


МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені В. Н. Каразіна

Кафедра органічної хімії



УДК 547.584; 547.892.4/.8

 До захисту допускаю
_____ Завідувач кафедри
« ____ » _____ 2023 р. д.х.н., проф. А. О. Дорошенко

СИНТЕЗ ПОХІДНИХ 2-(2,7-ДІОКСОАЗЕПІН-3-ІЛ)ІЗОІНДОЛІН-1,3-ДІОНУ

Кваліфікаційна робота магістра
II курсу хімічного факультету
**ТРОЩЕНКА ВЛАДИСЛАВА
ІВАНОВИЧА**

Науковий керівник
к.х.н., доцент


 О. О. Нікішин

ХАРКІВ 2023

РЕФЕРАТ

Дипломна робота містить 40 сторінок, 7 схем та 25 рисунків. Використано 69 літературних джерел.

Об'єкт дослідження: похідні 2-(2,7-діоксоазепін-3-іл)ізоіндолін-1,3-діону.

Мета роботи: зробити літературний огляд щодо виникнення та подальшого розвитку PROTAC. Підсумувати досягнення клінічних досліджень PROTAC. Охарактеризувати похідні талідоміду та їх біологічну активність. Синтезувати похідні 2-(2,7-діоксоазепін-3-іл)ізоіндолін-1,3-діону, розробити методики їх синтезу та встановити будову синтезованих сполук методами LCMS і ^1H ЯМР спектроскопії.

Результати: в ході експерименту були синтезовані напівпродукти, вивчені їх властивості, а також отримані нітро-, аміно-, галогено- та інші похідні 2-(2,7-діоксоазепін-3-іл)ізоіндолін-1,3-діону.

Ключові слова: PROTAC; ХИМЕРИ, НАЦІЛЕНІ НА ПРОТЕОЛІЗ; ТАЛІДОМІД; БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ; КЛІНІЧНІ ВИПРОБУВАННЯ; СИНТЕЗ ПОХІДНИХ 2-(2,7-ДІОКСОАЗЕПІН-3-ІЛ)ІЗОІНДОЛІН-1,3-ДІОНУ.

ABSTRACT

This diploma work includes 40 pages, 7 schemes and 25 pictures. 69 literatures were used.

Object of research: 2-(2,7-dioxazepin-3-yl)isoindolin-1,3-dione derivatives.

Objective: to conduct a literature review on the emergence and further development of PROTAC. To summarize the achievements of PROTAC clinical trials. To characterize thalidomide derivatives and their biological activity. Synthesize derivatives of 2-(2,7-dioxazepin-3-yl)isoindolin-1,3-dione, develop methods of their synthesis and establish the structure of the synthesized compounds by LCMS and ^1H NMR spectroscopy methods.

Results: during the experiment, intermediate products were synthesized, their properties were studied, and nitro-, amino-, halogen- and other derivatives of 2-(2,7-dioxazepin-3-yl)isoindolin-1,3-dione were obtained.

Keywords: PROTAC; PROTEOLYSIS TARGETING CHIMERA; THALIDOMIDE; BIOLOGICAL ACTIVITY; CLINICAL TRIALS; SYNTHESIS OF 2-(2,7-DIOXOAZEPIN-3-YL)ISOINDOLINE-1,3-DIONE DERIVATIVES.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ ТА ТЕРМІНІВ.....	5
ВСТУП	7
1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД.....	8
1.1. Хімери, націлені на протеоліз (PROTAC)	8
1.2. Клінічні випробування PROTAC	14
1.3. Похідні талідоміду.....	17
2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	21
1.1. Загальна схема синтезу.....	21
1.2. Обговорення результатів дослідження	21
2.3. Методики синтезу речовин та спектральні данні	26
ВИСНОВКИ.....	34
ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	35
ДОДАТОК А.....	1

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ ТА ТЕРМІНІВ

AcOH	оцтова кислота
BCR-ABL	гібридний білок, продукт гібридного гена BCR-ABL1
BRD4	(англ. Bromodomain containing 4) білок, який кодується одноіменним геном
BTK	(англ. Bruton's tyrosine kinase) тирозин кіназа Брутона
CRBN	(англ. Cereblon) білок, який кодується однойменним геном
DA _{INV}	зворотна реакція Дільса-Альдера електронного запиту
FKBP	зв'язувальні білки
GPCRs	рецептори, що зв'язані з G-білком
Hex	гексан
HIF	(англ. Hypoxia-inducible factors) фактори, індуковані гіпоксією
HT7	HaloTag7
IAP	(англ. Inhibitor of apoptosis protein) інгібітор білка апоптозу
IL	(англ. Interleukin) інтерлейкін
IMiD	(англ. Immunomodulatory imide drug) імуномодуючий імідний препарат
In vitro	(лат. У склі) техніка виконання експерименту у контрольованому середовищі
In vivo	(лат. У живому) техніка виконання експерименту всередині організму
MDM2	білок, який кодується одноіменним геном
MetAP-2	метіонінамінопептидаза-2
NSAA	нестероїдний антиандроген
PI3K	(англ. Phosphoinositide 3-kinase) фосфоінозитид 3-кіназа
PROTAC	(англ. Proteolysis targeting chimera) хімера, що націлена на протеоліз
RTK	(англ. Receptor tyrosine kinase) рецептор тирозинкінази
SALL4	(англ. Spalt like transcription factor 4) – білок, який кодується однойменним геном

SARM	селективний модулятор андрогенових рецепторів
SNIPER	(англ. Specific non-genetic IAP-based protein erasers) специфічні негенетичні білкові деструктори на основі IAP
TNF	(англ. Tumor necrosis factor) фактор некрозу пухлини
VHL	(англ. Von Hippel–Lindau) супресор пухлини фон Гіппеля-Ліндау
XIAP	(англ. X-linked inhibitor of apoptosis protein) X-зв'язаний інгібітор білка апоптозу
AP	андрогенний рецептор
ББВ	білок-білкова взаємодія
ДМП	періодат Десса-Мартіна
ДМСО	диметилсульфоксид
ДМФА	диметилформамід
ДХЕ	1,2-дихлоретан
Е3	убіквітинлігаза Е3
ЛЗ	лікарський засіб
ММ	множинна мієлома
мРНК	матрична рибонуклеїнова кислота
ПЕГ	поліетиленгліколь
СД	спосіб дії
УМП	Управління продовольства та медикаментів
УПС	убіквітин-протеасомна система
ФРЕС	фактор росту ендотелію судин
ЦБ	цільовий білок

ВСТУП

Протягом останнього десятиліття цільовий напрям синтезу лікарських засобів (ЛЗ) зазнав значних змін. Фокус змістився з традиційних мішеней ЛЗ, таких як кінази, іонні канали та рецептори, що зв'язані з G-білком (англ. GPCRs), до більш складних «невиліковних» мішеней, які є привабливими з біологічної точки зору [1]. Дані мішені включають, як правило, каркасні білки та білки без ферментативної функції [2]. Історично склалося, що мішені ЛЗ з чітко визначеними активними центрами, які придатні для розміщення невеликих молекул, були в центрі фармакологічного втручання. Таким чином, існують відомі методи розробки ЛЗ проти цих мішеней, які містять активний центр, та відкриті традиційні малі молекули інгібіторів [3]. Через це, сьогодні більшість сучасних ЛЗ мають малу молекулярну масу і, у більшості випадків, діють через фармакологію способу дії (СД). Однак, не дивлячись на успіх, цей СД не може бути застосований до всіх біологічних мішеней, особливо до тих, у яких немає ферментативної активності, таких як каркасні білки та білки, що взаємодіють через білок-білкову взаємодію (ББВ) [4]. Отже, були докладені зусилля для розробки нових класів ЛЗ, а також з альтернативними СД, для модулювання нетрадиційних мішеней ЛЗ та боротьби з механізмами резистентності, через що спектр класів ліків розширився [1].

Комбінована молекула вибіркового протеолізу білка (англ. proteolysis targeting chimera, PROTAC) — це молекула, що складається з двох фрагментів, поєднаних лінкером. Замість того, щоб діяти як звичайний інгібітор ферментів, PROTAC індукує селективний внутрішньоклітинний протеоліз.

Отримання цих сполук на основі похідних талідоміду є шляхом отримання селективних PROTAC, які матимуть можливість стати у майбутньому лікарськими засобами, що будуть більш ефективними, ніж їх аналоги-інгібітори. Наразі відомо багато різноманітних PROTAC, у склад яких входять похідні талідоміду, однак інформації щодо похідних з семичленним адипімідним кільцем відомо дуже мало, тому синтез похідних 2-(2,7-діоксоазепін-3-іл)ізоіндолін-1,3-діону є перспективним напрямком дослідження [5].

1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

1.1. Хімери, націлені на протеоліз (PROTAC)

Химера, націлена на протеоліз (англ. PROteolysis TArgeting Chimera, PROTAC), представляє собою гетеробіфункціональну молекулу, що складається з двох активних доменів та лінкера, здатну видаляти специфічні ненативні білки. Ці сполуки складаються з двох ковалентно пов'язаних молекул, що зв'язують білок, одна з яких зв'язується з цільовим білком (ЦБ), призначеним для деградації, а інша залучає фермент убіквітинлігазу E3 (E3) [6].

PROTAC ініціюють каскад деградацій через «викрадення» убіквітин-протеасомної системи (УПС) клітини шляхом формування потрібного комплексу з ЦБ та E3. Спочатку активований лігазою E1 убіквітин кон'югує з лігазою E2, яка у свій час утворює комплекс з лігазою E3. Лігаза E3 націлюється на білки та ковалентно приєднує убіквітин до цільового білка [7]. Після цього поліубіквітинований цільовий білок розпізнається та розкладається протеасомою 26S, яка є частиною УПС. Дана система є основним механізмом, що використовується еукаріотичними клітинами для регуляції рівня білка (Рисунок 1.1) [8, 9].

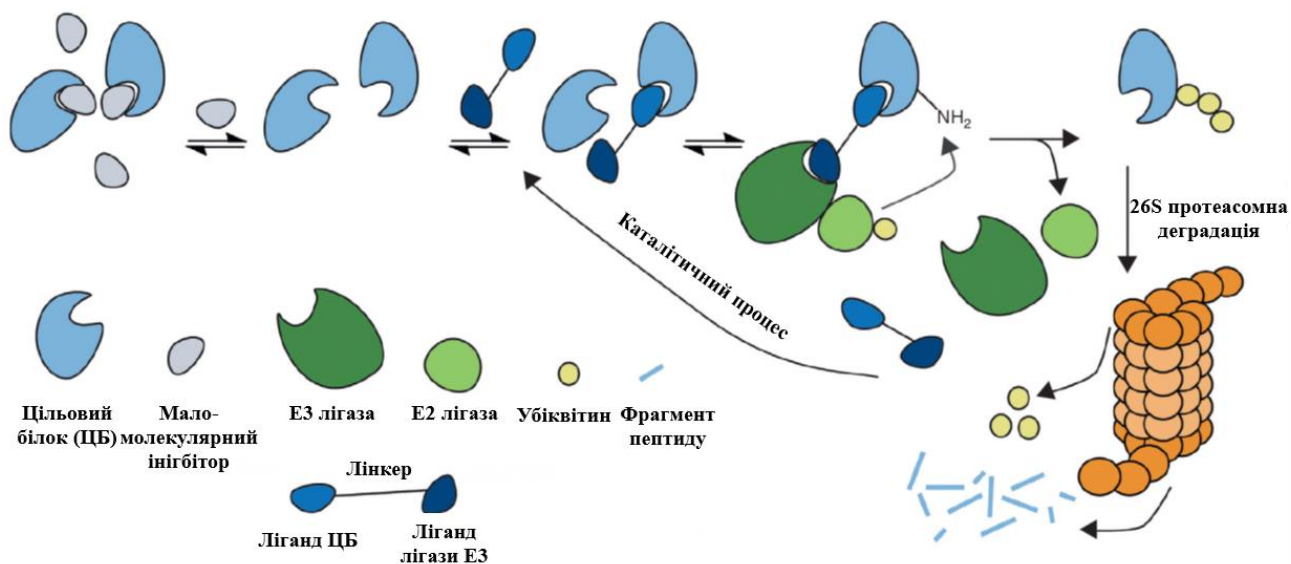


Рисунок. 1.1 Механізм дії PROTAC на цільові білки

Також, на відміну від традиційних інгібіторів, PROTAC мають каталітичний механізм та після розкладання ЦБ самі метаболізуються [10].

Перший PROTAC був створений у 2001 році групами вчених Р. Дешейза та К. Крюза [11]. Це був химерний пептид, що складався з двох частин:

- дегрону — ділянка білку, яку впізнає убіквітинлігаза SCF β -TRCP;
- оваліцину — мала молекула, що зв'язувалася з цільовим білком для деградації, а саме метіонінамінопептидазою-2 (MetAP-2).

Молекула, що утворилася, працювала у якості містку між убіквітинлігазою E3 та цільовим білком. Вчені помітили, що пептид не тільки фізично зближує SCF β -TRCP з цільовим білком, але й забезпечує його поліубіквітинілювання з подальшою деградацією. Утворена молекула мала дві важливі особливості, які мали велику цінність: швидка деградація стабільного білка та використання нової убіквітинлігази, яка зазвичай не пов'язана з цільовим білком. Автори статті одразу припустили, що PROTAC можна буде використовувати для терапії хвороб, деградуючи білки, які приймають участь у патогенезі. Також було припущення що до можливої деградації білків тільки у певних клітинах та тканинах шляхом направлення до них убіквітинлігаз, які не синтезуються в людському організмі. Не дивлячись на певні перспективи, була відмічена велика кількість обмежень нових молекул, основною з яких була неспроможність мимоволі проникати у клітини.

У цілому, до 2015 року інтерес до химер, націлених на протеоліз, був досить невеликим, але надалі динаміка різко змінилася у бік збільшення публікацій за цією темою (Рисунок 1.2).

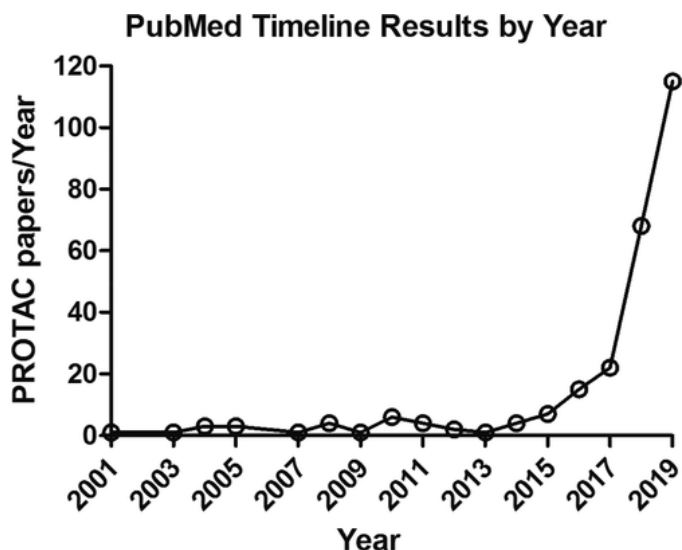


Рисунок 1.2 Динаміка публікацій про PROTAC в PubMed [12]

Основною проблемою була доставка PROTAC у клітину, над вирішенням якої попрацювали групи Р. Дешейза та К. Крюза. Вчені створили перший PROTAC, що зміг проходити у клітину, використавши пептид з транскрипційного фактору NF- κ B та субстрату E3-убіквітинлігази VHL, який був помічений полі-D-аргініном для проникнення у клітину. Отриманий пептид мав змогу направляти андрогеновий рецептор та білок FKBP12 на деградацію (Рисунок 1.3) [13].

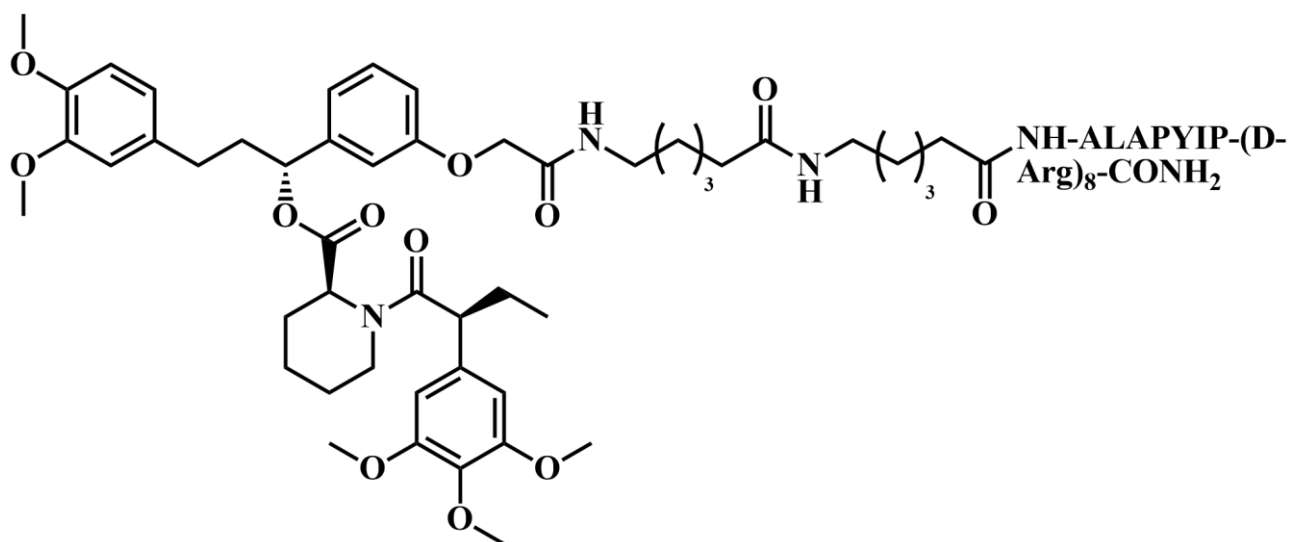


Рисунок 1.3 PROTAC, націлений на білок FKBP [14]

Не дивлячись на те, що PROTAC першого покоління могли викликати специфічну деградацію своїх мішеней, їх активність була лише у низькомолекулярному діапазоні. Також ці химери страждали від поганої проникності в клітини (низька клітинна активність) через свою пептидну природу, через що технологія PROTAC була обмежена для розробки нових ЛЗ.

У 2008 році було повідомлено про створення першого PROTAC на основі малих молекул, що дозволило деградувати андрогеновий рецептор [15]. Для цього був використаний селективний модулятор андрогенових рецепторів (англ. SARM), який ефективно зв'язувався з рецептором. Іншою частиною химери був нутлін-3 — речовина, що розриває зв'язок p53 з його убіквітинлігазою MDM2 та зв'язується з нею (Рисунок 1.4). Обидві частини химери були об'єднані ПЕГ-лінкером та отримана молекула могла вже працювати усередині клітини, не зважаючи на достатньо невисоку активність [16].

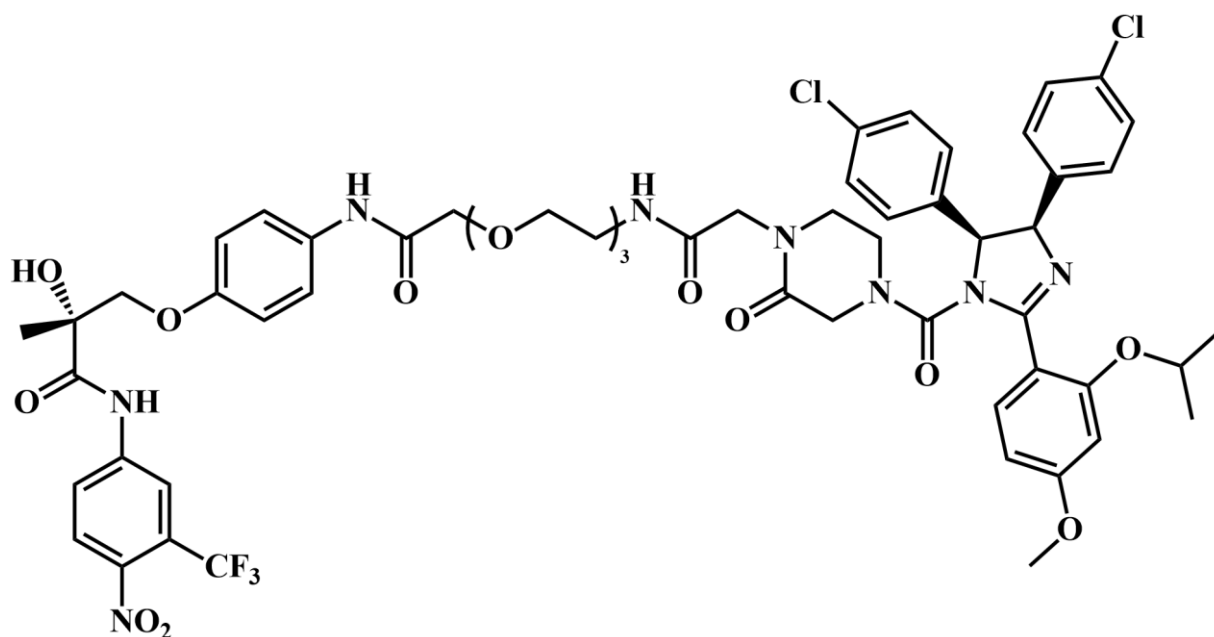


Рисунок 1.4 Перший низькомолекулярний SARM-нутлін PROTAC [14]

Білки інгібітори апоптозу IAX та XIAP, що мають убіквітинлігазну активність, стали наступним класом E3-лігаз, для яких були знайдені низькомолекулярні інгібітори. Інгібітори цих білків спочатку розроблялись як антиапоптотичні білки, але їх кон'югація з мішенями дозволила отримати ефективні деградуючі химери, у подальшому названі як SNIPER [17]. Було виявлено, що метилові естери бестатину зв'язуються з cIAP1 та сприяють його аутоубіквітації та подальшої деградації (Рисунок 1.5) [15].

Proteasomal degradation of the target protein

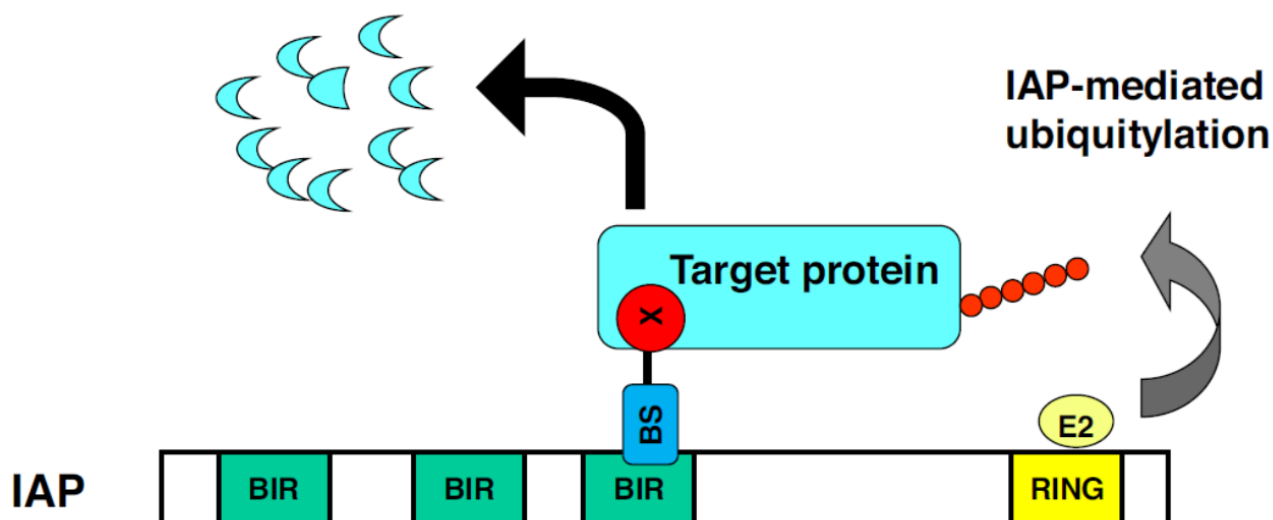


Рисунок 1.5 Механізм IAP-опосередкованої убіквітації та деградації цільових білків, індукованих SNIPER [17]

У 2010 році лабораторією Хашимото було уперше синтезований PROTAC, який рекрутує cIAP1, націлений на клітинні білки, що зв'язують ретинол та ретиноеву кислоту (CRABP-I та II), для деградації за допомогою цих бестайнів [18]. Пізніше, у 2012 році, були розроблені високоафінні пептидоміметичні ліганди VHL убіквітинлігази [19-21]. Після цього, співробітники лабораторії Кьюллі повідомили про подальші дослідження взаємозв'язку структурної активності (англ. SAR) ліганду VHL та надали ліганди VHL з покращеними фізико-хімічними властивостями, але подібною спорідненістю до VHL [22-24].

У той самий час E3-убіквітинлігазу цереблон (англ. CRBN) ідентифікували як молекулярну мішень для імуномодельючих препаратів (англ. IMiD), талідоміду, леналідоміду та помалідоміду (Рисунок 1.6) [25-31].

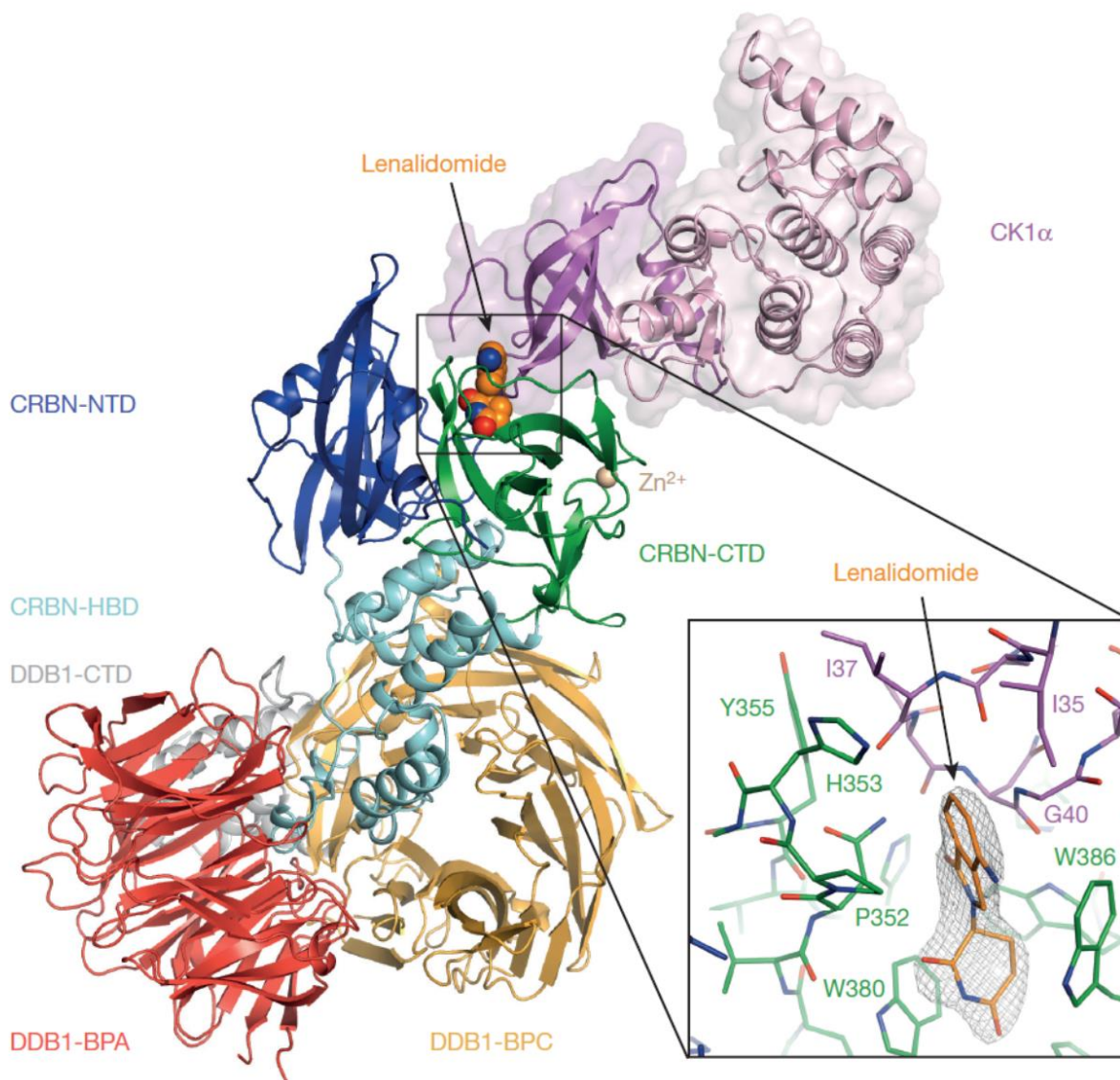


Рисунок 1.6 Загальна структура комплексу DDB1^{ΔBPB}-CRBN-леналідомід-CK1α [25]

У 2013 році PhosphoPROTAC стали першими з PROTAC, які надали перші докази щодо їх використання *in vivo*, оскільки дані молекули були здатні пригнічувати ріст пухлин на мишачих моделях [32]. Іншими нестандартними PROTAC стали HaloPROTAC, що склалися з ліганду VHL як фрагмента рекрутингу E3-убіквітинлігази та хлороалканового лінкера, який забезпечував ковалентний зв'язок з HaloTag7 (HT7) — модифікованою бактеріальною дегалогеназою [33, 34]. Дана химера була успішно залучена до VHL для сприяння деградації (GFP)-HT7 злитого білка.

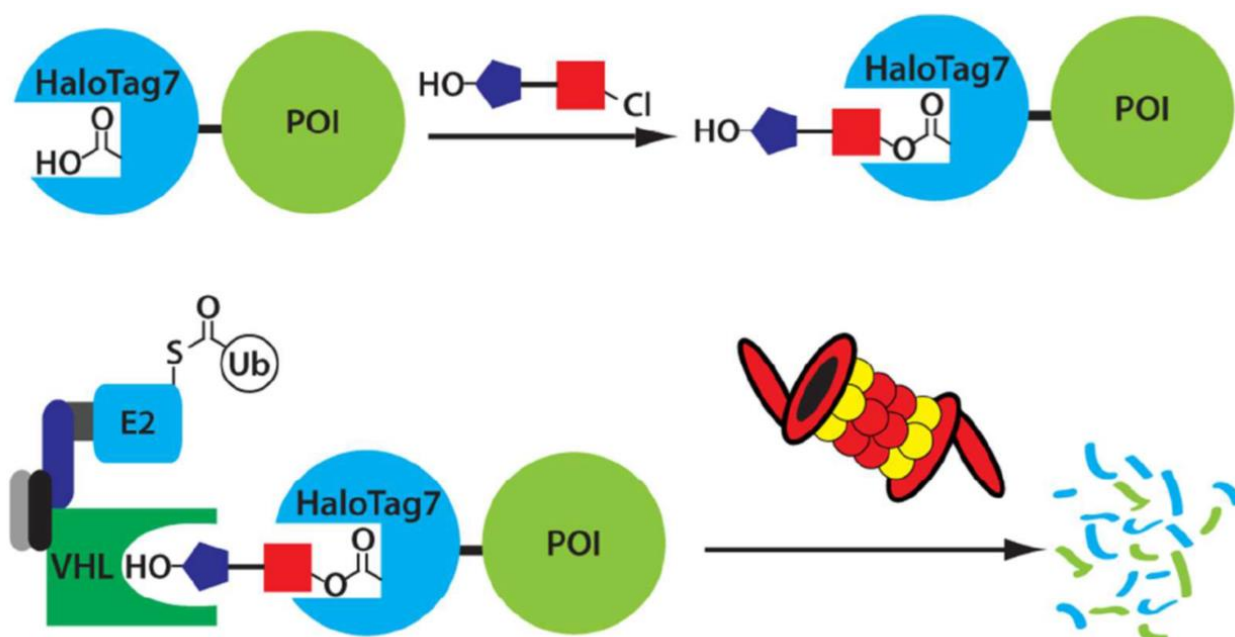


Рисунок 1.7 Схематичне зображення біфункціонального HaloPROTAC, що містить хлороалкан (який зв'язує злиті білки HaloTag7) і похідне гідроксипроліну, яке зв'язує VHL [33]

Іншими варіаціями PROTAC є CLIPAC — химери, розроблені Astex Pharmaceuticals, що утворюються внутрішньоклітинно за допомогою біосумісних реакцій, таких як зворотна реакція Дільса-Альдера електронного запиту (англ. DA_{INV}) [35]. Завдяки послідовній обробці клітин тетразин-заміщеними похідними талідоміду та транс-циклооктен-заміщеним лігандом ЦБ утворюються активні PROTAC, що успішно індукують деградацію ЦБ BRD4.

На сьогоднішній день найбільш вивченими мішені PROTAC належать до сімейств ВЕТ та кіназ, що включають трансмембранні RTK та PI3K [36-41]. Протягом останніх років були розроблені гомо-PROTAC для автоматичного націлювання як на VHL, так і

на CRBN [42]. До 2023 року кількість описаних PROTAC збільшилася до 1600 молекул, а кількість мішеней — до 100, серед яких естрогеновий рецептор, різноманітні рецепторні тирозинкінази, BDR4, BCR-ABL та інші онкологічні мішені. Однак, не дивлячись на це, існує понад 600 убіквітинлігаз передбачених у людському геномі, але на даний момент лише деякі з них були використані для розробки PROTAC: зокрема VHL, MDM2, CRBN та cIAP1, що мають невеликі молекули лігандів [43]. Подальші клінічні дослідження і створення нових селективних PROTAC є перспективною розв'язкою у сучасній медицині на наступні десятиліття.

1.2. Клінічні випробування PROTAC

У 2019 році американська компанія Arvinas, заснована К. Крюзом у 2012 році, розпочала перші клінічні дослідження для PROTAC-молекули ARV110, спрямованої проти андрогенного рецептора (AR), враховуючи мутації, стійкі до наявних інгібіторів цього рецептора (наприклад, ензалутаміду) [6, 44]. Активність AR є основною рушійною силою раку передміхурової залози тому першою лінією лікування є «антиандрогенна терапія» — зниження рівня андрогенів або блокування рецепторів андрогенів. Проте «антиандрогенна терапія» є неефективною у 15-25% пацієнтів, які залишаються в пасивній ситуації без лікування після знеболення, і ця група пацієнтів була відібрана для клінічного випробування ARV-110, який призначався перорально один раз на добу (Рисунок 1.8).

У лютому 2022 року Arvinas оприлюднила проміжні дані першої клінічної фази проміжної дози та другої клінічної фази, які показують, що доза 420 мг була визначена як безпечна та дотримується у поточній другій клінічній фазі. ARV-110 здатний діяти на певні мішені *in vivo* і продемонстрував попередню ефективність у лікуванні пухлин [45].

У пацієнтів з пухлинами, що містять мутацію AR T878X/H875Y, ARV-110 знижував рівні простат-специфічного антигену (англ. PSA) на $\geq 50\%$ (PSA50) у 46% пацієнтів. З семи пацієнтів, які відповідали критеріям RECIST і підлягали оцінці, у шести було зменшення пухлини, а у двох — часткова ремісія. Наприкінці 2022 року Arvinas планувало провести ключове клінічне випробування третьої фази для подальшої оцінки ARV-110 у пацієнтів з пухлинами, що несуть мутацію AR T878X/H875Y.

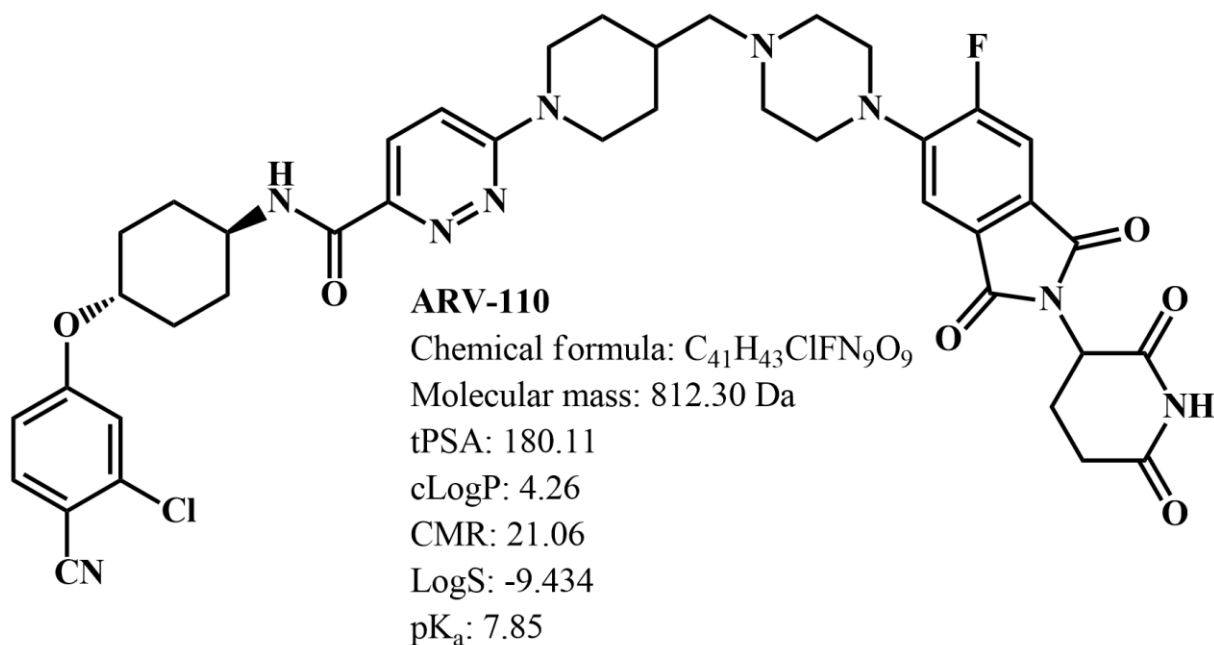


Рисунок 1.8 Структурна формула та деякі властивості ARV-110 [46]

Іншим PROTAC, для якого почали проводити клінічні дослідження, став ARV-471. Дана химера деградує рецептор естрогену (PE), що була спільно розроблена компаніями Arvinas та Pfizer для лікування раку молочної залози ER+/HER2- (Рисунок 1.9).

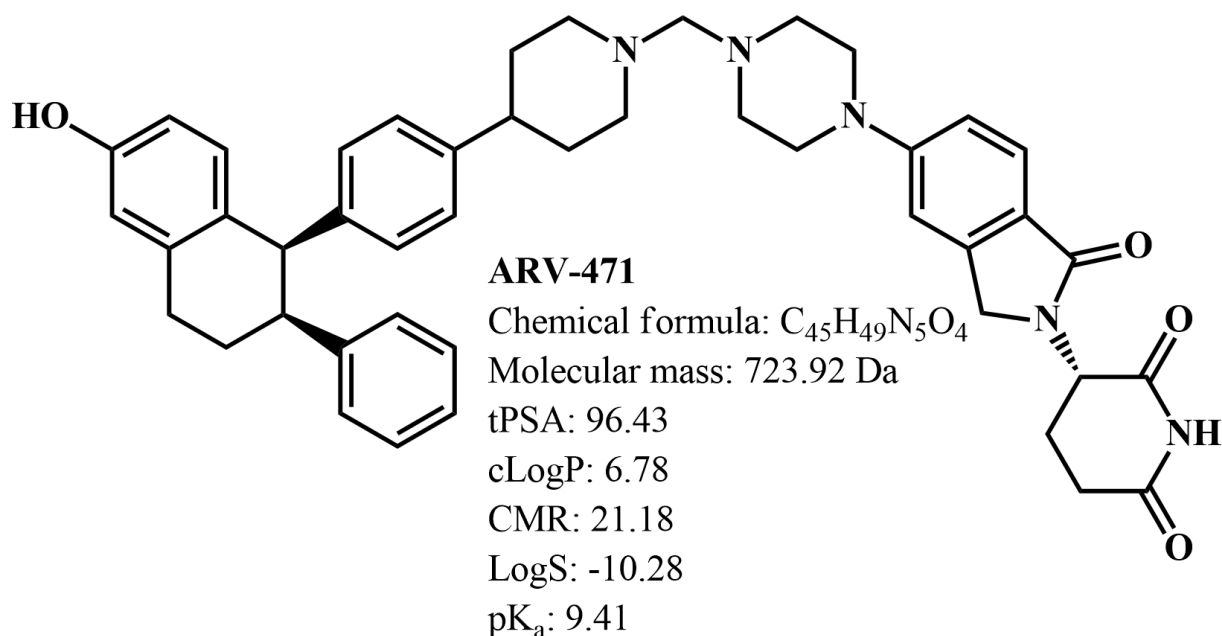


Рисунок 1.9 Структурна формула та деякі властивості ARV-471 [46]

Згідно з результатами першої клінічної фази, опублікованими Arvinas 10 грудня 2021 року, ARV-471 мав сприятливий профіль безпеки, при цьому не спостерігалось

токсичності, що обмежує дозу, при пероральному прийомі 700 мг один раз на добу під час випробування підвищення дози, за умови, що пацієнти отримували кілька курсів лікування до включення [47].

Середня швидкість розпаду ARV-471 становила 64% з максимальним показником 89% у порівнянні зі швидкістю розпаду фулвестранту, який зараз використовується в клінічній практиці, і становить 40-50%. З 47 пацієнтів, які підлягали оцінці, 19 мали клінічні переваги (включаючи часткову ремісію та стабільне захворювання) із коефіцієнтом користі 40%, включаючи 3 пацієнтів із частковою ремісією.

Наразі ARV-471 проходить два одночасних випробування: друга клінічна фаза монотерапії метастатичного раку молочної залози та клінічна фаза 1b у комбінації з інгібітором CDK4/6 палбоциклібом.

У 2020 році компанією NurixTherapeutics були розроблені PROTAC NX-2127 і NX-5948, які є деградаторами тирозинкінази Брутона (англ. ВТК) та використовуються для лікування різноманітних імунних запальних станів, таких як ревматоїдний артрит (Рисунок 1.10) [48].

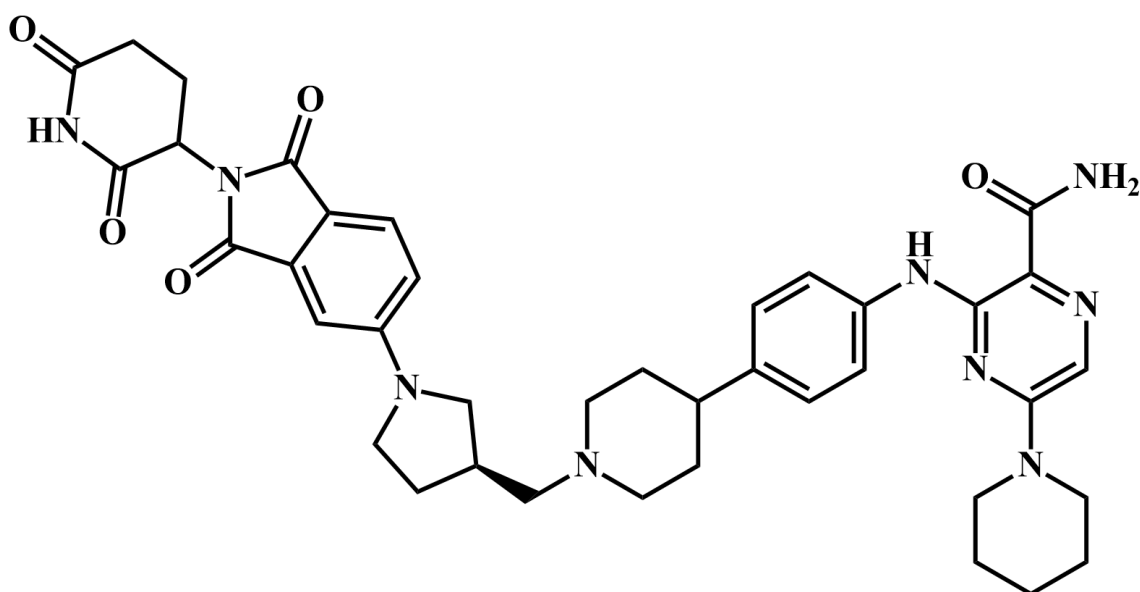


Рисунок 1.10 Структурна формула NX-2127 [48]

Обидва деградатори ВТК від NurixTherapeutics наразі перебувають у першій клінічній фазі: NX-2127 для злоякісних гематом, а NX-5948 для гематом та аутоімунних захворювань.

Дані NX-2127, оприлюднені NurixTherapeutics у жовтні 2021 року, показали, що рівні ВТК у периферичній крові були значно знижені у перших шести пацієнтів,

zareєстрованих з 1-го дня, і залишалися пригніченими протягом усього періоду дозування. Рівні деградації ВТК перевищували 80% і 90% у групах дозування 100 мг/200 мг відповідно.

Згідно з даними доклінічного дослідження NX-5948, представленого NurixTherapeutics на щорічній зустрічі Американського товариства гематології (англ. ASH) у 2021 році, NX-5948 значно знизив рівень білка ВТК у пухлинних клітинах TMD8 і мікроглії в мозку.

Наразі відомо й про інші PROTAC, над якими ведуться клінічні дослідження, такі як ABBV-154 (лікування хвороби Крона та ревматичної поліміалгії; знаходиться на другій клінічній фазі), KT-474 (деградатор IRAK4; успішно пройшов першу клінічну фазу), DD2216 (деградатор BCL-XL; знаходиться на першій клінічній фазі) та ін., але для досягнення їх повноцінного використання у лікарських цілях ще потрібен час [49, 50].

1.3. Похідні талідоміду

Талідомід являє собою похідну глютамінової кислоти та складається з двох фрагментів — фталіміду та глутариміду. Молекула існує у вигляді двох оптичних ізомерів — право- та лівообертаючого (Рисунок 1.11) [51].

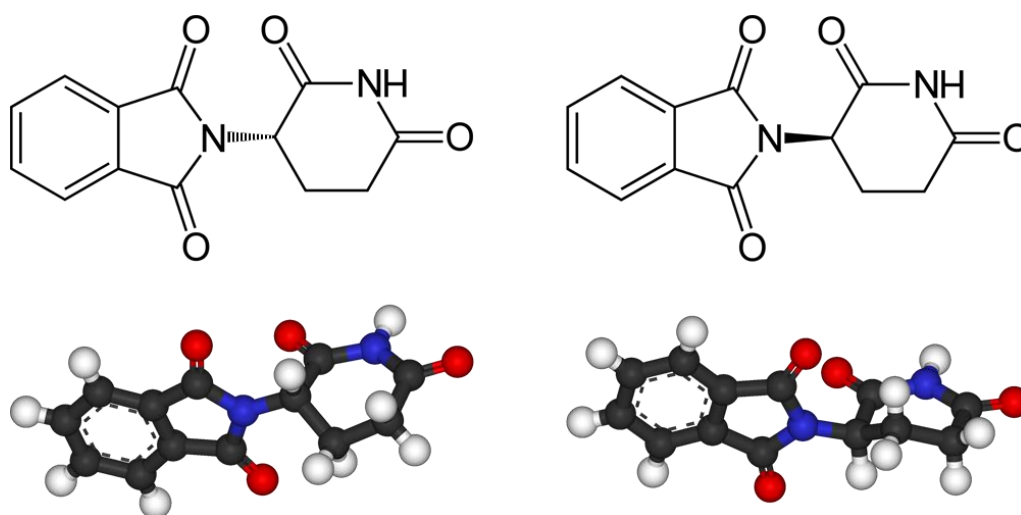


Рисунок 1.11 Енантіомери талідоміду: зліва — (*S*)-(-)-талідомід, справа — (*R*)-(+)-талідомід

Наразі точний механізм дії талідоміду невідомий, що посприяло написанню понад 2000 наукових статей у спробі виявити тератогенну дію та вірогідний механізм [52]. Станом на 2015 рік основними теоріями були його інгібування убіквітинлігази і цереблону, та здатність генерувати активні форми кисню, що вбивають клітини [53, 54]. У 2018 році були опубліковані дані про тератогенні ефекти талідоміду, які пов'язані з деградацією фактора транскрипції SALL4, що поки що не підтверджено [55]. Також відомо, що талідомід зв'язується та діє як антагоніст рецептора андрогену, а, отже, є нестероїдним антиандрогеном (англ. NSAA), що може викликати у чоловіків гінекомастію та сексуальну дисфункцію як побічний ефект [56, 57].

Дослідження імуномодуючої та антиангіогенної активності талідоміду призвело до вивчення та створення його аналогів [58, 59]. Американська корпорація Celgene спонсорувала численні клінічні випробування аналогів талідоміду, таких як леналідомід, які є значно потужнішими та мають менше побічних ефектів, за винятком більшої мієлосупресії [60]. У 2005 році корпорація отримала дозвіл від управління продовольства та медикаментів США (УМП, англ. FDA) на леналідомід (відомий під назвою «Ревлімід») у якості першої комерційно корисної похідної (Рисунок 1.12). Препарат доступний лише в умовах обмеженого розповсюдження, задля уникнення використання під час вагітності. Леналідомід схвалений майже у 70 країнах у комбінації з дексаметазоном та використовується для лікування хронічної лімфолейкемії, мантийно-клітинної лімфоми та трансфузійно-залежної анемії [61]. Наразі проводяться клінічні дослідження щодо подальшого використання леналідоміду окремо або в комбінації з іншими препаратами для лікування гострого мієлоїдного лейкозу, лімфоми MALT, макроглобулінемії Вальденстрема, фолікулярної лімфоми, червоного вовчаку, мієлодиспластичного синдрому, лімфоми Ходжкіна тощо [62].

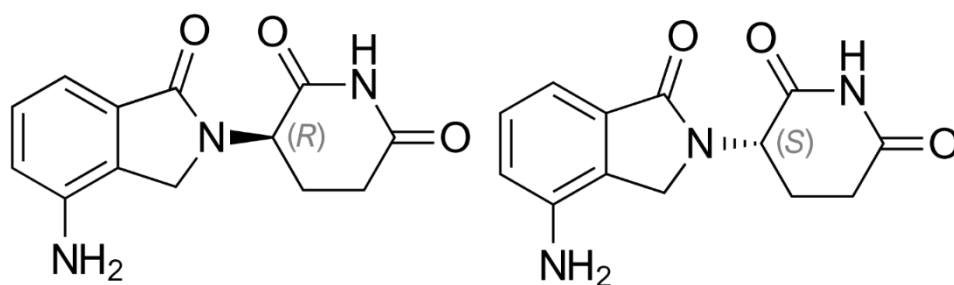


Рисунок 1.12 Енантіомери леналідоміду: зліва — *(R)*-(+)-леналідомід, справа — *(S)*-(-)-леналідомід

Іншим, достатньо відомим похідним є помалідомід — імуномодулятор, що має активний антиангіогенний засіб (Рисунок 1.13) [59]. Ця похідна була схвалена УМП США у 2013 році у якості засобу для лікування рецидиву і резистентної множинної мієломи (ММ), та випускається корпорацією Celgene під назвою «Імновід». Помалідомід використовується у якості лікарського засобу від первинного мієлофіброзу, ММ, системної склеродермії, постполіцитемії та мієлофіброзу після есенціальної тромбоцитемії.

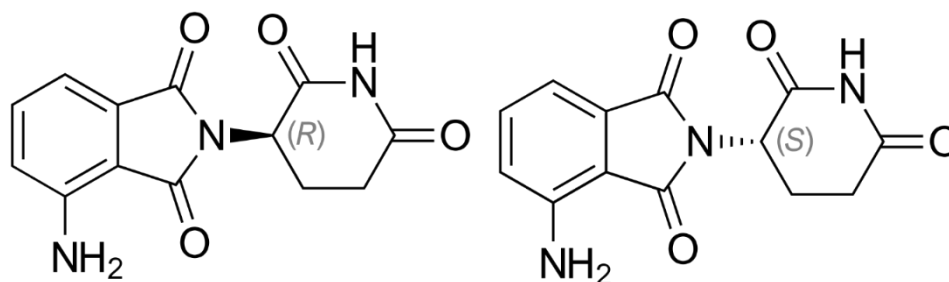


Рисунок 1.13 Енантіомери помалідоміду: зліва — *(R)*-(+)-помалідомід, справа — *(S)*-(-)-помалідомід

Талідомід та його імуномодулюючі аналоги змінюють вироблення запальних цитокінів TNF- α , IL-1, IL-6, IL-12 та протизапального цитокіну IL-10 [63]. Вважається, що аналоги пригнічують вироблення TNF- α та є до 50 000 разів сильнішими *in vitro*, ніж вихідний препарат талідомід [64]. Вважається, що механізм полягає в посиленні деградації мРНК TNF- α , що призводить до зменшення кількості цього збудливого цитокіну, який виділяється [65]. Це пояснює ефект талідоміду при призначенні пацієнтам з лепроматозною проказою, оскільки вони зазвичай мають високий рівень TNF- α в крові та при дерматологічних ураженнях [66]. Також вважається, що леналідомід має протизапальні властивості приблизно в 1000 разів сильніше *in vitro*, ніж талідомід, а помалідомід приблизно у 10 разів сильніше, ніж леналідомід [67].

Талідомід і його аналоги допомагають у ко-стимуляції Т-клітин через комплекс В7-CD28 шляхом фосфорилування тирозину на рецепторі CD28 [66]. Леналідомід і помалідомід приблизно в 100-1000 разів сильніше стимулюють клональну проліферацію Т-клітин, ніж талідомід [63].

Повідомлялося, що ангіогенез або ріст нових кровоносних судин відповідає прогресуванню ММ, де фактор росту ендотелію судин (ФРЕС) і його рецептор, bFGF

та ІІ-6 необхідні для міграції ендотеліальних клітин під час ангиогенезу [64, 66]. Вважається, що талідомід та його аналоги пригнічують ангиогенез шляхом модуляції вищезазначених факторів, де ефективність антиангіогенної активності для леналідоміду та помалідоміду була у 2-3 рази вищою, ніж для талідоміду в різних аналізах *in vivo* [68].

Наразі вважається, що протипухлинна активність талідоміду *in vivo* зумовлена потужним антиангіогенним ефектом, а також змінами в експресії цитокінів. Дослідження *in vitro* на апоптоз у клітинах ММ показали, що при лікуванні талідомідом та його аналогами підвищується активність каспази-8. Це спричиняє перехресну передачу сигналів апоптозу між каспазою-8 і каспазою-9, що призводить до непрямой регуляції активності каспази-9 [63, 65]. Подальша протипухлинна активність опосередкована через інгібування білка апоптозу-2 [68].

На сьогоднішній день достатньо добре вивчені похідні талідоміду з глутаримідним кільцем, однак про похідні з адипімідним кільцем відомо дуже мало. Єдиними описаними сполуками є нітро- й амінопохідні талідоміду з адипімідним кільцем та галогено-, нітро-, аміно- та деякі алкілзаміщені похідні леналідоміду з адипімідним кільцем [5]. Отже, пошук та синтез нових похідних талідоміду з адипімідним кільцем для подальшого створення різноманітних PROTAC, що у майбутньому зможуть стати лікарськими засобами, є перспективною задачею на даний час.

2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

1.1. Загальна схема синтезу

Синтез похідних 2-(2,7-діоксоазепан-3-іл)ізоіндолін-1,3-діону складається з двох основних стадій (Схема 2.1):

- циклізація вихідного заміщеного фталевого ангідриду (або дикислоти) з 3-аміно-ε-капролактамом;
- окиснення капролактамного кільця циклізованого продукту до адипімідного.

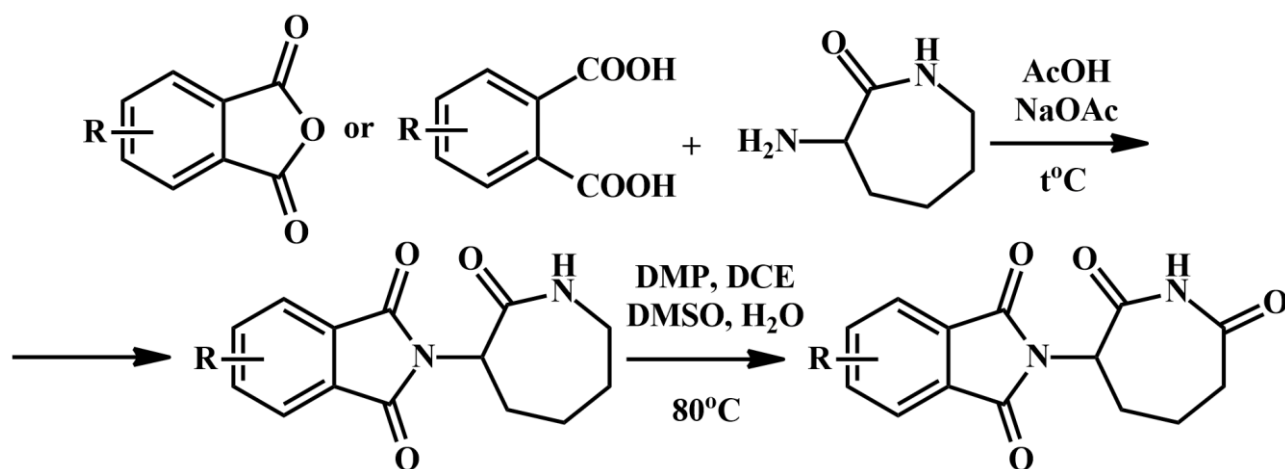


Схема 2.1 Загальна схема синтезу похідних 2-(2,7-діоксоазепан-3-іл)ізоіндолін-1,3-діону

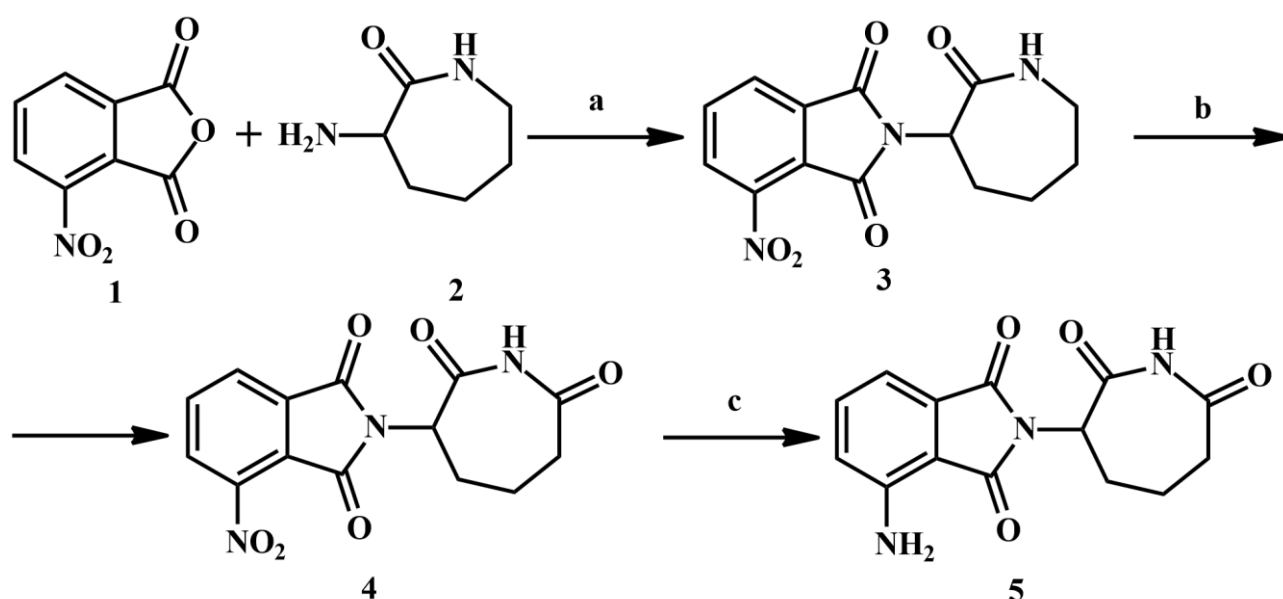
1.2. Обговорення результатів дослідження

На сьогоднішній день похідні талідоміду з семичленним адипімідним кільцем та різними замісниками у бензеновому кільці представляють інтерес з точки зору різноманітності біологічних активностей. Дані сполуки можуть виступати у ролі напівпродуктів, з яких надалі можна синтезувати різноманітні PROTAC, які потенційно можуть стати у майбутньому протираковими та протипухлинними лікарськими засобами.

В усіх похідних стадія циклізації відбувається повністю та з достатньо високими виходами, однак стадія окиснення для кожного похідного відрізняється, що пов'язано з замісниками у бензеновому кільці молекули. До всіх похідних спочатку додавали 1-1,5 екв. періодату Десса-Мартіна (ДМП) та залишали на 16 год. при нагріванні та

перемішуванні, після чого аліквоту розчину обробляли та за ^1H ЯМР спектром оцінювали кількість окисника, яку необхідно додати до повного протікання реакції.

Синтез амінопохідного **5** відбувався у три стадії: циклізація, окиснення та відновлення (Схема 2.2). Найбільш проблемною виявилася остання стадія, де класичне відновлення воднем на паладії не відбувалося. Для вирішення цієї проблеми був використаний інший підхід, у якому відновлення проводилося за допомогою $\text{B}_2(\text{OH})_4$ та 4,4'-біпіридину [69]. Реакція протікає дуже швидко (5-10 хв.) та селективно: чутливі до відновлення групи (наприклад, такі як альдегідна або оксими) відновленню не піддаються, що робить даний метод більш ефективним ніж інші.



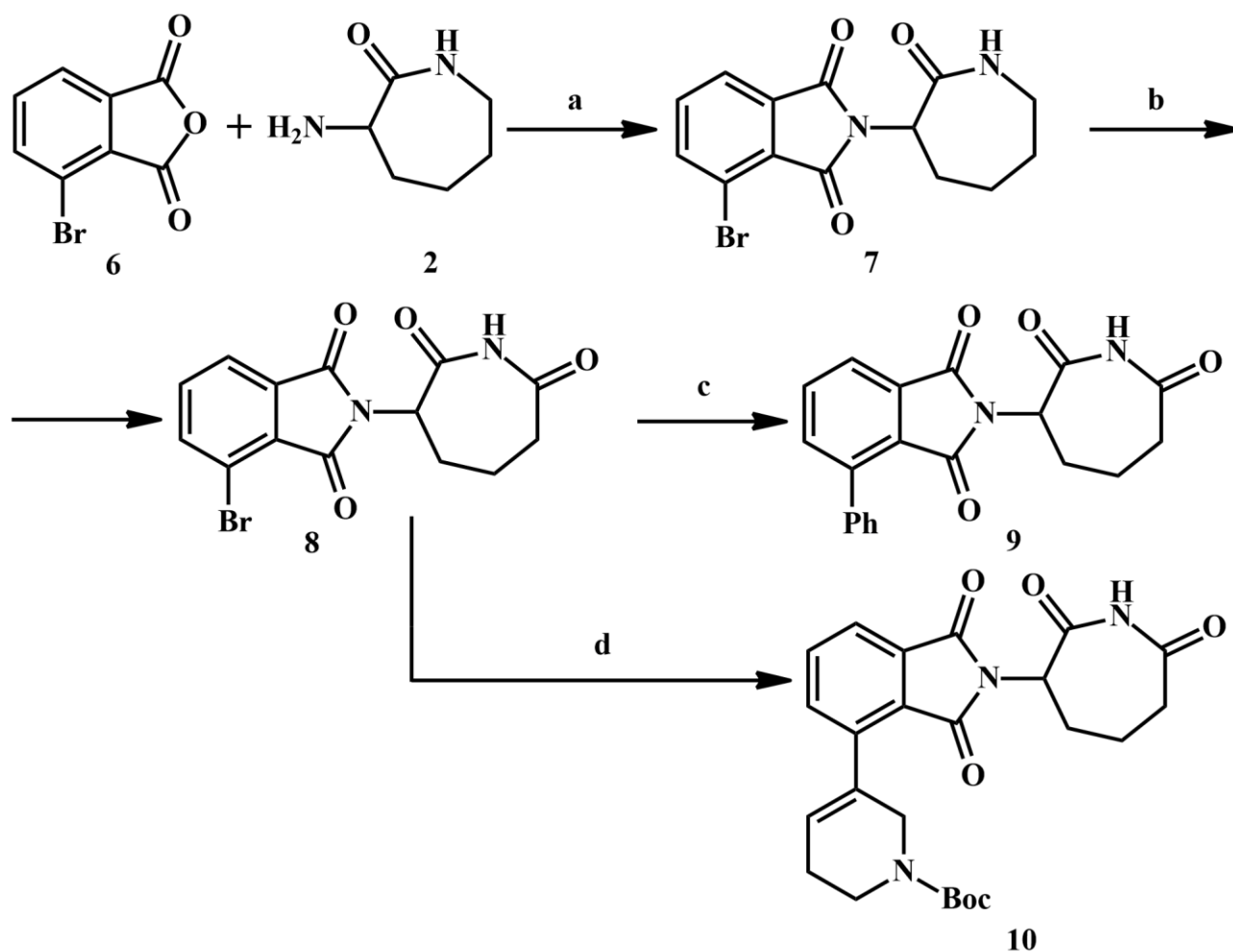
Реагенти та умови: а) NaOAc , AcOH , 100°C , 16 год.;

б) DMP , DCE , DMSO , H_2O , 80°C , 32 год.;

в) $\text{B}_2(\text{OH})_4$, 4,4' – біпіридин, DMF , 5 – 10 хв.

Схема 2.2 Синтез 4-аміно-2-(2,7-діоксоазепан-3-іл)ізоіндолін-1,3-діону **5**

Отриману бромпохідну **8** використовували у реакції крос-сполучення Сузукі з фенілбороною кислотою (шлях **с**) та [1-Вос-1,2,3,4-тетрагідропіридин-4-іл]бороною кислотою (шлях **д**) (Схема 2.3). Обидві реакції відбуваються з непоганими виходами (**9** — $w = 23,4\%$, **10** — $w = 25,7\%$), отже, бромозаміщений 2-(2,7-діоксоазепін-3-іл)ізоіндолін-1,3-діон здатний реагувати як з простими ароматичними бороновими кислотами, так і з більш складними та неароматичними субстратами.



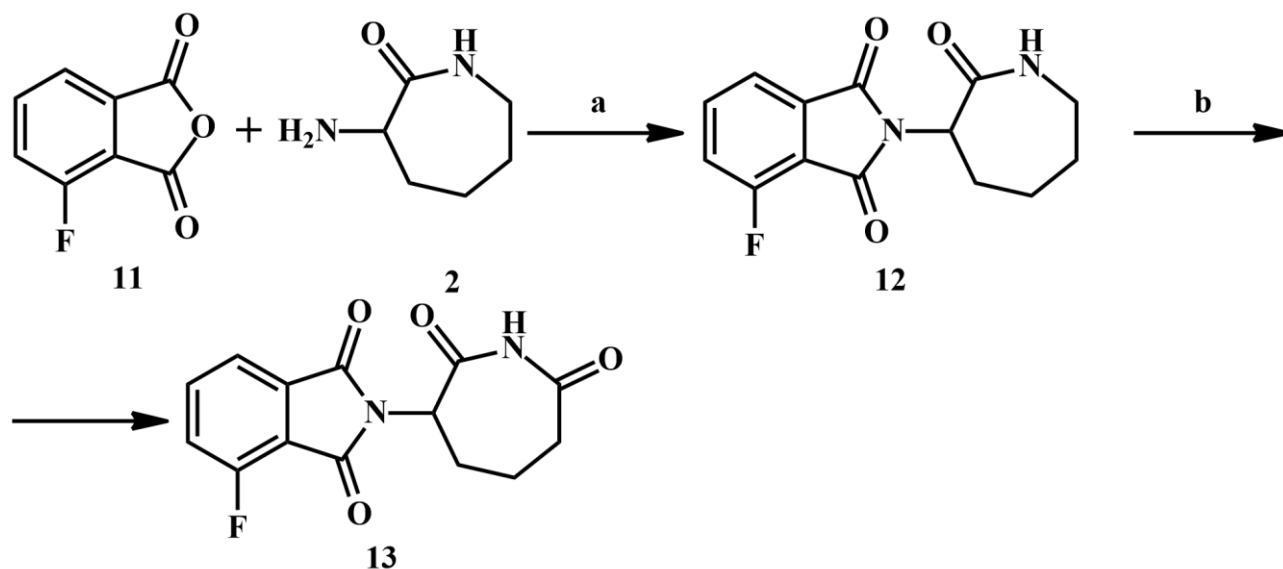
Реагенти та умови: а) $NaOAc$, $AcOH$, $100^{\circ}C$, 16 г; б) DMP , DCE , $DMSO$, H_2O , $80^{\circ}C$, 32 год.;

с) $PhB(OH)_2$, $Pd(dppf)Cl_2$, Na_2CO_3 , 1,4 – діоксан, H_2O , $80^{\circ}C$, 24 год.;

д) [1 – *Boc* – 1,2,3,4 – тетрагідропіридин – 4 – іл]боронова кислота, $Pd(dppf)Cl_2$, Na_2CO_3 , 1,4 – діоксан, H_2O , $80^{\circ}C$, 24 год.

Схема 2.3 Синтез 2-(2,7-діоксоазепан-3-іл)-4-фенілізоіндолін-1,3-діону **9** та *tert*-бутил 3-(2-(2,7-діоксоазепан-3-іл)-1,3-діоксоізоіндолін-4-іл)-5,6-дигідропіридин-1(2*H*)-карбоксилату **10** за реакцією Судзукі з 4-бромо-2-(2,7-діоксоазепан-3-іл)ізоіндолін-1,3-діону **8**

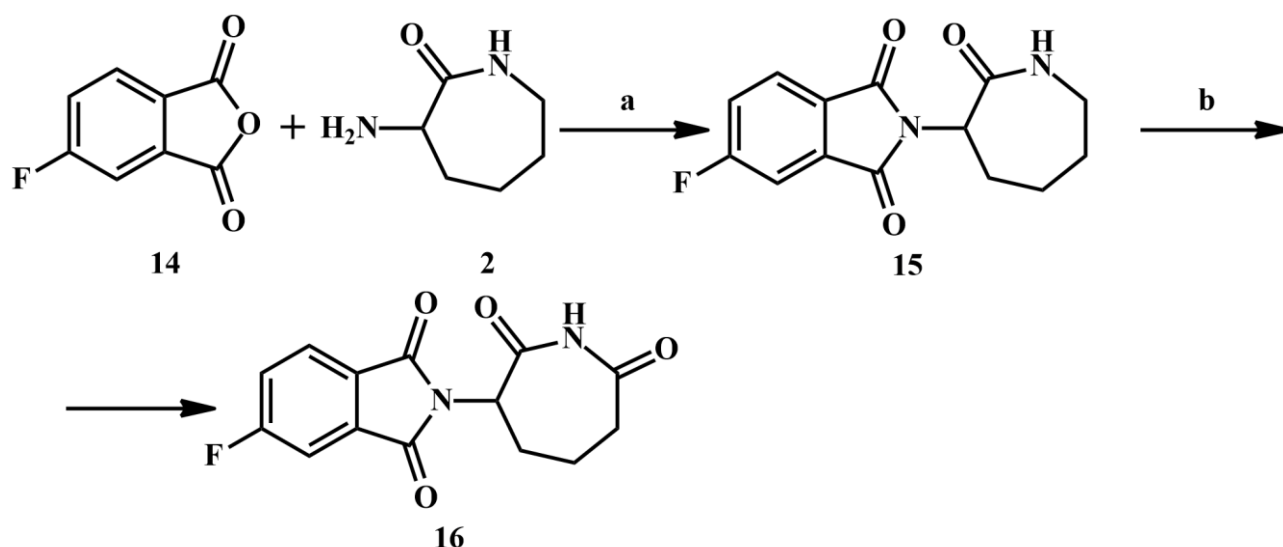
Синтезовані флуорозаміщені похідні надалі можуть бути використані у реакціях арилювання амінів для синтезу PROTAC (Схема 2.4 та 2.5).



Реагенти та умови: а) $NaOAc, AcOH, 100^{\circ}C, 16$ год.;

б) $DMP, DCE, DMSO, H_2O, 80^{\circ}C, 32$ год.

Схема 2.4 Синтез 2-(2,7-діоксазепан-3-іл)-4-флуороізоіндолін-1,3-діону (**13**)

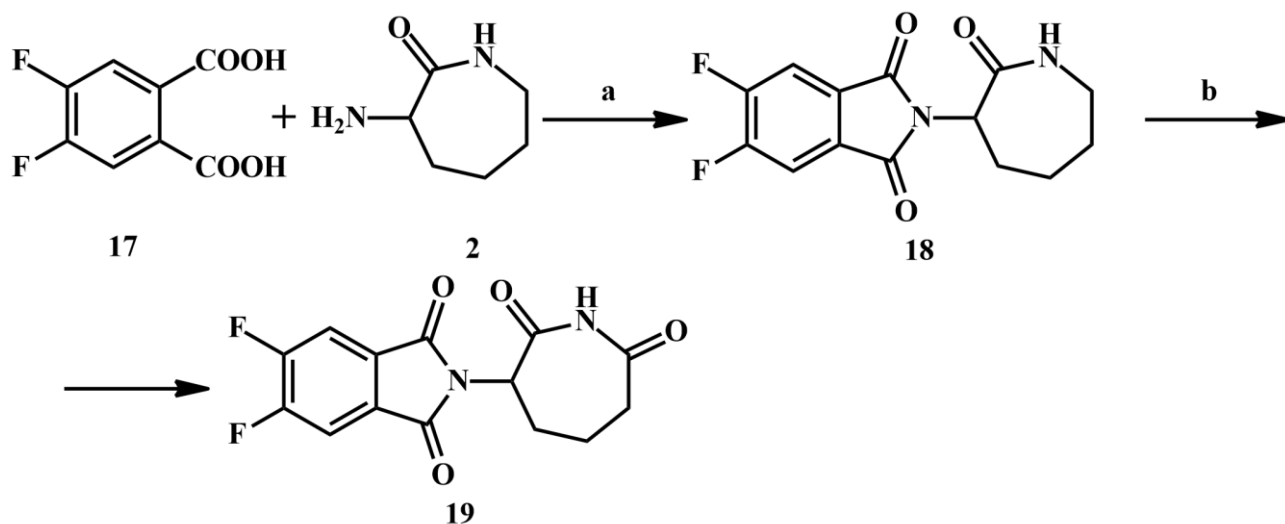


Реагенти та умови: а) $NaOAc, AcOH, 100^{\circ}C, 16$ год.;

б) $DMP, DCE, DMSO, H_2O, 80^{\circ}C, 32$ год.

Схема 2.5 Синтез 2-(2,7-діоксазепан-3-іл)-5-флуороізоіндолін-1,3-діону (**16**)

Дифлуорпохідна **19** також може бути застосована у реакціях арилювання амінів для синтезу різноманітних PROTAC (Схема 2.6). Також, перша стадія синтезу показує, що циклізація відбувається з високим виходом не тільки з ангідридом у якості вихідної речовини, а й з дикислотою **17**.

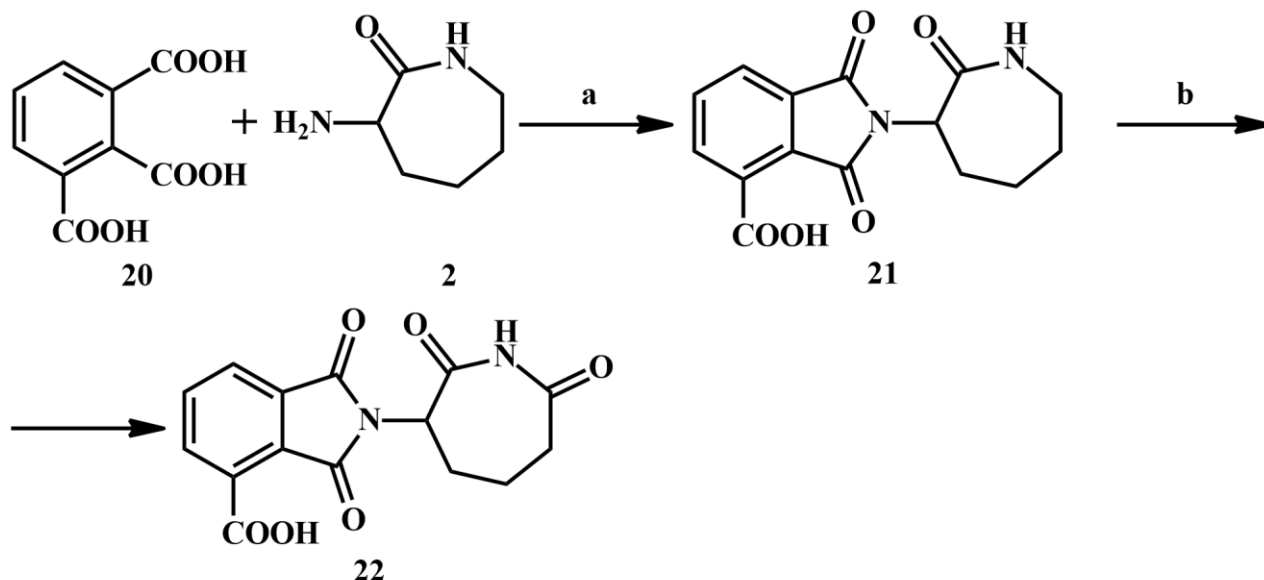


Реагенти та умови: а) $NaOAc, AcOH, 100^{\circ}C, 16$ год.;

б) $DMP, DCE, DMSO, H_2O, 80^{\circ}C, 32$ год.

Схема 2.6 Синтез 2-(2,7-діоксоазепан-3-іл)-5,6-дифлуороізоіндолін-1,3-діону (**19**)

На стадії циклізації трикислоти **20** з 3-аміно-ε-капролактамом **2** виникає проблема у виділенні кінцевої сполуки, яка добре розчиняється у воді ($\log P = 0,24$), через що важко позбутися неорганічних домішок (Схема 2.7). Для її вирішення отриману суміш кип'ятили в ізопропанолі, фільтрували, фільтрат висушували під вакуумом та переупарювали двічі з водою.



Реагенти та умови: а) $NaOAc, AcOH, 100^{\circ}C, 16$ год.;

б) $DMP, DCE, DMSO, H_2O, 80^{\circ}C, 32$ год.

Схема 2.7 Синтез 1,2-діоксо-2-(2-оксоазепан-3-іл)ізоіндолін-4-карбонової кислоти (**22**)

2.3. Методики синтезу речовин та спектральні данні

4-Нітро-2-(2-оксоазепан-3-іл)ізоіндолін-1,3-діон (3)

До 3,00 г (13,2 ммоль, 1 екв.) 3-нітрофлатевого ангідриду **1**, розчиненого у 70 мл оцтової кислоти, додають 1,69 г (13,2 ммоль, 1 екв.) 3-аміно-ε-капролактаму **2** та 3,25 г (39,6 ммоль, 3 екв.) ацетату натрію. Отриману суміш залишають при нагріванні (100 °С) та постійному перемішуванні протягом 16 год. Розчин охолоджують до кімнатної температури та упарюють під вакуумом, після чого залишок розбавляють водою та залишають на 30 хв при постійному перемішуванні. Отриманий осад відфільтровують, промивають водою та сушать під вакуумом.

Продукт — світло-сірий порошок.

MS $[M + 1]^+$: 304.

Спектр ^1H ЯМР (*DMSO* – *d*₆), σ, м.ч.: 1.34 (1H, м., *CH*₂); 1.68 (1H, м., *CH*₂); 1.80 (1H, м., *CH*₂); 2.04 (2H, м., *CH*₂); 2.36 (1H, м., *CH*₂); 3.21 (2H, м., *CH*₂); 4.88 (1H, д., *CH*); 7.94 (1H, уш. с., *NH*); 8.09 (1H, т., *CH*_{Ar}); 8.19 (1H, д., *CH*_{Ar}); 8.30 (1H, д., *CH*_{Ar}).

Вихід: 89,1 %.

2-(2,7-Діоксоазепан-3-іл)-4-нітроізоіндолін-1,3-діон (4)

До 3,0 г (9,9 ммоль, 1 екв.) 4-нітро-2-(2-оксоазепан-3-іл)ізоіндолін-1,3-діону **3**, розчиненого у 95 мл ДХЕ та 5 мл ДМСО, додають 6,3 г (14,8 ммоль, 1,5 екв.) ДМП та 1 мл води. Отриману суміш залишають при нагріванні (80 °С) та постійному перемішуванні протягом 16 годин, після чого ще додають 4,2 г (9,9 ммоль, 1 екв.) ДМП та залишають на 16 год. при постійному перемішуванні та нагріві (80 °С).

Отриману суспензію охолоджують до кімнатної температури та відфільтровують, а фільтрат обробляють насиченим розчином тіосульфату натрію і залишають при постійному перемішуванні на 30 хв. Розчин відфільтровують від невеликої кількості осаду, промивають розчином соди та 10% тіосульфату натрію (1:1) і брайном. Фільтрат сушать над сульфатом натрію та упарюють під вакуумом, об'єднавши з осадом, що випав при обробці насиченим розчином тіосульфату натрію. До отриманої речовини додають 20 мл хлороформу та затирають, після чого осад відфільтровують та сушать під вакуумом.

Продукт — сірий порошок.

MS $[M + 1]^+$: 318.

Спектр ^1H ЯМР ($\text{DMSO} - d_6$), σ , м.ч.: 1.90 (2H, м., CH_2); 2.15 (1H, м., CH_2); 2.63 (2H, м., CH_2); 3.12 (1H, м., CH_2); 5.28 (1H, д., CH); 8.12 (1H, т., CH_{Ar}); 8.22 (1H, д., CH_{Ar}); 8.33 (1H, д., CH_{Ar}); 10.81 (1H, с., NH).

Вихід: 66,6 %.

4-Аміно-2-(2,7-діоксоазепан-3-іл)ізоіндолін-1,3-діон (5)

До 1,000 г (31,5 ммоль, 1 екв.) 2-(2,7-діоксоазепан-3-іл)-4-нітроізоіндолін-1,3-діону **4** та 0.002 г (0,02 ммоль, 0,01 екв.) 4,4'-біпіридину, розчиненого у 18 мл ДМФА, додають порціями 0,850 г (94,6 ммоль, 1 екв.) $\text{B}_2(\text{OH})_4$. Суміш залишають при постійному перемішуванні протягом 5-10 хв. Додавання поділяють на три порції, після додавання кожної слідкують за температурою (реакція екзотермічна) та спостерігають зміну кольору на зелений, який с часом знов повертається до помаранчевого.

Отриманий розчин упарюють під вакуумом, додають невелику кількість води, утворений осад відфільтровують та зберігають, маточний розчин екстрагують двічі етилацетатом, органічні шари поєднують, промивають брайном, сушать над сульфатом натрію та упарюють під вакуумом.

Продукт — темно-жовтий порошок.

MS $[M + 1]^+$: 289.

Спектр ^1H ЯМР ($\text{DMSO} - d_6$), σ , м.ч.: 1.96 (2H, м., CH_2); 2.06 (1H, м., CH_2); 2.64 (2H, м., CH_2); 3.09 (1H, м., CH_2); 5.11 (1H, д., CH); 6.49 (2H, с., NH_2); 6.99 (1H, д., CH_{Ar}); 7.00 (1H, д., CH_{Ar}); 7.46 (1H, т., CH_{Ar}); 10.78 (1H, с., NH).

Вихід: 89,4 %.

4-Бromo-2-(2-оксоазепан-3-іл)ізоіндолін-1,3-діон (7)

До 3,00 г (13,2 ммоль, 1 екв.) 3-бромофлатевого ангідриду **6**, розчиненого у 70 мл оцтової кислоти, додають 1,69 г (13,2 ммоль, 1 екв.) 3-аміно- ϵ -капролактаму **2** та 3,25 г (39,6 ммоль, 3 екв.) ацетату натрію. Отриману суміш залишають при нагріванні (100 °C) та постійному перемішуванні протягом 16 год. Розчин охолоджують до кімнатної температури та упарюють під вакуумом, після чого залишок розбавляють водою та залишають на 30 хв. при постійному перемішуванні. Отриманий осад відфільтровують, промивають водою та сушать під вакуумом.

Продукт — світло-сірий порошок.

MS $[M + 1]^+$: 338.

Спектр ^1H ЯМР ($\text{DMSO} - d_6$), σ , м.ч.: 1.34 (1H, м., CH_2); 1.67 (1H, м., CH_2); 1.82 (1H, м., CH_2); 2.03 (2H, м., CH_2); 2.37 (1H, м., CH_2); 3.23 (2H, м., CH_2); 4.84 (1H, д., CH); 7.75 (1H, т., CH_{Ar}); 7.88 (1H, д., CH_{Ar}); 7.92 (1H, уш. с., NH); 8.02 (1H, д., CH_{Ar}).

Вихід: 93,6 %.

4-Бromo-2-(2,7-діоксоазепан-3-іл)ізоіндолін-1,3-діон (8)

До 3,75 г (11,1 ммоль, 1 екв.) 4-бromo-2-(2-оксоазепан-3-іл)ізоіндолін-1,3-діону **7**, розчиненого у 105 мл ДХЕ та 10 мл ДМСО, додають 7,08 г (16,7 ммоль, 1,5 екв.) ДМП та 1 мл води. Отриману суміш залишають при нагріванні (80 °C) та постійному перемішуванні протягом 16 год., після чого ще додають 4,72 г (11,1 ммоль, 1 екв.) ДМП та залишають ще на 16 год. при постійному перемішуванні та нагріві (80 °C).

Отриману суспензію охолоджують до кімнатної температури та відфільтровують, а фільтрат обробляють насиченим розчином тіосульфату натрію і залишають при постійному перемішуванні на 30 хв. Розчин відфільтровують від невеликої кількості осаду, промивають розчином соди та 10% тіосульфату натрію (1:1) і брайном. Фільтрат сушать над сульфатом натрію та упарюють під вакуумом, об'єднавши з осадом, що випав при обробці насиченим розчином тіосульфату натрію. До отриманої речовини додають 20 мл хлороформу та затирають, після чого осад відфільтровують та сушать під вакуумом.

Продукт — сірий порошок.

MS $[M + 1]^+$: 352.

Спектр ^1H ЯМР ($\text{DMSO} - d_6$), σ , м.ч.: 1.96 (2H, м., CH_2); 2.14 (1H, м., CH_2); 2.53 (1H, м., CH_2); 2.64 (1H, м., CH_2); 3.14 (1H, м., CH_2); 5.22 (1H, д., CH); 7.77 (1H, т., CH_{Ar}); 7.92 (1H, д., CH_{Ar}); 8.05 (1H, д., CH_{Ar}); 10.85 (1H, с., NH).

Вихід: 67,8 %.

2-(2,7-Діоксоазепан-3-іл)-4-фенілізоіндолін-1,3-діон (9)

До 0,10 г (0,28 ммоль, 1 екв.) 4-бromo-2-(2,7-діоксоазепан-3-іл)ізоіндолін-1,3-діону **8**, розчиненого у 1 мл 1,4-діоксану та 0,1 мл води, додають 0,04 г (0,34 ммоль, 1,2 екв.) фенілборонової кислоти, 0,01 г (0,01 ммоль, 0,05 екв.) $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ та 0,06 г (0,57

ммоль, 2 екв.) Na_2CO_3 . Реакційну суміш продувають аргоном, щільно закривають кришкою та залишають на 18 год. при нагріванні (95 °C) та постійному перемішуванні.

Отриману суспензію декантують, а залишок промивають етилацетатом, після чого екстрагують двічі водою та брайном. Органічний шар сушать над сульфатом натрію, відфільтровують та упарюють під вакуумом, після чого сухий залишок очищають за допомогою колонкової хроматографії (сілікагель, $EtOAc:Hex$ у співвідношенні 1: 1).

Продукт — жовтий порошок.

MS $[M + 1]^+$: 349.

Спектр 1H ЯМР ($DMSO - d_6$), σ , м.ч.: 1.94 (2H, м., CH_2); 2.11 (1H, м., CH_2); 2.54 (1H, м., CH_2); 2.67 (1H, м., CH_2); 3.16 (1H, м., CH_2); 5.21 (1H, д., CH); 7.32 (1H, м., CH_{Ar}); 7.38 (2H, м., CH_{Ar}); 7.43 (2H, м., CH_{Ar}); 7.58 (1H, т., CH_{Ar}); 7.93 (1H, д., CH_{Ar}); 8.04 (1H, д., CH_{Ar}); 10.81 (1H, с., NH).

Вихід: 23,4 %.

трет-Бутил 3-(2-(2,7-діоксоазепан-3-іл)-1,3-діоксоізоіндолін-4-іл)-5,6-дигідропіридин-1(2H)-карбоксилат (10)

До 0,10 г (0,28 ммоль, 1 екв.) 4-бромо-2-(2,7-діоксоазепан-3-іл)ізоіндолін-1,3-діону **8**, розчиненого у 1 мл 1,4-діоксану та 0,1 мл води, додають 0,04 г (0,34 ммоль, 1,2 екв.) фенілборонової кислоти, 0,01 г (0,01 ммоль, 0,05 екв.) $Pd(dppf)Cl_2$ та 0,06 г (0,57 ммоль, 2 екв.) Na_2CO_3 . Реакційну суміш продувають аргоном, щільно закривають кришкою та залишають на 18 год. при нагріванні (95 °C) та постійному перемішуванні.

Отриману суспензію декантують, а залишок промивають етилацетатом, після чого екстрагують двічі водою та брайном. Органічний шар сушать над сульфатом натрію, відфільтровують та упарюють під вакуумом, після чого сухий залишок очищають за допомогою колонкової хроматографії (сілікагель, $EtOAc:Hex$ у співвідношенні 1: 1).

Продукт — світло-жовтий порошок.

MS $[M + 1]^+$: 454.

Спектр 1H ЯМР ($DMSO - d_6$), σ , м.ч.: 1.44 (9H, с., $C(CH_2)_3$); 1.92 (2H, м., CH_2); 2.12 (1H, м., CH_2); 2.51 (1H, м., CH_2); 2.66 (1H, м., CH_2); 3.01 (2H, м., CH_2); 3.15 (1H, м., CH_2); 3.71 (2H, м., CH_2); 4.45 (2H, с., CH); 5.23 (1H, д., CH); 6.11 (1H, т., CH); 7.61 (1H, т., CH_{Ar}); 7.95 (1H, д., CH_{Ar}); 8.03 (1H, д., CH_{Ar}); 10.84 (1H, с., NH).

Вихід: 25,7 %.

4-Флуор-2-(2-оксоазепан-3-іл)ізоіндолін-1,3-діон (12)

До 1,00 г (6,0 ммоль, 1 екв.) 3-флуорофлатевого ангідриду **11**, розчиненого у 50 мл оцтової кислоти, додають 0,77 г (6,0 ммоль, 1 екв.) 3-аміно-ε-капролактаму **2** та 1,48 г (18,1 ммоль, 3 екв.) ацетату натрію. Отриману суміш залишають при нагріванні (100 °С) та постійному перемішуванні протягом 16 год. Розчин охолоджують до кімнатної температури та упарюють під вакуумом, після чого залишок розбавляють водою та залишають на 30 хв. при постійному перемішуванні. Отриманий осад відфільтровують, промивають водою та сушать під вакуумом.

Продукт — світло-сірий порошок.

MS [$M + 1$]⁺: 277.

Спектр ¹H ЯМР (*DMSO – d*₆), σ, м.ч.: 1.33 (1H, м., CH₂); 1.63 (1H, м., CH₂); 1.84 (1H, м., CH₂); 1.99 (2H, м., CH₂); 2.37 (1H, м., CH₂); 3.13-3,23 (2H, м., CH₂); 4.83 (1H, д., CH); 7.69 (1H, т., CH_{Ar}); 7.75 (1H, д., CH_{Ar}); 7.90 (1H, д., CH_{Ar}); 7.93 (1H, уш. с., NH).

Вихід: 84,8 %.

2-(2,7-Діоксоазепан-3-іл)-4-флуороізоіндолін-1,3-діон (13)

До 1,41 г (5,1 ммоль, 1 екв.) 4-флуор-2-(2-оксоазепан-3-іл)ізоіндолін-1,3-діону **12**, розчиненого у 50 мл ДХЕ та 4,8 мл ДМСО, додають 2,17 г (5,1 ммоль, 1 екв.) ДМП та 0,5 мл води. Отриману суміш залишають при нагріванні (80 °С) та постійному перемішуванні протягом 16 год., після чого ще додають 4,33 г (10,2 ммоль, 2 екв.) ДМП та залишають ще на 16 год. при постійному перемішуванні та нагріві (80 °С).

Отриману суспензію охолоджують до кімнатної температури та відфільтровують, а фільтрат обробляють насиченим розчином тіосульфату натрію і залишають при постійному перемішуванні на 30 хв. Розчин відфільтровують від невеликої кількості осаду, промивають розчином соди та 10% тіосульфату натрію (1:1) і брайном. Фільтрат сушать над сульфатом натрію та упарюють під вакуумом, об'єднавши з осадом, що випав при обробці насиченим розчином тіосульфату натрію. До отриманої речовини додають 10 мл хлороформу та зтирають, після чого осад відфільтровують та сушать під вакуумом.

Продукт — білий порошок.

MS [$M + 1$]⁺: 291.

Спектр ^1H ЯМР ($\text{DMSO} - d_6$), σ , м.ч.: 1.95 (2H, м., CH_2); 2.14 (1H, м., CH_2); 2.55 (1H, м., CH_2); 2.63 (1H, м., CH_2); 3.13 (1H, м., CH_2); 5.23 (1H, д., CH); 7.73 (1H, т., CH_{Ar}); 7.79 (1H, д., CH_{Ar}); 7.94 (1H, д., CH_{Ar}); 10.86 (1H, с., NH).

Вихід: 55,5 %.

5-Флуоро-2-(2-оксоазепан-3-іл)ізоіндолін-1,3-діон (15)

До 1,00 г (6,0 ммоль, 1 екв.) 4-флуорофлатевого ангідриду **14**, розчиненого у 50 мл оцтової кислоти, додають 0,77 г (6,0 ммоль, 1 екв.) 3-аміно- ϵ -капролактаму **2** та 1,48 г (18,1 ммоль, 3 екв.) ацетату натрію. Отриману суміш залишають при нагріванні (100 °C) та постійному перемішуванні протягом 16 год. Розчин охолоджують до кімнатної температури та упарюють під вакуумом, після чого залишок розбавляють водою та залишають на 30 хв. при постійному перемішуванні. Отриманий осад відфільтровують, промивають водою та сушать під вакуумом.

Продукт — сірий порошок.

MS $[M + 1]^+$: 277.

Спектр ^1H ЯМР ($\text{DMSO} - d_6$), σ , м.ч.: 1.34 (1H, м., CH_2); 1.67 (1H, м., CH_2); 1.79 (1H, м., CH_2); 2.02 (2H, м., CH_2); 2.38 (1H, м., CH_2); 3.13-3,24 (2H, м., CH_2); 4.84 (1H, д., CH); 7.68 (1H, т., CH_{Ar}); 7.77 (1H, д., CH_{Ar}); 7.91 (1H, уш. с., NH); 7.95 (1H, д., CH_{Ar}).

Вихід: 88,4 %.

2-(2,7-Діоксоазепан-3-іл)-5-флуороізоіндолін-1,3-діон (16)

До 1,47 г (5,3 ммоль, 1 екв.) 5-флуоро-2-(2-оксоазепан-3-іл)ізоіндолін-1,3-діону **15**, розчиненого у 50 мл ДХЕ та 4,8 мл ДМСО, додають 2,26 г (5,3 ммоль, 1 екв.) ДМП та 0,5 мл води. Отриману суміш залишають при нагріванні (80 °C) та постійному перемішуванні протягом 16 год., після чого ще додають 4,51 г (10,6 ммоль, 2 екв.) ДМП та залишають ще на 16 год. при постійному перемішуванні та нагріві (80 °C).

Отриману суспензію охолоджують до кімнатної температури та відфільтровують, а фільтрат обробляють насиченим розчином тіосульфату натрію і залишають при постійному перемішуванні на 30 хв. Розчин відфільтровують від невеликої кількості осаду, промивають розчином соди та 10% тіосульфату натрію (1:1) і брайном. Фільтрат сушать над сульфатом натрію та упарюють під вакуумом, об'єднавши з осадом, що випав при обробці насиченим розчином тіосульфату натрію. До отриманої речовини

додають 10 мл хлороформу та затирають, після чого осад відфільтровують та сушать під вакуумом.

Продукт — жовто-сірий порошок.

MS $[M + 1]^+$: 291.

Спектр ^1H ЯМР (*DMSO* – *d*₆), σ , м.ч.: 1.95 (2H, м., CH_2); 2.13 (1H, м., CH_2); 2.57 (1H, м., CH_2); 2.65 (1H, м., CH_2); 3.15 (1H, м., CH_2); 5.24 (1H, д., CH); 7.72 (1H, т., CH_{Ar}); 7.85 (1H, д., CH_{Ar}); 8.00 (1H, д., CH_{Ar}); 10.85 (1H, с., NH).

Вихід: 62,3 %.

5,6-Дифлуор-2-(2-оксоазепан-3-іл)ізоіндолін-1,3-діон (18)

До 3,00 г (14,8 ммоль, 1 екв.) 4,5-дифлуорофлавевої кислоти **17**, розчиненої у 150 мл оцтової кислоти, додають 1,90 г (14,8 ммоль, 1 екв.) 3-аміно- ϵ -капролактаму **2** та 3,65 г (44,5 ммоль, 3 екв.) ацетату натрію. Отриману суміш залишають при нагріванні (100 °C) та постійному перемішуванні протягом 16 год. Розчин охолоджують до кімнатної температури та упарюють під вакуумом, після чого залишок розбавляють водою та залишають на 30 хв. при постійному перемішуванні. Отриманий осад відфільтровують, промивають водою та сушать під вакуумом.

Продукт — світло-сірий порошок.

MS $[M + 1]^+$: 295.

Спектр ^1H ЯМР (*DMSO* – *d*₆), σ , м.ч.: 1.33 (1H, м., CH_2); 1.64 (1H, м., CH_2); 1.79 (1H, м., CH_2); 2.01 (2H, м., CH_2); 2.36 (1H, м., CH_2); 3.13-3,24 (2H, м., CH_2); 4.84 (1H, д., CH); 7.94 (1H, уш. с., NH); 8.09 (2H, дд., CH_{Ar}).

Вихід: 86,8 %.

2-(2,7-Діоксоазепан-3-іл)-5,6-дифлуороізоіндолін-1,3-діон (19)

До 1,5 г (5,1 ммоль, 1 екв.) 5,6-дифлуоро-2-(2-оксоазепан-3-іл)ізоіндолін-1,3-діону **18**, розчиненого у 50 мл ДХЕ та 4,8 мл ДМСО, додають 4,32 г (10,2 ммоль, 2 екв.) ДМП та 0,5 мл води. Отриману суміш залишають при нагріванні (80 °C) та постійному перемішуванні протягом 16 год., після чого ще додають 4,32 г (10,2 ммоль, 2 екв.) ДМП та залишають ще на 16 год. при постійному перемішуванні та нагріві (80 °C).

Отриману суспензію охолоджують до кімнатної температури та відфільтровують, а фільтрат обробляють насиченим розчином тіосульфату натрію і залишають при

постійному перемішуванні на 30 хв. Розчин відфільтровують від невеликої кількості осаду, промивають розчином соди та 10% тіосульфату натрію (1:1) і брайном. Фільтрат сушать над сульфатом натрію та упарюють під вакуумом, об'єднавши з осадом, що випав при обробці насиченим розчином тіосульфату натрію. Отриману речовину перекристалізують у хлороформі, осад відфільтровують та сушать під вакуумом.

Продукт — світло-жовтий порошок.

MS $[M + 1]^+$: 309.

Спектр ^1H ЯМР ($\text{DMSO} - d_6$), σ , м.ч.: 1.96 (2H, м., CH_2); 2.13 (1H, м., CH_2); 2.58 (1H, м., CH_2); 2.63 (1H, м., CH_2); 3.14 (1H, м., CH_2); 5.24 (1H, д., CH); 8.15 (1H, дд., CH_{Ar}); 10.86 (1H, с., NH).

Вихід: 62,4 %.

1,2-Диоксо-2-(2-оксоазепан-3-іл)ізоіндолін-4-карбонова кислота (21)

До 1,00 г (4,8 ммоль, 1 екв.) бензол-1,2,3-трикарбонової кислоти **20**, розчиненої у 50 мл оцтової кислоти, додають 0,61 г (4,8 ммоль, 1 екв.) 3-аміно- ϵ -капролактаму **2** та 1,17 г (14,3 ммоль, 3 екв.) ацетату натрію. Отриману суміш залишають при нагріванні (100 °C) та постійному перемішуванні протягом 16 год. Розчин охолоджують до кімнатної температури та упарюють під вакуумом, після чого залишок розбавляють ізопропанолом та залишають на 30 хв. в узі-бані. Осад відфільтровують, а фільтрат упарюють під вакуумом, після чого ще два рази переупарюють з водою.

Продукт — жовтий порошок.

MS $[M + 1]^+$: 303.

Спектр ^1H ЯМР ($\text{DMSO} - d_6$), σ , м.ч.: 1.35 (1H, м., CH_2); 1.62 (1H, м., CH_2); 1.82 (1H, м., CH_2); 2.10 (2H, м., CH_2); 2.41 (1H, м., CH_2); 3.14-3,23 (2H, м., CH_2); 4.78 (1H, д., CH); 7.50 (1H, д., CH_{Ar}); 7.59 (1H, д., CH_{Ar}); 7.63 (1H, т., CH_{Ar}); 7.86 (1H, уш. с., NH).

Вихід: 80,1 %.

ВИСНОВКИ

1. Вивчені методи синтезу різноманітних PROTAC: PhosphoPROTAC, CLIPAC, HaloPROTAC, SNIPER, тощо. Підсумовані досягнення клінічних досліджень PROTAC останніх років.

2. Знайдено, що похідні талідоміду з адипімідним кільцем майже не описані та не вивчені.

3. Розроблено зручні методи синтезу похідних 2-(2,7-діоксоазепін-3-іл)ізоіндолін-1,3-діону, представлено методики їх синтезу, встановлена будова напівпродуктів та кінцевих сполук методами LCMS і ^1H ЯМР (спектри представлені у Додатку А) спектроскопії.



ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Valeur, E., et al., *New Modalities for Challenging Targets in Drug Discovery*. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2017. **56**(35): p. 10294-10323.
2. Hopkins, A.L. and C.R. Groom, *The druggable genome*. *Nat Rev Drug Discov*, 2002. **1**(9): p. 727-30.
3. Valeur, E. and P. Jimonet, *New Modalities, Technologies, and Partnerships in Probe and Lead Generation: Enabling a Mode-of-Action Centric Paradigm*. *J Med Chem*, 2018. **61**(20): p. 9004-9029.
4. Fuller, J.C., N.J. Burgoyne, and R.M. Jackson, *Predicting druggable binding sites at the protein-protein interface*. *Drug Discov Today*, 2009. **14**(3-4): p. 155-61.
5. CHAN, K., W.H.; FUNG, Leah; SULLIVAN, Robert; ERDMAN, Paul, E.; MERCURIO, Frank, *OXOINDOLINE DERIVATIVES AS PROTEIN FUNCTION MODULATORS*, I.U.U.C.R.R.C. BIOTHERYX, NY 10514 (US), Editor. 2017. p. 225.
6. Cecchini, C., et al., *From Conception to Development: Investigating PROTACs Features for Improved Cell Permeability and Successful Protein Degradation*. *Front Chem*, 2021. **9**: p. 672267.
7. Bondeson, D.P. and C.M. Crews, *Targeted Protein Degradation by Small Molecules*. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2017. **57**: p. 107-123.
8. Navon, A. and A. Ciechanover, *The 26 S proteasome: from basic mechanisms to drug targeting*. *J Biol Chem*, 2009. **284**(49): p. 33713-8.
9. Hochstrasser, M., *Ubiquitin, proteasomes, and the regulation of intracellular protein degradation*. *Curr Opin Cell Biol*, 1995. **7**(2): p. 215-23.
10. Schneider, M., et al., *The PROTACtable genome*. *Nat Rev Drug Discov*, 2021. **20**(10): p. 789-797.
11. Sakamoto, K.M., et al., *Protacs: chimeric molecules that target proteins to the Skp1-Cullin-F box complex for ubiquitination and degradation*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001. **98**(15): p. 8554-9.
12. Gao, H., X. Sun, and Y. Rao, *PROTAC Technology: Opportunities and Challenges*. *ACS Med Chem Lett*, 2020. **11**(3): p. 237-240.

13. Schneekloth, J.S., Jr., et al., *Chemical genetic control of protein levels: selective in vivo targeted degradation*. *J Am Chem Soc*, 2004. **126**(12): p. 3748-54.
14. Pettersson, M. and C.M. Crews, *PROteolysis TARgeting Chimeras (PROTACs) — Past, present and future*. *Drug Discovery Today: Technologies*, 2019. **31**: p. 15-27.
15. Schneekloth, A.R., et al., *Targeted intracellular protein degradation induced by a small molecule: En route to chemical proteomics*. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008. **18**(22): p. 5904-8.
16. Vassilev, L.T., et al., *In vivo activation of the p53 pathway by small-molecule antagonists of MDM2*. *Science*, 2004. **303**(5659): p. 844-8.
17. Naito, M., N. Ohoka, and N. Shibata, *SNIPERs—Hijacking IAP activity to induce protein degradation*. *Drug Discovery Today: Technologies*, 2019. **31**: p. 35-42.
18. Itoh, Y., et al., *Protein Knockdown Using Methyl Bestatin—Ligand Hybrid Molecules: Design and Synthesis of Inducers of Ubiquitination-Mediated Degradation of Cellular Retinoic Acid-Binding Proteins*. *Journal of the American Chemical Society*, 2010. **132**(16): p. 5820-5826.
19. Buckley, D.L., et al., *Small-molecule inhibitors of the interaction between the E3 ligase VHL and HIF1 α* . *Angew Chem Int Ed Engl*, 2012. **51**(46): p. 11463-7.
20. Van Molle, I., et al., *Dissecting Fragment-Based Lead Discovery at the von Hippel-Lindau Protein:Hypoxia Inducible Factor 1 α Protein-Protein Interface*. *Chemistry & Biology*, 2012. **19**(10): p. 1300-1312.
21. Buckley, D.L., et al., *Targeting the von Hippel–Lindau E3 Ubiquitin Ligase Using Small Molecules To Disrupt the VHL/HIF-1 α Interaction*. *Journal of the American Chemical Society*, 2012. **134**(10): p. 4465-4468.
22. Testa, A., et al., *3-Fluoro-4-hydroxyprolines: Synthesis, Conformational Analysis, and Stereoselective Recognition by the VHL E3 Ubiquitin Ligase for Targeted Protein Degradation*. *Journal of the American Chemical Society*, 2018. **140**(29): p. 9299-9313.
23. Soares, P., et al., *Group-Based Optimization of Potent and Cell-Active Inhibitors of the von Hippel–Lindau (VHL) E3 Ubiquitin Ligase: Structure–Activity Relationships Leading to the Chemical Probe (2S,4R)-1-((S)-2-(1-Cyanocyclopropanecarboxamido)-3,3-dimethylbutanoyl)-4-hydroxy-N-(4-(4-methylthiazol-5-yl)benzyl)pyrrolidine-2-carboxamide (VH298)*. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2018. **61**(2): p. 599-618.

24. Soares, P., X. Lucas, and A. Ciulli, *Thioamide substitution to probe the hydroxyproline recognition of VHL ligands*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2018. **26**(11): p. 2992-2995.
25. Petzold, G., E.S. Fischer, and N.H. Thomä, *Structural basis of lenalidomide-induced CK1 α degradation by the CRL4CRBN ubiquitin ligase*. *Nature*, 2016. **532**(7597): p. 127-130.
26. Gandhi, A.K., et al., *Immunomodulatory agents lenalidomide and pomalidomide co-stimulate T cells by inducing degradation of T cell repressors Ikaros and Aiolos via modulation of the E3 ubiquitin ligase complex CRL4(CRBN)*. *Br J Haematol*, 2014. **164**(6): p. 811-21.
27. Krönke, J., et al., *Lenalidomide induces ubiquitination and degradation of CK1 α in del(5q) MDS*. *Nature*, 2015. **523**(7559): p. 183-188.
28. Ito, T., et al., *Identification of a primary target of thalidomide teratogenicity*. *Science*, 2010. **327**(5971): p. 1345-50.
29. Fischer, E.S., et al., *Structure of the DDB1–CRBN E3 ubiquitin ligase in complex with thalidomide*. *Nature*, 2014. **512**(7512): p. 49-53.
30. Krönke, J., et al., *Lenalidomide causes selective degradation of IKZF1 and IKZF3 in multiple myeloma cells*. *Science*, 2014. **343**(6168): p. 301-5.
31. Lopez-Girona, A., et al., *Cereblon is a direct protein target for immunomodulatory and antiproliferative activities of lenalidomide and pomalidomide*. *Leukemia*, 2012. **26**(11): p. 2326-2335.
32. Hines, J., et al., *Posttranslational protein knockdown coupled to receptor tyrosine kinase activation with phosphoPROTACs*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013. **110**(22): p. 8942-7.
33. Buckley, D.L., et al., *HaloPROTACS: Use of Small Molecule PROTACs to Induce Degradation of HaloTag Fusion Proteins*. *ACS Chemical Biology*, 2015. **10**(8): p. 1831-1837.
34. Ohana, R.F., et al., *HaloTag7: A genetically engineered tag that enhances bacterial expression of soluble proteins and improves protein purification*. *Protein Expression and Purification*, 2009. **68**(1): p. 110-120.
35. Lebraud, H., et al., *Protein Degradation by In-Cell Self-Assembly of Proteolysis Targeting Chimeras*. *ACS Central Science*, 2016. **2**(12): p. 927-934.

36. Burslem, G.M., et al., *Enhancing Antiproliferative Activity and Selectivity of a FLT-3 Inhibitor by Proteolysis Targeting Chimera Conversion*. Journal of the American Chemical Society, 2018. **140**(48): p. 16428-16432.
37. Lu, J., et al., *Hijacking the E3 Ubiquitin Ligase Cereblon to Efficiently Target BRD4*. Chemistry & Biology, 2015. **22**(6): p. 755-763.
38. Nowak, R.P., et al., *Plasticity in binding confers selectivity in ligand-induced protein degradation*. Nature Chemical Biology, 2018. **14**(7): p. 706-714.
39. Zhou, B., et al., *Discovery of a Small-Molecule Degradator of Bromodomain and Extra-Terminal (BET) Proteins with Picomolar Cellular Potencies and Capable of Achieving Tumor Regression*. Journal of Medicinal Chemistry, 2018. **61**(2): p. 462-481.
40. Winter, G.E., et al., *DRUG DEVELOPMENT. Phthalimide conjugation as a strategy for in vivo target protein degradation*. Science, 2015. **348**(6241): p. 1376-81.
41. Tan, L. and N. Gray, *When Kinases Meet PROTACs*. Chinese Journal of Chemistry, 2018. **36**.
42. Steinebach, C., et al., *Homo-PROTACs for the Chemical Knockdown of Cereblon*. ACS Chemical Biology, 2018. **13**(9): p. 2771-2782.
43. Clague, M.J., C. Heride, and S. Urbé, *The demographics of the ubiquitin system*. Trends in Cell Biology, 2015. **25**(7): p. 417-426.
44. Mullard, A., *Targeted protein degraders crowd into the clinic*. Nat Rev Drug Discov, 2021. **20**(4): p. 247-250.
45. Arvinas. *Arvinas Announces New Data from Completed Phase 1 Dose Escalation and Ongoing Phase 2 ARDENT Expansion Cohort with Novel PROTAC® Degradator Bavdegalutamide (ARV-110) to be Presented at 2022 ASCO GU Meeting - Press Release Details*. 2022; Available from: <https://ir.arvinas.com/news-releases/news-release-details/arvinas-announces-new-data-completed-phase-1-dose-escalation-and>.
46. Békés, M., D.R. Langley, and C.M. Crews, *PROTAC targeted protein degraders: the past is prologue*. Nature Reviews Drug Discovery, 2022. **21**(3): p. 181-200.
47. Arvinas. *Arvinas and Pfizer Announce PROTAC® Protein Degradator ARV-471 Continues to Demonstrate Encouraging Clinical Benefit Rate in Patients with Locally Advanced or Metastatic ER+/HER2- Breast Cancer - Press Release Details*. 2021; Available from: <https://ir.arvinas.com/news-releases/news-release-details/arvinas-and-pfizer-announce-protacr-protein-degrader-arv-471>.

48. Robbins, D.W., et al., *Nx-2127, a Degradable of BTK and IMiD Neosubstrates, for the Treatment of B-Cell Malignancies*. *Blood*, 2020. **136**: p. 34.
49. Jacobs, B. *Kymera Announces Positive Results from Phase 1 Clinical Trial Evaluating KT-474 in Patients with HS and AD and Sanofi's Decision to Advance KT-474 into Phase 2 Clinical Trials*. Dec 14, 2022; Available from: <https://investors.kymeratx.com/news-releases/news-release-details/kymera-announces-positive-results-phase-1-clinical-trial/>.
50. He, Y., et al., *DT2216-a Bcl-xL-specific degrader is highly active against Bcl-xL-dependent T cell lymphomas*. *J Hematol Oncol*, 2020. **13**(1): p. 95.
51. Fabro, S., R.L. Smith, and R.T. Williams, *Toxicity and Teratogenicity of Optical Isomers of Thalidomide*. *Nature*, 1967. **215**(5098): p. 296-296.
52. Stephens, T.D., C.J.W. Bunde, and B.J. Fillmore, *Mechanism of action in thalidomide teratogenesis*. *Biochemical Pharmacology*, 2000. **59**(12): p. 1489-1499.
53. Kim, J.H. and A.R. Scialli, *Thalidomide: The Tragedy of Birth Defects and the Effective Treatment of Disease*. *Toxicological Sciences*, 2011. **122**(1): p. 1-6.
54. Vargesson, N., *Thalidomide-induced teratogenesis: history and mechanisms*. *Birth Defects Res C Embryo Today*, 2015. **105**(2): p. 140-56.
55. Donovan, K.A., et al., *Thalidomide promotes degradation of SALL4, a transcription factor implicated in Duane Radial Ray syndrome*. *eLife*, 2018. **7**: p. e38430.
56. Nuttall, F.Q., R.S. Warriar, and M.C. Gannon, *Gynecomastia and drugs: a critical evaluation of the literature*. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 2015. **71**(5): p. 569-578.
57. Crawford, E.D., et al., *Androgen Receptor Targeted Treatments of Prostate Cancer: 35 Years of Progress with Antiandrogens*. *Journal of Urology*, 2018. **200**(5): p. 956-966.
58. Shah, J.H., et al., *Synthesis and Enantiomeric Separation of 2-Phthalimidino-glutaric Acid Analogues: Potent Inhibitors of Tumor Metastasis*. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1999. **42**(16): p. 3014-3017.
59. D'Amato, R.J., et al., *Mechanism of action of thalidomide and 3-aminothalidomide in multiple myeloma*. *Seminars in Oncology*, 2001. **28**(6): p. 597-601.
60. Rao, K.V., *Lenalidomide in the treatment of multiple myeloma*. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 2007. **64**(17): p. 1799-1807.

61. Sàrl, C.I. *Celgene Biopharmaceutical - Investor relations - Press Releases*. 2013; Available from: <https://archive.ph/20130119071315/http://ir.celgene.com/phoenix.zhtml>.
62. Register, E.C.T., *Clinical Trials Register*. 2012.
63. Martiniani, R., et al., *Biological Activity of Lenalidomide and Its Underlying Therapeutic Effects in Multiple Myeloma*. *Advances in Hematology*, 2012. **2012**: p. 842945.
64. Huang, Y.-T., C.W. Hsu, and T.H. Chiu, *Thalidomide and Its Analogs as Anticancer Agents*. *Tzu Chi Medical Journal*, 2008. **20**(3): p. 188-195.
65. Melchert, M. and A. List, *The thalidomide saga*. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2007. **39**(7): p. 1489-1499.
66. Bartlett, J.B., K. Dredge, and A.G. Dalgleish, *The evolution of thalidomide and its IMiD derivatives as anticancer agents*. *Nature Reviews Cancer*, 2004. **4**(4): p. 314-322.
67. Quach, H., et al., *Mechanism of action of immunomodulatory drugs (IMiDS) in multiple myeloma*. *Leukemia*, 2010. **24**(1): p. 22-32.
68. Kotla, V., et al., *Mechanism of action of lenalidomide in hematological malignancies*. *Journal of Hematology & Oncology*, 2009. **2**(1): p. 36.
69. Jang, M., et al., *Metal-Free, Rapid, and Highly Chemoselective Reduction of Aromatic Nitro Compounds at Room Temperature*. *The Journal of Organic Chemistry*, 2022. **87**(2): p. 910-919.

ДОДАТОК А

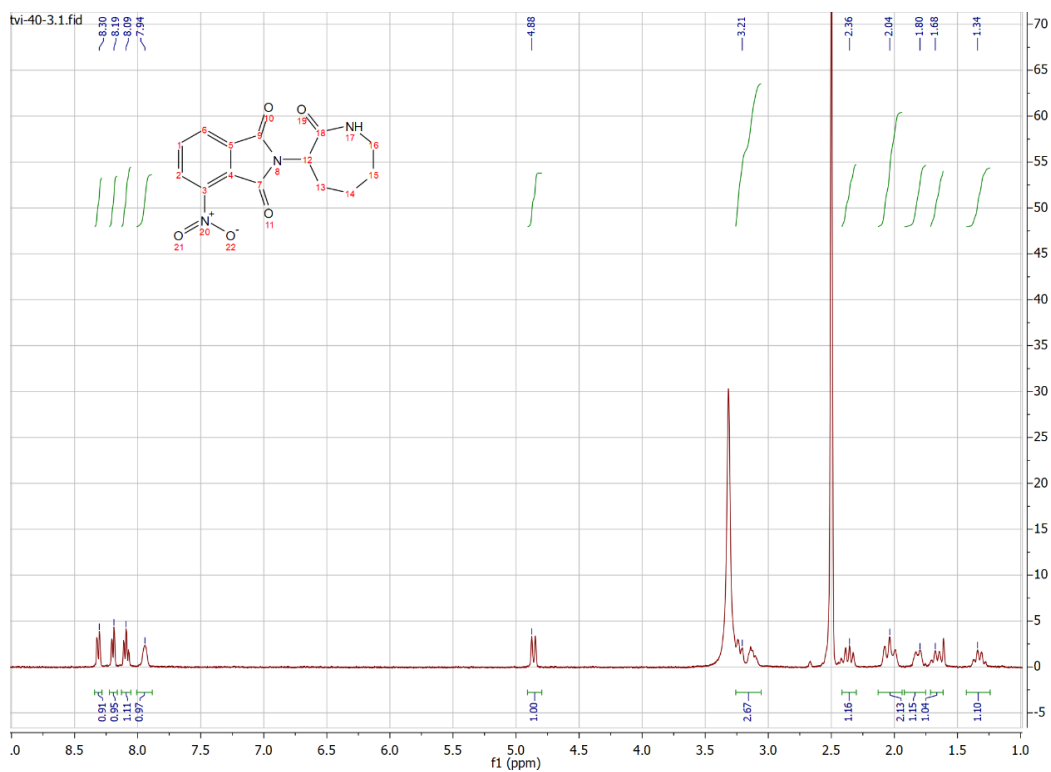


Рисунок А.1 Спектр ^1H ЯМР 4-нітро-2-(2-оксазепан-3-іл)ізоіндолін-1,3-діону 3

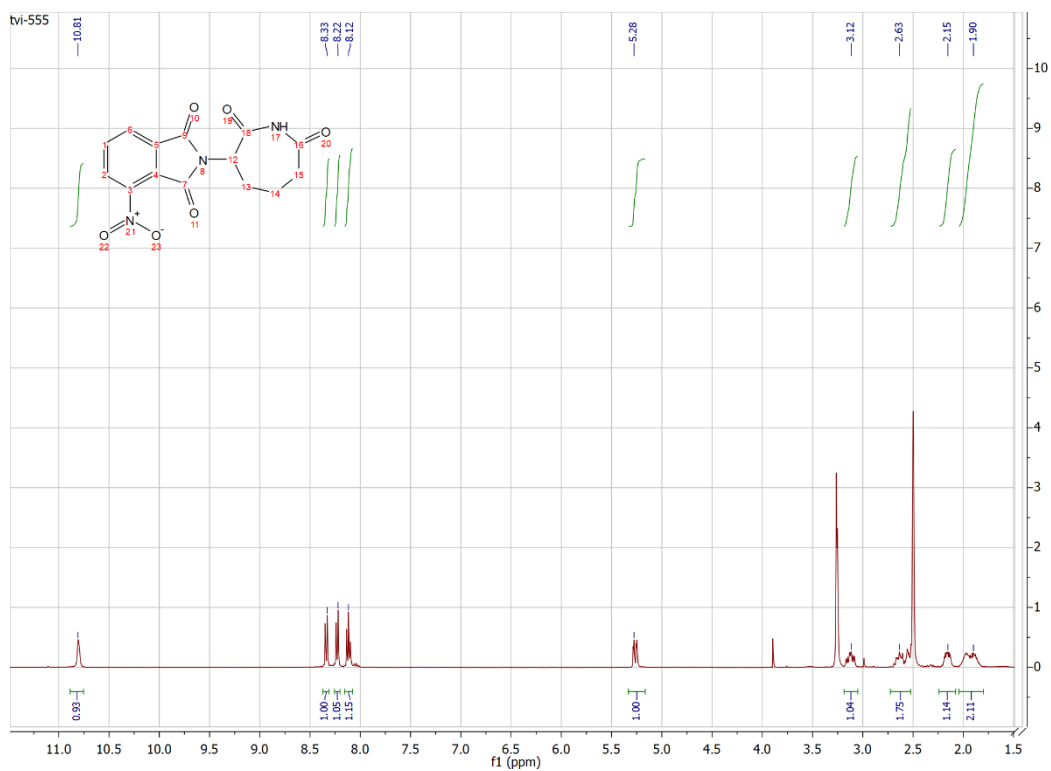


Рисунок А.2 Спектр ^1H ЯМР 2-(2,7-діоксазепан-3-іл)-4-нітроізоіндолін-1,3-діону 4

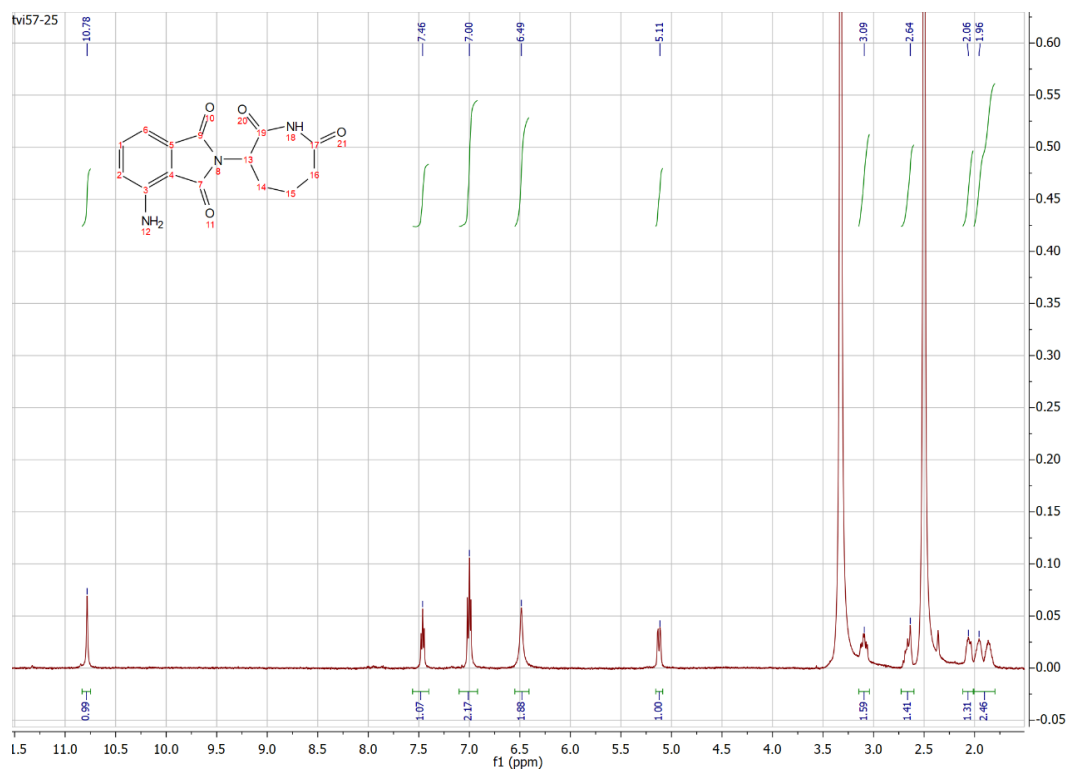


Рисунок А.3 Спектр ¹H ЯМР 4-аміно-2-(2,7-діоксазепан-3-іл)ізоіндолін-1,3-діону **5**

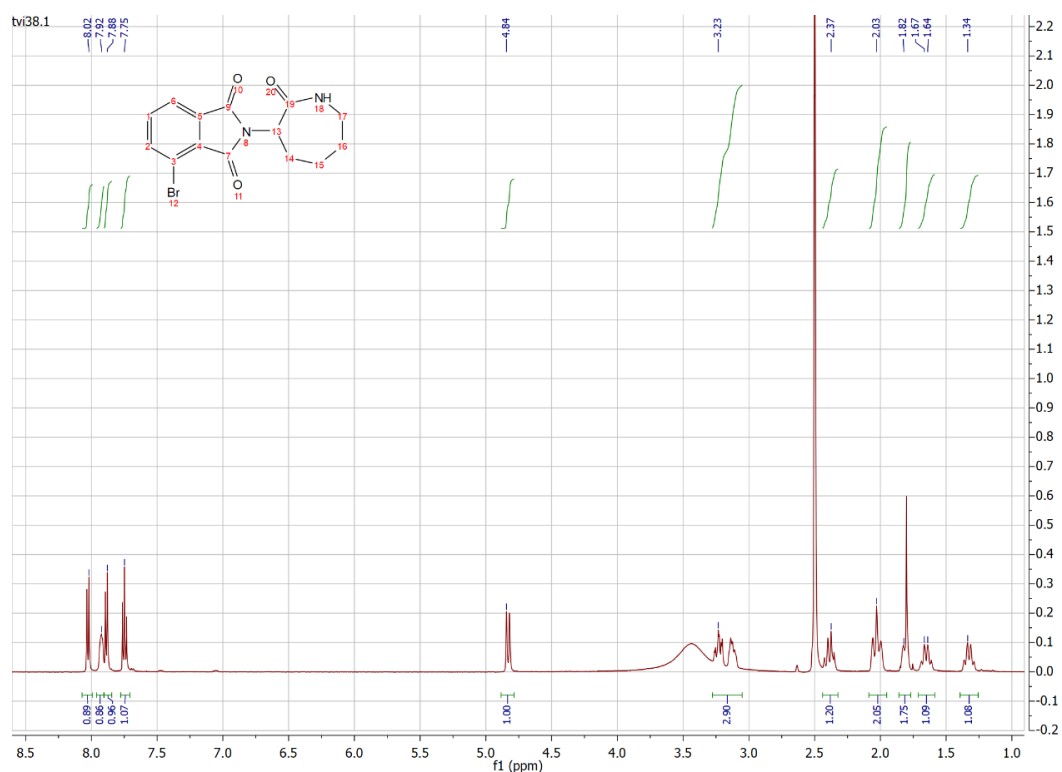


Рисунок А.4 Спектр ¹H ЯМР 4-бромо-2-(2-оксазепан-3-іл)ізоіндолін-1,3-діону **7**

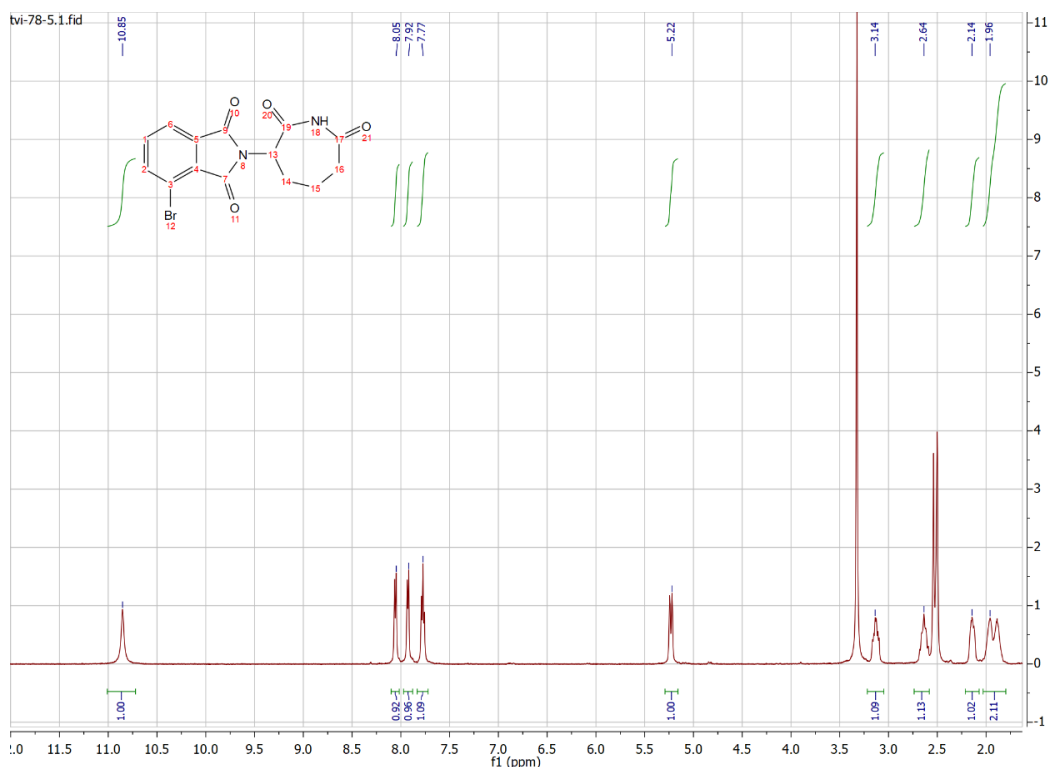


Рисунок А.5 Спектр ^1H ЯМР 4-бромо-2-(2,7-діоксазепан-3-іл)ізоіндолін-1,3-діону **8**

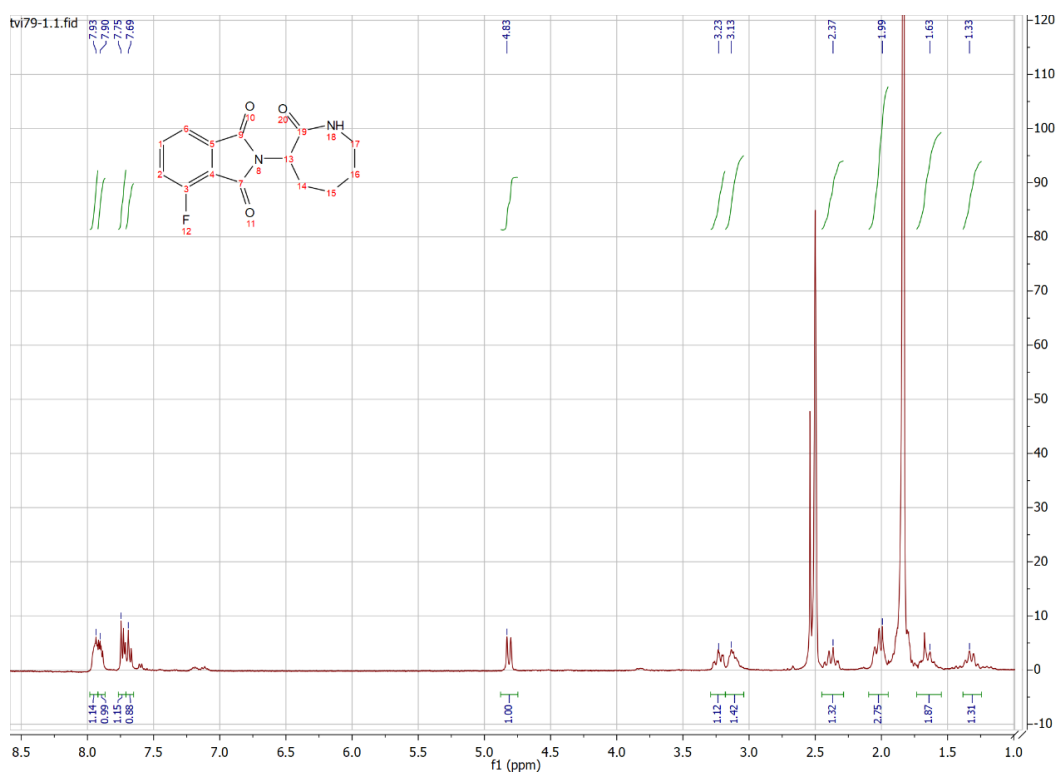


Рисунок А.6 Спектр ^1H ЯМР 4-флуор-2-(2-оксазепан-3-іл)ізоіндолін-1,3-діону **12**

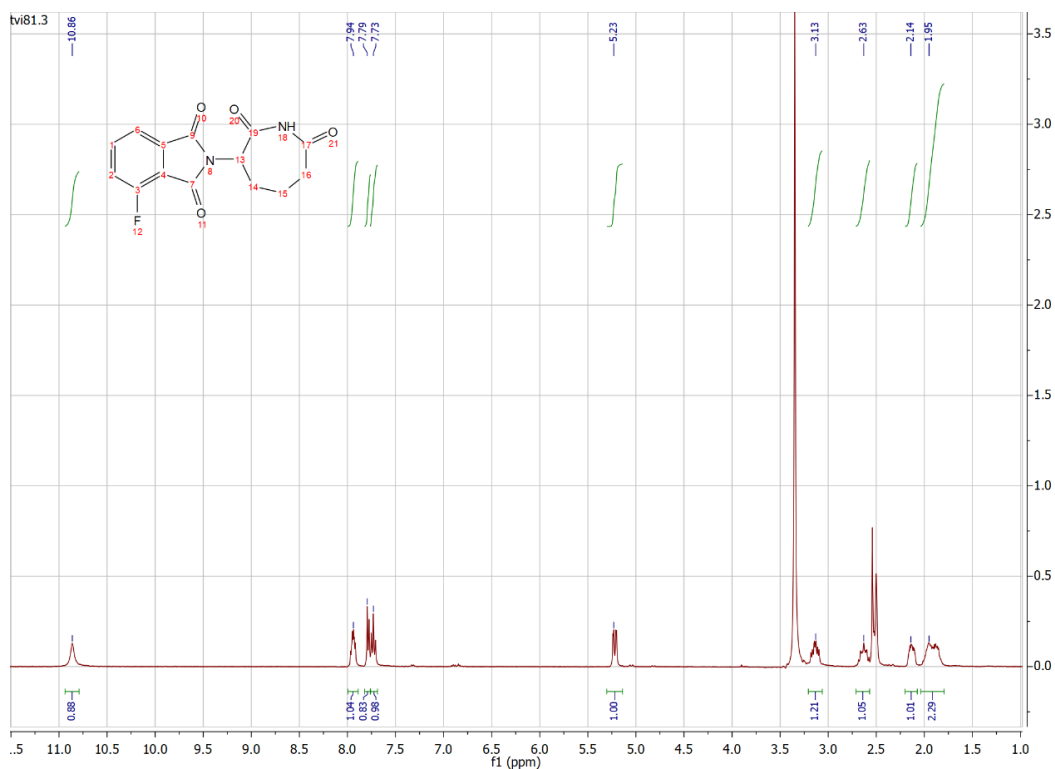


Рисунок А.7 Спектр ¹H ЯМР 2-(2,7-діоксазепан-3-іл)-4-флуороізоіндолін-1,3-діону
13

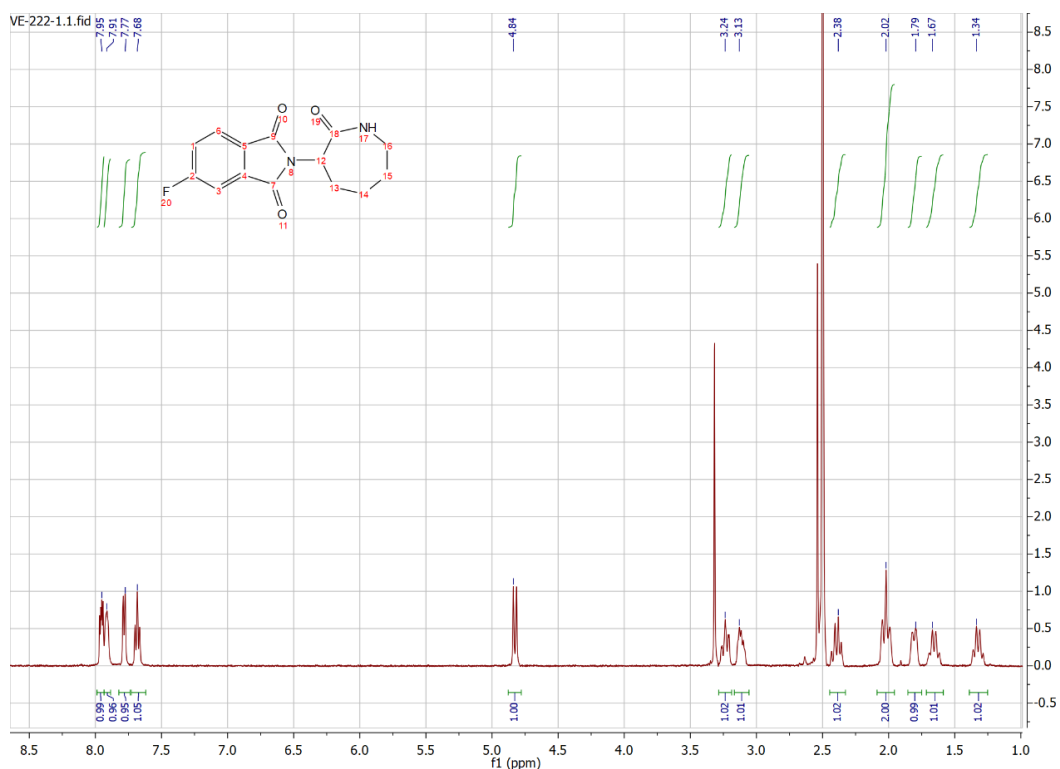


Рисунок А.8 Спектр ¹H ЯМР 5-флуоро-2-(2-оксазепан-3-іл)ізоіндолін-1,3-діону 15

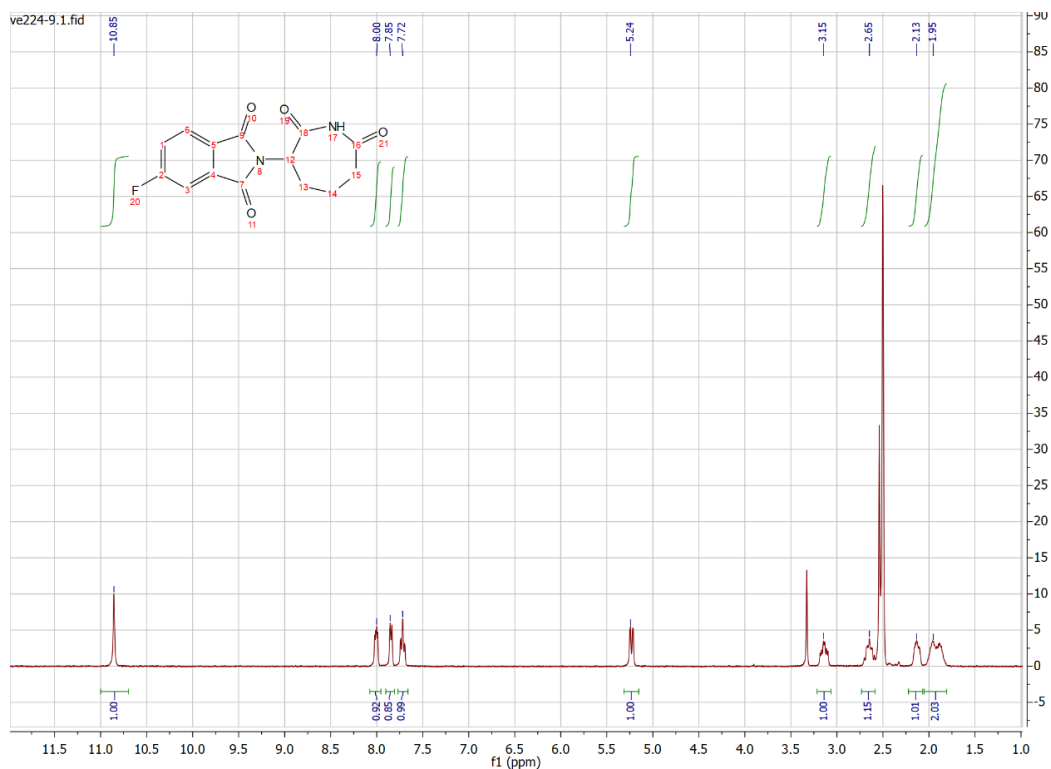


Рисунок А.9 Спектр ^1H ЯМР 2-(2,7-діоксазепан-3-іл)-5-флуороізоіндолін-1,3-діону

16

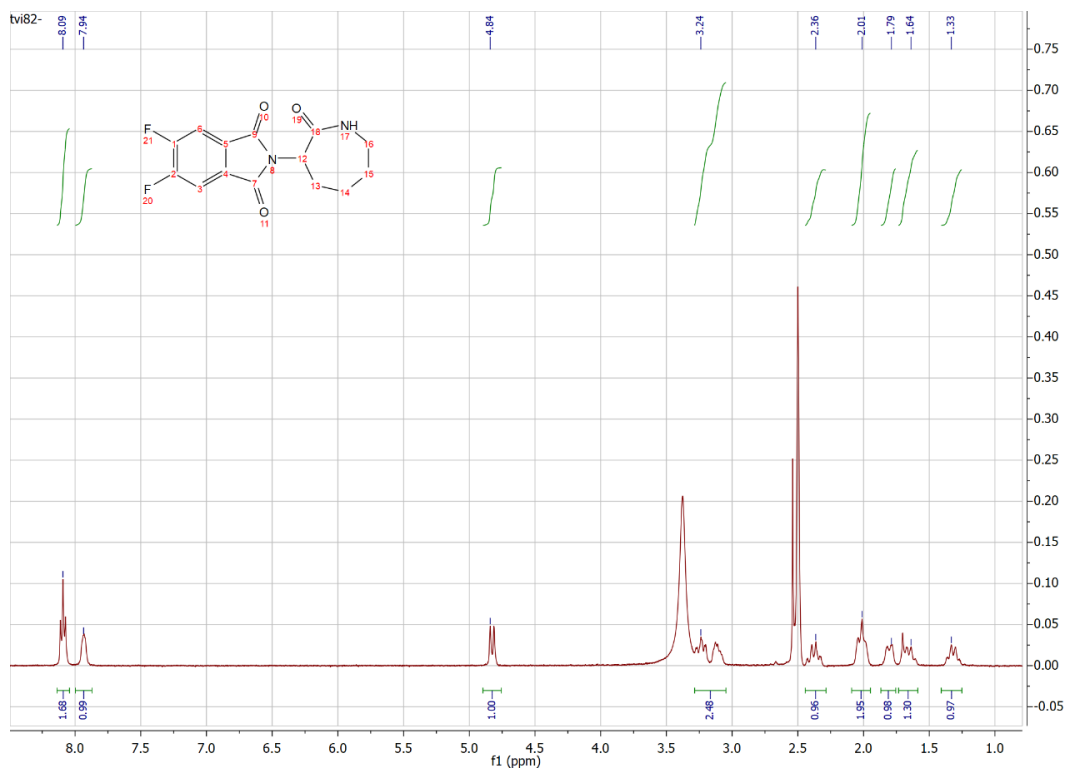


Рисунок А.10 Спектр ^1H ЯМР 5,6-флуоро-2-(2,7-діоксазепан-3-іл)ізоіндолін-1,3-

діону 18

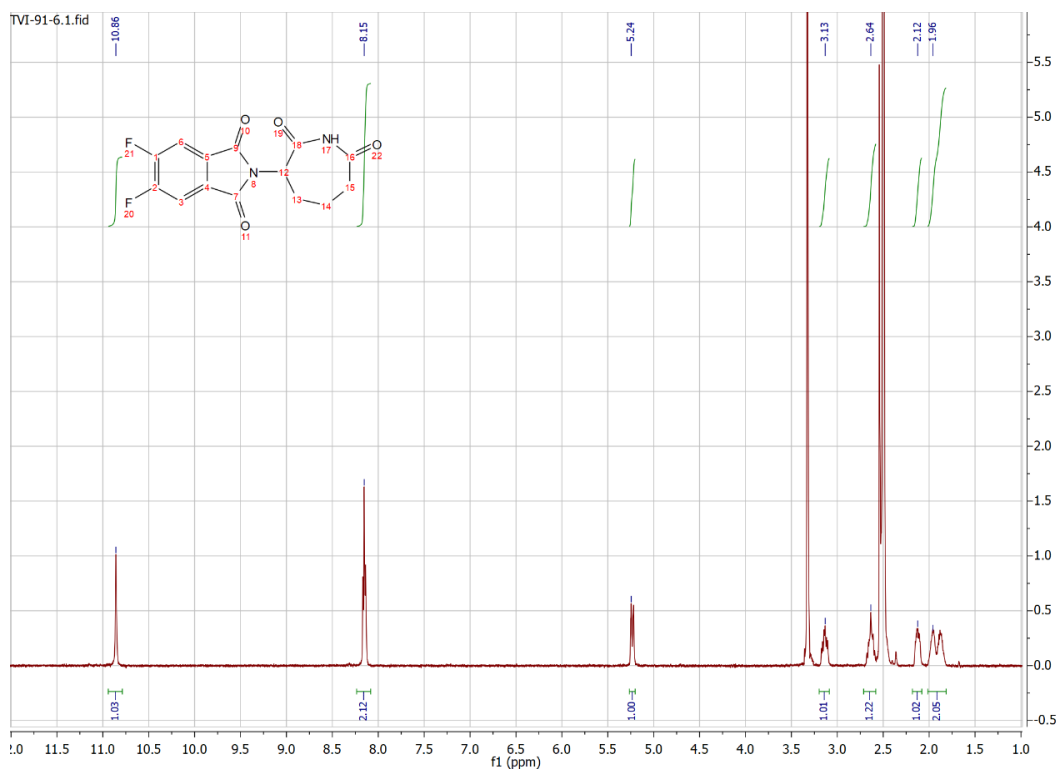


Рисунок А.11 Спектр ^1H ЯМР 2-(2,7-діоксазепан-3-іл)-5,6-дифлуороізоіндолін-1,3-діону **19**

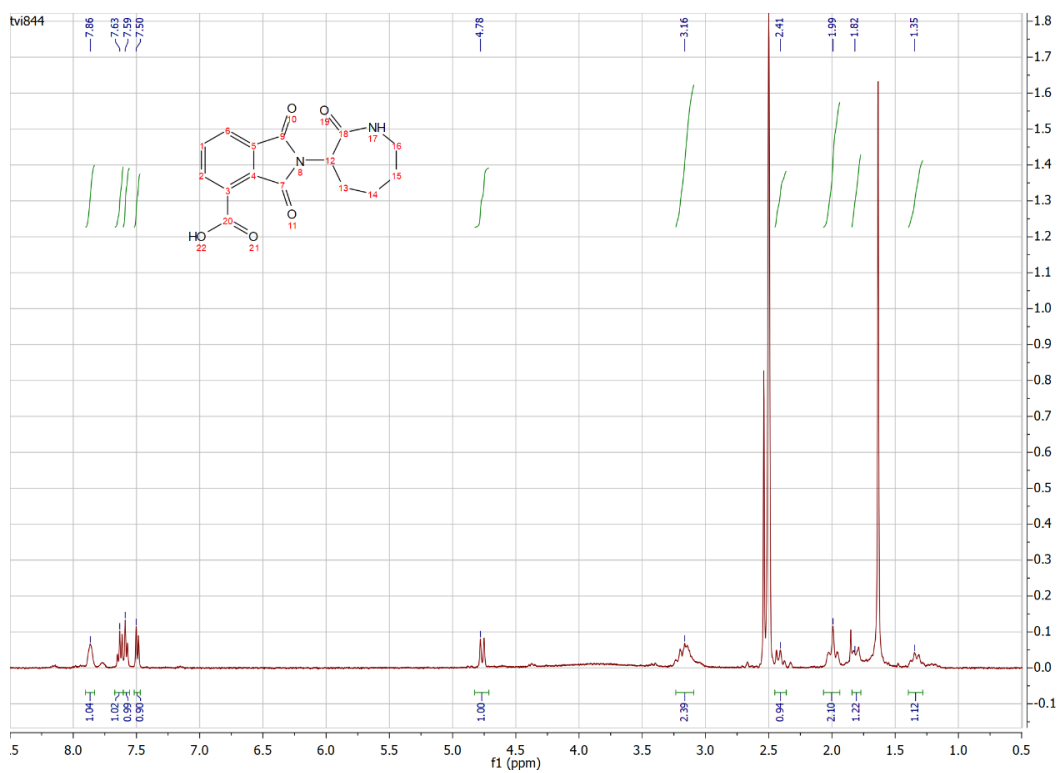


Рисунок А.12 Спектр ^1H ЯМР 1,3-діоксо-2-(2-оксазепан-3-іл)ізоіндолін-4-карбоної кислоти **21**