



УКРАЇНА

(19) UA (11) 83240 (13) C2  
(51) МПК  
C07D 261/04 (2006.01)МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ІНГІБІТОРИ КАСПАЗИ, ЩО МІСТЯТЬ ІЗОКСАЗОЛІНОВЕ КІЛЬЦЕ

1

2

(21) а200602050

(22) 26.08.2004

(86) PCT/KR2004/002139, 26.08.2004

(31) 10-2003-0059451

(32) 27.08.2003

(33) KR

(46) 25.06.2008, Бюл.№ 12, 2008 р.

(72) ЧАНГ ХЬЄ-КЬЮН, ОХ ЙЕОНГ-СОО, ПАРК ЧЕОЛ-ВОН, ДЖАНГ ЙОНГ-ДЖІН, ПАРК ТАЕ-КІО, КІМ СУНГ-СУБ, КІМ МІН-ДЖУНГ, ПАРК МІДЖЕОНГ, ПАРК ДЖУНГ-ГЬЮ, ПАРК ХИ-ДОНГ, МІН КЬЄОНГ-СІК, ЛІ ТАЕ-СОО, ЛІ САНГ-КЬЮН, КІМ СОО-ХЬЄОН, ДЖЕОНГ ХІ-КЬЮНГ, ЛІ СУНХВА, КІМ ХВА-ДОНГ, КІМ АЕ-РІ, ПАРК КІ-СООК, ШІН ХЬЮН-ІК, ЧОЙ ХЬЄОН-ВООК, ЛІ КЬЮВООНГ, ЛІ ДЖАЕ-ХООН, ХЕО ТАЕ-ХО, КІМ ХОДЖУН, КВОН ТАЕ-СІК

(73) ЕЛДЖІ ЛАЙФ САЕНСЕЗ ЛТД.

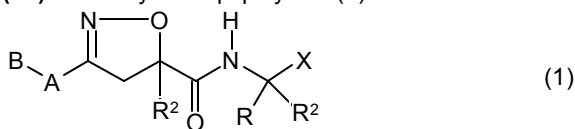
(56) WO01/21600; 29.03.2001

WO 95/14681; 01.06.1995

WO 95/14680; 01.06.1995

WO 94/12481; 09.06.1994

(57) 1. Сполука за формулою (1)



де:

I) R означає H, простий алкільний ланцюг (-SAC), простий циклоалкільний ланцюг (-SCAC), арильну групу (-Ar) або простий алкільний ланцюг, заміщений арилом (-SAC-Ar);

II) R<sup>1</sup> означає -SAC, -SCAC, -Ar, -SAC-Ar або бічноланцюговий залишок будь-якої природної амінокислоти; і сполука за формулою (1) може існувати у специфічній діастереомерній формі або її суміші, коли атом вуглецю, до якого приєднаний R<sup>1</sup> стає стереоцентром завдяки групі R<sup>1</sup>, або сполука за формулою (1) може мати захисну групу у формі естеру (-CO<sub>2</sub>R<sup>3</sup>, де R<sup>3</sup> є -SAC) або сульфонамідом (-CONHSO<sub>2</sub>R<sup>4</sup>, де R<sup>4</sup> є -SAC), або може існувати у формі фармацевтично прийнятної солі, коли R<sup>1</sup> є бічноланцюговий залишок амінокислоти, що містить карбоксильну частину; або ж сполука за формулою (1) може існувати також у формі фармацевтично прийнятної солі, коли R<sup>1</sup> є бічноланцюговий

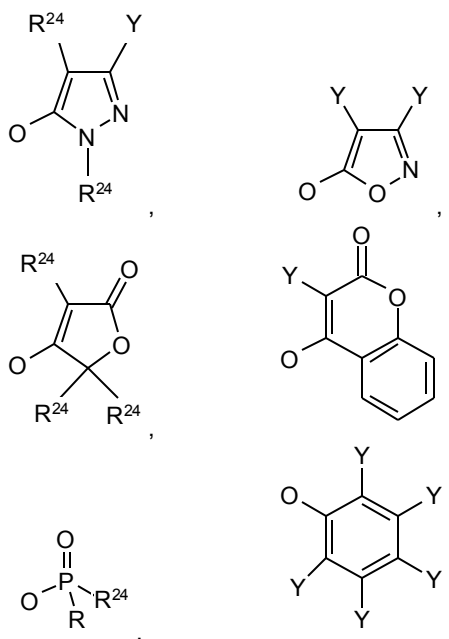
залишок амінокислоти, що містить основну частину;

III) R<sup>2</sup> означає -SAC, -SCAC, -Ar, -SAC-Ar або бічноланцюговий залишок природної амінокислоти; і сполука за формулою (1) може існувати у специфічній діастереомерній формі або її суміші, коли атом вуглецю, до якого приєднаний R<sup>2</sup> стає стереоцентром завдяки групі R<sup>2</sup>, сполука за формулою (1) може мати захисну групу у формі естеру (-CO<sub>2</sub>R<sup>5</sup>, де R<sup>5</sup> є -SAC) або сульфонамідом (-CONHSO<sub>2</sub>R<sup>6</sup>, де R<sup>6</sup> є -SAC), або може існувати у формі фармацевтично прийнятної солі, коли R<sup>2</sup> є бічноланцюговий залишок амінокислоти, що містить карбоксильну частину; або сполука за формулою (1) може існувати також у формі фармацевтично прийнятної солі, коли R<sup>2</sup> є бічноланцюговий залишок амінокислоти, що містить основну частину; абоR<sup>2</sup> означає, крім того, H; -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>OR<sup>7</sup>, де R<sup>7</sup> є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar, а n = 1 або 2; або -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>OC(=O)R<sup>8</sup>, де R<sup>8</sup> є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar, а n = 1 або 2;IV) A означає -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> (n = 0-4), -O-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> (n = 0-4) або -NR<sup>9</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> (n = 0-4), де R<sup>9</sup> є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar;V) B означає H, -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar; або VI) R і R<sup>1</sup> можуть утворювати цикл разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, де -R-R<sup>1</sup> є -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> або -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>NR<sup>10</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>, де n + m < 9, а R<sup>10</sup> є -SAC, -SCAC, -Ar, -SAC-Ar, -C(=O)-SAC, -C(=O)-SCAC, -C(=O)-Ar або -C(=O)-SAC-Ar;VII) X означає -C(=O)CH<sub>2</sub>OR<sup>11</sup>, де R<sup>11</sup> є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar; -C(=O)CH<sub>2</sub>OC(=O)R<sup>12</sup>, де R<sup>12</sup> є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar; -CH-CH-CO<sub>2</sub>R<sup>13</sup>, де R<sup>13</sup> є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar; -CH=CH-SO<sub>2</sub>R<sup>14</sup>, де R<sup>14</sup> є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar; -C(=O)CH=CH<sub>2</sub>; або -COCH<sub>2</sub>-W, де W є -N<sub>2</sub>, -F, -Cl, -Br, -I, -NR<sup>15</sup>R<sup>16</sup> (де R<sup>15</sup> і R<sup>16</sup> кожний незалежно є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar або разом можуть утворювати 3-6-членну насичену або ненасичену циклічну групу), -SR<sup>17</sup> (де R<sup>17</sup> є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar) або є групою, що визначається такими формулами:

(13) C2

(11) 83240

(19) UA



де:

Y є H, -OH, -OR<sup>18</sup> (де R<sup>18</sup> є -SAC або -SCAC), -C(=O)R<sup>19</sup> (де R<sup>19</sup> є -H, -SAC або -SCAC), -F, -Cl, -Br, -I, -CN, -NC, -N<sub>3</sub>, -CO<sub>2</sub>H, CF<sub>3</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sup>20</sup> (де R<sup>20</sup> є -SAC або -SCAC), -C(=O)NHR<sup>21</sup> (де R<sup>21</sup> є -SAC або -SCAC) або -C(=O)NR<sup>22</sup>R<sup>23</sup> (де R<sup>22</sup> і R<sup>23</sup> кожний незалежно є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar), R<sup>24</sup> є H, -SAC, -SAC-Ar або -Ar, сіль або стереоізомер вищезазначеного.

2. Сполука за п. 1, де R означає H.

3. Сполука за п. 1, де R<sup>1</sup> означає -CH<sub>2</sub>COOH, -CH<sub>2</sub>COOR<sup>3</sup> (де R<sup>3</sup> є SAC) або -CH<sub>2</sub>CNHSO<sub>2</sub>R<sup>4</sup> (де R<sup>4</sup> є SAC).

4. Сполука за п. 1, де R<sup>2</sup> означає H, -SAC, -Ar або -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>OR<sup>7</sup> (де R<sup>7</sup> є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar, n = 1 або 2).

5. Сполука за п. 1, де X означає -C(=O)CH<sub>2</sub>OAr, -C(=O)CH<sub>2</sub>OC(=O)Ar або -COCH<sub>2</sub>-W, де W є -N<sub>2</sub>, -F, -Cl, -Br, -I, -NR<sup>15</sup>R<sup>16</sup> (де R<sup>15</sup> і R<sup>16</sup> кожний незалежно є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar, або разом можуть утворювати 3-6-членну насичену або ненасичену циклічну групу) або -SR<sup>17</sup> (де R<sup>17</sup> є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar).

6. Сполука за п. 1, де:

I) R означає H;

II) R<sup>1</sup> означає -CH<sub>2</sub>COOH, -CH<sub>2</sub>COOR<sup>3</sup> (де R<sup>3</sup> SAC) або -CH<sub>2</sub>CNHSO<sub>2</sub>R<sup>4</sup> (де R<sup>4</sup> є SAC);

III) R<sup>2</sup> означає H, -SAC, -Ar або -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>OR<sup>7</sup> (R<sup>7</sup> = -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar, a n = 1 або 2);

IV) A означає -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>- (n = 0-4) або -O-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>- (n = 0-4);

V) B означає H, -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar;

VI) X означає -COCH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>, -COCH<sub>2</sub>F, -COCH<sub>2</sub>Cl, -COCH<sub>2</sub>Br, -COCH<sub>2</sub>I, -COCH<sub>2</sub>OAr, -COCH<sub>2</sub>OCOAr або -COCH<sub>2</sub>SR<sup>17</sup> (де R<sup>17</sup> є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar).

7. Сполука за п. 1, вибрана із такої групи:

(1) (3S)-5-[(2,6-дихлорбензоїл)окси]-3-[[5-метил-3-феніл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно-4-оксопентанова кислота (Iaa);

(2) (3S)-3-[[5-метил-3-феніл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно-4-оксо-5-феноксипентанова кислота (Ibb);

(3) (3S)-3-[[5-етил-3-феніл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентанова кислота (Icc);

(4) (3S)-3-[[5-етил-3-(1-нафтил)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентанова кислота (Idd);

(5) (3S)-3-[[5-етил-3-(2-нафтил)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентанова кислота (Iee);

(6) (3S)-3-[[5-етил-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентанова кислота (If);

(7) 3-[[5-етил-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Igg);

(8) етил-3-[[5-етил-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно-5-фтор-4-оксопентаноат (Ihh);

(9) 5-фтор-3-[[5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно-4-оксопентанова кислота (Iii);

(10) 3-[[5-етил-3-(4-хінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Ijj);

(11) 3-[[3-(бензотіофен-2-іл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Ikk);

(12) (3S)-3-[[3-(1,3-диметил-1H-індол-2-іл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентанова кислота (III);

(13) 3-[[3-(1,3-диметил-1H-індол-2-іл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Imm);

(14) (3S)-3-[[5-етил-3-(1-нафтилметил)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентанова кислота (Inn);

(15) (3S)-5-[(2,6-дихлорбензоїл)окси]-3-[[5-етил-3-[2-(1-нафтил)етил]-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно-4-оксопентанова кислота (Ioo);

(16) (3S)-3-[[5-етил-3-[(1-нафтилокси)метил]-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентанова кислота (Ipp);

(17) (3S)-3-[[3-[[4-хлор-1-нафтил]окси]метил]-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентанова кислота (Iqq);

(18) (3S,4E)-6-етокси-3-[[5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно-6-оксо-4-гексенова кислота (Irr);

(19) (3S,4E)-3-[[5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно-5-(метилсульфоніл)-4-пентенова кислота (Iss);

(20) 5-фтор-3-[[5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-5-пропіл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно-4-оксопентанова кислота (Itt);

(21) 3-[[5-етил-3-(1-нафтил)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iuu);

(22) 3-[[5-етил-3-(2-хінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Ivv);

- (23) 3-({(5R)-5-етил-3-(3-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл)аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (lww);
- (24) 3-({[5-етил-3-(8-хінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл]аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (lxx);
- (25) 3-({[5-етил-3-(3-хінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл]аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (lyy);
- (26) 5-фтор-3-({(5R)-5-ізопропіл-3-(2-хінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл)аміно)-4-оксопентанова кислота (lzz);
- (27) 3-({[5-етил-3-(2-ізопропілфеніл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл]аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (laa1);
- (28) 3-({[3-[3-(трет-бутил)феніл]-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл]аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (laa2);
- (29) 3-({[3-[4-(трет-бутил)феніл]-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл]аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (laa3);
- (30) 5-фтор-3-({(5R)-5-ізопропіл-3-(2-ізопропілфеніл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл)аміно)-4-оксопентанова кислота (laa4);
- (31) 3-({(5R)-3-[3-(трет-бутил)феніл]-5-ізопропіл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл)аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (laa5);
- (32) 3-({[3-[1,1'-біфеніл]-3-іл-5-ізопропіл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл]аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (laa6);
- (33) 3-({[5-етил-3-(2-піридиніл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл]аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (laa7);
- (34) 3-({[3-[4-(трет-бутил)-2-піридиніл]-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл]аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (laa8);
- (35) 3-({[5R)-3-[4-(трет-бутил)-2-піридиніл]-5-ізопропіл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл)аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (laa9);
- (36) 3-({[5-етил-3-(4-ізобутил-2-піридиніл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл]аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (laa10);
- (37) 3-({[3-(4-ацетил-2-піридиніл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл]аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (laa11);
- (38) 3-({[3-(4-циклопропіл-2-піридиніл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл]аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (laa12);
- (39) 3-({[3-(4-циклопентил-2-піридиніл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл]аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (laa13);
- (40) 3-({[(5R)-3-(4-циклопентил-2-піридиніл)-5-ізопропіл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл]аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (laa14);
- (41) 3-({[3-(4-циклогексил-2-піридиніл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл]аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (laa15);
- (42) 3-({[5-етил-3-(5,6,7,8-тетрагідро-1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл]аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (laa16);
- (43) 5-фтор-3-({[5-ізопропіл-3-(4-феніл-2-піридиніл)-4,5-дигідро-5-

ізоксазоліл}карбоніл}аміно-4-оксопентанова кислота (Iaa17);

(44) (3S)-5-[(дифенілфосфорил)окси]-3-(((5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно-4-оксопентанова кислота (Iaa18);

(45) (3S)-3-(((5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно-4-оксо-5-4[1-феніл-5-(трифторметил)-1H-піразол-5-іл]окси]пентанова кислота (Iaa19);

(46) (3S)-5-[(4-бензил-5-оксо-2,5-дигідро-3-фураніл)окси]-3-(((5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно-4-оксопентанова кислота (Iaa20);

(47) (3S)-5-(ізобутирилокси)-3-(((5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно-4-оксопентанова кислота (Iaa21);

(48)(3S)-3-(((5R)-5-ізопропіл-5-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно-4-оксо-5-гексенова кислота (Iaa22);

(49) (3S)-3-(((5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно-4-оксо-5-(2-піридинілокси)пентанова кислота (Iaa23);

(50) (3S)-3-(((5-етил-3-(2-ізопропілфеніл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно-4-оксо-5-(2-піридинілокси)пентанова кислота (Iaa24);

(51) 2-(((3S)-4-карбоксі-3-(((5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно-2-оксобутил)окси)-1-метилпіридинійтрифторметансульфонат (Iaa25);

(52) 2-(((3S)-4-карбоксі-3-(((5-етил-3-(2-ізопропілфеніл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно-2-оксобутил)окси)-1-метилпіридинійтрифторметансульфонат (Iaa26);

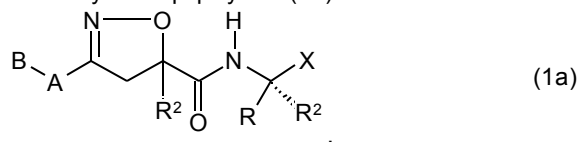
(53) 3-(((3-(5-хлор-1-метил-1H-індол-2-іл)-5-ізопропіл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa27);

(54) 3-(((3-(1,5-диметил-1H-індол-2-іл)-5-ізопропіл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa28); і

(55) (3S)-5-фтор-3-(((5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно-4-оксопентанова кислота (Iii-1).

8. Сполука за п. 1, якою є 5-фтор-3-(((5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно-4-оксопентанова кислота (Iii).

9. Сполука за формулою (1a):



де:

$A, B, R, R^1, R^2$  і  $X$  є такими, як визначено в п. 1.

10. Сполука за п. 9, якою є (33)-5-фтор-3-(((5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл)карбоніл)аміно)-4-оксопентанова кислота (Iii-1).

11. Спосіб одержання сполуки (Iii-1), визначеної в п. 10, який включає у себе стадії розчиняння суміші (35)-5-фтор-3-({[(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-

ізоксазолілкарбоніл}аміно)-4-оксопентанової кислоти і (3R)-5-фтор-3-(((5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазолілкарбоніл}аміно)-4-оксопентанової кислоти в метил-трет-бутиловому етері, додавання невеликої кількості кристалічної (3R)-5-фтор-3-(((5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазолілкарбоніл}аміно)-4-оксопентанової кислоти як зародкового матеріалу для утворення кристалу, і рекристалізації цього кристалу із етилацетат/п-гексанового розчинника.

12. Терапевтичний склад для запобігання запаленню і апоптозу, який містить сполуку за формулою (1), що є інгібітором каспази, її сіль або стереоізомер, згідно з визначенням у п. 1, як активний інгредієнт разом з фармацевтично прийнятним носієм.

13. Склад за п. 12 для лікування деменції, інсульту, uszkodження мозку внаслідок СНІДу, діабету, виразки шлунку, церебральних ушкоджень внаслідок гепатиту, викликаних гепатитом хвороб печінки, гострого гепатиту, швидкоплинних уражень печінки, цирозу печінки, сепсису, відторгнення

трансплантатів, ревматоїдного артриту й апоптозу клітин серця внаслідок ішемічних хвороб серця.

14. Склад за п. 12 для лікування гострого гепатиту, цирозу печінки.

15. Склад за п. 12 для лікування ревматоїдного артриту.

16. Склад за п. 12, у формі препарату для перорального введення, препарату для ін'єкцій або пластиру.

17. Склад за п. 12, який містить як активний інгредієнт сполуку (iii), визначену в п. 8.

18. Склад за п. 12, який містить як активний інгредієнт сполуку (iii-1), визначену в п. 10.

19. Спосіб одержання терапевтичного складу для запобігання запаленню й апоптозу згідно з визначенням у п. 12, який включає у себе змішування як інгібітору каспази сполуки за формулою (1), її солі або стереоізомеру, визначених у п. 1, з фармацевтично прийнятним носієм.

20. Спосіб запобігання запаленню й апоптозу, який включає у себе введення ефективної кількості інгібітору каспази, якою є сполука за формулою (1), її сіль або стереоізомер, визначені в п. 1, пацієнту, що страждає на запалення й апоптоз.

Даний винахід стосується ізоксазолінової похідної, яка може служити інгібітором різноманітних каспаз, включаючи каспазу-1 (фермент, що перетворює інтерлейкін-1 $\beta$ , ICE: interleukin-1 $\beta$  converting enzyme) і каспазу-3 (апопаїн/СРР-32), процесу для її виготовлення і терапевтичного складу, що її містить, для профілактики запалення і апоптозу.

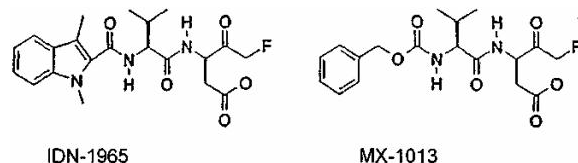
Каспаза являє собою новий вид цистеїнової протеази у формі  $\alpha_2\beta_2$ , дослідження якої ведуться на протязі останніх 10 років. На сьогоднішній день відомо близько 14 її видів. Один із них, каспаза-1 (ICE), є виду цитокінів і бере участь у перетворенні неактивного проінтерлейкіну-1 $\beta$  на активний інтерлейкін-1 $\beta$ . Інтерлейкін-1 складається із інтерлейкіну-1 $\alpha$  й інтерлейкіну-1 $\beta$ , що синтезуються в моноцитах у формі прекурсору масою 31кДа. ICE-ферментом активується тільки проінтерлейкін-1 $\beta$ . Положеннями, що гідролізуються каспазою-1, є Asp<sup>27</sup>-Gly<sup>28</sup> і Asp<sup>116</sup>-Ala<sup>117</sup>. Внаслідок гідролізу останнього з цих положень утворюється інтерлейкін-1 $\beta$ . Про інтерлейкін-1 $\beta$  повідомлялося [1, 3] як про важливий медіатор індукції запалення. Каспаза-1 була відкрита в 1989 році двома незалежними групами вчених, а її тримірна структура була встановлена за допомогою рентгенівської кристалографії.

Широкі дослідження щодо ролі та механізму дії каспази-3(СРР-32), а також визначення її тримірної структури були проведені в 1996 році [2]. Каспаза-3 (апопаїн), активована прокаспазою-3, гідролізує мотив (P4)Asp-X-X-Asp(P1), а до числа відомих субстратів входять полі(ADP-рибоза)полімераза, U1 70000 Mr малий рибонуклеопротеїд ядра, каталітична субодиниця 460000 Mr ДНК-залежної протеїнази і т.д. Рентгенографічна структура каспази-7 виявилася дуже подібною до рентгенографічної структури каспази-3 [4].

Каспаза-8 і каспаза-9 займають положення у правій частині послідовності каспаз-3, 6, 7, про які відомо, що вони беруть участь в апоптозному шляху. Рентгенографічна структура каспази-8 була визначена у 1999р. [5]. Отже її інгібітори можуть ефективно використовуватися в лікуванні хвороб, пов'язаних з втратою клітин.

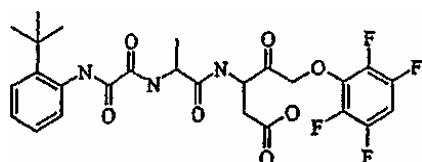
Інгібіторами каспази, за їх визначенням, є сполуки, що інгібують каспазну активність і в цей спосіб впливають на такі симптоми, як запалення, апоптоз та інші, що викликаються каспазною активністю. До числа хвороб та симптомів, які можуть лікуватися або пом'якшуватися шляхом уведення цих інгібіторів, належать: ревматоїдний артрит, запальна хвороба кишечника, реакція "трансплантат проти хазяїна", сепсис, остеоартрит, остеопороз, гостра і хронічна мієлогенна лейкемія, менінгіт, сальпінгіт, септичний шок, холангіт, еоліт, енцефаліт, ендокардит, гломерулонефрит, гепатит, міокардит, панкреатит, цукровий діабет I типу, множинний склероз, хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона, цироз печінки [6].

Серед відомих на сьогоднішній день інгібіторів каспази найбільш помітними є необоротні інгібітори, наприклад:



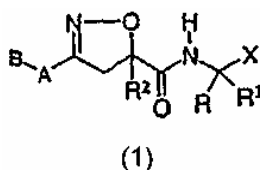
Активність обох цих інгібіторів базується на загальному механізмі, під дією якого відбувається необоротна інактивація даного ферменту і, отже, придушення апоптозу клітин (необоротний інгібітор широкого спектра дії). У роботі [7] повідомлялося, що необоротний інгібітор має значно більш ефек-

тивну інгібіторну активність, ніж оборотні інгібітори. Обидва вищезазначені інгібітори, IDN-1965 виробництва фірми DDUN Co. і MX-1013 виробництва фірми Machi Co., продемонстрували свою активність на моделі апоптозу клітин у випадку гепатичного розладу [8, 9]. Сьогодні ці сполуки проходять передклінічні випробування. Крім того, сьогодні фазу II клінічних випробувань як терапевтичний засіб для лікування гепатичних розладів [10, 11] проходить необоротний інгібітор IDN-6556, структура якого була нещодавно досліджена.



IDN-6556

Авторами винаходу були розроблені і синтезовані нові сполуки, які можуть використовуватися як ефективні інгібітори каспаз і мають особливу структуру і високу селективність до подібних ферментів, а також визначена їхня здатність зв'язуватися з каспазами та інгібувати каспазну активність. Однією з таких сполук, що мають зазначені властивості і, таким чином, дозволяють здійснити даний винахід, є сполука, яка відповідає формулі (1):



де  
A, B, R, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> і X мають значення, подані нижче.

Отже, даним винаходом створена нова ізоксазолінова похідна за формулою (1), її сіль або стереоізомер, що мають інгібіторну активність по відношенню до каспаз.

Іншою метою даного винаходу є створення способу для виготовлення сполуки за формулою (1), її солі або стереоізомеру.

Метою даного винаходу є також створення складу, процесу застосування або інгібування каспаз і, зокрема, терапевтичного складу, процесу його застосування або процесу профілактики за його допомогою запалення й апоптозу, що містить сполуку за формулою (1), її сіль або стереоізомер як активний інгредієнт разом із фармацевтично прийнятним носієм.

На Фіг.1 показана інгібіторна активність сполуки (iii) проти фіброзу печінки, зумовленого стагнацією жовчі: "а)" у випадку симульованої операції; "b)" у випадку BDL операції, коли після лігування жовчної протоки вводили тільки носій; "с)" у випадку, коли сполуку (iii) вводили пероральним шляхом з дозою 3мг/кг двічі на день протягом 1 тижня через 1 тиждень від дня лігування жовчної протоки; "d)" у випадку, коли сполуку (iii) вводили пероральним шляхом з дозою 10мг/кг двічі на день протя-

гом 1 тижня через 1 тиждень від дня лігування жовчної протоки.

На Фіг.2 показана інгібіторна активність сполуки (iii) проти апоптозу клітин печінки внаслідок стагнації жовчі: "а)" випадку симульованої операції; "b)" у випадку BDL операції, коли після лігування жовчної протоки вводили тільки носій; "с)" у випадку, коли сполуку (iii) вводили пероральним шляхом з дозою 3мг/кг двічі на день протягом 1 тижня через 1 тиждень від дня лігування жовчної протоки; "d)" у випадку, коли сполуку (iii) вводили пероральним шляхом з дозою 10мг/кг двічі на день протягом 1 тижня через 1 тиждень від дня лігування жовчної протоки; і "е)" зображений графік кількості клітин печінки, залучених до апоптозу в кожній групі обробки.

Перед тим, як перейти до детальної ілюстрації даного винаходу, тут будуть подані значення декількох важливих термінів, використовуваних у даному описі.

а) Термін «простий алкільний ланцюг» (у подальшому: SAC, Simple Alkyl Chain) означає вуглеводень, який має від 1 до 8 атомів вуглецю в прямолінійній або розгалуженій ізомерній формі.

б) Термін "простий циклоалкільний ланцюг" (у подальшому: SCAC, Simple Цикло Alkyl Chain) означає циклічний радикал, що має від 3 до 10 атомів вуглецю.

с) Термін "арильна група" (у подальшому: Ar) стосується як ароматичних, так і гетероароматичних груп. При цьому під ароматичною групою тут мається на увазі 5-15-членний поодинокий або злитий ненасичений цикл. Один або більше атомів водню в цій групі можуть бути заміщені групою (або групами), вибраними серед ацилу, аміно, карбоалкокси, карбокси, карбоксіаміно, ціано, галоїду, гідрокси, нітро, тіолу, алкілу, циклоалкілу, алкокси, арилокси, сульфокси і гуанідогрупи. Під гетероароматичною групою тут мається на увазі ароматична група, яка містить від 1 до 5 гетероатомів, вибраних із сукупності, що складається із сірки й азоту. Тут також один або більше атомів водню можуть бути заміщені групою (або групами), вибраними серед ацилу, аміно, карбоалкокси, карбокси, карбоксіаміно, ціано, галоїду, гідрокси, нітро, тіолу, алкілу, циклоалкілу, алкокси, арилу, арилокси, сульфокси і гуанідогрупи. Або, наприклад, у випадку піридилу алкільна група може бути додана до атому азоту з перетворенням піридинільної групи на піридинієву групу, яка має (+) заряд на атомі азоту.

До числа арильних груп належать феніл, біфеніл, 1-нафтил, 2-нафтил, піридиніл, N-алкілпіридиніл, піримідиніл, хінолініл, бензотієніл, індоліл, піразиніл, ізоіндоліл, ізохінолініл, хіназолініл, хіноксалініл, фталазиніл, імідазолініл, ізоксазоліл, піразоліл, оксазоліл, тіазоліл, індолізиніл, індазоліл, бензотіазоліл, бензімідазоліл, бензофураніл, тієніл, пірроліл, оксадіазоліл, тіадіазоліл, триазоліл, тетразоліл, оксазоліпіридиніл, імідазопіридиніл, ізотіазоліл, цинолініл, карбазоліл, ізохроманіл, хроманіл, тетрагідроізохінолініл, ізоіндолініл, ізобензотетрагідрофураніл, ізобензотетрагідротієніл, ізобензотієніл, бензоксазоліл, піридопіридиніл, бензотетрагідрофураніл, бензотетрагідротієніл, пуриніл, бензодіоксоліл,

триазиніл, феноксазиніл, фенотіазиніл, птеридиніл, бензотіазоліл, імідазопіридиніл, імідазотіазоліл, дигідробенззоксазиніл, бенззоксазиніл, бензоксазиніл, дигідробензотіопіраніл, бензопіраніл, бензотіопіраніл, кумариніл, ізокумариніл, хромоніл, хроманоніл, піридиніл-N-оксид, тетрагідрохінолін-N-оксид, дигідрохінолініл, дигідрохінолініл, дигідроізохіноліноніл, дигідрокумариніл, дигідроізокумариніл, ізоіндоліноніл, бензодіоксаніл, бензоксазоліноніл, N-алкілпіридій, піроліл-N-оксид, піримідиніл-N-оксид, піразиніл-N-оксид, хінолініл-N-оксид, індоліл-N-оксид, індолініл-N-оксид, ізохінолініл-N-оксид, хіназолініл-N-оксид, хіноксалініл-N-оксид, фталазиніл-N-оксид, імідазолініл-N-оксид, ізоксазоліл-N-оксид, оксазоліл-N-оксид, тіазоліл-N-оксид, індолізініл-N-оксид, індазоліл-N-оксид, бензотіазоліл-N-оксид, бензімідазоліл-N-оксид, піроліл-N-оксид, оксадіазоліл-N-оксид, тіадіазоліл-N-оксид, триазоліл-N-оксид, тетразоліл-N-оксид, і т.д.

d) Термін "простий алкільний ланцюг, заміщений арилом" (у подальшому: SAC-Ar) означає прямолінійний або розгалужений алкіл, який має від 1 до 8 атомів вуглецю і є заміщений однією із вищеперелічених арильних груп.

e) Термін "природна амінокислота" охоплює своїм значенням такі амінокислоти: гліцин, аланін, валін, лейцин, ізолейцин, серин, треонін, цистеїн, метіонін, пролін, аспартанову кислоту, аспарагін, глутамінову кислоту, глутамін, лізин, аргінін, пістидин, фенілаланін, тирозин і триптофан.

f) Захисною групою у формі естеру є вуглеводень, який має від 1 до 8 атомів вуглецю у прямолінійній або розгалуженій ізомерній формі.

У даному описі використовуються такі скорочення:

NCS: N-хлорсукцинімід

NMM: N-метилморфолін

HATU: O-(7-азабензотриазол-1-іл)-N,N'-тетраметилуронігексафторфосфат:

DMF: N,N-диметилформамід

EDC: 1-(3-диметиламінопропіл)-3-етилкарбодіімід

HOBT: 1-гідроксибензотриазолгідрат

TFA: трифтороцтова кислота

Woc: трет-бутоксикарбоніл

Cbz: бензилоксикарбоніл

Me: метил

Et: етил

Eq (Екв.): еквівалент

Замісники в наведеній вище формулі (1) позначаються таким чином.

I) R означає H, простий алкільний ланцюг (-SAC), простий циклоалкільний ланцюг (-SCAC), арильну групу (-Ar) або простий алкільний ланцюг, заміщений арилом (-SAC-Ar),

II) R<sup>1</sup> означає -SAC, -SCAC, -Ar, -SAC-Ar або бічноланцюговий залишок будь-якої природної амінокислоти; і сполука за формулою (1) може існувати у специфічній діастереомерній формі або її суміші, коли атом вуглецю, до якого приєднаний R<sup>1</sup> стає стереоцентром завдяки групі R<sup>1</sup>; або сполука за формулою (1) може мати захисну групу у формі естеру (-CO<sub>2</sub>R<sup>3</sup>, де R<sup>3</sup> є -SAC) або сульфонамідів (-CONHSO<sub>2</sub>R<sup>4</sup>, де R<sup>4</sup> є -SAC), або може існувати у формі фармацевтично прийнятної солі,

коли R<sup>1</sup> є бічноланцюговий залишок амінокислоти, що містить карбоксильну частину; або ж сполука за формулою (1) може існувати також у формі фармацевтично прийнятної солі, коли R<sup>1</sup> є бічноланцюговий залишок амінокислоти що містить основну частину.

III) R<sup>2</sup> означає -SAC, -SCAC, -Ar, -SAC-Ar або бічноланцюговий залишок природної амінокислоти; і сполука за формулою (1) може існувати у специфічній діастереомерній формі або її суміші, коли атом вуглецю, до якого приєднаний R<sup>2</sup> стає стереоцентром завдяки групі R<sup>2</sup>; або сполука за формулою (1) може мати захисну групу у формі естеру (-CO<sub>2</sub>R<sup>5</sup>, де R<sup>5</sup> є -SAC) або сульфонамідів (-CONHSO<sub>2</sub>R<sup>6</sup>, де R<sup>6</sup> є -SAC), або може існувати у формі фармацевтично прийнятної солі, коли R<sup>2</sup> є бічноланцюговий залишок амінокислоти, що містить карбоксильну частину; або сполука за формулою (1) може існувати також у формі фармацевтично прийнятної солі, коли R<sup>2</sup> є бічноланцюговий залишок амінокислоти що містить основну частину, або

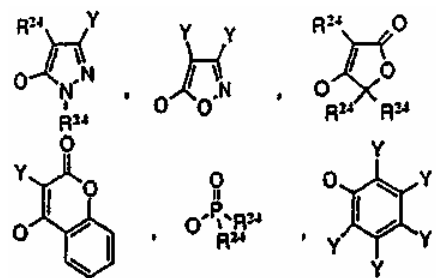
R<sup>2</sup> означає, крім того, H; -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>OR<sup>7</sup> де R<sup>7</sup> є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar, а n=1 або 2; або -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>OC(=O)R<sup>8</sup>, де R<sup>8</sup> є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar, а n=1 або 2.

IV) A означає -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> (n=0-4), -O-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> (n=0-4) або -NR<sup>9</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> (n=0-4), де R<sup>9</sup> є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar.

V) B означає H, -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar, або

VI) R і R<sup>1</sup> можуть утворювати цикл разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, де -R-R<sup>1</sup> є -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> або -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-NR<sup>10</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>, де n+m<9, а R<sup>10</sup> є -SAC, -SCAC, -Ar, -SAC-Ar, -C(=O)-SAC, -C(=O)-SCAC, -C(=O)-Ar або -C(=O)-SAC-Ar.

VII) X означає -C(=O)CH<sub>2</sub>OR<sup>11</sup>, де R<sup>11</sup> є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar; -C(=O)CH<sub>2</sub>OC(=O)R<sup>12</sup> де R<sup>12</sup> є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar; -CH=CH-CO<sub>2</sub>R<sup>13</sup> де R<sup>13</sup> є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar; -CH=CH-SO<sub>2</sub>R<sup>14</sup> де R<sup>14</sup> є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar; -C(=O)CH=CH<sub>2</sub>; або -COCH<sub>2</sub>-W де W є -N<sub>2</sub>, -F, -Cl, -Br, -I, -NR<sup>15</sup>R<sup>16</sup> (де R<sup>15</sup> і R<sup>16</sup> кожний незалежно є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar або разом можуть утворювати 3-6-членну насичену або ненасичену циклічну групу), -SR<sup>17</sup> (де R<sup>17</sup> є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar) або є групою, що визначається такими формулами:



де

Y є H, -OH, -OR<sup>18</sup> (де R<sup>18</sup> є -SAC або -SCAC), -C(=O)R<sup>19</sup> (де R<sup>19</sup> є -H, -SAC або -SCAC), -F, -Cl, -Br, -I, -CN, -NC, -N<sub>3</sub>, -CO<sub>2</sub>H, CF<sub>3</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sup>20</sup> (де R<sup>20</sup> є -SAC або -SCAC), -C(=O)NHR<sup>21</sup> (де R<sup>21</sup> є -SAC або -

SCAC) або  $-C(=O)NR^{22}R^{23}$  (де  $R^{22}$  і  $R^{23}$  кожний незалежно є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar),  
 $R^{24}$  є H, -SAC, -SAC-Ar або -Ar.

Кращими сполуками за наведеною вище формулою (1) є такі, в котрих

R означає H;

$R^1$  означає  $-CH_2COOH$ ,  $-CH_2COOR^3$  (де  $R^3$  є SAC) або  $-CH_2CNHSO_2R^4$  (де  $R^4$  є SAC);

$R^2$  означає H, -SAC, -Ar або  $-(CH_2)_nOR^7$  (де  $R^7$  є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar, n=1 або 2); або

X означає  $-C(=O)CH_2OAr$ ,  $-C(=O)CH_2OC(=O)Ar$  або  $-COCH_2W$ , де W є  $-N_2$ , -F, -Cl, -Br, -I,  $-NR^{15}R^{16}$  (де  $R^{15}$  і  $R^{16}$  кожний незалежно є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar, або разом можуть утворювати 3-6-членну насичену або ненасичену циклічну групу) або  $-SR^{17}$  (де  $R^{17}$  є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar).

Ще кращими сполуками за наведеною вище формулою (1) є такі, в котрих

I) R означає H,

II)  $R^1$  означає  $-CH_2COOH$ ,  $-CH_2COOR^3$  (де  $R^3$  є SAC) або  $-CH_2CONHSO_2R^4$  (де  $R^4$  є SAC),

III)  $R^2$  означає H, -SAC, -Ar або  $-(CH_2)_nOR^7$  ( $R^7$  = -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar, a n=1 або 2),

IV) A означає  $-(CH_2)_n$  (n=0-4) або  $-O-(CH_2)_n-$  (n=0-4),

V) B означає H, -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar,

VI) X означає  $-COCH_2N_2$ ,  $-COCH_2F$ ,  $-COCH_2Cl$ ,  $-COCH_2Br$ ,  $-COCH_2I$ ,  $-COCH_2OAr$ ,  $-COCH_2OCOAr$  або  $-COCH_2SR^{17}$  (де  $R^{17}$  є -SAC, -SCAC, -Ar або -SAC-Ar).

Особливо кращими є сполуки вибрані із такої групи:

(1) (3S)-5-[(2,6-дихлорбензоїл)окси]-3-([5-метил-3-феніл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-4-оксопентанова кислота (laa);

(2) (3S)-3-([5-іетил-3-феніл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-4-оксо-5-феноксипентанова кислота (lbb);

(3) (3S)-3-([5-етил-3-феніл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентанова кислота (lcc);

(4) (3S)-3-([5-етил-3-(1-нафтил)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентанова кислота (ldd);

(5) (3S)-3-([5-етил-3-(2-нафтил)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентанова кислота (lee);

(6) (3S)-3-([5-етил-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентанова кислота (lff);

(7) 3-([5-етил-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (lgg);

(8)етил-3-([5-етил-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-5-фтор-4-оксопентаноат (lhh);

(9)5-фтор-3-([5-іетил-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-4-оксопентанова кислота (lji);

(10) 3-([5-етил-3-(4-хінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (lij);

(11) 3-([3-(бензотіофен-2-іл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (lkk);

(12) (3S)-3-([3-(1,3-диметил-1Н-індол-2-іл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентанова кислота (lll);

(13) 3-([3-(1,3-диметил-1Н-індол-2-іл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (lmm);

(14) (3S)-3-([5-етил-3-(1-нафтилметил)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентанова кислота (lnn);

(15) (3S)-5-[(2,6-дихлорбензоїл)окси]-3-([5-етил-3-[2-(1-нафтил)етил]-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-4-оксопентанова кислота (loo);

(16) (3S)-3-([5-етил-3-[(1-нафтилокси)метил]-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентанова кислота (lpp);

(17) (3S)-3-([3-([4-хлор-1-нафтил)окси]метил)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентанова кислота (lqq);

(18) (3S,4E)-6-етокси-3-([5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-6-оксо-4-гексенова кислота (lrr);

(19) (3S,4E)-3-([5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-5-(метилсульфоніл)-4-пентенова кислота (lss);

(20) 5-фтор-3-([5-іетил-3-(1-ізохінолініл)-5-пропіл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-4-оксопентанова кислота (lft);

(21) 3-([5-етил-3-(1-нафтил)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (luu);

(22) 3-([5-етил-3-(2-хінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (lvv);

(23) 3-([5-етил-3-(3-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (lww);

(24) 3-([5-етил-3-(8-хінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (lxx);

(25) 3-([5-етил-3-(3-хінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (lyy);

(26) 5-фтор-3-([5-ізопропіл-3-(2-хінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-4-оксопентанова кислота (lzz);

(27) 3-([5-етил-3-(2-ізопропілфеніл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (laa1);

(28) 3-([3-[3-(трет-бутил)феніл]-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (laa2);

(29) 3-([3-[4-(трет-бутил)феніл]-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (laa3);

(30) 5-фтор-3-([5-ізопропіл-3-(2-ізопропілфеніл)-4,5-дигідро-5-

ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-4-оксопентанова кислота (Iaa4);

(31) 3-([[(3-([3-(трет-бутил)феніл]-5-ізопропіл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa5);

(32) 3-([[(3-[1,1'-біфеніл]-3-іл-5-ізопропіл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa6);

(33) 3-([[(5-етил-3-(2-піридиніл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa7);

(34) 3-([[(3-[4-(трет-бутил)-2-піридиніл]-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa8);

(35) 3-([[(5R)-3-[4-(трет-бутил)-2-піридиніл]-5-ізопропіл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa9);

(36) 3-([[(5-етил-3-(4-ізобутил-2-піридиніл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa10);

(37) 3-([[(3-(4-ацетил-2-піридиніл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa11);

(38) 3-([[(3-(4-циклопропіл-2-піридиніл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa12);

(39) 3-([[(3-(4-циклопентил-2-піридиніл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa13);

(40) 3-([[(5R)-3-(4-циклопентил-2-піридиніл)-5-ізопропіл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa14);

(41) 3-([[(3-(4-циклогексил-2-піридиніл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa15);

(42) 3-([[(5-етил-3-(5,6,7,8-тетрагідро-1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa16);

(43) 5-фтор-3-([[(5-ізопропіл-3-(4-феніл-2-піридиніл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-4-оксопентанова кислота (Iaa17);

(44) (3S)-5-[(дифенілфосфорил)окси]-3-([[(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-4-оксопентанова кислота (Iaa18);

(45) (3S)-3-([[(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-4-оксо-5-[[1-феніл-5-(трифторметил)-1H-піразол-5-іл]окси]пентанова кислота (Iaa19);

(46) (3S)-5-[(4-бензил-5-оксо-2,5-дигідро-3-фураніл)окси]-3-([[(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-4-оксопентанова кислота (Iaa20);

(47) (3S)-5-[(ізобутирилокси)-3-([[(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-4-оксопентанова кислота (Iaa21);

(48) (3S)-3-([[(5R)-5-ізопропіл-5-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-4-оксо-5-гексенова кислота (Iaa22);

(49) (3S)-3-([[(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-4-оксо-5-(2-піридинілокси)пентанова кислота (Iaa23);

(50) (3S)-3-([[(5-етил-3-(2-ізопропілфеніл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-4-оксо-5-(2-піридинілокси)пентанова кислота (Iaa24);

(51) 2-([[(3S)-4-карбокси-3-([[(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-2-оксобутил]окси]-1-метилпіридинійтрифторметансульфонат (Iaa25);

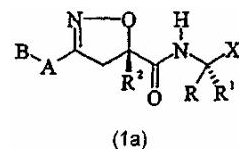
(52) 2-([[(3S)-4-карбокси-3-([[(5-етил-3-(2-ізопропілфеніл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-2-оксобутил]окси]-1-метилпіридинійтрифторметансульфонат (Iaa26);

(53) 3-([[(3-(5-хлор-1-метил-1H-індол-2-іл)-5-ізопропіл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa27);

(54) 3-([[(3-(1,5-диметил-1H-індол-2-іл)-5-ізопропіл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa28);

(55) (3S)-5-фтор-3-([[(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-4-оксопентанова кислота (Iii-1).

Сполука за формулою (1) згідно з даним винаходом має (2) асиметричні атоми вуглецю і, таким чином, може існувати в її стереоізомерній формі, включаючи діастереомер. Особливо прийнятими серед стереоізомерів є сполуки, що описуються формулою (Ia):



Отже метою даного винаходу, поряд з іншим, є створення сполуки за формулою (1a) у стереоізомерній формі.

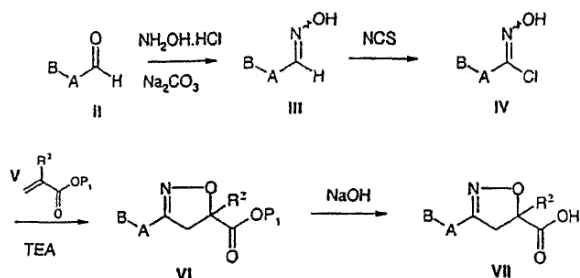
Серед сполук за формулою (1a), наприклад, (3S)-5-фтор-3-([[(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-4-оксопентанова кислота (Iii-1) може бути виготовлена за допомогою процесу, який включає у себе стадії розчинення суміші (3S) і (3R) у метил-трет-бутиловому етері, додавання невеликої кількості кристалічної (3S)-5-фтор-3-([[(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-4-оксопентанової кислоти як зародкового матеріалу для утворення кристалу, і рекристалізації цього кристалу із етилацетат/п-гексанового розчинника.

Найкращими серед сполук, що описуються формулами (1) і (1a), є 5-фтор-3-([[(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-4-оксопентанова кислота (Iii) і (3S)-5-фтор-3-([[(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-4-оксопентанова кислота (Iii-1).

Процеси для виготовлення нової ізоксазолінової похідної, що відповідає формулі (1) і має інгібіторну активність по відношенню до каспаз, ілюст-

ровані на розглянутих нижче Схемах 1-5 проведення реакцій. Слід зауважити, що на цих схемах відображені лише типові процеси, які можуть використовуватися в даному винаході. Показаний на них порядок операцій може бути змінений без будь-яких обмежень. Отже дані процеси не обмежуються поданими тут варіантами їх практичного втілення.

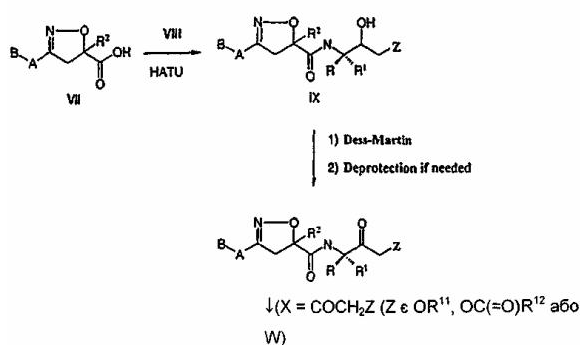
Схема 1 проведення реакцій



де A, B і R<sup>2</sup> є такими, як визначено вище, а P означає простий алкільний ланцюг.

У відповідності зі Схемою 1 проводять реакцію альдегідної похідної (II) з гідроксиламіногідрохлоридом і карбонатом натрію у змішаному водоспиртовому розчиннику з одержанням оксимної похідної (III) (ізомерної суміші син-оксиму й анти-оксиму). Утворену оксимну похідну (III) піддають обробці N-хлорсукцинімідом (NCS) у розчині диметилформаміду, в результаті чого одержують гідроксамойлхлоридну похідну (IV). Далі проводять реакцію одержаної таким чином гідроксамойлхлоридної похідної (IV) з акрилатною похідною (V), в результаті чого одержують ізоксазолінову похідну (VI), котру, в разі потреби, піддають гідролізу і, таким чином, одержують позбавлену захисту ізоксазолінову похідну (VII). У випадку прийнятності оксимна похідна (III), акрилатна похідна (V) і NaOCl можуть взаємодіяти разом у реакторі (in situ), безпосередньо утворюючи ізоксазолінову похідну (VI) (див. Досліди 16 і 17 з виготовлення).

Схема 2 проведення реакцій



На схемі. 1) Реакція Деса-Мартена

2) В разі потреби, зняття захисту

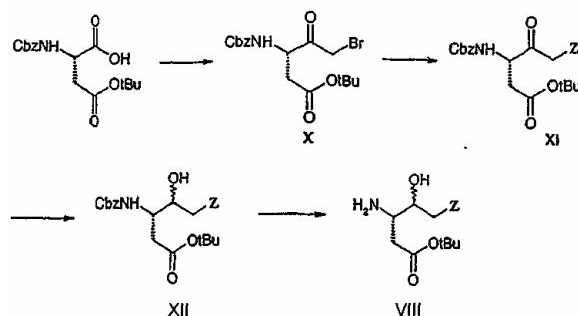
де A, B, R, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup> і W є такими, як визначено вище.

У відповідності з Схемою 2 карбокислотну похідну (VII) з'єднують з аспартанокислотною похідною (VIII) (див. Схему 3 проведення реакцій, ниж-

че), одержуючи сполуку (IX), яку піддають реакції Деса-Мартена (Dess-Martin) окислення періодинамом і, в разі потреби, реакції зняття захисту, одержуючи в результаті цільову сполуку за формулою (1).

Функціональна група Z у сполуці (I) на Схемі 2 може бути створена в декілька стадій, як показано нижче, у Дослідах 5 і 7 з виготовлення, після того, як карбокислотна сполука (XII) зліва об'єднується з метиловим естером аспартанової кислоти (β-t-Bu). Іншим чином, як показано нижче, на Схемі 3, спочатку синтезують сполуку (VIII), яка вже має бажаний компонент Z, і об'єднують її зі сполукою (VI) [посилання: WO 00/23421]. Крім того, коли W є фтор (F), рацемічна сполука може бути виготовлена у відповідності з методом, описаним в роботі [Tetrahedron Letters, 1994, 35(52), 9693-9696].

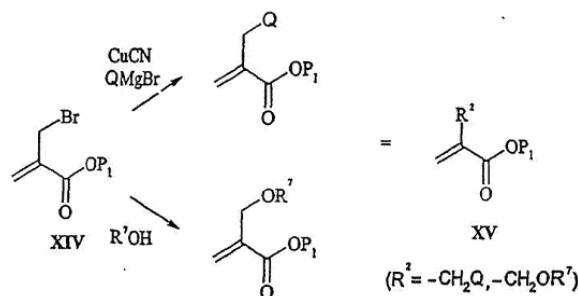
Схема 3 проведення реакцій



де Z є таким, як визначено вище.

Акрилатна похідна (V), що використовується як реагент у процесі за наведеною вище Схемою 1, може бути одержана двома (2) шляхами. Один з них полягає в тому, що сполуку (XV) легко виготовляють із відомої сполуки (XIV) [Synthesis, 1982, p.924], як це відображено на Схемі 4 нижче, а інший - в тому, що метил (етил)-2-і-пропілакрилат, сполуку (V), виготовляють із диметил(діетил)малонату [J. Chemical Society Perkin Trans. 1 1997, 1559-1570].

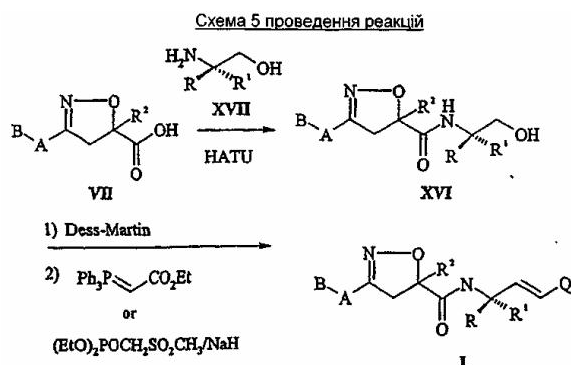
Схема 4 проведення реакцій



де P<sub>1</sub> і R<sup>2</sup> є такими, як визначено вище.

Далі, на Схемі 5 проведення реакцій відображений процес синтезу сполуки, де α,β-ненасичений естер або α,β-ненасичений сульфен уводять у положення P<sub>1</sub>. У відповідності з цим процесом карбокислотну похідну (VII), одержану відповідно до Схеми 1, приводять у взаємодію з аміноспиртовою похідною (XVII), одержуючи сполуку (XVI), яку піддають реакції окислення за Де-

сом-Мартеном (Dess-Martin) і реакції Уїтіра (Wittig), у результаті чого отримують сполуку (I).



3) У разі потреби, зняття захисту

де

R, A, B, R<sup>1</sup> і R<sup>2</sup> є такими, як визначено вище, а Q означає -CO<sub>2</sub>R<sup>13</sup> або SO<sub>2</sub>R<sup>14</sup>, де R<sup>13</sup> і R<sup>14</sup> є такими, як визначено вище.

Сполука за формулою (1) згідно з даним винаходом має широкий спектр інгібіторної активності по відношенню до каспаз, про що засвідчили результати описаних нижче експериментів, і отже являє собою ефективний засіб профілактики запалень і апоптозу. Таким чином, даним винаходом пропонується склад для інгібування каспаз і зокрема, терапевтичний склад для профілактики запалень і апоптозу, який містить сполуку за формулою (1) як активний інгредієнт разом з фармацевтично прийнятним носієм. Склад згідно з даним винаходом дає терапевтичний ефект при лікуванні деменції, інсульту, ушкодження мозку внаслідок СНІДу, діабету, виразки шлунку, церебральних ушкоджень внаслідок гепатиту, викликаних гепатитом хвороб печінки, гострого гепатиту, швидкоплинних уражень печінки, цирозу печінки, сепсису, відторгнення трансплантатів, ревматоїдного артриту й апоптозу клітин серця внаслідок ішемічних хвороб серця, і особливо по відношенню до гострого гепатиту, цирозу печінки і ревматоїдного артриту.

Інгібітор каспази і, зокрема, сполука за формулою (1) для її введення в організм пацієнта може входити до складу різноманітних фармацевтичних форм. Для виготовлення фармацевтичного складу згідно з даним винаходом ефективну кількість інгібітору каспази і, зокрема, сполуки за формулою (1) або її солі, є змішують з фармацевтично прийнятним носієм, який може мати найрізноманітніші форми, залежно від препарату, що виготовляється.

Сполука-інгібітор каспази може входити до складу препаратів для парентеральних ін'єкцій, трансдермальних препаратів або препаратів для перорального введення, залежно від мети її застосування. Особливо вигідним є готувати такі фармацевтичні склади в однодозовій лікарській формі для полегшення її введення і рівномірності дозування.

У пероральних препаратах може використовуватися будь-який звичайний фармацевтичний носій, наприклад, вода, гліколі, олії, спирти і т.п. у рідких препаратах, таких, як суспензії, сиропи, еліксири і розчини, або крохмаль, цукор, каолін, мас-

тила, сполучні, дезінтегратори і т.п. - у твердих пероральних препаратах, що мають форму порошків, драже, капсул і таблеток. Легкість їх введення робить препарати у вигляді таблеток і капсул найбільш вигідними однодозовими лікарськими формами. При цьому таблетки і пілюлі бажано забезпечувати ентросолюбільним покриттям.

У парентеральному препараті в ролі носію звичайно використовується вода, хоча не виключається застосування також інших інгредієнтів, наприклад, солубілізаторів. Препарати для ін'єкцій можуть готуватися у формі, наприклад, стерильних водних або олійних суспензій, за відомими методами при використанні відповідних диспергаторів, зволожувачів і суспендувальних агентів. Як розчинник в препаратах для ін'єкцій, поряд з іншими, можуть використовуватися вода, розчин Рінгера (Ringer) та ізотонічний розчин NaCl. Крім того, розчинником або суспендувальним середовищем у препаратах для ін'єкцій може служити також стерилізована сполучна олія. У цій ролі може використовуватися також будь-яке нестимулятивна сполучна олія, включаючи моно- і дигліцериди. У препаратах для ін'єкцій можуть використовуватися також жирні кислоти, наприклад, олеїнова кислота.

Носій препарату для введення крізь шкіру може містити агент підсилення проникності і/або підходящий змочувальний агент, можливо в комбінації з підходящими добавками, що не викликають значного подразнення шкіри. Ці добавки можуть полегшувати введення препарату через шкіру і/або служити допоміжними засобами при готуванні бажаної композиції. Такі препарати мають різноманітні фізичні форми, включаючи трансдермальні пластири, точкові накладки та мазі.

При використанні інгібітору каспази і, зокрема, сполуки за формулою (1) в клінічних цілях її вводять пацієнту в кількості від 0,1 до 100мг на кілограм маси тіла на день. Сумарна денна доза може вводитися як за один, так і за декілька разів. Проте, індивідуальне дозування у кожного пацієнта може варіювати залежно від використовуваної сполуки, маси тіла, статі, пієнічних умов або раціону харчування, часу та способу введення, швидкості вивільнення, співвідношення активної речовини в суміші, тяжкості хвороби, тощо.

Нижче винахід пояснюється більш докладно на прикладах його здійснення, котрі слід розглядати виключно як ілюстративний матеріал, що жодним чином не обмежує об'єму даного винаходу.

Дослід 1 з виготовлення

Бензальдегідоксид

Бензальдегід (5,31г, 50,0ммоль) розчинили в етанолі (60мл) з водою (30мл), і до розчину добавили гідроксиламінгідроклорид (5,21г, 1,5екв.) і безводний карбонат натрію (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 3,97г, 0,75екв.) при температурі 0°C. Приблизно через 1 хвилину після того, як утворилася велика кількість твердої речовини, добавили воду з етанолом (1:1,60мл), і суміш перемішали протягом однієї години. Після цього додали насичений водний розчин хлориду натрію (100мл), і суміш двічі екстрагували етилацетатом (300мл). Екстракт промили 1,0н. водним розчином бікарбонату натрію (NaHCO<sub>3</sub>, 100мл×2), просушили (безводний Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) і концентрували під зниженим тиском,

отримавши зазначену в заголовку сполуку (6,06г, вихід 99%) у вигляді білого порошку суміші цис- і транс-ізомерів.

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,9(розшир., 1H), 8,1(s, 1H), 7,5(m, 2H), 7,3(m, 3H)

Дослід 2 з виготовлення

Бензальдегідгідроксамойлхлорид

Оксим, одержаний у Досліді 1 з виготовлення (3,00г, 24,8ммоль), розчинили в диметилформаміді (100мл), і до розчину добавили N-хлорсукцинімід (3,47г, 1,05екв.). Утворений таким чином розчин перемішали протягом однієї години у водяній бані температурою приблизно 40°C, і легкий розчинник видалили шляхом дистиляції під зниженим тиском. Залишок розчинили в суміші етилацетат/гексан (1:1, 150мл), промили водою (100мл×3), просушили (безводний Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) і концентрували під зниженим тиском одержавши зазначену в заголовку сполуку (3,86г, вихід 99%). Одержану сполуку використовували в наступній реакції без подальшого очищення.

Дослід 3 з виготовлення

Метил-5-метил-3-феніл-4,5-дигідро-5-ізоксазолкарбоксилат (VIa)

Гідроксамойлхлорид, одержаний у Досліді 2 з виготовлення (3,86г, 24,8ммоль), і метил метакрилат (4,0мл, 37,2ммоль, 1,5екв.) розчинили в сухому діетиловому етері (120мл) в атмосфері азоту, суміш витримали при температурі -78°C і до неї добавили триетиламін (6,9мл, 2,0екв.). Після цього суміш перемішували протягом ночі доти, поки вона повільно не відігралась до кімнатної температури. До неї добавили воду (100мл), суміш екстрагували етилацетатом (100мл×2), промили водою (100мл), просушили (безводний Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) і концентрували під зниженим тиском. Залишок очистили на хроматографічній колонці (15% етилацетат/гексан), одержавши в результаті зазначену в заголовку сполуку (5,34г, вихід 98%), яку ідентифікували методом <sup>1</sup>H-ЯМР як суміш діастереомерів у співвідношенні 1:1.

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 6,7(m, 2H), 6,5(m, 3H), 3,0(d, J=16,7Гц, 1H), 2,9(s, 3H), 2,3(d, J=16,7Гц, 1H), 0,8(s, 3H)

Дослід 4 з виготовлення

5-Метил-3-феніл-4,5-дигідро-5-ізоксазолкарбонова кислота (VIIa)

Сполуку, одержану в Досліді 3 з виготовлення (VIa, 5,34г), розчинили в дистильованому тетрагідрофурані (120мл) і до розчину добавили 1н. водний розчин гідроксиду натрію (36,5мл, 1,5екв.). Приблизно через чотири години суміш нейтралізували 1н. водним розчином соляної кислоти і дистилювали під зниженим тиском для видалення більшої частини тетрагідрофурану. Залишок розчинили в надлишковій кількості етилацетату (>700мл), промили водою, просушили (безводний Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) і концентрували під зниженим тиском, одержавши зазначену в заголовку сполуку (4,77г, вихід 95%) у вигляді білого порошку. Цю сполуку використовували в наступній реакції без подальшого очищення.

Дослід 5 з виготовлення

(3S)-3-[[бензилокси]карбоніл]аміно-5-(трет-бутокси)-2-гідроксі-5-оксопентил-2,6-дихлорбензоат (XIa)

До

N-бензилоксикарбоніл-β-трет-бутиласпартанової кислоти (5,03г, 15,6ммоль) і NMM (1,90мл, 17,1ммоль) в атмосфері азоту додали сухий тетрагідрофуран (60мл), суміш витримали при -15°C і до неї додали ізобутилхлорформіат (2,12мл, 16,3ммоль). Суміш перемішали протягом приблизно 20 хвилин. До реакційної суміші, яку підтримували при температурі 0°C, додали розчин діазометанового етеру (синтезованого із 2,0екв. 1-метил-3-нітро-1-нітрозоганідину, 60мл), у результаті чого була створена діазо кетонна похідна (~30 хвилин). До неї при температурі 0°C додали 30% HBr/AcOH (6,42мл, 2,0екв.). Створену таким чином суміш перемішали (30-60 хвилин), екстрагували етилацетатом, промили двічі насиченим водним розчином бікарбонату натрію і один раз водним розчином хлориду натрію, просушили (безводний Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) і концентрували під зниженим тиском, одержавши бромметилкетонну похідну (X, 6,4г).

Одержану таким чином бромметилкетонну похідну (X, 4,36г) і 2,6-дихлорбензойну кислоту (2,28г, 1,1екв.) розчинили в диметилформаміді (18мл), додали KF (1,58г, 2,5екв.), і суміш перемішали протягом двох годин, одержавши 2,6-дихлорбензоїлоксиметилкетонну похідну (XIa). Одержану таким чином сполуку розчинили в метанолі (20мл), до цього розчину додали розчин NaBH (412мг) в метанолі (40мл) і провели їх реакцію в інтервалі температур від -10°C до кімнатної температури протягом двох годин. Реакцію зупинили оцтовою кислотою і реакційний розчин дистилювали під зниженим тиском для видалення метанолу. Залишок екстрагували етилацетатом (50мл×2), промили водою і водним розчином хлориду натрію, просушили (безводний Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), концентрували під зниженим тиском, і очистили розділенням на хроматографічній колонці (етилацетат/гексан, 1:5) одержавши в результаті зазначену в заголовку сполуку (4,80г, вихід 86%) у діастереомерній формі.

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,3-7,2(m, 8H), 5,9(m, 1H), 5,2(m, 4H), 4,7(m, 1H), 2,9(m, 1H), 2,7(m, 1H), 1,4(s, 9H)

Дослід 6 з виготовлення

(3S)-3-аміно-5-(трет-бутокси)-2-гідроксі-5-оксопентил-2,6-дихлорбензоат (VIIIa)

Бензилоксикарбонільну групу сполуки, одержаної в Досліді 5 з виготовлення, видалили (паладій на вуглець, Pd/C) витриманням в атмосфері балонного водню протягом 40 хвилин, одержавши зазначену в заголовку сполуку (вихід 100%).

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,2(розшир., 2H), 7,6-7,5(m, 3H), 6,1(m, 1H), 4,4-3,9(m, 3H), 3,0-2,6(m, 2H), 1,4(s, 9H)

Приклад 1

(3S)-5-(трет-бутокси)-3-[[5-метил-3-феніл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно-2,5-діоксопентил-2,6-дихлорбензоат (Ia)

Суміш карбокисотної похідної, одержаної в Досліді 4 з виготовлення (VIIa, 300мг, 1,46ммоль), аміноспиртової похідної, одержаної у Досліді 6 з виготовлення (VIIIa, 667мг, 1,1екв.) і HATU (722мг, 1,3екв.) охолодили до 0°C, додали до неї розчин триетиламіну (0,82мл, 4,0екв.) в DMF (5мл), і провели реакцію утвореної суміші протягом 5 годин.

Розчинник відігнали під зниженим тиском, а залишок екстрагували етилацетатом (200мл×2), промили водою, водним розчином бікарбонату натрію і водним розчином хлориду натрію, просушили (безводний  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), концентрували під зниженим тиском і очистили на хроматографічній колонці, одержавши сполуку (IXa) (810мг, вихід 98%). До цієї сполуки в суміші з реагентом Деса-Мартена (Dess-Martin) (1,70г, 3,0екв.) додали сухий дихлорметан (25мл), і суміш перемішали протягом однієї години при кімнатній температурі. Реакцію зупинили ізопропіловим спиртом (3мл). Тверду речовину видалили шляхом фільтрації під зниженим тиском через целіт, і фільтрат екстрагували етилацетатом (20мл×2), промили водою, насиченим водним розчином бікарбонату натрію і водним розчином хлориду натрію, просушили (безводний  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), концентрували під зниженим тиском і провели попередню очистку методом колонкової хроматографії (36% етилацетат/гексан), одержавши зазначену в заголовку діастереомерну сполуку (780мг).

$^1\text{H}$ -ЯМР (400МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,8(m, NH, 1H), 7,6(m, 2H), 7,3(m, 3H), 7,2(m, 3H), 5,1-5,0(m, 2H), 4,8(m, 1H), 3,8(m, 1H), 3,2(m, 1H), 2,9-2,8(m, 2H), 1,7(s, 3H), 1,4(s, 9H)

#### Приклад 2

(3S)-5-[[2,6-дихлорбензоїл]окси]-3-[[5-метил-3-феніл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно]-4-оксопентанова кислота (Iaa)

Сполуку, одержану у Прикладі 1 (44мг) розчинили в дихлорметані (2мл) і додали трифтороцтову кислоту (1мл) при 0°C. Суміш перемішали протягом двох годин доти, аж поки вона повільно не відігралась до кімнатної температури, і потім концентрували під зниженим тиском, одержавши в результаті зазначену в заголовку сполуку (Iaa) у стехіометричній кількості.

$^1\text{H}$ -ЯМР (500МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,1 (m, 1H), 7,5((m, 2H), 7,3(m, 3H), 7,2(m, 3H), 5,1-4,9(m, 2H), 4,9-4,8(m, 1H), 3,8(m, 1H), 3,2(m, 1H), 1,7(m, 3H)

#### Дослід 7 з виготовлення

Трет-бутил-(SS)-3-аміно-4-гідрокси-5-феноксипентаноат (VIIIb)

До N-бензилоксикарбоніл- $\beta$ -трет-бутиласпартанової кислоти (10,0г, 31,0ммоль) і NMM (3,75мл, 1,1екв.) в атмосфері азоту додали сухий тетрагідрофуран (120мл), і суміш витримали при температурі -15°C. Після цього до неї додали ізобутилхлорформіат (4,22мл, 1,05екв.), і суміш перемішали протягом приблизно 20 хвилин. Реагенти витримали в суміші при 0°C, а потім змішали (приблизно 30 хвилин) з розчином діазометану в етері (синтезованого із 2,0екв. 1-метил-3-нітро-1-нітрозогуанідину, 60мл), в результаті чого була утворена діазокетонова похідна. До суміші додали 30%  $\text{HBr}/\text{AcOH}$  (12,83мл, 2,0екв.), і через 30-60 хвилин утворилася бромметилкетонова похідна. Продукт екстрагували етилацетатом, промили двічі насиченим водним розчином бікарбонату натрію і водним розчином хлориду натрію, просушили (безводний  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) і концентрували під зниженим тиском, одержавши бромметилкетонovu похідну (12,9г) у стехіометричній кількості.

Одержану таким чином бромметилкетонovu похідну (X, 12,9г, 31,0ммоль) і фенол (3,23г, 1,2екв) розчинили в диметилформаміді (30мл),

додали  $\text{KF}$  (4,53г, 2,5екв.) і суміш перемішали протягом двох годин, отримавши феноксиметилкетонovu похідну (XIb). Цю сполуку розчинили в суміші метанолу (40мл) з THF (100мл) і провели її реакцію з розчином  $\text{NaBH}_4$  (2,35г) у метанолі (40мл) (при температурі в інтервалі від -10°C до кімнатної температури протягом двох годин). Реакцію зупинили оцтовою кислотою і реакційну суміш піддали дистиляції під зниженим тиском для видалення метанолу. Залишок екстрагували етилацетатом (50мл×2), промили водою і водним розчином хлориду натрію, просушили (безводний  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), концентрували під зниженим тиском, і очистили розділенням на хроматографічній колонці (етилацетат/гексан, 1:7), одержавши сполуку XIIb (6,50г, вихід 50%) у діастереомерній формі, аміногрупа якої, була захищена бензилоксикарбонілом.

$^1\text{H}$ -ЯМР (400МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,3-7,2(m, 8H), 5,9(m, 1H), 5,2(m, 4H), 4,7(m, 1H), 2,9(m, 1H), 2,7(m, 1H), 1,4(s, 9H)

Бензилоксикарбонільну групу отриманої таким чином сполуки видалили ( $\text{Pd}/\text{C}$ ) витриманням в атмосфері балонного водню, і в результаті одержали зазначену в заголовку сполуку в кількості 4,16г (вихід 95%).

$^1\text{H}$ -ЯМР (400МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8,1(розшир., 2H), 7,3(m, 5H), 5,6(m, 1H), 4,1-4,0 (m, 3H), 2,6(m, 2H), 1,4(s, 9H)

#### Приклад 3

Трет-бутил-(3S)-3-[[5-метил-3-феніл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно]-4-оксо-5-феноксипентаноат (Ib)

Суміш карбокисотної похідної, одержаної в Досліді 4 з виготовлення (VIa, 273мг, 1,33ммоль), аміноспиртової похідної, одержаної в Досліді 7 з виготовлення (VIIIb, 412мг, 1,1екв.) і HATU (657мг, 1,3екв.), охолодили до 0°C, додали до неї розчин триетиламіну (0,74мл, 4,0екв.) в DMF (5мл), і провели реакцію утвореної суміші протягом 5 годин. Розчинник видалили шляхом дистиляції під зниженим тиском, а залишок екстрагували етилацетатом (200мл×2), промили водою, водним розчином бікарбонату натрію і водним розчином хлориду натрію, просушили (безводний  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), концентрували під зниженим тиском і очистили методом колонкової хроматографії (30-40% Етилацетат/гексан), одержавши сполуку (IXb) в кількості 545мг (вихід 88%). До цієї сполуки в суміші з реагентом Деса-Мартена (Dess-Martin) (1,43г, 3,0екв.) додали сухий дихлорметан (25мл), і суміш перемішали протягом однієї години при кімнатній температурі. Реакцію зупинили ізопропіловим спиртом (2мл). Тверду речовину видалили шляхом фільтрації під зниженим тиском через целіт, а фільтрат екстрагували етилацетатом (20мл×2), промили водою, насиченим водним розчином бікарбонату натрію і водним розчином хлориду натрію, просушили (безводний  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), концентрували під зниженим тиском і піддали попередньому очищенню методом колонкової хроматографії (елюент: 25% етилацетат/гексан), отримавши зазначену в заголовку діастереомерну сполуку (540мг, вихід 99%).

$^1\text{H}$ -ЯМР (400МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,8(NH, 1H), 7,5(m, 2H), 7,3(m, 3H), 7,3(m, 1H), 7,1(m, 1H), 6,8(m, 2H), 6,7(m, 1H), 4,9(s, 1H), 4,7-4,6(m, 2H), 3,7(d, J=17Гц,

1H), 3,2(d, J=17Гц, 1H), 2,9(m, 1H), 2,8(m, 1H), 1,7(s, 3H), 1,4(s, 9H).

#### Приклад 4

(3S)-3-((5R)-метил-5-феніл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл)карбоніл)аміно}-4-оксо-5-феноксипентанова кислота (Ibb)

Сполуку, одержану у Прикладі 3, (530мг, 1,136ммоль) розчинили в дихлорметані (6мл), і при 0°C додали трифтороцтову кислоту (3мл). Суміш перемішували протягом двох годин доти, аж поки вона повільно не відігрілась до кімнатної температури, і концентрували під зниженим тиском, одержавши зазначену в заголовку сполуку (Ibb) (465мг) зі стехіометричним виходом.

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,5(m, 2H), 7,3(m, 3H), 7,1(NH, 1H), 6,7(m, 5H), 5,0-4,6(m, 2H), 4,2(m, 1H), 3,8(m, 1H), 3,2(m, 1H), 3,0-2,7(m, 2H), 1,6(s, 3H)

#### Дослід 8 з виготовлення

##### Етил-2-етилакрилат (XVb)

До CuCN (26,9г, попередньо просушеного під вакуумом) додали в атмосфері азоту приблизно 500мл сухого тетрагідрофурану. Суміш витримали при температурі -78°C, і до неї повільно, при механічному перемішуванні додали 100мл метилмагнієвого броміду (3,0М розчин у діетиловому етері). Утворену густу суміш перемішували протягом приблизно 30 хвилин при -78°C. До суміші повільно додали етил-2-бромметилакрилат (28,9г, 150ммоль, метод синтезу описаний у [Millieras, J. and Rambaud, M. Synthesis, 1982, 914], розчинений приблизно в 30мл сухого тетрагідрофурану. Температуру реакційної суміші протягом двох годин повільно підвищили до рівня кімнатної. Реакцію завершили повільним додаванням насиченого розчину хлориду амонію (~50мл). Реакційну суміш профільтрували через целіт для видалення осаду, і потім промили діетиловим етером. Органічний шар промили водою і насиченим розчином бікарбонату натрію (300мл×2), просушили (безводний Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) і концентрували під зниженим тиском, одержавши 26,7г (стехіометричний вихід) прозорої рідини. Рідину ідентифікували за допомогою <sup>1</sup>H-ЯМР-аналізу (500МГц, CDCl<sub>3</sub>), який підтвердив, що отриманим продуктом була зазначена в заголовку сполука чистою приблизно 75%(мас).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 6,12(1H, s), 5,50(1H, s), 4,20(2H, q, J=7,3Гц), 2,31(2H, qt), 1,28(3H, t, J=7,3Гц), 1,07(3H, t, J=7,8Гц).

#### Дослід 9 з виготовлення

Етил-5-етил-3-феніл-4,5-дигідро-5-ізоксазолкарбоксилат (VIb)

Сполуку (XVa) Досліді 8 з виготовлення піддали реакції у відповідності з процесом, аналогічним застосованому в Досліді 3 з виготовлення, одержавши в результаті зазначену в заголовку сполуку.

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,6(m, 2H), 7,4-7,3(m, 3H), 4,3-4,2(m, 2H), 4,0(d, J=17,2Гц, 1H), 3,4(d, J=17,2Гц, 1H), 2,1-2,0(m, 2H), 1,3(t, 3H), 1,0(t, 3H).

#### Дослід 10 з виготовлення

Трет-бутил-(3S)-3-аміно-4-гідрокси-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентаноат (VIIC)

2,3,5,6-Тетрафторфенол піддали реакції у відповідності з процесом, аналогічним застосованому

в Дослідах 5 і 6 з виготовлення, одержавши в результаті зазначену в заголовку сполуку із загальним виходом 72%.

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,2(розшир., 2H), 7,6-7,5(m, 1H), 5,9(m, 1H), 4,3-4,1(m, 3H), 3,6(m, 1H), 2,7(m, 1H), 1,4(s, 9H).

#### Приклад 5

Трет-бутил-(3S)-3-5-((5-етил-5-феніл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл)карбоніл)аміно}-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентаноат (Ic)

Сполуки із Дослідів 9 і 10 з виготовлення були піддані реакціям у відповідності з процесами, аналогічними застосованим у Досліді 4 з виготовлення і Прикладі 1, у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука.

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,6(dd, J=3,6, 1,6Гц, 1H), 7,6(m, 2H), 7,4-7,3(m, 3H), 6,7(m, 1H), 5,1-4,9(m, 2H), 4,9-4,8(m, 1H), 3,7(dd, J=17,6, 17,2Гц, 1H), 3,3(1H, d, J=17,2Гц), 3,0-2,8(m, 1H), 2,8-2,7(m, 1H), 2,1(m, 1H), 1,9(m, 1H), 1,4-1,3(два s, 9H), 1,0(m, 3H).

#### Приклад 6

(3S)-3-((5-етил-3-феніл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл)карбоніл)аміно}-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентанова кислота (Icc)

Сполуку Приклад 5 піддали реакції у відповідності з процесом, аналогічним застосованому в Приклад 2, у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука.

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7,6(розшир., 1H), 7,6-7,5(m, 2H), 7,4-7,3(m, 3H), 6,8-6,7(m, 1H), 4,9-4,8(m, 1H), 4,5(розшир., 2H), 3,7(d, J=16Гц, 1H), 3,3(d, J=16Гц, 1H), 3,3-3,0(m, 1H), 2,8-2,7(m, 1H), 2,1(m, 1H), 2,0-1,9(m, 1H), 1,0(m, 3H)

Мас-спектр: MS [M+H]<sup>+</sup> 497

#### Дослід 11 з виготовлення

Етил-5-етил-3-(1-нафтил)-4,5-дигідро-5-ізоксазолкарбоксилат (VIc)

1-Нафталдегід та етил-2-етилакрилат піддали реакціям у відповідності з процесами, аналогічними застосованим у Дослідах 1, 2, і 3 з виготовлення, у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,9(d, J=8,8Гц, 1H), 7,9-7,8(m, 2H), 7,6-7,4(m, 4H), 4,3-4,2(m, 2H), 4,0(d, J=17,2Гц, 1H), 3,4(d, J=17,2Гц, 1H), 2,1-2,0(m, 2H), 1,3(t, 3H), 1,0(t, 3H)

#### Приклад 7

Трет-бутил (3S)-3-((5-етил-3-(1-нафтил)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл)карбоніл)аміно}-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентаноат (Id)

Сполуки із Дослідів 11 і 10 з виготовлення піддали реакціям у відповідності з процесами, аналогічними застосованим у Досліді 4 з виготовлення і Прикладі 1, у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука.

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,9(m, 1H), 7,9-7,8(m, 3H), 7,6-7,4(m, 4H), 6,5-6,9(m, 1H), 5,1-4,9(m, 2H), 4,9(m, 1H), 3,9(dd, 1H), 3,5(d, J=17,2Гц, 1H), 3,0-2,9(m, 1H), 2,8(m, 1H), 2,2(m, 1H), 2,0(m, 1H), 1,4-1,3(два s, 9H), 1,1 (m, 3H).

#### Приклад 8

(3S)-3-((5-етил-3-(1-нафтил)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл)карбоніл)аміно}-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентанова кислота (Idd)

Сполуку із Прикладу 7 піддали реакції у відповідності з процесом, аналогічним застосованому в Прикладі 2, у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука.

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,8(m, 1H), 7,9-7,7(m, 3H), 7,6-7,4(m, 4H), 6,7 (m, 1H), 4,9(m, 1H), 4,5(розшир., 2H), 3,9(d, J=17,2Гц, 1H), 3,5(d, J=17,2Гц, 1H), 3,1-2,9(m, 1H), 2,8-2,7(m, 1H), 2,2(m, 1H), 2,0(m, 1H), 1,0(m, 3H)

Мас-спектр: [M+MeOH+Na]<sup>+</sup>, 601

Дослід 12 з виготовлення

Етил-5-етил-3-(2-нафтил)-4,5-дигідро-5-13оксазолкарбоксилат (VId)

2-Нафталъдегид і етил 2-етилакрилат піддали реакціям у відповідності з процесами, аналогічними застосованим у Дослідах 1, 2 і 3 з виготовлення, у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука.

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,7(d, J=8,8Гц, 1H), 7,8-7,7(m, 2H), 7,5-7,3 (m, 4H), 4,3-4,2(m, 2H), 4,0(d, J=17,2Гц, 1H), 3,4(d, J=17,2Гц, 1H), 2,1-2,0(m, 2H), 1,3(t, 3H), 1,0(t, 3H)

Приклад 9

Трет-бутил-3-((5-етил-3-(2-нафтил)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл)карбоніл)аміно-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентаноат (Ie)

Сполуки із Дослідів 12 і 10 з виготовлення піддали реакціям у відповідності з процесами, аналогічними застосованим у Досліді з виготовлення 4 і Прикладі 1, отримавши зазначену в заголовку сполуку.

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,8-7,7(m, 6H), 7,5(m, 2H), 6,7 і 6,5 (m, 1H), 5,1-4,9(m, 2H), 4,9-4,8(m, 2H), 3,8(dd, J=16Гц, 1H), 3,4(d, J=16Гц, 1H), 3,0(m, 1H), 2,8(m, 1H), 2,8-2,7(m, 1H), 2,2-2,1(m, 1H), 2,0(m, 1H), 1,4-1,3 (два s, 9H), 1,1-1,0(m, 3H)

Приклад 10

(3S)-3-((5-етил-3-(2-нафтил)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл)карбоніл)аміно-4-оксо-5-(2,3,6-тетрафторфенокси)пентанова кислота (Iee)

Сполуку із Прикладу 9 позбавили захисту у відповідності з процесом, аналогічним описаному в Прикладі 2, і утворені ізомери були розділені за допомогою препаративної тонкошарової хроматографії (TLC), в результаті чого були одержані такі дві сполуки.

Слабополярний діастереомер:

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12,4(розшир., 1H), 8,7(розшир., 1H), 8,1(s, 1H), 7,9-8,0(m, 3H), 7,8-7,9(m, 1H), 7,5-7,6(m, 3H), 5,2(розшир., 2H), 4,7(розшир., 1H), 3,8(d, J=17,2Гц, 1H), 3,5(d, J=17,6Гц, 1H), 2,7(m, 1H), 2,5(m, 1H), 2,0(m, 1H), 1,9(m, 1H), 0,9-0,8(m, 3H).

Мас-спектр. MS [M+H]<sup>+</sup> 547

Високополярний діастереомер:

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,6(розшир., 1H), 8,2(s, 1H), 8,0-7,9(m, 3H), 7,9(m, 1H), 7,6(m, 2H), 7,4(m, 1H), 5,0(розшир., 2H), 4,8(m, 1H), 3,9(d, J=17,6Гц, 1H), 3,6(d, J=17,6Гц, 1H), 2,9-2,7(m, 2H), 2,1-2,0(m, 1H), 2,0-1,9(m, 1H), 0,9(m, 3H)

Дослід 13 з виготовлення

Етил-5-етил-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазолкарбоксилат (Ie)

1-Ізохінолінальдегид і етил-2-етилакрилат піддали реакціям у відповідності з процесами, аналогічними застосованим у Дослідах 1, 2 і 3 з виготов-

лення. Утворена в результаті цільова сполука в активній хіральной ізомерній формі була відділена за допомогою HPLC-рідинної хроматографії високого розрізнення на хіральной OD-колонці (Daicel Chemical Industries, 2,00cm×25 cm, ODOOCJ-IC005, 3% i-PrOH у гексані, 220nm) і використовувалася в наступній реакції.

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 9,25(m, 1H), 8,55(d, 1H), 7,85(d, 1H), 7,74-7,65(m, 3H), 4,29(m, 2H), 4,13(d, 1H), 3,71(d, 1H), 2,11 (m, 2H), 1,33(t, 3H), 1,06(t, 3H)

Приклад 11

Трет-бутил-3-((5-етил-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл)карбоніл)аміно-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентаноат (If)

Сполуки із Дослідів 13 і 10 з виготовлення піддали реакціям у відповідності з процесами, аналогічними застосованим у Досліді 4 з виготовлення і Прикладі 1, у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 9,14(m, 1H), 8,53(m, 1H), 7,91-7,85(m, 2H), 7,74-7,64(m, 3H), 6,73-6,62(m, 1H), 5,30-4,91 (m, 3H), 4,09(два d, 1H), 3,72(два d, 1H), 3,04-2,76(m, 2H), 2,24(m, 1H), 2,04(m, 1H), 1,45 і 1,35(два s, 9H), 1,08(два t, 3H).

Приклад 12

(3S)-3-((5-етил-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл)карбоніл)аміно-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентанова кислота (If)

Сполуку із Прикладу 11 піддали реакції у відповідності з процесом, аналогічним застосованому в Прикладі 2, у результаті чого отримали зазначену в заголовку сполуку.

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9,02(m, 1H), 8,76(m, 1H), 8,59(m, 1H), 8,08-7,73(m, 4H), 7,61-7,32(m, 1H), 5,19-5,10(m, 2H), 4,93-4,65(m, 1H), 3,91 (два d, 1H), 3,68(два d, 1H), 2,91-2,52(m, 2H), 2,10-1,94(m, 2H), 0,94(два t, 3H).

Мас-спектр: M+H 548

Приклад 13

Трет-бутил-3-((5-етил-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл)карбоніл)аміно-5-фтор-4-оксопентаноат (Ig)

Сполуку із Дослідів 13 з виготовлення і трет-бутил-3-аміно-5-фтор-4-гідроксипентаноат піддали реакціям у відповідності з процесом, аналогічним застосованому в Досліді 4 з виготовлення і Прикладі 1 у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука.

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 9,15(m, 1H), 8,55(d, 1H), 7,87-7,66(m, 5H), 5,22-4,89(m, 3H), 4,12(два d, 1H), 3,72(два d, 1H), 3,05-2,75(m, 2H), 2,22 (m, 1H), 2,04(m, 1H), 1,45 і 1,34(два s, 9H), 1,07(два t, 3H)

Приклад 14

3-((5-Етил-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл)карбоніл)аміно-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Igg)

Сполуку із Прикладу 13 піддали реакції у відповідності з процесом, аналогічним застосованому в Прикладі 2, в результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9,03(m, 1H), 8,67-8,59(m, 2H), 8,08(d, 1H), 7,97-7,78(m, 3H), 5,26-5,07(m, 2H), 4,75(m, 1H), 3,94(два d, 1H), 3,67(два d, 1H), 2,88-2,58(m, 2H), 2,07-1,94(m, 2H), 0,96(два t, 3H)

Мас-спектр: M+H 402

Приклад 15

Етил-3-([5-етил-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-5-фтор-4-оксопентаноат (Ih)

Сполуку із Прикладу 14 піддали реакціям у відповідності з методом, описаним у [Tetrahedron Letters, 1994, 35(52), 9693-9696], у результаті чого одержали зазначену в заголовку сполуку.

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 9,15(m, 1H), 8,55(d, 1H), 7,89-7,67(m, 5H), 5,23-4,94(m, 3H), 4,18(m, 2H), 4,11(два d, 1H), 3,72(два d, 1H), 3,08-2,82 (m, 2H), 2,22(m, 1H), 2,05(m, 1H), 1,29-1,04(m, 6H).

Дослід 14 з виготовлення

Метил-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазолкарбоксилат) і розділення (Vf)

Були проведені реакції 1-ізохінолінальдегіду і метил-2-ізопропілакрилату у відповідності з процесами, аналогічними застосованим у Дослідах з виготовлення 1,2 і 3, у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука. Із цієї сполуки за допомогою препаративної HPLC-хроматографії на хіральній OD-колонці (Daicel Chemical Industries, 2,00см×25см, ODOCMC005,5% i-PrOH у гексані, 14мл/хв., 220нм) був виділений (5R)-активний хіральний ізомер (час витримання: 9,7хв.-11,7хв.) (інший (5S)-ізомер був елюйований протягом часу витримання 15,3-20,1хв.), який використовувався в наступній реакції (див. Дослід 23 з виготовлення у випадку розділення після гідролізу).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 9,24(m, 1H), 8,55(d, 1H), 7,85(d, 1H), 7,72(t, 3H), 7,67(m, 2H), 4,11(d, 1H), 3,83(s, 3H), 3,74(d, 1H), 2,50(септет, 1H), 1,07(d, 3H), 1,02(d, 3H).

Приклад 16

Трет-бутил-5-фтор-3-([[(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно)-4-оксопентаноат (Ih)

Сполуку із Дослід 14 з виготовлення і трет-бутил-3-аміно-5-фтор-4-гідроксипентаноат піддали реакціям у відповідності з процесами, аналогічними застосованим у Досліді 4 з виготовлення і Прикладі 1, у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука.

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 9,14(m, 1H), 8,55(d, 1H), 7,87-7,65(m, 5H), 5,23-4,93(m, 2H), 4,90(m, 1H), 4,05-4,00(два d, 1H), 3,84-3,79(два, 1H), 3,06-2,74(m, 2H), 2,40(m, 1H), 1,45 і 1,34(два s, 9H), 1,12-1,07(m, 6H)

Приклад 17

5-Фтор-3-([[(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл]аміно)-4-оксопентанова кислота (Iii)

Сполуку із Прикладу 16 піддали реакції у відповідності з процесом, аналогічним застосованому в Прикладі 2, у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука ((5S)-ізомер, Iii-у, був отриманий за допомогою такого самого процесу).

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9,00(m, 1H), 8,63-8,48(m, 2H), 8,08(d, 1H), 7,97(m, 1H), 7,87-7,76(m, 2H), 5,31-4,82(розшир., 2H), 4,74(m, 1H), 3,91(два d, 1H), 3,73(два d, 1H), 2,88-2,61 (m, 2H), 2,33(m, 1H), 0,98(m, 6H).

Мас-спектр: M+H 416

Дослід 15 з виготовлення

Етил-5-етил-3-(4-хінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазолкарбоксилат (Vg)

4-Хінолінальдегід і етил-2-етилакрилат були піддані реакціям у відповідності з процесами, аналогічними застосованим в Дослідах 1, 2, і 3 з виготовлення, в результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука.

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,95(d, 1H), 8,89(m, 1H), 8,11(d, 1H), 7,83(m, 1H), 7,71(m, 1H), 7,65(d, 1H), 4,27(m, 2H), 4,01 (d, 1H), 3,67(d, 1H), 2,10 (m, 2H), 1,31(t, 3H), 1,02(t, 3H)

Прикладів

Трет-бутил-3-([5-етил-3-(4-хінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-5-фтор-4-оксопентаноат (Ii)

Сполука із Дослід 15 з виготовлення і трет-бутил-3-аміно-5-фтор-4-гідроксипентаноат були піддані реакціям у відповідності з процесами, аналогічними застосованим у Досліді з виготовлення 4 і Прикладі 1, у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука.

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,97(d, 1H), 8,89(m, 1H), 8,17(d, 1H), 7,87-7,64(m, 3H), 7,36(d, 1H), 5,21-4,93(m, 3H), 3,93(два d, 1H), 3,48(два d, 1H), 3,05-2,78(m, 2H), 2,24(m, 1H), 2,03(m, 1H), 1,46 і 1,33(два s, 9H), 1,06(два t, 3H).

Приклад 19

3-([5-Етил-3-(4-хінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Ijj)

Сполуку із Прикладу 18 піддали реакції у відповідності з процесом, аналогічним застосованому в Прикладі 2, у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука.

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9,16-9,10(m, 2H), 8,25-7,86(m, 5H), 5,20(розшир., 2H), 4,75(m, 1H), 4,00-3,89(два d, 1H), 3,73(два d, 1H), 2,87-2,71 (m, 2H), 2,26-2,05(m, 2H), 1,07(два t, 3H).

Мас-спектр: M+H 402

Дослід з виготовлення 16

Етил-3-(бензотіофен-2-іл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазолкарбоксилат (VIh)

Бензотіофен-2-альдегідоксимну похідну (400мг, 2,26ммоль), виготовлену у відповідності з процесом, аналогічним описаному в Досліді 1 з виготовлення, розчинили в THF (25мл) і суміш витримали при температурі 0°C. Етил-2-етилакрилат (434мг, 1,5екв.) і триетиламін (7 крапель) розчинили в THF (5мл). Приготований таким чином розчин повільно додали до суміші, описаної вище. Крім того, до цієї суміші додали розчин гіпохлориту натрію (6,0мл). Приготований таким чином реакційний розчин нагріли до кімнатної температури і перемішували протягом 4 годин. Потім додали воду (20мл), і суміш екстрагували етилацетатом (40мл×2), промили водним розчином хлориду натрію (20мл), просушили над сульфатом магнію, профільтрували і концентрували під зниженим тиском. Залишок очистили колонковою хроматографією (20% етилацетат/гексан), у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука (121мг, вихід 18%).

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,82-7,75(m, 2H), 7,40-7,32(m, 3H), 4,28(m, 2H), 3,90(d, 1H), 3,31(d, 1H), 2,07(m, 2H), 1,33(t, 3H), 1,01(t, 3H)

## Приклад 20

Трет-бутил-3-({[3-(бензотіофен-2-іл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл}аміно)-5-фтор-4-оксопентаноат (Ij)

Сполуку із Досліді з виготовлення 16 і трет-бутил-3-аміно-5-фтор-4-гідроксипентаноат піддали реакціям у відповідності з процесами, аналогічними застосованим у Досліді 4 з виготовлення 4 і Прикладі 1, у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука.

$^1\text{H}$ -ЯМР (400МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,83-7,68(m, 3H), 7,42-7,35(m, 3H), 5,21-4,88 (m, 3H), 3,80(два d, 1H), 3,38(два d, 1H), 3,03-2,78(m, 2H), 2,17(m, 1H), 2,01 (m, 1H), 1,46 і 1,38(два s, 9H), 1,03(два t, 3H)

## Приклад 21

3-({[3-(бензотіофен-2-іл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл}аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота

(3-({[3-(бензотіофен-2-іл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл}аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота) (Ikk)

Сполуку із Прикладу 20 піддали реакції у відповідності з процесом, аналогічним застосованому в Прикладі 2, у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука

$^1\text{H}$ -ЯМР (400МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8,63(m, 1H), 8,11-7,79(m, 3H), 7,47-7,36(m, 2H), 5,24-5,06(m, 2H), 4,73(m, 1H), 3,79(два d, 1H), 3,53(два d, 1H), 2,83-2,58(m, 2H), 2,03-1,86(m, 2H), 0,91 (два t, 3H).

Мас-спектр:  $\text{M}+\text{H}$  407

## Дослід 17 з виготовлення

Етил-3-(1,3-диметил-1H-індол-2-іл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазолкарбоксилат (Vi)

1,3-Диметил-1H-індол-2-альдегідоксимну похідну (356мг, 2,07ммоль) розчинили в дихлорметані (20мл) і суміш витримали при температурі  $0^\circ\text{C}$ . Етил-2-етилакрилат (345мг, 1,3екв.) і триетиламін (6 крапель) розчинили в дихлорметані (5мл). Отриманий таким чином розчин повільно додали до розчину, описаного вище. Крім того, до нього додали розчин гіпохлориту натрію (5,5мл). Приготований таким чином реакційний розчин нагріли до кімнатної температури і перемішували протягом 4 годин. До нього додали воду (20мл), і суміш екстрагували дихлорметаном (40мл $\times$ 2), промили водним розчином хлориду натрію (20мл), просушили над сульфатом магнію, профільтрували і концентрували під зниженим тиском. Залишок очистили за допомогою колонкової хроматографії (15% етилацетат/гексан), у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука (230мг, вихід 35%).

$^1\text{H}$ -ЯМР (400МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,60(d, 1H), 7,31(m, 2H), 7,12(m, 1H), 4,29(m, 2H), 3,98(d, 1H), 3,94(s, 3H), 3,40(d, 1H), 2,47(s, 3H), 2,08(m, 2H), 1,34(t, 3H), 1,04(t, 3H)

Мас-спектр:  $\text{M}+\text{H}$  315

## Приклад 22

Трет-бутил-(3S)-3-({[3-(1,3-диметил-1H-індол-2-іл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл}аміно)-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентаноат (Ik)

Сполуки із Дослідів 17 і 10 з виготовлення піддали реакціям у відповідності з процесами, аналогічними застосованим у Досліді 4 з виготовлення і Прикладі 1, у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука

$^1\text{H}$ -ЯМР (400МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,85-7,79(m, 1H), 7,57(m, 1H), 7,37-7,26(m, 2H), 7,13(m, 1H), 6,75-6,49(m, 1H), 5,12-4,90(m, 3H), 3,95(два d, 1H), 3,89(два s, 3H), 3,45(два d, 1H), 3,03-2,79(m, 2H), 2,44(два s, 3H), 2,22(m, 1H), 2,01 (m, 1H), 1,58 і 1,37(два s, 9H), 1,05 (два t, 3H).

## Приклад 23

(3S)-3-({[3-(1,3-диметил-1H-індол-2-іл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл}аміно)-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентанова кислота (III)

Сполуку із Прикладу 22 піддали реакції у відповідності з процесом, аналогічним застосованому в Прикладі 2, у результаті чого була одержана сполука, зазначена в заголовку.

$^1\text{H}$ -ЯМР (400МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8,67(розшир., 1H), 7,61-7,43(m, 3H), 7,27(m, 1H), 7,08(m, 1H), 5,20(розшир., 2H), 4,83(m, 1H), 3,84(два s, 3H), 3,76(два d, 1H), 3,59(два d, 1H), 2,91-2,60(m, 2H), 2,50(два s, 3H), 2,07-1,91(m, 2H), 0,95(два t, 3H)

## Приклад 24

Трет-бутил-3-({[3-(1,3-диметил-1H-індол-2-іл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл}аміно)-5-фтор-4-оксопентаноат (II)

Сполуку із Досліді 17 з виготовлення і трет-бутил-3-аміно-5-фтор-4-гідроксипентаноат піддали реакціям у відповідності з процесом, аналогічним застосованому в Досліді 4 з виготовлення і Прикладі 1, у результаті чого була одержана сполука, зазначена в заголовку.

$^1\text{H}$ -ЯМР (400МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,79(m, 1H), 7,60(m, 1H), 7,32(m, 2H), 7,13(m, 1H), 5,20-4,90(m, 3H), 3,97-3,89(m, 4H), 3,46(два d, 1H), 3,03-2,77(m, 2H), 2,21 (m, 1H), 2,01 (m, 1H), 1,46 і 1,38(два s, 9H), 1,05(два t, 3H).

## Приклад 25

3-({[3-(1,3-Диметил-1H-індол-2-іл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл}аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Im)

Сполуку із Прикладу 24 піддали реакції у відповідності з процесом, аналогічним застосованому в Прикладі 2, у результаті чого була одержана сполука, зазначена в заголовку.

$^1\text{H}$ -ЯМР (400МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8,68(розшир., 1H), 7,60(m, 1H), 7,45(m, 1H), 7,26(m, 1H), 7,07(m, 1H), 5,20(розшир., 2H), 4,81 (m, 1H), 3,84(два s, 3H), 3,76 (два d, 1H), 3,59(два d, 1H), 2,94-2,59(m, 2H), 2,38(два s, 3H), 2,07-1,91 (m, 2H), 0,95(два t, 3H)

Мас-спектр:  $\text{M}+\text{H}$  418

Дослід 18 з виготовлення Етил-5-етил-3-(1-нафтилметил)-4,5-дигідро-5-ізоксазолкарбоксилат (Vj)

1-Нафтилацетальдегід і етил 2-етилакрилат піддали реакціям у відповідності з процесами, аналогічними застосованим у Дослідах 1, 2, і 3 з виготовлення, у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука

$^1\text{H}$ -ЯМР (500МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,1-8,0(d, J=8Гц, 1H), 7,8(d, J=7,6Гц, 1H), 7,8-7,7(d, J=8Гц, 1H), 7,5-7,4(m, 2H), 7,4-7,3(m, 2H), 4,1-4,0(m, 4H), 3,1(d, J=17,6Гц, 1H), 2,6(d, J=17,6Гц, 1H), 1,8-1,7(m, 2H), 1,2(t, 3H), 0,7(t, 3H).

## Приклад 26

Трет-бутил-(3S)-3-({[5-етил-3-(1-нафтилметил)-4,5-дигідро-5-

ізоксазоліл}карбоніл}аміно}-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентаноат (Im)

Сполуки із Дослідів 18 і 10 з виготовлення піддали реакціям у відповідності з процесами, аналогічними застосованим у Досліді з виготовлення 4 і Прикладі 1, у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука.

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,0(m, 1H), 7,8(m, 1H), 7,8(m, 1H), 7,7(m, 1H), 7,5(m, 2H), 7,4-7,3(m, 2H), 6,7(m, 1H), 5,0-4,9(m, 2H), 4,9-4,8(m, 1H), 4,2-4,0(m, 2H), 3,1 (dd, J=24,8Гц, 1H), 2,9-2,6(m, 3H), 1,9(m, 1H), 1,7(m, 1H), 1,4(два s, 9H), 0,8(m, 3H).

Приклад 27

(3S)-3-[(5-етил-3-(1-нафтилметил)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентанова кислота (Iln)

Сполуку із Прикладу 26 піддали реакції у відповідності з процесом, аналогічним застосованому в Прикладі 2, у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука.

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12,3(розшир., 1H), 8,4(розшир., 1H), 8,0(m, 1H), 7,9(m, 1H), 7,8(m, 1H), 7,5-7,4(m, 5H), 5,0(розшир., 2H), 4,7(m, 1H), 4,0(s, 2H), 3,3(m, 1H), 3,1(m, 1H), 2,8(m, 2H), 2,5(m, 1H), 1,8(m, 1H), 1,7(m, 1H), 0,8(m, 3H).

MS [M+H]<sup>+</sup> 561

Приклад 28

(3S)-5-(трет-бутокси)-3-[(5-етил-3-[2-(1-нафтил)етил]-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно]-2,5-діоксопентил-2,6-дихлорбензоат (In)

1-Нафтилпропіональдегід і сполуку з Досліді 6 з виготовлення піддали реакціям у відповідності з процесом, аналогічним застосованому в Дослідах 1, 2, 3 і 4 з виготовлення і Прикладі 1, у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука.

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,00(d, 1H), 7,85(m, 1H), 7,76(m, 2H), 7,57-7,28(m, 7H), 7,34-7,27(m, 3H), 5,20-5,05(m, 2H), 4,94 і 4,88(два m, 1H), 3,39-3,27(m, 3H), 2,97-2,72(m, 5H), 2,07(m, 1H), 1,86(m, 1H), 1,46 і 1,45(два s, 9H), 1,00 і 0,96(два t, 3H).

Приклад 29

(3S)-5-[(2,6-дихлорбензоїл)окси]-3-[(5-етил-3-[2-(1-нафтил)етил]-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-4-оксопентанова кислота (loo)

Сполуку з Прикладу 28 піддали реакції у відповідності з процесом, аналогічним застосованому в Прикладі 2, у результаті чого була одержана сполука, зазначена в заголовку.

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,45(bd, 1H), 8,06(d, 1H), 7,90(d, 1H), 7,77(d, 1H), 7,60-7,37(m, 7H), 5,21-5,03(m, 2H), 4,73(m, 1H), 3,06(m, 2H), 2,65(bd, 4H), 1,91 і 1,74(два t, 2H), 0,84(m, 3H).

Дослід 19 з виготовлення

Етил-5-етил-3-[(1-нафтилокси)метил]-4,5-дигідро-5-ізоксазолкарбоксилат (VII)

Була проведена реакція похідної 2-нітроетанолпіранілу [Synthesis, 1993, 72, 1206-1208] з етил-2-етилакрилатом, а її продукт позбавили захисту, отримавши етил-5-етил-(3-гідроксиметил)-4,5-дигідро-5-ізоксазолкарбоксилат (23%). Цю сполуку піддали бромованню (CBr<sub>4</sub>, PPh<sub>3</sub> 94%), а потім - реакції з 1-нафтолом (NaN,

DMF, 82%). У результаті була одержана зазначена в заголовку сполука.

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,20(m, 1H), 7,81 (d, 1H), 7,55-7,42(m, 3H), 7,36(m, 1H), 6,88(d, 1H), 5,01 (dd, 2H), 4,22(m, 2H), 3,61 (d, 1H), 3,07(d, 1H), 1,97(m, 2H), 1,27(t, 3H), 0,93(t, 3H).

Приклад 30

(3S)-3-[(5-Етил-3-[(1-нафтилокси)метил]-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно]-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентанова кислота (Ipp)

Сполуки із Дослідів з виготовлення 19 і 10 піддали реакціям у відповідності з процесом, аналогічним застосованому в Досліді 4 з виготовлення і Прикладах 1 і 2, у результаті чого була одержана сполука, зазначена в заголовку.

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,51(розшир., 1H), 8,13(m, 1H), 7,87(m, 1H), 7,54-7,38(m, 5H), 7,02(m, 1H), 5,18-4,97(m, 4H), 4,71 (m, 1H), 3,58(два d, 1H), 3,21 (два d, 1H), 2,68(m, 2H), 1,97(m, 1H), 1,81(m, 1H), 0,86(два t, 3H)

Мас-спектр: M+H 577

Приклад 31

(3S)-3-[(3-[(4-Хлор-1-нафтил)окси]метил]-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентанова кислота (Iqq)

Була проведена реакція похідної бромиду, отриманої як проміжний продукт під час проведення Досліді 19 з виготовлення, і 4-хлор-1-нафтолу у відповідності з процесом, аналогічним застосованому в Досліді 19 з виготовлення. У результаті був отриманий етил-5-етил-3-[(4-хлор-1-нафтилокси)етил]-4,5-дигідро-5-

ізоксазолекарбоксилат, який піддавали наступним реакціям у відповідності з процесом, аналогічним описаному в Досліді 4 з виготовлення і Прикладах 1 і 2, у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука.

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,65(m, 1H), 8,24-8,09(m, 2H), 7,78-7,35(m, 4H), 7,06(m, 1H), 5,17-5,07(m, 4H), 4,82-4,69(m, 1H), 3,45(два d, 1H), 3,23(два d, 1H), 2,83-2,52(m, 2H), 1,96-1,79(m, 2H), 0,86(два t, 3H)

Мас-спектр: M+H 611

Дослід 20 з виготовлення

Трет-бутил-(3S)-3-аміно-4-гідроксибутаноат

До

N-бензилоксикарбоніл-β-трет-бутилспартанової кислоти (3,0г, 9,28ммоль) і NMM (1,12мл, 1,1екв.) додали сухий тетрагідрофуран (20мл) в атмосфері азоту. Реакційний розчин витримали при температурі 0°C. До розчину додали ізобутилхлорформіат (1,26мл, 1,05екв.), і утворену суміш перемішали протягом приблизно 40 хвилин. Отриману таким чином суспензію профільтрували в атмосфері азоту, і утворений розчин додали до розчину NaBH<sub>4</sub> (702мг, 2,0екв.) [метанол (10мл)-сухий тетрагідрофуран (20мл)] при -78°C. Утворену суміш повільно підігріли до кімнатної температури (протягом двох годин). Реакцію зупинили оцтовою кислотою (2,3мл), і реакційний розчин піддали дистиляції під зниженим тиском для видалення метанолу. Залишок екстрагували етилацетатом (50мл×2), промили водою і водним розчином хлориду натрію, просушили (безводний Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), концентрували під зниженим тиском, і

очистили сепарацією на хроматографічній колонці (етилацетат/гексан, 1:5) отримавши спиртову сполуку (2,52г, вихід 88%).

Бензилоксикарбонільну групу отриманої таким чином сполуки видалили (Pd/C) в атмосфері балонного водню протягом однієї години, у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука (Вихід 100%).

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 4,60(bs, 1H), 3,2l(m, 2H), 2,96(m, 1H), 2,41 (dd, 1H), 2,03(dd, 1H), 1,40(s, 9H).

Дослід 21 з виготовлення

Трет-бутил-(3S,4E)-4-гідрокси-3-(((5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл)карбоніл)аміно)бутаноат (XVI)

Сполуку з Дослід 14 з виготовлення піддали реакції у відповідності з процесом, аналогічним застосованому в Досліді 4 з виготовлення, в результаті чого одержали активну карбокислотну похідну (VIIf). Суміш цієї активної карбокислотної похідної (VIIf, 224мг, 0,79ммоль), аміноспиртової похідної (VIIf, 224мг, 0,79ммоль), одержаної в Досліді 20 з виготовлення (166мг, 1,2екв.) і НАТУ (390мг, 1,3екв.) охолодили до 0°C, додали до неї триетиламін (0,33мл, 3,0екв.) в DMF(5мл) як розчиннику і провели реакцію утвореної суміші протягом двох годин. Розчинник відігнали під зниженим тиском, а залишок екстрагували етилацетатом (50мл×2), промили водою, водним розчином бікарбонату натрію і водним розчином хлориду натрію, просушили (безводний Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), концентрували під зниженим тиском і очистили на хроматографічній колонці (60-70% етилацетат/гексан). У результаті була одержана зазначена в заголовку сполука в кількості 330мг (вихід 95%).

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 9,16(d, 1H), 8,55(d, 1H), 7,85(d, 1H), 7,73-7,70(m, 3H), 7,56(NH, d, 1H), 4,26(m, 1H), 4,12(d, 1H), 4,04(d, 1H), 3,79(d, 1H), 3,75(t, 2H), 2,94(bs, 1H), 2,57(m, 2H), 2,41(m, 1H), 1,10 і 1,07(два d, 6H).

Приклад 32

6-(Трет-бутил)-1-етил(2E,4S)-4-(((5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл)карбоніл)аміно)-2-гексендіоат (Iq)

До сполуки з Дослід 21 з виготовлення (107мг, 0,24ммоль) і реагенту Деса-Мартена (Dess-Martin) (153мг, 1,5екв.) додали сухий дихлорметан (4мл), суміш перемішали протягом однієї години при кімнатній температурі і концентрували під зниженим тиском. До залишку добавили сухий THF (3мл) і (карбоетоксиметил)трифенілфосфоран (108мг, 1,3екв.), і суміш кип'ятили з оберненим холодильником протягом двох годин. Далі реакційну суміш екстрагували етилацетатом (20мл×2), промили водою, насиченим водним розчином бікарбонату натрію і водним розчином хлориду натрію, просушили (безводний Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), концентрували під зниженим тиском і попередньо очистили за допомогою препаративної хроматографії (40% етилацетат/гексан). У результаті була одержана зазначена в заголовку сполука (98мг, 80%) з діастереомерним співвідношенням 3:1.

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, CDCl<sub>3</sub>) головного ізомеру δ 9,15(d, 1H), 8,54(d, 1H), 7,86(d, 1H), 7,74-7,62(m, 4H), 6,93(dd, 1H), 6,00(dd, 1H), 4,98(m, 1H), 4,19(qt,

2H), 4,02(d, 1H), 3,81(d, 1H), 2,58(m, 2H), 2,43(m, 1H), 1,36(s, 9H), 1,27(t, 3H), 1,07 і 1,06(два d, 6H).

Приклад 33

(3S,4E)-6-етокси-3-(((5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл)карбоніл)аміно)-6-оксо-4-гексенова кислота (Irr)

Сполуку з Прикладу 32 піддали реакції у відповідності з процесом, аналогічним застосованому в Прикладі 2, у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука.

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, MeOD-d<sub>3</sub>) головного ізомеру δ 9,04(d, 1H), 8,61 (d, 1H), 8,52(d, 1H), 7,95(4 1H), 7,81-7,68(m, 3H), 6,94(dd, 1H), 6,00(dd, 1H), 5,01(m, 1H), 4,17(qt, 2H), 3,90(d, 1H), 3,82(d, 1H), 2,71 (d, 2H), 2,39(septet, 1H), 1,26(t, 3H), 1,07 і 1,06(два d, 6H).

Мас-спектр: M+H 454

Приклад 34

Трет-бутил-(3S,4E)-3-(((5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)карбоніл)аміно)-5-(метилсульфоніл)-4-пентеноат (Ir)

До сполуки з Прикладу 21 (109мг, 0,25ммоль) і реагенту Деса-Мартена (Dess-Martin) (157мг, 1,5екв.) додали безводний дихлорметан (4мл), суміш перемішали протягом однієї години при кімнатній температурі і концентрували під зниженим тиском. Реакцію зупинили ізопропіловим спиртом (0,5мл). Тверду речовину видалили шляхом фільтрації через целіт під зниженим тиском. Фільтрат екстрагували етилацетатом (20мл×2), промили водою, насиченим водним розчином бікарбонату натрію і водним розчином хлориду натрію, просушили (безводний Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) і концентрували під зниженим тиском, отримавши альдегід (540мг, вихід 99%).

Діетилметилсульфонметанфосфонат (113мг, 2,0екв. [Synthesis, 1969, 170]) розчинили у THF (3мл), NaH (60% у мінеральному маслі, 20мг, 2,0екв.), до розчину додали одержаний, як описано вище, альдегід, і суміш кип'ятили з оберненим холодильником протягом двох годин. Після екстрагування етилацетатом (20мл×2) екстракт промили водою, насиченим водним розчином бікарбонату натрію і водним розчином хлориду натрію, просушили (безводний Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), концентрували під зниженим тиском і очистили за допомогою препаративної хроматографії (60% етилацетат/гексан). У результаті була одержана зазначена в заголовку сполука (52мг, 41%) з діастереомерним співвідношенням 4:1.

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, CDCl<sub>3</sub>) головного діастереомеру δ 9,14(d, 1H), 8,55(d, 1H), 7,86(d, 1H), 7,76-7,65(m, 4H), 6,92(dd, 1H), 6,57(dd, 1H), 5,03(m, 1H), 4,02(d, 1H), 3,81 (d, 1H), 2,94(s, 3H), 2,61 (m, 2H), 2,41 (septet, 1H), 1,36(s, 9H), 1,10 і 1,08 (дві серії d, 6H).

Приклад 35

(3S,4E)-3-(((5R)-5-ізопропіл-3-(ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл)карбоніл)аміно)-5-(метилсульфоніл)-4-пентенова кислота (Iss)

Сполуку з Прикладу 34 піддали реакції у відповідності з процесом, аналогічним застосованому у Прикладі 2, у результаті чого одержали зазначену в заголовку сполуку.

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, MeOD-d<sub>3</sub>) головного ізомеру δ 9,04(d, 1H), 8,52(d, 1H), 7,95(d, 1H), 7,82-7,69(m, 3H), 6,90(dd, 1H), 6,71 (dd, 1H), 5,06(m, 1H), 3,86(m, 2H), 2,98(s, 3H), 2,76(d, 2H), 2,39(m, 1H), 1,08 і 1,06(дві серії d, 6H).

Мас-спектр: M+H 460

Дослід з виготовлення згідно з процесом за Прикладами 36-42

Сполуки, отримані за допомогою реакції (ізо)хінолінальдегіду (або 1- чи 2-нафталальдегіду) з етил-2-етилакрилатом (або етил-2-пропілакрилатом) у відповідності з процесом, аналогічним описаному в Дослідах 1, 2 і 3 з виготовлення (або в Дослідах 1 і 16 з виготовлення), очищалися, в разі необхідності, за допомогою препаративної HPLC-хроматографії на хіральній OD колонці для відділення активних хіральних ізомерів.

Ізолювані активні хіральні ізомери або неактивні хіральні ізомери піддавалися гідролізу у відповідності з процесом, аналогічним описаному в Досліді 4 з виготовлення, а утворювані в результаті сполуки приводили у взаємодію з трет-бутил-3-аміно-5-фтор-4-гідроксипентаноатом у відповідності з процесом, аналогічним описаному в Прикладах 1 і 2. У результаті одержували сполуки, зазначені в заголовках Прикладів 36-42.

Приклад 36

5-Фтор-3-(((5S)-3-(1-ізохінолініл)-5-пропіл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-4-оксепентанова кислота) (lIt)

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9,02(t, 1H), 8,61(m, 2H), 8,08(d, 1H), 7,96(m, 1H), 7,85(t, 1H), 7,78(m, 1H), 5,05(bs, 2H), 4,73(m, 1H), 3,97-3,92(dd, 1H), 3,70-3,65(два d, 1H), 2,90-2,70(два m, 2H), 2,03(m, 1H), 1,91(m, 1H), 1,48(m, 1H), 1,32(m, 1H), 0,93(m, 3H).

Мас-спектр: M+H 416

Приклад 37

(3-(((5S)-5-етил-3-(1-нафтил)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-5-фтор-4-оксепентанова кислота) (lUu)

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,84(s, 1H), 8,59(bs, 1H), 8,02(m, 2H), 7,75(s, 1H), 7,60(m, 3H), 5,01 (bs, 2H), 4,73(m, 1H), 3,87-3,82(dd, 1H), 3,70-3,65(два d, 1H), 2,82-2,73(два m, 2H), 2,05(m, 1H), 1,95(m, 1H), 0,96(m, 3H).

Мас-спектр: M+H 401

Приклад 38

(3-(((5S)-5-етил-3-(2-хінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-5-фтор-4-оксепентанова кислота) (lVv)

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,61 (dd, 1H), 8,41 (m, 1H), 8,02(m, 3H), 7,79(t, 1H), 7,65(t, 1H), 5,22-5,06(m, 1H), 4,72(m, 1H), 4,49-4,28(m, 1H), 3,84(m, 1H), 3,54(m, 1H), 2,99-2,54(два m, 2H), 2,01(m, 1H), 1,91(m, 1H), 0,91(m, 3H).

Мас-спектр: M+H 402

Приклад 39 (3-(((5R)-5-етил-3-(3-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-5-фтор-4-оксепентанова кислота) (lWw)

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ (9,25 і 9,16(два s, 1H), 8,03-7,64(m, 5H), 4,90-4,84(m, 1H), 4,79-4,54(m, 2H), 4,01-3,93(два d, 1H), 3,54(d, 1H), 3,03-2,87(m, 2H), 2,27-2,19 і 2,10-2,01(два m, 2H), 1,10-1,06(m, 3H).

Мас-спектр: M+H 402

Приклад 40

3-(((5-етил-3-(8-хінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-5-фтор-4-оксепентанова кислота) (lXx)

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, CECI<sub>3</sub>) δ 8,98 і 8,93(два m, 1H), 8,56-8,21 (m, 1H), 8,03-7,94(m, 2H), 7,73(bs, 1H), 7,60(m, 1H), 7,53-7,48(два m, 1H), 4,94-4,64(m, 3H), 4,27-4,22(два d, 1H), 3,77(d, 1H), 3,07 і 2,92(два m, 2H), 2,31-2,22(m, 1H), 2,12-2,05 (m, 1H), 1,10(t, 3H).

Мас-спектр: M+H 402

Приклад 41

3-(((5-етил-3-(3-хінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-5-фтор-4-оксепентанова кислота) (lYy)

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 9,32 і 9,25(два d, 1H), 8,16-8,03(m, 2H), 7,83-7,73(m, 3H), 7,62-7,55(m, 1H), 4,95-4,76(m, 3H), 3,86(два d, 1H), 3,45-3,39(два d, 1H), 3,17-3,01 (два m, 1H), 2,90-2,82(m, 1H), 2,27-2,20(m, 1H), 2,09-2,00(m, 1H), 1,10-1,05(m, 3H).

Мас-спектр: M+H 402

Приклад 42

5-Фтор-3-(((5R)-5-ізопропіл-3-(2-хінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-4-оксепентанова кислота) (lZz)

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CECI<sub>3</sub>) δ 8,24(m, 1H), 8,14(m, 1H), 8,04(d, 1H), 7,88(d, 1H), 7,79(m, 1H), 7,65(m, 1H), 7,51 (bs, 1H), 5,13-4,35(m, 3H), 4,05-4,00(два d, 1H), 3,73(d, 1H), 3,05-2,82(m, 2H), 2,42(m, 1H), 1,10(m, 6H).

Мас-спектр: M+H 416

Дослід з виготовлення згідно з процесом за Прикладами 43-48

Сполуки, отримані шляхом приведення в реакцію ароматичного альдегіду [Bioorg. Med. Chem. Lett., 1996, 6, p.2173, J. Org. Chem., 1978, 43,1372] та етил-2-етилакрилату (або етил-2-ізопропілакрилату) у відповідності з процесом, аналогічним описаному в Дослідах 1, 2 і 3 з виготовлення (Дослідах 1 і 16 з виготовлення), очищалися, в разі необхідності, за допомогою препаративної HPLC на хіральній OD колонці для відділення активних хіральних ізомерів. Ізолювані активні хіральні ізомери або неактивні хіральні ізомери піддавалися гідролізу у відповідності з процесом, аналогічним описаному в Досліді 4 з виготовлення, а утворювані сполуки приводилися у взаємодію з трет-бутил-3-аміно-5-фтор-4-гідроксипентаноатом у відповідності з процесом, аналогічним описаному в Прикладах 1 і 2. У результаті одержували сполуки, зазначені в заголовках наведених нижче Прикладів 43-48.

Приклад 43

3-(((5-Етил-3-(2-ізопропілфеніл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-5-фтор-4-оксепентанова кислота (lAa1)

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,53(bs, 1H), 7,40(m, 2H), 7,32(m, 1H), 7,25(m, 1H), 5,02(bs, 2H), 4,72(m, 1H), 3,60-3,54(два d, 1H), 3,46-3,43(два d, 1H), 3,40(m, 1H), 2,78-2,60(два m, 2H) 1,95(m, 1H), 1,85(m, 1H), 1,14(s, 6H), 0,88(m, 3H)

Мас-спектр M+H 393

Приклад 44

3-([3-[3-(Трет-бутил)феніл]-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно]-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa2)

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,56(dd, 1H), 7,67(s, 1H), 7,48(m, 1H), 7,38(d, 2H), 5,24-5,12(q, 1H), 4,76-4,69(m, 1H), 4,59-4,26(m, 1H), 3,68(m, 1H), 3,49-3,43(два d, 1H), 2,96-2,56(два m, 2H), 1,98(m, 1H), 1,85(m, 1H), 1,29(s, 9H), 0,89(d, 3H)

Мас-спектр M+H 407

Приклад 45

3-([3-[4-(Трет-бутил)феніл]-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно]-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa3)

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,52(bs, 1H), 7,58(m, 2H), 7,43(dd, 2H), 5,10(bs, 2H), 4,71-4,65(m, 1H), 3,65-3,59(два d, 1H), 3,40-3,35(два d, 1H), 2,86-2,60(два m, 2H), 1,94(m, 1H), 1,82(m, 1H), 1,24(s, 9H), 0,86(m, 3H)

Мас-спектр M+H 407

Приклад 46

5-Фтор-3-([5R]-5-ізопропіл-3-(2-ізопропілфеніл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно]-4-оксопентанова кислота (Iaa4)

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,60-7,53(m, 1H), 7,41(m, 2H), 7,27-7,23(m, 2H), 5,20-4,91(m, 1H), 4,71(m, 1H), 4,54-4,42(m, 1H), 3,69-3,64(два d, 1H), 3,45-3,38(m, 2H), 3,12-2,77(m, 2H), 2,32(m, 1H), 1,22(d, 6H), 1,05(d, 6H)

Мас-спектр M+H 407

Приклад 47

3-([5R]-3-[3-(Трет-бутил)феніл]-5-ізопропіл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно]-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa5)

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,69(s, 1H), 7,48(d, 1H), 7,41 (d, 1H), 7,35(t, 1H), 4,74-4,50(m, 3H), 3,69(d, 1H), 3,40(d, 1H), 3,06-2,77(m, 2H), 2,32(m, 1H), 1,33(s, 9H), 1,04(m, 6H)

Мас-спектр M+H 421

Приклад 48

3-([3-[1,1'-біфеніл]-3-іл-5-ізопропіл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно]-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa6)

Як вихідний матеріал використовували 3-біфенілкарбоксальдегід (див. [Synthesis, 2003, 337]). У результаті була одержана зазначена в заголовку сполука.

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,42(bs, 1H), 7,87(d, 1H), 7,73-7,69(m, 4H), 7,52(m, 1H), 7,45(m, 2H), 7,38(m, 1H), 5,03(bs, 2H), 4,63(m, 1H), 3,73-3,57(m, 2H), 2,67-2,63(два m, 2H), 2,22(m, 1H), 0,89(m, 6H).

Мас-спектр: M+H 441

Дослід з виготовлення згідно з процесом за Прикладами 49-59

4-Заміщені піридин-2-карбоксальдегіди отримувалися за допомогою процесу, описаного в [US 6043248, JOS 1982, 47, p.4315], і піддавалися реакціям у відповідності з процесом, аналогічним застосованому в Дослідах 1, 2 і 3 з виготовлення (або в Дослідах 1 і 16 з виготовлення). Утворювані в результаті сполуки очищалися, в разі необхідності, за допомогою препаративної HPLC на хіральній OD колонці для відділення активних хіральних ізомерів. Ізольовані активні хіральні ізомери або неактивні хіральні ізомери піддавалися гідролізу у

відповідності з процесом, аналогічним описаному в Досліді 4 з виготовлення, а утворювані в результаті сполуки приводилися у взаємодію з трет-бутил-3-аміно-5-фтор-4-гідроксипентаном у відповідності з процесом, аналогічним описаному в Прикладах 1 і 2. У результаті одержували сполуки, зазначені в заголовках наведених нижче Прикладів 49-59.

Приклад 49

3-([5-Етил-3-(2-піридиніл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно]-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa7)

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12,41(bs, 1H), 8,61 (s, 1H), 8,59-8,53(dd, 1H), 7,87(m, 1H), 7,44(m, 1H), 5,19-5,04(два d, 1H), 4,70(m, 1H), 4,45-4,27(m, 1H), 3,67(m, 1H), 3,42(m, 1H), 2,95-2,53 (два m, 2H), 1,96(m, 1H), 1,86(m, 1H), 0,85(m, 3H).

Мас-спектр: M+H 352

Приклад 50

3-([3-[4-(Трет-бутил)-2-піридиніл]-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно]-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa8)

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,58(d, 1H), 7,90(s, 1H), 7,65(bs, 1H), 7,45-7,39(m, 1H), 4,98-4,68(m, 3H), 3,92 і 3,88(два d, 1H), 3,52 і 3,47(два d, 1H), 3,05-2,86(m, 2H), 2,23-2,18(m, 1H), 2,08-2,00(m, 1H), 1,38(s, 9H), 1,05(1,3H).

Мас-спектр: M+H 408

Приклад 51

3-([5R]-3-[4-(Трет-бутил)-2-піридиніл]-5-ізопропіл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно]-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa9)

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,58(d, 1H), 7,88(d, 1H), 7,61 (bs, 1H), 7,43(m, 1H), 4,84(m, 1H), 4,60(bs, 2H), 3,89-3,82(два d, 1H), 3,60-3,55(два d, 1H), 3,04-2,86(m, 2H), 2,38(m, 1H), 1,38(s, 9H), 1,07(m, 6H).

Мас-спектр: M+H 422

Приклад 52

3-([5-Етил-3-(4-ізобутил-2-піридиніл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно]-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa10)

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,58-8,52(dd, 1H), 8,49(s, 1H), 7,68(s, 1H), 7,27(s, 1H), 5,19-5,04(m, 1H), 4,69(m, 1H), 4,46-4,29(m, 1H), 3,68(m, 1H), 3,41-3,37(dd, 1H), 2,93-2,46(ηη, 4H), 1,95-1,85(два m, 3H), 0,86-0,82(m, 9H).

Мас-спектр: M+H 408

Приклад 53

3-([3-(4-Ацетил-2-піридиніл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно]-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa11)

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,79(d, 1H), 8,35(s, 1H), 7,76(d, 1H), 7,46(bs, 1H), 4,84-4,40(m, 3H), 3,90-3,85(два d, 1H), 3,51-3,46(два d, 1H), 3,04-2,84(m, 2H), 2,65(s, 3H), NHHkdkdk 2,16(m, 1H), 2,02(m, 1H), 1,03(m, 3H).

Мас-спектр: M+H 394

Приклад 54

3-([3-(4-Циклопропіл-2-піридиніл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно]-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa12)

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12,39(bs, 1H), 8,41(1,1H), 7,56(d, 1H), 7,12(m, 1H), 5,19-5,04(m, 1H), 4,72-4,66(m, 1H), 4,46-4,27(m, 1H), 3,69-

3,63(m, 1H), 3,39-3,35(два d, 1H), 2,80-2,74(m, 1H), 2,63-2,52(m, 1H), 2,00-1,80(m, 3H), 1,06(m, 2H), 0,86-0,80(m, 5H).

Мас-спектр: M+H 392

Приклад 55

3-({[3-(4-Циклопентил-2-піридиніл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл}аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa13)

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,50(d, 1H), 7,67(m, 2H), 7,26(m, 1H), 4,88-4,82(m, 1H), 4,65(bs, 2H), 3,88-3,81 (два d, 1H), 3,45-3,41 (два d, 1H), 3,05(m, 1H), 2,96-2,80(m, 2H), 2,20-2,12(m, 3H), 2,02-1,96(m, 1H), 1,83(m, 2H), 1,72(m, 2H), 1,60(m, 2H), 1,01(t, 3H)

Мас-спектр: M+H 420

Приклад 56

3-({[(5R)-3-(4-циклопентил-2-піридиніл)-5-ізопропіл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл}аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa14)

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,58(m, 1H), 7,74(d, 1H), 7,63(bs, 1H), 7,38-7,32(dd, 1H), 4,88-4,81 (m, 1H), 4,53(bs, 2H), 3,87-3,79(два d, 1H), 3,56-3,53(два d, 1H), 3,12-3,04(m, 1H), 3,02-2,85(m, 2H), 2,38(m, 1H), 2,16(m, 2H), 1,88(m, 2H), 1,78(m, 2H), 1,65(m, 2H), 1,07(m, 6H).

Мас-спектр: M+H 434

Приклад 57

3-({[3-(4-Циклогексил-2-піридиніл)-5-етил-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл}аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa15)

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,61 (m, 1H), 7,75(d, 1H), 7,64(bs, 1H), 7,39-7,33(dd, 1H), 4,86-4,53(два m, 3H), 3,87(t, 1H), 3,50-3,45(dd, 1H), 3,05-2,85(два m, 2H), 2,63(m, 1H), 2,22(m, 1H), 2,03(m, 1H), 1,93-1,80(два m, 5H), 1,44(m, 5H), 1,05(t, 3H).

Мас-спектр: M+H 434

Приклад 58

3-({[5-Етил-3-(5,6,7,8-тетрагідро-1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл}аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa16)

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,60-8,53(dd, 1H), 8,30(d, 1H), 7,15(d, 1H), 5,20-5,05(m, 1H), 4,74-4,66(m, 1H), 4,45-4,25(m, 1H), 3,75-3,68(m, 3,47-3,41 (m, 1H), 2,94-2,88(m, 2H), 2,80-2,72(m, 3H), 2,62-2,53(m, 1H), 1,99-1,93(m, 1H), 1,88-1,80(m, 1H), 1,71-1,69(m, 4H), 0,88-0,84(m, 3H).

Мас-спектр: M+H 406

Приклад 59

5-Фтор-3-({[5-ізопропіл-3-(4-феніл-2-піридиніл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл}аміно)-4-оксопентанова кислота (Iaa17)

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,68(d, 1H), 8,14(s, 1H), 7,68(m, 1H), 7,58(m, 1H), 7,54-7,43(m, 5H), 4,86-4,60(m, 3H), 3,92-3,87(два d, 1H), 3,62(d, 1H), 3,09-2,86(m, 2H), 2,39(01,1H), 1,11-1,06(m, 6H).

Мас-спектр: M+H 442

Дослід з виготовлення згідно з процесом за Прикладами 60-63

(2S)-4-(Трет-бутокси)-2-({[(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл}аміно)-4-оксобутанову кислоту (отриману за допомогою реакції зв'язування сполуки (VIIf) з Asp(O-трет-Bu)-OMe і наступного гідролізу) піддали реакції у відповідності з проце-

сом, аналогічним застосованому в Досліді 5 з виготовлення. У результаті одержали бромметилкетонову похідну - (Трет-бутил-(3S)-5-бром-3-({[(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл}аміно)-оксопентаноат). Цю бромметилкетонову похідну піддали реакції з дифенілфосфоною кислотою в KF/DMF (див. Дослід 5 з виготовлення), отримавши дифенілфосфорилосиметилкетон, який після цього обробили у відповідності з процесом, аналогічним описаному в Прикладі 2. У результаті одержали сполуку, зазначену в заголовку Прикладу 60.

Сполуки за Прикладами 61-63 були виготовлені, відповідно, із 1-феніл-3-(трифторметил)-1H-піразол-5-олу, 3-бензил-4-гідрокси-2(5H)-фуранону та ізомасляної кислоти за допомогою процесу, аналогічного описаному в попередньому абзаці.

Приклад 60

(3S)-5-[(дифенілфосфорил)окси]-3-({[(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл}аміно)-4-оксопентанова кислота (Iaa18)

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,92(m, 1H), 8,58(m, 1H), 8,05(m, 1H), 7,94(m, 1H), 7,81 (m, 1H), 7,75-7,72(m, 3H), 7,57(m, 3H), 7,49(m, 4H), 7,35(m, 2H), 4,90-4,65(два m, 3H), 3,79-3,75(два d, 1H), 3,69-3,67(два d, 1H), 2,65(два m, 2H), 2,22(m, 1H), 0,84(m, 6H).

Мас-спектр: M+H 614

Приклад 61

(3S)-3-({[(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл}аміно)-4-оксо-5-{{1-феніл-3-(трифторметил)-1H-піразол-5-іл)окси}пентанова кислота (Iaa19)

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,95(m, 1H), 8,83(d, 1H), 8,57(m, 1H), 8,03(d, 1H), 7,92(d, 1H), 7,80(m, 1H), 7,74(m, 1H), 7,65(d, 1H), 7,57(m, 1H), 7,51-7,34(m, 3H), 6,27(s, 1H), 5,29-5,15(m, 2H), 4,76(m, 1H), 3,92-3,88(m, 1H), 3,75-3,69(m, 1H), 2,84-2,60(m, 2H), 2,33(m, 1H), 0,96(m, 6H).

Мас-спектр: M+H 624

Приклад 62

(3S)-5-[(4-бензил-5-оксо-2,5-дигідро)-3-фураніл)окси]-3-({[(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл}аміно)-4-оксопентанова кислота (Iaa20)

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,97(t, 1H), 8,58(d, 1H), 8,04(d, 1H), 7,92(d, 1H), 7,81 (m, 1H), 7,73(m, 1H), 7,23-7,07(m, 6H), 7,51 (m, 1H), 4,79-4,65(m, 3H), 3,92-3,87(два d, 1H), 3,74-3,68(два d, 1H), 2,82-2,58(m, 2H), 2,31 (m, 1H), 0,95(m, 6H).

Мас-спектр: M+H 586

Приклад 63

(3S)-5-(ізобутирилокси)-3-({[(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл}аміно)-4-оксопентанова кислота (Iaa21)

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12,39(bs, 1H), 8,96(t, 1H), 8,73(m, 1H), 8,58(dd, 1H), 8,04(d, 1H), 7,92(d, 1H), 7,81(t, 1H), 7,73(m, 1H), 4,78(m, 2H), 4,68(m, 1H), 3,87(t, 1H), 3,73-3,68(два d, 1H), 2,79-2,60(два m, 2H), 2,56(m, 1H), 2,3L(m, 1H), 1,05(d, 3H), 0,95(m, 9H).

Мас-спектр: M+H 484

Приклад 64

(3S)-3-(((5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-4-оксо-5-гексенова кислота (Iaa22)

Була проведена реакція амідної похідної Вайнреба (Weinreb) (2S)-4-(трет-бутоксид)-2-(((5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-4-оксобутанової кислоти (похідна, сконденсована з N,O-диметилгідроксиламіном) з вінілмагнійбромідом, і отриману сполуку піддали реакції у відповідності з процесом, аналогічним застосованому в Прикладі 2. У результаті була одержана сполука, зазначена в заголовку.

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12,27(bs, 1H), 8,95(t, 1H), 8,74-8,67(два d, 1H), 8,58(m, 1H), 8,04(d, 1H), 7,92(d, 1H), 7,83-7,72(m, 2H), 6,47(m, 1H), 6,22-6,11(два dd, 1H), 5,71-5,62(два dd, 1H), 4,77(m, 1H), 3,90-3,79(m, 1H), 3,72-3,64(m, 1H), 2,82(m, 1H), 2,62-2,49(m, 1H), 2,30(m, 1H), 0,94(m, 6H).

Мас-спектр: M+H 410

Дослід 22 з виготовлення

Трет-бутил-(3S)-3-аміно-4-гідрокси-5-(2-піридинілокси)пентаноат (VIIf)

Бромметилкетонову похідну X (3,2г, 7,93ммоль), проміжний продукт із Досліді 5 з виготовлення, розчинили в бензолі (30мл) і до розчину додали Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2,62г, 1,2екв.) і 2-гідроксипіридин (0,93г, 1,2екв.). Утворену суміш перемішували в умовах кипіння з оберненим холодильником при температурі 80°C протягом 3 днів. Реакційну суміш профільтрували через целіт, концентрували під зниженим тиском і очистили методом колонкової хроматографії, одержавши 2-піридинілоксиметилкетонову похідну (XIIf) (466мг, вихід 14%).

Одержану таким чином 2-піридинілоксиметилкетонову похідну (XIIf) (227мг, 0,548ммоль) розчинили у 10мл суміші розчинників тетрагідрофуран/метанол (3:2, об.), додали NaBH<sub>4</sub> (43мг, 2,0екв.) при 0°C, і суміш перемішували протягом 30 хвилин при кімнатній температурі. Реакцію зупинили насиченим розчином хлориду амонію, і реакційний розчин концентрували під зниженим тиском. Залишок екстрагували етилацетатом, промили водою і водним розчином хлориду натрію, просушили (безводний Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), і потім концентрували під зниженим тиском, одержавши сполуку (XIIf) (230мг), у котрій кетонова група була відновлена до гідроксильної групи.

Бензилоксикарбонільну групу приготованої таким чином сполуки видалили обробкою (Pd/C) в атмосфері балонного водню протягом 40 хвилин, отримавши в результаті сполуку, зазначену в назві (155мг, 99%).

Процес виготовлення сполук у Прикладах 65-66

Сполуки, зазначені в заголовках Прикладів 65-66, були одержані шляхом проведення реакцій сполуки VIIf (або VIIf) зі сполукою VIIIf у відповідності з процесом, аналогічним застосованому в Прикладах 1 і 2; тут VIIf означає 5-етил-3-(2-ізопропілфеніл)-4,5-дигідро-5-ізоксазолкарбонову кислоту.

Приклад 65

(3S)-3-(((5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-4-оксо-5-(2-піридинілокси)пентанова кислота (Iaa23)

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, MeOH-d<sub>4</sub>) δ 9,04(d, 1H), 8,50(d, 1H), 7,95(d, 1H), 7,81 (d, 1H), 7,77(t, 1H), 7,69(t, 1H), 7,59(m, 1H), 6,85-6,80(m, 2H), 6,67(bs, 1H), 5,07(bs, 1H), 4,95(t, 1H), 4,84(m, 1H), 3,94-3,79(Abq, 2H), 2,92-2,80(m, 2H), 2,39(m, 1H), 1,09(m, 6H).

Мас-спектр: M+H 491

Приклад 66

(3S)-3-([5-етил-3-(2-ізопропілфеніл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-4-оксо-5-(2-піридинілокси)пентанова кислота (Iaa24)

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) 8,71 (bs, 1H), 8,02-7,94(два bs, 1H), 7,71-7,64(m, 1H), 7,42-7,18(m, 4H), 6,96-6,90(два t, 1H), 6,85-6,80(два d, 1H), 4,99(bs, 2H), 4,86-4,78(m, 1H), 3,58(два d, 1H), 3,48(два d, 1H), 3,36(m, 1H), 2,81-2,61(m, 2H), 2,05-1,80(два m, 2H), 1,14-1,03(m, 6H), 0,93-0,88(m, 3H).

Мас-спектр: M+H 468,21

Приклад 67

2-(((3S)-4-карбокси-3-(((5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-2-оксобутил]окси)-1-метилпіридинітрифторметансульфонат (Iaa25)

Проміжний продукт, трет-бутил ((3S)-3-(((5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-4-оксо-5-(2-піридинілокси)пентаноат (49мг, 90 мкмоль), отриманий у результаті проведення реакції окислення за Десом-Мартеном (Dess-Martin) у Прикладі 65, розчинили в дихлорметані (2мл), додали метилтрифторметансульфонат (1,1екв., 10,1мкл), і суміш перемішували протягом одного дня при кімнатній температурі. Після концентрування під зниженим тиском залишок піддали обробці за таким самими процесом, як у Прикладі 2, у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука (60мг).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9,00-8,91 (m, 2H), 8,76-8,57(m, 2H), 8,42(m, 1H), 8,04(m, 1H), 7,93(m, 1H), 7,80(m, 1H), 7,75(m, 1H), 7,54(m, 1H), 5,77-5,48(m, 2H), 4,85-4,81 (m, 1H), 4,00(s, 3H), 3,94-3,69(m, 2H), 2,87-2,60(m, 2H), 2,33(m, 1H), 0,98 і 0,94(два d, 6H).

Мас-спектр: M+ 505,20

Приклад 68

2-(((3S)-4-карбокси-3-([5-етил-3-(2-ізопропілфеніл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-2-оксобутил]окси)-1-метилпіридинітрифторметансульфонат (Iaa26)

Проміжний продукт, трет-бутил (3S)-3-([5-етил-3-(2-ізопропілфеніл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл)аміно)-4-оксо-5-(2-піридинілокси)пентаноат (55мг, 0,105ммоль), отриманий у результаті проведення реакції окислення за Десом-Мартеном (Dess-Martin) у Прикладі 66, розчинили в дихлорметані (2мл), додали метилтрифторметансульфонат (1,1екв., 13мкл), і суміш перемішували протягом одного дня при кімнатній температурі. Після концентрування під зниженим тиском, залишок піддали обробці за таким самими процесом, як у Прикладі 2, у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука (59мг, 94%).

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,80-8,73(два d, 1H), 8,65(m, 1H), 8,45-8,38(m, 1H), 7,56-7,51(m, 2H), 7,43-7,31(m, 3H), 7,24-7,12(m, 1H), 5,72-5,48(m, 2H), 4,91(m, 1H), 4,01 і 3,99(два s, 3H), 3,64(два d, 1H), 3,48(два d, 1H), 3,42(m, 1H), 2,90-2,62(m, 2H), 2,05-1,80(два m, 2H), 1,15-1,03(m, 6H), 0,93-0,88(m, 3H).

Мас-спектр: M+ 482,17

Процес виготовлення сполук у Прикладах 69-70

Проводили реакції оксимоної похідної 5-хлор-1-метил-1H-індол-2-альдегіду або 1,5-диметил-1H-індол-2-альдегіду з трет-бутил-3-аміно-5-фтор-4-гідроксипентаноатом у відповідності з процесами, аналогічними описаним у Дослідах 1, 17 і 4 з виготовлення і Прикладах 1, 2, одержуючи в результаті сполуки, зазначені в заголовках Прикладів 69-70.

Приклад 69

3-({[3-(5-хлор-1-метил-1H-індол-2-іл)-5-ізопропіл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл}аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa27)

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,59(s, 1H), 7,46-7,39(два d, 1H), 7,30-7,23(m, 3H), 5,01 (m, 1H), 4,75-4,46(m, 2H), 4,02(d, 1H), 3,95(s, 3H), 3,71(d, 1H), 2,95(m, 1H), 2,77(m, 1H), 2,35(m, 1H), 1,04(m, 6H).

Мас-спектр: M+H 452

Приклад 70

3-({[3-(1,5-диметил-1H-індол-2-іл)-5-ізопропіл-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл}аміно)-5-фтор-4-оксопентанова кислота (Iaa28)

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,48(bs, 1H), 7,39(d, 1H), 7,23-7,14(m, 3H), 4,76(m, 1H), 4,70-4,50(m, 2H), 4,07-4,02(два d, 1H), 3,99-3,94 і 3,93(три s, 3H), 3,75-3,48(m, 1H), 2,94-2,82(два m, 1H), 2,46-2,43(два s, 3H), 2,34(m, 1H), 1,05(m, 6H).

Мас-спектр: M+H 432

Дослід 23 з виготовлення

Виділення (5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазолкарбонової кислоти

5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазолкарбонову кислоту розчинили в ацетоні (190мл) в умах нагрівання при 60°C і до розчину додали (S)-а-метилбензиламін (14,5мл, 112ммоль). Реакційну суміш охолодили до кімнатної температури і перемішували протягом 4 годин. Утворений осад профільтрували і тричі промили ацетоном (40мл).

Отриману таким чином (5)-а-метилбензиламінову сіль (5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазолкарбонової кислоти розчинили в суміші (150мл) ацетону і води (4:1) в умовах нагріву при 90°C, охолодили до кімнатної температури і перемішували протягом 3 годин. Утворений осад профільтрували і тричі промили ацетоном (40мл), одержавши чисту (S)-а-метилбензиламінову сіль (5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазолкарбонової кислоти (12,8г, 24,3%, 99,8% ee (енанімерний надлишок)).

Оптичну чистоту (5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазолкарбонової кислоти оцінювали за допомогою OD колонки ChiralCel (4,6×250мм, 5мм). Як рухома фазу при цьому використовували суміш n-гексану, ізопропа-

нолу і трифтороцтової кислоти (92:8:0,1) з витратою 1мл/хв. Температура колонки становила 40°C, а довжина хвилі детектування - 225нм. Спостерігалися два оптичні ізомери - R ізомер при періоді витримування 7,8хв. і S ізомер при періоді витримування 21,1хв.

Приклад 71

Виділення сполуки (lii-1)

1) Виділення зародкової сполуки

Два діастереомери із Прикладу 16 були розділені за допомогою препаративної рідинної хроматографічної колонки з силікагелем (діаметром 40мм, DYNAMAX-100A). Рухомою фазою при цьому служила суміш n-гексану, етанолу і трифтороцтової кислоти (4000:32:2) з витратою 50мл/хв. Бажаний діастереомер збирали зі співвідношенням 99:1 протягом періоду витримування 62-66 хв. при детектуванні на хвилі завдовжки 227нм (два діастереомери широко елюювалися при безперервному змінюванні співвідношення протягом часу до 86хв.). Отриманий таким чином діастереомер зі співвідношенням 99:1 позбавили захисту і використовували як зародковий матеріал для відділення.

Оптичну чистоту оцінювали за допомогою колонки Atlantis C<sub>18</sub> (4,6×250мм, 5мм). Рухомою фазою при цьому служила суміш ацетонітрилу, води і трифтороцтової кислоти при витраті 1мл/хв. за таким градієнтом:

t= 0хв., 0:100:0,1

3хв., 20:80:0,1

50хв., 100:0:0,1

На довжині хвилі детектування 227нм спостерігалися два оптичні ізомери: при періоді витримування 36,6хв. (3R, 5R ізомер) і при періоді витримування 37,1хв. (3S, 5R ізомер).

(3S, 5R ізомер): Трет-бутил-(3S)-5-фтор-3-({[(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл}аміно)-4-оксопентаноат

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 9,13(d, 1H), 8,55(d, 1H), 7,85(d, 1H), 7,78-7,65(m, 4H), 5,22-5,02(два m, 2H), 4,90(m, 1H), 4,02(d, 1H), 3,80(d, 1H), 2,92-2,88(dd, 1H), 2,79-2,75(dd, 1H), 2,41 (m, 1H), 1,34(s, 9H), 1,09(m, 6H).

Мас-спектр: M+H 472

(3R, SR ізомер): Трет-бутил-(3R)-5-фтор-3-({[(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл}аміно)-4-оксопентаноат

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 9,14(d, 1H), 8,56(d, 1H), 7,87(d, 1H), 7,77-7,64(m, 4H), 5,25-5,00(два q, 2H), 4,90(m, 1H), 4,03(d, 1H), 3,82(d, 1H), 2,93(dd, 1H), 2,77(dd, 1H), 2,42(m, 1H), 1,35(s, 9H), 1,11(m, 6H).

Мас-спектр: M+H 472

(3S)-5-Фтор-3-({[(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл]карбоніл}аміно)-4-оксопентанова кислота (lii-1)

<sup>1</sup>H-ЯМР (400МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 9,07(d, 1H), 8,57(d, 1H), 7,89(d, 1H), 7,78-7,69(m, 3H), 7,69(d, 1H), 4,88-4,79(m, 2H), 4,67(bs, 1H), 4,07(d, 1H), 3,81(d, 1H), 3,08-2,93(m, 1H), 2,91-2,82(m, 1H), 2,43(m, 1H), 1,12(m, 6H).

Мас-спектр: M+H 416

(3r)-5-фтор-5-({[(5r)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-

ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-4-оксопентанова кислота (Iii-2)

<sup>1</sup>H-ЯМР (500МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 9,07(d, 1H), 8,55(d, 1H), 7,87(d, 1H), 7,75-7,68(m, 3H), 7,52(bs, 1H), 5,20-4,35(m, 3H), 4,02(d, 1H), 3,80(d, 1H), 3,13-2,90(m, 2H), 2,39(m, 1H), 1,08(m, 6H).

Мас-спектр: M+H 416

2) Рекристалізація

(3S)-5-фтор-3-({(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-4-оксопентанова кислота (Iii-1)

Вихідний трет-бутил-5-фтор-3-({(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-4-оксопентаноат (366г) розчинили в хлористому метилені (1,9кг) і охолодили до 0°C. Додавали триетилсилан (235г) і трифтороцтову кислоту (1,88кг), і суміш перемішували протягом однієї години при 0°C. Реакційну суміш відігнали під зниженим тиском, повторно розчинили в етилацетаті (2,4кг), і відрегулювали її, встановивши рН 5,2 додаванням 2Н водного розчину гідроксиду натрію (3,1л). Органічний шар відділили, а водяний шар екстрагували один раз етилацетатом (2,4кг). Об'єднаний органічний шар відігнали під зниженим тиском, видаливши таким чином розчинник. Залишок, що утворився, розчинили в метил-трет-бутиловому етері (530г), і до розчину додали невелику кількість кристалічної (3S)-5-фтор-3-({(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-4-оксопентанової кислоти. Після перемішування протягом 16 годин при кімнатній температурі утворений осад профільтрували і промили сумішшю 9:1 метил-трет-бутилового етеру і n-гексану (210мл)

Отриману таким чином (3S)-5-фтор-3-({(5R)-5-ізопропіл-3-(1-ізохінолініл)-4,5-дигідро-5-ізоксазоліл}карбоніл}аміно)-4-оксопентанову кислоту розчинили в етилацетаті (240мл) в умовах нагріву при 50°C, повільно додали n-гексан (240мл) і розчин поступово охолодили до кімнатної температури. Після перемішування протягом 24 годин при кімнатній температурі утворений осад профільтрували і промили сумішшю 1:1 етилацетату з n-гексаном (30мл), у результаті чого була одержана зазначена в заголовку сполука (Iii-1, 46,0г, 3S/3R=94/6,0). Оптичну чистоту оцінювали за допомогою колонки Luna (4,6×50мм, 5мм, C<sub>18</sub>). Як рухому фазу використовували суміш ацетонітрил/20мМ NH<sub>4</sub>OAc (30:70, рН 6) з витратою 1мл/хв. При детектуванні на довжині хвилі 227 нм спостерігалися два оптичні ізомери - 3Я ізомер з періодом витримування 8,0хв. і 3S ізомер з періодом витримування 9,0хв.

Експеримент 1

Визначення ефекту інгібування каспази

Були синтезовані, очищені й активовані за допомогою модифікованого методу, описаного в [Thornberry, N. A. et al., Nature. 1992, 356, 768. Thornberry, N. A. Methods in Enzymology, 1994, 244, 615. Walker, N. P. C et al., Cell, 1994, 78, 343] каспаза-1 і каспаза-8, відомі як цистеїнові протеази, у формі α<sub>2</sub>β<sub>2</sub>. Аналогічним методом була також очищена каспаза-9. Були проведені випробування на інгібіторну активність до цих каспаз. Коротко, були експресовані субдиниці p10 і p20 [Thornberry, N. A. et al., Nature, 1992, 356, 768] в E.coli, які були очищені шляхом хроматографії на нікелевій та аніонообмінній колонках, у результаті чого були отримані каспаза-1, каспаза-8 і каспаза-9. Для визначення специфічної активності синтезованих інгібіторів щодо отриманих таким чином каспаз використовували флуоресцентний субстрат AcYVAD-AFC для каспази-1, субстрат AcDEVD-AFC для каспази-8 і субстрат AcLEHD-AFC для каспази-9. Ферментативну реакцію проводили при температурі 25°C і різних концентраціях інгібіторів у буферному розчині, що містив 50мМ HEPES (рН 7,50), 10%(мас./об.) цукрози, 0,1%(мас./об.) CHAPS, 100мМ NaCl, 1мМ EDTA і 10мМ DTT при наявності 50мкМ AcYVAD-AFC для 10нМ каспази-1, 50мкМ AcDEVD-AFC для 2,1нМ каспази-8, і 150мкМ AcLEHD-AFC для 200нМ каспази-9. Інгібіторні константи K<sub>i</sub> і K<sub>obs</sub> інгібіторів визначали шляхом вимірювання швидкості реакції протягом часу за допомогою флуоресцентного спектрометра і отримування константи початкової швидкості. K<sub>i</sub> визначали шляхом обчислювання по графіку Лайнвівера-Барка (Lineweaver Burk), а K<sub>obs</sub> - за рівнянням 1:

Рівняння 1

$$K_{obs} = -\ln(1 - A_t/A_{00})/t,$$

де

A є відсоток розщеплення (%) у момент часу t,

а

A<sub>00</sub> є максимальний відсоток розщеплення (%).

Флуоресцентний спектрометр Spectra MAX GeminiXS фірми Molecular Device Co. працював на хвилях збудження 405нм та емісії 505нм.

Інгібіторну активність in vivo інгібіторів визначали шляхом піддавання клітин Джеркета (Jurkat) (Американська колекція типових культур ATCC TIB-152) апоптозу Fas антитілом (Upstate Biotech 05-201) і реєстрації зміни кольору за методом WST-1, описаним у [Francoeur A.M. and Assalian A. (1996) Biochemica 3, 19-25], отримуючи таким чином кількість клітин Джеркета (Jurkat), що вижили в умовах обробки їх інгібітором. При цьому використовувався спектрометр Spectra MAX 340 фірми Molecular Device Co. на хвилі поглинання 440нм.

Таблиця 1

Сполука №	Каспаза-1 $K_{obs} / [I] \text{ (M}^{-1}\text{хв.}^{-1}\text{)}$	Каспаза-8 $K_{obs} / [I] \text{ (M}^{-1}\text{хв.}^{-1}\text{)}$	Каспаза-9 $K_{obs} / [I] \text{ (M}^{-1}\text{хв.}^{-1}\text{)}$	Клітина Джеркета (Jurkat) $IC_{50} \text{ (мкМ)}$
lcc	1,9 E5	3,3 E4		22,5
ldd	3,1 E5	1,9E5		4,25
lee		1,8 E5		32,6
lff		5,0 E5		1,2
lgg	2,7 E6	1,5E6	3,2 E5	0,17
lii	1,1 E6	1,3 E7	2,0 E5	0,1
lii-u		1,9 E5		0,71
lii-1		2,3 E7		
lii-2		4,7 E5		
lij		1,9E5		4,7
lkk		1,2E5		1,1
ll		1,3 E5		39,2
lmm		1,6 E5		2,0
lnn		2,6 E5		6,5
loo		2,0 E4		50
lpp	2,3 E6	1,7 E5		3,5
lqq	3,3 E6	1,4E5		37
lrr				Активність відсутня
lss				Активність відсутня
lth		4,3E5		0,16
luu		2,9E5		0,98
lvv		1,5E6		0,15
lww		1,1E6		1,9
lxx		4,0E4		26,5
lyy		3,1E5		31,2
lzz		4,2E5		1,25
laa1		1,8E5		0,33
laa2		3,2E5		0,56
laa3		1,4E5		2,65
laa4		5,0E5		0,67
laa5		3,0E5		0,3
laa6		2,0E5		2,45
laa7		4,4E4		2,27
laa8		4,5E5		0,70
laa9		2,3E5		1,24
laa10		1,5E5		1,02
laa11		6,4E4		31
laa12		1,9E5		0,70
laa13		3,1E5		0,35
laa14		4,1E5		0,79
laa15		4,3E5		0,72
laa16		6,2E5		0,73
laa17		1,8E5		1,14
laa18		5,2E5		1,5
laa19		1,6E4		Активність відсутня
laa20		3,7E4		Активність відсутня
laa21		Активність відсутня		Активність відсутня
laa22		Активність відсутня		
laa23		2,9E4		Активність відсутня
laa24		Активність відсутня		
laa25		1,7E5		Активність відсутня
laa26		3,1E4		Активність відсутня
laa27		8,2E5		1,3
laa28		1,8E6		0,6

\* Сполукою lii-u є (5S) форма сполуки lii

## Експеримент 2

Терапевтичний ефекту випадку LPS-індукованого гострого гепатиту у миші

## Стадія 1. Приготування зразка крові

Самки мишей Balb/c (6 тижнів, Лабораторія Charles River Laboratory, Осака, Японія) утримувалися в умовах температури 22°C, відносної вологості 55% і 12 годинних циклів чергування світла і темряви. Їжа і вода постачалися *ad libitum*. У безпірогенному сольовому розчині розчиняли LPS (ліпополісахарид) і D-галактозамін у концентраціях 0,4мг/мл і 280мг/мл, відповідно, і їх суміш 1:1 вводили шляхом ін'єкцій мишам у кількості 5мл/кг. Одразу після ін'єкції LPS і D-галактозаміну носій (суміш PEG400:етанол:TweeSO=15:7,5:2,5, п'ятикратно розбавлена сольовим розчином) з розчиненою в ньому випробуваною сполукою або в чистому стані вводили мишам шляхом інтраперитонеальних ін'єкцій. Через 8 годин після ін'єкцій із серця тварин відбирали зразки крові.

Стадія 2. Визначення активності амінотрансферази плазми.

ALT-активність плазми визначали на відібраних у Стадію 1 зразках крові за допомогою набору для ALT-аналізу (Asan Pham. Co., Сеул, Корея) у відповідності з інструкцією виробника. Результати цього аналізу показали, що ін'єкції ліпополісахариду і D-галактозаміну круто підвищують активність ALT у плазмі, а випробувані сполуки інгібують цю підвищену ферментативну активність у ступені, залежному від дози. Величини ефективної дози ED<sub>50</sub>, обчисленої на основі цих результатів випробуваннях сполук за допомогою програми Prism виробництва GraphPad Co., лежали в інтервалі 0,01-10мг/кг.

## Експеримент 3

Інгібіторний ефект щодо фіброзу печінки у щурів SD породи

Стадія 1. Методика викликання фіброзу печінки і введення активних сполук.

Самців щурів породи Sprague-Dawley (6 тижнів, постачальник "Korea Biolink") утримували при температурі 22°C, відносній вологості 55% і 12 годинних циклах чергування світла і темряви. Їжа і вода постачалися *ad libitum*. Для лігування жовчних протоків щурів піддавали анестезії шляхом інгаляції 1% галотану, розрізали їм черевну порожнину, лігували дистальну і проксимальну жов-

чні протоки, частини між місцями лігування відрізали, робили ін'єкції 2мл фізіологічного розчину і черевину зашивали.

Тваринам вводили випробувану сполуку (lii) пероральним шляхом з дозою 3мг/кг або 10мг/кг двічі на день. Для цього сполуку розчиняли у змішаному розчиннику (PEG400:етанол:Tween 80=15:7,5:2,5), п'ятикратно розбавляли фосфатним буфером (pH 7,4) і робили ін'єкції цього розчину. Тваринам контрольної групи вводили розчин, що не містив випробуваної сполуки. Сполуки вводили протягом 1 тижня через 1 тиждень від дня лігування жовчної протоки.

Стадія 2. Приготування тканинних зрізів і забарвлення їх Сиріус (Sirius)-червоним.

Після введення сполук щурів умертвляли. Печінки тварин фіксували 10% нейтральним формаліном, і готували парафінові зрізи завтовшки 5мкм, які забарвлювали 0,1% Сиріус (Sirius)-червоним (Конго червоний 80, Sigma). Приготовані зрізи тканин досліджували під оптичним мікроскопом, де спостерігалися забарвлені червоним колагенові волокна. Результати цих досліджень подані на Фіг.1.

## Експеримент 4

Інгібіторний ефект щодо апоптозу при стагнації жовчі у SD щурів

Випробувану сполуку (lii) вводили SD щурам, жовчні протоки яких були лігovanі у відповідності з процедурою, застосованою на Стадії 1 Експерименту 3. Через 2 тижні після операції щурів умертвляли. Їхні печінки фіксували 10% нейтральним формаліном, і з них готували парафінові зрізи завтовшки 5мкм. Було здійснене TUNEL-забарвлення зрізів за допомогою пероксидазного набору для виявлення апоптозу *in situ* "ApopTag Peroxidase In Situ Apoptosis Detection kit" (Chemicon) у відповідності з інструкцією виробника. Були виконані фотознімки більш ніж 10 ділянок TUNEL-забарвленої тканини печінки у 200-кратному збільшенні, що не перекидалися. Результати цих досліджень подані на Фіг.2. Були підраховані і наведені в Табл.2 кількості втрачених клітин у кожній групі випробувань. У поданій нижче таблиці запис "Симульована операція" означає той випадок, коли жовчна протока була прооперована, але не була лігovaná. Запис "BDL операція" означає той випадок, коли після лігування жовчної протоки тварині вводили лише носій.

Таблиця 2

Інгібіторний ефект сполуки (lii) щодо апоптозу клітин печінки при стагнації жовчі

(Одиниця: кількість TUNEL-позитивних клітин / поле)

Симульована операція	BDL операція	BDL+сполука (lii), 3 мг/кг	BDL+сполука (lii), 10 мг/кг
0,76 ± 0,15	16,7 ± 2,75	4,12 ± 1,3	5,66 ± 1,34

## Висновок

TUNEL-забарвлення на моделі індукування фіброзу печінки внаслідок стагнації жовчі показав

ло ефективне інгібування апоптозу (75% інгібування) сполукою (lii). Крім того, забарвлення Сиріус-червоним показало тяжкий фіброз у тварин

контрольної групи, але майже повну його відсутність у групі тварин, яким вводили випробувану сполуку (lii). Цей результат демонструє очевидний інгібіторний ефект сполуки (lii) щодо фіброзу печінки у щурів, а отже дозволяє сподіватися на те, що сполука (lii) здатна виявити фармакологічну активність у придушенні цирозу печінки інгібуванням апоптозу її клітин в умовах клінічного застосування. Використання її може бути поширене не тільки на цироз печінки, зумовлений стагнацією жовчі, але також на різноманітні хвороби цього органу, що включають апоптоз, зумовлений фіброзом печінки.

#### Експеримент 5

##### Протизапальний ефект у щурів

Самці SD щурів (6 тижнів, Orient) утримувалися при температурі 22°C, відносній вологості 55% і 12 годинному циклі чергування світла з темрявою. Їжа і вода постачалися ad libitum. Перед індукуванням набряку у кожної тварини за допомогою плетизмометра був виміряний об'єм лапки. Перед індукуванням набряку щурам перо-

рально вводився носій (суміш PEG400:етанол:Tween 80=15:7,5:2,5, десятикратно розбавлена фосфатним буфером) з розчиною в ньому випробуваною сполукою або без неї. У фізіологічному розчині в концентрації 1% розчинили караген (гамма), і щурам у праву задню лапку були зроблені підшкірні ін'єкції цього розчину з дозою 100мкл. Через 3 години за допомогою плетизмометра знов виміряли об'єм правої задньої лапки тварин. Ефект випробуваної сполуки проявив себе в інгібуванні набряку (%) (див. Табл.3). Інгібування набряку (%) обчислювали за наведеним нижче рівнянням 2.

#### Рівняння 2

Інгібування набряку (%) =  $100 \times (\text{Середнє значення збільшеного об'єму лапки в групі тварин, яким вводили носій} - \text{Збільшений об'єм лапки в групі тварин, яким вводили випробувану сполуку}) / \text{Середнє значення збільшеного об'єму лапки в групі тварин, яким вводили носій}$ .

Таблиця 3

Інгібування набряку сполукою (lii)

Ефект інгібування набряку, %		
Доза, мг/кг	Середнє значення	Відхилення
3	2,3	7,7
30	20,7	9,7
100	22,7	2,6

#### Експеримент 6

Терапевтичний ефект при ревматоїдному артриті у щурів

Самки щурів Льюїса (Lewis) (7 тижнів, Charles River, Японія) утримувалися при температурі 22°C, відносній вологості 55% і 12 годинному циклі чергування світла з темрявою. Їжа і вода постачалися ad libitum. Колаген II типу (бичачий) розчинили в 0,05M оцтовій кислоті в концентрації 2мг/мл при 4°C, і для емульсифікації розчину до нього при температурі 4°C добавили таку саму кількість повного ад'юванту Фрейнда. У хвіст щурам Льюїса були зроблені підшкірні ін'єкції 0,1мл емульсифікованого таким чином розчину. Через 7 днів таким самим чином були знов зроблені ін'єкції емульсифікованого розчину. Від дня другої ін'єкції емульсифікованого розчину щурам кожний день перорально вводили носій (суміш PEG400:етанол:Tween 80=15:7,5:2,5, десятикратно розбавлена фосфатним буфером) з розчиною

ною в ньому випробуваною сполукою та без неї. На 14 день від дати першої ін'єкції емульсифікованого розчину, що містив колаген, у щурів за допомогою плетизмометра знову виміряли об'єм правої задньої лапки (див. Табл.4). Інгібування набряку (%) визначали за допомогою наведеного нижче рівняння 3.

#### Рівняння 3

Інгібування набряку (%) =  $100 \times (\text{Середнє значення збільшеного об'єму лапки на 14 день у групі тварин, яким вводили носій} - \text{Збільшений об'єм лапки на 14 день в групі тварин, яким вводили випробувану сполуку}) / \text{Середнє значення збільшеного об'єму лапки на 14 день у групі тварин, яким вводили носій}$ .

Крім того, для підтвердження значущості отриманих результатів була обчислена імовірність р за допомогою t-тесту Ст'юдента за збільшеним об'ємом лапки на 14 день експерименту.

Таблиця 4

Ефект інгібування набряку лапки

Доза сполуки (lii), мг/кг	Об'єм лапки, мл				Інгібування набряку, %	
	0-й день		14-й день		14-й день	
	Середнє значення	Відхилення	Середнє значення	Відхилення	Середнє значення	Відхилення
0	1,115	0,036	1,975	0,257	-	
10	1,134	0,032	1,394*	0,089	69,8	10,8

\*Величина  $p = 0,032$ 

У тесті з набряку лапки у щурів сполука (lii) показала ефект дозозалежного інгібування набряку приблизно на 2, 21 і 23% при дозах 3, 30 і 100мг/кг, відповідно У моделі ревматоїдного артриту набряк лапки на 14-й день був значно зменшений (приблизно на 70%) у групі тварин, яким вводили сполуку (lii), у той час як група негативного контролю показала максимальну величину набряку Таким чином, є цілком очевидним, що сполука (lii) має інгібаторний ефект щодо розвитку

процесу запалення в моделі запального захворювання і, отже, може використовуватися в лікуванні автоімунних запальних захворювань

Експеримент 7

Порівняння з відомими сполуками

Були проведені випробування сполуки (lii) згідно з даним винаходом і LB84068MP (сполуки 68), описаної в [PCT/KRO0/01047 (WO 01/21600)], результати яких подані в Табл.5.

Таблиця 5

	LB84068MP	Сполука (lii)
$K_{obs}/[I]$ каспази-8	1,2 E6, $M^{-1}xv^{-1}$	1,30 E7, $M^{-1}xv^{-1}$
IC <sub>50</sub> (клітина Джеркета (Jurkat))	1,6 мкМ	0,1 мкМ або менше
Ефективна доза ED <sub>50</sub> (LPS + Gal)	0,99 мг/кг	0,01 мг/кг
Розчинність (рН=7,44 фосфат)	0,93 мг/мл або менше	7,8 г/мл

Із Табл.5 можна бачити, що сполука (lii) згідно з даним винаходом, порівняно зі сполукою LB84068MP, демонструє інгібаторну активність, вищу в десятки разів щодо каспази-8 і клітин Джеркета (Jurkat), і приблизно в 100 разів щодо LPS-індукованої моделі гострого гепатиту (у мишей). Крім того, фізико-хімічні властивості нової сполуки є більш стабільними, що робить її більш простою при застосуванні у препаратах для ін'єкцій. Інакше кажучи, сполука згідно з даним винаходом демонструє значно вищу ефективність у порівнянні зі сполукою LB84068MP як з погляду активності, так і з погляду фізико-хімічних властивостей.

Посилання

1. Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates, 2nd ed., ed by Gallin, Goldstein and Snyderman. Raven Press Ltd., New York. 1992, pp.211-232; Blood, №96,87(6), 2095-2147.
2. Wilson, K. P. et al., Nature, 1994, 370. 270; Walker, N. P. C et al., Cell, 1994, 78, 343; Nature Structural Biology, 1996,3(7), 619.
3. Thornberry, N. A. et al, Nature, 1992, 355.768; Nature Biotechnology, 1996, 14, 297; Protein Science, 1995,4, 3; Nature, 1995, 376 (July 6), 37; Protein Science, 1995,4,2149.

4. Wei, Y. et al., Chemistry and Biology, 2000, 7, 423.

5. Blanchard H. et al, Structure, 1999, 7, 1125; Blanchard H. et al, J. Of Mol. Biol, 2000, 302, 9.

6. Посилання, що стосуються хвороб, пов'язаних з каспазою

Деменція: Arch Neural. 2003 Mar, 60(3):369-76, Експресія каспазного гена в мозку як функція клінічного розвитку хвороби Альцгеймера. Pompl PN, Yemuf S, Xiang Z, Ho L, Haroutunian V, Purohit D, Mohs R, Pasinetti GM.

Церебральний напад: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2002 Nov. 12;99(23): 15188-93, Активация каспази і нейрозахист у каспаза-3-дефіцитних мишей після церебральної ішемії in vivo і киснево-глюкозної недостатності in vitro Le DA, Wu Y, Huang Z, Matsushita K, Plesnifa N, Augustinack JC, Hyman BT, Yuan J, Kuida K, Flavel RA, Moskowitz MA.

Ушкодження мозку внаслідок СНІДу: J Neurosci 2002 May 15;22(10):4015-24, Каспазні шляхи в імунodefіцитній вірусній нейродегенерації у людини. Garden GA, Budd SL, Tsai E, Hanson L, Kaul M, D'Emilia DM, Friedlander RM, Yuan J, Masliah E, Upton SA.

Діабет: Diabetes 2002 Jun; 51(6): 1938-48, Апоптоз у міокарді миші, викликаний гіперглікемією:

шлях активзації мітохондріальної цитохромної С-опосередкованої каспази-3. Cai L, Li W, Wang G, Guo L, Jiang Y, Kang YJ.

Виразка шлунку: J Physiol Pharmacol 1998 Dec; 49(4):489-500, Роль базисного фактора росту фібробластів у придушенні апоптотичної каспази-3 при лікуванні хронічної виразки шлунку. Slomiany BL, Piotrowski J, Slomiany A.

Церебральні ушкодження, викликані гепатитом: J Viral Hepat 2003 Mar; 10(2):81-6, Церебральна дисфункція при інфекційному хронічному гепатиті C. Forton DM, Taylor-Robinson SD, Thomas HC.

Печінкова недостатність, що швидко розвивається: Gastroenterology 2000 Aug; 119(2):446-60, Альфа-фактор некрозу пухлин при патогенезі печінкової недостатності у людей і мишей. Streetz K, Leifeld L, Grundmann D, Ramakers J, Eckert K, Spengler U, Brenner D, Manns M, Trautwein C.

Sepsis: Nat Immunol 2000 Dec; 1(6):496-501, Інгібітори каспази підвищують виживаність при сепсисі: критична роль лімфоцитів. Hotchkiss RS, Chang KC, Swanson PE, Tinsley KW, Hui JJ, Klender P, Xanthoudakis S, Roy S, Black C, Grimm E, Aspiotis R, Han Y, Nicholson DW, Karl IE.

Відторгнення трансплантованих органів: Xenotransplantation 2001 May; 8(2): 115-24, Запобігання in vitro клітинно-опосередкованому відторгненню ксенотрансплантату Fas/FasL-шляхом у CrtmA-трансдукованих клітинах нирки свині. Fujino M, Li XK, Suda T, Hashimoto M, Okabe K, Yaginuma H, Mikoshiba K, Guo L, Okuyama T, Enosawa S, Amemiya H, Amano T, Suzuki S.

Ревматоїдний артрит: Prog Med Chem 2002;39:1-72, Інгібітори каспази як протипухлинні і проти-апоптозні засоби. Graczyk PP.

Ішемічні хвороби серця: Am J Physiol Heart Circ Physiol 2002 Sep; 283(3):H990-5, Викликане гіпоксією розщеплення каспази-3 і DFF45/ICAD у по-

рушених кардіоміocyтах людини. Todor A, Sharov VG, Tanhehco EJ, Silverman N, Bernabei A, Sabbah HN.

Запалення: J Immunol 2003 Mar 15;170(6):3386-91, Інгібітор каспази широкого спектра дії пригнічує алергічне запалення дихальних шляхів у піддослідних астматичних мишей. Iwata A, Nshio K, Winn RK, Chi EY, Henderson WR Jr, Harlan JM.

Цироз: i) J Pharmacol Exp Ther. 2004 Mar;308(3):1191-6, Інгібітор Idn-6556 каспази пригнічує ушкодження і фіброз печінки у мишей з лігованими жовчними протоками. Canbay A, Fledstein A, Baskin-Bey E., Bronk FS, Gores GJ.; ii) Hepatology. 2004 Feb;39(2):273-8, Апоптоз: зв'язок між ушкодженням печінки і фіброзом. Canbay A, Friedman S, Gores GJ.; iii) Hepatology. 2003 Nov; 38(5): 1188-98, Поглинання апоптотичних тіл клітинами Купфера стимулює експресію лігандів смерті і цитокінів. Canbay A, Feldstein AE, Higuchi H, Werneburg N, Grambihler A, Bronk SF, Gores GJ.

7. Wu J. et al, Methods: A Companion to Methods in Enzymology, 1999, 77, 320.

8. Hoglen N. C. et al, J. of Pharmacology and Experimental therapeutics, 2001, 297, 811.

9. Jaeschke H. et al, Toxicology and Applied Pharmacology, 2000,169,77.

10. Hoglen N.C. et al, J. Pharmacol Exp. Ther., 2004,309(2):634. Характеристики IDN-6556 (3-[2-(2-трет-бутилфеніламінооксаліл)аміно]-пропіонаміно]-4-оксо-5-(2,3,5,6-тетрафторфенокси)пентанової кислоти): інгібітор каспази для лікування печінки;

11. Canbay A et al, J. Pharmacol Exp. Ther., 2004, 308(3), 1191. Інгібітор IDN-6556 каспази полегшує ушкодження і фіброз печінки у мишей з лігованими жовчними протоками.

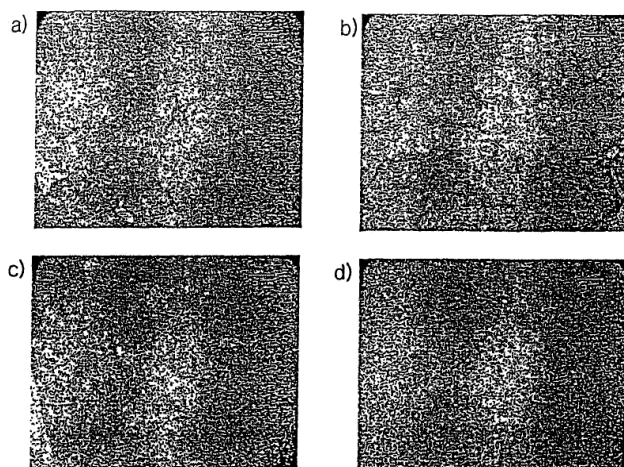
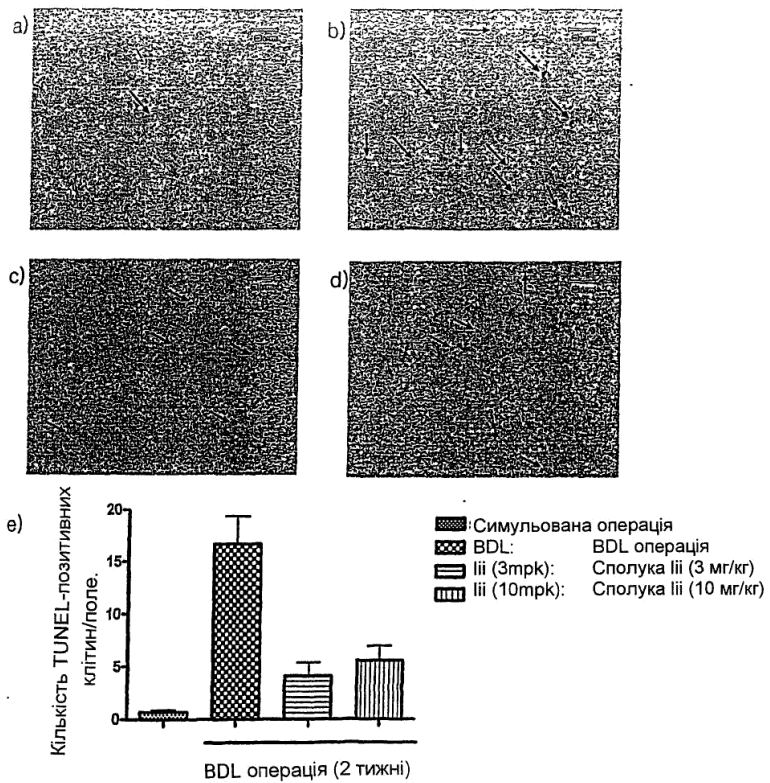


Fig. 1



Фіг. 2