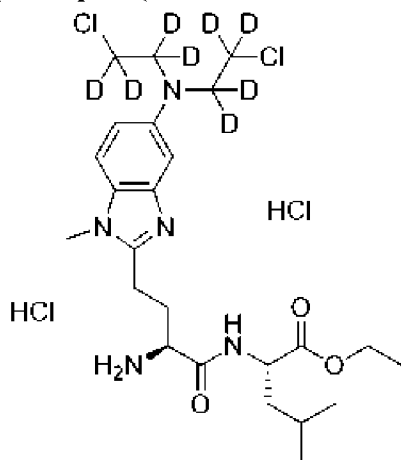
Метил (2S)-4-[5-[бис(2-хлор-1,1,2,2-тетрадейтерио-этил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноат (соединение 49-3)

Метил (2S)-4-[5-[бис(1,1,2,2-тетрадейтерио-2-метилсульфонилокси-этил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноат (21 мг, 0,035 ммоль) растворяли в безводном диметилформаиде (0,50 мл), затем добавляли LiCl (30 мг, 0,70 ммоль) и смесь перемешивали при 60°C до завершения превращения. Смесь очищали путем флэш-хроматографии на диоксиде кремния, используя 50-100% EtOAc в петролейном эфире, получая не совсем белый маслянистый продукт (14 мг, выход 92%). ВЭЖХ чистота: 90%; МС (ИЭР+) $m/z=495$ [M+H]⁺.

Дигидрохлорид (2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлор-1,1,2,2-тетрадейтерио-этил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутановой кислоты (Соединение согласно примеру 49)

Метил (2S)-4-[5-[бис(2-хлор-1,1,2,2-тетрадейтерио-этил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноат (13 мг, 0,026 ммоль) растворяли в 1,4-диоксане (1,0 мл), затем добавляли воду (0,3 мл) и LiOH·H₂O (26 мг, 0,063 ммоль). Смесь перемешивали при 50°C в течение 20 минут, после этого добавляли воду (2 мл) и дихлорметан (1 мл) и значение pH устанавливали на 5-6 с помощью водного раствора HCl. Фазы разделяли и органическую фазу промывали водой и высушивали. К высушенной органической фазе добавляли избыток HCl в 1,4-диоксане (4 моль/л) и прозрачный раствор перемешивали в течение 30 минут при комнатной температуре. Смесь концентрировали досуха, получая дигидрохлорид (2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлор-1,1,2,2-тетрадейтерио-этил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутановой кислоты (Соединение согласно примеру 49) (6 мг, выход 55%) в виде твердого вещества. ВЭЖХ чистота: 97%; МС (ИЭР+) $m/z=381$ [M+H]⁺.

Пример 50: Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлор-1,1,2,2-тетрадейтерио-этил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 50)

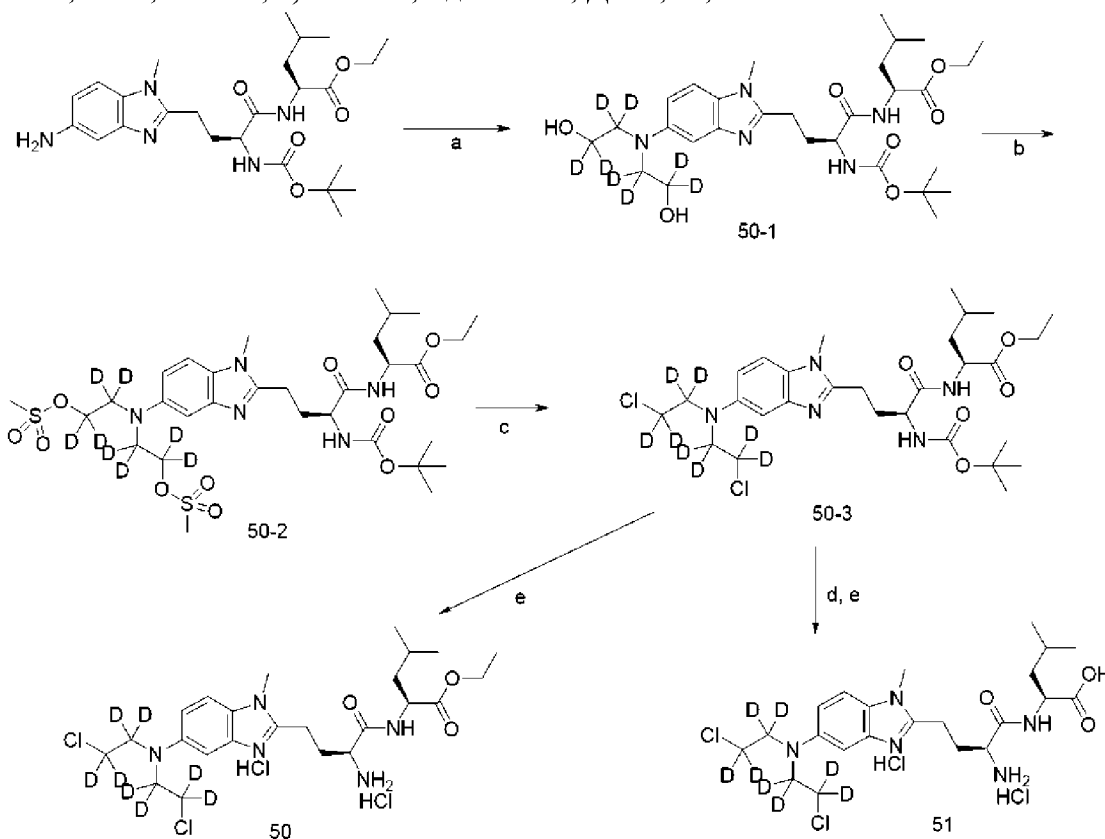


Пример 50 синтезировали в соответствии со Схемой 16 ниже:

Схема 16

Схема 16. Реагенты и условия: а) 2-бромэтанол-d₄, KI, CaCO₃, 1,4-диоксан/вода,

90°C, 17 ч; б) мезил хлорид, триэтиламин, кт, 1 ч; в) LiCl, ДМФА, 60°C, 2 ч; д) LiOH·H₂O, 1,4-диоксан, 50°C, 20 мин; е) HCl в 1,4-диоксане, ДХМ, кт, 1 ч.



Этил (2S)-2-[[[(2S)-4-[5-[бис(1,1,2,2-тетрадейтерио-2-гидрокси-этил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (соединение 50-1)

Указанное в заглавии соединение (50-1) получали из этил (2S)-2-[[[(2S)-4-(5-амино-1-метил-бензимидазол-2-ил)-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноата (полученного, как описано на стадии 2, для синтеза соединения согласно примеру 1), в соответствии с процедурой, описанной для синтеза соединения 49-1 (39 мг, выход 65%). ВЭЖХ чистота: 80%; МС (ИЭР+) $m/z=586$ $[M+H]^+$.

Этил (2S)-2-[[[(2S)-4-[5-[бис(1,1,2,2-тетрадейтерио-2-метилсульфонилокси-этил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (соединение 50-2)

Указанное в заглавии соединение (50-2) получали из соединения 50-1 в соответствии с процедурой, описанной для синтеза соединения 49-2 (26 мг, выход 71%). МС (ИЭР+) $m/z=742$ $[M+H]^+$.

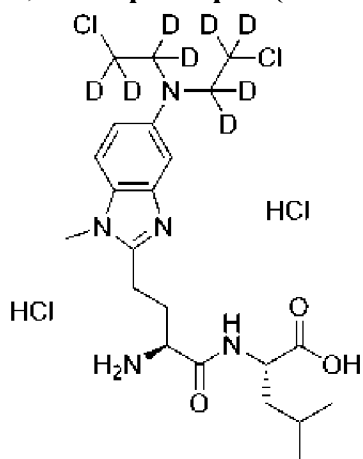
Этил (2S)-2-[[[(2S)-4-[5-[бис(2-хлор-1,1,2,2-тетрадейтерио-этил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (соединение 50-3)

Указанное в заглавии соединение (50-3) получали из соединения 50-2 в соответствии с процедурой, описанной для синтеза соединения 49-3 (20 мг, выход 92%). ВЭЖХ чистота: 90%; МС (ИЭР+) $m/z=622$ $[M+H]^+$.

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлор-1,1,2,2-тетрадейтерио-этил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноат (Соединение согласно примеру 50)

Указанное в заглавии соединение (Соединение согласно примеру 50) получали из соединения 50-3 в соответствии с процедурой, описанной для стадии 5 для синтеза соединения согласно примеру 1, с незначительными модифицированными условиями (ДХМ в качестве растворителя, время реакции 1 ч) (9 мг, выход 4%). ВЭЖХ чистота: 95%; МС (ИЭР+) $m/z=522$ $[M+H]^+$.

Пример 51: (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлор-1,1,2,2-тетрадейтерио-этил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентановая кислота; дигидрохлорид (Соединение согласно примеру 51)



Пример 51 синтезировали в соответствии со Схемой 16. Соединение получали из соединения 50-3 в соответствии с процедурой, описанной в качестве последних стадий синтеза соединения из примера 49 (8 мг, выход 68%). ВЭЖХ чистота: 95%; МС (ИЭР+) $m/z=494$ $[M+H]^+$.

Биологические примеры:

Биологический пример 1 - Оценка цитотоксического действия *in vitro* в анализе жизнеспособности клеток MM.1S:

Методы: MM.1S клетки культивировали в RPMI среде 1640 (IX), дополненной 10 мкг/мл пенициллина/стрептомицина, 10% инактивированного нагреванием FBS, 0,1 мМ пирувата натрия, 1x MEM NEAA (ThermoFisher) и 1 мМ HEPES. Клетки выращивали до достижения лог-фазы перед воздействием тестируемых соединений.

Тестируемые соединения (Соединения из примеров 1-36, 38-41 и 45-48) и сравнительные соединения (бендамустин, бусульфан, мелфалан, хлорамбуцил и 4-гидроперокси циклофосфамид) растворяли в 100% ДМСО и добавляли в аналитический планшет на 384 лунки. Для поддержания одинаковой конечной концентрации ДМСО (0,2%) во все лунки добавляли ДМСО. В каждую лунку добавляли 25 мкл клеточной суспензии при концентрации 100000 клеток/мл. Клетки культивировали в CO₂ инкубаторе при 37°C в течение 72 часов. Планшеты уравнивали при комнатной температуре при 30 минут перед добавлением 20 мкл CellTiter-Glo® 2.0 (Promega) реагента во все лунки. Затем

планшету давали стабилизироваться в течение 20 минут, после чего анализировали люминесценцию (эмиссионный фильтр 700 нм) на планшет-ридере Envision. Данные планшет-ридера нормировали по отношению к отрицательным контролям (без лечения) и положительным контролям (клетки, обработанные 400 мкМ хлорпромазина в течение 72 часов), и определяли IC₅₀ в результате подгонки 4-х параметрической логистической регрессионной кривой.

Результаты: Тестируемые соединения оценивали относительно их способности ингибировать пролиферацию клеток ММ.1S и вызывать цитотоксичность в условиях *in vitro*. Дозозависимые эффекты были получены в ходе экспериментов и представлены в Таблице 1 ниже. Тестируемые соединения продемонстрировали хорошую цитотоксичность по отношению к ММ.1S клеткам. Было обнаружено, что соединения из примеров 1-16, 21-32, 34-36, 38 и 45-48 являются более цитотоксичными, чем бендамустин, бусульфан, мелфалан, хлорамбуцил и 4-гидроперокси циклофосфамид в этом анализе.

Таблица 1. Цитотоксичность в ММ.1S клетках

№ Примера	ММ.1S IC ₅₀ (мкМ)	ММ.1S, IC ₅₀ , ст. откл. (мкМ)	ММ.1S, n
1	0,0068	0,0022	20
2	0,0078	0,0029	7
3	0,0068	0,0012	2
4	0,0066	0,0017	2
5	0,0226	0,0079	2
6	0,0987	0,0381	4
7	0,0229	0,0108	2
8	0,0144	0,0031	2
9	0,0225	0,0025	2
10	0,0192	0,0037	8
11	0,0147	0,0011	2
12	0,0125	0,0045	2
13	0,049	0,0249	7
14	0,0087	0,0012	2
15	0,0091	0,0007	2
16	0,025	0,0076	2
17	39,967	4,5325	2
18	20,244	20,968	14
19	4,0199	0,6051	2
20	5,753	1,149	6

21	0,0266	0,0016	3
22	0,0313	0,0018	2
23	0,0418	0,0017	2
24	0,1561	0,0247	2
25	0,0185	0,002	3
26	0,0068	0,0019	2
27	0,0082	0,0014	2
28	0,352	-	1
29	0,0014	-	1
30	0,0397	0,0081	4
31	0,181	0,008	2
32	0,0143	0,002	3
33	79,872	13,613	2
34	0,0683	0,0087	8
35	0,0867	0,0087	2
36	0,0575	0,0047	2
38	0,052	0,0158	7
39	>1,996	-	1
40	7,177	0,709	2
41	16,507	4,3134	2
45	0,512	0,1113	3
46	0,0591	0,0137	3
47	1,7124	0,7595	3
48	0,205	0,0262	2
Бендамустин	23,963	6,7392	12
Мелфалан	4,2451	0,7017	10
Бусульфан	180,3	-	1
Хлорамбуцил	6,873	6,4333	2
4-гидроперокси циклофосфамид	7,2953	-	1

Биологический пример 2 - Оценка цитотоксичности *in vitro* в гематологических клеточных линиях, мононуклеарных клетках периферической крови человека и нормальных фибробластах:

Методы: Клеточные линии, используемые в этих экспериментах, перечислены в Таблице 2 ниже. Все клетки культивировали в RPMI среде 1640 (IX). Все среды были

дополнены 10 мкг/мл пенициллина/стрептомицина, 10% инактивированного нагреванием FBS, 0,1 мМ пирувата натрия, 1x MEM NEAA (ThermoFisher) и 1 мМ HEPES. DERL-2 клетки содержали большее количество FBS (20%) и добавляли 40 нг/мл IL-2. hPBMC размораживали и давали акклиматизироваться в течение ночи и затем стимулировали с помощью 10 мкг/мл РНА-М и 40 нг/мл IL-2 в течение 4 часов перед воздействием тестируемых соединений. Все клетки, за исключением hPBMC, выращивали до достижения лог-фазы перед воздействием тестируемых соединений.

Таблица 2. Клеточные линии, используемые в экспериментах цитотоксичности *in vitro*

Идентификатор клеточной линии	Описание
U937	Гистиоцитарная лимфома
THP-1	Острый миелоидный лейкоз
DOHH-2	В-клеточная лимфома
HG-3	Хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL)
SC-1	В-клеточная лимфома
SU-DHL-8	В-клеточная неходжкинская лимфома
Toledo	Диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома
DERL-2	Т-клеточная лимфома
SUP-T1	Т-клеточная лимфома
AMO-1	Множественная миелома
EJM	Множественная миелома
KMS-12-BM	Множественная миелома
MM.1S	Множественная миелома
OPM-2	Множественная миелома
RPMI8226	Множественная миелома (резистентная)
U266	Множественная миелома
SK-MM-1	Плазмоклеточный лейкоз
hPBMC	Мононуклеарные клетки периферической крови человека
VJ	Фибробласты (нормальные клетки)

Тестируемые соединения растворяли в 100% ДМСО и добавляли в аналитический планшет на 384 лунки. Для поддержания одинаковой конечной концентрации ДМСО (0,2%) во все лунки добавляли ДМСО. В каждую лунку добавляли 25 мкл клеточной суспензии при концентрации 100000 клеток/мл. Клетки культивировали в CO₂ инкубаторе при 37°C в течение 72 часов. Планшеты уравнивали при комнатной температуре при 30 минут

перед добавлением 20 мкл CellTiter-Glo® 2.0 (Promega) реагента во все лунки. Затем планшету позволяли стабилизироваться в течение 20 минут, после чего анализировали люминесценцию (эм фильтр 700 нм) на планшет-ридере Envision. Данные планшет-ридера нормировали по отношению к отрицательным контролям (без лечения) и положительным контролям (клетки, обработанные 400 мкМ хлорпромазином в течение 72 часов), и определяли IC₅₀ в результате подгонки 4-х параметрической логистической регрессионной кривой.

Результаты: Тестируемые соединения оценивали относительно их способности ингибировать пролиферацию клеток в *in vitro*, используя различные клеточные линии гематологического происхождения. Цитотоксичность также оценивали в незлокачественных мононуклеарных клетках периферической крови человека (hPBMC) и фибробластах (BJ). В Таблице 3 представлены дозозависимые ответные реакции, полученные в ходе экспериментов для всех тестируемых соединений. В таблице результаты представлены в виде цитотоксичность IC₅₀ мкМ +/- стандартное отклонение (количество тестов). нд=значения не определяли.

Таблицы 3а и б. Цитотоксичность тестируемых соединений в нормальных и злокачественных клеточных линиях

Таблица 3а:

Соединение:	1	2	10	13
ТНР-1	0,016 +/-0 (1)	нд	нд	нд
U937	0,0098 +/- 0,0025 (4)	0,0142 +/-0,0042 (2)	0,0194 +/- 0,0049 (2)	нд
АМО-1	0,0497 +/- 0,0196 (3)	нд	нд	0,9646 +/- 0,2196 (3)
ЕJM	0,0271 +/- 0,0059 (2)	нд	нд	0,356 +/- 0,0451 (2)
KMS-12-BM	0,0079 +/-0,002 (2)	нд	нд	0,1373 +/- 0,0142 (2)
MM.1S	0,0068 +/- 0,0022 (20)	0,0078 +/-0,0029 (7)	0,0192 +/- 0,0037 (8)	0,049 +/- 0,0249 (7)
OPM-2	0,1734 +/- 0,0576 (2)	нд	нд	2,1102 +/- 0,6334 (2)
RPMI-8226	0,0906 +/- 0,0549 (6)	0,0415 +/-0,004 (2)	0,3352 +/- 0,0102 (2)	1,7213 +/- 0,391 (2)
SK-MM-1	0,0347 +/-0,024 (5)	0,0383 +/-0,0316 (3)	0,0624 +/- 0,0288 (2)	нд
U266	0,0214 +/- 0,0085 (2)	нд	нд	0,4002 +/- 0,136 (2)
DOHH-2	0,0042 +/- 0,0005 (4)	0,0053 +/-0,0007 (2)	0,0639 +/- 0,0237 (2)	нд
HG-3	0,0257 +/- 0,0052 (4)	0,0257 +/-0,0103 (2)	0,0713 +/- 0,0069 (2)	нд
SC-1	0,0133 +/-	0,021 +/-0,0044 (2)	0,1686 +/-	0,1344 +/-0 (1)

	0,0051 (5)		0,0874 (2)	
SU-DHL-8	0,0199 +/- 0,0032 (4)	0,0204 +/-0,0009 (2)	0,0221 +/- 0,0054 (2)	нд
Toledo	0,0045 +/- 0,0026 (4)	0,0066 +/-0,0021 (2)	0,0085 +/- 0,0003 (2)	нд
DERL-2	0,006 +/-0,0007 (3)	0,0078 +/-0,0011 (3)	0,0226 +/- 0,0058 (3)	нд
SUP-T1	0,0127 +/-0,004 (3)	0,0178 +/-0,0053 (3)	0,0356 +/- 0,0076 (3)	нд
BJ	1,0745 +/-0 (1)	нд	нд	>1,996 +/- (1)
hPBMС	0,0054 +/- 0,0021 (2)	0,0075 +/-0,002 (2)	0,0264 +/- 0,0097 (2)	нд

Таблица 3б

Соединение:	30	34	38	Бенда- мустин	Мелфалан
ТНР-1	нд	нд	нд	40,204 +/- 28,995 (2)	4,3058 +/-0 (1)
U937	нд	0,3966 +/- 0,0382 (2)	0,0253 +/- 0,0008 (2)	27,061 +/- 7,409 (3)	нд
АМО-1	0,6528 +/- 0,0666 (3)	0,7576 +/- 0,1497 (3)	нд	56,977 +/- 8,7068 (4)	8,3424 +/- 1,8996 (3)
ЕJM	0,1734 +/- 0,0191 (2)	0,6368 +/- 0,0192 (2)	нд	64,64 +/- 2,4078 (3)	40,017 +/- 1,2365 (2)
KMS-12-BM	0,045 +/- 0,0164 (2)	0,1046 +/- 0,0047 (2)	нд	27,469 +/- 6,1077 (3)	9,829 +/- 1,1877 (2)
MM.1S	0,0397 +/- 0,0081 (4)	0,0683 +/- 0,0087 (8)	0,052 +/- 0,0158 (7)	23,963 +/- 6,7392 (12)	4,2451 +/- 0,7017 (10)
OPM-2	0,3218 +/- 0,0557 (2)	0,9609 +/- 0,336 (2)	нд	81,878 +/- 7,837 (3)	10,176 +/- 1,7559 (2)
RPMI-8226	0,4924 +/- 0,0701 (2)	1,4476 +/- 0,2263 (2)	0,6764 +/- 0,1445 (2)	111,12 +/- 34,705 (10)	32,486 +/- 3,8841 (2)
SK-MM-1	нд	0,6039 +/- 0,4592 (3)	0,1752 +/- 0,0525 (2)	73,498 +/- 21,704 (3)	нд
U266	0,1314 +/- 0,0024 (2)	0,2661 +/- 0,1386 (2)	нд	83 +/-41,993 (3)	18,85 +/- 3,4229 (2)
DOHH-2	нд	0,5428 +/- 0,1497 (2)	0,0281 +/- 0,0099 (2)	10,701 +/- 5,9963 (2)	нд
HG-3	нд	0,8877 +/- 0,1628 (2)	0,0498 +/- 0,0236 (2)	25,787 +/- 13,589 (2)	нд
SC-1	0,0537 +/- 0 (1)	1,0624 +/- 0,2814 (3)	0,0772 +/- 0,0116 (2)	25,141 +/- 7,3961 (3)	8,6422 +/-0 (1)
SU-DHL-8	нд	0,2022 +/- 0,1099 (2)	0,0714 +/- 0,0244 (2)	14,264 +/- 3,6275 (3)	нд
Toledo	нд	0,3276 +/-	0,0162 +/-	12,519 +/-	нд

		0,0368 (2)	0,0047 (2)	6,2427 (3)	
DERL-2	нд	нд	нд	21,071 +/- 3,1768 (3)	1,8822 +/- 0,3506 (3)
SUP-T1	нд	нд	нд	33,527 +/- 11,372 (3)	2,9645 +/- 0,371 (3)
BJ	>1,996 +/- (1)	>1,996 +/- (1)	нд	>598,8 +/- (2)	103,64 +/- 38,599 (2)
hPBMC	нд	нд	нд	15,803 +/- 6,6175 (2)	3,6018 +/- 1,8923 (2)

На основании полученных результатов видно, что соединения согласно изобретению являются существенно более цитотоксичными, чем два соединения из известного уровня техники.

Биологический пример 3 - Оценка удержания/оттока клеток Примера 18 (после лечения с применением Примера 1), бендамустина и мелфалана:

Методы: MM.1S клетки при 2×10^6 клеток/мл высевали по 250 мкл на лунку в планшет на 96 лунок. Клетки инкубировали в присутствии тестируемого соединения в течение 5, 15, и 60 минут, после чего клетки осаждали путем центрифугирования при $+4^\circ\text{C}$ в течение 5. Клеточную среду немедленно собирали во второй планшет и хранили при -80°C до дальнейшего анализа. Осажденные центрифугированием клетки промывали один раз ледяным PBS и хранили при -80°C до дальнейшего анализа.

Клетки лизировали и белок в среде осаждали, используя ацетонитрил : диметилформамид, 9:1, содержащий внутренний стандарт. Образцы центрифугировали и супернатант анализировали с помощью ЖХ-МС/МС (ACQUITY UPLC -Xevo TQ-S micro) для определения концентрации соединения.

В качестве тестируемых соединений использовали соединение согласно примеру 1, бендамустин и мелфалан.

Результаты: Результаты представлены на Фигуре 1. На Фигуре 1(A) показаны внутриклеточная и внеклеточная концентрации бендамустина и метаболитного соединения, образованного из Соединения согласно примеру 1 (Соединение согласно примеру 18). Видно, что Соединение согласно примеру 18 быстро образуется внутри клеток после лечения с применением Соединения согласно примеру 1, и его низкие уровни обнаруживаются в среде за пределами клеток. Эти результаты указывают на то, что гидролиз соединения согласно примеру 1 происходил внутри клеток и что метаболит соединения согласно примеру 1 удерживался в клетках. Можно обнаружить низкую внутриклеточную концентрацию бендамустина, уровень которой снижается в динамике. Внеклеточная концентрация бендамустина была довольно высокой и снижалась в динамике.

На Фигуре 1(B), показаны внутриклеточная и внеклеточная концентрации мелфалана в течение времени осуществления эксперимента. После обработки клеток MM.1S мелфаланом в условиях *in vitro* была обнаружена низкая внутриклеточная концентрация мелфалана. Внеклеточная концентрация мелфалана была высокой и

постоянной на протяжении всего эксперимента.

Биологический пример 4 - Оценка цитотоксичности тестируемого соединения *in vivo* на модели ксенотрансплантата в куриных эмбрионах:

Методы: Оплодотворенные яйца белых леггорнов инокулировали с применением 3×10^6 SU-DHL-4 опухолевых клеток в день 9 (после оплодотворения). Жизнеспособным яйцам инъецировали 100 мкл либо Соединение согласно примеру 1 (8,4 мкМ (0,008 мг/кг), 33,5 мкМ (0,033 мг/кг), 167,5 мкМ (0,164 мг/кг)), или бендамустина (8,4 мкМ (0,005 мг/кг), 33,5 мкМ (0,02 мг/кг), 167,5 мкМ (0,1 мг/кг)) или наполнитель в день 11, 13, 15 и 17. В день 18, опухоли удаляли и взвешивали.

Результаты: Для Соединения из примера 1 наблюдали дозозависимый эффект (Фигура 2). Для Соединения из примера 1, уменьшение опухоли по сравнению с наполнителем составляло 38%, 70% и 82% при 8,4 мкМ, 33,5 мкМ и 167,5 мкМ, соответственно. Для бендамустина, уменьшение опухоли по сравнению с наполнителем наблюдалось только при 33,5 мкМ и 167,5 мкМ, на 30% и 76% соответственно. Таким образом, Соединение согласно примеру 1 демонстрирует мощную опухолевую цитотоксичность в данной модели.

Биологический пример 5 - Оценка удержания/оттока клеток PDC соединений и метаболитов:

Метод: Метод описан в Биологическом примере 3.

Исследовали соединения из примеров 1, 2, 3, 4, 6, 7 и 10. Внутриклеточные метаболиты образовывались из всех тестируемых соединений. Соединение, используемое для обработки клеток, метаболизировалось в сложноэфирное-гидролизующееся соединение (называемое в настоящем изобретении Метаболит А) и в амидное-гидролизующееся соединение (называемое Метаболит В). Структуры соединений согласно примерам и структуры двух метаболитов для соответствующих соединений представлены в Таблице 4. Метаболиты В, образованные в тестируемых условиях, представляли собой соединения, структура которых соответствует Примерам 17 и 18:

17: 18:

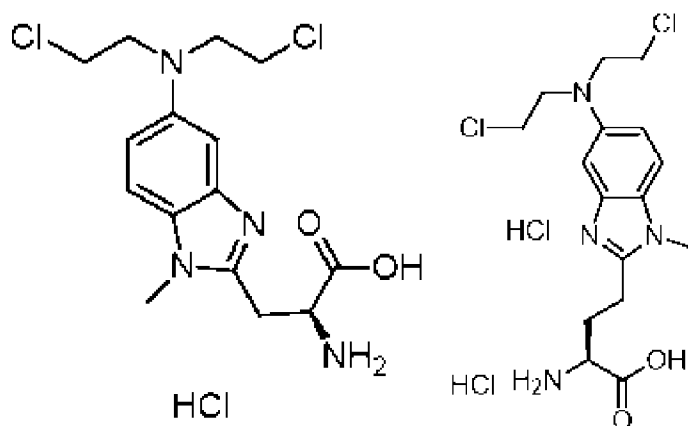
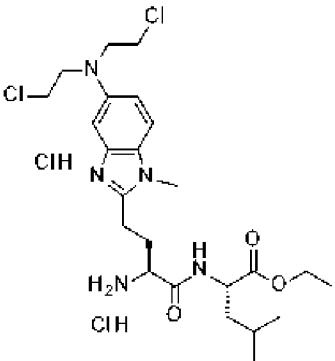
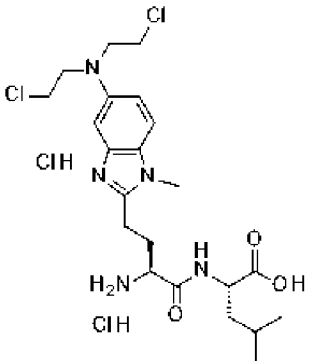
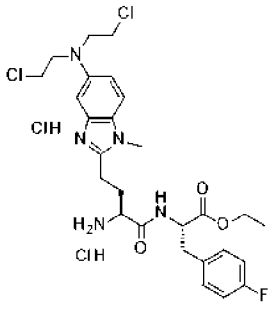
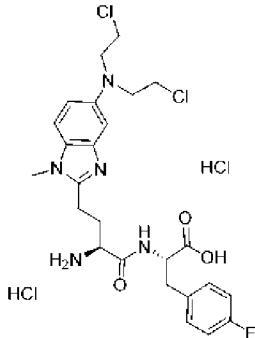
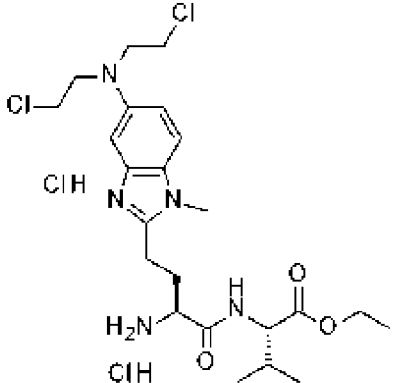
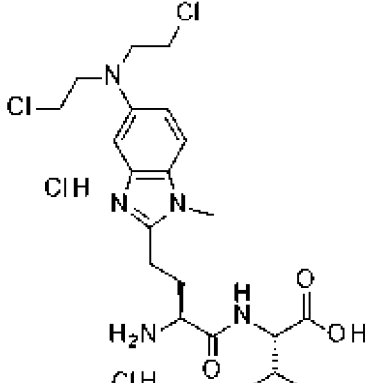
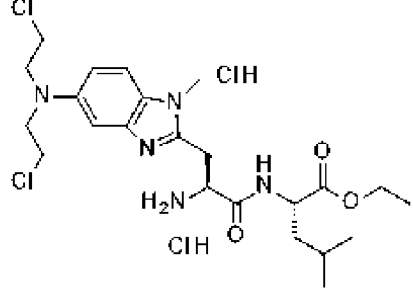
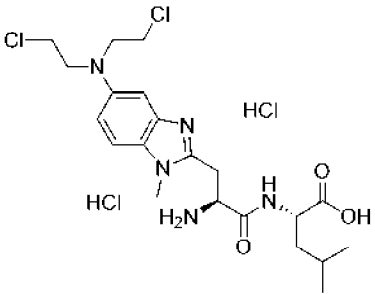
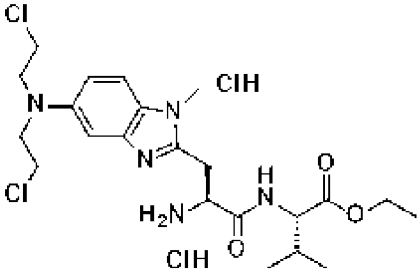
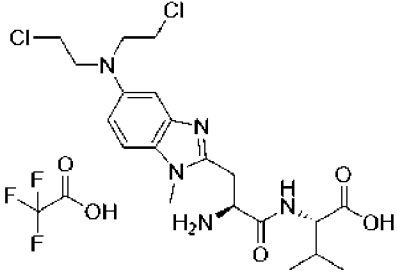
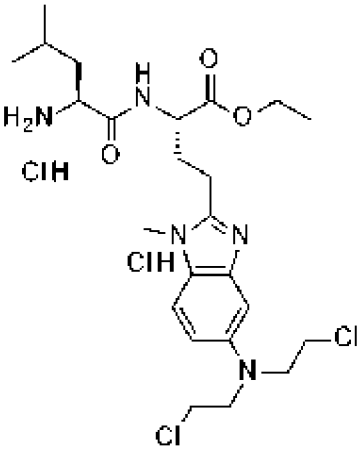
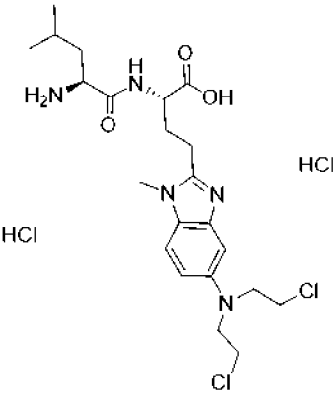
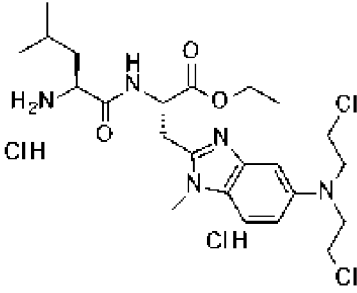
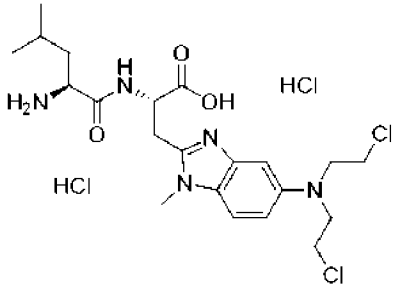


Таблица 4:

Пр	Структура	Метаболит А	Метаболит В
1	<p style="text-align: center;">1</p> 	<p style="text-align: center;">20</p> 	18
2	<p style="text-align: center;">2</p> 	<p style="text-align: center;">39</p> 	18
3	<p style="text-align: center;">3</p> 	<p style="text-align: center;">19</p> 	18
4	<p style="text-align: center;">4</p> 	<p style="text-align: center;">44</p> 	17

6	<p style="text-align: center;">6</p> 	<p style="text-align: center;">42</p> 	17
7	<p style="text-align: center;">7</p> 	<p style="text-align: center;">37</p> 	18
10	<p style="text-align: center;">10</p> 	<p style="text-align: center;">43</p> 	17

Внутриклеточная концентрация метаболитов медленно снижалась в динамике. Во внеклеточной среде можно было обнаружить незначительные или необнаруживаемые внеклеточные концентрации метаболитов. Эти результаты указывают на то, что гидролиз Соединений из примеров происходил внутри клеток и что метаболиты Соединений из примеров удерживались в клетках.

Биологический пример 6 - Оценка прямого повреждения ДНК тестируемыми соединениями:

Метод: ДНК готовили из MM.1S клеток с помощью QIAGEN genomic tip 20/G в соответствии с протоколом, описанным Furda и др., *Methods Mol Biol*, 2012. 1 мкг ДНК обрабатывали 0,25 мкМ соединения в течение 30 минут при 37°C. ДМСО использовали в качестве контрольной обработки. 20 нг обработанной ДНК амплифицировали методом ПЦР, используя Phusion Hot Start II High Fidelity PCR Master Mix (Thermo Scientific) и с использованием праймеров, нацеленных либо на HPRT, или праймеров, нацеленных на

митохондриальную ДНК (мтДНК), генерируя фрагменты 10,4 или 8,9 т.п.н., соответственно. ПЦР реакции разделяли на 1% агарозном геле и визуализировали с помощью ChemiDoc™ MP Imaging System (BioRad). Исследовали соединения из примеров 1, 2 и 38, а также соединения 18 и 20, которые представляют собой метаболиты соединения 1. Их сравнивали с бендамустином, мелфаланом и ДМСО контролем. Результаты для соединений 1, 2, 18 и 20 с HPRT праймерами представлены на Фигуре 4(А); результаты с мтДНК праймерами представлены на Фигуре 4(В). Результаты для соединений 18 и 38 с HPRT праймерами и мтДНК праймерами представлены на Фигуре 4(С).

Результаты: На Фигуре 4 видно, что Мелфалан и Бендамустин не оказывают или оказывают очень незначительное влияние на повреждение ДНК как ядерной, так и митохондриальной ДНК при тестируемой концентрации. Соединения из примеров 1 и 2 имели сильное повреждающее действие на ДНК как ядерной, так и митохондриальной ДНК, о чем свидетельствует тот факт, что на геле не было обнаружено полос ПЦР. Соединения из примеров 18 и 38 эффективно повреждают как ядерную, так и митохондриальную ДНК, при этом можно обнаружить только слабую полосу ПЦР. Соединение согласно примеру 20 также оказывало повреждающее действие на ДНК, но в меньшей степени по сравнению с Соединениями из примеров 1, 2 и 18, но в большей степени по сравнению с Бендамустином или Мелфаланом.

Биологический пример 7 - Оценка фрагментации ДНК, вызываемой тестируемыми соединениями

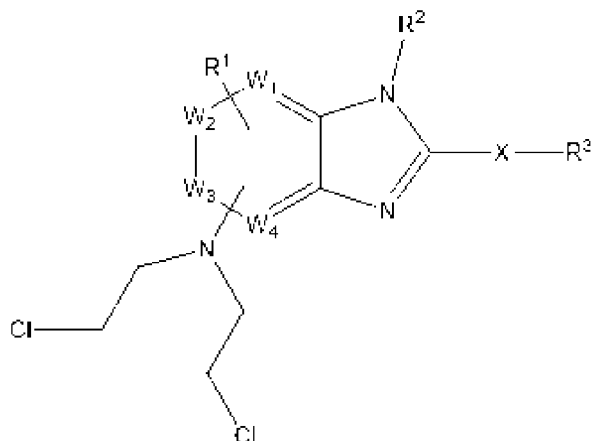
Метод: 1×10^6 MM.1S клеток (CRL-2974, ATCC) обрабатывали Соединением согласно примеру 1 или Бендамустином в концентрации 0,006, 0,06, 0,6 или 6 мкМ в течение 24 часов. После инкубации клетки промывали PBS (10010-015, Gibco), фиксировали в фиксирующем буфере для проточной цитометрии (FC004, R&D Systems) в течение 10 минут и хранили в 70% этаноле при -20°C в течение ночи. Аналог дезокситимидина (BrdUTP) присутствовал в эксперименте и служил для мечения сайтов разрыва ДНК. На следующий день, клетки промывали и окрашивали, используя APO-BrdU™ TUNEL Assay Kit, согласно протоколу производителя (A23210, Invitrogen), после чего осуществляли анализ с помощью BD FACSCanto™ II. Процент TUNEL положительных клеток указывал на процент клеток с фрагментированной ДНК.

Результаты: Дозозависимый эффект соединения согласно примеру 1 и Бендамустина на повреждение ДНК при 24-часовой инкубации представлено на Фигуре 5(А). Все данные выражены в виде среднего значения с СО (n=2). 24-часовое воздействие Соединения согласно примеру 1 индуцировало повреждение ДНК дозозависимым образом, в то время как Бендамустин не оказывал заметного влияния на повреждение ДНК при 24-часовой инкубации. Репрезентативные FACS гистограммы интенсивности Alexa fluor 488 после 24-часовой обработки с применением 0,6 мкМ тестируемого соединения или Бендамустина (n=2) представлены на Фигуре 5(В). Верхняя пара FACS гистограмм относится к Соединению из примера 1; средняя пара - к Бендамустину, а нижняя пара - к ДМСО контролю. Следует отметить, что обработка с использованием 0,6 мкМ Соединения

согласно примеру 1 в течение 24 часов вызывала разрывы ДНК в >90% тестируемых клеток, но это не относится к Бендамустину. Соединение согласно примеру 1 более эффективно вызывает разрывы ДНК.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль, сложный эфир, амид или карбамат, включая соль такого сложного эфира, амида или карбамата



(I)

где,

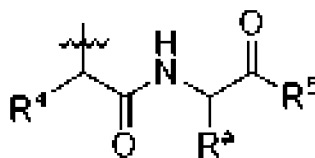
X представляет собой C₁₋₆алкилен;

W₁, W₂, W₃ и W₄ каждый представляет собой CH или один из W₁, W₂, W₃ и W₄ представляет собой N, а другие представляют собой CH;

R¹ выбран из группы, состоящей из H; C₁₋₄алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена; и галогена;

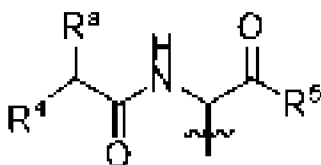
R² выбран из группы, состоящей из H; фенила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена; и C₁₋₆алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена; и

R³ представляет собой группу формулы (II):



(II)

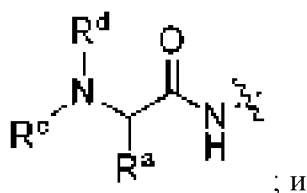
или формулы (III):



(III)

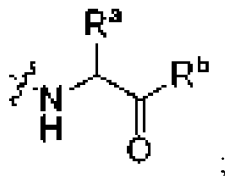
где,

R⁴ выбран из группы, состоящей из N(R^c)(R^d) и формулы (IV):



(IV)

когда R^4 представляет собой формулу (IV), то R^5 представляет собой R^b ; и когда R^4 представляет собой $N(R^e)(R^d)$, то R^5 выбран из группы, состоящей из R^b и формулы (V):



(V)

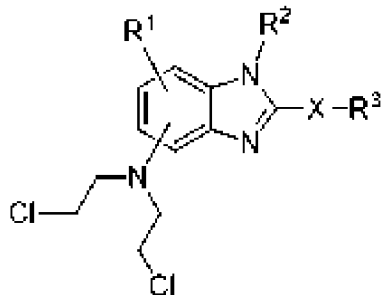
где каждый R^a независимо выбран из группы, состоящей из H; C_{1-6} -алкила; $-CH_2$ -фенила; или $-CH_2$ -3-12-членного гетероцикла, содержащего 1, 2, 3 или 4 гетероатома, выбранных из N, O и S; где указанный C_{1-6} -алкил необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из $-OH$, $-OC_{1-6}$ -алкила, $-NH_2$, $-NHC(=NH)NH_2$, $-C(O)OH$, $-C(O)NH_2$, $-SH$, $-SCH_3$, и галогена; и указанный фенил или гетероцикл необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена, $-NH_2$, $-OH$, $-OC_{1-6}$ -алкила и $-NO_2$;

R^b выбран из группы, состоящей из $-OH$; $-N(R^e)(R^f)$; и $-OC_{1-6}$ -алкила, необязательно замещенного одной или несколькими группами, выбранными из галогена, $-OH$, $-CN$, $-N(R^e)(R^f)$, $-C_{6-10}$ -арила, или 3-12 членного гетероцикла, содержащего один или несколько O, N или S атомов и необязательно замещенного 1, 2 или 3 галогенами, и/или где указанный алкил необязательно прерван 1, 2 или 3 атомами O, N или S;

R^c и R^d каждый независимо выбран из группы, состоящей из H; $-C_{1-6}$ -алкила, $C(O)C_{1-6}$ -алкила; и $-CH_2$ -фенила, где указанный алкил или указанный фенил необязательно замещен 1, 2 или 3 группами, выбранными из галогена; и

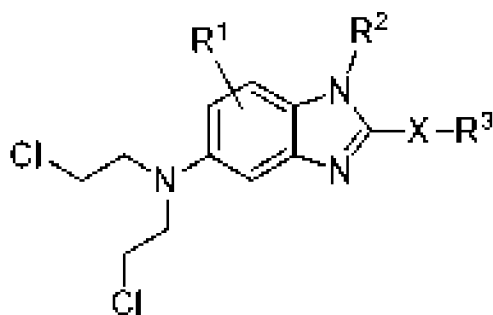
R^e и R^f каждый независимо выбран из группы, состоящей из H и $-C_{1-6}$ -алкила, где указанный алкил необязательно замещен 1, 2 или 3 группами, выбранными из галогена; или R^e и R^f вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют 4-, 5- или 6-членный гетероцикл, который необязательно замещен 1, 2 или 3 группами, выбранными из галогена.

2. Соединение по пункту 1, которое имеет структуру (Ia):



(Ia)

например, структуру (Ib):



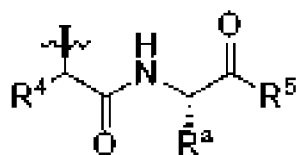
(Ib)

3. Соединение по пункту 1 или пункту 2, в котором R^1 представляет собой H.

4. Соединение по любому из пунктов 1-3, в котором R^2 выбран из группы, состоящей из фенила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 галогенами; и $-C_{1-6}$ алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 галогенами; например, $-C_{1-4}$ алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 галогенами, например, метила.

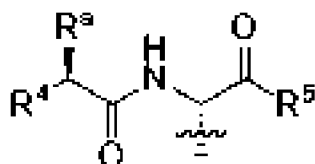
5. Соединение по любому из пунктов 1-4, в котором X представляет собой $-CH_2-$ или $-CH_2-CH_2-$.

6. Соединение по любому из пунктов 1-5, в котором R^3 представляет собой группу формулы (IIa):



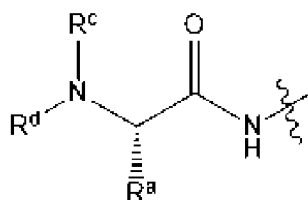
(IIa)

или формулы (IIIa):



(IIIa)

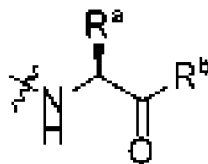
7. Соединение по любому из пунктов 1-6, в котором R^4 выбран из группы, состоящей из $N(R^c)(R^d)$ и формулы (IVa):



(IVa)

8. Соединение по любому из пунктов 1-7, в котором когда R^4 представляет собой формулу (IV) или (IVa), то R^5 представляет собой R^b ; и когда R^4 представляет собой $N(R^c)(R^d)$, то R^5 выбран из группы, состоящей из R^b и формулы (Va), где формула (Va) имеет

следующую структуру,



(Va)

9. Соединение по любому из пунктов 1-8, в котором R^4 представляет собой NH_2 .

10. Соединение по любому из пунктов 1-9, в котором каждый R^a независимо выбран из группы, состоящей из C_{1-6} алкила и $-\text{CH}_2$ -фенила; где указанный C_{1-6} алкил необязательно замещен $-\text{OH}$; $-\text{NH}_2$; $-\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$; $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$; $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$; $-\text{SH}$; $-\text{SCH}_3$; или галогеном (например, F или Cl); и указанный фенил необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена (например, F или Cl); $-\text{NH}_2$; $-\text{OH}$; $-\text{O}-\text{C}_{1-6}$ алкил; и $-\text{NO}_2$.

11. Соединение по пункту 10, в котором каждый R^a выбран из группы, состоящей из $-\text{C}_{1-6}$ алкила и $-\text{CH}_2$ -фенила; где указанный фенил необязательно замещен 1, 2 или 3 галогеновыми заместителями.

12. Соединение по любому из пунктов 1-11, в котором, когда R^4 представляет собой формулу (IV) или (IVa), то R^5 представляет собой $-\text{OC}_{1-6}$ алкил; и когда R^4 представляет собой NH_2 , то R^5 представляет собой $-\text{OC}_{1-6}$ алкил или формулу (V) или (Va).

13. Соединение по пункту 12, в котором, когда R^b представляет собой $-\text{OC}_{1-6}$ алкил, то он выбран из группы, состоящей из метокси, этокси и изопропокси.

14. Соединение по пункту 1, выбранное из группы, состоящей из:

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноата (Соединение согласно примеру 1);

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноата (Соединение согласно примеру 2);

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-3-метил-бутаноата (Соединение согласно примеру 3);

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-4-метил-пентаноата (Соединение согласно примеру 4);

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноата (Соединение согласно примеру 5);

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-3-метил-бутаноата (Соединение согласно примеру 6);

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-метил-пентаноил]амино]-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноата (Соединение согласно примеру 7);

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноата (Соединение согласно примеру 8);

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-метил-бутаноил]амино]-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноата (Соединение согласно примеру 9);

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-метил-пентаноил]амино]-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноата (Соединение согласно примеру 10);

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноата (Соединение согласно примеру 11);

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-метил-бутаноил]амино]-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноата (Соединение согласно примеру 12);

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-фенил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноата (Соединение согласно примеру 13);

Метил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-4-метил-пентаноата (Соединение согласно примеру 14);

Изопропил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-4-метил-пентаноата (Соединение согласно примеру 15);

этил (2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноил]амино]-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноата (Соединение согласно примеру 16);

Этил (2S)-2-[[[(2R)-2-[[[(2S)-2-амино-3-(4-фторфенил)пропаноил]амино]-4-метил-пентаноил]амино]-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноата (Соединение согласно примеру 21)

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноата (Соединение согласно примеру 22)

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноил]амино]-4-метил-пентаноата (Соединение согласно примеру 23)

2-Морфолиноэтил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноата (Соединение согласно примеру 24)

2-Изопропоксиэтил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноата (Соединение согласно примеру 25)

Изопропил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноата (Соединение согласно примеру 26)

Метил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноата (Соединение согласно примеру 27)

3-(Диметиламино)пропил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноата (Соединение согласно

примеру 28)

(2-Метокси-1-метил-этил) (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноата (Соединение согласно примеру 29)

(2S)-2-[[[(2S)-2-Амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-N,N,4-триметил-пентанамида (Соединение согласно примеру 30)

(2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-N,4-диметил-пентанамида (Соединение согласно примеру 31)

Этил (2S)-2-[[[(2S)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-(метиламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентаноата (Соединение согласно примеру 32)

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-ацетамидо-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноата (Соединение согласно примеру 34)

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-ацетамидо-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-4-метил-пентаноата (Соединение согласно примеру 35)

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-ацетамидо-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропаноата (Соединение согласно примеру 36)

Этил (2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноата (Соединение согласно примеру 38) Этил (2R)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноата (Соединение согласно примеру 45)

Этил (2S)-2-[[[(2R)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноата (Соединение согласно примеру 46)

Этил (2R)-2-[[[(2R)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноата (Соединение согласно примеру 47)

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[6-[бис(2-хлорэтил)амино]-3-метил-имидазо[4,5-b]пиридин-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноата (Соединение согласно примеру 48); и

Этил (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлор-1,1,2,2-тетрадейтерио-этил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентаноата (Соединение согласно примеру 50)

или его фармацевтически приемлемая соль, амид или карбамат, включая соль такого амида или карбамата.

15. Соединение по пункту 1, выбранное из группы, состоящей из:

(2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-3-метил-бутановой кислоты (Соединение согласно примеру 19); и

(2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентановой кислоты (Соединение согласно примеру 20);

(2S)-2-[[[(2S)-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]-2-

(метиламино)бутаноил]амино]-4-метил-пентановой кислоты (Соединение согласно примеру 33)

(2S)-2-[[[(2S)-2-Амино-4-метил-пентаноил]амино]-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутановой кислоты (Соединение согласно примеру 37)

(2S)-2-[[[(2S)-2-Амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-3-(4-фторфенил)пропановой кислоты (Соединение согласно примеру 39)

(2S)-2-[[[(2S)-2-Амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-фенил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентановой кислоты (Соединение согласно примеру 40)

2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-3-метил-бутановой кислоты (Соединение согласно примеру 42) (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-метил-пентаноил]амино]-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропановой кислоты (Соединение согласно примеру 43) (2S)-2-[[[(2S)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропаноил]амино]-4-метил-пентановой кислоты (Соединение согласно примеру 44); и

(2S)-2-[[[(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлор-1,1,2,2-тетрадейтерио-этил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноил]амино]-4-метил-пентановой кислоты (Соединение согласно примеру 51)

или его соли.

16. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение, как определено в любом из пунктов 1-15, вместе с фармацевтически приемлемым носителем.

17. Фармацевтическая композиция по пункту 16, которая дополнительно содержит дополнительное терапевтическое средство, например, стероид, ингибитор контрольных точек, ингибитор ядерного транспорта, антиапоптотический ингибитор, адоптивную клеточную терапию, привлекающий Т-клетки биспецифический активатор (BiTE), иммуномодулирующее лекарственное средство на основе имида (IMiD), ингибитор протеасом (PI), ингибитор гистондеацетилазы (HDAC), конъюгат пептида с лекарственным средством (PDC), алкилятор или интеркалятор ДНК.

18. Соединение по любому из пунктов 1-15 или фармацевтическая композиция по пункту 16 или 17 для применения в качестве лекарственного препарата.

19. Соединение по любому из пунктов 1-15 или фармацевтическая композиция по пункту 16 или 17 для применения для лечения или профилактики злокачественного новообразования.

20. Соединение или композиция для применения по пункту 19, где злокачественное новообразование выбрано из множественной миеломы, остеосаркомы, рака молочной железы, рака легких, рака яичников, лейкоза и лимфомы; например, множественной миеломы, острого миелоидного лейкоза или лимфомы.

21. Соединение или композиция для применения по пункту 19 или 20, где соединение или композицию вводят (например, одновременно, последовательно или отдельно) с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами, например, стероидом, ингибитором контрольных точек, ингибитором ядерного транспорта,

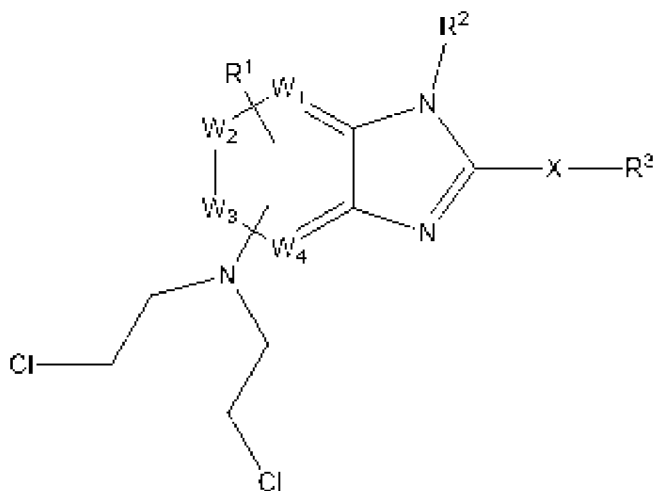
антиапоптотическим ингибитором, адоптивной клеточной терапией, привлекающим Т-клетки биспецифическим активатором (BiTE), иммуномодулирующим лекарственным средством на основе имида (IMiD), ингибитором протеасом (PI), ингибитором гистондеацетилазы (HDAC), конъюгатом пептида с лекарственным средством (PDC), алкилятором или интеркалятором ДНК.

22. Способ лечения пациента, который включает введение фармацевтически эффективного количества соединения по любому из пунктов 1-15 или фармацевтической композиции по пункту 16 или 17.

23. Способ лечения или профилактики злокачественного новообразования, включающий введение эффективного количества соединения по любому из пунктов 1-15 или фармацевтической композиции по пункту 16 или 17, например, где указанное злокачественное новообразование представляет собой любое из множественной миеломы, остеосаркомы, рака молочной железы, рака легких, рака яичников, лейкоза и лимфомы; например, множественной миеломы, острого миелоидного лейкоза или лимфомы.

24. Применение соединения по любому из пунктов 1-15 для приготовления лекарственного препарата для лечения или профилактики злокачественного новообразования, например, где указанное злокачественное новообразование представляет собой любое из множественной миеломы, остеосаркомы, рака молочной железы, рака легких, рака яичников, лейкоза и лимфомы; например, множественной миеломы, острого миелоидного лейкоза или лимфомы.

25. Соединение формулы (I) или его соль или сольват



(I)

где,

X представляет собой C₁₋₆алкилен;

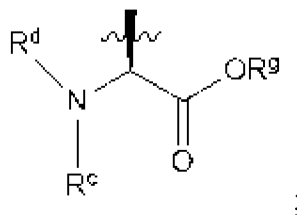
W₁, W₂, W₃ и W₄ каждый представляет собой CH или один из W₁, W₂, W₃ и W₄ представляет собой N, а другие представляют собой CH;

R¹ выбран из группы, состоящей из H; C₁₋₄алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена; и галогена;

R² выбран из группы, состоящей из H; фенила, необязательно замещенного 1, 2 или

3 группами, независимо выбранными из галогена; и C₁₋₆алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена; и

R³ представляет собой формулу (VIa):



(VIa)

где, R^c и R^d каждый независимо выбран из группы, состоящей из H, -C₁₋₆алкила, C(O)C₁₋₆алкила и -CH₂-фенила, где указанный алкил или указанный фенил необязательно замещен 1, 2 или 3 группами, выбранными из галогена; и

R^g выбран из группы, состоящей из H и -C₁₋₆алкила, где указанный алкил необязательно замещен 1, 2 или 3 группами, выбранными из галогена.

26. Соединение по пункту 25, где структура представляет собой (Ia) или (Ib), как показано в пункте 2, или R¹, R² или X имеют значения, указанные в любом из пунктов 3-5; R^c и R^d каждый представляет собой H; и R^g представляет собой H.

27. Соединение по пункту 25, выбранное из группы, состоящей из:

(2S)-2-амино-3-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]пропановой кислоты (Соединение согласно примеру 17);

(S)-2-амино-4-(5-(бис(2-хлорэтил)амино)-1-метил-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)бутановой кислоты (Соединение согласно примеру 18);

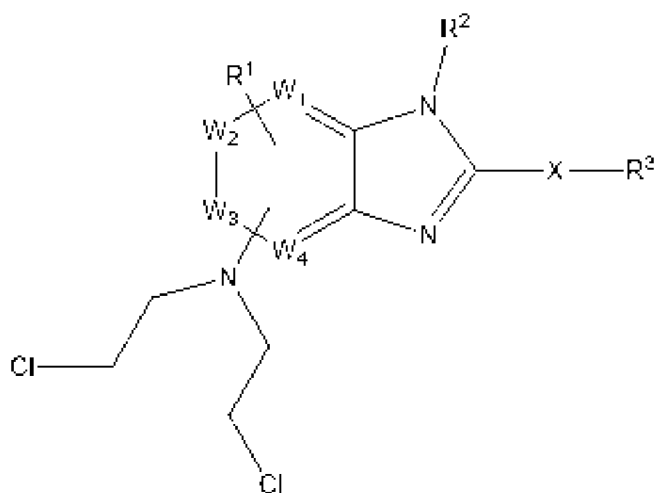
Этил (2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутаноат (Соединение согласно примеру 38)

(2S)-2-Амино-4-[5-[бис(2-хлорэтил)амино]-1-фенил-бензимидазол-2-ил]бутановой кислоты (Соединение согласно примеру 41); и

(2S)-2-амино-4-[5-[бис(2-хлор-1,1,2,2-тетрадейтерио-этил)амино]-1-метил-бензимидазол-2-ил]бутановой кислоты (Соединение согласно примеру 49);

или его соли.

28. Соединение формулы (I) или его соль или сольват



(I)

где,

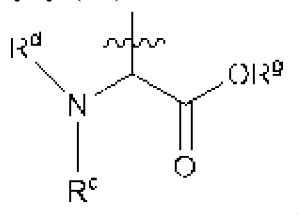
X представляет собой C₁₋₆алкилен;

W₁, W₂, W₃ и W₄ каждый представляет собой CH или один из W₁, W₂, W₃ и W₄ представляет собой N, а другие представляют собой CH;

R¹ выбран из группы, состоящей из H; C₁₋₄алкила, необязательно замещенного 1,2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена; и галогена;

R² выбран из группы, состоящей из H; фенила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена; и C₁₋₆алкила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 группами, независимо выбранными из галогена;

R³ представляет собой формулу (VI):



(VI)

где, R^c и R^d каждый независимо выбран из группы, состоящей из H, -C₁₋₆алкила, C(O)C₁₋₆алкила и -CH₂-фенила, где указанный алкил или указанный фенил необязательно замещен 1, 2 или 3 группами, выбранными из галогена; и

R^g выбран из группы, состоящей из H и -C₁₋₆алкила, где указанный алкил необязательно замещен 1, 2 или 3 группами, выбранными из галогена,

для применения для лечения злокачественного новообразования, выбранного из группы, состоящей из множественной миеломы, остеосаркомы, рака молочной железы, рака легких, рака яичников, лейкоза и лимфомы; например, множественной миеломы, острого миелоидного лейкоза или лимфомы.

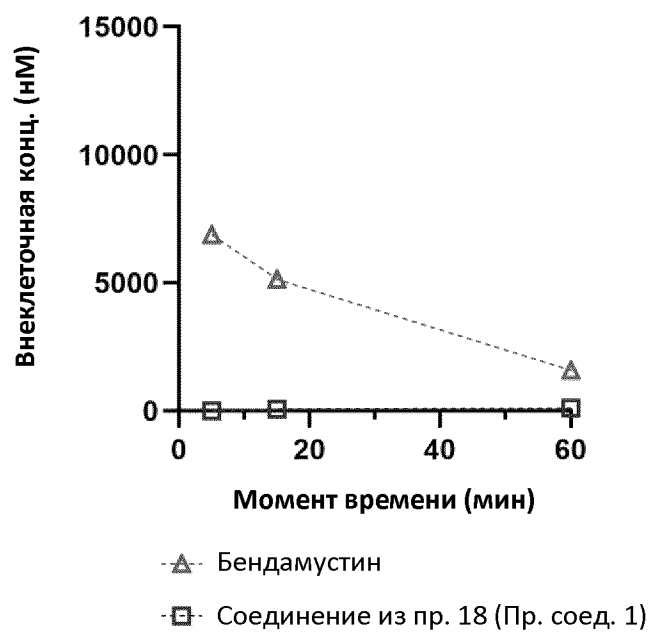
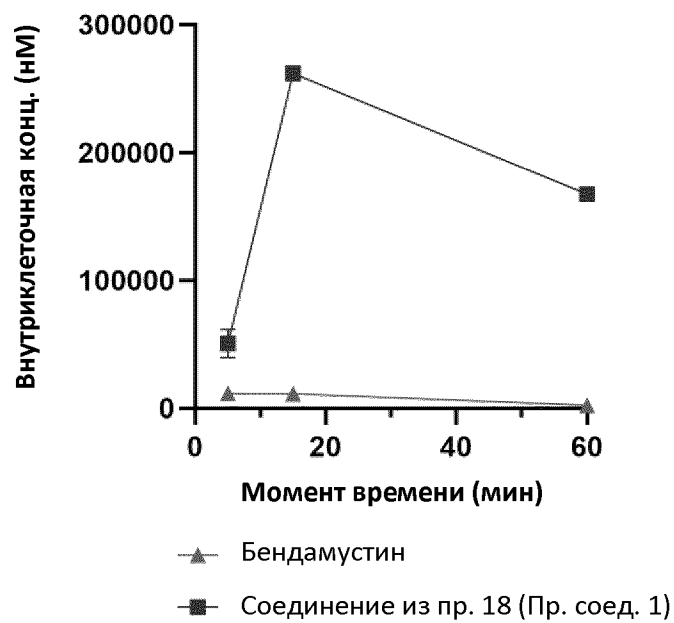
29. Способ лечения злокачественного новообразования, выбранного из группы, состоящей из множественной миеломы, остеосаркомы, рака молочной железы, рака легких, рака яичников, лейкоза и лимфомы; например, множественной миеломы, острого

миелоидного лейкоза или лимфомы, включающий введение эффективного количества соединения, как указано в пункте 28.

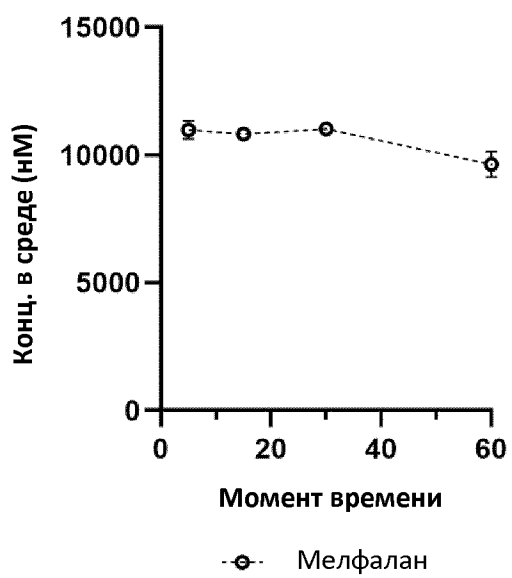
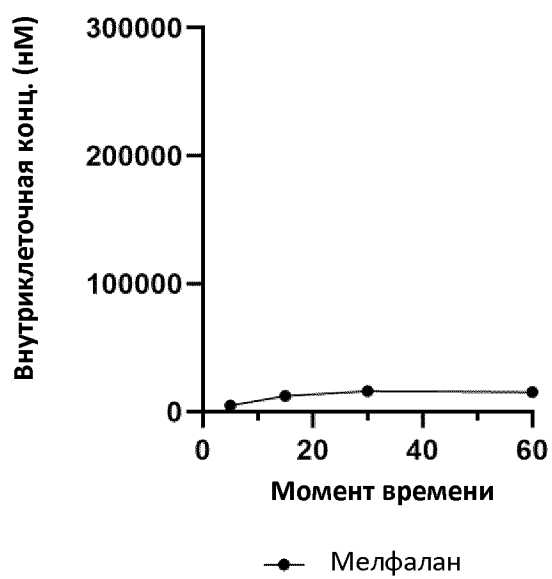
По доверенности

1/10

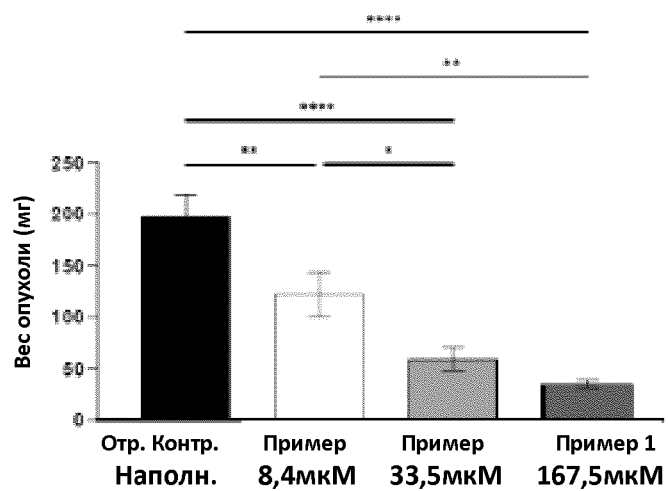
Фиг. 1 (А)



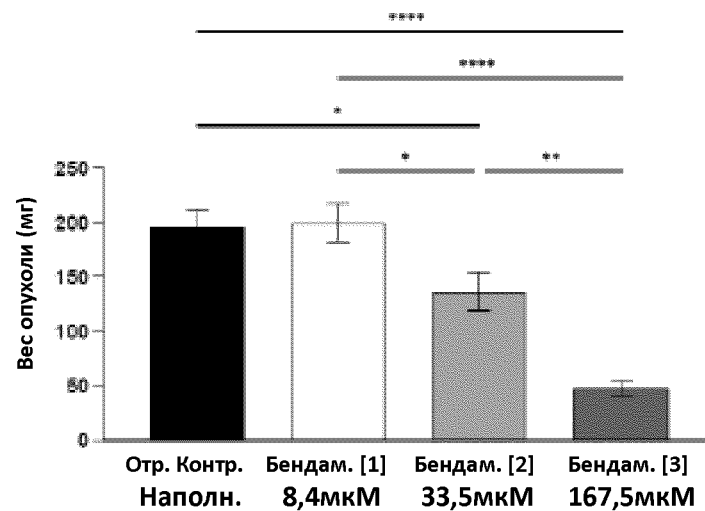
Фиг. 1 (В)



Рост опухоли, лечение Соединением из пр. 1

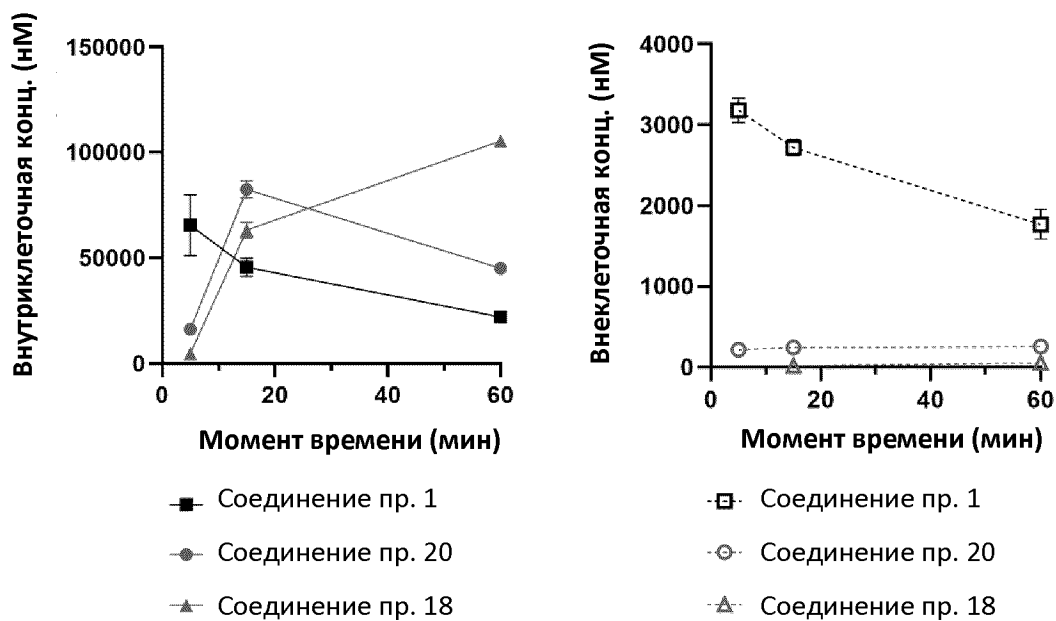


Рост опухоли, лечение бендамустином

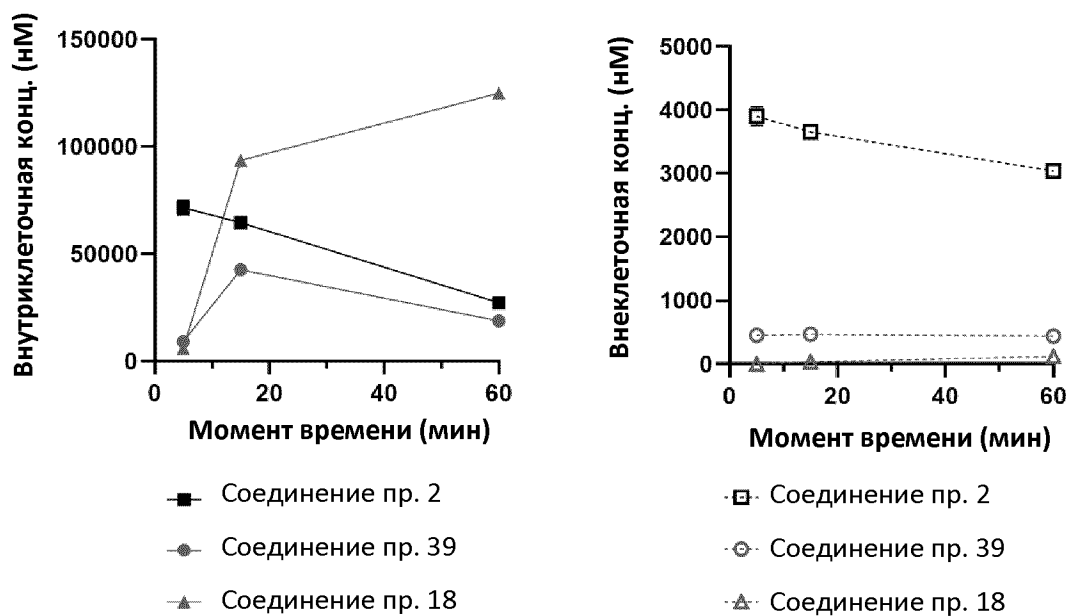


Фиг. 2

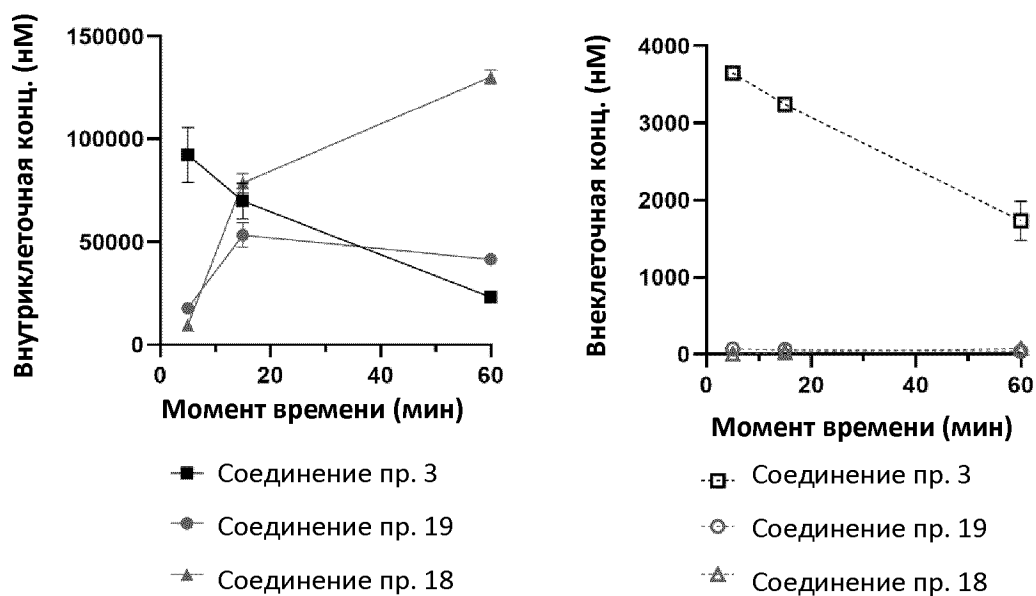
Фиг. 3(А)



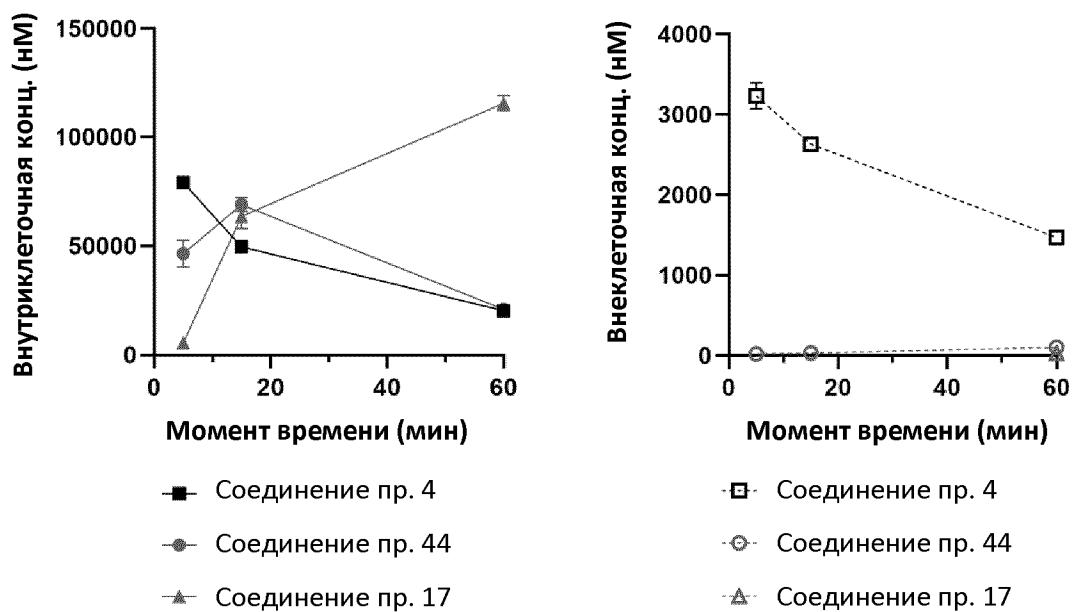
Фиг. 3(В)



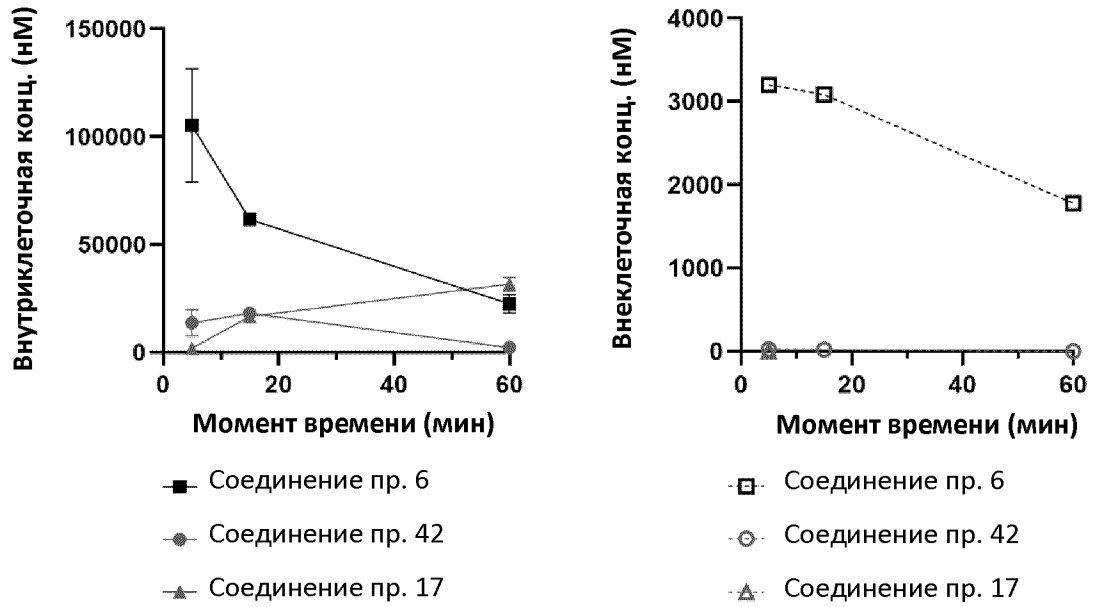
Фиг. 3(С)



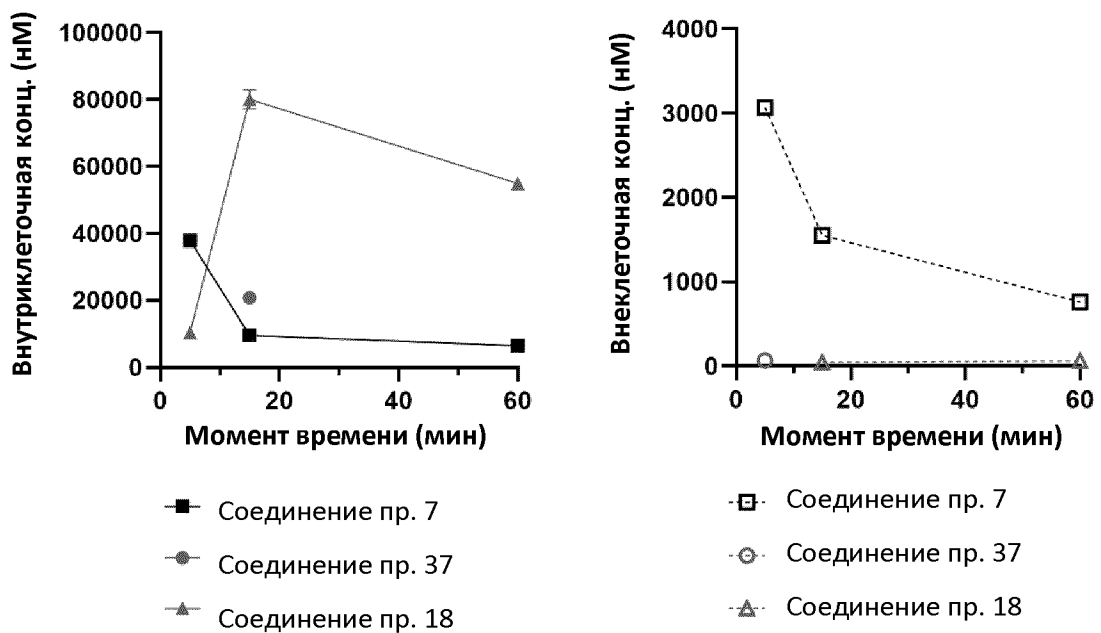
Фиг. 3(D)



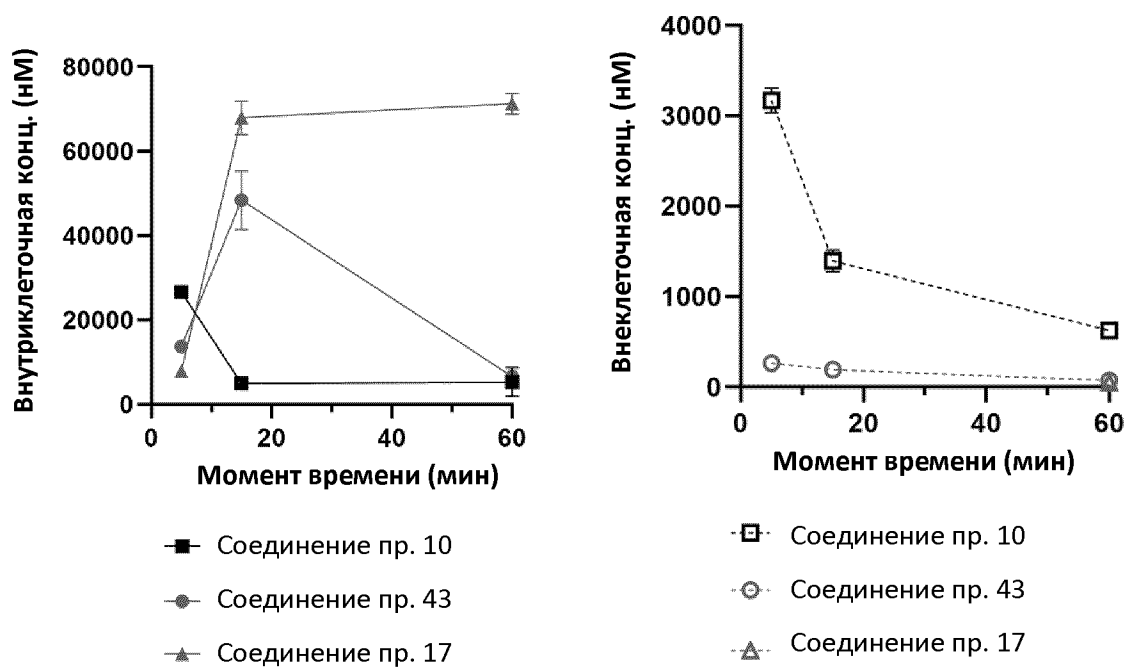
Фиг. 3(Е)



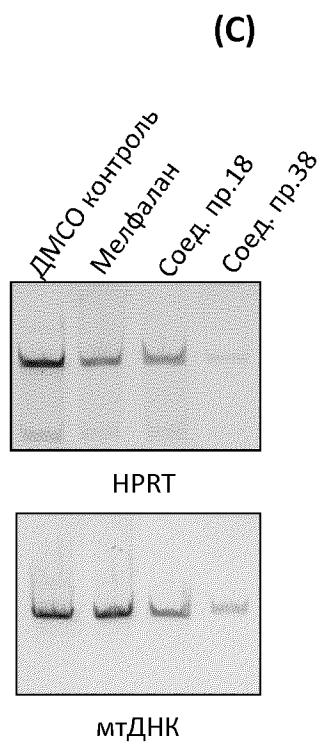
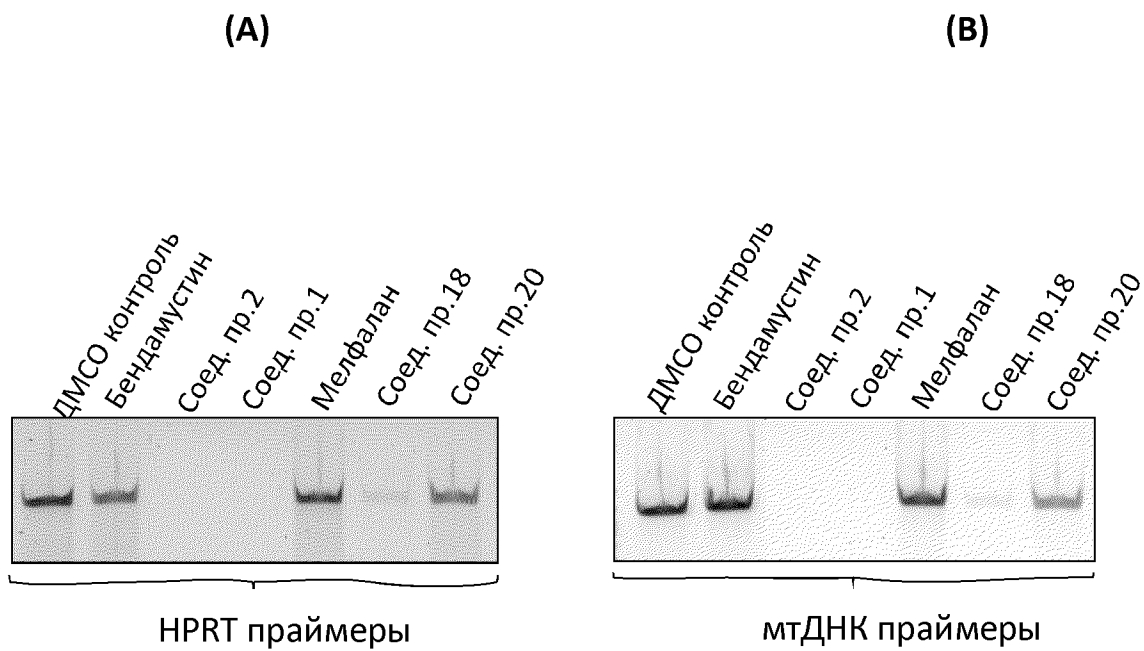
Фиг. 3(Ф)



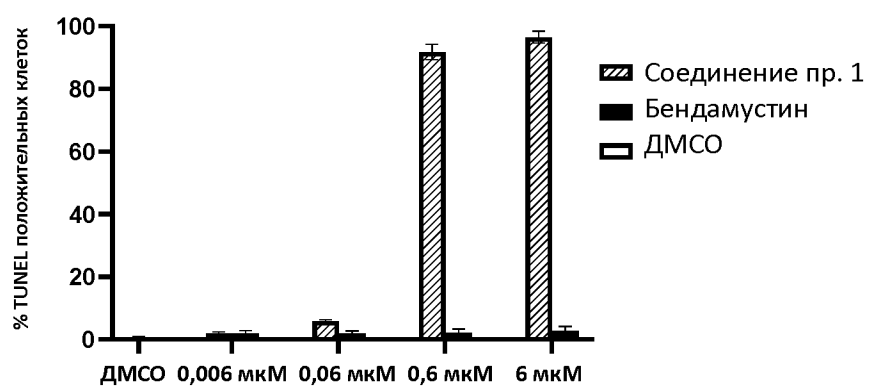
Фиг. 3(Г)



Фиг. 4



Фиг. 5(A)



10/10

Фиг. 5(В)

