



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 75937

(13) C2

(51) МПК (2006)

C07D 205/00

A61K 31/397

A61P 7/02 (2006.01)

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

(54) ПОХІДНІ МИГДАЛЕВОЇ КИСЛОТИ ТА ЇХ ВИКОРИСТАННЯ ЯК ІНГІБІТОРІВ ТРОМБІНУ

1

2

(21) 2004020839

(22) 30.08.2002

(24) 15.06.2006

(86) PCT/SE02/01557, 30.08.2002

(31) 0102921-4

(32) 30.08.2001

(33) SE

(31) PCT/SE01/02657

(32) 30.11.2001

(33) SE

(46) 15.06.2006, Бюл. № 6, 2006 р.

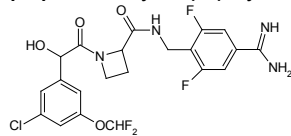
(72) Інґгардт Тод, SE, Йоханссон Андерс, SE, Све-
нссон Арне, SE

(73) АСТРАЗЕНЕКА АБ, SE

(56) WO 0042059 A1, 20.07.2000

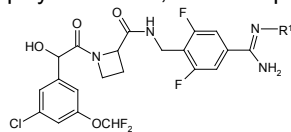
WO 9702284 A1, 23.01.1997

(57) 1. Сполука формули I:



(I)

або її фармацевтично прийнятна похідна.

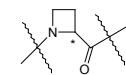
2. Фармацевтично прийнятна похідна сполуки фо-
рмули I за п.1, яка має формулу Ia:де R^1 - OR^2 або $C(O)OR^3$; а R^2 - H, C_{1-10} алкіл, C_{1-3} алкіларил або C_{1-3} алкілоксиарил (алкільні частини останніх двох груп, як варіант, перервані одним або більше атомами кисню, а арильні частини цих груп, як варіант, заміщені одним або більше замісниками, вибраними з галогену, фенілу, метилу або метоксилу, причому три останні групи також, як варіант, заміщені одним або більше галогеновими замісниками); і R^3 - C_{1-10} алкіл (ця група, як варіант, перервана одним або більше атомами кисню) або C_{1-3} алкіларил або C_{1-3} алкілоксиарил (алкільні частини цих двох груп, як варіант, перервані одним або більше атомами кисню, арильні частини цих

груп, як варіант, заміщені одним або більше замісниками, вибраними з галогену, фенілу, метилу або метоксилу, причому три останні групи також, як варіант, заміщені одним або більше галогеновими замісниками);

і її фармацевтично прийнятна похідна.

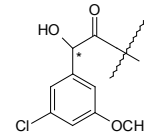
3. Сполука за п.2, яка відрізняється тим, що R^1 - OR^2 .4. Сполука за п.3, яка відрізняється тим, що R^2 -H або незаміщений лінійний, розгалужений або циклічний C_{1-8} алкіл.5. Сполука за п.4, яка відрізняється тим, що R^2 -H або C_{1-6} алкіл.6. Сполука за п.4, яка відрізняється тим, що R^2 -лінійний C_{1-3} алкіл, розгалужений C_{3-8} алкіл або циклічний C_{4-7} алкіл.7. Сполука за п.5 або п.6, яка відрізняється тим, що R^2 - метил, етил, n-пропіл, i-пропіл або циклобутил.8. Сполука за п.7, яка відрізняється тим, що R^2 -метил.

9. Сполука за будь-яким з пп.1-8, яка відрізняється тим, що фрагмент



має S-конфігурацію.

10. Сполука за будь-яким з пп.1-9, яка відрізняється тим, що фрагмент



має R-конфігурацію.

11. Сполука за п.1, яка відрізняється тим, що нею є $Ph(3-Cl)(5-OCHF_2)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)$.

12. Сполука за п.2, яка відрізняється тим, що нею є

 $Ph(3-Cl)(5-OCHF_2)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OMe)$ або $Ph(3-Cl)(5-OCHF_2)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OH)$.

13. Фармацевтична композиція, що містить сполуку за будь-яким з пп.1-12 або її фармацевтично

(13) C2

(11) 75937

(19) UA

прийнятну похідну, у суміші з фармацевтично прийнятним наповнювачем, розріджувачем або носієм.

14. Сполука за будь-яким з пп.1-12 або її фармацевтично прийнятна похідна, призначена для використання у фармацевтиці.

15. Сполука за будь-яким з пп.1-12 або її фармацевтично прийнятна похідна, призначена для використання при лікуванні стану, що потребує інгібування тромбіну.

16. Сполука за будь-яким з пп.1-12 або її фармацевтично прийнятна похідна, призначена для використання при лікуванні стану, що потребує антикоагуляційної терапії.

17. Сполука за будь-яким з пп.1-12 або її фармацевтично прийнятна похідна, призначена для використання при лікуванні тромбозу.

18. Сполука за будь-яким з пп.1-12 або її фармацевтично прийнятна похідна, призначена для використання як антикоагулянту.

19. Використання сполуки за будь-яким з пп.1-12 або її фармацевтично прийнятної похідної як активного інгредієнта для виготовлення медикаменту для лікування стану, що потребує інгібування тромбіну.

20. Використання сполуки за будь-яким з пп.1-12 або її фармацевтично прийнятної похідної як активного інгредієнта для виготовлення медикаменту для лікування стану, що потребує антикоагуляційної терапії.

21. Використання за п.19 або п.20, яке **відрізняється** тим, що станом є тромбоз.

22. Використання за п.19 або п.20, яке **відрізняється** тим, що станом є гіперкоагуляція у крові і/або тканинах.

23. Використання сполуки за будь-яким з пп.1-12 або її фармацевтично прийнятної похідної як активного інгредієнта для виготовлення антикоагулянту.

Винахід стосується нових фармацевтично цінних сполук, зокрема, сполук, які є і/або метаболізуються у сполуки, що є конкурентними інгібіторами трипсиноподібних протеаз серину, зокрема, тромбіну, їх використання як медикаментів, фармацевтичних композицій, що містять їх, і їх синтезу.

Коагуляція крові є ключовим процесом, що проходить як при гемостазі (тобто запобіганню втрати крові з пошкодженої судини), так і при тромбозі (тобто утворенні кров'яних згустків у кров'яній судині, що іноді призводить до її закупорки).

Коагуляція є результатом складної послідовності ензимних реакцій. Однією з вирішальних стадій цієї послідовності є перетворення проензимного протромбіну у активний ензимний тромбін.

Відомо, що тромбін грає центральну роль у коагуляції. Він активує бляшки, що призводить до їх агрегування, перетворює фібриноген у фібринові мономери, які спонтанно полімеризуються у фібринові полімери, і активує фактор XIII, який викликає формування у цих полімерах поперечних зв'язків з утворенням нерозчинного фібрину. Крім того, тромбін активує фактор V і фактор VIII, створюючи "позитивний зворотний зв'язок" при утворенні тромбіну з протромбіну.

Можна сподіватись, що результатом інгібування агрегування бляшок і формування поперечних зв'язків у фібрині ефективним інгібітором тромбіну буде виникнення антитромботичної дії. Крім того, можна сподіватись, що антитромботична активність буде підсилена ефективним інгібуванням механізму позитивного зворотного зв'язку.

Ранні дослідження низькомолекулярних інгібіторів були [описані у Claesson, Blood Coagul. Fibrinol. (1994) 5, 411. Blomback et al., J. Clin. Lab. Invest. 24, suppl. 107, 59, (1969)] описали інгібітори тромбіну, базовані на амінокислотній послідовності, розташованій навколо кльважного сайту для фібриногенового ланцюга Aa. Ці автори вважають, що серед згаданих амінокислотних послідовностей

найбільш ефективним інгібітором є трипептидна послідовність Phe-Val-Arg (P9-P2-P1, яку далі позначено як послідовність P3-P2-P1).

Інгібітори тромбіну, базовані на похідних дипептидилу з α,ω -аміноалкілгуанідином у P1-позиції, відомі [з патенту США 4 346 078 і міжнародної заявки WO 93/11152]. Були також описані схожі, структурно близькі похідні дипептидилу. Наприклад, [у міжнародній заявці WO 94/29336] описано сполуки з, наприклад, амінометилбензамідинами, циклічними аміноалкіламідинами і циклічними аміноалкілгуанідинами у P1-позиції [у заявці WO 97/23499], описано проліки деяких з цих сполук; [у європейській заявці 0 648 780], описано сполуки з, наприклад, циклічними аміноалкілгуанідинами у P1-позиції.

Інгібітори тромбіну, базовані на похідних пептидилу, також мають циклічні аміноалкілгуанідини (наприклад, 3- або 4-амінометил-1-амідинопіперидин) у P1-позиції, описано [у європейських заявках 0 468 231, 0 559 046 і 0 641 779].

Інгібітори тромбіну, базовані на похідних трипептидилу з аргінінальдегідом у P1-позиції були вперше [описані європейській заявці 0 185 390].

Пізніше були описані базовані на аргінінальдегіді похідні пептидилу, модифіковані у P3-позиції. Наприклад, [у міжнародній заявці WO 93/18060] описано гідроксикислоти, [у європейській заявці 0 526 877] - дезамінокислоти, і [у європейській заявці 0 542 525 0] - метилмгдалевої кислоти у P3-позиції.

Відомі також інгібітори протеаз серину (наприклад, тромбіну), базовані на електрофільних кетонах у P1-позиції. Наприклад, [у європейській заявці 0 195 212] описано пептидил- α -кетонові естери і аміді, [у європейській заявці 0 362 002] - флуоралкіламідкетони, [у європейській заявці 0 364 344] - α,β,δ -трикетосполуки і [у європейській заявці 0 530 167] - α -алкоксикетонові похідні аргініну у P1-позиції.

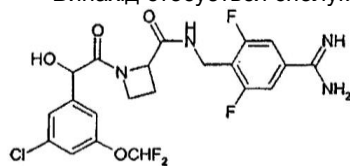
[У європейській заявці 0 293 881] описано інші, відмінні за структурою, інгібітори трипсиноподібних протеаз серину, базовані на С-термінальних борнокислотних похідних аргініну і ізотіоуронію і їх аналогах.

Пізніше [у європейській заявці 0 669 317 і міжнародних заявках WO 95/35309, WO 95/23609, WO 96/25426, WO 97/02284, WO 97/46577, WO 96/32110, WO 96/31504, WO 96/03374, WO 98/06740, WO 97/49404, WO 98/57932, WO 99/29664, WO 00/35869 і WO 00/42059] були описані інгібітори тромбіну, базовані на похідних пептидиду.

Зокрема, [у WO 97/02284 і WO 00/42059] описано інгібітори тромбіну з заміщеними мигдалевими кислотами у Р3-позиції.

Однак, існує потреба у ефективних інгібіторах трипсиноподібних протеаз серину, наприклад, тромбіну. Існує також потреба у сполуках з сприятливим фармакокінетичним профілем, які є селективними інгібіторами тромбіну і інших протеаз серину, зокрема таких, що беруть участь у гемостазі. Сполуки, що проявляють конкурентну інгібіторну активність до тромбіну, можуть виявитись особливо корисними як антикоагулянти і, отже, при терапевтичному лікуванні тромбозу і споріднених захворювань.

Винахід стосується сполуки формули I:



(тобто Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)) або її фармацевтично прийнятної похідної.

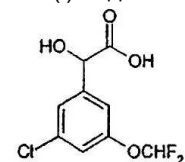
Термін "фармацевтично прийнятна похідна" включає фармацевтично прийнятні солі (наприклад, кислотно-адитивні солі)

Список аббревіатур наведено після опису.

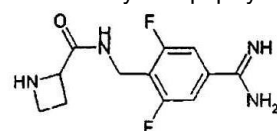
Сполуки формули I можна приготувати згідно з методами, добре відомими фахівцям, наприклад, як це описано нижче.

Ще одним об'єктом винаходу є спосіб приготування сполуки формули I, який включає операції:

(i) з'єднання сполуки формули II,

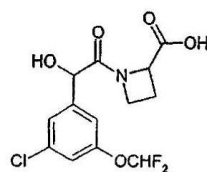


з сполукою формули III,

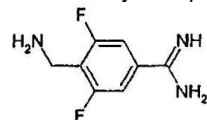


наприклад, у присутності сполучаючого агента (наприклад, оксалілхлориду у ДМФ, ЕДК, ДЦК, ГФБУ, ГФТУ, ГФБТФ або ТФТУ), належної основи (наприклад, піридину, ДМАП, TEA, 2,4,6-колідину або ДІПЕА) і придатного органічного розчинника (наприклад, ДХМ, ацетонітрилу, EtOAc або ДМФ);

(ii) з'єднання сполуки формули IV,



з сполукою формули V:

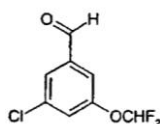


наприклад, в умовах, описаних для операції (i); або

(iii) реакція відповідної сполуки формули XVI з придатним джерелом амонію (наприклад, ацетатом амонію або газоподібним амонієм) в умовах, відомих фахівцям, наприклад, реакцією етилімідатного інтермедіату (утвореного реакцією сполуки формули XVI з газом HCl в етанолі) з газоподібним амонієм в етанолі або в умовах, описаних [у Tetrahedron Lett. 40, 7067 (1999)] (цей документ включено в опис посиланням).

Сполуки формули II можна одержати, використовуючи відомі і/або стандартні способи.

Наприклад, сполуки формули II можна одержати через реакцію альдегіду формули VI,



з:

(a) сполукою формули VII:

RⁿCN

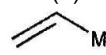
VII

де Rⁿ - H або (CH₃)₃Si, наприклад, при кімнатній або підвищеній температурі (наприклад, до 100°C) у присутності придатного органічного розчинника (наприклад, хлороформу або метиленхлориду) і, якщо необхідно, у присутності належної основи (наприклад, TEA) і/або придатної каталітичної системи (наприклад, бензиламоній-хлориду або іодиду цинку або з використанням хірального каталізатора, наприклад, [описаного у Chem. Rev., (1999) 99, 3649]), з подальшим гідролізом в умовах, відомих фахівцям (наприклад, як описано нижче);

(b) NaCN або KCN, наприклад, у присутності NaHSO₃ і води, з подальшим гідролізом;

(c) хлороформом, наприклад, при підвищеній температурі (наприклад, вище кімнатної і нижче 100°C) у присутності придатного органічного розчинника (наприклад, хлороформу) і, якщо необхідно, у присутності придатної каталітичної системи (наприклад, бензиламонійхлориду), з подальшим гідролізом;

(d) сполукою формули VIII,

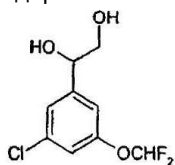


VIII

де M - Mg або Li, з подальшим окиснювальним розщепленням (наприклад, озонолізом або з каталізом осмієм або рутенієм) в умовах, добре відомих фахівцям; або

(e) трис(метилтіо)метаном в умовах, добре відомих фахівцям, з подальшим гідролізом у присутності наприклад, HgO і HBF₄.

У іншому варіанті сполуки формули II можна одержати окисненням сполуки формули IX,



IX

або її похідної, як варіант, захищеної у вторинній гідроксильній групі у присутності придатного окиснювача (наприклад, комбінації придатної окиснювальної вільної основи (наприклад, ТМПО) і належної гіпохлоритної солі (наприклад, гіпохлориту натрію), в умовах, відомих фахівцям, наприклад, між -10°C і кімнатною температурою, у присутності, належного розчинника (наприклад, води, ацетону або їх суміші), належної солі (наприклад, галогеніду лужного металу, наприклад, броміду калію) і придатної основи (наприклад, карбонату або гідрокарбонату лужного металу, наприклад, гідрокарбонату натрію).

Енантіомерично чисті форми сполук формули II (тобто сполуки з різними конфігураціями замісників при С-атомі α - у групі CO_2H) можуть бути розділені операцією енантіоселективної деривації. Це можна здійснити за допомогою ензимного процесу. Такі процеси включають, наприклад, трансестерифікацію групи α -ОН при температурі між кімнатною і температурою флегми (наприклад, 45 – 65°C) у присутності належного ензиму (наприклад, Lipase PS Amano), належного естеру (наприклад, вінілацетату) і придатного розчинника (наприклад, метил-трет-бутилового етеру). Далі дериватизований ізомер може бути ізолюваний від ізомеру, що не реагував, звичайними методами розділення (наприклад, хроматографією).

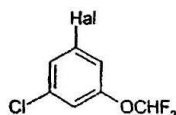
Групи, додані до сполук формули II такою дериватизацією, можуть бути видалені або перед подальшими реакціями, або на будь-якій подальшій стадії синтезу сполук формули I. Ці додаткові групи можна видалити, використовуючи відомі способи (наприклад, для естерів групи α -ОН - гідролізом в умовах, відомих фахівцям (наприклад, при температурах між кімнатною і температурою флегми у присутності належної основи (наприклад, NaOH) і відповідного розчинника (наприклад, MeOH, води або їх суміші)).

Сполуки формули III можна приготувати, з'єднуючи ацетидин-2-карбонову кислоту з сполукою формули V, як це було описано вище, наприклад, в умовах, подібним визначенням для приготування сполук формули I.

Сполуки формули IV можна приготувати, з'єднуючи сполуку формули II, як це було визначено вище, з ацетидин-2-карбоною кислотою, наприклад, в умовах, подібним визначенням для приготування сполук формули I.

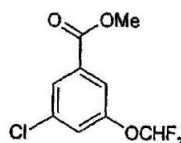
Сполуку формули VI можна одержати, використовуючи відомі і/або стандартні методи, наприклад:

(i) металізацією (металом може бути, наприклад, лужний метал, наприклад, Li або, бажано, двовалентний метал, наприклад, Mg) сполуки формули X:



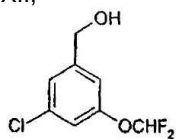
X

де Hal - атом галогену (Cl, Br або I), з подальшою реакцією з придатним джерелом формільної групи (наприклад, N,N-ДМФ), наприклад, в умовах, описаних нижче; (ii) відновленням сполуки формули XI:



XI

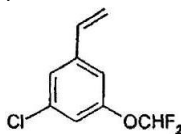
у присутності належного відновлювача (наприклад, ГДБА); або (iii) окисненням сполуки формули XII,



XII

у присутності належного окиснювача (наприклад, MnO_2 , піридинхлорхромату, суміші ДМСО і оксалілхлориду або SO_3 -піридинового комплексу у ДМСО).

Сполуки формули IX можна приготувати дигідроксилуванням відповідної сполуки формули XIII



XIII

у присутності належного дигідроксилувального агента (наприклад, реагента або суміші реагентів, які є джерелом OsO_4 , наприклад, AD-mix- α або, зокрема, AD-mix- β), наприклад, в умовах, відомих фахівцям, наприклад, між -10°C і кімнатною температурою у присутності відповідного розчинника (наприклад, води, трет-бутанолу або їх суміші). Якщо використовувати асиметричні окиснювачі, наприклад, AD-mix- α або AD-mix- β , цей спосіб можна використати для приготування сполук формули IX з специфічною конфігурацією груп (тобто R або S) при атомах C, до яких приєднані первинні і вторинні гідроксильні групи.

Сполуку формули XIII можна приготувати реакцією відповідної сполуки формули X (див. вище) з придатним джерелом вінілового аніону (наприклад, трибутил(вініл)олова) в умовах, відомих фахівцям, наприклад при температурах від кімнатної до температури флегми (наприклад, 50°C) у присутності належного розчинника (наприклад, толуолу), придатного сполучаючого агента (наприклад, координатного комплексу паладію(0), наприклад, тетракіс(трифенілфосфін)паладію(0)), як варіант, у присутності належного каталізатора (наприклад, 2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенолу).

Сполуки формул V, VII, VIII, X, XI, XII і ацетидин-2-карбонову кислоту або можна придбати, або вони відомі з літератури, або можуть бути отримані методами, схожими на описані тут, або звичайними стандартними процедурами синтезу з доступних вихідних матеріалів з використанням належних реагентів і у належних реакційних умо-

вах. Одержання сполук формули XVI розглядається нижче.

Замісники на фенільному кільці у сполуках формул I, II, III, IV, V, VI, IX, X, XI, XII і XIII можуть бути введені з використанням способів, відомих фахівцям, через стандартне взаємне перетворення функціональних груп, з доступних вихідних матеріалів з використанням належних реагентів і у належних реакційних умовах.

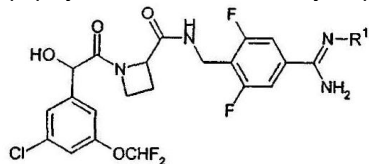
Наприклад, сполуки формул I, II, IV, VI, X, XI і XII можна приготувати з сполук, відповідних сполукам, у яких замість групи $-OCHF_2$ знаходиться група $-OH$ (вони називаються далі "відповідними фенольними препаративними сполуками"), наприклад реакцією такої відповідної фенольної препаративної сполуки з відповідним флуоринованим галогеноалканом (наприклад, $ClCHF_2$), наприклад, при кімнатній температурі або вище (наприклад, при температурі флегми) у присутності належної основи (наприклад, трет-бутоксиду калію, KOH або $NaOH$, наприклад, у водному розчині) і придатному органічному розчиннику (наприклад, ТГФ, хлороформі або і-пропанолі), наприклад, як це описано нижче.

Фахівцю зрозуміло, що такі перетворення функціональних груп можна також проводити на ранній стадії синтезу сполук формул II, IV, VI, X, XI і XII (тобто на відповідних проліках відповідних фенольних сполук проліків). Відповідні фенольні сполуки проліків можна придбати, або вони відомі з літератури, або можуть бути отримані методами, схожими на описані тут, або звичайними стандартними процедурами синтезу з доступних вихідних матеріалів з використанням належних реагентів і у належних реакційних умовах. Наприклад, ці сполуки можна приготувати видаленням захисту з відповідних захищених фенолів (захисною групою може бути, наприклад, метил, аліл, бензил або трет-бутил) в стандартних умовах.

Сполуки формули I можуть бути ізольовані з їх реакційних сумішей звичайними способами.

Згідно з винаходом, фармацевтично прийнятні похідні сполук формули I також включають "захисні" похідні і/або сполуки, що діють як проліки сполук формули I.

Сполуки, що можуть діяти як проліки сполук формули I, включають сполуки формули Ia:



Ia

де R^1 - OR^2 або $C(O)OR^3$; а

R^2 - H, C_{1-10} алкіл, C_{1-3} алкіларил або C_{1-3} алкілоксиарил (алкільні частини останніх двох груп, як варіант, перервані одним або більше атомами кисню, арильні частини цих груп, як варіант, заміщені одним або більше замісниками, вибраними серед галогену, фенілу, метилу або метокси, причому три останні групи також, як варіант, заміщені одним або більше галогеновими замісниками); і

R^3 - C_{1-10} алкіл (ця група, як варіант, перервана одним або більше атомами кисню) або C_{1-3} алкіларил або C_{1-3} алкілоксиарил (алкільні частини

цих двох груп, як варіант, перервані одним або більше атомами кисню, арильні частини цих груп, як варіант, заміщені одним або більше замісниками, вибраними серед галогену, фенілу, метилу або метокси, причому три останні групи також, як варіант, заміщені одним або більше галогеновими замісниками);

і їх фармацевтично прийнятні похідні.

Термін "фармацевтично прийнятні похідні" сполуки формули Ia включає фармацевтично прийнятні солі (наприклад, кислотно-адитивні солі).

Алкілоксиарильні групи, що можуть бути репрезентовані R^2 і R^3 , включають алкільні і арильні групи, зв'язані через атом атом кисню. Алкіларильна і алкілоксиарильна групи мають зв'язок з рештою молекули через алкільні частини цих груп, які можуть бути (якщо є достатня кількість (тобто 3) атомів карбону) розгалуженими ланцюгами. Арильні частини алкіларилу і алкілоксиарильні групи, що можуть бути репрезентовані R^2 і R^3 , або бути заміщені, включають карбоциклічні і гетероциклічні ароматичні групи, наприклад, фенільну, нафтильну, піридинільну, оксазолільну, ізоксазолільну, тіадіазолільну, ін-долільну, бензофуранільну тощо.

Алкільні групи, що можуть бути репрезентовані R^2 і R^3 , можуть бути лінійними ланцюгами або, при достатній кількості (мінімум 3) атомів карбону, бути розгалуженими і/або циклічними ланцюгами. Якщо є достатня кількість (мінімум 4) атомів карбону, такі алкільні групи можуть також бути частково циклічними/ациклічними. Такі алкільні групи можуть також бути насиченими або, якщо є достатня кількість (мінімум 2) атомів карбону, бути ненасиченими.

Галогенові групи, якими можуть бути заміщені R^2 і R^3 , включають флуор, хлор, бром і йод.

Коли R^1 є $C(O)OR^3$, бажані групи R^3 можуть бути:

(а) лінійним, розгалуженим або циклічним C_{3-6} алкілом, наприклад, C_{4-6} цикло-алкілом;

C_{1-2} алкіларильними групами, наприклад, бензилом, як варіант, заміщеним, як було зазначено вище.

Бажаними є сполуки формули Ia, у яких R^1 - OR^2 .

Коли R^1 - OR^2 , бажаними групами R^2 можуть бути:

(а) H;

(b) незаміщений, лінійний, розгалужений або циклічний C_{1-8} (наприклад, C_{1-6}) алкіл, наприклад, лінійний C_{1-3} алкіл (наприклад, етил або метил), розгалужений C_{3-8} алкіл (наприклад, і-пропіл, і-бутил або 4-гептил) або циклічний C_{4-7} алкіл (тобто C_{1-7} циклоалкіл, наприклад, циклобутил або циклогексил);

(c) C_{1-2} алкілоксифеніл (наприклад, C_{2} алкілоксифеніл), у якому фенільна група, як варіант, заміщена одним або більше замісниками, як було зазначено вище, (наприклад, трифлуорометил);

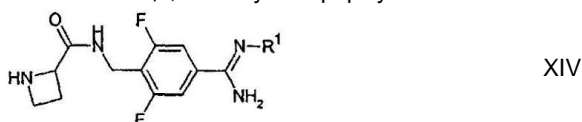
(d) C_{1-2} алкіларил (наприклад, метиларил), у якому арильна група є фенілом, піридинілом, оксазолілом або ізоксазолілом, причому останні три групи, як варіант, заміщені одним або більше замі-

сниками, вказаними вище (наприклад, метоксилом, метилом, бромом і/або хлором).

Бажані сполуки формули Ia включають ті, у яких R^1 - OR^2 , а R^2 - лінійний, розгалужений або циклічний, C_{1-6} (наприклад, C_{1-4}) алкіл, наприклад, метил, етил, n-пропіл, i-пропіл або циклобутил.

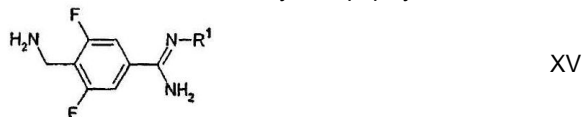
Сполуки формули Ia можна приготувати, застосовуючи один або більше наведених далі способів:

(а) реакція відповідної сполуки формули II, визначеної вище, з сполукою формули XIV:



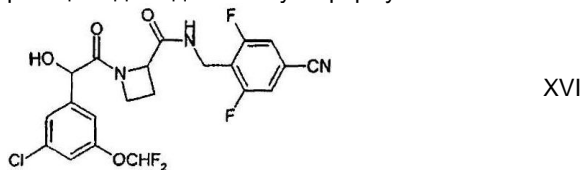
де R^1 є подібною визначеній вище, наприклад, в умовах, подібних описаним вище для синтезу сполук формули I;

(b) реакція відповідної сполуки формули IV, визначеної вище, з сполукою формули XV:



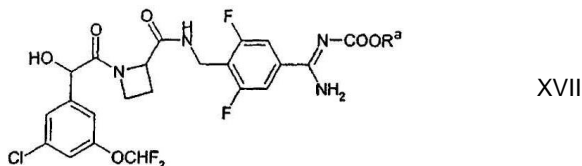
де R^1 є подібною визначеній вище, наприклад, в умовах, подібних описаним вище для синтезу сполук формули I;

(c) для сполук формули Ia, у яких R^1 - OH, - реакція відповідної сполуки формули XVI:



з гідроксиламіном, наприклад, в умовах, відомих фахівцям;

(d) для сполук формули Ia у яких R^1 - OR^2 , - реакція захищеної похідної відповідної сполуки формули I, яка є, наприклад, сполукою формули XVII:



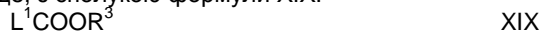
де R^a є, наприклад, $-CH_2CH_2-Si(CH_3)_3$ або бензилом, або їх таутомером, з сполукою формули XVIII:



де R^2 є подібною визначеній вище, або з її кислотоадитивною сіллю, наприклад, при температурі між кімнатною і температурою флегми у присутності відповідного органічного розчинника (наприклад, ТГФ, CH_3CN , ДМФ або ДМСО), з подальшим видаленням групи $-C(O)OR^a$, в умовах, відомих фахівцям (наприклад, реакцією з ФТБА або ТФК (наприклад, як описано нижче));

(е) для сполук формули Ia, у яких R^1 - OH, - реакція сполуки формули XVII, визначеної вище, у якій R^1 - бензил, з гідроксиламіном або його кислотоадитивною сіллю, наприклад, в умовах, відомих фахівцям;

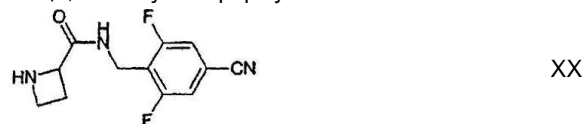
(f) для сполук формули Ia, у яких R^1 - $COOR^3$, - реакція відповідної сполуки формули I, визначеної вище, з сполукою формули XIX:



де L^1 - належна відщеплювальна група, наприклад, галогенова або нітрофенільна (наприклад, 4-нітрофеніл), а R^3 є подібною визначеній вище, наприклад, при кімнатній температурі, у присутності придатної основи (наприклад, NaOH, наприклад, у водному розчині) і у належному органічному розчиннику (наприклад, метиленхлориді); або

(g) для сполук формули Ia, у яких R^1 - OCH_3 або OCH_2CH_3 , - реакція відповідної сполуки формули Ia, у якій R^1 - OH, з диметилсульфатом або діетилсульфатом, відповідно, наприклад у присутності належної основи (наприклад, гідроксиду лужного металу, наприклад, KOH (наприклад, у водному розчині при, наприклад, 50%-му (за масою)) з належним каталізатором (наприклад, четвертичному амонійгалогеніду, наприклад, хлориді бензилтриметиламонію (наприклад, у розчині CH_2Cl_2 або ТГФ, наприклад, 10%-му (мас)).

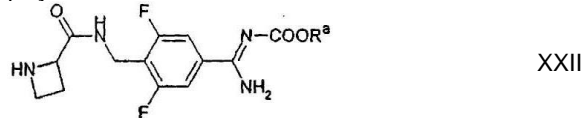
Сполуки формули XVI можна приготувати реакцією відповідної сполуки формули II, визначеної вище, з сполукою формули XX:



наприклад, в умовах, подібних описаним вище для синтезу сполуки формули I. У іншому варіанті сполуки формули XVI можна приготувати реакцією відповідної сполуки формули IV, визначеної вище, з сполукою формули XXI:



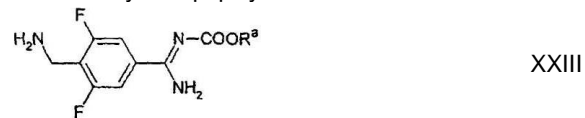
наприклад в умовах, подібних описаним вище для синтезу сполуки формули I. Сполуки формули XVII можна приготувати реакцією відповідної сполуки формули II, визначеної вище, з сполукою формули XXII:



де R^a є подібною визначеній вище, наприклад, в умовах, подібних описаним вище для синтезу сполук формули I.

У іншому варіанті сполуки формули XVII можна приготувати реакцією відповідної сполуки формули I з сполукою, що відповідає сполуці формули XIX, у якій група R^3 замінена групою R^a , подібною визначеній вище, наприклад, в умовах, описаних вище при приготуванні сполуки формули Ia.

Сполуки формул XIV і XXII можна приготувати реакцією ацетидин-2-карбонової кислоти з відповідною сполукою формули XV, визначеною вище, або з сполукою формули XXIII:



де R^a є подібною визначеній вище, наприклад, в умовах, подібних описаних вище для синтезу сполук формули I.

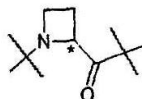
Сполуки формул XV, XVIII, XIX, XX, XXI і XXIII або можна придбати, або вони відомі з літератури, або можуть бути отримані методами, схожими на описані тут, або звичайними стандартними процедурами синтезу з доступних вихідних матеріалів з використанням належних реагентів і у належних реакційних умовах. Наприклад, сполуки формули XX можна приготувати реакцією відповідної сполуки формули XXI з ацетидин-2-карбоною кислотою, наприклад, в умовах, подібних описаним вище.

Сполуки формул I і Ia, визначені вище, і їх похідні далі називаються "сполуками винаходу".

Сполуки винаходу можуть проявляти таутомерність. Винахід включає всі таутомерні форми і суміші. Слід відзначити таутомерні форми, з'єднані з позицією подвійного зв'язку амідинової функціональності у сполуці формули Ia і з позицією замісників R^1 .

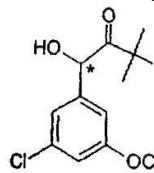
Сполуки винаходу також містять два або більше асиметричних атомів карбону і тому можуть проявляти оптичну і/або діастереомерність. Діастереомери можна розділити звичайними методами, наприклад, хроматографією. Різні стереоізомери можна ізолювати сепарацією рацемічної або іншої суміші сполуки за допомогою відомих способів, наприклад, використовуючи PXBP. Бажані оптичні ізомери можна також приготувати реакцією належних оптично активних вихідних матеріалів в умовах, що не призводять до рацемізації або епімеризації, або дериватизацією, наприклад, гомохіральною кислотою, з подальшою сепарацією діастереомерних похідні звичайними методами (наприклад, PXBP, хроматографією на кремнеземі). Всі стереоізомери включено в об'єм винаходу.

Бажаними є сполуки винаходу, у яких фрагмент:



має S-конфігурацію.

Бажаними сполуками винаходу є також ті, що включають структурний фрагмент:



який має R-конфігурацію.

Хвилясті лінії на зв'язках у цих двох фрагментах позначають положення зв'язків фрагментів.

Отже, бажані сполуки винаходу включають: $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)\text{-(S)Aze-Pab}(2,6\text{-diF})$;

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)\text{-(S)Aze-Pab}(2,6\text{-diF})(\text{OMe})$;

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)\text{-(S)Aze-Pab}(2,6\text{-diF})(\text{OH})$.

Фахівцю зрозуміло, що у процесах, описаних вище і далі, функціональні групи інтермедіатів можуть потребувати захисту захисними групами.

Функціональні групи, які бажано захищати, включають гідрокси- і аміногрупи і карбонову кислоту. Придатними захисними групами гідроксигруп можуть бути, як варіант, заміщені і/або ненасичені алкільні групи (наприклад, метил, аліл, бензил або трет-бутил), триалкілсилільні або діарилалкілсилільні групи (наприклад, t-бутилдиметилсиліл, t-бутилдифенілсиліл або триметилсиліл) і тетрагідропіраніл. Придатними захисними групами карбонової кислоти можуть бути, наприклад, C_{1-6} алкілові або бензилові естери.

Придатними захисними групами для аміну і амідину можуть бути t-бутилоксикарбоніл, бензилоксикарбоніл або 2-триметилсилілетоксикарбоніл (Теос). Нітрогени амідину можуть бути також захищені гідрокси- або алкоксигрупами можуть бути моно-або дизахищеними.

Захист і зняття захисту для функціональних груп можна проводити до або після сполучення, або до або після будь-якої реакції у описаних вище схемах.

Захисні групи можуть бути зняті згідно з відомими або описаними нижче способами.

Фахівцю зрозуміло, що для одержання сполук винаходу у інший, а у деяких випадках, зручніший спосіб окремі операції описаного вище процесу можна виконувати у іншому порядку і/або окремі реакції можна проводити на інших стадіях процесу (тобто вводити замісники і/або проводити хімічні перетворення і використовувати інтермедіати, відмінні від зазначених вище для конкретних реакцій). У таких випадках може не бути необхідності використовувати захисні групи.

Хімічні особливості визначають необхідність і тип захисних груп, а також послідовність операцій синтезу.

Використання захисних груп описано [у "Protective Groups у Organic Chemistry", edited by J W F McOmie, Plenum Press (1973), і "Protective Groups у Organic Synthesis", 3rd edition, T.W. Greene & P.G.M. Wutz, Wiley-Interscience (1999)].

Захищені похідні сполук винаходу можуть бути хімічно перетворені у сполуки винаходу з використанням стандартних методів зняття захисту (наприклад, гідрогенуванням). Фахівцю зрозуміло, що певні сполуки формули Ia також можна вважати "захищеними похідними" сполук формули I.

Медичне і фармацевтичне застосування

Сполуки винаходу як такі можуть володіти фармакологічною активністю. Сполуки винаходу з такою властивістю включають (але не лише) сполуки формули I.

Однак, інші сполуки винаходу (включаючи сполуки формули Ia) можуть не проявляти такої активності, але, будучи введені парентерально або орально, можуть метаболізуватись у тілі з утворенням фармакологічно активних сполук (включаючи (але не лише) сполуки формули I). Такі сполуки (а також сполуки з деякою фармакологічною активністю, але суттєво нижчою за активність "активних сполук", у які вони метаболізуються), можуть розглядатись як "проліки" активних сполук.

Отже, сполуки винаходу, що володіють фармакологічною активністю і/або метаболізуються у тілі після перорального або парентерального вве-

дення з утворенням сполук, що володіють фармакологічною активністю, можна розглядати як фармацевтичні препарати.

Одним з аспектів винаходу є фармацевтичне використання сполук винаходу.

Зокрема, сполуки винаходу є потужними інгібіторами тромбіну як такі і/або (наприклад, у випадку проліків) метаболізуються після перорального або парентерального введення з утворенням потужних інгібіторів тромбіну, як це, наприклад, може бути продемонстровано описаними нижче тестами.

"Проліки інгібітора тромбіну" включають сполуки, що утворюють інгібітор тромбіну у кількості, що може бути експериментально виявлена через заздалегідь визначений час (наприклад, приблизно 1 год.) після перорального або парентерального введення (див., наприклад, Test E) або, у іншому варіанті, після інкубування у присутності мікросом печінки (див., наприклад, Test G).

Отже, можна сподіватись, що сполуки винаходу можуть бути використані при станах, коли потрібно інгібувати тромбін, і/або коли показано антикоагуляційну терапію, включаючи такі випадки:

Лікування і/або профілактика тромбозу і гіперкоагуляції у крові і/або тканинах тварин, включаючи людину. Відомо, що гіперкоагуляційність може призвести до тромбо-емболічних захворювань. Серед станів, пов'язаних з гіперкоагуляцією і тромбо-емболічними захворюваннями, можна відзначити наслідкову або набуту резистивність до активованого протейну C, наприклад, мутацію фактора V (фактора V Leiden), і наслідковий або набутий дефіцит антитромбіну III, протейну C, протейну S, кофактора гепарину II. Інші стани, пов'язані, як відомо, з гіперкоагуляцією і тромбо-емболічною хворобою, включають циркуляційні антифосфоліпідні антитіла (Lupus anticoagulant), гемоцистеїнемію, індуковану гепарином тромбоцитопенію, і дефекти у фібринолізі, а також коагуляційні синдроми (наприклад, розсіяну внутрішньосудинну коагуляцію (DIC)) і травми судин взагалі (наприклад, при хірургічному втручанні).

Лікування станів, пов'язаних з небажаним надлишком тромбіну, але без ознак гіперкоагуляції, які виникають при таких нейродегенеративних хворобах, як хвороба Альцгеймера.

Слід відзначити терапію і/або профілактику таких станів, як тромбоз вени (наприклад, ГТБ) і легеневий емболізм, артеріальний тромбоз (наприклад, при інфаркті міокарду, нестійкій стенокардії, викликаному тромбозом інсульту і периферійному артеріальному тромбозі), і системний емболізм передсердя при атріальній фібриляції (наприклад, невальвулярній атріальній фібриляції) або від лівого шлуночка після трансмурального інфаркту міокарда, або спричинений конгестивним серцевим нападом; профілактику реоклюзії (тобто тромбозу) після тромболізу, перкутальної транслюмінальної ангіопластики (РТА) і операції коронарного шунтування; відвертання ретромбозу після мікрохірургії і судинної хірургії взагалі.

Подальші показання включають терапевтичне і/або профілактичне лікування розсіяної внутрішньосудинної коагуляції, спричиненої бактеріями, множинними травмами, інтоксикацією або будь-

яким іншим механізмом; антикоагуляційне лікування, коли кров контактує з сторонніми поверхнями у тілі, наприклад, судинним трансплантатом, судинними стентами і катетерами, механічними і біологічними протезами клапанів або іншими медичними пристроями; і антикоагуляційне лікування, коли кров контактує з медичними пристроями назовні тіла, наприклад, при кардіоваскулярній хірургії з використанням штучних легенів і серця або при гемодіалізі; терапевтичне і/або профілактичне лікування ідіопатичного синдрому порушення дихання у дорослих, легеневого фіброзу після лікування радіоопромінюванням або хіміотерапії, септичного шоку, септицемії, запальних реакцій, включаючи (але не лише) набряк, гострий або хронічний атеросклероз, наприклад, коронарну артеріальну хворобу і формування атеросклерозних бляшок, мозкову артеріальну хворобу, церебральний інфаркт, церебральний тромбоз, церебральний емболізм, периферійну артеріальну хворобу, ішемію, стенокардію (включаючи нестійку), реперфузійну травму, рестеноз після перкутаної транслюмінальної ангіопластики (РТА) і операції шунтування коронарної артерії.

Сполуки винаходу, що інгібують трипсин і/або тромбін, можуть бути використані при лікуванні панкреатиту.

Отже, сполуки винаходу показані у терапевтичному і/або профілактичному лікуванні таких станів.

Згідно з іншим аспектом, винахід включає спосіб лікування стану, який вимагає інгібування тромбіну, і який включає введення терапевтично ефективного кількості сполуки винаходу пацієнту, що страждає від такого стану або є сприйнятливим до нього.

Сполуки винаходу в нормальних умовах можна вводити орально, внутрішньовенно, підшкірно, букально, ректально, дермально, назально, трахеально, бронхіально, будь-яким парентеральним шляхом або інгаляцією, у формі фармацевтичних композицій, що містять сполуку винаходу у фармацевтично прийнятній дозованій формі.

Залежно від розладу і пацієнта, що отримує лікування, і способу введення, композиції вводять у різних дозах.

Сполуки винаходу можна також комбінувати і/або вводити разом будь-яким антитромботичними агентами різних механізмів дії, наприклад, з антитромботичними ацетилсаліциловою кислотою, тиклопідіном і клопідогрелем; рецептором тромбосану і/або інгібіторами синтетази; антагоністами рецептора фібриногену; міметиками простагліну; інгібіторами фосфодіестерази; антагоністами ADP-рецептора (P₂T); і інгібіторами карбоксипептидази U (CPU).

Сполуки винаходу можна комбінувати і/або вводити разом з тромболітиками, наприклад, з одним або більше активаторами тканевого плазміногену (природними, рекомбінантними або модифікованими), стрептокіназою, урокіназою, проурокіназою, комплексом активатора анісолілової плазміноген-стрептокінази (APSAC), активаторів тваринного плазміногену слинної залози, тощо, при лікуванні тромботичних захворювань, зокрема, інфаркту міокарду.

Згідно з ще одним аспектом, винахід включає фармацевтичну композицію, що містить сполуку винаходу у суміші з фармацевтично прийнятним наповнювачем, розріджувачем або носієм.

Придатні денні дози сполук винаходу при терапевтичному лікуванні людини становлять приблизно 0,001-100мг на кг маси тіла при пероральному введенні і 0,001-50мг на кг маси тіла при парентеральному введенні, виключаючи масу будь-якого кислотного проти-іону.

Далі термін "лікування" включає терапевтичне і/або профілактичне лікування.

Перевагами сполук винаходу є те, що вони є більш ефективними, менш токсичними, більш довгодіючими, мають ширший діапазон дії, є більш потужними, створюють менше побічних явищ, легше поглинаються, мають кращий фармакокінетичний профіль (наприклад, вищу пероральну біодоступність і/або менший кліренс, ніж відомі сполуки і/або мають інші корисні фармакологічні, фізичні або хімічні властивості).

Перевагою сполук винаходу є також те, що їх можна вводити менш часто, ніж відомі сполуки.

Біологічні тести

Можуть бути застосовані такі процедури.

Test A

Визначення часу коагуляції тромбіну (ТТ)

Розчин інгібітора (25мкл) інкубують з плазмою (25мкл) три хвил. Додають людський тромбін (Т 6769; Sigma Chem. Co або Hematologic Technologies) у буферному розчині, рН7,4 (25мкл, 4,0 одиниць NIH/мл), і вимірюють час коагуляції у автоматичному пристрої (KC 10; Amelung).

Час коагуляції тромбіну (ТТ) репрезентується як абсолютні значення (сек.), а також як відношення ТТ без інгібітора (ТТ₀) до ТТ з інгібітором (ТТ_i). Це відношення (в межах 1-0) наносять на графік залежності від логарифма концентрації інгібітора і суміщають з сигмовидними кривими реакції на дозу згідно з рівнянням

$$y = a/[1 + (x/IC_{50})^s]$$

де $a=1$ (максимальне значення), s = крутість кривої залежності від дози; IC_{50} - концентрація інгібітора, яка подвоює час коагуляції. Обчислення виконують на ПК, використовуючи програмний пакет GraFit, Version 3, з початковими значеннями для рівняння: початок - 0, визначення кінця - 1 (Erithacus Software, Robin Leatherbarrow, Imperial College of Science, London, UK).

Test B

Визначення інгібування тромбіну у хромогенному робототехнічному аналізі

Потужність інгібітора тромбіну вимірюють з використанням хромогенного субстрату роботом з процесором Plato 3300 мікроплат (Rosys AG, CH-8634 Hombrechtikon, Switzerland), з використанням 96-гніздових півоб'ємних мікролітрових плат (Costar, Cambridge, MA, USA; Cat No 3690). Маточні розчини тестованої речовини у ДМСО (72мкл), 0,1-1ммоль/л, послідовно розбавляють до 1:3 (24+48мкл) ДМСО з одержанням 10 різних концентрацій, які аналізують як зразки. 2мкл тестового зразка розбавляють 124мкл аналітичного буфера, до буфера додають 12мкл розчину хромогенного субстрату (S-2366, Chromogenix, Molndal, Sweden) і потім 12мкл розчину α -тромбіну (Human α -

тромбін, Sigma Chemical Co. або Hematologic Technologies), і зразки перемішують. Кінцеві концентрації аналізу:

- тестована речовина - 0,00068 - 13,3ммоль/л,
- S-2366 - 0,30ммоль/л,
- α -тромбін - 0,020дин. NIH/мл.

Лінійний інкремент абсорбції протягом 40хвил. інкубації при 37°C використовується для обчислення % інгібування для тестованих зразків порівняно з чистими зразками без інгібітора. Значення IC_{50} , визначене роботом, яке відповідає концентрації інгібітора, що викликає 50%-не інгібування активності тромбіну, обчислюється через криву залежності log активності тромбіну і % інгібування.

Тест С

Визначення константи К інгібування для людського тромбіну

Визначення К, виконують методом хромогенного субстрату, при 37°C на центрифуговому аналізаторі Cobas Bio (Roche, Basel, Switzerland). Залишкову активність ензима після інкубації людського α -тромбіну з різними концентраціями тестованої сполуки визначають при трьох різних концентраціях субстрату і вимірюють як зміну у оптичній поглинальності на 405нм.

Розчини тестованої сполуки (100мкл; у буфері або розсолі з 10г/л АБС) змішують з 200мкл людського α -тромбіну (Sigma Chemical Co) у аналітичному буфері (0,05моль/л Трис-НCl, рН7,4, йонна сила 0,15, коригована NaCl), що містить АБС (10г/л), і аналізують як зразки у Cobas Bio. Додають 60мкл зразка, разом з 20мкл води, до 320мкл субстрату S-2238 (Chromogenix AB, Molndal, Sweden) у аналітичному буфері, ведуть моніторинг зміни поглинальності (AA/хвил.). Кінцеві концентрації S-2238 - 16, 24 і 50мкл/л і тромбіну - 0,125дин. NIH/мл.

Стала швидкість реакції використовується для побудови графіків Диксона (Dixon), тобто діаграм концентрації інгібітора у залежності від $1/(AA/хвил.)$. Для реверсивних конкурентних інгібіторів точки даних для різних концентрацій субстрату звичайно лежать на прямій, яка перетинає x у точці K_i .

Тест D

Визначення часу часткового активування тромбопластину

APTT визначають у об'єднаній нормальній цитрованій плазмі людини з реагентом РТТ Automated 5 (від Stago). інгібітори додають до плазми (10мкл розчину інгібітора до 90мкл плазми і інкубують з реагентом АРТТ протягом 3хвил., далі додають 100мкл розчину хлориду кальцію (0,025M) і АРТТ визначають, використовуючи аналізатор KC10 (Ame-lung) коагуляції згідно з інструкцією виробника реагента.

Час коагуляції репрезентують в абсолютних значеннях (сек.), а також як відношення АРТТ без інгібітора (АРТТ₀) до АРТТ з інгібітором (АРТТ_i). Це відношення (в межах 1-0) наносять на графік залежності від логарифма концентрації інгібітора і суміщають з сигмовидними кривими реакції на дозу згідно з рівнянням

$$y = a/[1 + (x/IC_{50})^s]$$

де $a=1$ (максимальне значення), s = крутість кривої залежності від дози; і IC_{50} = концентрація інгібітора, яка подвоює час коагуляції. Обчислення виконують на ПК, використовуючи програмний пакет GraFit, Version 3, з початковими значеннями для рівняння: початок - 0, визначення кінця - 1 (Erithacus Software, Robin Leatherbarrow, Imperial College of Science, London, UK). $IC_{50}APTT$ є концентрацією інгібітора, яка подвоює APTT.

Тест Е

Визначення часу тромбіну *ex vivo*

Інгібування тромбіну після орального або парентерального введення сполук винаходу, розчинених у суміші етанолі: SolutolK: вода (5:5:90), визначають у щурів у стані пильнування, яким за один-два дні перед експериментом був введений катетер для відбору зразків крові з каротидної артерії. Під час експерименту у пластмасові трубки у фіксовані моменти після введення сполуки відбирають зразки крові у пластмасові трубки, що містять 1 частину розчину цитрату натрію (0,13моль/л) і 9 частин крові. Трубки центрифугують для одержання збідненої на бляшки плазми.

50мкл зразків плазми осаджують з 100мкл холодного ацетонітрилу. Зразки центрифугують 10хвил. при 4000об./хвил. 75мкл надосадової рідини розбавляють 75мкл 0,2%-ї мурашиної кислоти, 10мкл одержаного розчину аналізують PX-MS/MS і концентрації інгібітора тромбіну визначають, використовуючи стандартні криві.

Тест F

Визначення кліренса плазми у щура

Кліренс плазми оцінюють у самців щурів Sprague Dawley. Сполуку розчиняють у воді і вводять підшкірною болюсною ін'єкцією дозою 4мкмоль/кг. Зразки крові відбирають з частим інтервалом протягом до 5год. після введення. Зразки крові центрифугують, плазму відокремлюють від клітин крові і вносять у колби з цитратом (кінцева концентрація 10%). 50мкл зразків плазми осаджують з 100мкл холодного ацетонітрилу. Зразки центрифугують 10хвил. при 4000об./хвил. 75мкл надосадової рідини розбавляють 75мкл 0,2%-ї мурашиної кислоти, 10мкл одержаного розчину аналізують PX-MS/MS і концентрації інгібітора тромбіну визначають, використовуючи стандартні криві. Площу під профілем "концентрація плазми - час" оцінюють, використовуючи трапецеїдалне правило логарифм/лінійність і екстраполюють у часі до нескінченності. Кліренс плазми (CL) визначають як

$CL = \text{Доза} / \text{Значення ППК умл/хвил./кг.}$

Тест G

Визначення стабільності *in vitro*

Готують мікросоми печінки щурів Sprague-Dawley і зразки людської печінки згідно з внутрішніми СРПі. Сполуки інкубують при 37°C при повній концентрації протеїну мікросомів 3мг/мл у 0,05моль/л Tris-буфері при pH7,4, у присутності кофакторів НААД (2,5ммоль/л) і НААДФ (0,8ммоль/л). Початкові концентрації сполуки - 5 або 10мкмоль/л. Зразки для аналізу відбираються протягом не менше 60хвил. після початку інкубації. Ензимну активність у відібраному зразку негайно припиняють додаванням 20%-ї муристової кислоти у кількості, що відповідає 3,3% повного об'єму зра-

зка. Кінцеву концентрацію сполуки (FINAL CONC) у 60 хвилинному зразку визначають через PXMS, використовуючи як еталон зразок, відібраний у нульовий момент часу (START CONC). % деградації інгібітора тромбіну обчислюють як:

$$100\% \times (\text{START CONC} - \text{FINAL CONC}) / \text{START CONC}$$

Тест Н

Модель артеріального тромбозу

Пошкодження судини викликали локальним нанесенням $FeCl_3$ на каротидну артерію. Щурів анастезували внутрішньочеревним введенням пентобарбіталу натрію (80мг/кг, Apoteksbolaget; Umea, Sweden), з подальшою безперервною інфузією (12г/кг/год.) протягом експерименту. Температуру тіла щура протягом експерименту підтримували на рівні 38°C зовнішнім підігріванням. Експеримент починається 5 хвилинним контрольним періодом. Через 5хвил. внутрішньовенно вводять людський ^{125}I -фібриноген (80kBq; IM53; Amersham International, Buckinghamshire, UK), який використовують як маркер при подальшому введенню фібриногену у тромб. Близький кінець сегмента каротидної артерії вводять у відкриту по довжині пластмасову трубку (6мм; Silastic®; Dow Corning, MI, USA), яка містить просочений $FeCl_3$ (2мкл; 55% (за масою); Merck, Darmstadt, Germany) фільтрувальний папір (діаметр 3мм; IF; Munktel, Grycksbo, Sweden). Ліву каротидну артерію піддають дії $FeCl_3$ протягом 10хвил., потім виймають з пластмасової трубки і просочують у сольовому розчині. Через 50хвил. каротидну артерію видаляють і промивають сольовим розчином. Відбирають також еталонні зразки крові для визначення кров'яної активності ^{125}I через 10хвил. після ін'єкції ^{125}I -фібриногену і наприкінці експерименту. ^{125}I -активність у еталонних зразках крові і сегменті судини вимірюють гамма-лічильником (1282 Cotnugamma; LKB Wallac Oy, Turku, Finland), і удень експерименту вимірюють розмір тромбу через кількісний показник активності ^{125}I , введеного у сегмент судини, відносно ^{125}I -активності у крові (срм/мг).

TPX виконують на силікагелі. Хіральний аналіз PXBP виконують, використовуючи колонку 46мм×250мм ChiraPXel OD з 5-сантиметровою захисною колонкою.

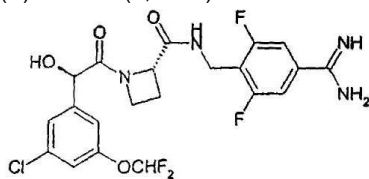
Температуру колонки підтримують на рівні 35°C, витрата потоку - 1,0мл/хвил. Використовується детектор УФ Gilson 115 на 228нм. Мобільна фаза складається з гексанів, етанолу і трифлуороцтової кислоти з належними відношенням для кожної сполуки. Звичайно продукт розчиняють у мінімальній кількості етанолу і розбавляють мобільною фазою.

PX-MS/MS проводять, використовуючи інструмент HP-1100, обладнаний інжектором CTC-PAL і колонкою 5мкм, 4×100мм ThermoQuest, Hypersil EDS-CIS з використанням детектора MS API-3000 (Sciex). Витрата потоку - 1,2мл/хвил., мобільна фаза (градієнт) складається з 10-90% ацетонітрилу з 90-10% 4Мм водного ацетату амонію і з 0,2% мурашиної кислоти.

Спектр 1H ЯМР реєструють, використовуючи тетраметилсилан як внутрішній стандарт. Спектр

^{13}C ЯМР реєструють, використовуючи як внутрішній стандарт наведені дейтеровані розчинники.

Приклад 1 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R,S)CH(QH)C(O)-(S)Aze-Pab}(2,6\text{-diF})$



(i) 3-хлор-5-метоксибензальдегід

3,5-дихлоранізол (74,0г, 419ммоль) у ТГФ (200мл) додають краплями до металевого магнію (14,2 г, 585ммоль, промитого 0,5N HCl) у ТГФ (100мл) при 25°C. Після додання, додають краплями 1,2-диброметан (3,9г, 20,8ммоль). Одержану темнокоричневу суміш гріють під зворотним холодильником протягом 3год. Суміш охолоджують до 0°C і однією порцією додають N,N-ДМФ (60мл). Суміш розділяють діетиловим етером (3×400мл) і 6N HCl (500мл). Об'єднані органічні екстракти промивають 400мл і 6N HCl (500мл). Об'єднані органічні екстракти промивають розсолем (300мл), сушать (Na_2SO_4), фільтрують і концентрують у вакуумі, одержуючи масло. Флеш-хроматографія (2х) на силікагелі з елюентом Hex:EtOAc (4:1) дає бажану сполуку (38,9г, 54%) у вигляді жовтого масла.

^1H ЯМР (300МГц, CDCl_3) δ 9,90 (s, 1H), 7,53 (s, 1H), 7,38 (s, 1H), 7,15 (s, 1H), 3,87 (s, 3H).

(ii) 3-хлор-5-гідроксибензальдегід

Розчин 3-хлор-5-метоксибензальдегіду (22,8г, 134ммоль; див. опер. (i)) у CH_2Cl_2 (250мл) охолоджують до 0°C. Протягом 15хв. додають краплями трибромід бору (15,8мл, 167ммоль). Після перемішування реакційної суміші протягом 2год. повільно додають H_2O (50мл). Розчин потім екстрагують Et_2O (2×100мл), органічні шари об'єднують, сушать (Na_2SO_4), фільтрують і концентрують у вакуумі. Флеш-хроматографія на силікагелі з елюентом Hex:EtOAc (4:1) дає бажану сполуку (5,2г, 25%).

^1H ЯМР (300МГц, CDCl_3) δ 9,85 (s, 1H), 7,35 (s, 1H), 7,20 (s, 1H), 7,10 (s, 1H), 3,68 (s, 1H).

(iii) 3-хлор-5-дифлуорметоксибензальдегід

Розчин 3-хлор-5-гідроксибензальдегіду (7,5г, 48ммоль; опер. (ii)) у 2-пропанолі (250мл) і 30% KOH (100мл) гріють під зворотним холодильником. З перемішуванням протягом 2год. у реакційну суміш бульбашками додають CHClF_2 , охолоджують, підкислюють HCl і екстрагують EtOAc (2×100мл). Органічні компоненти промивають розсолем (100мл), сушать (Na_2SO_4), фільтрують і концентрують у вакуумі. Флеш-хроматографія на силікагелі з елюентом Hex:EtOAc (4:1) дає бажану сполуку (4,6г, 46%).

^1H ЯМР (300МГц, CDCl_3) δ 9,95 (s, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,40 (s, 1H), 6,60 (t, $J_{\text{H-F}}=71,1\text{Гц}$, 1H)

(iv) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R,S)CH(OTMS)CN}$

Розчин 3-хлор-5-дифлуорметоксибензальдегіду (4,6г, 22,3ммоль; опер. (iii)) у CH_2Cl_2 (200мл) охолоджують до 0°C. Додають ZnI_2 (1,8г, 5,6ммоль) і триметилсиліліціанід (2,8г, 27,9ммоль) і реакційну суміш залишають досягти кімнатної температури, перемішують

15год., суміш частково концентрують у вакуумі і одержують бажану сполуку у вигляді рідини, яку безпосередньо використовують у операції (v) без очищення і характеристики.

(v) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R,S)CH(OH)C(NH)OEt}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R,S)CH(OTMS)CN}$ (6,82г, приблизно 22,3ммоль; опер. (iv)) додають краплями до HCl/EtOH (500мл). Реакційну суміш перемішують 15год., потім частково концентрують у вакуумі і одержують бажану сполуку у вигляді рідини, яку безпосередньо використовують у операції (vi) без очищення і характеристики.

(vi) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R,S)CH(OH)C(O)OEt}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R,S)CH(OH)C(NH)OEt}$ (6,24г, приблизно 22,3ммоль; опер. (v)) розчиняють у ТГФ (250мл), додають 0,5M H_2SO_4 (400мл) і реакцію перемішують при 40°C 65год., охолоджують і потім частково концентрують у вакуумі для видалення більшої частини ТГФ. Реакційну суміш екстрагують Et_2O (3×100мл), сушать (Na_2SO_4), фільтрують і концентрують у вакуумі, одержуючи бажану сполуку як тверду речовину, яку безпосередньо використовують у операції (vii) без очищення і характеристики.

(vii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R,S)CH(OH)C(O)OH}$

Розчин $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R,S)CH(OH)C(O)OEt}$ (6,25г, приблизно 22,3ммоль; опер. (vi)) у 2-пропанолі (175мл) і 20% KOH (350мл) перемішують при кімнатній температурі 15год., реакцію потім частково концентрують у вакуумі для видалення більшої частини 2-пропанолу. Залишок підкислюють 1M H_2SO_4 , екстрагують Et_2O (3×100мл), сушать (Na_2SO_4), концентрують у вакуумі і одержують тверду речовину. Флеш-хроматографія на силікагелі з елюентом $\text{CHCl}_3\text{:MeOH:конц. NH}_4\text{OH}$ (6:3:1) дає амонієву сіль бажаної сполуки, яку потім розчиняють у суміші EtOAc (75мл) і H_2O (75мл) і підкислюють 2N HCl. Органічний шар відділяють і промивають розсолем (50мл), сушать (Na_2SO_4), концентрують у вакуумі і одержують бажану сполуку (3,2г, 57% від опер. (iv)-(vii)).

^1H ЯМР (300МГц, CD_3OD) δ 7,38 (s, 1H), 7,22 (s, 1H), 7,15 (s, 1H), 6,89 (t, $J_{\text{H-F}}=71,1\text{Гц}$, 1H), 5,16 (s, 1H).

(viii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (a) і $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(S)CH(OAc)C(O)OH}$ (b)

Суміш $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R,S)CH(OH)C(O)OH}$ (3,2г, 12,7ммоль; опер. (vii)) і Lipase PS "Amano" (прибл. 2,0г) у вінілацетаті (125мл) і МТБЕ (125мл) гріють під зворотним холодильником 48год. Реакційну суміш охолоджують, фільтрують через Celite® і фільтрувальний брикет промивають EtOAc. Фільтрат концентрують у вакуумі, піддають флеш-хроматографії на силікагелі з елюентом з $\text{CHCl}_3\text{:MeOH:конц. NH}_4\text{OH}$ (6:3:1) і одержують амонієву сіль бажаних сполук (a) і (b). Сполуку (a) у вигляді солі розчиняють у H_2O , підкислюють 2N HCl і екстрагують EtOAc. Органічний шар промивають розсолем, сушать (Na_2SO_4), фільтрують, концентрують у вакуумі і одержують бажану сполуку (a) (1,2г, 37%).

Для сполуки (a)

^1H ЯМР (300МГц, CD_3OD) δ 7,38 (s, 1H), 7,22 (s, 1H), 7,15 (s, 1H), 6,89 (t, $J_{\text{H-F}}=71,1\text{Гц}$, 1H), 5,17 (s, 1H).

(ix) 2,6-дифлуор-4[(метилсульфініл)(метилтіо)метил]бензонітрил (Метилсульфініл)(метилтіо)метан (7,26г, 0,0584моль) розчиняють у 100мл сухого ТГФ під аргоном і охолоджують до -78°C. Краплями додають бутиллітій у гексані (16мл 1,6М, 0,0256моль) з перемішуванням. Суміш перемішують 15хвил. Тим часом розчин 3,4,5-трифлуорбензонітрилу (4,0г, 0,025ммоль) у 100мл сухого ТГФ охолоджують до -78°C під аргоном і через канюлю до цього розчину протягом 35хвил. додають попередній розчин. Через 30хвил. охолоджуючу ванну видаляють і після досягнення реакцією кімнатної температури її вливають у 400мл води. ТГФ випарюють і залишковий водний шар екстрагують тричі діетилетером. Об'єднану етерну фазу промивають водою, сушать (Na₂SO₄) і випарюють. Вихід 2,0г (30%).

¹H ЯМР (500МГц, CDCl₃) δ 7,4-7,25 (m, 2H), 5,01 (s, 1H, діастереомер), 4,91 (s, 1H, діастереомер), 2,88 (s, 3H, діастереомер), 2,52 (s, 3H, діастереомер), 2,49 (s, 3H, діастереомер), 2,34 (s, 3H, діастереомер), 1,72 (broad, 1H)

(x) 2,6-дифлуор-4-формілбензонітрил
2,6-дифлуор-

4[(метилсульфініл)(метилтіо)метил]бензонітрил (2,17г, 8,32ммоль; опер, (ix)) розчиняють у 90мл ТГФ і додають 3,5мл концентрованої сульфурової кислоти. Суміш залишають при кімнатній температурі на 3 дні і потім вливають у 450мл води. Екстрагують тричі EtOAc і об'єднану етерну фазу промивають двічі водним бікарбонатом натрію і розсолом, сушать (Na₂SO₄) і випарюють. Вихід 1,36г (98%). Положення формільної групи встановлюється ¹³C ЯМР. Сигнал від флуоринованих карбонів при 162,71/млн дає очікувану картину сполучення з двома константами сполучення у порядку 260Гц і 6,3Гц, відповідно, що відповідає ipso і meta сполучення від атомів фтору.

¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ 10,35 (s, 1H), 7,33 (m, 2H)

(xi) 2,6-дифлуор-4-гідроксиметилбензонітрил
2,6-дифлуор-4-формілбензонітрил (1,36г, 8,13ммоль; опер, (x)) розчиняють у 25мл метанолу і охолоджують на льодяній ванні. Порціями з перемішуванням додають боргідрид натрію (0,307г, 8,12ммоль) і реакцію залишають на 65хвил. Розчинник випарюють і залишок розділяють між діетилетером і водним бікарбонатом натрію. Етерний шар промивають водним бікарбонатом натрію і розсолом, сушать (Na₂SO₄) і випарюють. Сирий продукт кристалізують і використовують без подальшого очищення. Вихід 1,24г (90%).

¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ 7,24 (m, 2H), 4,81 (s, 2H), 2,10 (broad, 1H)

(xii) 4-ціано-2,6-дифлуорбензилметансульфонат

До охолодженого на льоду розчину 2,6-дифлуор-4-гідроксиметилбензонітрилу (1,24г, 7,32ммоль; опер, (xi)) і метансульфонілхлориду (0,93г, 8,1ммоль) у 60мл метиленхлориду з перемішуванням додають триетиламін (0,81г, 8,1ммоль). Через 3год. при 0°C суміш промивають двічі 1М HCl і один раз водою, сушать (Na₂SO₄) і випарюють. Продукт використовують без подальшого очищення. Вихід: 1,61г (89%).

¹H ЯМР (300МГц, CDCl₃) δ 7,29 (m, 2H), 5,33 (s, 2H), 3,07 (s, 3H)

(xiii) 4-азидометил-2,6-дифлуорбензонітрил
Суміш 4-ціано-2,6-

дифлуорбензилметансульфонату (1,61г, 6,51ммоль; опер, (xii)) і азиду натрію (0,72г, 0,0111моль) у 10мл води і 20мл ДМФ перемішують при кімнатній температурі протягом ночі і потім вливають у 200мл вод і екстрагують тричі діетилетером. Об'єднану етерну фазу промивають п'ять разів водою, сушать (Na₂SO₄) і випарюють. Невеликий зразок випарюють для ЯМР-аналізу і продукт кристалізують. Залишок випарюють, але не до повної сухості. Вихід (теоретично 1,26 г) визначається, базуючись на ЯМР і аналітичний РХВР.

¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ 7,29 (m, 2H), 4,46 (s, 2H).

(xiv) 4-амінометил-2,6-дифлуорбензонітрил
Цю реакцію проводять за процедурою, описаною [у J. Chem. Res. (M) (1992) 3128]. До суспензії 520мг 10% Pd/C (вологість 50%) у 20мл води додають розчин боргідриду натрію (0,834г, 0,0221моль) у 20мл вод. Відбувається деяке відходження газу.

4-азидометил-2,6-дифлуорбензонітрил (1,26г, 6,49ммоль; опер, (xiii)) розчиняють у 50мл ТГФ і додають до водної суміші на льодяній ванні протягом 15хвил. і перемішують 4год., після чого додають 20мл 2М HCl і суміш фільтрують через Celite. Celite промивають водою і об'єднану водну фазу промивають EtOAc і підключають 2М NaOH. Далі екстрагують тричі метиленхлоридом і об'єднану органічну фазу промивають водою, сушать (Na₂SO₄) і випарюють. Вихід 0,87г (80%).

¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ 7,20 (m, 2H), 3,96 (s, 2H), 1,51 (broad, 2H)

(xv) 2,6-дифлуор-4-трет-бутоксикарбоніламінометилбензонітрил

Розчин 4-амінометил-2,6-дифлуорбензонітрилу (0,876г, 5,21ммоль; опер, (xiv)) розчиняють у 50мл ТГФ і додають трет-бутилдикарбонат (1,14г, 5,22ммоль) у 10мл ТГФ. Суміш перемішують 3,5год., ТГФ випарюють і залишок розділяють між водою і EtOAc. Органічний шар промивають тричі 0,5М HCl і водою, сушать (Na₂SO₄) і випарюють. Продукт використовують без подальшого очищення. Вихід: 1,38г (99%).

¹H ЯМР (300МГц, CDCl₃) δ 7,21 (m, 2H), 4,95 (broad, 1H), 4,43 (broad, 2H), 1,52(s, 9H)

(xvi) Boc-Pab(2,6-diF)(OH)

Суміш 2,6-дифлуор-4-трет-бутоксикарбоніламінометилбензонітрилу (1,38г, 5,16ммоль; опер. (xv)). гідроксиламінгідрохлориду (1,08г, 0,0155моль) і триетиламіну (1,57г, 0,0155моль) у 20мл етанолу перемішують при кімнатній температурі 36год. Розчинник випарюють і залишок розділяють між водою і метиленхлоридом. Органічний шар промивають водою, сушать (Na₂SO₄) і випарюють. Продукт використовують без подальшого очищення. Вихід: 1,43г(92%).

¹H ЯМР (500МГц, CD₃OD) δ 7,14 (m, 2H), 4,97 (broad, 1H), 4,84 (broad, 2H), 4,40 (broad, 2H), 1,43 (s, 9H)

(xvii) Boc-Pab(2,6-diF)×HOAc

Цю реакцію проводять за процедурою, [описаною Judkins et al., Synth. Comm. (1998) 4351]. Boc-

Pab(2,6-diF)(OH) (1-32г, 4,37ммоль; опер, (xvi)), оцтовий ангідрид (0,477г, 4,68ммоль) і 442мг 10% Pd/C (вологість 50%) у 100мл оцтової кислоти гідрогенують під тиском 5ат протягом 3,5год. Суміш фільтрують через Celite, промивають етанолом і випарюють. Залишок сушать виморожуванням з ацетонітрилу і води і кількох крапель етанолу. Продукт використовують без подальшого очищення. Вихід 0,149г (99%).

¹H ЯМР (400МГц, CD₃OD) δ 7,45 (m, 2H), 4,34 (s, 2H), 1,90 (s, 3H), 1,40 (s, 9H)
(xviii) Boc-Pab(2,6-diF)(Teoc)

До розчину Boc-Pab(2,6-diF)×HOAc (1,56г, 5,49ммоль; опер, (xvii)) у 100мл ТГФ і 1мл води додають 2-(триметилсиліл)етил р-нітрофенілкарбонат (1,67г, 5,89ммоль). Додають краплями розчин карбонату калію (1,57г, 0,0114ммоль) у 20мл води протягом 5хвил. Суміш перемішують протягом ночі, ТГФ випарюють і залишок розділяють між водою і метиленхлоридом. Водний шар екстрагують метиленхлоридом і об'єднану органічну фазу промивають двічі водним бікарбонатом натрію, сушать (Na₂SO₄) і випарюють. Флеш-хроматографія на силікагелі з елюентом гептан/EtOAc=2/1 дає 1,71г (73%) чистої сполуки.

¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ 7,43 (m, 2H), 4,97 (broad, 1H), 4,41 (broad, 2H), 4,24 (m, 2H), 1,41 (s, 9H), 1,11 (m, 2H), 0,06 (s, 9H)

(xix) Boc-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc)

Boc-Pab(2,6-diF)(Teoc) (1,009г, 2,35ммоль; опер, (xviii)) розчиняють у 50мл EtOAc насиченого газом HCl. Суміш залишають на 10хвил., випарюють і розчиняють у 18мл ДМФ, і потім охолоджують на льоду. Додають Boc-(S)Aze-OH (0,450г, 2,24ммоль), ГФБТФ (1,24г, 2,35ммоль) і потім діізопропілетиламін (1,158г, 8,96ммоль). Реакційну суміш перемішують 2год. і потім вливають у 350мл води і екстрагують тричі EtOAc. Об'єднані органічні фази промивають розсоллом, сушать (Na₂SO₄) і випарюють. Флеш-хроматографія на силікагелі з елюентом гептан:EtOAc (1:3) дає 1,097г (96%) бажаної сполуки.

¹H ЯМР (500МГц, CDCl₃) δ 7,46 (m, 2H), 4,65-4,5 (m, 3H), 4,23 (m, 2H), 3,87 (m, 1H), 3,74 (m, 1H), 2,45-2,3 (m, 2H), 1,40 (s, 9H), 1,10 (m, 2H), 0,05(s, 9H)

(xx) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc)

Boc-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc) (0,256г, 0,500ммоль; опер, (xix)) розчиняють у 20мл EtOAc, насиченого газом HCl. Суміш залишають на 10хвил., випарюють і розчиняють у 5мл ДМФ. Додають Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)OH (0,120г, 0,475ммоль; опер, (viii)), ГФБТФ (0,263г, 0,498ммоль) і потім діізопропілетиламін (0,245г, 1,89ммоль). Реакційну суміш перемішують 2год. і потім вливають у 350мл води і екстрагують тричі EtOAc. Об'єднану органічну фазу промивають розсоллом, сушать (Na₂SO₄) і випарюють. Флеш-хроматографія на силікагелі з EtOAc дає 0,184г (60%) бажаної сполуки.

¹H ЯМР (400МГц, CD₃OD, суміш ротамерів) δ 7,55-7,45 (m, 2H), 7,32 (m, 1H, старший ротамер), 7,27 (m, 1H, молодший ротамер), 7,2-7,1 (m, 2H), 6,90 (t, 1H, старший ротамер), 6,86 (t, 1H, молод-

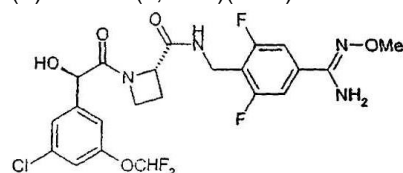
ший ротамер), 5,15 (s, 1H, старший ротамер), 5,12 (m, 1H, молодший ротамер), 5,06 (s, 1H, молодший ротамер), 4,72 (m, 1H, старший ротамер), 4,6-4,45 (m, 2H), 4,30 (m, 1H, старший ротамер), 4,24 (m, 2H), 4,13 (m, 1H, старший ротамер), 4,04 (m, 1H, молодший ротамер), 3,95 (m, 1H, молодший ротамер), 2,62 (m, 1H, молодший ротамер), 2,48 (m, 1H, старший ротамер), 2,22 (m, 1H, старший ротамер), 2,10 (m, 1H, молодший ротамер), 1,07(m, 2H), 0,07(m, 9H)

(xxi) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc) (81мг, 0,127ммоль; опер, (xx)) розчиняють у 0 5мл метиленхлориду і охолоджують на льоду. Додають ТФК (3мл) і реакцію залишають на 75хвил. ТФК випарюють і залишок сушать виморожуванням з води і ацетонітрилу. Сирий продукт очищують препаративною рідиною хроматографією з елюентом CH₃CN:0,1M NH₄OAc (35:65) і одержують 39мг (55%) бажаної сполуки у вигляді її солі HOAc, чистота - 99%.

¹H ЯМР (400МГц, CD₃OD суміш ротамерів) δ 7,5-7,4 (m, 2H), 7,32 (m, 1H, старший ротамер), 7,28 (m, 1H, молодший ротамер), 7,2-7,1 (m, 3H) 6,90 (t, 1H, старший ротамер), 6,86 (t, молодший ротамер), 5,15 (s, 1H, старший ротамер), 5,14 (m, 1H, молодший ротамер), 5,07 (s, 1H, молодший ротамер), 4,72 (m, 1H, старший ротамер), 4,65-4,45 (m, 2H), 4,30 (m, 1H, старший ротамер), 4,16 (m, 1H, старший ротамер), 4,03 (m, 1H, молодший ротамер), 3,95 (m, 1H, молодший ротамер), 2,63 (m, 1H, молодший ротамер), 2,48 (m, 1H, старший ротамер), 2,21 (m, 1H, старший ротамер), 2,07 (m, 1H, молодший ротамер), 1,89 (s, 3H). ¹³C ЯМР (75МГц, CO₂OD): (карбоніл і/або амідінкарбони, суміш ротамерів) δ 171,9, 171,2, 165,0, 162,8, 160,4 APCI-MS: (M+1)=503/505 m/z.

Приклад 2 Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OMe)



(i) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OMe, Teoc)

Суміш Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF) (64мг, 0,099ммоль; див. Приклад 1 (xx)) і О-метилгідроксиламінгідрохлорид (50мг, 0,60ммоль) у 4мл ацетонітрилу гріють при 70°C 3год. Розчинник випарюють і залишок розділяють між водою і EtOAc. водний шар was екстрагують двічі EtOAc і об'єднану органічну фазу промивають водою, сушать (Na₂SO₄) і випарюють. Одержаний продукт використовують без подальшого очищення. Вихід 58мг (87%).

¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ 7,90 (bt, 1H), 7,46 (m, 1H), 7,25-6,95 (m, 5H), 6,51, t, 1H), 4,88 (s, 1H), 4,83 (m, 1H), 4,6-4,5 (m, 2H), 4,4-3,9 (m, 4H), 3,95 (s, 3H), 3,63 (m, 1H), 2,67 (m, 1H), 2,38 (m, 1H), 1,87 (broad, 1H), 0,98 (m, 2H), 0,01 (s, 9H).

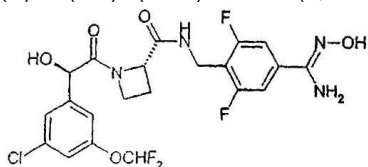
(ii) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(OH)Aze-Pab(2,6-diF)(OMe)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-Pab(2,6-diF)(OMe) (58мг, 0,086ммоль; опер, (i)) розчиняють у 3мл ТФК, охолоджують на льоду і залишають реагувати на 2год. ТФК випарюють і залишок розчиняють у EtOAc. Органічний шар промивають двічі водним карбонатом натрію і водою, сушать (Na₂SO₄) і випарюють. Залишок сушать виморожуванням з води і ацетонітрилу і одержують 42мг (92%) бажаної сполуки. Чистота - 94%.

¹H ЯМР (300МГц, CDCl₃) δ 7,95 (bt, 1H), 7,2-7,1 (m, 4H), 6,99 (m, 1H), 6,52 (t, 1H), 4,88 (s, 1H), 4,85-4,75 (m, 3H), 4,6-4,45 (m, 2H), 4,29 (broad, 1H), 4,09 (m, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,69 (m, 1H), 2,64 (m, 1H), 2,38 (m, 1H), 1,85 (broad, 1H). ¹³C ЯМР (100МГц; CDCl₃): (карбоніл і/або аміднокарбони) δ 172,1, 169,8, 151,9

APCI-MS: (M+1)=533/535 m/z

Приклад 3 Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(OHS)Aze-Pab(2,6-diF)(OH)



(i) Вос-(S)Aze-NHCHvPh(2,6-diF, 4-CN)

Вос-(S)Aze-OH (1,14г, 5,6ммоль) розчиняють у 45мл ДМФ. Додають 4-амінометил-2,6-дифлуорбензонітрил (1,00г, 5,9ммоль, див. Приклад 1 (xiv)), ГФБТФ (3,10г, 5,95ммоль) і ДІПЕА (3,95мл, 22,7ммоль) і розчин перемішують при кімнатній температурі 2год. Розчинник випарюють і залишок розділяють між H₂O і EtOAc (75мл кожного). Водну фазу екстрагують 2×50мл EtOAc і об'єднану органічну фазу промивають розсолем і сушать над Na₂SO₄. Флеш-хроматографія (SiO₂, EtOAc/гептан (3/1)) дає бажану сполуку (1,52г, 77%) у вигляді масла, яке кристалізується у холодильнику.

¹H ЯМР (400МГц; CD₃OD): δ 7,19 (m, 2H), 4,65-4,5 (m, 3H), 3,86 (m, 1H), 3,73 (m, 1H), 2,45-2,3 (m, 2H), 1,39 (s, 9H)

(ii) H-(S)Aze-NHCH₂-Ph(2,6-diF, 4-CN)×HCl

Вос-(S)Aze-NHCH₂-Ph(2,6-diF, 4-CN) (0,707г, 2,01ммоль, опер, (i)) розчиняють у 60мл EtOAc, насиченого газом HCl. Після перемішування при кімнатній температурі протягом 15хв. розчинник випарюють, залишок розчиняють у CH₃CN/H₂O (1/1) і сушать виморожуванням, одержуючи бажану сполуку (0,567г, 98%) у вигляді білуватого аморфного порошку.

¹H ЯМР (400МГц, CD₃OD): δ 7,49 (m, 2H), 4,99 (m, 1H), 4,58 (m, 2H), 4,12 (m, 1H), 3,94 (m, 1H), 2,80 (m, 1H), 2,47 (m, 1H) MS(m/z) 252,0 (M+1)⁺

(iii) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(OHS)Aze-NHCH₂-Ph(2,6-diF, 4-CN)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)OH (0,40г, 1,42ммоль, Приклад 1 (viii)) розчиняють у 10мл ДМФ і додають H-(S)Aze-NHCH₂-Ph(2,6-diF, 4-CN)×HCl (0,43г, 1,50ммоль, опер.(ii)) і ГФБТФ (0,779г, 1,50ммоль) з подальшим доданням ДІПЕА (1,0мл, 5,7ммоль). Після перемішування при кімнатній температурі протягом 2год. розчинник випарюють, залишок розділяють між H₂O (200мл) і EtOAc (75мл), водну фазу екстрагують 2×75мл

EtOAc і об'єднану органічну фазу промивають розсолем і сушать over Na₂SO₄. Флеш-хроматографія (SiO₂, EtOAc/гептан (4/1)) дає бажану сполуку (0,56г, 81%) у вигляді масла.

¹H ЯМР (400МГц; CD₃OD) ротамери: δ 7,43 (m, 2H), 7,31 (m, 1H, старший ротамер), 7,26 (m, 1H, молодший ротамер), 7,2-7,1 (m, 2H), 6,90 (t, 1H, старший ротамер), 6,86 (t, 1H, молодший ротамер), 5,14 (s, 1H, старший ротамер), 5,11 (m, 1H, молодший ротамер), 5,04 (s, 1H, молодший ротамер), 4,71 (m, 1H, старший ротамер), 4,6-4,45 (m, 2H), 4,30 (m, 1H, старший ротамер), 4,2-3,9 (m, 1H; i 1H, молодший ротамер), 2,62 (m, 1H, молодший ротамер), 2,48 (m, 1H, старший ротамер), 2,21 (m, 1H, старший ротамер), 2,09 (m, 1H, молодший ротамер) ¹³C ЯМР (100МГц; CD₃OD): (карбонілкарбони) δ 171,9, 171,8 MS (m/z) 484,0, 485,9 (M-1)⁺, 486,0, 487,9 (M+1)⁺

(iv) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(OHS)Aze-Pab(2,6-diF)(OH)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-(S)Aze-NHCH₂-Ph(2,6-diF, 4-CN) (0,555г, 1,14ммоль, опер, (iii)) розчиняють у 10мл EtOH (95%). До цього розчину додають гідроксиламіногідрохлорид (0,238г, 3,42ммоль) і Et₃N (0,48мл, 3,44ммоль). Після перемішування при кімнатній температурі протягом 14год. розчинник видаляють і залишок розчиняють у EtOAc. Органічну фазу промивають розсолем і H₂O і сушать над Na₂SO₄. Сирий продукт очищують препаративною рідинною хроматографією з елюентом CH₃CN:0,1M NH₄OAc і одержують бажану сполуку у вигляді аморфного порошку (0,429г, 72%) після сушіння виморожуванням.

¹H ЯМР (400МГц; CD₃OD) ротамери: δ 7,35-7,1 (m, 5H), 6,90 (t, 1H, старший ротамер), 6,85 (t, 1H, молодший ротамер), 5,15 (s, 1H, старший ротамер), 5,12 (m, 1H, молодший ротамер), 5,08 (s, 1H, молодший ротамер), 4,72 (m, 1H, старший ротамер), 4,6-4,4 (m, 2H), 4,30 (m, 1H, старший ротамер), 4,12 (m, 1H, старший ротамер), 4,04 (m, 1H, молодший ротамер), 3,94 (m, 1H, молодший ротамер), 2,62 (m, 1H, молодший ротамер), 2,48 (m, 1H, старший ротамер), 2,22 (m, 1H, старший ротамер), 2,10 (m, 1H, молодший ротамер)

¹³C ЯМР (100МГц; CD₃OD): (карбоніл і аміднокарбони, ротамери) δ 172,4, 171,9, 171,0, 152,3, 151,5

MS (m/z) 517,1, 519,0 (M-1)⁺, 519,1, 521,0 (M+1)⁺

Приклад 4

Сполуку Прикладу 1 випробують згідно з Тестом А, описаним вище. Одержують IC₅₀ТТ менше 0,02мкМ.

Приклад 5

Сполуку Прикладу 1 випробують згідно з Тестом D, описаним вище. Одержують IC₅₀ТТ менше 1мкМ.

Приклад 6

Сполуку Прикладу 1 випробують згідно з Тестом Е, описаним вище. Ця сполука показує оральну і/або парентеральну біодоступність у щурів, що відповідає активному інгібітору (вільний амідин).

Приклад 7

Сполуку Прикладу 1 випробують згідно з Тестом G, описаним вище. Виявлено, що вона перет-

ворюється у відповідний активний інгібітор (вільний амідин) у мікосомлах печінки людини і щура.

Абревіатури

Ac	ацетил
APCI	хімічна іонізація при атмосферному тиску (при мас-спектрографії)
API	іонізація при атмосферному тиску (при мас-спектрографії)
aq.	водн.
ППК	площа під кривою
Aze	ацетидин-2-карбоксилат
AzeOH	ацетидин-2-карбонова кислота
Boc	трет-бутоксикарбоніл
ABC	альбумін бичої сироватки
CI	хімічна іонізація (при мас-спектрографії)
ДН	днів
ДЦК	дициклогексилкарбодіімід
ГДБА	гідрид діізобутилалюмінію
ДІПЕА	діізопропілетиламін
ДМАП	4-(N,N-диметиламіно)піридин
ДМФ	диметилформамід
ДМСО	диметилсульфоксид
ГТВ	глибокий тромбоз вени
ЕДХ	1-(3-диметиламінопропіл)-3-етилкарбодіімідгідрохлорид
Et	етил
етер	діетилетер
EtOAc	етилацетат
EtOH	етанол
Et ₂ O	діетилетер
год.	годин
ГФТУ	гексафлуорфосфат О-азабензотриазол-1-N,N,N',N'-тетраметилуронію
ГФБУ	[гексафлуорфосфат N,N,N',N'-тетраметил-О-(бензотриазол-1-іл)уронію]
HCl	гідрохлоридна кислота, хлорний газ або гідрохлоридна сіль
Hex	гексани
HOAc	оцтова кислота або її сіль
РХВР	рідинна хроматографія високого розрізнення

PX	рідинна хроматографія
Me	метил
MeOH	метанол
хвил.	хвилин
MS	мас-спектрографія
MTBE	метил-трет-бутиловий етер
НААД	нікотинамідадениндинуклеотид, редукована форма
НААДФ	нікотинамідадениндинуклеотидфосфат, редукована форма
N1H	National Institute of Health (US) (Національний Інститут Здоров'я - США)
N1HU	одиниці Національного Інституту Здоров'я
ЯМР	ядерно-магнітний резонанс
OAc	ацетат
Паб	пара-амідинобензиламін
H-Pab	пара-амідинобензиламін
Ph	феніл
ГФБТФ	гексафлуорфосфат (бензотриазол-1-ілокси)трипіролідінфосфонію
ФТБА	флуорид тетрабутиламонію
РРРХ	зворотно-фазова рідинна хроматографія високого розрізнення
к.т.	кімнатна температура
СРПи	стандартні робочі процедури
ТФТУ	[тетрафлуорборат N,N,N',N'-тетраметил-О-(бензотриазол-1-іл)уронію]
ТЕА	триетиламін
Теос	2-(триметилсиліл)етоксикарбоніл
ТМПО=	2,2,6,6-тетраметил-1-піперидинілоксил, вільний радикал
ТФК	трифлуороцтова кислота
ТГФ	тетрагідрофуран
тшх	тонкошарова хроматографія
УФ	ультрафіолет

Префікси n, s, і t мають звичайні значення: нормальний, вторинний, ізо- і тетичний. Префікс с означає цикло.