



УКРАЇНА

(19) UA (11) 48121 (13) C2

(51) 6

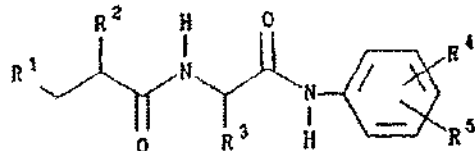
C07C237/52, A61K31/66, C07F9/30, C07C23
3/47МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ІНГІБІТОРИ МАТРИЧНИХ МЕТАЛОПРОТЕАЗ І ФАРМАЦЕТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ НА ЇХ ОСНОВІ

1

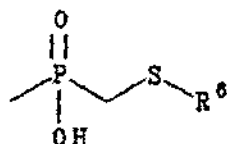
2

(21) 96041755
(22) 03 11 1994
(24) 15 08 2002
(86) PCT/US94/12214, 03 11 1994
(31) 08/147811
(32) 04 11 1993
(33) US
(46) 15 08 2002, Бюл. № 8, 2002 р.
(72) Кастелано Арліндо Л., US, Юан Женгй., US,
Хорн Стифен, СА, Ліак Тенг Дж., СА
(73) СІНТЕКС (С Ш А) ІНК., US
(56) US 5183900, 1993
WO 92/09563, 1992
WO 93/14112, 1993
WO 94/07481, 1994
(57) 1 Соединение формулы (I)



(I)

где
R¹ обозначает меркапто, ацетилтио, карбокси, гидроксикарбамоил, алкоксикарбонил, арилоксикарбонил, аралкоксикарбонил, бензилоксикарбамоил или



где R⁶ обозначает необязательно замещенный арил, причем арильная группа представляет собой хинол-2-ил, нафт-1-ил, нафт-2-ил, пиридил или фенил,
R² обозначает алкил, аралкил или циклоалкилалкил,
R³ обозначает циклоалкил, алкил (необязательно замещенный циклоалкилом, гидрокси, меркапто, алкилтио, аралкокси, карбокси, амино, алкилами-но, гуанидино, карбамоилом, пиридилом или индопилом) или аралкил (необязательно замещенный гидрокси, карбокси, алкилом или алкокси),
R⁴ обозначает нитро, амино, циано, гидрокси, ал-

кокси, карбокси, алкоксикарбонил, алкилсульфо-нил, галоалкил, алкоксикарбонилалкил, тетразо-лил, карбамоил (необязательно замещенный алкилом или диалкиламиноалкилом) или амино-сульфонил (необязательно замещенный алки-пом), и

R⁵ обозначает водород, галоген или гидрокси, в виде отдельного стереоизомера или их смеси, или его фармацевтически приемлемая соль

2 Соединение по п. 1, где R¹ обозначает меркапто или ацетилтио

3 Соединение по п. 2, где

R³ обозначает циклоалкил или алкил (необяза-тельно замещенный циклоалкилом, гидрокси, аралкокси, алкилтио, пиридилом или индопилом), R⁴ обозначает циано, гидрокси, алкокси, карбокси, алкоксикарбонил, алкоксикарбонилалкил, карба-моил (необязательно замещенный аралкиламино-алкилом) или аминосульфони (необязательно замещенный алкилом), и

R⁵ обозначает водород

4 Соединение по п. 3, где

R² обозначает алкил,

R³ обозначает циклогексил или алкил (необяза-тельно замещенный циклогексилом, гидрокси, бензилокси, метилтио, пиридилом или индопи-лом), и

R⁴ обозначает карбокси, алкоксикарбонил или аминосульфони

5 Соединение по п. 4, где R² и R³ обозначают 2-метилпропил

6 Соединение по п. 5, где R¹ обозначает меркапто или ацетилтио и R⁴ обозначает метоксикарбонил

7 Отдельный стереоизомер соединений по п. 6, а именно,

N-(4-метил-2-меркаптометилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)-карбоксамид, или N-(4-метил-2-ацетилтиометилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)-карбоксамид,

или их фармацевтически приемлемая соли

8 Соединение по п. 1, где R¹ обозначает карбок-си- или гидроксикарбамоил

9 Соединение по п. 8, где

R³ обозначает циклоалкил или алкил (необяза-тельно замещенный циклоалкилом, гидрокси, аралкокси, алкилтио, пиридилом или индопилом), R⁴ обозначает циано, гидрокси, алкокси, карбокси,

(13) C2

(11) 48121

(19) UA

алкоксикарбонил, алкоксикарбонилалкил, карбамоил (необязательно замещенный аралкиламиноалкилом) или аминосульфони́л (необязательно замещенный алкилом), и

R⁵ обозначает водород

10 Соединение по п 9, где

R² обозначает алкил,

R³ обозначает циклогексил или алкил (необязательно замещенный циклогексолом, гидрокси, бензилокси, метилтио, пиридиллом или индолиллом), и

R⁴ обозначает карбокси, алкоксикарбонил или аминосульфони́л

11 Соединение по п 10, где R² обозначает 2-метилпропил

12 Соединение по п 11, где R³ обозначает циклогексил, 2-метилпропил, пирид-3-илметил, 1-бензилоксиэтил, 1-метилпропил, 1,1-диметилэтил, 1-гидроксиэтил и индоп-2-илметил

13 Соединение по п 12, где R³ обозначает 2-метилпропил и R⁴ обозначает карбокси- или метоксикарбонил

14 Отдельный стереоизомер соединений по п 13, а именно,

N-(4-метил-2-карбоксиметилпентаноил)-L-лейцин-

N'-(4-метоксикарбонилфенил)-карбоксамид,

N-(4-метил-2-(N"-

гидроксикарбамоил)метилпентаноил)-L-лейцин-N'-

(4-метоксикарбонилфенил)-карбоксамид,

N-(4-метил-2-(N"-

гидроксикарбамоил)метилпентаноил)-L-лейцин-N'-

(4-карбоксифенил)-карбоксамид,

N-

(4-метил-2-(N"-

гидроксикарбамоил)метилпентаноил)-L-

триптофан-N'-(4-карбоксифенил)-карбоксамид,

N-(4-метил-2-(N"-

гидроксикарбамоил)метилпентаноил)-L-

циклогексилтицин-N'-(4-

метоксикарбонилфенил)карбоксамид, или

N-(4-метил-2-(N"-

гидроксикарбамоил)метилпентаноил)-L-трет-

лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)-

карбоксамид,

или их фармацевтически приемлемые соли

15 Фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество соединения по п 1 или его фармацевтически приемлемой соли в смеси с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми эксципиентами

Настоящее изобретение относится к соединениям и их фармацевтически приемлемым солям, обладающим способностью ингибировать матричные металлопротеазы, в частности стромелизин и матрилизин, и, следовательно, пригодным для лечения болезненных состояний у млекопитающих, облегчаемых ингибированием таких матричных металлопротеаз

Матричные металлопротеазы представляют собой семейство протеаз, ответственных за разложение и реконструирование соединительных тканей. Представители этого семейства ферментов обладают многочисленными свойствами, в том числе цинк- и кальций-зависимостью, секрецией в виде проферментов и 40 - 50%-ной гомологичностью последовательности аминокислот. Семейство матричных металлопротеаз включает интерстициальные коллагеназы, полученные из фибробластов/макрофагов и нейтрофилов, которые катализируют начальное расщепление и расщепление с ограниченной скоростью нативного коллагена типов I, II, III и X.

Коллаген, главный структурный протеин у млекопитающих, является основным компонентом матрикса многих тканей, например, хрящевой, костной, ткани сухожилий и кожи. Интерстициальные коллагеназы являются очень специфичными матричными металлопротеазами, которые расщепляют коллаген с получением при этом двух фрагментов, которые спонтанно денатурируют при физиологических температурах и поэтому становятся чувствительными к расщеплению менее специфическими ферментами. Поскольку расщепление с помощью коллагеназы приводит к потере структурной целостности ткани-мишени,

оно представляет собой необратимый процесс, и, следовательно, является хорошей мишенью для терапевтического вмешательства.

Помимо интерстициальных коллагеназ ферменты, относящиеся к семейству матричных металлопротеаз, включают две различные, но очень близкие желатиназы: фермент 72 кДа, секретируемый фибробластами, и фермент 92 кДа, высвобождаемый из одноядерных фагоцитов. Эти желатиназы обладают способностью разлагать желатину (денатурированные коллагены), нативный коллаген типов IV и V, фибронектин и нерастворимый эластин.

Семейство матричных металлопротеаз также включает стромелизины 1 и 2, обладающие способностью расщеплять широкий спектр матричных субстратов, в том числе ламинин, фибронектин, протеогликаны и коллаген типов IV и IX в их негеликоидальных областях.

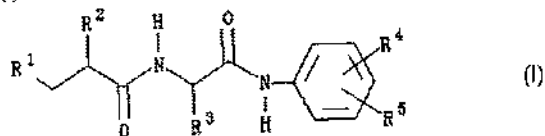
Матрилизин (мнимая металлопротеаза или ММП) является недавно открытым представителем семейства матричных металлопротеаз. Матрилизин обладает способностью разлагать широкий спектр матричных субстратов, в том числе протеогликаны, желатину, фибронектин, эластин и ламинин. Его экспрессия была зафиксирована в одноядерных фагоцитах, эксплантатах матки крыс и в единичных случаях в опухолях.

Полагают, что ингибиторы матричных металлопротеаз пригодны для лечения артритов, болезней, связанных с резорбцией кости (таких, как остеопороз), увеличения деструкции коллагена, связанного с диабетом, болезней пародонта, язв на роговице, язв на коже и метастазов опухолей. Предназначение и потенциальные возможности

использования ингибиторов коплагеназ описаны, например, в J Enzyme Inhibition (1987), том 2, стр 1-22, и в Drug News & Prospectives (1990), том 3, №8, стр 453-458. Ингибиторы матричных металлопротеаз также являются предметом различных патентов и заявок на патенты, например, патентов США 5189178 (Galardy) и 5183900 (Galardy), европейских опубликованных заявок на патенты 0438223 (Beecham) и 0276436 (F Hoffmann-La Roche), Международных заявок PCT 92/21360 (Merck), 92/06966 (Beecham) и 92/09563 (Glycomed).

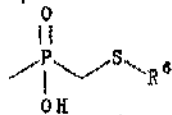
В изобретении предложены новые соединения, которые пригодны в качестве ингибиторов матричных металлопротеаз, в частности стромелизина и матрилизина, и которые эффективны при лечении болезненных состояний, характеризующихся повышенной активностью матричных металлопротеаз.

Таким образом, одним из предметов настоящего изобретения являются соединения формулы (I)



где

R¹ обозначает меркапто, ацетилтио, карбокси, гидроксикарбамоил, алкоксикарбонил, арилалкоксикарбонил, аларалкоксикарбонил, бензилоксиаминокарбонил или



(где R⁶ обозначает необязательно замещенный арил, причем арильная группа представляет собой хиноп-2-ил, нафт-1-ил, нафт-2-ил, пиридил или фенил).

R² обозначает алкил, аларкил или циклоалкилпалкил,

R³ обозначает циклоалкил, алкил (необязательно замещенный циклоалкилом, гидрокси, меркапто, алкилтио, аларалкокси, карбокси, аминок, алкиламино, гуанидино, карбамоилом, пиридилом или индопилом) или аларкил (необязательно замещенный гидрокси, карбокси, алкилом или алкокси).

R⁴ обозначают нитро, аминок, циано, гидрокси, алкокси, карбокси, алкоксикарбонил, алкилсульфонил, галоалкил, алкоксикарбонилалкил, тетразолил, карбамоил (необязательно замещенный алкилом или диалкиламиноалкилом) или аминоксульфонил (необязательно замещенный алкилом), и

R⁵ обозначает водород, галоген или гидрокси, в виде отдельных стереоизомеров или их смесей, или их фармацевтически приемлемые соли.

Другой предмет настоящего изобретения относится к способам ингибирования активности матричных металлопротеаз у млекопитающих, включающим назначение млекопитающему в случае необходимости терапевтически эффективного количества соединения формулы (I), как опреде-

лено выше, в виде отдельного стереоизомера либо в виде их смеси или его фармацевтически приемлемой соли.

Следующий предмет изобретения относится к фармацевтической композиции, пригодной для ингибирования активности матричных металлопротеаз у млекопитающих, включающей терапевтически эффективное количество соединения формулы (I), как определено выше, в виде отдельного стереоизомера либо в виде их смеси или его фармацевтически приемлемой соли и фармацевтически приемлемый эксципиент.

Определения

В описании изобретения и в формуле изобретения, если не указано иное, следующие термины имеют указанные ниже значения.

"BOC" обозначает трет-бутоксикарбонил.

"КБЗ" обозначает бензилоксикарбонил (карбо-бензилокси).

"ДМАП" обозначает N,N-диметиламинопиридин.

"ДМФ" обозначает N,N-диметилформамид.

"ЭДКИ" обозначает N-этил-N'-(3-диметиламинопропил)карбодиимид.

"ГОВТ" обозначает 1-гидроксibenзотриазол.

"Гидрокси" обозначает радикал -OH.

"Амино" обозначает радикал -NH₂.

"Ацетилтио" обозначает радикал -SC(O)CH₃.

"Галоген" обозначает бром, хлор или фтор.

"Карбамоил" обозначает радикал -C(O)NH₂.

"Карбокси" обозначает радикал -C(O)OH.

"Гидроксиамино" обозначает радикал -NHOH.

"Гидроксикарбамоил" обозначает радикал -C(O)NHOH.

"Меркапто" обозначает радикал -SH.

"Бензилоксикарбамоил" обозначает -C(O)N(H)OCH₂C₆H₅.

"Алкил" обозначает одновалентный радикал с прямой или разветвленной цепью, состоящий только из углерода и водорода, не содержащий ненасыщенных связей и имеющий от одного до четырех атомов углерода, например, метил, этил, н-пропил, 2-метилпропил (изобутил), 1-метилэтил (изопропил), н-бутил и 1,1-диметилэтил (трет-бутил) и т.п.

"Алкиламино" обозначает радикал формулы -NHR_a, где R_a обозначает алкил, как определено выше, например, метиламино, этиламино, изопропиламино, н-бутиламино и т.п.

"Галоалкил" обозначает радикал формулы -R_aR_d, где R_a обозначает алкил, как определено выше, замещенный одной или несколькими гало-группами (R_d), как определено выше, например, 2-хлорэтил, 2-бромэтил, трифторметил и т.п.

"Диалкиламиноалкил" обозначает радикал формулы R_aN(R_a)₂, где каждый R_a независимо друг от друга обозначает алкильный радикал, как определено выше, например, диметиламиноэтил, диэтиламино-н-пропил, диметиламино-н-пропил и т.п.

"Аминосульфони" обозначает -S(O)₂NH₂.

"Алкилсульфони" обозначает радикал формулы -S(O)₂R_a, где R_a обозначает алкил, как определено выше, например, метилсульфони, этилсульфони, изопропилсульфони и т.п.

"Алкилтио" обозначает радикал формулы -SR_a, где R_a обозначает алкил, как определено выше, например, метилтио, этилтио, изопропилтио, н-бутилтио и т.п.

"Алкокси" обозначает радикал формулы -OR_a, где R_a обозначает алкил, как определено выше, например, метокси, этокси, н-пропокси, 1-метилэтокси, н-бутокси, трет-бутокси и т.п.

"Алкоксикарбонилалкил" обозначает радикал формулы -R_aC(O)R_b, где R_a обозначает алкил, как определено выше, и R_b обозначает алкокси, как определено выше, например, метоксикарбонилэтил, этоксикарбонилэтил, метоксикарбонилизопропил и т.п.

"Арил" обозначает радикал хинол-2-ил, нафт-1-ил, нафт-2-ил или фенил.

"Арилокси" обозначает радикал формулы -OR_b, где R_b обозначает арил, как определено выше, например, фенокси, хинол-2-илокси, нафт-1-илокси или нафт-2-илокси.

"Аралкил" обозначает радикал формулы -R_aR_b, где R_a обозначает алкил, как определено выше, и R_b обозначает арил, как определено выше, например, бензил, фенилэтилен, 3-фенилпропил, 2-хинол-2-илэтил и т.п.

"Аралкокси" обозначает радикал формулы -OR_aR_b, где R_a обозначает алкил, как определено выше, и R_b обозначает арил, как определено выше, например, бензилокси, 2-хинол-2-илэтокси, 3-нафт-2-илпропокси и т.п.

"Алкоксикарбонил" обозначает радикал формулы -C(O)R_b, где R_b обозначает алкокси, как определено выше, например, метоксикарбонил, этоксикарбонил, трет-бутоксикарбонил и т.п.

"Аралкоксикарбонил" обозначает радикал формулы -C(O)R_c, где R_c обозначает аралкокси, как определено выше, например, бензилоксикарбонил, 2-хинол-2-илэтоксикарбонил и т.п.

"Циклоалкил" обозначает одновалентный циклический радикал, состоящий только из атомов углерода и водорода, не содержащий ненасыщенных связей и имеющий от пяти до семи атомов углерода, например, циклопентил, циклогексил и циклогептил.

"Циклоалкилалкил" обозначает радикал формулы -R_eR_a, где R_a обозначает алкил, как определено выше, и R_e обозначает циклоалкил, как определено выше, например, циклогексилметил, циклогексилэтил, циклопентилметил и т.п.

"Фосфиноил" обозначает радикал формулы H₂P(O)-, в котором 2 атома водорода могут быть замещены другими группами.

"Необязательный" или "необязательно" обозначает, что последовательно описанные действия или обстоятельства могут иметь место или их может не быть и что описание включает ситуации, когда указанные действия или обстоятельства имеют место, и ситуации, когда они отсутствуют. Например, "необязательно замещенный хинол-2-ил" обозначает, что радикал хинол-2-ил может быть замещенным или может быть незамещенным и что определение включает радикалы как замещенный хинол-2-ил, так и хинол-2-ил, не имеющий замещения.

"Необязательно замещенный арил" обознача-

ет радикал хинол-2-ил, нафт-1-ил, нафт-2-ил, пиридил или фенил, необязательно замещенный одним или более заместителями, выбранными из группы, включающей галоген, алкил, алкокси, гидроксид и нитро, например, 6-нитрохинол-2-ил, 6-фторхинол-2-ил, 6-гидроксихинол-2-ил, 6-метоксихинол-2-ил, 6-нитронафт-1-ил, 6-хлорнафт-1-ил, 6-гидроксиафт-1-ил, 6-метоксинафт-1-ил, 6-нитронафт-2-ил, 6-хлорнафт-2-ил, 6-гидроксиафт-2-ил, 6-метоксинафт-2-ил, 6-нитрофенил, 6-хлорфенил, 6-гидроксифенил, 6-метоксифенил и т.п.

"Аминозащитная группа" в контексте настоящего описания обозначает органические группы, предназначенные для защиты атомов азота от нежелательных реакций во время процессов синтеза, и включает, но не ограничена ими, бензил, ацил, ацетил, бензилоксикарбонил (карбобензилокси), пара-метоксибензилоксикарбонил, пара-нитробензилоксикарбонил, трет-бутоксикарбонил и т.п.

"Фармацевтически приемлемая соль" обозначает такие соли, которые сохраняют биологическую эффективность и свойства свободных оснований или свободных кислот и которые не являются нежелательными по биологическим или иным причинам. Если соединение существует в виде свободной кислоты, требуемая соль может быть получена способами, известными обычным специалистам в данной области техники, такими, как обработка соединения неорганическими кислотами, такими, как, соляная кислота, бромистоводородная кислота, серная кислота, азотная кислота, фосфорная кислота и т.п., или органическими кислотами, такими, как уксусная кислота, пропионовая кислота, гликолевая кислота, пировиноградная кислота, щавелевая кислота, малеиновая кислота, малоновая кислота, янтарная кислота, фумаровая кислота, винная кислота, лимонная кислота, бензойная кислота, коричная кислота, миндальная кислота, метансульфоновая кислота, этансульфоновая кислота, паратолуолсульфоновая кислота, салициловая кислота и т.п. Если соединение существует и виде свободной основы, требуемая соль может быть также получена способами, известными обычным специалистам в данной области техники, такими, как обработка соединения неорганическим основанием или органическим основанием. Соли, образованные неорганическими основаниями, включают, но не ограничены ими, соли натрия, калия, лития, аммония, кальция, магния, железа, цинка, меди, марганца, алюминия и т.п.

Соли, образованные из органических оснований, включают, но не ограничены ими, соли первичных, вторичных и третичных аминов, замещенных аминов, включающих встречающиеся в естественных условиях замещенные амины, циклические амины и основные ионообменные смолы, такие, как изопропиламин, триметиламин, диэтиламин, триэтиламин, трипропиламин, этаноламин, 2-диметиламиноэтанол, 2-диэтиламиноэтанол, триметамин, диметилгексиламин, лизин, аргинин, гистидин, кофеин, прокаин, гидрамин, холин, бетаин, этилендиамин, глюкозамин, метилпипера-

мин, теобромин, пурины, пиперазин, пиперидин, N-этил пиперидин, полиаминные смолы и т.п.

"Млекопитающие" включают людей и всех домашних и диких животных, в том числе, но не ограничиваясь ими, крупный рогатый скот, лошадей, свиней, овец, коз, собак, кошек и т.п.

"Терапевтически эффективное количество" относится к такому количеству соединения формулы (I), которое, будучи назначенным млекопитающему в случае необходимости является достаточным для осуществления лечения, как определено ниже, состояний болезни, облегчаемых путем ингибирования активности матричной металлопротеазы, в частности активности стромелизина и матрилизина. Количество соединения формулы (I), которое составляет "терапевтически эффективное количество", изменяется в зависимости от соединения, состояния болезни и ее серьезности, а также от млекопитающего, подвергаемого лечению, однако оно может быть определено в соответствии с общепринятой практикой обычным специалистом в данной области техники на основе его собственных знаний и настоящего описания.

"Лечение" или "лечить" и в контексте настоящего описания охватывает любое лечение состояния болезни у млекопитающего, прежде всего у человека, которое облегчается путем ингибирования активности матричных металлопротеаз, в частности активности стромелизина и матрилизина и т.п., и включает

(I) предупреждение наступления болезненного состояния у млекопитающего, в частности, если указанное млекопитающее предрасположено к болезненному состоянию, но еще не установлено, что таковое наступило,

(II) ингибирование болезненного состояния, т.е. прекращение его развития, или

(III) облегчение болезненного состояния, т.е. обеспечение регресса болезненного состояния.

"Стереизомеры" относятся к соединениям, имеющим одинаковую молекулярную формулу и природу или последовательность связей, но отличающимся по ориентации их атомов в пространстве.

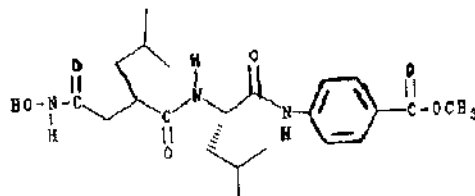
Используемая в настоящем описании номенклатура в основном представляет собой модифицированную форму номенклатуры IUPAC (Международного союза теоретической и прикладной химии), согласно которой соединения по изобретению названы как производные пептидов. Соединения формулы (I) или их фармацевтически приемлемые соли имеют в своей структуре по крайней мере два асимметричных атома углерода и, следовательно, могут существовать в виде отдельных стереоизомеров, рацематов и в виде смесей энантиомеров и диастереомеров. Все указанные отдельные стереоизомеры, рацематы и их смеси включены в объем данного изобретения.

При обозначении отдельных стереоизомеров соединений формулы (I) абсолютный дескриптор R или S может быть отнесен к хиральным атомам углерода в соответствии с методикой "Правила Последовательности" Кана, Ингольда и Прелога.

Кроме того, те части соединений формулы (I),

которые включают R³ вместе с примыкающим атомом азота и карбонильной группой, могут быть отнесены к фрагментам α-аминокислот и соответственно названы.

Например, следующее соединение формулы (I)



где R¹ обозначает гидроксикарбамоил, R² обозначает 2-метилпропил, R³ обозначает 2-метилпропил, R⁴ обозначает метоксикарбонил, и R⁵ обозначает водород, названо в описании N-(4-метил-2-N'-гидроксикарбамоил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамидом.

А Применение

Соединения формулы (I) пригодны в качестве ингибиторов матричных металлопротеаз млекопитающих, в частности стромелизина и матрилизина, предотвращая тем самым разложение коллагена в организме млекопитающего. Таким образом, соединения пригодны для лечения болезненных состояний, связанных с увеличенной активностью матричных металлопротеаз, в частности с увеличенной активностью стромелизина и матрилизина, таких, как артриты и остеоартриты, метастазы опухолей, болезни периодонта и язвы ротовой полости. См. например, *Arthritis and Rheumatism* (1993), том 36, №2, стр. 181-189, *Arthritis and Rheumatism* (1991), том 34, №9, стр. 1073-1075, *Seminars in Arthritis and Rheumatism* (1990), том 19, №4, Приложение 1, (февраль), стр. 16-20, *Drugs of the Future* (1990), том 15, №5, стр. 495-508, и *J. Enzyme Inhibition* (1987), том 2, стр. 22.

Б Испытание

Способность соединений формулы (I) ингибировать активность матричной металлопротеазы, в частности активность стромелизина или матрилизина, может быть продемонстрирована различными опытами *in vitro* и *in vivo*, известными обычным специалистам в данной области техники, например, такими опытами, которые описаны в *Anal. Biochem.* (1985), том 147, стр. 437, или их модификациями.

В Общее назначение

Введение соединений формулы (I) или их фармацевтически приемлемых солей в чистом виде или в виде соответствующей фармацевтической композиции может быть осуществлено с помощью любых приемлемых способов введения или агентов, служащих подобным целям. Таким образом, введение может осуществляться, например, оральным, назальным, парентеральным, локальным, трансдермальным или ректальным путем в виде твердых, полутвердых дозируемых форм, лиофилизированного порошка или жидких дозируемых форм, например, таких как таблетки, суппозитории, пилюли, мягкие эластичные или твердые желатиновые капсулы, порошки, раство-

ры, суспензии или аэрозоли и т.п., предпочтительно в формах унифицированных доз, пригодных для простого введения с точной дозировкой. Композиции могут включать обычный фармацевтический носитель или эксципиент и соединение формулы (I) в качестве действующего вещества и, кроме того, могут включать другие лекарственные средства или фармацевтические средства, носители, адъюванты и т.д.

Обычно в зависимости от назначаемого способа введения фармацевтически приемлемые композиции могут содержать от приблизительно 1 масс. % до приблизительно 99 масс. % соединения(ий) формулы (I) или его (их) фармацевтически приемлемой(ых) соли(ей) и от 99 масс. % до 1 масс. % фармацевтически пригодного эксципиента. Предпочтительно композиция должна содержать от приблизительно 5 масс. % до приблизительно 75 масс. % соединения(ий) формулы (I) или его (их) фармацевтически приемлемой(ых) соли(ей), при этом остальное приходится на долю фармацевтически приемлемых эксципиентов.

Предпочтительным путем введения является оральный, с использованием обычной суточной схемы приема лекарственного средства, которая может корректироваться в зависимости от степени серьезности подлежащего лечению состояния болезни. Для такого орального введения фармацевтически приемлемую композицию, содержащую соединение(я) формулы (I) или его(их) фармацевтически приемлемую(ые) соль(и), получают путем включения любых обычно используемых эксципиентов, таких, как, например, фармацевтически чистые маннит, лактоза, крахмал, прежелатинизированный крахмал, стеарат магния, натрий-сахарин, тальк, эфирные производные целлюлозы, глюкоза, желатин, сахароза, цитрат, пропилгаллат и т.п. Такие композиции имеют форму растворов, суспензий, таблеток, пилюль, капсул, порошков, композиций с непрерывным высвобождением лекарства и т.п.

Предпочтительно такие композиции должны иметь форму капсул, капель или таблеток и, кроме того, должны включать разбавитель, такой, как лактоза, сахароза, дифосфат кальция и т.п., дезинтегратор, такой, как натрийкроскармеллоза или ее производные, замасливатель, такой, как стеарат магния и т.п., и связующее вещество, такое, как крахмал, смола акации, поливинилпирролидон, желатин, эфирные производные целлюлозы и т.п.

Соединения формулы (I) или их фармацевтически приемлемые соли могут также быть приготовлены в форме суппозитория, с использованием, например, от приблизительно 0,5% до приблизительно 50% действующего вещества, распределенного в медленно растворяющемся внутри организма носителе, например, полиоксипропиленгликолях и полиэтиленгликолях (ПЭГ), например, ПЭГ 1000 (96%) и ПЭГ 4000 (4%).

Жидкие композиции для фармацевтического назначения могут, например, быть приготовлены путем растворения, диспергирования и т.д. соединения(ий) формулы (I) (от приблизительно 0,5% до приблизительно 20%) или его(их) фармацевти-

чески приемлемой(ых) соли(ей) и необязательно фармацевтических адъювантов в носителе, таком, как, например, вода, физиологический раствор, водная декстроза, глицерин, этанол и т.п., для получения раствора или суспензии.

При необходимости фармацевтическая композиция по изобретению может также содержать небольшие количества добавочных веществ, таких как смачивающие или эмульгирующие агенты, забуферивающие pH агенты, антиоксиданты и т.п., такие, как, например, лимонная кислота, сорбитанмонолаурат, триэтаноламинолеат, бутилированный гидрокситолуол и т.д.

Практические способы получения таких дозируемых форм известны или очевидны для специалистов в данной области техники, например, см. в Remington's Pharmaceutical Sciences, 18-е издание, (Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 1990). Применяемая композиция в любом случае должна содержать терапевтически эффективное количество соединения формулы (I) или фармацевтически приемлемой соли для лечения болезненного состояния, которое может быть облегчено путем ингибирования активности матричных металлопротеаз в соответствии с рекомендациями настоящего изобретения.

Соединения формулы (I) или их фармацевтически приемлемые соли должны применяться в терапевтически эффективном количестве, которое в значительной степени зависит от различных факторов, включающих активность конкретного применяемого соединения, метаболическую стабильность и продолжительность действия соединения, возраст, вес тела, общее состояние здоровья, пол пациента, диету, режим и время введения, скорость экскреции, комбинацию лекарств, серьезность конкретного состояния болезни и терапию, которой подвергается пациент. Обычно терапевтически эффективная суточная доза составляет от приблизительно 0,14 мг до приблизительно 14,3 мг/кг веса тела в день для соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли, предпочтительно от приблизительно 0,7 мг до приблизительно 10 мг/кг веса тела в день, и наиболее предпочтительно от приблизительно 1,4 мг до приблизительно 7,2 мг/кг веса тела в день. Например, при назначении человеку весом 70 кг диапазон доз может быть от приблизительно 10 мг до приблизительно 1,0 г соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли в день, предпочтительно от приблизительно 50 мг до приблизительно 700 мг в день, и наиболее предпочтительно от приблизительно 100 мг до приблизительно 500 мг в день.

Предпочтительной группой соединений формулы (I), как описано выше в "Кратком изложении сущности изобретения", являются те соединения, в которых R¹ обозначает меркапто или ацетилтио.

Внутри этой группы предпочтительной подгруппой соединений являются такие соединения, в которых R² обозначает алкил, арилалкил, циклоалкилалкил, R³ обозначает циклоалкил или алкил (необязательно замещенный циклоалкилом, гидроксильный, арилалкокси, алкилтио, пиридил или индопилом), R⁴ обозначает циано, карбокси, гидроксильный,

алкокси, алкоксикарбонил, алкоксикарбонилалкил, карбамоил (необязательно замещенный аралкиламиноалкилом) или аминосульфони́л (необязательно замещенный алкилом), и R^5 обозначает водород

Внутри этой подгруппы предпочтительным классом соединений являются такие соединения, в которых R^2 обозначает алкил, R^3 обозначает циклогексил, алкил (необязательно замещенный циклогексилом, гидрокси, бензилокси, метилтио, пиридиллом или индопилом), и R^4 обозначает карбокси, алкоксикарбонил и аминосульфони́л

Внутри этого класса соединений предпочтительны соединения, в которых R^2 обозначает 2-метилпропил. Особенно предпочтительными являются такие соединения, в которых R^3 обозначает 2-метилпропил

Другой предпочтительной группой соединений формулы (I), как описано выше в "Кратком изложении сущности изобретения", являются те соединения, в которых R^1 обозначает карбокси

Внутри этой группы предпочтительной подгруппой соединений являются такие соединения, в которых R^2 обозначает алкил, аралкил, циклоалкил, R^3 обозначает циклоалкил или алкил (необязательно замещенный циклоалкилом, гидрокси, аралкокси, алкилтио, пиридиллом или индопилом), R^4 обозначает циано, гидрокси, алкокси, карбокси, алкоксикарбонил, алкоксикарбонилалкил, карбамоил (необязательно замещенный аралкиламиноалкилом) или аминосульфони́л (необязательно замещенный алкилом), и R^5 обозначает водород

Внутри этой подгруппы предпочтительным классом соединений являются такие соединения, в которых R^2 обозначает алкил, R^3 обозначает циклогексил, алкил (необязательно замещенный циклогексилом, гидрокси, бензилокси, метилтио, пиридиллом или индопилом), и R^4 обозначает карбокси, алкоксикарбонил и аминосульфони́л

Внутри этого класса соединений предпочтительны соединения, в которых R^2 обозначает 2-метилпропил. Особенно предпочтительными являются такие соединения, в которых R^3 обозначает циклогексил, 2-метилпропил, пирид-3-илметил, 1-бензилоксиэтил, 1-метилпропил, 1,1-димети́лэтил, 1-гидроксиэтил и индол-2-илметил, и R^4 обозначает метоксикарбонил

Другой предпочтительной группой соединений формулы (I), как описано выше в "Кратком изложении сущности изобретения", являются те соединения, в которых R^1 обозначает гидроксикарбамоил

Внутри этой группы предпочтительной подгруппой соединений являются такие соединения, в которых R^2 обозначает алкил, аралкил, циклоалкил, R^3 обозначает циклоалкил или алкил (необязательно замещенный циклоалкилом, гидрокси, аралкокси, алкилтио, пиридиллом или индопилом), R^4 обозначает циано, гидрокси, алкокси, карбокси, алкоксикарбонил, алкоксикарбонилалкил, карбамоил (необязательно замещенный аралкиламиноалкилом) или аминосульфони́л (необязательно замещенный алкилом), и R^5 обозначает водород

Внутри этой подгруппы предпочтительным классом соединений являются такие соединения, в которых R^2 обозначает алкил, R^3 обозначает циклогексил, алкил (необязательно замещенный циклогексилом, гидрокси, бензилокси, метилтио, пиридиллом или индопилом), и R^4 обозначает карбокси, алкоксикарбонил и аминосульфони́л

Внутри этого класса соединений предпочтительны соединения, в которых R^2 обозначает 2-метилпропил. Особенно предпочтительными являются такие соединения, в которых R^3 обозначает циклогексил, 2-метилпропил, пирид-3-илметил, 1-бензилоксиэтил, 1-метилпропил, 1,1-димети́лэтил, 1-гидроксиэтил и индол-2-илметил

Соответственно наиболее предпочтительными соединениями формулы (I) являются следующие

N-(4-метил-2-(N'-гидроксикарбамоил)метилпентаноил)-L-триптофан-N'-(4-карбоксифенил)карбоксамид,

N-(4-метил-2-(N'-гидроксикарбамоил)метилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(4-метил-2-(N'-гидроксикарбамоил)метилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-карбоксифенил)карбоксамид,

N-(4-метил-2-меркаптометилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(4-метил-2-ацетилтиометилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(4-метил-2-карбоксиметилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(4-метил-2-(N'-гидроксикарбамоил)метилпентаноил)-L-циклогексилпицин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, и

N-(4-метил-2-(N'-гидроксикарбамоил)метилпентаноил)-L-трет-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид

Получение соединений формулы (I)

Соединения формулы (I), как в виде отдельных стереоизомеров, так и в виде их смесей, а также их фармацевтически приемлемые соли являются производными пептидов, которые могут быть получены из производных составляющих α -аминокислот. Стандартные способы образования пептидных связей дополнительно приведены у M Bodanszky и др. в *The Practice of Peptide Synthesis* (1984), изд-во Springer, M Bodanszky, *Principles of Peptide Synthesis* (1984), изд-во Springer, J P Greenstein и др., *Chemistry of the Amino Acids* (1961), том 1-3, John Wiley and Sons Inc., G R Pettit, *Synthetic Peptides* (1970), том 1-2, Van Nostrand Reinhold Company

Амидные сочетания, используемые для образования соединений формулы (I), обычно выполняют с помощью карбодиимидного метода с такими реагентами, как дициклогексилкарбодиимид или N'-этил-N'-(3-диметиламинопропил)карбодиимид (ЭДКИ) в присутствии 1-гидроксибензотриазола (ГОВТ) в инерт-

ном растворителе, таком, как диметилформамид (ДМФ). Другие способы образования амидной или пептидной связи включают, но не ограничены ими, способы синтеза с использованием хлорангидрида кислоты, ацилазида, смеси ангидрида или активированного эфира, такого, как нитрофенильный эфир. Обычно проводят амидные сочетания в фазе раствора с пептидными фрагментами или без них.

Выбор защитных групп для концевых аминокислотных групп соединений, используемых для получения соединений формулы (I), частично определяется конкретными условиями амидного или пептидного сочетания, а частично компонентами аминокислоты и/или пептида, участвующими в реакции сочетания. Обычно используемые аминокислотные группы включают такие, хорошо известные в данной области техники, например, бензилоксикарбонил (карбобензилокси, пара-метоксибензилоксикарбонил, паранитробензилокси-карбонил, трет-бутоксикарбонил (BOC) и т.п. Предпочтительно использовать либо BOC, либо бензилоксикарбонил (КБЗ) в качестве защитной группы для α -аминогруппы из-за относительной простоты ее удаления слабыми кислотами, например, трифторуксусной кислотой (ТФК) или соляной кислотой в этилацетате, или с помощью каталитического гидрирования.

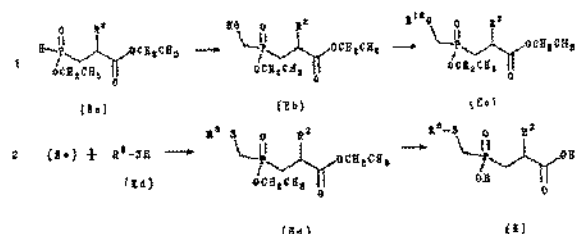
Индивидуальные стереоизомеры соединений формулы (I) можно разделять способами, известными обычным специалистам в данной области техники, например, путем селективной кристаллизации или хроматографии, и/или способами, приведенными в описании.

Комбинации заместителей и/или переменных в соединениях формулы (I) и их промежуточных продуктов допустимы только в тех случаях, если такие комбинации приводят к получению стабильных соединений.

А. Получение соединений формулы (E)

Соединения формулы (E) являются промежуточными продуктами, применяемыми для получения соединений формулы (I), и их получают в соответствии со следующей реакционной схемой 1, где R^2 и R^6 имеют значения, указанные выше в "Кратком изложении сущности изобретения", и R^{12} обозначает мезил или тозил.

Реакционная схема 1



Соединения формулы (Ea) могут быть получены в соответствии со способами, известными обычным специалистам в данной области техники (например, см. публикацию Европейского патента 0276436), или могут быть получены в соответствии со способом, описанным ниже в примере 1. Соединения формулы (Ed) являются коммерчески

доступными или могут быть получены в соответствии со способами, известными обычным специалистам в данной области техники.

Обычно соединения формулы (E) получают сначала с помощью обработки соединения формулы (Ea) параформальдегидом в апротонном растворителе, предпочтительно тетрагидрофуране и метиленхлориде при 0 - 15°C, предпочтительно при 0°C в присутствии основания, предпочтительно диизопропилэтиламина и бис(триметилсилил)ацетамида. Образовавшийся раствор доводят до 25 - 37°C, предпочтительно до 37°C, в течение 18 часов. Затем соединение формулы (Eb) выделяют с помощью стандартных способов, предпочтительно путем выпаривания растворителя, экстракции и фильтрации.

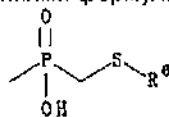
Затем соединение формулы (Eb) в апротонном растворителе, предпочтительно метиленхлориде, охлаждают до температуры от приблизительно -20° до приблизительно 0°C, предпочтительно до приблизительно -20°C. Затем соединение формулы (Ec) подвергают эстерификации путем стандартной процедуры обработки спирта с помощью от по крайней мере стехиометрического количества до приблизительно 100%-ного избытка либо мезилхлорида, либо тозилхлорида в течение определенного периода времени, предпочтительно в течение приблизительно 15 минут при -20°C, а затем в течение определенного периода времени, предпочтительно приблизительно 3,5 часов, при комнатной температуре. Затем соединение формулы (Ec) выделяют из реакционной смеси путем стандартных процедур выделения, предпочтительно путем экстракции, фильтрации и упаривания.

Затем соединение формулы (Ec) в апротонном растворителе, предпочтительно ДМФ, подвергают взаимодействию с солью соединения формулы (Ed) (предпочтительно с натриевой солью, образовавшейся в результате взаимодействия соединения формулы (Ed) с гидридом натрия в апротонном растворителе, предпочтительно ДМФ) в течение приблизительно 16 - 20 ч, предпочтительно в течение 18 ч, при начальной температуре приблизительно 0°C и медленном нагревании до комнатной температуры. Образовавшееся соединение формулы (Ee) выделяют из реакционной смеси с помощью стандартных методов выделения, таких, как экстракция, упаривание и быстрая хроматография.

Затем соединение формулы (Ee) подвергают гидролизу в щелочных условиях, предпочтительно в присутствии гидроксида натрия, для получения соединения формулы (E), которое выделяют из реакционной смеси путем стандартных методов выделения.

Б. Получение соединений формулы (1a)

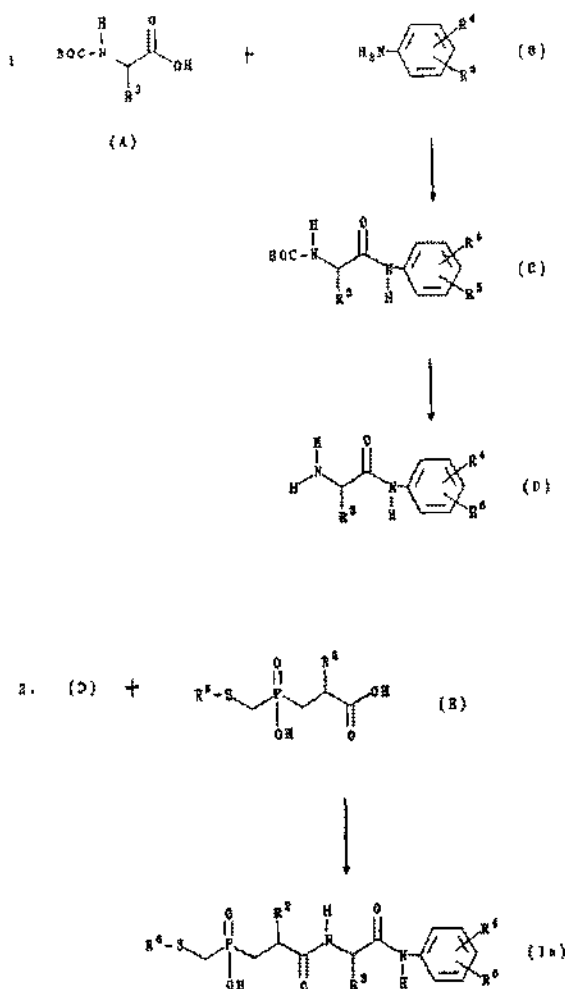
Соединения формулы (1a) являются соединениями формулы (I), в которых R^1 обозначает



где R^6 обозначает необязательно замещенный арил, причем арильная группа является хи-

нол-2-илом, нафт-1-илом, нафт-2-илом, пиридилом или фенилом, R^2 обозначает алкил, R^3 имеет значения, указанные выше в "Кратком изложении сущности изобретения", R^4 имеет значения, указанные выше в "Кратком изложении сущности изобретения", и R^5 обозначает водород. Соединения формулы (1a) получают в соответствии с приведенной ниже реакционной схемой 2, где R^2 обозначает алкил, R^3 имеет значения, указанные выше в "Кратком изложении сущности изобретения", R^4 имеет значения, указанные выше в "Кратком изложении сущности изобретения", R^5 обозначает водород, R^6 имеет значения, указанные выше, и BOC обозначает трет-бутоксикарбонил.

Реакционная схема 2



Аминокислоты с защищенным атомом азота формулы (A) и соединения формулы (B) являются коммерчески доступными или могут быть получены в соответствии со способами, известными обычным специалистам в данной области техники. Соединения формулы (E) получают, как показано выше в разделе A.

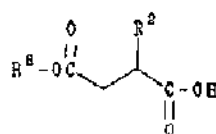
Обычно соединения формулы (1a) получают сначала путем сочетания соединения формулы (A) с соединением формулы (B) в стандартных условиях амидного сочетания, получая соедине-

ние формулы (C). Например, к холодному 0 - 5°C раствору соединения формулы (A) и избыточному молярному количеству ГОБТ в ДМФ добавляют избыточное молярное количество ЭДКИ. Образовавшийся раствор перемешивают от приблизительно 1 до приблизительно 2 часов, предпочтительно в течение приблизительно 1 часа при 0 - 5°C, предпочтительно при 0°C. Затем к холодному раствору добавляют раствор, содержащий эквивалентное количество соединения формулы (B), в присутствии основания, предпочтительно ДМАП. Образовавшуюся смесь перемешивают в течение промежутка времени от 12 до 24 часов, предпочтительно в течение 24 часов, при комнатной температуре, предпочтительно при 25°C. Затем соединение формулы (C) выделяют из реакционной смеси с помощью методов выделения, стандартных для области химии пептидов, например, путем упаривания, экстракции, хроматографии на колонке и/или ЖХВР (жидкостная хроматография высокого разрешения).

Аминозащитную группу соединения формулы (C) затем удаляют в слабых условиях, предпочтительно в присутствии трифторуксусной кислоты, получая соединение формулы (D).

Полученное таким образом соединение формулы (D) затем подвергают сочетанию с соединением формулы (E) в стандартных условиях пептидного сочетания. Например, к холодному (0 - 5°C, предпочтительно 0°C) раствору соединения формулы (D) в инертном растворителе, предпочтительно ТГФ, добавляют 1,1'-карбонилдиимидазол. Образовавшуюся смесь перемешивают в течение периода времени от 60 до 90 минут, предпочтительно в течение 75 минут, при 0 - 5°C, предпочтительно при 0°C, и затем подвергают взаимодействию с соединением формулы (E) в течение приблизительно от 12 до 17 часов, предпочтительно в течение приблизительно 15 часов. Образовавшееся соединение формулы (1a) затем выделяют из реакционной смеси с помощью методов, стандартных для химии пептидов, например, путем экстракции и ЖХВР с обращенной фазой.

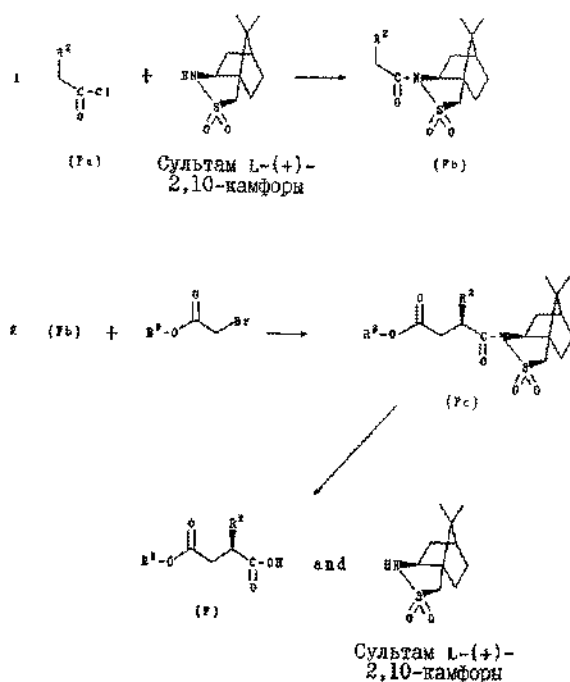
В Получение соединений формулы (F)
Соединения формулы (F)



(F)

где R^2 имеет значения, указанные выше в "Кратком изложении сущности изобретения", и R^8 обозначает трет-бутил, являются промежуточными продуктами для получения соединения формулы (1) и их получают в соответствии со следующей реакционной схемой 3, где R^2 имеет значения, указанные выше в "Кратком изложении сущности изобретения", и R^8 обозначает трет-бутил.

Реакционная схема 3



Аналогичным способом, но заменяя сульфтам D-(-)-2,10-камфоры на сульфтам L-(+)-2,10-камфоры, получали соответствующие индивидуальные стереоизомеры в (S)-конфигурации

Соединения формулы (Fa) являются коммерчески доступными или могут быть получены в соответствии со способами, известными обычным специалистам в данной области техники, например, способом, описанным ниже в примере 11. Сульфтам L-(+)-2,10-камфоры и сульфтам D-(-)-2,10-камфоры являются коммерчески доступными, например, они выпускаются фирмой Aldrich Chemical Company, Milwaukee, Wisconsin, США.

Обычно соединения формулы (F) получают сначала путем конденсации соединения формулы (Fa) с сульфтамом L-(+)-2,10-камфоры, получая соединение формулы (Fb). Используя гексаметилдисилазан натрия для образования аниона в течение 1 часа, реакцию затем останавливают смешением с охлажденным трет-бутилбромацетатом для получения соответствующего сложного эфира формулы (Q). Затем удаляют камфорную группу в щелочной среде, получая отдельный стереоизомер соединения формулы (F), где углерод, к которому присоединен заместитель R^2 , находится в (R)-конфигурации.

Г. Получение соединений формул (Ib), (Ic), (Id) и (Ie)

Соединения формулы (Ib) являются соединениями формулы (I), где R^1 обозначает алкоксикарбонил или аралкоксикарбонил, и R^2 , R^3 , R^4 и R^5 имеют значения, которые определены выше в "Кратком изложении сущности изобретения".

Соединения формулы (Ic) являются соединениями формулы (I), где R^1 обозначает карбокси, и R^2 , R^3 , R^4 и R^5 имеют значения, которые определены выше в "Кратком изложении сущности изобретения".

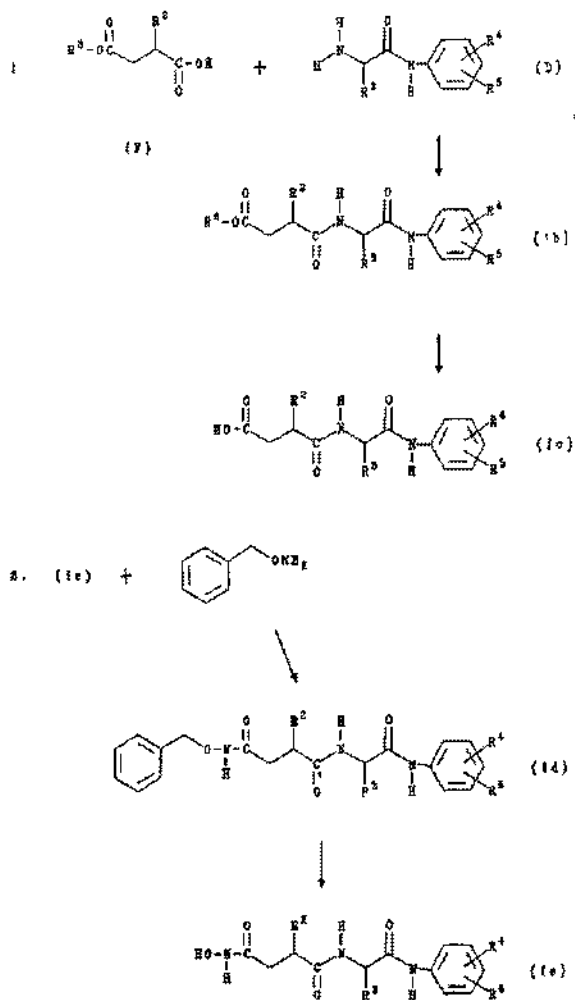
пены выше в "Кратком изложении сущности изобретения".

Соединения формулы (Id) являются соединениями формулы (I), где R^1 обозначает бензилоксикарбамоил, и R^2 , R^3 , R^4 и R^5 имеют значения, которые определены выше в "Кратком изложении сущности изобретения".

Соединения формулы (Ie) являются соединениями формулы (I), где R^1 обозначает гидроксикарбамоил, и R^2 , R^3 , R^4 и R^5 имеют значения, которые определены выше в "Кратком изложении сущности изобретения".

Соединения формул (Ib), (Ic), (Id) и (Ie) получают в соответствии со следующей реакционной схемой 4, где R^2 , R^3 , R^4 и R^5 имеют значения, которые определены выше в "Кратком изложении сущности изобретения", и R^6 обозначает трет-бутил.

Реакционная схема 4



Соединения формулы (F) получают аналогично описанному выше в разделе В. Соединения формулы (D) получают аналогично описанному выше в разделе Б. О-бензилгидроксикарбамоил является коммерчески доступным, например, в виде гидрохлоридной соли, выпускаемой фирмой Aldrich Chemical Co.

Обычно соединения формул (Ib), (Ic), (Id) и (Ie) получают сначала путем сочетания соединения формулы (F) с соединением формулы (D) в стандартных условиях амидного сочетания, получая соединение формулы (Ib). Например, к раствору соединения формулы (F) в апротонном растворителе, предпочтительно ДМФ, содержащему небольшое избыточное молярное количество ГОБТ, добавляют избыточное молярное количество ЭДКИ. Образовавшуюся смесь перемешивают в течение промежутка времени от приблизительно 1 до приблизительно 2 часов, предпочтительно в течение приблизительно 1 часа при 0 - 5°C, предпочтительно при 0°C. Затем к холодному раствору добавляют эквимолярное количество соединения формулы (D) в присутствии основания, предпочтительно ДМАП. Образовавшуюся смесь затем перемешивают в течение промежутка времени от 12 до 24 часов, предпочтительно в течение 24 часов при комнатной температуре, предпочтительно при 25°C. Затем соединение формулы (Ib) выделяют из реакционной смеси с помощью методов выделения, стандартных для химии пептидов, например, путем выпаривания растворителей, экстракции, быстрой хроматографии и/или ЖХВР.

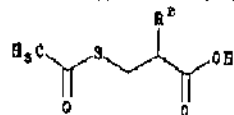
Затем соединение формулы (Ib) подвергают гидролизу в слабокислых условиях, предпочтительно в присутствии трифторуксусной кислоты, получая соединение формулы (Ic).

Полученное таким образом соединение формулы (Ic) затем обрабатывают О-бензилгидроксиламином в стандартных условиях амидного сочетания, получая соединение формулы (Id). Например, холодный (0 - 5°C) раствор соединения формулы (Ic) и ГОБТ в инертном растворителе, предпочтительно ДМФ, обрабатывают избыточным молярным количеством ЭДКИ. После перемешивания образовавшейся смеси в течение промежутка времени от приблизительно 30 минут до 1 часа при 0 - 5°C, предпочтительно при 0°C, добавляют эквимолярное количество О-бензилгидроксиламина. Реакционной смеси дают нагреться до комнатной температуры в течение ночи. Соединение формулы (Id) затем выделяют из реакционной смеси с помощью стандартных методов выделения, например, путем экстракции и быстрой хроматографии.

Гидроксизащитную группу (бензил) соединения формулы (Id) затем удаляют в условиях каталитического гидрирования (Pd/C), получая соединение формулы (Ie).

Д. Получение соединений формулы (G)

Соединения формулы (G)

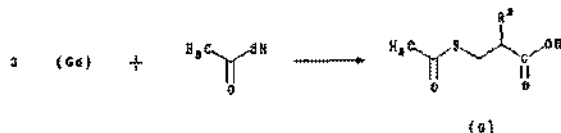
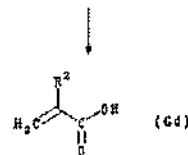
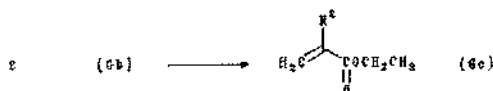
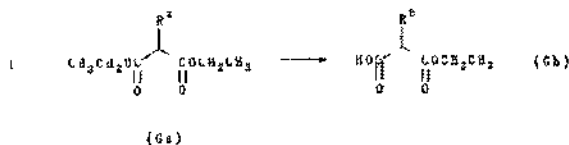


(G)

где R^2 имеет значения, указанные выше в "Кратком изложении сущности изобретения", являются промежуточными продуктами для получения соединений формулы (I) и их получают в соответствии со следующей реакционной схемой 5,

где R^2 имеет значения, указанные выше в "Кратком изложении сущности изобретения"

Реакционная схема 5



Соединения формулы (Ga) и тиюксусная кислота являются коммерчески доступными, например, они выпускаются фирмами TCI America Organic Chemicals и Aldrich Chemical Company соответственно.

Обычно соединение формулы (G) получают сначала путем гидролиза соединения формулы (Ga) эквимолярным количеством щелочи, например, гидроксида калия, получая соединение формулы (Gb). Затем соединение формулы (Gb) подвергают депротонированию в щелочных условиях, например, в присутствии триэтиламина, при 0 - 5°C, предпочтительно при 0°C, и затем подвергают взаимодействию с формальдегидом с последующей обработкой водным основанием, предпочтительно карбонатом калия, получая соединение формулы (Gc), которое выделяют из реакционной смеси с помощью стандартных способов выделения.

Затем соединение формулы (Gc) подвергают гидролизу в щелочных условиях, предпочтительно в присутствии гидроксида лития, получая соединение формулы (Gd). Соединение формулы (Gd) затем подвергают взаимодействию с избыточным молярным количеством тиюксусной кислоты при 90 - 100°C, предпочтительно при 95°C, в атмосфере инертного газа. Затем соединение формулы (G) выделяют из реакционной смеси с помощью стандартных методов выделения, например, путем экстракции и упаривания.

Е. Получение соединений формул (If) и (Ig)

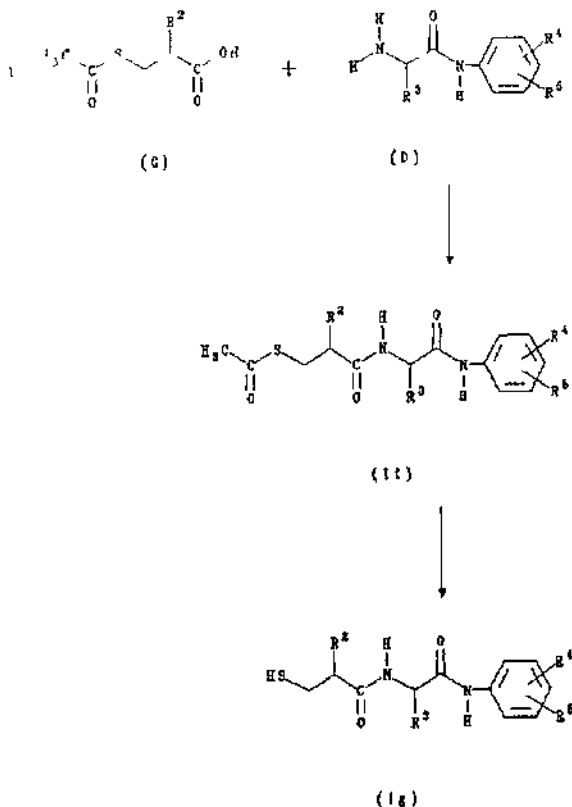
Соединения формулы (If) являются соединениями формулы (I), где R^1 обозначает ацетилтио, и R^2 , R^3 , R^4 и R^5 имеют значения, которые определены выше в "Кратком изложении сущности изобретения".

Соединения формулы (Ig) являются соединениями формулы (I), где R^1 обозначает меркапто, и R^2 , R^3 , R^4 и R^5 имеют значения, которые опреде-

лены выше в "Кратком изложении сущности изобретения"

Соединения формул (lf) и (lg) получают в соответствии со следующей реакционной схемой 6, где R^2 , R^3 , R^4 и R^5 имеют значения, которые определены выше в "Кратком изложении сущности изобретения"

Реакционная схема 6



Соединения формулы (D) получают аналогично описанному выше в разделе Б Соединения формулы (G) получают аналогично описанному выше в разделе Д

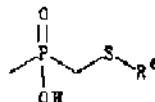
Обычно соединения формул (lf) и (lg) получают сначала путем сочетания соединения формулы (G) с соединением формулы (D) в стандартных условиях амидного сочетания, получая соединение формулы (lf). Например, к раствору соединения формулы (G) и ГОБТ в апротонном растворителе, предпочтительно ДМФ, добавляют избыточное молярное количество ЭДКИ. Образовавшуюся смесь перемешивают в течение ночи при комнатной температуре. Затем образовавшееся соединение формулы (lf) выделяют из реакционной смеси с помощью стандартных методов выделения, например, путем выпаривания растворителя, экстракции и быстрой хроматографии. Затем соединение формулы (lf) подвергают гидролизу в щелочных условиях, предпочтительно в протонном растворителе, таком, как метанол, в присутствии гидроксида аммония, получая соединение формулы (lg).

Кроме того, все соединения формулы (I), которые существуют либо в форме свободной кислоты, либо в форме свободного основания, могут быть переведены в их фармацевтически прием-

лемые соли соответственно путем обработки соответствующим неорганическим или органическим основанием или соответствующей неорганической или органической кислотой. Соли соединений формулы (I) также могут быть превращены в форму свободной кислоты или свободного основания или в другую соль.

В целом, соединения формул (la), (lb), (lc), (ld), (le), (lf) и (lg), которые все являются соединениями формулы (I), получают путем

1 взаимодействия соединения формулы (D), где R^3 и R^4 имеют значения, которые определены выше в "Кратком изложении сущности изобретения", и R обозначает водород, с соединением формулы (E), где R^6 обозначает необязательно замещенный арил, причем арильная группа может быть хинол-2-илом, нафт-1-илом, нафт-2-илом, пиридилом или фенилом, и R^2 обозначает алкил, для образования соединения формулы (1a), где R^1 обозначает



где k имеет значение, которое определено выше для соединения формулы (E), и R^2 , R^3 , R^4 и R^5 имеют значения, которые определены выше для соединений формул (D) или (E), или

2 взаимодействия соединения формулы (F), где R^2 имеет значение, которое определено выше в "Кратком изложении сущности изобретения", и R^8 обозначает алкил или бензил, с соединением формулы (D), где R^3 , R^4 и R^5 имеют значения, которые определены выше в "Кратком изложении сущности изобретения", для образования соединения формулы (lb), где R^1 обозначает алкоксикарбонил или аралкоксикарбонил, и R^2 , R^3 , R^4 , R^5 и R^8 имеют значения, которые определены выше для соединений формул (F) или (D), или

3 обработки соединения формулы (lb), где R^2 , R^3 , R^4 и R имеют значения, которые определены выше в "Кратком изложении сущности изобретения", и R^8 обозначает алкил или бензил, для образования соединения формулы (lc), где R^1 обозначает карбокси, и R^2 , R^3 , R^4 и R^5 имеют значения, которые определены выше в "Кратком изложении сущности изобретения", или

4 взаимодействия соединения формулы (lc), где R^2 , R^3 , R^4 и R^5 имеют значения, которые определены выше в "Кратком изложении сущности изобретения", с О-бензилгидроксиламином для образования соединения формулы (ld), где R^1 обозначает бензилоксикарбамоил, и R^2 , R^3 , R^4 и R^5 имеют значения, которые определены выше в "Кратком изложении сущности изобретения", или

5 обработки соединения формулы (ld), где R^2 , R^3 , R^4 и R^5 имеют значения, которые определены выше в "Кратком изложении сущности изобретения", для образования соединения формулы (le), где R^1 обозначает гидроксикарбамоил, и R^2 , R^3 , R^4 и R^5 имеют значения, которые определены выше в "Кратком изложении сущности изобретения", или

6 взаимодействия соединения формулы (G), где R^2 имеет значение, которое определено выше в "Кратком изложении сущности изобретения", с

соединением формулы (D), где R^3 , R^4 и R^5 имеют значения, которые определены выше в "Кратком изложении сущности изобретения", для образования соединения формулы (If), где R^1 обозначает ацетилтио, и R^2 , R^3 , R^4 и R^5 имеют значения, которые определены выше в "Кратком изложении сущности изобретения", или

7. обработки соединения формулы (If), где R^2 , R^3 , R^4 и R^5 имеют значения, которые определены выше в "Кратком изложении сущности изобретения", для образования соединения формулы (Ig), где R^1 обозначает меркапто, и R^2 , R^3 , R^4 и R^5 имеют значения, которые определены выше в "Кратком изложении сущности изобретения"

Нижеследующие конкретные способы и примеры получения приведены в качестве руководства для помощи при осуществлении изобретения на практике и не направлены на ограничение объема изобретения

Пример 1

Соединения формулы (Ea)

А Кристаллическую фосфиновую кислоту (8,4г, 0,13моля) перемешивали в чистом триэтилпортоформате (22мл, 0,13моля) в течение 90 минут при комнатной температуре. Затем этот продукт перемещали с помощью канюли в перемешанный раствор этилизобутилакрилата (8г, 0,036моля) и тетраметилгуанидина (4,5мл, 0,036моля), который охлаждали до 0°C в течение 10 минут. Ледяную баню удаляли и реакционную смесь перемешивали в течение 4 часов. Смесь разбавляли 200мл диэтилового эфира и раствор промывали 1Н HCl (100мл), водой (4 x 100мл), соляным раствором (100мл) и сушили над сульфатом магния. Этот продукт упаривали с помощью роторного испарителя, получая 8,15г этилового эфира 2-(этоксифосфинометил)-4-метилпентановой кислоты в виде слегка желтоватого масла, МС 349 (M-H₂O)*

Б Аналогичным способом получали следующие соединения формулы (Ea)

этиловый эфир 2-(этоксифосфинометил)-5-фенилпентановой кислоты,

этиловый эфир 2-(этоксифосфинометил)-4-фенилбутановой кислоты,

этиловый эфир 2-(этоксифосфинометил)-3-фенилпропановой кислоты,

этиловый эфир 2-(этоксифосфинометил)-3-циклогексилпропановой кислоты, и

этиловый эфир 2-((этоксифосфинометил)пентановой кислоты

Пример 2

Соединения формулы (Eb)

А Неочищенный этиловый эфир 2-(этоксифосфинометил)-4-метилпентановой кислоты (26г) растворяли в 600мл ТГФ/CH₂Cl₂ (50 / 50) и охлаждали до 0°C. К раствору добавляли этиловый эфир 2-(этоксифосфинометил)-4-фенилбутановой кислоты,

этиловый эфир 1-(этоксифосфинометил)-3-фенилпропановой кислоты,

N,N-диизопропилэтиламин (32мл) и 90,8мл бис(триметилсилил)ацетамида и образовавшуюся смесь перемешивали в течение 20 минут и затем добавляли параформальдегид (5,5г). Раствор доводили до комнатной температуры и выдерживали при 37°C в течение 18 часов. Растворитель удаляли путем выпаривания и образовавшееся масло растворяли в 200мл этилацетата. Раствор промывали 50мл 1Н HCl (2 раза), 50мл соляного раствора (2 раза), сушили над MgSO₄, фильтровали и упаривали, получая 19,3г этилового эфира 2-(этоксифосфинометил)-4-метилпентановой кислоты в виде бледно-желтого масла, МС 281,2 (МН*)

Б Аналогичным способом получали следующие соединения формулы (Eb)

этиловый эфир 2-(этоксифосфинометил)-5-фенилпентановой кислоты,

этиловый эфир 2-(этоксифосфинометил)-4-фенилбутановой кислоты,

этиловый эфир 2-(этоксифосфинометил)-3-фенилпропановой кислоты,

этиловый эфир 2-(этоксифосфинометил)-3-циклогексилпропановой кислоты, и

этиловый эфир 2-((этоксифосфинометил)пентановой кислоты

Пример 3

Соединения формулы (Ec)

А Этиловый эфир 2-(этоксифосфинометил)-4-метилпентановой кислоты (5г) растворяли в 20мл CH₂Cl₂ и охлаждали до -20°C (с дублированием). К раствору по каплям добавляли метансульфонилхлорид (1,5мл) и триэтиламин (3,0мл). Через 15 минут баню удаляли и реакционную смесь оставляли при комнатной температуре на 3,5 часа. Затем каждый раствор промывали с помощью 10мл холодной 2%-ной HCl, 10мл NaHCO₃ (насыщенного), 10мл соляного раствора, сушили с помощью MgSO₄, фильтровали и упаривали, получая 12,8г (объединенный выход) этилового эфира 2-(этоксифосфинометил)-4-метилпентановой кислоты

Б Аналогичным способом, но заменяя метансульфонилхлорид на паратолуолсульфонилхлорид, получали этиловый эфир 2-(этоксифосфинометил)-4-метилпентановой кислоты

В Аналогичным способом получали следующие соединения формулы (Ee)

этиловый эфир 2-(этоксифосфинометил)-5-фенилпентановой кислоты,

этиловый эфир 2-(этоксифосфинометил)-3-циклогексилпропановой кислоты,

этиловый эфир 2-((этоксифосфинометил)пентановой кислоты,

этиловый эфир 2-(этоксипара-
толуолсульфонилоксиметил)фосфиноилметил-5-
фенилпентановой кислоты,

этиловый эфир 2-(этоксипара-
толуолсульфонилоксиметил)фосфиноилметил-4-
фенилбутановой кислоты,

этиловый эфир 2-(этоксипара-
толуолсульфонилоксиметил)фосфиноилметил-3-фенилпропановой
кислоты,

этиловый эфир 2-(этоксипара-
толуолсульфонилоксиметил)фосфиноилметил-3-циклогексилпропановой
кислоты,

этиловый эфир 2-(этоксипара-
толуолсульфонилоксиметил)фосфиноилметилпентановой кислоты

Пример 4

Соединения формулы (Ee)

А Гидрид натрия (1,52г, (60%-ный)) и 2-
хинолиптиол (6г) перемешивали вместе при 0°C в
50мл ДМФ. После прекращения первоначального
выделения H₂ смесь перемешивали при комнат-
ной температуре в течение 2,5 часов. Затем смесь
охлаждали до 0°C и добавляли с помощью канюли
этиловый эфир 2-(этоксипара-толуолсульфонилокси-
метил)фосфиноилметил-4-метилпентановой ки-
слоты (12,8г) в 10мл ДМФ. Образовавшуюся смесь
перемешивали в течение 18 часов, медленно на-
гревая до комнатной температуры. ДМФ удаляли
путем выпаривания, остаток растворяли в 50мл
этилацетата и промывали 50мл H₂O (2 раза), со-
ляным раствором (50мл), сушили над MgSO₄ и
упаривали до желтого полутвердого продукта.
Путем очистки с помощью быстрой хроматогра-
фии с использованием для элюирования от 10%
этилацетата/гексана до 80% этилацетата/гексана
получали 10г этилового эфира 2-(этоксипара-
толуолсульфонилоксиметил)фосфиноилметил-4-
метилпентановой кислоты (R_f 0,35 для 80% этил-
ацетата/гексана), МС 424,1 (МН⁺)

Б Аналогичным способом, но заменяя 2-
хинолиптиол на 1-нафталиптиол, 2-нафталиптиол
или тиофенол, получали следующие соединения
формулы (Ee)

этиловый эфир 2-(этоксинафт-1-
илтиометил)фосфиноилметил-4-метилпентановой
кислоты,

этиловый эфир 2-(этоксинафт-2-
илтиометил)фосфиноилметил-4-метилпентановой
кислоты, и

этиловый эфир 2-(этоксифенилтиоме-
тил)фосфиноилметил-4-метилпентановой кисло-
ты

В Аналогичным способом получали следую-
щие соединения формулы (Ee)

этиловый эфир 2-(этоксихинолин-2-
илтиометил)фосфиноилметил-5-
фенилпентановой кислоты,

этиловый эфир 2-(этоксихинолин-2-
илтиометил)фосфиноилметил-4-фенилбутановой
кислоты,

этиловый эфир 2-(этоксихинолин-2-
илтиометил)фосфиноилметил-3-
фенилпропановой кислоты,

этиловый эфир 2-(этоксихинолин-2-
илтиометил)фосфиноилметил-3-
циклогексилпропановой кислоты,

этиловый эфир 2-(этоксихинолин-2-
илтиометил)фосфиноилметилпентановой кисло-
ты,

этиловый эфир 2-(этоксинафт-1-
илтиометил)фосфиноилметил-5-
фенилпентановой кислоты,

этиловый эфир 2-(этоксинафт-1-
илтиометил)фосфиноилметил-4-фенилбутановой
кислоты,

этиловый эфир 2-(этоксинафт-1-
илтиометил)фосфиноилметил-3-
фенилпропановой кислоты,

этиловый эфир 2-(этоксинафт-1-
илтиометил)фосфиноилметил-3-
циклогексилпропановой кислоты,

этиловый эфир 2-(этоксинафт-1-
илтиометил)фосфиноилметилпентановой кисло-
ты,

этиловый эфир 2-(этоксинафт-2-
илтиометил)фосфиноилметил-5-
фенилпентановой кислоты,

этиловый эфир 2-(этоксинафт-2-
илтиометил)фосфиноилметил-4-фенилбутановой
кислоты,

этиловый эфир 2-(этоксинафт-2-
илтиометил)фосфиноилметил-3-
фенилпропановой кислоты,

этиловый эфир 2-(этоксинафт-2-
илтиометил)фосфиноилметил-3-
циклогексилпропановой кислоты,

этиловый эфир 2-(этоксинафт-2-
илтиометил)фосфиноилметилпентановой кисло-
ты,

этиловый эфир 2-(этоксифенилтиоме-
тил)фосфиноилметил-5-фенилпентановой кисло-
ты,

этиловый эфир 2-(этоксифенилтиоме-
тил)фосфиноилметил-4-фенилбутановой кислоты,

этиловый эфир 2-(этоксифенилтиоме-
тил)фосфиноилметил-3-фенилпропановой кисло-
ты,

этиловый эфир 2-(этоксифенилтиоме-
тил)фосфиноилметил-3-циклогексилпропановой
кислоты, и

этиловый эфир 2-(этоксифенилтиоме-
тил)фосфиноилметилпентановой кислоты

Пример 5

Соединения формулы (E)

А Этиловый эфир 2-(этоксихинолин-2-
илтиометил)фосфиноилметил-4-метилпентановой
кислоты (4,5г) растворяли в 100мл ТГФ и добав-
ляли 12,5мл 2N NaOH вместе с метанолом в ко-
личестве, достаточном для получения гомогенного
раствора. Через 18 часов ТГФ удаляли путем вы-
паривания, остаток растворяли в 50мл H₂O и про-
мывали 50мл этилацетата. Затем водную фазу
подкисляли до pH 4 и продукт экстрагировали
50мл этилацетата (2 раза). Этилацетатную фрак-
цию промывали 20мл соляного раствора, сушили
с помощью MgSO₄ и упаривали, получая 3,8г 2-
(гидроксифенилтиометил)фосфиноилметил-4-метилпентановой кислоты (хинолин-2-
(гидроксифенилтиометил)фосфиноилметил-4-метилпентановой кислоты)

илтиометил)фосфинометил-4-метилпентановой кислоты в виде желтого масла, МС 368 (МН⁺)

Б Аналогичным способом получали следующие соединения формулы (Е)

2-(гидрокси) (нафт-1-илтиометил)фосфинометил-4-метилпентановую кислоту,

2-(гидрокси) (нафт-2-илтиометил)фосфинометил-4-метилпентановую кислоту, и

2-(гидрокси) (фенилтиометил)фосфинометил-4-метилпентановую кислоту

В Аналогичным способом получали следующие соединения формулы (Е)

2-(гидрокси) (хинолин-2-илтиометил)фосфинометил-5-фенилпентановую кислоту,

2-(гидрокси) (хинолин-2-илтиометил)фосфинометил-4-фенилбутановую кислоту,

2-(гидрокси) (хинолин-2-илтиометил)фосфинометил-3-фенилпропановую кислоту,

2-(гидрокси) (хинолин-2-илтиометил)фосфинометил-3-циклогексилпропановую кислоту,

2-((гидрокси) (хинолин-2-илтиометил)фосфинометил)пентановую кислоту,

2-(гидрокси) (нафт-1-илтиометил)фосфинометил-5-фенилпентановую кислоту,

2-(гидрокси) (нафт-1-илтиометил)фосфинометил-4-фенилбутановую кислоту,

2-(гидрокси) (нафт-1-илтиометил)фосфинометил-3-фенилпропановую кислоту,

2-(гидрокси) (нафт-1-илтиометил)фосфинометил-3-циклогексилпропановую кислоту,

2-((гидрокси) (нафт-1-илтиометил)фосфинометил)пентановую кислоту,

2-(гидрокси) (нафт-2-илтиометил)фосфинометил-5-фенилпентановую кислоту,

2-(гидрокси) (нафт-2-илтиометил)фосфинометил-4-фенилбутановую кислоту,

2-(гидрокси) (нафт-2-илтиометил)фосфинометил-3-фенилпропановую кислоту,

2-(гидрокси) (нафт-2-илтиометил)фосфинометил-3-циклогексилпропановую кислоту,

2-((гидрокси) (нафт-2-илтиометил)фосфинометил)пентановую кислоту,

2-(гидрокси) (фенилтиометил)фосфинометил-5-фенилпентановую кислоту,

2-(гидрокси) (фенилтиометил)фосфинометил-4-фенилбутановую кислоту,

2-(гидрокси) (фенилтиометил)фосфинометил-3-фенилпропановую кислоту,

2-(гидрокси) (фенилтиометил)фосфинометил-3-циклогексилпропановую кислоту, и

2-((гидрокси) (фенилтиометил)фосфинометил)пентановую кислоту

Пример 6

Разделение соединения формулы (Е)

2-(гидрокси) (хинолин-2-илтиометил)фосфинометил-4-метилпентановую кислоту (5,3г) растворяли в 50мл теплого этанола (абсолютного) и добавляли 4,2г(-)-цинхонидина. Спустя 30 минут при комнатной температуре начинала осажаться соль. Колбу покрывали фольгой и выдерживали в течение 2 дней. Затем соль удаляли путем фильтрации под вакуумом и фильтрат упаривали до желтой пены. Соль и фильтрат по отдельности растворяли в 100мл этилацетата и промывали последовательно 1%-ной HCl для удаления цинхонидина, поддерживая при этом значение pH выше 4. Оба раствора сушили по отдельности над MgSO₄ и упаривали, получая 2,4г отдельного стереоизомера [α]_D²⁴ = +10,68° (9,73мг в метаноле (2мл)) и 2,5г другого отдельного стереоизомера [α]_D²⁴ = -8,70° (9,88мг в метаноле (2мл))

Пример 7

Соединения формулы (В)

А К холодной (0°C) суспензии 4-ацетамидобензолсульфонилхлорида (4,0г, 17ммоль) в CH₂Cl₂ (40мл) добавляли пиридин (1,7мл, 20ммоль) и ДМАП (209мг, 1,7ммоль). В результате образовывался прозрачный раствор. Безводный метиламин барботировали в растворе в течение 1 часа при 0°C, а затем раствору оставляли для перемешивания при 25°C в течение 2 часов. Раствор экстрагировали 1М NaOH (3 x 15мл) и объединенные экстракты доводили до pH 6 при 0°C с помощью 3М HCl. Продукт, который осаждался в виде пушистых белых кристаллов, фильтровали и промывали холодной водой, получая 3,2г (82%) 4-ацетамидо-N-метилбензолсульфонамида, ¹H-ЯМР (300МГц, MeOH) δ 2,35 (s, 3H), 2,70 (s, 3H), 7,96 (s, 4H)

Б Смесь 4-ацетамидо-N-метилбензолсульфонамида (3,2г, 14ммоль) и 100мл 1М HCl нагревали с обратным холодильником в атмосфере аргона в течение 3 часов. После охлаждения до 25°C добавляли CH₂Cl₂ (10мл) и водную фазу нейтрализовали с помощью 1М NaOH при 0°C. Водную фазу отделяли и экстрагировали CH₂Cl₂ (2 x 25мл). Объединенные органические фазы промывали соляным раствором (10мл), сушили (Na₂SO₄) и концентрировали, получая 1,5г (58%) соединения формулы (В), где R⁴ обозначает N-метилсульфонамид в виде бесцветного твердого продукта, ¹H-ЯМР (300МГц, MeOH) δ 2,46 (s, 3H), 6,67 - 6,72 (AA' часть от AA'XX', 2H), 7,48 - 7,52 (XX' часть от AA'X', 2H)

Пример 8

Соединения формулы (С)

А К холодному (0°C) раствору N-трет-бутоксикарбонил-L-лейцина (1,4г, 6,3ммоль) и ГОБТ (1,5г, 9,8ммоль) в ДМФ (30мл) добавляли порциями ЭДКИ (2,5г, 14ммоль) Раствор, образовавшийся после перемешивания в течение 1 часа при 0°C, обрабатывали метил-4-аминобензоатом (1,09мл, 6,8ммоль) и ДМАП (0,32г, 2,6ммоль) После перемешивания в течение 24 часов при 25°C ДМФ удаляли под вакуумом Остаток растворяли в CH_2Cl_2 и промывали насыщенным раствором NaHCO_3 , 1М HCl (дважды) и соляным раствором После сушки над Na_2SO_4 и концентрирования под вакуумом получали неочищенный продукт, который очищали с помощью быстрой хроматографии на SiO_2 (20%-ный этилацетат/гексан в качестве растворителя для элюирования) В результате получали 1,0г (85%) N-трет-бутоксикарбонил-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид в виде вспененного твердого вещества, МС (БТЯ) 363 (М-Н)

Б Аналогичным способом получали следующие соединения формулы (С)

N-трет-бутоксикарбонил-L-триптофан-N'-фенилметилкарбоксамид,

N-трет-бутоксикарбонил-L-триптофан-N'-фенилкарбоксамид,

N-трет-бутоксикарбонил-L-триптофан-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-трет-бутоксикарбонил-L-триптофан-N'-(4-этоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-трет-бутоксикарбонил-L-лейцин-N'-(4-(N'-метиламиносульфонил)фенил)карбоксамид,

N-трет-бутоксикарбонил-L-аланин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-трет-бутоксикарбонил-L-метионин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-трет-бутоксикарбонил-L-лейцин-N'-(3-этоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-трет-бутоксикарбонил-L-лейцин-N'-(2-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-трет-бутоксикарбонил-L-лейцин-N'-(4-(1-метилэтилоксикарбонил)фенил)карбоксамид,

N-трет-бутоксикарбонил-L-лейцин-N'-(аминоссульфонилфенил)карбоксамид,

N-трет-бутоксикарбонил-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилметилфенил)карбоксамид,

N-трет-бутоксикарбонил-L-пиридин-3-илаланин-N'-(4-

метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-трет-бутоксикарбонил-L-циклогексилглицин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-трет-бутоксикарбонил-L-изолейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-трет-бутоксикарбонил-L-О-бензилтреонин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-трет-бутоксикарбонил-L-трет-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-трет-бутоксикарбонил-L-лейцин-N'-(4-цианфенил)карбоксамид,

N-трет-бутоксикарбонил-L-лейцин-N'-(4-(N'-(2-диметиламиноэтил)карбамоил)фенил)карбоксамид, и

N-трет-бутоксикарбонил-L-лейцин-N'-(4-N''-(3-диметиламинопро-

пил)карбамоил)фенил)карбоксамид

В Аналогичным способом получали следующие соединения формулы (С)

N-трет-бутоксикарбонил-L-триптофан-N'-(4-нитрофенил)карбоксамид,

N-трет-бутоксикарбонил-L-триптофан-N'-(4-аминофенил)карбоксамид,

N-трет-бутоксикарбонил-L-лейцин-N'-(4-метилсульфонилфенил)карбоксамид,

N-трет-бутоксикарбонил-L-лейцин-N'-(4-этилсульфонилфенил)карбоксамид, и

N-трет-бутоксикарбонил-L-лейцин-N'-(4-тетразолилфенил)карбоксамид

Пример 9

Соединения формулы (D)

А К холодному (0°C) раствору N-трет-бутоксикарбонил-L-лейцин-N'-фенилкарбоксида (3,4г, 11ммоль) в безводном CH_2Cl_2 (10мл) добавляли ТФК (2мл) Раствор оставляли для перемешивания при 25°C в течение 6 часов и затем концентрировали под вакуумом Остаток распределяли между CH_2Cl_2 и H_2O и водный слой подщелачивали насыщенным раствором K_2CO_3 при 0°C Органическую фазу отделяли и водный слой экстрагировали трижды CH_2Cl_2 Объединенные органические слои промывали соляным раствором и сушили над Na_2SO_4 Путем концентрирования получали L-лейцин-N'-фенилкарбоксамид

Б Аналогичным способом получали следующие соединения

L-лейцин-N'-(4-

метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

L-триптофан-N'-фенилметилкарбоксамид,

L-триптофан-N'-фенилкарбоксамид,

L-триптофан-N'-(4-

метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

L-триптофан-N'-(4-

этоксикарбонилфенил)карбоксамид,

L-лейцин-N'-(4-(N''-метиламиносульфонил)фенил)карбоксамид,

L-аланин-N'-(4-

метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

L-метионин-N'-(4-

метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

L-лейцин-N'-(3-

этоксикарбонилфенил)карбоксамид,

L-лейцин-N'-(2-

метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

L-лейцин-N'-(4-(1-

метилэтилоксикарбонил)фенил)карбоксамид,

L-лейцин-N'-(

(аминоссульфонилфенил)карбоксамид,

L-лейцин-N'-(4-

метоксикарбонилметилфенил)карбоксамид,

L-пиридин-3-илаланин-N'-(4-

метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

L-спироциклопентилглицин-N'-(4-

метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

L-циклогексилглицин-N'-(4-

метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

L-изолейцин-N'-(4-

метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

L-О-бензилтреонин-N'-(4-

метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

L-трет-лейцин-N'-(4-

метоксикарбонилфенил)карбоксамид,
L-лейцин-N'-(4-цианфенил)карбоксамид,
L-лейцин-N'-(4-N''-(2-

диметиламино-
этил)карбамоил)фенил)карбоксамид, и
L-лейцин-N'-(4-(N''-(3-

диметиламинопро-
пил)карбамоил)фенил)карбоксамид

В Аналогичным способом получали следующие соединения формулы (D)

L-триптофан-N'-(4-нитрофенил)карбоксамид,
L-триптофан-N'-(4-аминофенил)карбоксамид,
L-лейцин-N'-(4-

метилсульфонилфенил)карбоксамид,
L-лейцин-N'-(4-

этилсульфонилфенил)карбоксамид, и
L-лейцин-N'-(4-

тетразолилфенил)карбоксамид

Пример 10

Соединения формулы (1a)

А К холодному (0°C) раствору 2-(гидроксиди)инолин-2-илтиометил)фосфиноилметил-4-метилпентановой кислоты (0,20г, 0,54ммоль) в ТГФ (6мл) добавляли 1,1'-карбонилдиимидазол (0,12г, 0,7ммоль). Смесь перемешивали в течение 75 минут при 0°C и затем обрабатывали L-триптофан-N'-(4-этоксикарбонилфенил)карбоксамидом (0,22г, 0,62ммоль) и перемешивали при 25° С в течение 15 часов. Выпаривали ТГФ и остаток растворяли в этилацетате (60мл). Раствор промывали H₂O (10мл), соляным раствором (10мл) и сушили над MgSO₄. Путем концентрирования с помощью ЖХВР с обращенной фазой с использованием градиента ацетонитрила и 50мм буфера NH₄OAc получали 30мг N-(2-(гидроксиди)инолин-2-илтиометил)фосфиноилметил-4-метилпентаноил)-L-триптофан-N'-(4-этоксикарбонилфенил)карбоксамид в виде белого твердого вещества, МС (БТЯ) 701 (М-Н)⁺ (смесь диастереомеров)

Б Аналогичным способом получали следующие соединения формулы (1a)

N-(2-(гидроксиди)инолин-2-илтиометил)фосфиноилметил-4-метилпентаноил)-L-триптофан-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, МС (БТЯ) 687 (М + Н)⁺,

N-(2-(гидроксиди)инолин-2-илтиометил)фосфиноилметил-4-метилпентаноил)-L-аланин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, МС (БТЯ) 572 (М + Н)⁺,

N-(2-(гидроксиди)инолин-2-илтиометил)фосфиноилметил-4-метилпентаноил)-L-метионин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, МС (БТЯ) 632 (М + Н)⁺, соединение 1,

N-(2-(гидроксиди)инолин-2-илтиометил)фосфиноилметил-4-метилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, МС (БТЯ) 614 (М + Н)⁺,

N-(2-(гидроксиди)инолин-2-илтиометил)фосфиноилметил-4-метилпентаноил)-

L-лейцин-N'-(3-

этоксикарбонилфенил)карбоксамид, ¹H-ЯМР (300МГц, MeOH) δ 0,73 - 1,01 (m, 12H), 1,28 - 2,00 (m, 14H), 2,4 - 3,61 (m, 2H), 4,27 - 4,45 (m, 3H), 7,23 - 7,44 (m, 3H), 7,65 - 7,98 (m, 6H), 8,29 (s, 0,5H), 8,50 (s, 0,5H),

N-(2-(гидроксиди)инолин-2-илтиометил)фосфиноилметил-4-метилпентаноил)-L-лейцин-N'-(2-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, ¹H-ЯМР (300МГц, MeOH) δ 0,78 - 0,99 (m, 13H), 1,3 - 2,4 (m, 7H), 2,90 - 3,05 (m, 1H), 3,5 - 3,75 (m, 2H), 3,89, 3,90, 3,94 (3s, 3H полн.), 4,35 - 3,50 (m, 1H), 7,05 - 8,10 (m, 11H), 8,32, 8,55, 8,60 (3d, J = 8,7, 1H

N-(2-(гидроксиди)инолин-2-илтиометил)фосфиноилметил-4-метилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-(1,1-диметилэтоксикарбонил)фенил)карбоксамид, МС (БТЯ) 642 (МН)⁺,

N-(2-(гидроксиди)инолин-2-илтиометил)фосфиноилметил-4-метилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-аминсульфонилфенил)карбоксамид, ¹H-ЯМР (300МГц, MeOH) δ 0,76 (d, J = 6,5, 3H), 0,81 (d, J = 6,5, 3H), 0,85 - 1,1 (m, 7H), 1,2 - 2,1 (m, 7H), 2,92 - 2,95 (m, 1H), 3,45 - 3,70 (m, 2H), 4,35 - 4,45 (m, 1H), 7,28 (d, J = 8,7, 1H), 7,45 (t, J = 8,7, 1H), 7,68 (t, J = 8,7, 1H), 7,7 - 7,8 (m, 3H), 7,87 (d, J = 8,7, 1H), 7,95 - 8,1 (m, 3H),

N-(2-(гидроксиди)инолин-2-илтиометил)фосфиноилметил-4-метилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилметилфенил)карбоксамид, МС (БТЯ) 628 (МН)⁺

В Аналогичным способом получали следующие соединения формулы (1a)

N-(2-(гидроксиди)инолин-2-илтиометил)фосфиноилметил-5-фенилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(2-(гидроксиди)инолин-2-илтиометил)фосфиноилметил-4-фенилбутаноил)-L-лейцин-N'-(4-

метоксикарбонилфенил)карбоксамид, (хинолин-2-илтиометил)фосфиноилметил-3-фенилпропаноил)-L-лейцин-N'-(4-

метоксикарбонилфенил)карбоксамид, (хинолин-2-илтиометил)фосфиноилметил-3-циклогексилпропаноил)-L-лейцин-N'-(4-

метоксикарбонилфенил)карбоксамид, (хинолин-2-илтиометил)фосфиноилметил)пентаноил)-L-

лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(2-(гидроксиди)инолин-2-илтиометил)фосфиноилметил-5-фенилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-

метоксикарбонилфенил)карбоксамид, (нафт-1-илтиометил)фосфиноилметил-4-фенилбутаноил)-

L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, (нафт-1-

N-(2-(гидроксиди)инолин-2-илтиометил)фосфиноилметил-4-метилпентаноил)-

илтиометил)фосфиноилметил-3-фенилпропаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, N-(2-(гидроксид) (нафт-1-илтиометил)фосфиноилметил-3-циклогексилпропаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, N-(2-(гидроксид) (нафт-1-илтиометил)фосфиноилметил)пентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, N-(2-(гидроксид) (нафт-2-илшометил)фосфиноилметел-5-фенилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, N-(2-(гидроксид) (нафт-2-илтиометил)фосфиноилметил-4-фенилбутаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, N-(2-(гидроксид) (нафт-2-илтиометил)фосфиноилметил-3-фенилпропаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, N-(2-(гидроксид) (нафт-2-илтиометил)фосфиноилметил-3-циклогексилпропаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, N-(2-(гидроксид) (нафт-2-илтиометил)фосфиноилметил)пентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, N-(2-(гидроксид) (фенилтиометил)фосфиноилметил-5-фенилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, N-(2-(гидроксид) (фенилтиометил)фосфиноилметил-4-фенилбутаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, N-(2-(гидроксид) (фенилтиометил)фосфиноилметил-3-фенилпропаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, N-(2-(гидроксид) (фенилтиометил)фосфиноилметил-3-циклогексилпропаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, и N-(2-(гидроксид) (фенилтиометил)фосфиноилметил)пентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид

Г Раствор N-(2-(гидроксид) (хинолин-2-илтиометил)фосфиноилметил-4-метилпентаноил)-L-триптофан-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид в ТГФ (2мл) и 1М NaOH (1мл) перемешивали в течение 24 часов при 25°C Органические растворители выпаривали и остаток растворяли в этилацетате/H₂O Водную фазу подкисляли с помощью 1М HCl и отделенную водную фазу экстрагировали дважды этилацетатом Объединенные органические слои промывали соляным раствором, сушили (MgSO₄) и концентрировали до получения 27мг N-(2-(гидроксид) (хинолин-2-илтиометил)фосфиноилметил-4-метилпентаноил)-L-триптофан-N'-(4-карбоксифенил)карбоксамид в

виде желтого порошка

Д Аналогичным способом, но используя в качестве исходного материала N-(2-(гидроксид) (хинолин-2-илтиометил)фосфиноилметил-4-метилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид (30мг, 0,048ммоль), после растирания с этилацетатом получали 10мг N-(2-(гидроксид) (хинолин-2-илтиометил)фосфиноилметил-4-метилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-карбоксифенил)карбоксамид в виде полутвердого продукта, ¹H-ЯМР (300МГц, MeOH) δ 0,81 - 1,02 (m, 12H), 1,1 - 2,3 (m, 10H), 2,82 - 3,00 (m, 1H), 3,49, 3,56, (2s, 2H), 3,53 - 3,8 (m, 2H), 4,45 - 4,55 (m, 1H), 7,09 (d, J = 8,2, 1H), 7,19 (d, J = 8,2, 1H), 7,45 (t, J = 8,2, 1H), 7,45 - 7,6 (m, 3H), 7,65 - 7,80 (m, 1H), 7,82 - 7,98 (m, 2H), 8,10 - 8,20 (m, 1H)

Пример 11

Соединения формулы (Fa)

А К метилпентановой кислоте (25г, 0,215ммоль) в водяной бане при 25°C медленно добавляли тионилхлорид (20,4мл, 1,3г) Смесь нагревали до 50°C в атмосфере аргона в течение 3 часов (пока не прекращалось выделение газа) Неочищенную реакционную смесь перегоняли при атмосферном давлении, получая 4-метилпентаноилхлорид (25,3г, 87,3%), температура кипения 143°C

Б Аналогичным способом, но заменяя 4-метилпентановую кислоту на 5-фенилпентановую кислоту (5г), получали 5-фенилпентаноилхлорид (4,4г) в виде бесцветной жидкости, температура кипения 91 - 93°C

Пример 12

Соединения формулы (Fb)

А К суспензии 60%-ого NaH (838мг, 1,5экв) в толуоле (200мл) при комнатной температуре в атмосфере аргона добавляли порциями сультам L-(+)-2,10-камфоры (3,0г, 3,9ммоль) Смесь интенсивно перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа Затем к раствору осторожно по каплям добавляли при 0°C 4-метилпентаноилхлорид После перемешивания реакционной смеси при комнатной температуре в течение 3 часов реакцию останавливали смешением с 10мл охлажденной воды и добавляли 70мл простого эфира Реакционную смесь промывали сначала 0,5Н HCl (2 x 50мл), далее 5%-ным K₂CO₃ (3 x 50мл) и в завершение соляным раствором (1 x 50мл)

Органический слой сушили над MgSO₄, фильтровали и упаривали досуха Путем очистки с помощью хроматографии на колонках (16 этилацетат/петролейный эфир в качестве растворителя для элюирования) получали сультам N-4-метилпентаноил-L-(+)-2,10-камфоры (3,39г, 78%)

Б Аналогичным способом, но заменяя 4-метилпентаноилхлорид соответствующим хлоридом, получали следующие соединения формулы (Fb)

сультам N-3-фенилпропаноил-L-(+)-2,10-камфоры, МС 347 (M⁺),

сультам N-5-фенилпентаноил-L-(+)-2,10-камфоры, МС 375 M⁺,

сультам N-пентаноил-L-(+)-2,10-камфоры, МС

300 (M + H)⁺

Пример 13

Соединения формулы (Fc)

А К раствору сультама N-4-метилпентаноил-L-(+)-2,10-камфоры (3,39г, 10,8ммоль) в 75мл безводного ТГФ при -78°C в атмосфере аргона добавляли по каплям в течение 5 минут NaN(тетраметилсилан)₂ (1,0М в ТГФ, 11,34мл, 1,05экв.) После перемешивания при -78°C в течение 1 часа к смеси добавляли гексаметилфосфорамид (5мл), далее трет-бутилбромацетат (5,2мл, 3экв.), а затем в виде одной порции добавляли 400мг тетра-н-бутиламмонийиодида. Образовавшийся раствор выдерживали при -78°C в атмосфере аргона в течение ночи. На следующее утро реакцию останавливали смешением с водой (100мл) и затем экстрагировали эфиром (3 x 100мл). Объединенные эфирные слои промывали соляным раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Путем очистки с помощью хроматографии на колонках (от 5 95 до 10 90 этилацетат/петролейный эфир в качестве растворителя для элюирования) получали сультам N-(4-метил-2-трет-бутоксикарбонилметил)пентаноил-L-(+)-2,10-камфоры (4,0г, 86,5%)

Б Аналогичным способом, но заменяя сультам N-4-метилпентаноил-L-(+)-2,10-камфоры соответствующим соединением формулы (Fb), получали следующие соединения формулы (Fc)

сультам N-(3-фенил-2-трет-бутоксикарбонилметил)пропаноил-L-(+)-2,10-камфоры, МС 461 (M⁺),

сультам N-(5-фенил-2-трет-бутоксикарбонилметил)пентаноил-L-(+)-2,10-камфоры, МС 490,1 (M + H)⁺,

сультам N-(2-трет-бутоксикарбонилметил)пентаноил-L-(+)-2,10-камфоры, МС 414 (M + H)⁺

Пример 14

Соединения формулы (F)

А К перемешанному раствору сультама N-(4-метил-2-трет-бутоксикарбонилметил)пентаноил-L-(+)-2,10-камфоры (5,45г, 12,7ммоль) в 50%-ном водном ТГФ (150мл) при 0°C в атмосфере аргона добавляли кристаллы LiOH · H₂O (2,14г, 4экв.), а затем 30%-ную H₂O₂ (11,5мл). Ледяную баню удаляли и образовавшуюся эмульсию перемешивали в течение 3 часов, пока она не становилась прозрачной. Большую часть ТГФ удаляли при пониженном давлении при 35°C. Добавляли CH₂Cl₂ (150мл), а затем при перемешивании добавляли 4N HCl до pH = 2. После добавления NaCl водный слой экстрагировали CH₂Cl₂ (3 x 150мл). Удаляли CH₂Cl₂ при пониженном давлении при 35°C. Остаток растворяли в этилацетате (150мл). Затем этот раствор экстрагировали 5%-ным K₂CO₃ (3 x 50мл) и объединенные экстракты промывали эфиром (50мл). К водному слою добавляли CH₂Cl₂ и затем при перемешивании NaCl. Водный слой экстрагировали CH₂Cl₂ (3 x 70мл) и затем объединенные экстракты сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали, получая (2R)-4-метил-2-трет-бутоксикарбонилметилпентановую кислоту в виде бесцветного масла (2,95г, количественный выход)

Б Аналогичным способом, но заменяя сультам N-(4-метил-2-трет-

бутоксикарбонилметил)пентаноил-L-(+)-2,10-камфоры соответствующим соединением формулы (Fc), получали следующие соединения формулы (F)

(2R)-3-фенил-2-трет-бутоксикарбонилметилпропановую кислоту, МС 265 (M + H)⁺,

(2R)-5-фенил-2-трет-бутоксикарбонилметилпентановую кислоту, МС 293,1 (M + H)⁺,

(2R)-2-трет-бутоксикарбонилметилпентановую кислоту (бесцветное масло, 1,09г)

В (2R)-3-фенил-2-трет-бутоксикарбонилметилпропановую кислоту (55мг) растворяли в ледяной уксусной кислоте (20мл) и добавляли PtO₂ (25мг) в уксусной кислоте. Химический стакан помещали в сосуд высокого давления Парра, откачивали воздух и подавали H₂ при давлении 100фунт/кв дюйм. После перемешивания в течение 3 дней смесь фильтровали под вакуумом через слой целита 1см. Затем фильтрат концентрировали, получая (2R)-3-циклогексил-2-трет-бутоксикарбонилметилпропановую кислоту (56мг) в виде желтого масла, МС 269,5 (M - H)

Пример 15

Соединения формулы (Ib)

А К раствору 4-метил-2-трет-бутоксикарбонилметилпентановой кислоты (0,2 г, 1,2ммоль) в ДМФ (5мл), содержащему ГОВТ (0,22г, 1,8ммоль), добавляли ЭДКИ (0,31г, 1,8ммоль). Смесь перемешивали при 0°C в течение 1 часа и затем обрабатывали L-циклогексилпицин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамидом (1,2ммоль) и ДМАП (27мг, 0,24ммоль). Перемешивание проводили в течение 24 часов при 25°C и затем выпаривали ДМФ. Остаток растворяли в CH₂Cl₂ (20мл) и раствор промывали 1M HCl (10мл), насыщенным NaHCO₃ (10мл), соляным раствором (10мл) и сушили над Na₂SO₄. После концентрирования под вакуумом получали масло, которое очищали с помощью быстрой хроматографии на SiO₂, используя в качестве растворителя для элюирования 20%-ный этилацетат/гексаны. Таким образом получали 0,22г (22%) N-(4-метил-2-трет-бутоксикарбонилметилпентаноил)-L-циклогексилпицин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамида в виде твердого продукта, МС (БТЯ) 503 (MН)⁺

Б Аналогичным образом получали следующие соединения

N-(4-метил-2-трет-бутоксикарбонилметилпентаноил)-L-пиридин-3-илапанин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамида,

N-(4-метил-2-трет-бутоксикарбонилметилпентаноил)-L-O-бензилтреонин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамида,

N-(4-метил-2-трет-бутоксикарбонилметилпентаноил)-L-изолейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамида,

N-(4-метил-2-трет-

бутоксикарбонилметилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(4-метил-2-трет-

бутоксикарбонилметилпентаноил)-L-трет-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(4-метил-2-трет-

бутоксикарбонилметилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-цианфенил)карбоксамид,

N-(4-метил-2-трет-

бутоксикарбонилметилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-(N''-(3-

диметиламинопропил)карбамоил)фенил)карбоксамид,

N-(4-метил-2-трет-

бутоксикарбонилметилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-(N''-(2-

диметиламиноэтил)карбамоил)фенил)карбоксамид,

N-(4-метил-2-трет-

бутоксикарбонилметилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-аминосульфонилафенил)карбоксамид,

N-(4-метил-2-трет-

бутоксикарбонилметилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метиламиносульфонилафенил)карбоксамид,

N-(2-трет-бутоксикарбонилметилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(3-фенил-2-трет-

бутоксикарбонилметилпропаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(3-циклогексил-2-трет-

бутоксикарбонилметилпропаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(4-фенил-2-трет-

бутоксикарбонилметилбутаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, и

N-(5-фенил-2-трет-

бутоксикарбонилметилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид

Пример 16

Соединения формулы (Ic)

А К холодному раствору (0°C) N-(4-метил-2-трет-бутоксикарбонилметилпентаноил)-L-

циклогексилпицин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид (70мг, 0,14ммоль) в CH₂Cl₂ (2мл) добавляли ТФК (0,5мл)

После перемешивания в течение 5 часов при 25°C раствор концентрировали под вакуумом и продукт очищали с помощью ЖХВР с обращенной фазой, используя градиент ацетонитрила и 50мм NH₄OAc-буфер, получая 44мг (71%) N-(4-метил-2-карбоксиметилпентаноил)-L-циклогексилпицин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид в виде белого твердого продукта, МС (БТЯ) 445 (М - Н)

Б Аналогичным образом получали следующие соединения

N-(4-метил-2-карбоксиметилпентаноил)-L-изолейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, МС (БТЯ) 419 (М - Н),

N-(4-метил-2-карбоксиметилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, МС (БТЯ) 419 (М - Н),

N-(4-метил-2-карбоксиметилпентаноил)-L-

трет-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(4-метил-2-карбоксиметилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-цианфенил)карбоксамид, ¹H-ЯМР (300МГц, MeOH) δ 0,84 - 0,99 (m, 12H), 1,15 - 1,82 (m, 6H), 2,36 - 2,41 (m, 1H), 2,52 - 2,65 (m, 1H), 2,8 - 2,95 (m, 1H), 4,49 - 4,54 (m, 1H), 7,4 - 7,9 (m, 4H),

N-(4-метил-2-карбоксиметилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-аминосульфонилафенил)карбоксамид, ¹H-ЯМР (300МГц, MeOH) δ 0,85 - 1,00 (m, 12H), 1,1 - 1,3 (m, 2H), 1,52 - 1,85 (m, 4H), 2,31 - 2,95 (m, 3H), 4,49 - 4,55 (m, 1H), 7,75 - 7,91 (m, 4H),

N-(4-метил-2-карбоксиметилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метиламиносульфонилафенил)карбоксамид, МС (БТЯ) 459 (М - Н),

N-(2-карбоксиметилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, МС (БТЯ) 405 (М - Н),

N-(3-фенил-2-карбоксиметилпропаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, МС (БТЯ) 455 (М + Н)⁺,

N-(3-циклогексил-2-карбоксиметилпропаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, МС (БТЯ) 459 (М - Н),

N-(4-фенил-2-карбоксиметилбутаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, МС (БТЯ) 467 (М - Н),

N-(4-фенил-2-карбоксиметилбутаноил)-L-циклогексилпицин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(4-фенил-2-карбоксиметилбутаноил)-L-трет-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(5-фенил-2-карбоксиметилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, МС (БТЯ) 481 (М - Н), и

N-(4-метил-2-карбоксиметилпентаноил)-L-О-бензилтреонин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, МС (БТЯ) 497 (М - Н)

В Аналогичным способом, но путем растирания неочищенного продукта с эфиром и последующего декантирования эфира, получали следующие соединения в виде солей ТФК

N-(4-метил-2-карбоксиметилпентаноил)-L-пиридин-3-илаланин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, МС (БТЯ) 456 (М + Н)⁺,

N-(4-метил-2-карбоксиметилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-(N''-(3-диметиламинопропил)карбамоил)фенил)карбоксамид, МС (БТЯ) 491 (М + Н)⁺, и

N-(4-метил-2-карбоксиметилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-(N''-(2-диметиламиноэтил)карбамоил)фенил)карбоксамид, МС (БТЯ) 491 (М + Н)⁺

Г

Смесь

N-(4-метил-2-трет-

бутоксикарбонилметилпентаноил)-L-О-бензилтреонин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамида (60мг) и Pd/C в этилацетате/ТГФ (1 1,25мл) гидрировали в течение ночи при давлении 1 атмосфера. Путем фильтрации через пилит, концентрирования фильтрата и растирания остатка с эфиром/гексанами получали N-(4-метил-2-трет-бутоксикарбонилметилпентаноил)-L-треонин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, МС (БТЯ) 407 (М - Н)

Пример 17

Соединения формулы (Id)

А Раствор N-(4-метил-2-карбоксиметилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамида (0,28г, 0,66ммоль) и ГОБТ (0,12г) в безводном ДМФ (20мл) охлаждали до 0°C и обрабатывали ЭДКИ (0,32г). После перемешивания в течение 0,5 ч при 0°C добавляли О-бензилгидроксиламин (0,30мл) и реакционной смеси давали нагреться до 25°C в течение ночи. ДМФ отгоняли под вакуумом и остаток растворяли в CH₂Cl₂, промывали смесью 5%-ная HCl / 5%-ный NaHCO₃ и соляным раствором и сушили над Na₂SO₄. После концентрирования продукт очищали с помощью быстрой хроматографии (SiO₂, R_f = 0,6, 10% MeOH / CH₂Cl₂). Фракции, содержащие продукт, далее очищали путем растирания с CH₂Cl₂, получая N-(4-метил-2-(N'-бензилоксикарбамоил)метилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид в виде твердого вещества с температурой плавления 198 - 199°C.

Б Аналогичным способом получали следующие соединения

N-(2-(N'-бензилоксикарбамоил)метилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,
N-(4-фенил-2-(N'-бензилоксикарбамоил)метилбутаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, и
N-(4-фенил-2-(N'-бензилоксикарбамоил)метилпентаноил)-L-триптофан-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид

В N-(4-Метил-2-(N'-бензилоксикарбамоил)метилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид (210мг) подвергали гидролизу с помощью 1М NaOH (1,4мл) при 50 - 60°C в течение 2 часов в ТГФ (20мл) и MeOH (5мл). Органические растворители выпаривали и остаток растворяли в 10мл H₂O и промывали эфиром (2 x 10мл). Водную фазу подкисляли до pH 2 с помощью 10%-ной HCl и экстрагировали этилацетатом (3 x 10мл). Объединенные экстракты промывали соляным раствором, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали, получая N-(4-метил-2-(N'-бензилоксикарбамоил)метилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-карбоксифенил)карбоксамид (110мг).

Пример 18

Соединения формулы (1e)

А К раствору N-(4-фенил-2-(N'-бензилоксикарбамоил)метилбутаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамида (25мг)

в 20мл MeOH и 10мл ТГФ добавляли 10%-ный Pd / С (20мг). Суспензию гидрировали в течение 1 часа и затем фильтровали под вакуумом через целит. Путем концентрирования получали продукт, который очищали на кремнеземе (2,5% MeOH / CH₂Cl₂), получая 8мг N-(4-фенил-2-(N'-гидроксикарбамоил)метилбутаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамида, МС (БТЯ) 482 (М - Н).

Б Аналогичным образом получали следующие соединения

N-(4-метил-2-(N'-гидроксикарбамоил)метилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-карбоксифенил)карбоксамид,
N-(4-фенил-2-(N'-гидроксикарбамоил)метилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, МС (БТЯ) 436 (М + Н)⁺, соединение 2,
N-(2-(N'-гидроксикарбамоил)метилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, МС (БТЯ) 420 (М - Н),
N-(4-фенил-2-(N'-гидроксикарбамоил)метилбутаноил)-L-трет-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,
N-(4-фенил-2-(N'-гидроксикарбамоил)метилбутаноил)-L-циклогексилпицин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,
N-(4-фенил-2-(N'-гидроксикарбамоил)метилбутаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,
N-(4-метил-2-(N'-гидроксикарбамоил)метилпентаноил)-L-трет-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,
N-(4-метил-2-(N'-гидроксикарбамоил)метилпентаноил)-L-триптофан-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, МС (БТЯ) 507 (М - Н), соединение 3 (2R), соединение 4 (2S), и

N-(4-фенил-2-(N'-гидроксикарбамоил)метилбутаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид

В Аналогичным образом получали следующие соединения

N-(3-фенил-2-(N'-гидроксикарбамоил)метилпропаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,
N-(5-фенил-2-(N'-гидроксикарбамоил)метилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, и
N-(3-циклогексил-2-(N'-гидроксикарбамоил)метилпропаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид

Пример 19

Соединения формулы (Gb)

А К холодному раствору диэтилгидроксиэтилпалоната (21,6г, 0,1моля) в 150мл этанола медленно в течение 30 минут добавляли раствор KOH (5,89г, 0,1моля). Прозрачный раствор перемешивали при 25°C в течение 60 часов. Этанол удаляли при пониженном давлении и твердый остаток растворяли

ли в 50мл H₂O. Водный раствор подкисляли до pH 2 с помощью 4М HCl и экстрагировали эфиром (2 x 50мл). Объединенные экстракты сушили над MgSO₄ и выпаривали, получая 19,0г (100%) этилизобутилмалоната в виде бесцветного масла

Б Аналогичным способом получали следующие соединения формулы (Gb)

этил-трет-бутилмалонат,
этилпропилмалонат,
этилбензилмалонат, и
этилциклогексилметилмалонат

Пример 20

Соединения формул (Gc) и (Gd)

А К чистому этилизобутилмалонату (25г, 0,13моля) при 0°C медленно добавляли охлажденный на льду диэтиламин (15,1мл, 0,15моля). После перемешивания в течение 15 минут по каплям добавляли формалин (11,1мл 37%-ого водного формальдегида) и смеси оставляли для перемешивания при 25°C в течение 3 дней. Реакционную смесь обрабатывали раствором, содержащим 20г K₂CO₃ в 40мл H₂O, и экстрагировали эфиром (2 x 100мл). Объединенные эфирные слои промывали соляным раствором, сушили над MgSO₄ и выпаривали при 20°C на ротонном испарителе. Неочищенный продукт, этил-4-метил-2-метилпентаноат (содержащий некоторое количество эфира), растворяли в 250мл абсолютно этанола и обрабатывали ацетонитрилом (250мл), 1М LiOH (9,7г в 250мл H₂O, 0,23моля). После перемешивания в течение ночи органические растворители выпаривали и водный остаток экстрагировали этилацетатом (2 x 150мл). Объединенные экстракты промывали соляным раствором, сушили (MgSO₄) и упаривали, получая 10,5г 4-метил-2-метилпентановой кислоты в виде бесцветного масла

Б Аналогичным способом получали следующие соединения формулы (Gd)

4-фенил-2-метилпентановую кислоту,
3-циклогексил-2-метилпропановую кислоту,
5-фенил-2-метилпентановую кислоту,
2-метилпентановую кислоту, и
3,3-диметил-2-метилпентановую кислоту

Пример 21

Соединения формулы (G)

А Смесь 4-метил-2-метилпентановой кислоты (5,0г) и тиоуксусной кислоты (25мл) нагревали до 95°C и выдерживали при этой температуре в атмосфере аргона в течение 3 дней. Избыток тиоуксусной кислоты выпаривали и оставшееся масло растворяли в этилацетате (40мл) и экстрагировали насыщенным NaHCO₃ (3 x 40мл). Объединенные экстракты NaHCO₃ соединяли и подкисляли до pH 2 при 0°C с помощью 1М HCl. Водный слой экстрагировали CH₂Cl₂ (3 x 40мл), объединенные органические фазы сушили (MgSO₄) и в завершение упаривали, получая 3,0г 4-метил-2-ацетилтиометилпентановой кислоты, ¹H-ЯМР (80МГц, CDCl₃) δ 0,95 (d, J = 8,0, 6H), 1,20 - 1,90 (m, 4H), 2,35 (s, 3H), 2,50 - 3,20 (m, 3H), 6,7 (шир s, 1H)

Пример 22

Соединения формулы (If)

А К раствору 4-метил-2-

ацетилтиометилпентановой кислоты (20 мг, 1,0ммоль) в безводном ДМФ (15мл), содержащему ГОВТ (92мг, 0,6ммоль) и L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил) карбоксамид (0,6ммоль), добавляли ЭДКИ (345мг, 1,8ммоль). Раствор перемешивали в течение ночи при 25°C и затем ДМФ удаляли под вакуумом. Остаток растворяли в этилацетате (35мл) и промывали 1М HCl, 1М NaOH и соляным раствором. Путем сушки над MgSO₄ и упаривания получали полутвердый продукт, который подвергали быстрой хроматографии на силикагеле (этилацетат/петролейный эфир 1/2), получая N-(4-метил-2-ацетилтиометилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид (190мг) в виде белого твердого вещества

Б Аналогичным способом получали следующие соединения формулы (If)

N-(5-фенил-2-ацетилтиометилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(4-фенил-2-ацетилтиометилбутаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(3-фенил-2-ацетилтиометилпропаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(3-циклогексил-2-ацетилтиометилпропаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(2-ацетилтиометилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(5-фенил-2-ацетилтиометилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-аминокарбонилфенил)карбоксамид,

N-(4-фенил-2-ацетилтиометилбутаноил)-L-лейцин-N'-(4-карбоксифенил)карбоксамид,

N-(3-фенил-2-ацетилтиометилпропаноил)-L-лейцин-N'-(4-метилсульфонилфенил)карбоксамид,

N-(3-циклогексил-2-ацетилтиометилпропаноил)-L-лейцин-N'-(4-карбамоилфенил)карбоксамид,

N-(2-ацетилтиометилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-цианфенил)карбоксамид,

N-(5-фенил-2-ацетилтиометилпентаноил)-L-триптофан-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(4-фенил-2-ацетилтиометилбутаноил)-L-триптофан-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(3-фенил-2-ацетилтиометилпропаноил)-L-триптофан-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(3-циклогексил-2-ацетилтиометилпропаноил)-L-триптофан-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, и

N-(2-ацетилтиометилпентаноил)-β-триптофан-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид

Пример 23

Соединения формулы (Ig)

А К раствору N-(4-метил-2-ацетилтиометилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид (85мг, 0,19ммоль) в MeOH (8мл) при 0°C добавляли концентрированный HN₄OH (0,4мл). После переме-

шивания при 0°C в течение 5 часов метанол выпаривали и добавляли эфир (30мл) Эфирный раствор промывали 0,5 M HCl, соляным раствором и сушили над MgSO₄ Путем концентрирования получали N-(4-метил-2-меркаптометилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид в виде белой пены (количественный выход), МС (БТЯ) 407 (М - Н)

Б Аналогичным способом получали следующие соединения формулы (Ig)

N-(5-фенил-2-меркаптометилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(4-фенил-2-меркаптометилбутаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(3-фенил-2-меркаптометилпропаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(3-циклогексил-2-меркаптометилпропаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(2-меркаптометилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(5-фенил-2-меркаптометилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-аминокарбонилфенил)карбоксамид,

N-(4-фенил-2-меркаптометилбутаноил)-L-лейцин-N'-(4-карбоксифенил)карбоксамид,

N-(3-фенил-2-меркаптометилпропаноил)-L-лейцин-N'-(4-метилсульфонилфенил)карбоксамид,

N-(3-циклогексил-2-меркаптометилпропаноил)-L-лейцин-N'-(4-карбамоилфенил)карбоксамид,

N-(2-меркаптометилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-цианфенил)карбоксамид,

N-(5-фенил-2-меркаптометилпентаноил)-L-триптофан-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(4-фенил-2-меркаптометилбутаноил)-L-триптофан-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(3-фенил-2-меркаптометилпропаноил)-L-триптофан-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид,

N-(3-циклогексил-2-меркаптометилпропаноил)-L-триптофан-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид, и

N-(2-меркаптометилпентаноил)-L-триптофан-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид

Пример 24

В этом примере проиллюстрировано получение репрезентативных фармацевтических композиций для орального введения, содержащих соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, например, N-(4-метил-2-N''-гидроксикарбамоил)метилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид

А Ингредиенты Процентное соотношение масс

Соединение формулы (I) 20,0%
Лактоза 79,5%
Стеарат магния 0,5%

вышеуказанные ингредиенты смешивают и заполняют ими желатиновые капсулы с твердой

оболочкой, каждая из которых содержит по 100мг композиции, одна капсула должна включать приблизительно полную суточную дозу

Б Ингредиенты Процентное соотношение масс

Соединение формулы (I) 20,0%
Стеарат магния 0,8%
Крахмал 8,6%
Лактоза 69,6%
ПВП (поливинилпирролидин) 0,8%

Вышеуказанные ингредиенты за исключением стеарата магния объединяют и гранулируют, используя воду в качестве жидкости для гранулирования Затем состав сушат, смешивают со стеаратом магния и с помощью соответствующей таблетировающей машины формируют таблетки

В Ингредиенты

Соединение формулы (I) 0,1г
Пропиленгликоль 20,0г
Полиэтиленгликоль 400 20,0г
Полисорбат 80 1,0г
Вода q s до 100мл

Соединения формулы (I) растворяют в пропиленгликоле, полиэтиленгликоле 400 и полисорбате 80 Затем при перемешивании добавляют количество воды, достаточное для получения 100мл раствора, который фильтруют и разливают во флаконы

Г Ингредиенты Процентное соотношение масс

Соединение формулы (I) 20,0%
Масло арахисовое 78,0%
Спан 60 (сорбитанмоностеарат) 2,0%

Вышеуказанные ингредиенты расплавляют, перемешивают и заполняют ими мягкие желатиновые капсулы

Пример 25

В этом примере проиллюстрировано получение репрезентативной фармацевтической композиции для парентерального введения, содержащей соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, например, N-(4-метил-2-(N''-гидроксикарбамоил)метилпентаноил)-L-триптофан-N'-(4-карбоксифенил)карбоксамид

Ингредиенты

Соединение формулы (I) 0,02г
Пропиленгликоль 20,0г
Полиэтиленгликоль 400 20,0г
Полисорбат 80 1,0г
0,9%-ный физиологический раствор q s до 100мл

Соединение формулы (I) растворяют в пропиленгликоле, полиэтиленгликоле 400 и полисорбате 80 Затем при перемешивании добавляют 0,9%-ный физиологический раствор в количестве, достаточном для получения 100мл внутривенного раствора, который фильтруют через мембранный фильтр с размером пор 0,2мкм и фасуют в стерильных условиях

Пример 26

В этом примере проиллюстрировано получение репрезентативной фармацевтической компо-

зиции в форме суппозитория, содержащей соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, например, N-(4-метил-2-(N'-гидроксикарбамоил)метилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-карбоксифенил)карбоксамид

Ингредиенты	Процентное соотношение масс
Соединение формулы (I)	1,0%
Полиэтиленгликоль 1000	74,5%
Полиэтиленгликоль 4000	24,5%

Ингредиенты расплавляют вместе и смешивают в паровой бане и разбивают в формы, содержащие 2,5г общего веса

Пример 27

В этом примере проиллюстрировано получение репрезентативной фармацевтической композиции для инсуффляции, содержащей соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, например, N-(4-метил-2-(N'-гидроксикарбамоил)метилпентаноил)-L-циклогексилпиперидин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид

Ингредиенты	Процентное соотношение масс
Тонкоизмельченное соединение формулы (I)	1,0%
Тонкоизмельченная лактоза	99,0%

Ингредиенты размалывают, смешивают и упаковывают в инсуффлятор, снабженный дозирующим насосом

Пример 28

В этом примере проиллюстрировано получение репрезентативной фармацевтической композиции в распыляемой форме, содержащей соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, например, N-(4-метил-2-(N'-гидроксикарбамоил)метилпентаноил)-L-трет-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид

Ингредиенты	Процентное соотношение масс
Соединение формулы (I)	0,005%
Вода	89,995%
Этанол	10,000%

Соединение формулы (I) растворяют в этаноле и смешивают с водой. Затем композицию упаковывают в небулайзер, снабженный дозирующим насосом

Пример 29

Ингредиенты	Процентное соотношение масс
Соединение формулы (I)	0,005%
Вода	89,995%
Этанол	10,000%

Соединение формулы (I) растворяют в этаноле и смешивают с водой. Затем композицию упаковывают в небулайзер, снабженный дозирующим насосом

Пример 31

Анализ *in vitro* Этот анализ позволяет определить, обладают ли соединения формулы (I) способностью ингибировать выход меченных по ^{35}S гликозаминогликанов (GAG) из хрящевых эксплантатов. Небольшие хрящевые эксплантаты (3мм в диаметре) получали из коленных суставов свежес-

В этом примере проиллюстрировано получение репрезентативной фармацевтической композиции в аэрозольной форме, содержащей соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, например, N-(4-метил-2-меркаптометилпентаноил)-L-лейцин-N'-(4-метоксикарбонилфенил)карбоксамид

Ингредиенты	Процентное соотношение масс
Соединение формулы (I)	0,10%
Пропеллент 11/12	98,90%
Олеиновая кислота	1,00%

Соединение формулы (I) диспергируют в олеиновой кислоте и пропеллентах. Затем образовавшуюся смесь заливают в аэрозольный контейнер, снабженный мерным клапаном

Пример 30

Опыты *in vitro*

Матрилизин из клонированной культуры клеток млекопитающих очищали с помощью голубой сефарозной и цинк-хелатирующей сефарозной колонки с последующей быстрой жидкостной экспресс-хроматографией белков на колонке MONO S. Фермент активировали путем инкубации с 1ммолем АРМА в течение 1ч при 35 - 37°C

Соединения формулы (I) растворяли в ДМСО и добавляли в кювету, содержащую 0,4мкг матрилизина в 1мл ТС-буфера (20мм Трис, 5мм CaCl_2 , pH 7,5) (конечная концентрация ДМСО 2%). Концентрации соединений формулы (I) выбирали таким образом, чтобы для каждой 20% изменения активности иметь по крайней мере одну экспериментальную точку. Ферменту и соединению давали возможность пройти предварительную 3-минутную инкубацию при 37°C. Для иницирования реакции к каждому 20мкМ добавляли N-(7-диметиламино-4-метил)кумаринил ("DACM") (фирма Sigma) и тиопептид (Ac-Pro-Leu-Gly-S-Leu"-Leu-Gly-OEt, фирма Bachem Bioscience Inc.). Увеличение флуоресценции регистрировали при длинах волн возбуждения и эмиссии 395 и 485нм соответственно. Каждую экспериментальную точку получали осреднением по двукратному эксперименту. Для определения значения IC_{50} с помощью программы Enzfitter использовали по крайней мере шесть экспериментальных точек, показывающих зависимость изменения флуоресценции в минуту от концентрации соединения.

Этот анализ подтверждает, что соединения формулы (I) обладают способностью ингибировать матрилизин.

	Коллагеназа фибробластов человека	Мнимая металлопротеаза	Желатиназа нейтрофилов человека	Стромелизин
Соединение 2	8,4	$k_i = 140\text{фМ}$		1,4

Пример 31

умерщвленных быков и метили с помощью $^{35}\text{SO}_4$. Меченные по ^{35}S гликозаминогликаны (GAG) выходили в питательную среду в ответ на добавление rhIL-1-альфа, индуцирующего экспрессию хондроцитарных матричных металлопротеаз (ММП), включая стромелизин и коллагеназу. Процент ингибирования меченых GAG корректировали с уче-

том спонтанного выхода в отсутствие rhIL-1-альфа. Результаты для каждой группы представляют собой средние значения \pm среднеквадратичную ошибку по пяти эксплантатам.

Соединения формулы (I) при тестировании этим методом проявили способность ингибировать выход меченных по ^{35}S GAG из хрящевых эксплантатов.

EC_{50} (молярная концентрация)

Соединение 2 $3,5 \times 10^{-6}$
Пример 32
Анализ in vitro

Для изучения in vitro влияния соединений формулы (I) на резорбцию кости использовали в качестве модели длинную кость крысиного эмбриона. Для индуцирования резорбции кости in vitro использовали бычий ПЩГ (паращитовидный гормон). Влияние на резорбцию кости определяли по количеству ^{45}Ca , вышедшего в питательную среду из предварительно меченных по ^{45}Ca длинных костей крысиных эмбрионов. Ингибирующее действие соединений формулы (I) по отношению к индуцированной бычьим ПЩГ резорбции кости выражали в виде среднего процента ингибирования \pm среднеквадратичная ошибка.

Предварительно меченные по ^{45}Ca длинные кости крысиных эмбрионов (из предплечья) рассекали и культивировали в чашках Linbro при 37°C в течение ночи в среде BGJb с добавлением 1 мг/мл БСА (бычий сывороточный альбумин). В каждой группе использовали по 5 пар костей. Соединения формулы (I) предварительно растворяли в этаноле, затем разбавляли до различных концентраций и добавляли в первый день одновременно с бычьим ПЩГ (1-34) в концентрации $1 \times 10^{-8}\text{M}$. Кон-

центрации этанола в растворах соединений были ниже 0,05%, что не оказывает влияния на анализ. Опыт заканчивали на шестой день с одной заменой среды на третий день.

В конце каждой замены среды подсчитывали количество ^{45}Ca , присутствующее в среде для культивирования. Оставшиеся кости разлагали с помощью 0,1N HCl и также подсчитывали количество ^{45}Ca , присутствующее в продукте разложения кости. Результаты выражали в виде процентов по отношению к общему количеству ^{45}Ca , вышедшему из каждой пары костей. Бычий ПЩГ в концентрации $1 \times 10^{-8}\text{M}$ индуцирует резорбцию кости до максимального уровня, который принят за 100%, и эту концентрацию использовали в качестве стандартной. За 0% принимали уровень базисной линии резорбции кости в присутствии только среды. Все обработанные соединения группы сравнивали с таковыми, обработанными бычьим ПЩГ (1-34) в концентрации $1 \times 10^{-8}\text{M}$. Концентрации, при которых соединение ингибировало резорбцию кости на 50% обозначали как IC_{50} .

Соединения формулы (1a) при тестировании этим методом проявили способность ингибировать резорбцию кости, индуцированную бычьим ПЩГ.

IC_{50} (молярная концентрация)

Соединение 1 $\geq 5 \times 10^{-6}$
Соединение 2 $2,7 \times 10^{-7}$
Соединение 3 5×10^{-8}
Соединение 4 $\geq 5 \times 10^{-6}$

Токсикология

В вышеописанных анализах не было обнаружено никаких серьезных токсикологических эффектов.

ДП «Український інститут промислової власності» (Укрпатент)

вул. Сим'ї Хохлових, 15, м. Київ, 04119, Україна

(044) 456 – 20 – 90

ТОВ «Міжнародний науковий комітет»

вул. Артема, 77, м. Київ, 04050, Україна

(044) 216 – 32 – 71