

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **026184**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2017.03.31

(21) Номер заявки
201490901

(22) Дата подачи заявки
2012.10.29

(51) Int. Cl. *A61K 47/48* (2006.01)
C07K 5/02 (2006.01)
C07K 5/06 (2006.01)
C07K 5/08 (2006.01)

(54) ЛИНКЕРЫ НА ОСНОВЕ ТИРОЗИНА ДЛЯ СВОБОДНОГО СОЕДИНЕНИЯ ПЕПТИДОВ(31) **11187737.9**(32) **2011.11.03**(33) **EP**(43) **2014.10.30**(86) **PCT/EP2012/071373**(87) **WO 2013/064455 2013.05.10**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

**БАЙЕР ИНТЕЛЛЕКТУЭЛЬ
ПРОПЕРТИ ГМБХ; БАЙЕР ФАРМА
АКЦИЕНГЕЗЕЛЬШАФТ (DE)**

(72) Изобретатель:

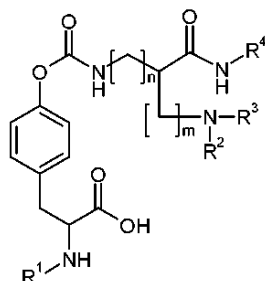
**Фламме Инго, Кёбберлинг Ёханнес,
Лерхен Ханс-Георг, Грибенов Нильс,
Шоэ-Лооп Рудольф, Виттрок Свен,
Кренц Урзула (DE)**

(74) Представитель:

Беяева Е.Н. (BY)

(56) **US-A1-2009186832**

(57) Изобретение относится к новым линкерам на основе тирозина, способствующим разъемному соединению пептидов или белков с другими молекулярными соединениями, например полиэтиленгликолем, а также к их физиологически допустимым солям. Соединения описываются формулой (I)



(I),

в которой n , m , R^1 , R^2 , R^3 и R^4 имеют значения, указанные в п.1 формулы. Представленное изобретение также относится к способу получения указанных соединений и их физиологически допустимых солей.

026184 B1

026184 B1

Изобретение относится к новым линкерам на основе тирозина, способствующим свободному соединению пептидов или белков с другими молекулярными соединениями, например полиэтиленгликолем, способам их получения и их применению для приготовления лекарственных средств для лечения и/или профилактики заболеваний.

Многие терапевтически активные пептиды или белки подвержены высокой очистке в естественных условиях. Существует несколько подходов к образованию инъекционных депо подобных препаратов, которые включают использование макромолекул.

Полимерные матриксы, содержащие молекулу препарата в нековалентно связанном состоянии, хорошо известны. Это также могут быть такие инъекционные препараты, как гидрогели, микрочастицы или мицеллы. Высвобождаемая кинетика подобных лекарственных препаратов может быть достаточно ненадежной с высокой вариабельностью у разных пациентов. Производство подобных полимеров может навредить чувствительному питательному веществу, либо оно может перенести побочные реакции с полимером во время его разрушения (D.H. Lee et al., *J. Contr. Rel.*, 2003, 92, 291-299).

Постоянное пегилирование пептидов или белков для усиления их растворимости, сокращения иммуногенности и увеличения периода полураспада путем сокращения почечного очищения является хорошо известной концепцией с начала 1980-х годов (Caliceti P., Veronese F.M., *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2003, 55, 1261-1277). Оно успешно использовалось для нескольких препаратов, однако во многих случаях пегилирование сокращает эффективность лекарственного вещества до уровня, при котором данная концепция уже непригодна (T. Peleg-Shulman et al., *J. Med. Chem.*, 2004, 47, 4897-4904).

Подходящей альтернативой являются пролекарства с полимерной основой. Текущие определения пролекарств, данные ИЮПАК, представляют собой следующие термины (Международный союз теоретической и прикладной химии и Международный биохимический союз: глоссарий терминов, используемых в медицинской химии (Рекомендации 1998); в *Pure & Appl. Chem.*, т. 70, № 5, 1998, с. 1129-1143).

Пролекарство.

Пролекарство это любое соединение, которое проходит биотрансформацию перед проявлением своего фармакологического действия. Таким образом, пролекарства могут рассматриваться как препараты, содержащие специализированные нетоксичные защитные группы, которые используются неустойчивым образом для изменения или удаления нежелательных качеств в исходной молекуле.

Пролекарства, связанные с носителем (пролекарство с носителем).

Пролекарство, связанное с носителем, это пролекарство, содержащее временную связь данного активного вещества с временной группой-носителем, которая способствует улучшению физико-химических или фармакокинетических свойств и которая может быть легко удалена *in vivo* обычно путем гидролитического расщепления.

Каскадное пролекарство.

Каскадное пролекарство - это пролекарство, в котором расщепление группы-носителя становится эффективным только после выявления группы активации.

Существует несколько примеров пролекарств носителей с PEG-основой, большинство из них нуждается в энзимной активации линкера между активным лекарством и носителем, которая, главным образом, вызывается ферментативным гидролизом. Так как эфиры расщепляются в организме легко и непредсказуемо, линкеры прямых эфиров для пролекарства с носителем имеют ограничения применимости (J. Rautio et al., *Nature Reviews Drug discovery*, 2008, 7, 255-270).

Общепотребительным альтернативным подходом являются каскадные линкеры, прикрепленные к функциональности аминов в пептиде или белке. Являясь фактором, ограничивающим скорость реакции в каскаде, маскирующая группа должна быть удалена в каскадных линкерах. Это активирует разложение линкера во второй позиции для высвобождения пептида или белка. Как правило, маскирующая группа может быть удалена с помощью энзимного механизма (R.B. Greenwald et al. в WO2002/089789, Greenwald, et al., *J. Med. Chem.* 1999, 42, 3657-3667, F.M.H. DeGroot et al. в WO2002/083180 и WO2004/043493 и D. Shabat et al. в WO2004/019993).

Альтернативной концепцией, не опирающейся на энзимную активацию, является концепция U. Hersel et al. в WO2005/099768. В их подходе маскирующая группа на феноле удаляется способом, зависящим только от pH при атаке внутренним нуклеофилом. Это активирует линкер на дальнейший распад.

Как указано U. Hersel et al. в WO2005/099768, "Недостатком указанной выше пролекарственной системы, описанной Greenwald, DeGroot и Shabat, является высвобождение побочных продуктов потенциально токсичной ароматической маленькой молекулы, такой как хинонметиды, после разрыва временной связи. Потенциально токсичные вещества высвобождаются 1:1 при стехиометрии с лекарством и могут иметь в организме высокую концентрацию". Та же проблема также имеет место в системе Hersel et al.

Существует множество пролекарственных подходов для маленьких органических молекул (J. Rautio et al., *Nature Reviews Drug discovery*, 2008, 7, 255-270). Подход, используемый U. Hersel et al. в качестве механизма высвобождения для их маскировочной группы, применялся как пролекарственный подход для фенольных групп маленьких молекул с конца 1980-х годов (W.S. Saari в EP 0296811 и W.S. Saari et al., *J. Med. Chem.* 1990, т. 33, № 1, с. 97-101).

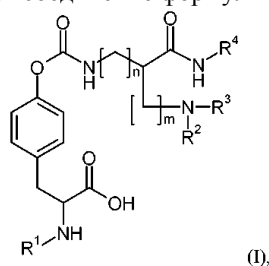
Альтернативная пролекарственная система на основе амина основана на медленном гидролизе бис-

гидроксиэтил глицина как каскадного пролекарства. Гидроксигруппы бис-гидроксиэтил глицина скрываются эфирами, подверженными гидролизу эстеразой (R. Greenwald et al., J. Med. Chem. 2004, 47, 726-734 и D. Vetter et al. в WO 2006/136586).

По сравнению с перечисленными выше пролекарственными подходами, основанными на маскировке функциональности амина, настоящее изобретение основано на маскировке фенольной группы тирозина в пептидах и белках. Используется пролекарство, связанное носителем, которое основано на внутреннем расщеплении карбамата с помощью нуклеофила в данной фенольной группе. Ключевым преимуществом по сравнению с другими указанными выше пролекарственными классами является токсикологическая безопасность продукта распада линкера, цикломочевина, прикрепленная к носителю. Кроме того, распад пролекарства не зависит от энзимных механизмов, которые могут вызывать большую вариабельность кинетики распада у разных пациентов. Механизм распада полностью зависит от pH, так как внутренний амин, протонированный при кислотном pH, активируется при более высоком (нейтральном) pH для действия в качестве фенольного карбамата на основе тирозина.

В контексте настоящего изобретения описано соединение, которое охватывает тирозиновые молекулярные единицы с аминокислотной основой, которые обеспечивают создание указанных линкерных пролекарств носителя любого пептида или белка, содержащего по меньшей мере один тирозин.

Настоящее изобретение обеспечивает соединение формулы



в которой n представляет собой число 0, 1, 2, или 3;

m представляет собой число 0, 1, 2, или 3;

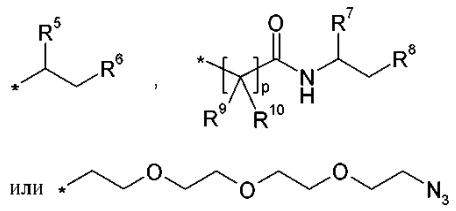
где m и n вместе представляют собой число 1, 2, 3 или 4;

R^1 представляет собой трет-бутилоксикарбонил или (9H-флуорен-9-илметокси)карбонил;

R^2 представляет собой трет-бутилоксикарбонил;

R^3 представляет собой водород, метил, этил, *n*-пропил, изопропил или бензил;

R^4 представляет собой группу формулы



где * обозначает точку присоединения к азоту;

p представляет собой число 1, 2, 3, 4 или 5;

R^5 представляет собой водород, аминокарбонил, фениламинокарбонил или $-(C=O)NHCH_2(C=O)NH_2$;

R^6 представляет собой $-S$ -третил;

R^7 представляет собой водород или аминокарбонил;

R^8 представляет собой $-S$ -третил;

R^9 представляет собой водород;

R^{10} представляет собой водород;

или его физиологически допустимую соль.

Предпочтение также отдается соединению формулы (I), в которой

n представляет собой число 2 или 3;

m представляет собой число 0 или

n представляет собой число 0;

m представляет собой число 2 или 3 или

n представляет собой число 0;

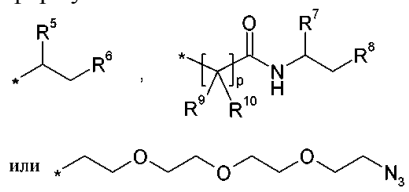
m представляет собой число 1;

R^1 представляет собой трет-бутилоксикарбонил или (9H-флуорен-9-илметокси)карбонил;

R^2 представляет собой трет-бутилоксикарбонил;

R^3 представляет собой водород, метил, этил, *n*-пропил, изопропил или бензил;

R⁴ представляет собой группу формулы



где * обозначает точку присоединения к азоту;

p представляет собой число 1, 2, 3, 4 или 5;

R⁵ представляет собой водород, аминокарбонил, фениламинокарбонил или $-(C=O)NHCH_2(C=O)NH_2$;

R⁶ представляет собой -S-третил;

R⁷ представляет собой водород или аминокарбонил;

R⁸ представляет собой -S-третил;

R⁹ представляет собой водород;

R¹⁰ представляет собой водород.

В зависимости от их структуры, соединения, согласно данному изобретению, могут существовать в стереоизомерных формах (энантиомеры, диастереомеры). Таким образом, изобретение включает энантиомеры и диастереомеры, а также их определенные смеси. Стереоизомерные однородные элементы могут быть изолированы известным способом от таких смесей энантиомеров и/или диастереомеров.

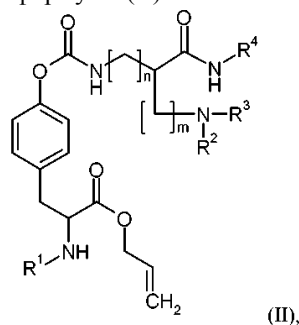
Когда соединение согласно данному изобретению может принимать таутомерные формы, настоящее изобретение включает все таутомерные формы.

В контексте настоящего изобретения предпочтительными солями являются физиологически допустимые соли соединений согласно данному изобретению. Также сюда входят соли, которые сами по себе не пригодны для фармацевтического использования, но которые могут использоваться, например, для выделения или очистки соединений по настоящему изобретению.

Физиологически допустимые соли соединения по настоящему изобретению включают кислотнo-аддитивные соли минеральных кислот, карбоновых кислот и сульфоновых кислот, например соли соляной кислоты, бромисто-водородной кислоты, серной кислоты, фосфорной кислоты, метансульфоновой кислоты, этансульфоновой кислоты, толуолсульфоновой кислоты, бензолсульфоновой кислоты, нафталиндисульфоновой кислоты, уксусной кислоты, трифторуксусной кислоты, пропионовой кислоты, молочной кислоты, винной кислоты, яблочной кислоты, лимонной кислоты, fumarовой кислоты, maleиновой кислоты и бензойной кислоты.

Физиологически допустимы соли соединения по настоящему изобретению также включают соли обычных баз, например, и предпочтительно соли щелочных металлов (например, натриевые и калиевые соли), соли щелочноземельных металлов (например, кальциевые и магниевые соли), а также соли аммония, полученные из аммония или органических аминов, с от 1 до 16 атомов углерода, например, предпочтительно с этиламино, диэтиламино, триэтиламино, этилдиизопропиламино, моноэтаноламином, диэтаноламином, триэтаноламином, дициклогексиламино, диметиламиноэтанолом, прокаинам, дибензиламино, N-метилморфолином, аргинином, лизином, этилендиамином и N-метилпиперидином.

Изобретение далее предусматривает способ получения соединения формулы (I) или его физиологически допустимой соли, где соединения формулы (II)



в которой n, m, R¹, R², R³ и R⁴, каждый, имеют значения, как определено выше, вступают в реакцию с источником палладия(0) и восстанавливающим агентом.

Реакция обычно осуществляется в инертных растворителях, при необходимости, при наличии слабого основания предпочтительно при температуре от 0 до 50°C при нормальном давлении.

К инертным растворителям относятся, например, галогенуглеводороды, такие как дихлорметан, трихлорметан или 1,2-дихлорэтан, эфиры, такие как диоксан, тетрагидрофуран или 1,2-диметоксизтан, либо другие растворители, такие как ацетон, диметилформамид, диметилацетамид, 2-бутанон или ацетонитрил. Также возможно использование смесей растворителей. Предпочтение отдается тетрагидрофурану.

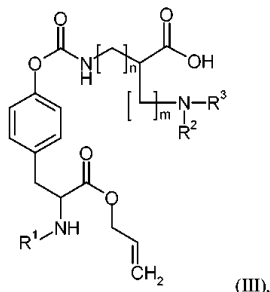
Источниками палладия(0) являются, например, тетракис(трифенилфосфин)палладий(0), трис-

(дибензилиденацетон)дипалладий(0), либо источники палладия(II), которые в реакционной смеси уменьшаются до палладия(0) во время реакции, предпочтение отдается тетра-кис(трифенилфосфин)палладию(0).

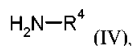
К восстанавливающим агентам относятся, например, муравьиная кислота или триэтилсилан, предпочтение отдается муравьиной кислоте.

Основания включают, например, триэтиламин, N,N-диизопропилэтиламин или раствор фосфата калия, предпочтение отдается триэтилмину.

Соединение формулы (II) известно либо может быть получено путем реагирования формулы (III)



в которой n, m, R¹, R² и R³, каждый, имеют значения, как определено выше, с соединениями формулы (IV)



где R⁴ имеет значения, как определено выше.

Реакцию обычно осуществляют в инертных растворителях при наличии дегидратирующего реагента, при необходимости, при наличии основания предпочтительно при температуре от комнатной температуры до 70°C при нормальном давлении.

К инертным растворителям относятся, например, галогенуглеводороды, такие как дихлорметан, трихлорметан или 1,2-дихлорэтан, эфиры, такие как диоксан, тетрагидрофуран или 1,2-диметоксиэтан, либо другие растворители, такие как ацетон, диметилформамид, диметилацетамид, 2-бутанон или ацетонитрил. Также возможно использование смесей растворителей. Предпочтение отдается дихлорметану.

В данном контексте подходящими дегидратирующими реагентами являются, например, карбодии-миды, например N'-диэтил-, N'-дипропил-, N,N'-диизопропил-, N,N'-дициклогексилкарбодии-мид, N-(3-диметиламиноизопропил)-N'-этилкарбодии-мид гидрохлорид (EDC), N-циклогексилкарбодии-мид-N'-пропилоксиметилполистирен (PS-карбодии-мид), либо соединения карбонила, такие как карбонилдии-мидазол, или 1,2-соединения оксазолиума, такие как 2-этил-5-фенил-1,2-оксазолиум 3-сульфат или 2-трет-бутил-5-метилизоксазолиум перхлорат, либо соединения ациламино, такие как 2-этокси-1-этоксикарбонил-1,2-дигидрохинолин, либо пропанфосфоновый ангидрид, либо изобутил хлорформат, либо бис-(2-оксо-3-оксазолидинил)фосфорил хлорид или бензотриазолилокситри(диметиламино)фосфонит гексафторфосфат, либо O-(бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилуруний гексафторфосфат (НВТУ), бензотриазол-1-ил-N-тетраметил-уруний тетрафторборат (ТВТУ), 2-(2-оксо-1-(2H)-пиридил)-1,1,3,3-тетраметилуруний тетрафторборат (ТРТУ) или O-(7-азабензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилуруний гексафторфосфат (НАТУ), или 1-гидроксibenзотриазол (НОВt), или бензотриазол-1-илокси-трис-(диметиламино)фосфонит гексафторфосфат (ВОР), либо бензотриазол-1-илокси-трис-(пирролидино)фосфонит гексафторфосфат (РУВОР), либо N-гидроксисукцинимид, либо смеси данных оснований.

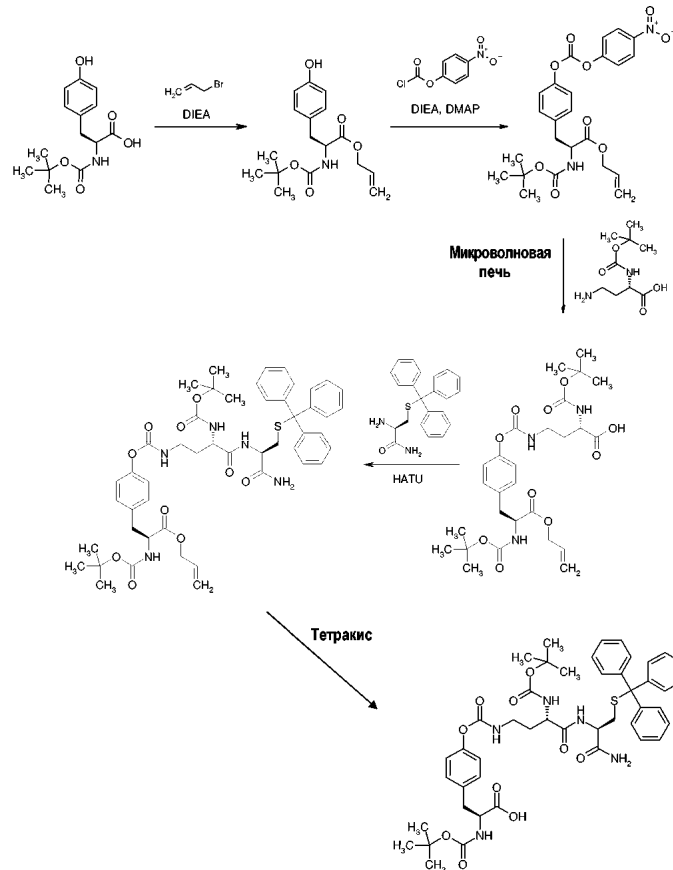
Основы включают, например, карбонаты щелочных металлов, например карбонат натрия или карбонат калия, либо гидрокарбонат натрия или гидрокарбонат калия, либо органические основы, такие как триалкиламины, например триэтиламин, N-метилморфолин, N-метилпиперидин, 4-диметиламинопиридин или N,N-диизопропилэтиламин, предпочтение отдается N,N-диизопропилэтилмину.

Предпочтительно конденсацию проводят с НАТУ при наличии N,N-диизопропилэтиламина.

Соединения формулы (III) и (IV) известны, либо могут быть синтезированы с помощью известных способов из соответствующих исходных соединений.

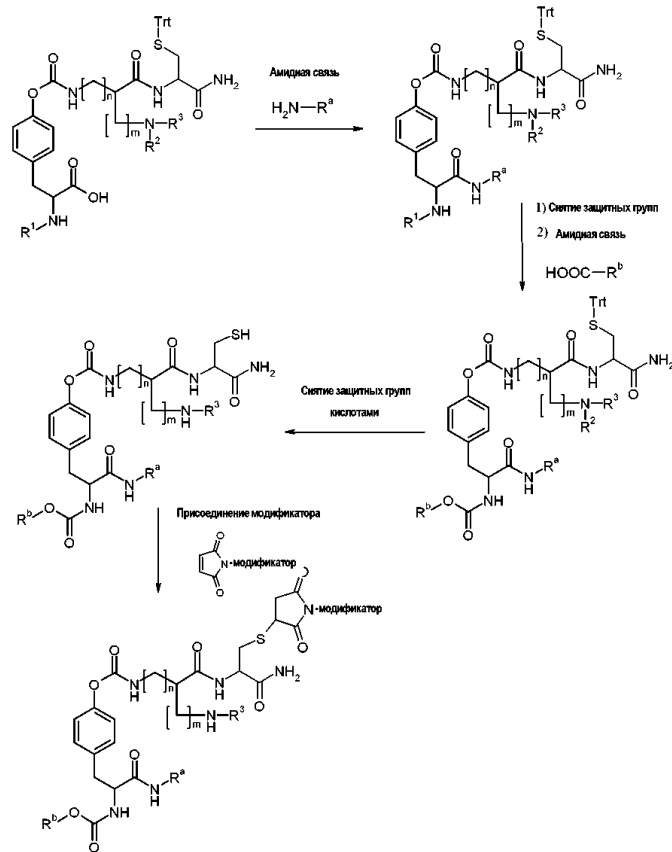
Получение соединений по настоящему изобретению может иллюстрироваться следующей схемой синтеза.

Схема 1



Соединение согласно данному изобретению может использоваться в качестве свободного соединения пептидов или белков с другими молекулярными единицами, например полиэтиленгликоль или другие модификаторы, для образования пролекарства указанных пептидов или белков. Активным компонентом данных производных тирозина является карбамат между фенольной ОН-группой тирозина в пептиде или белке и одной функциональностью амина диаминокислоты. Второй амин диаминокислоты протонируется в кислотных условиях. Однако в нейтральных или общих условиях он действует как нуклеофил, атакуя карбамат. Это приводит к образованию цикломочевины и высвобождению немодифицированного тирозина. Кислотная функциональность диаминокислоты используется в качестве точки крепления для модификатора. Для прикрепления модификатора к данной функциональности предусмотрено много различных подходов. Общая методология для присоединения модификаторов, таких как полиэтиленгликоль, к пептиду относится к реагированию РЕГ-малеимидов с остатками цистеина или других тиолов. Таким образом, непосредственным способом достижения желаемой цели является присоединение остатка цистеина посредством его аминной функциональности к карбоксильной группе диаминокислоты. Карбоксильным конечным участком цистеина может быть, например, первичный амид, однако возможны и многие другие модификации конечного участка С. Между диаминокислотой и цистеином, либо любой другой функциональностью тиола предусмотрено большое количество подходящих спейсерных групп, не требующих изменения характера соединения, так как весь молекулярный конструктор остается между цикломочевинной, образованной из диаминокислоты на одном конце и модификатором на другом. Высвобождение пептида или белка не меняется каким бы то ни было образом. Возможности присоединения модификатора к линкеру не ограничиваются реакцией функциональности тиола с малеимидом. Равнозначно использоваться могут и другие хорошо известные методы соединения модификаторов, таких как РЕГ, с тиолом. Альтернативными вариантами являются и многие другие методы свободного соединения, такие как "клик"-химия или простые образования амидной связи с аминным функционализированным модификатором. На схеме 2 показан пример соединения модификатора с пептидом, включающего аминокислотное производное на основе тирозина.

Схема 2



Пептиды или белки высвобождаются из пролекарства зависимым от pH способом. Пролекарства стабильны вокруг pH, однако высвобождают активное лекарство при физиологическом значении pH. После высвобождения пептида или белка из пролекарства, все оставшееся в пептиде или белке является немодифицированным тирозином на предыдущей точке крепления линкера. Таким образом, все пептиды или белки, содержащие, по меньшей мере, тирозин, потенциально пригодны для подобной модификации.

Зависящее от pH расщепление пролекарства для высвобождения пептида или белка помогает разработать контролируемую деградацию такого пролекарства с предсказуемой лекарственной кинетикой.

Соединения согласно данному изобретению могут объединяться в пептиде или белке согласно раствору и протоколам твердофазного пептидного синтеза.

Подходящие белки и пептиды, содержащие по меньшей мере одну тирозиновую аминокислоту, включают, помимо прочего, аденозиндеаминазу, адипонектин, аденокортикотропный гормон (АКТГ), аденомедуллин (АДМ), агалзидазу, альбумин, альфа-1 ингибитор протеиназы (API), альфа-1 антитрипсин b (ААТ), альтеплазу, анкрод серии, ангиотензин, ангиотензиногенангиотензин, анистерплаз, антимюллеровский гормон, антитромбин III, антитрипсины, апротинин, аспарагиназы, атриопептин, бифалин, брадикинин, кальцитонин, холецистокинин, хорионический гонадотропин, хориомаммотропин, коллагеназу, кортиколиберин, кортикотропин, ДНКазу, эндорфины, энкефалины, эноксацин, эритропоэтины, фактор II, фактор Па, фактор IX, фактор IXa, фактор VII, фактор VIIa, фактор VIII, фактор VIIIa, фактор X, фактор Xa, фактор XI, фактор XIa, фибринолизин, фибринолизин, фоллиберин, фолликулостимулирующий гормон, фоллитропин, Fsh, галактозидазу, гастрин, грелин, глюкагон, глюкагоноподобные пептиды, такие как (GLP-1), глюкоцереброзидаза, глумитоцин f, гонадолиберин c, гонадотропин, гонадотропин-высвобождающий гормон, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF), гранулоцитарно-моноцитарный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), факторы роста, гормон, высвобождающий гормон роста, гормоны роста, гемоглобины, вакцины от гепатита B, гирудин, хорионический гонадотропин человека, плацентарный лактоген человека, гиалуронидаза, идарубицин, идуронидаза, иммунные глобулины, вакцина против гриппа, ингибин, инсулины, интерфероны, интерлейкины, изотонин g, каллидин, фактор роста кератиноцита (KGF), лактаза, лептин, лейпролид, левотироксин, липотропин, лизиноприл, лулиберин, лутеинизирующий гормон, лютропин, меланоцитостимулирующий гормон, меланолиберин, меланостатин, меланотропин, натрийуретический пептид, орексин, орткотропин-высвобождающий гормон, окситоцин, панкрелипаза, панкреозимин, папаин, паратириодный гормон, пепсин, фосфолипаза-активирующий белок (PLAP), фактор активации тромбоцитов ацетилгидролаза (PAF-AH), проингиотензин, пролактин, пролактолиберин, пролактостатин, протеаза, белок C, релаксин, секретин, сеннерелин, соматолиберин, соматомедин, соматропины, стрептокиназа, сахараза, пероксид-

дисмутаза (SOD), тромбопоэтин, тимопоэтин, тимозин, тиреостимулирующий гормон, тиролиберин, тиротропин, тиротропин-высвобождающий гормон, тилактаза, тканевой активатор плазминогена (tPA), фактор некроза опухоли (TNF), уратоксидаза, урогонадотропин k, урокиназа, вакцины, вазопрессин, вазотоцин, α -1 а антитрипсин. Сюда также относятся мутантные версии указанных выше пептидов или белков, либо всех других белков, полученных с помощью рекомбинантных методов, например антитела, фрагменты антител, одноцепные связывающие белки и слитные белки. Сюда также включаются любые синтетические пептиды или белки с биологической активностью.

Соединение по настоящему изобретению подходит для производства пролекарств, подходящих для лечения и/или предупреждения заболеваний людей и животных.

Соединение по настоящему изобретению подходит для производства определенного адреномедулина (АДМ), высвобождающего пролекарства.

Настоящее изобретение также относится к применению соединения по настоящему изобретению для получения пролекарств для лечения и/или предупреждения заболеваний.

Для целей настоящего изобретения термин "лечение" включает приостановку течения заболевания, расстройства, патологического состояния, препятствование заболеванию, улучшение состояния больного, купирование, или ремиссию заболевания, расстройства, патологического состояния, приостановление их развития или прогрессирования, и/или уменьшение их симптомов. Термин "предупреждение" или "предупредить" включает уменьшение риска заболевания, расстройства или патологического состояния, их развития или прогрессирования и/или их симптомов или заражения таким заболеванием. Термин "предупреждение" включает профилактику. Лечение или предупреждение заболевания, расстройства или патологического состояния могут быть полными или частичными.

На основе их фармакологических свойств, пролекарства, произведенные с соединениями по настоящему изобретению, могут использоваться для лечения и/или профилактики сердечно-сосудистых заболеваний, в частности хронической и острой сердечной недостаточности, диастолической и систолической (застойной) сердечной недостаточности, острой декомпенсированной сердечной недостаточности, сердечной недостаточности, коронарной болезни сердца, стенокардии, инфаркта миокарда, ишемически-реперфузионного повреждения, ишемического и геморрагического инсульта, артериосклероза, атеросклероза, гипертонии, злокачественной гипертонии, симптоматической гипертонии, реноваскулярной гипертонии, а также вторичной гипертонии нарушения функции почек или эндокринных нарушений, гипертензивной кардиопатии, гипертензивной почечной недостаточности, вторичной легочной гипертонии, легочной гипертонии после эмболии легких с и без острого легочного сердца, первичной легочной гипертонии, а также окклюзионной болезни периферических артерий.

Пролекарства, произведенные с соединением по настоящему изобретению, также подходят для лечения и/или предупреждения водянки беременных [вызванной беременностью] и протеинурии с или без гипертонии (преэклампсия).

Пролекарства, произведенные с соединением по настоящему изобретению, подходят для лечения и/или профилактики легочных заболеваний, таких как хроническое обструктивное заболевание легких, астма, острый и хронический отек легких, аллергический альвеолит и пневмония, вызванная вдыханием органической пыли и частиц грибов, актиномикозного или другого происхождения, острый химический бронхит, острый и хронический химический отек легких (например, после вдыхания фосгена, оксида азота), нейрогенный отек легких, острые и хронические легочные проявления, вызванные радиацией, острые и хронические промежуточные заболевания легких (такие как, помимо прочего, вызванные лекарственным действием заболевания легких, например, на фоне лечения блеомицином), острое повреждение легких/синдром острой дыхательной недостаточности (ALI/ARDS) у взрослых и детей, включая новорожденных, ALI/ARDS на фоне пневмонии и сепсиса, аспирационная пневмония и ALI/ARDS на фоне аспирации (например, помимо прочего, аспирационная пневмония, вызванная рвотой), ALI/ARDS на фоне вдыхания сигаретного дыма, синдром острого посттрансфузионного повреждения легких (СОППЛ), ALI/ARDS или острая легочная недостаточность после операции, травмы или ожогов, вентиляторное повреждение легких (VILI), повреждение легких вследствие мекониевой аспирации, фиброз легких, а также горная болезнь.

Пролекарства, произведенные с соединением по настоящему изобретению, подходят для лечения и/или профилактики хронической почечной недостаточности (стадии 1-5), почечной недостаточности, диабетической нефропатии, гипертензивной хронической почечной недостаточности, гломерулонефрита, быстро прогрессирующего и хронического нефритического синдрома, неспецифического нефротического синдрома, нефротического синдрома, наследственной нефропатии, острого и хронического тубулоинтерстициального нефрита, острого повреждения почек, острой почечной недостаточности, посттравматической почечной недостаточности, травматического и постпроцедурного повреждения почек, кардиоренального синдрома, а также защиты и функционального улучшения почек-трансплантантов.

Более того, пролекарства, произведенные с соединением по настоящему изобретению, также подходят для лечения и/или предупреждения сахарного диабета и его последующих симптомов, таких как диабетическая макро- и микроангиопатия, нефропатия и невропатия.

Пролекарства, произведенные с соединением согласно данному изобретению, могут, кроме того,

использоваться для лечения и/или профилактики таких расстройств центральной и периферической нервной системы, как вирусный и бактериальный менингит и энцефалит (например, опоясывающий энцефалит), повреждение головного мозга, первичная и вторичная [метастазы] злокачественная опухоль головного и спинного мозга, радикулит и полирадикулит, острый идиопатический полиневрит [острый (пост-инфекционный) полиневрит, синдром Миллера-Фишера], амиотрофический боковой склероз [прогрессивная атрофия остистой мышцы], болезнь Паркинсона, острая и хроническая полиневропатия, боль, отек головного мозга, болезнь Альцгеймера, дегенеративные заболевания нервной системы и демиелинизирующие заболевания центральной нервной системы, такие как, помимо прочего, множественный склероз.

Пролекарства, произведенные с соединением согласно данному изобретению, могут, кроме того, использоваться для лечения и/или профилактики портальной гипертензии и фиброза печени [цирроз] и его осложнений, таких как варикозное расширение вен пищевода, для лечения и/или профилактики плеврального выпота на фоне злокачественного развития или воспалений, а также для лечения и/или профилактики лимфедемы и отека на фоне варикоза.

Пролекарства, произведенные с соединением по настоящему изобретению, также подходят для лечения и/или предупреждения воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта, таких как воспаление кишечника, болезнь Крона, язвенный колит, а также токсические и сосудистые расстройства кишечника.

Пролекарства, произведенные с соединением по настоящему изобретению, также подходят для лечения и/или предупреждения сепсиса, септического шока, синдрома системной воспалительной реакции (SIRS) неинфекционного происхождения, геморрагического шока, сепсиса или SIRS с функциональной недостаточностью органов или полиорганной недостаточностью (MOF), травматического шока, токсического шока, анафилактического шока, уртикарии, укусов насекомых и связанной с ними аллергии, ангионевротического отека [ангионевротического отека, отека Квинке], острого ларингита и трахеита, а также острого обструктивного ларингита [крупы] и эпиглоттита.

Пролекарства, произведенные с соединением по настоящему изобретению, также подходят для лечения и/или предупреждения заболеваний ревматического типа и других форм заболеваний, считающихся аутоиммунными заболеваниями, например, помимо прочего, полиартрит, эритематозная волчанка, склеродерма, геморрагическая сыпь и васкулит.

Пролекарства, произведенные с соединениями по настоящему изобретению, кроме того, подходят для лечения глазной гипертензии (глаукомы), диабетической ретинопатии и макулярного отека.

Более того, пролекарства, произведенные с соединением по настоящему изобретению, также подходят для лечения и/или предупреждения ишемических состояний, связанных с операцией, и следующих за этим симптомов после хирургических вмешательств, в частности операций на сердце с использованием аппарата искусственного кровообращения (например, операция с отключением, имплантация сердечных клапанов), операций на сонной артерии, аорте, а также операций с разрезами или проникновением в свод черепа.

Пролекарства, произведенные с соединением, также подходят для общего лечения и/или предупреждения в случае хирургических вмешательств с целью ускорения заживления ран и сокращения периода восстановления. Они также подходят для содействия заживлению ран.

Пролекарства, произведенные с соединением, также подходят для лечения и/или предупреждения нарушений костной плотности и структуры, таких как, помимо прочего, остеопороз, размягчение костей и нарушения костей, связанные с гиперпаратиреозом.

Пролекарства, произведенные с соединением, также подходят для лечения и/или предупреждения нарушения половой функции, в частности эректильной дисфункции у мужчин.

Предпочтительные пролекарства, произведенные с соединением, подходят для лечения и/или профилактики сердечной недостаточности, заболеваний сердечно-сосудистой системы, ишемического и/или геморрагического инсульта, гипертензии, легочной гипертензии, окклюзионной болезни периферических артерий, предэклампсии, хронического обструктивного заболевания легких, астмы, острого и/или хронического отека легких, аллергического альвеолита и/или пневмонии, вызванной вдыханием органической пыли и частиц грибов, актиномикозного или другого происхождения, и/или острого химического бронхита, острого и/или хронического химического отека легких, нейрогенного отека легких, острых и/или хронических легочных проявлений, вызванных радиацией, острых и/или хронических промежуточных заболеваний легких, острого повреждения легких/синдрома острой дыхательной недостаточности (ALI/ARDS) у взрослых и детей, включая новорожденных, ALI/ARDS фоне пневмонии и сепсиса, аспирационная пневмония и ALI/ARDS на фоне аспирации, ALI/ARDS на фоне вдыхания сигаретного дыма, синдрома острого посттрансфузионного повреждения легких (СОППЛ), ALI/ARDS и/или острая легочная недостаточность после операции, травм и/или ожогов, и/или вентиляторного повреждения легких (VILI), повреждение легких вследствие мекониевой аспирации, фиброза легких, горной болезни, хронической почечной недостаточности, гломерулонефрита, острого повреждения почек, кардиоренального синдрома, лимфедемы, воспаления кишечника, сепсиса, септического шока, синдрома системной воспалительной реакции (SIRS) неинфекционного происхождения, анафилактического шока и/или уртикарной

сыпи.

Таким образом, настоящее изобретение также касается применения пролекарств, произведенных с соединением по настоящему изобретению для лечения и/или предупреждения заболеваний, в частности вышеуказанных заболеваний.

Таким образом, настоящее изобретение также касается применения пролекарств, произведенных с соединением по настоящему изобретению для лечения и/или предупреждения заболеваний, в частности вышеуказанных заболеваний.

Таким образом, настоящее изобретение также касается способа лечения и/или профилактики расстройств, в частности расстройств, указанных выше, с использованием активного количества пролекарств, произведенных с соединением по настоящему изобретению.

Таким образом, настоящее изобретение также предоставляет медикаменты, включающие пролекарства, произведенные с соединением по настоящему изобретению, для лечения и/или предупреждения указанных выше заболеваний.

Примерами и предпочтительными комбинациями активных фармацевтических ингредиентов являются ингибиторы АПФ, антагонисты рецепторов ангиотензина, антагонисты рецепторов бета-2, ингибиторы фосфодиэстеразы, глюкокортикоидные рецепторы, диуретики, либо рекомбинантный ангиотензин, преобразующий энзим-2 или ацетилсалициловую кислоту (аспирин).

В предпочтительном варианте осуществления изобретения пролекарства, произведенные с соединением, согласно данному изобретению, вводятся в сочетании с ингибитором АПФ, таким как, например и предпочтительно, эналаприл, хинаприл, каптоприл, лизиноприл, рамиприл, делаприл, фозиноприл, периндоприл, цилазаприл, имидаприл, беназеприл, моэксиприл, спираприл или трандоприл.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения пролекарства, произведенные с соединением, согласно данному изобретению, вводятся в сочетании с антагонистом рецепторов ангиотензина, таким как, например и предпочтительно, лосартан, кандесартан, валсартан, телмисартан или эмбусартан.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения пролекарства, произведенные с соединением, согласно данному изобретению, вводятся в сочетании с антагонистом рецепторов бета-2, таким как, например и предпочтительно, сальбутамол, пирбутерол, сальметерол, тербуталин, фенотерол, тулобутерол, кленбутерол, репротерол или формотерол.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения пролекарства, произведенные с соединением, согласно данному изобретению, вводятся в сочетании с ингибитором фосфодиэстеразы (PDE), таким как, например и предпочтительно, милринон, амринон, пимобендан, цилостазол, силденафил, варденафил или тадалафил.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения пролекарства, произведенные с соединением, согласно данному изобретению, вводятся в сочетании с глюкокортикоидным рецептором, таким как, например и предпочтительно, кортизол, кортизон, гидрокортизон, преднизон, метил-преднизон, преднизолон, дефлазакорт, флуорокортолон, триамицинолон, дексаметазон или бетаметазон.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения пролекарства, произведенные с соединением, согласно данному изобретению, вводятся в сочетании с диуретиком, таким как, например и предпочтительно, фуросемид, торасемид и гидрохлортиазид.

Настоящее изобретение относится к медикаментам, содержащим по меньшей мере одно пролекарство, полученное согласно данному изобретению, обычно вместе с одним или несколькими инертными, нетоксическими фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами, а также к применению таких составов для вышеуказанных целей.

Пролекарства, произведенные с соединением по настоящему изобретению, могут иметь системное и/или локальное действие. Для данных целей они могут применяться с использованием соответствующих способов введения препаратов, например парентерально, пульмонально, назально, сублингвально, лингвально, буккально, дермально, трансдермально, конъюнктивально, через глаза или в качестве имплантата или стента.

Пролекарства, произведенные с соединением по настоящему изобретению, могут вводиться в таких формах введения препарат, которые соответствуют этим способам введения.

Парентеральное введение может осуществляться без этапа всасывания (например, внутривенное введение, внутриартериальное введение, интракардиальное введение, интраспинальное введение или интралюмбальное введение) или может включать всасывание (например, внутримышечное, подкожное, внутрикожное, чрескожное или интраперитонеальное введение). Формами, пригодными для парентерального введения, являются препараты для инъекций и инфузий в форме растворов, суспензий, эмульсий, лиофилизатов или стерильных порошков.

Формы, пригодные для других путей введения, включают, например, фармацевтические формы для ингаляций (например, порошковые ингаляторы, небулайзеры), назальные капли, глазные капли или спреи, растворы или спреи, таблетки/капсула или водные суспензии (лосьоны, смеси для взбалтывания), липофильные суспензии, мази, кремы, трансдермальные терапевтические системы (например, пластыри), молочко, пастообразные составы, пены, пылевидные порошки, импланты или стенты.

Предпочтительно парентеральное введение, особенно внутривенное введение.

Пролекарства, произведенные с соединением по настоящему изобретению, могут быть преобразованы в указанные формы введения. Это может происходить способом, известным самим по себе, путем смешивания с инертными, не токсичными, фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами. Эти вспомогательные вещества включают носители (например, микрокристаллическую целлюлозу, лактозу, маннит), растворители (например, жидкий полиэтиленгликоль), эмульгаторы и дисперсанты, или увлажняющие реагенты (например, додецилсульфат натрия, полиоксисорбитан олеат), связующие вещества (например, поливинилпирролидон), синтетические и натуральные полимеры (например, альбумин), стабилизаторы (например, антиоксиданты, например, аскорбиновая кислота), красители (например, неорганические пигменты, например, оксиды железа), и вещества, исправляющие вкус и/или запах.

В принципе, было доказано, что для достижения эффективных результатов предпочтительно при парентеральном применении использовать дозы приблизительно 0,001-5 мг/кг массы тела, предпочтительно приблизительно 0,01-1 мг/кг массы тела.

Таким образом, в соответствующих случаях, необходимо регулировать дозу с отклонениями от указанных количеств, в частности, в зависимости от массы тела, пути введения препарата, индивидуальных особенностей реакции на активный ингредиент, характера препарата, и временного интервала, в течение которого происходит применение препарата. Таким образом, в некоторых случаях может быть достаточно использования количества меньше минимального количества, указанного выше, в то время как в других случаях, максимальный предел должен быть превышен. В случае, когда препарат вводится в больших количествах, рекомендуется разделять такие большие количества на несколько отдельных доз, принимаемых в течение всего дня.

Далее изобретение поясняется демонстрационным примером. Настоящее изобретение не ограничивается данными примерами.

В приведенных ниже тестах и примерах, если не указано иное, процентные соотношения приведены в соотношении по массе; доли также даны по массе. Отношения для растворителей, степень разбавления и концентрации, указанные для растворов жидкость/жидкость, основаны на объемном соотношении.

А. Примеры.

Сокращения.

AA - Аминокислота,

Acn - ацетамидометил,

около - приблизительно,

Woc - трет-бутоксилкарбонил,

CDI - карбонилдиимидазол,

d - день(дней), дуплет (в ЯМР),

TLC - тонкослойная хроматография,

DCI - прямая химическая ионизация (в масс-спектрометре),

dd - двойной дуплет дуплетов (в ЯМР),

DIEA - N,N-диизопропилэтиламин,

DMAP - 4-диметиламинопиридин,

DMF - N,N-диметилформамид,

DMSO - диметилсульфоксид,

от - от теоретического (с выходом) теоретического,

eq. - эквивалент(ы),

ESI - ионизация методом электрораспыления (в МС),

Fmoc - (9H-флуорен-9-илметокси)карбонил,

ч - час(ы),

HATU - O-(7-азабензотриазол-1-ил)-N,N,N',N''-тетраметилуроний гексафторфосфат,

HPLC - высокое давление, высокоэффективная жидкостная хроматография,

LC-MS - жидкостная хроматография с масс-спектрометрией,

m - мультиплет (в ЯМР),

мин - минута (минуты),

MS - масс-спектрометрия,

NMR - ядерная магнитно-резонансная спектроскопия,

RP - обратная фаза (в ВЭЖХ),

RT - комнатная температура,

Rt - время удержания (в ВЭЖХ),

s - синглет (в ЯМР),

TBTU - бензотриазол-1-ил-N-тетраметил-уроний тетрафторборат,

tBu - трет-бутил,

TFA - трифторуксусная кислота,

THF - тетрагидрофуран,

Trt - тритил.

Методы ЖХ-МС и МС.

Метод 1 (ЖХ-МС). Тип прибора: система воды Acquity SQD UPLC; колонка: система воды Acquity UPLC HSS T3 1.8 мк, 50×1 мм; мобильная фаза А: 1 л воды + 0.25 мл 99% муравьиной кислоты, мобильная фаза В: 1 л ацетонитрила + 0.25 мл 99% муравьиной кислоты; градиент: 0.0 мин 90% А → 1.2 мин 5% А → 2.0 мин 5% А; печь: 50°C; скорость потока: 0,40 мл/мин; УФ-детекция: 210-400 нм.

Метод 2 (ЖХ-МС). MS прибор: тип: Waters (Micromass) Quattro Micro; тип прибора ВЭЖХ: Agilent 1100 series; колонка: Thermo Hypersil GOLD 3 мк 20×4 мм; мобильная фаза А: 1 л воды + 0.5 мл 50% муравьиной кислоты, мобильная фаза В: 1 л ацетонитрила + 0.5 мл 50% муравьиной кислоты; градиент: 0.0 мин 100% А → 3.0 мин 10% А → 4.0 мин 10% А; печь: 50°C; поток: 2.0 мл/мин; УФ-детекция: 210 нм.

Метод 3 (ВЭЖХ). Тип прибора: HP 1200 Series; UV DAD; колонка: Phenomenex Luna 5 мкм C5 100 Å, 150×4.6 мм; мобильная фаза А: 1 л воды + 0.5 мл 50% муравьиной кислоты, мобильная фаза В: 1 л ацетонитрила + 0.5 мл 50% муравьиной кислоты; градиент: 0.0 мин 95%А → 5 мин 5% А; → 5.8 мин 95% А → 6.2 мин 95% А; скорость потока: 2,5 мл/мин; печь: RT; УФ-детекция: 210 нм.

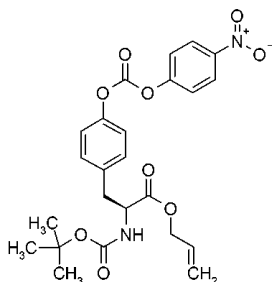
Метод 4 (ВЭЖХ). Тип прибора: HP 1200 Series; UV DAD; колонка: Merck Chromolith Fastgradient RP18 50×2 мм; мобильная фаза А: 1 л воды + 0.5 мл 50% муравьиной кислоты, мобильная фаза В: 1 л ацетонитрила + 0.5 мл 50% муравьиной кислоты; градиент: 0.0 мин 95%А → 2.9 мин 5% А → 3.2 мин 5% А; скорость потока: 3 мл/мин; печь: RT; УФ-детекция: 210 нм.

Микроволновая печь синтезатор: синтезатор Biotage Emrys Initiator II с переменным размером сосуда до 20 мл реакционного объема и автоматическое устройство для обработки препаратов "Robot 60".

Цитратный буфер pH 4: Fluka No 82566; Нитратный буфер pH 4, стабилизированный композицией азид натрия: лимонная кислота, ~0.056 М; азид натрия, ~0.05%; хлорид натрия, ~0.044 М; гидроксид натрия, ~0.068 М.

Исходные соединения.

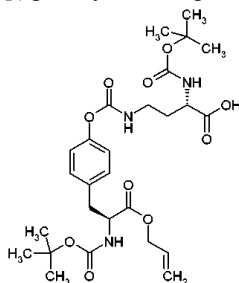
Пример 1А. Аллил-N-(трет-бутоксикарбонил)-O-[(4-нитрофенокси)карбонил]-L-тирозинат



36,7 г (114,3 ммоль) N-бок-L-тирозин аллиловый эфир, 23,0 г (114,3 ммоль) 4-нитрофенил хлороформат, 17,5 мл (125,7 ммоль) триэтиламин и 1,40 г (11,4 ммоль) 4-диметиламино пиридина объединили в 1000 мл дихлорметана и смешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь извлекали с приблизительно 500 мл воды и приблизительно 250 мл солевого раствора, затем сушили до приблизительно 100 г сульфата натрия. Растворитель удалили с помощью вращательного испарения (при 40°C, около 200 мбар, около 30 мин), а продукт растворили в теплом диэтиловом эфире и кристаллизовали за ночь при температуре 4°C. Кристаллы профильтровали, промыли холодным диэтиловым эфиром и высушили в высоком вакууме (около 0,1 мбар, 18 ч). Выход желаемого продукта составил 29,86 г, (59,6 ммоль, 52% теории).

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.23$ мин, $m/z = 487$ (M+H)⁺.

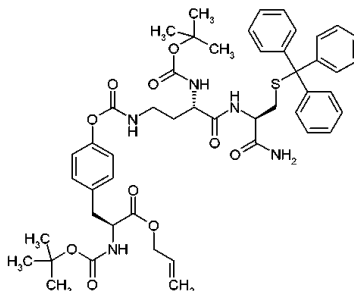
Пример 2А. (2S)-4-{[(4-((2S)-3-(Аллиокси)-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-3-оксипропил)фенокси)карбонил]амино}-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]бутановая кислота



4,0 г (8,22 ммоль) соединения из примера 1А растворили в 60 мл дихлорметана. Добавили 1,795 (8,22 ммоль) (2S)-4-амино-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]бутановой кислоты и 1,43 мл (8,22 ммоль) N,N-диизопропилэтиламина. Реакционную смесь разбили на 3 порции. Порции нагревали в течение 30 мин в запаянной трубке при 75°C в микроволновом синтезаторе. Из объединенной реакционной смеси удалили растворитель путем вращательного испарения (около 40°C, около 200 мбар, около 30 мин). Исходный продукт растворили в дихлорметане и хроматографировали при более около 600 мл силикагеля. Использовали такие растворители, как дихлорметан/этилацетат 4/1, дихлорметан/этилацетат 1/1, ди-

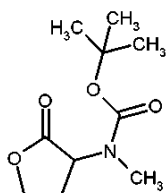
хлорметан/метанол 4/1 и дихлорметан/метанол 1/1. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высушивания в условиях пониженного давления. Получили 4,02 г (6,54 ммоль, 80% теории) желаемого продукта LC-MS (метод 1): $R_t = 1.07$ мин, $m/z = 564$ (M-H).

Пример 3А. Аллил О-((3S)-4-[[[(2R)-1-амино-1-оксо-3-(тримилсульфанил)пропан-2-ил]амино]-3-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-4-оксобутил]карбамоил)-N-(трет-бутоксикарбонил)-L-тирозинат



2,50 г (4,42 ммоль) соединения из примера 2А растворили в 100 мл дихлорметана. Добавили 1,602 (4,42 ммоль) S-тримил-L-цистеинамида, 0,77 мл (4,42 ммоль) N,N-диизопропилэтиламина и 1,68 г (4,42 ммоль) HATU. Реакционную смесь разделили на 5 порций. Порции нагревали в течение 30 мин в запаянной трубке при 60°C в микроволновом синтезаторе. Из объединенной реакционной смеси удалили растворитель путем вращательного испарения (около 40°C, около 200 мбар, около 30 мин). Исходный продукт растворили в дихлорметане и хроматографировали диизопропилэтил-амин при более около 600 мл силикагеля. Использовали такие растворители, как дихлорметан/этилацетат 2/1, дихлорметан/этилацетат 1/1, дихлорметан/метанол 20/1 и дихлорметан/метанол 10/1. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высушивания в условиях пониженного давления. Получили 4,12 г (3,30 ммоль, 75% теории, 75% чистоты) желаемого продукта LC-MS (метод 1): $R_t = 1.36$ мин, $m/z = 911$ (M+H)⁺.

Пример 4А. трет-Бутил-метил(2-оксотетрагидрофуран-3-ил)карбамат

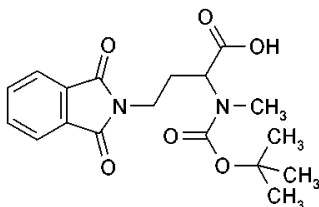


Соединения синтезировали согласно Alberico, Dino; Paquin, Jean-Francois; Lautens, Mark; Tetrahedron, 2005, сб. 61, с. 6283-6297.

5,18 г (25,7 ммоль) трет-бутил(тетрагидро-2-оксо-3-фуранил)карбамат, 4,81 мл (77,2 ммоль) растворили в 100 мл сухого диметил формамида. Раствор охлаждали до 0°C и добавили 1,34 г (60% в минеральном масле, 33,5 ммоль) гидроксида натрия. Реакцию подогрели до комнатной температуры и помешивали в течение ночи. Реакционную смесь добавили в около 400 мл воды и извлекли три раза с около 300 мл этилацетата. Смешанные органические фазы осушили над натрий сульфатом и сконцентрировали до высыхания при пониженном давлении. Получили 8,70 г (25,7 ммоль, 100% теории, 75% чистоты) желаемого продукта.

Аналитические данные соответствовали данным, представленным в литературе. Этот продукт использовали на следующем этапе синтеза без дальнейшей очистки.

Пример 5А. 2-[(трет-Бутоксикарбонил)(метил)амино]-4-(1,3-диоксо-1,3-дигидро-2H-изоиндол-2-ил)бутановая кислота

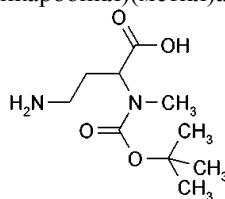


8,70 г (около 25 ммоль, около 63% чистоты) соединения из примера 4А растворили в 560 мл диметил формамида. Добавили 8,23 г (44,4 ммоль) калий офталимида и нагрели реакционную смесь до 150°C за 7 ч. Около 400 мл раствора удалили путем вращательного испарения (около 60°C, около 10 мбар, около 30 мин). Реакционную смесь влили в смесь около 100 мл воды, 200 г льда и 15 мл уксусной кислоты. После оттаивания, оставшийся лед реакционной смеси профильтровали, а фильтрат выделили три раза с около 100 мл дихлорметана. Смешанные органические фазы осушили над натрий сульфатом и сконцентрировали до высыхания при пониженном давлении. Исходный продукт растворили в дихлорметане и хроматографировали над около 70 мл силикагеля. Использовали такие растворители, как дихлорметан/этилацетат 9/1 до дихлорметан/этилацетат 6/4. Содержащие продукт частицы смешали и сконцен-

трировали до высыхания в условиях пониженного давления. Получили 2,39 г (6,04 ммоль, 24% теории) продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 0.92$ мин, $m/z = 363$ (M+H)⁺.

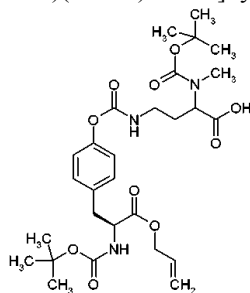
Пример 6А. 4-Амино-2-[(трет-бутоксикарбонил)(метил)амино]бутановая кислота



11,8 г (32,6 ммоль) соединения из примера 5А растворили в около 640 мл этанола и 23,8 мл (488 ммоль) гидрат гидразина добавили в реакционную смесь. После смешивания в течение ночи, реакционную смесь профильтровали, а фильтрат сконцентрировали до высыхания при пониженном давлении. Исходный продукт растворили в этаноле и добавили около 50 г силикагеля, а растворитель удалили при пониженном давлении. Полученное твердое вещество добавили в около 500 г силикагеля и хроматографировали. Использовали такие растворители, как дихлорметан/этилацетат 9/1 до дихлорметан/этилацетат 1/1. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высушивания в условиях пониженного давления. Получили 2,98 г (12,8 ммоль, 39% теории) продукта.

LC-MS (метод 2): $R_t = 0.21$ мин, $m/z = 233$ (M+H)⁺ DCI MS (метод 5): $m/z = 233$ (M+H)⁺.

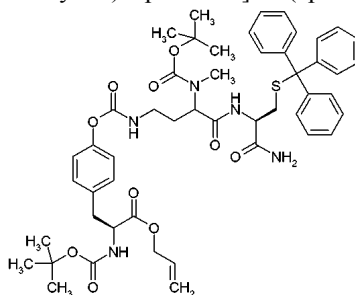
Пример 7А. 4-[(4-[(2S)-3-(Аллилокси)-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-3-оксопропил]феноксикарбонил)амино]-2-[(трет-бутоксикарбонил)(метил)амино]бутановая кислота



0,931 г (1,92 ммоль) соединения из примера 1А растворили в 30 мл дихлорметана. Добавили 0,455 г (1,92 ммоль) соединения из примера 6А. Реакционную смесь разделили на 2 порции. Порции нагревали в течение 30 мин в запаянной трубке при 80°C в микроволновом синтезаторе. Растворитель удалили из объединенной реакционной смеси при пониженном давлении. Исходный продукт очистили с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в колонке С18 с градиентом вода-метанол от 9/1 до 1/9. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высушивания в условиях пониженного давления. Получили 0,523 г (0,85 ммоль, 44% теории) желаемого продукта в качестве смеси 2 диастереомеров.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.08$ и 1.11 мин, $m/z = 578$ (M-H)⁻.

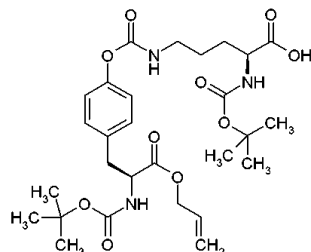
Пример 8А. Аллил-О-[(4-[(2R)-1-амино-1-оксо-3-(третилсульфанил)пропан-2-ил]амино]-3-[(трет-бутоксикарбонил)-(метил)амино]-4-оксобутил)карбамоил]-N-(трет-бутоксикарбонил)-L-тирозинат



2,24 г (3,86 ммоль) соединения из примера 7А растворили в 100 мл дихлорметана. Добавили 1,401 (3,86 ммоль) S-третил-L-цистеинамида, 0,67 мл (3,86 ммоль) N,N-диизопропилэтиламина и 1,47 г (3,86 ммоль) НАТУ. Реакционную смесь разделили на 5 порций. Порции нагревали в течение 30 мин в запаянной трубке при 60°C в микроволновом синтезаторе. Из объединенной реакционной смеси удалили растворитель путем вращательного испарения (около 40°C, около 200 мбар, около 30 мин). Исходный продукт очистили с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в колонке С18 с градиентом вода-метанол от 9/1 до 1/9. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высушивания в условиях пониженного давления. Получили 3,26 г (2,75 ммоль, 71% теории, 78% чистоты) желаемого продукта в качестве смеси диастереомеров.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.41$ и 1.43 мин, $m/z = 924$ (M+H)⁺.

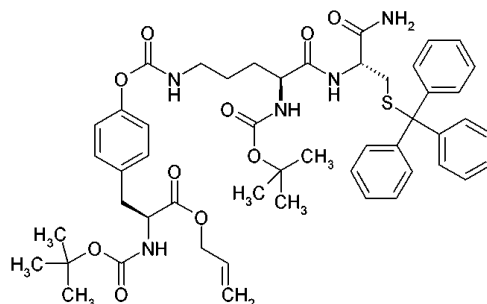
Пример 9А. N²-[(4-{(2S)-3-(Аллилокси)-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-3-оксопропил}феноксикарбонил)-N²-(трет-бутоксикарбонил)-L-орнитин



6,00 г (12,33 ммоль) соединения из примера 1А растворили в 120 мл дихлорметана. Добавили 2,57 г (12,33 ммоль) N²-(трет-бутоксикарбонил)-L-орнитина. Реакционную смесь разделили на 6 порций. Порции нагревали в течение 90 мин в запаянной трубке при 75°C в микроволновом синтезаторе. Комбинированную реакционную смесь извлекли с около 100 мл насыщенного раствора хлорида аммония. Водную фазу извлекли обратно два раза, каждую с около 30 мл дихлорметана. Смешанные органические фазы извлекли с около 50 мл солевого раствора и осушили над сульфатом натрия. Растворитель удалили при пониженном давлении. Исходный продукт растворили в дихлорметане и хроматографировали при более около 600 мл силикагеля. Использовали такие растворители, как дихлорметан, дихлорметан/метанол 40/1 до дихлорметан/метанол 1/1. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высыхания в условиях пониженного давления. Получили 2,63 г (4,06 ммоль, 33% теории, 75% чистоты) желаемого продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.03$ мин, $m/z = 578$ (M-H)⁻.

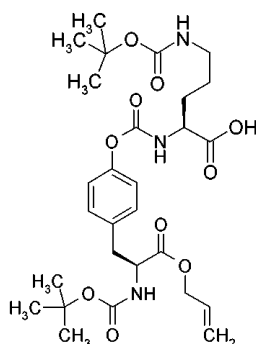
Пример 10А. N²-[(4-{(2S)-3-(Аллилокси)-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-3-оксопропил}феноксикарбонил)-N²-(трет-бутоксикарбонил)-L-орнитил-S-третил-L-цистеинамид



1,20 г (2,07 ммоль) соединения из примера 9А растворили в 48 мл дихлорметана. Добавили 0,750 г (2,07 ммоль) S-третил-L-цистеинамида, 0,36 мл (2,07 ммоль) N,N-диизопропилэтиламина и 0,787 г (2,07 ммоль) HATU. Реакционную смесь разбили на 3 порции. Порции нагревали в течение 30 мин в запаянной трубке при 60°C в микроволновом синтезаторе. Из объединенной реакционной смеси удалили растворитель путем вращательного испарения (около 40°C, около 200 мбар, около 30 мин). Исходный продукт растворили в дихлорметане и хроматографировали над около 400 мл силикагеля. Использовали такие растворители, как дихлорметан/этилацетат 2/1, дихлорметан/этилацетат 1/1. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высыхания в условиях пониженного давления. Получили 1,30 г (1,5 ммоль, 56% теории, 82% чистоты) желаемого продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.35$ мин, $m/z = 924$ (M+H)⁺.

Пример 11А. N²-[(4-{(2S)-3-(Аллилокси)-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-3-оксопропил}феноксикарбонил)-N⁵-(трет-бутоксикарбонил)орнитинорнитин

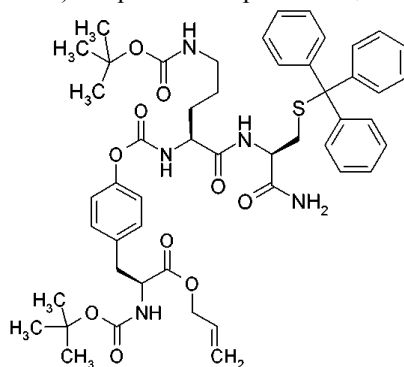


3,00 г (6,16 ммоль) соединения из примера 1А растворили в 60 мл дихлорметана. Добавили 1,43 г (6,16 ммоль) N-(трет-бутоксикарбонил)-L-орнитина. Реакционную смесь разбили на 3 порции. Порции

нагревали в течение 30 мин в запаянной трубке при 75°C в микроволновом синтезаторе. Комбинированную реакционную смесь извлекли с около 500 мл насыщенного раствора хлорида аммония. Водную фазу извлекли обратно два раза, каждую с около 30 мл дихлорметана. Смешанные органические фазы извлекли с около 50 мл солевого раствора и осушили над сульфатом натрия. Растворитель удалили при пониженном давлении. Исходный продукт растворили в дихлорметане и хроматографировали над около 500 мл силикагеля. Использовали такие растворители, как дихлорметан, дихлорметан/метанол 20/1 до дихлорметан/метанол 1/1. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высыхания в условиях пониженного давления. Получили 2,29 г (3,50 ммоль, 57% теории, 89% чистоты) желаемого продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.07$ мин, $m/z = 578$ (M-H)⁻.

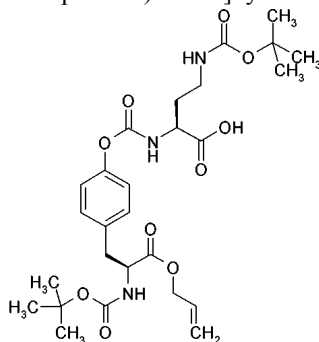
Пример 12А. N²-[(4-{(2S)-3-(Аллилокси)-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-3-оксопропил}феноксикарбонил)-N⁵-(трет-бутоксикарбонил)-L-орнитил-S-тритил-L-цистеинамид



1,50 г (2,59 ммоль) соединения из примера 11А растворили в 60 мл дихлорметана. Добавили 0,940 (2,59 ммоль) S-тритил-L-цистеинамида, 0,45 мл (2,60 ммоль) N,N-диизопропилэтиламина и 0,984 г (2,59 ммоль) HATU. Реакционную смесь разбили на 3 порции. Порции нагревали в течение 30 мин в запаянной трубке при 60°C в микроволновом синтезаторе. Из объединенной реакционной смеси удалили растворитель путем вращательного испарения (около 40°C, около 200 мбар, около 30 мин). Исходный продукт растворили в дихлорметане и хроматографировали над около 400 мл силикагеля. Использовали такие растворители, как дихлорметан/этилацетат 2/1, дихлорметан/этилацетат 1/1. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высыхания в условиях пониженного давления. Получили 1,72 г (1,64 ммоль, 63% теории, 88% чистоты) желаемого продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.35$ мин, $m/z = 924$ (M+H)⁺.

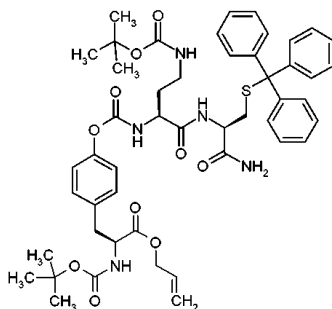
Пример 13А. (2S)-2-[[4-{(2S)-3-(Аллилокси)-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-3-оксопропил}феноксикарбонил]амино]-4-[(трет-бутоксикарбонил)амино]бутановая кислота



7,50 г (15,4 ммоль) соединения из примера 1А растворили в 150 мл дихлорметана. Добавили 3,36 г (15,4 ммоль) (2S)-2-амино-4-[(трет-бутоксикарбонил)амино]бутановой кислоты. Реакционную смесь разделили на 10 порций. Порции нагревали в течение 30 мин в запаянной трубке при 75°C в микроволновом синтезаторе. Комбинированную реакционную смесь извлекли с около 100 мл насыщенного раствора хлорида аммония. Водную фазу извлекли обратно два раза, каждую с около 50 мл дихлорметана. Смешанные органические фазы извлекли с около 50 мл солевого раствора и осушили над сульфатом натрия. Растворитель удалили при пониженном давлении. Исходный продукт растворили в дихлорметане и хроматографировали над около 1 мл силикагеля. Использовали такие растворители, как дихлорметан/этилацетат 4/1, дихлорметан/метанол 10/1 и дихлорметан/метанол 1/1. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высыхания в условиях пониженного давления. Получили 8,70 г (10,8 ммоль, 70% теории) желаемого продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.06$ мин, $m/z = 564$ (M-H)⁻.

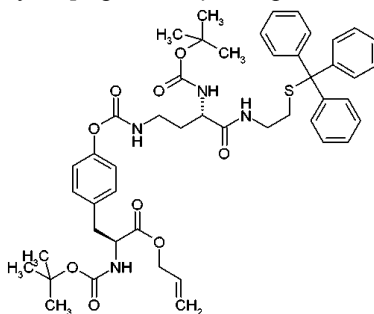
Пример 14А. Аллил-N-(трет-бутоксикарбонил)-O-{{(4R,7S)-4-карбамоил-13,13-диметил-6,11-диоксо-1,1,1-трифенил-12-окса-2-тиа-5,10-дiazатетрадекан-7-ил}карбамоил}-L-тирозинат



3,00 г (5,30 ммоль) соединения из примера 13А растворили в 120 мл дихлорметана. Добавили 1,92 (5,30 ммоль) S-третил-L-цистеинамида, 0,92 мл (5,30 ммоль) N,N-диизопропилэтиламина и 2,02 г (5,30 ммоль) НАТУ. Реакционную смесь разделили на 6 порций. Порции нагревали в течение 30 мин в запаянной трубке при 60°C в микроволновом синтезаторе. Из объединенной реакционной смеси удалили растворитель путем вращательного испарения (около 40°C, около 200 мбар, около 30 мин). Исходный продукт растворили в дихлорметане и хроматографировали над около 800 мл силикагеля. Использовали такие растворители, как дихлорметан/этилацетат 2/1, дихлорметан/этилацетат 1/1. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высухания в условиях пониженного давления. Получили 4,91 г (3,73 ммоль, 70% теории, 69% чистоты) желаемого продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.35$ мин, $m/z = 910$ (M+H)⁺.

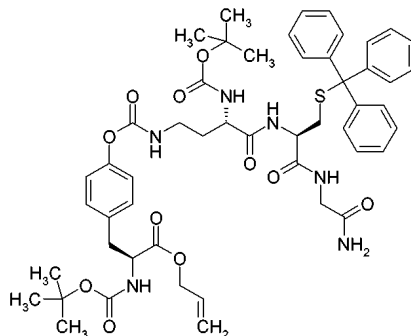
Пример 15А. Аллил-N-(трет-бутоксикарбонил)-O-{{(3S)-3-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-4-оксо-4-[[2-(третисульфанил)этил]амино}бутил}карбамоил}-L-тирозинат



351 г (0,63 ммоль) соединения из примера 2А растворили в 15 мл дихлорметана. Добавили 200 (0,63 ммоль) 2-(третисульфанил)этанамин, 0,11 мл (0,63 ммоль) N,N-диизопропилэтиламина и 238 мг (0,63 ммоль) НАТУ. Реакционная смесь нагревалась в течение 30 мин в запаянной трубке при 60°C в микроволновом синтезаторе. Растворитель удалили из реакционной смеси при пониженном давлении. Исходный продукт очистили с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в колонке С18 с градиентом вода-метанол от 9/1 до 1/9. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высушивания в условиях пониженного давления. Получили 98 г (0,110 ммоль, 16% теории) желаемого продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.45$ мин, $m/z = 867$ (M+H)⁺

Пример 16А. N-{{(2S)-4-[[4-{{(2S)-3-(аллилокси)-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-3-оксопропил}феноксикарбонил}амино]-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]бутаноил}-S-третил-L-цистеинилглицинамид

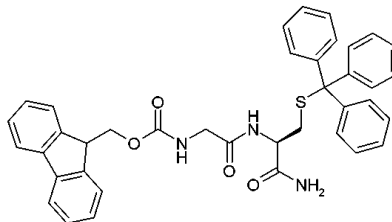


173 мг (0,63 ммоль) соединения из примера 2А растворили в 10 мл дихлорметана. Добавили 128 мг (0,31 ммоль) S-третил-L-цистеинилглицинамида, 53 мкл (0,31 ммоль) N,N-диизопропилэтиламина и 116 мг (0,31 ммоль) НАТУ. Реакционная смесь нагревалась в течение 30 мин в запаянной трубке при 60°C в микроволновом синтезаторе. Растворитель удалили из реакционной смеси при пониженном давлении.

Исходный продукт очистили с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в колонке C18 с градиентом вода-метанол от 9/1 до 1/9. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высушивания в условиях пониженного давления. Получили 57 г (0,02 ммоль, 18% теории) желаемого продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.31$ мин, $m/z = 968$ (M+H)⁺.

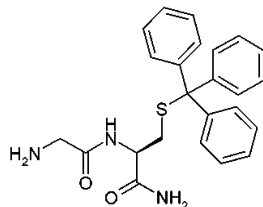
Пример 17A. N-[(9H-Флуорен-9-илметокси)карбонил]глицил-S-тритил-L-цистеинамид



1,00 г (3,36 ммоль) N-[(9H-флуорен-9-илметокси)карбонил]глицина растворили в 30 мл дихлорметана. Добавили 1,41 г (3,36 ммоль) S-тритил-L-цистеинамида, 0,59 мл (3,36 ммоль) N,N-диизопропилэтиламина и 1,28 г (3,36 ммоль) HATU. Реакционная смесь нагревалась в течение 30 мин в запаянной трубке при 60°C в микроволновом синтезаторе. Растворитель удалили из реакционной смеси при пониженном давлении. Исходный продукт растворили в дихлорметане и хроматографировали над около 300 мл силикагеля. Использовали такие растворители, как дихлорметан, дихлорметан/метанол 20/1, дихлорметан/метанол 10/1. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высушивания в условиях пониженного давления. Получили 1,63 г (2,06 ммоль, 81% теории) желаемого продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.31$ мин, $m/z = 642$ (M+H)⁺.

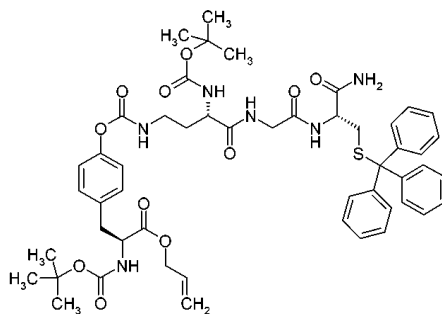
Пример 18A. Глицил-S-тритил-L-цистеинамид



1,53 г (2,38 ммоль) соединения из примера 17A растворили в 18 мл диметил формамида и добавили 0,47 мл (4,79 ммоль) DIE. Исходный продукт очистили с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в колонке C18 с градиентом вода-метанол от 9/1 до 1/9 после реакции, длительностью 1 ч. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высушивания в условиях пониженного давления. Получили 416 г (0,97 ммоль, 40% теории) желаемого продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 0.76$ мин, $m/z = 418$ (M-H)⁻.

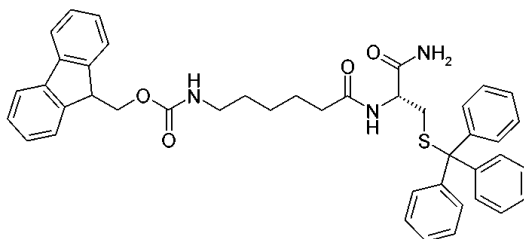
Пример 19A. N-{(2S)-4-[[4-{(2S)-3-(Аллилокси)-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-3-оксопропил}феноксикарбонил]амино]-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]бутаноил}глицил-S-тритил-L-цистеинамид



559 мг (0,99 ммоль) соединения из примера 2A растворили в 15 мл дихлорметана. Добавили 415 (0,99 ммоль) соединение из примера 18A, 173 мкл (0,99 ммоль) N,N-диизопропилэтиламина и 376 мг (0,99 ммоль) HATU. Реакционная смесь нагревалась в течение 30 мин в запаянной трубке при 60°C в микроволновом синтезаторе. Растворитель удалили из реакционной смеси при пониженном давлении. Исходный продукт растворили в дихлорметане и хроматографировали над около 70 мл силикагеля. Использовали такие растворители, как дихлорметан, дихлорметан/метанол 20/1 до дихлорметан/метанол 5/1. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высушивания в условиях пониженного давления. Получили 860 г (0,69 ммоль, 70% теории) желаемого продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.30$ мин, $m/z = 968$ (M+H)⁺.

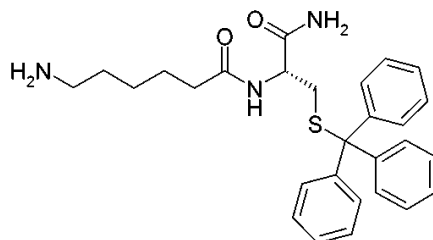
Пример 20А. 9Н-Флуорен-9-илметил-(6-{{(2R)-1-амино-1-оксо-3-(тритилсульфанил)пропан-2-ил}амино}-6-оксогексил)карбамат



500 мг (1,42 ммоль) 6-{{(9Н-флуорен-9-илметокси)карбонил}амино}гексановой кислоты растворили в 18 мл дихлорметана. Добавили 513 (1,42 ммоль) S-тритил-L-цистеинилглицинамида, 246 мкл (1,42 ммоль) N,N-диизопропилэтиламина и 537 мг (1,42 ммоль) НАТУ. Реакционная смесь нагревалась в течение 30 мин в запаянной трубке при 60°C в микроволновом синтезаторе. Растворитель удалили из реакционной смеси при пониженном давлении. Исходный продукт очистили с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в колонке С18 с градиентом вода-метанол от 9/1 до 1/9. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высыхания в условиях пониженного давления. Получили 678 г (0,70 ммоль, 49% теории) желаемого продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.38$ мин, $m/z = 698$ (M+H)⁺.

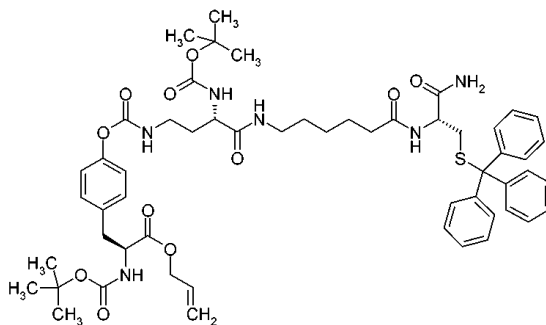
Пример 21А. 6-Амино-N-{{(2R)-1-амино-1-оксо-3-(тритилсульфанил)пропан-2-ил}гексанамид



678 г (0,97 ммоль) соединения из примера 20А растворили в 7 мл диметил формамида и добавили 0,19 мл (1,94 ммоль) DIEA. Исходный продукт очистили с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в колонке С18 с градиентом вода-метанол от 9/1 до 1/9 после реакции, длительностью один час. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высыхания в условиях пониженного давления. Получили 457 г (0,93 ммоль, 95% теории) желаемого продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 0.85$ мин, $m/z = 476$ (M+H)⁺.

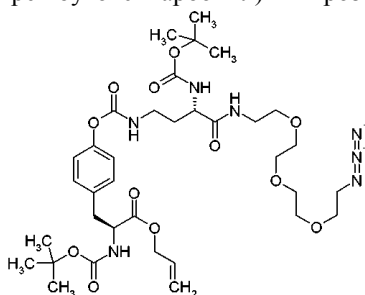
Пример 22А. Аллил-О-{{(3S)-4-[[6-{{(2R)-1-амино-1-оксо-3-(тритилсульфанил)пропан-2-ил}амино}-6-оксогексил)амино]-3-[[трет-бутоксикарбонил)амино]-4-оксобутил} карбамоил}-N-(трет-бутоксикарбонил)-L-тирозинат



457 мг (0,81 ммоль) соединения из примера 2А растворили в 15 мл дихлорметана. Добавили 384 (0,81 ммоль) соединение из примера 18А, 141 мкл (0,81 ммоль) N,N-диизопропилэтиламина и 307 мг (0,81 ммоль) НАТУ. Реакционная смесь нагревалась в течение 30 мин в запаянной трубке при 60°C в микроволновом синтезаторе. Растворитель удалили из реакционной смеси при пониженном давлении. Исходный продукт очистили двумя порциями с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в колонке С18 с градиентом вода-метанол от 9/1 до 1/9. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высыхания в условиях пониженного давления. Получили 255 г (0,22 ммоль, 28% теории) желаемого продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.31$ мин, $m/z = 1032$ (M+H)⁺.

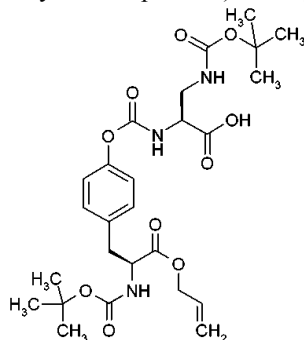
Пример 23А. Аллил-О-({(14S)-1-азидо-14-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-13-оксо-3,6,9-триокса-12-азагексадекан-16-ил} карбамоил)-N-(трет-бутоксикарбонил)-L-тирозинат



518 мг (0,92 ммоль) соединения из примера 2А растворили в 15 мл дихлорметана. Добавили 200 (0,92 ммоль) 2-{2-[2-(2-азидоэтокси)этокси]этокси}этанамин, 160 мкл (0,92 ммоль) N,N-диизопропилэтиламина и 348 мг (0,92 ммоль) НАТУ. Реакционная смесь нагревалась в течение 30 мин в запаянной трубке при 60°C в микроволновом синтезаторе. Растворитель удалили из реакционной смеси при пониженном давлении. Исходный продукт очистили с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в колонке С18 с градиентом вода-метанол от 9/1 до 1/9. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высыхания в условиях пониженного давления. Получили 276 г (0,34 ммоль, 37% теории) желаемого продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.15$ мин, $m/z = 766$ (M+H)⁺.

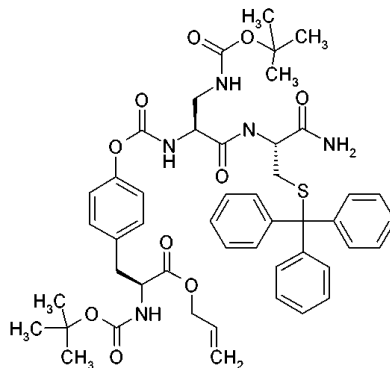
Пример 24А. N-[(4-{{(2S)-3-(Аллилокси)-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-3-оксопропил} фенокси)карбонил]-3-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-L-аланин



2,45 г (5,0 ммоль) соединения из примера 1А растворили в 40 мл дихлорметана. Добавили 1,03 г (5,0 ммоль) 3-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-L-аланина. Раствор нагревали при температуре 85°C в течение 2 ч. Растворитель удалили при пониженном давлении. Исходный продукт растворили в дихлорметане и хроматографировали над около 150 мл силикагеля. Использовали такие растворители, как дихлорметан/метанол 20/1 до дихлорметан/метанол 1/1. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высыхания в условиях пониженного давления. Получили 1,23 г (2,2 ммоль, 44% теории) желаемого продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.06$ мин, $m/z = 550$ (M-H)⁻.

Пример 25А. N-[(4-{{(2S)-3-(Аллилокси)-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-3-окмопропил} фенокси)карбонил]-3-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-L-аланил-S-тримил-L-цистеинамид

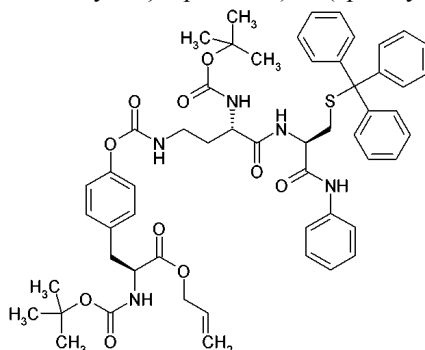


1,23 г (2,23 ммоль) соединения из примера 24А растворили в 25 мл дихлорметана. Добавили 0,81 (2,23 ммоль) S-тримил-L-цистеинамида, 0,39 мл (2,23 ммоль) N,N-диизопропилэтиламина и 0,85 г (2,23 ммоль) НАТУ. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Раствор удалили из реакционной смеси путем вращательного испарения (около 40°C, около 200 мбар, около 30 мин). Исходный продукт растворили в дихлорметане и хроматографировали над около 70 мл силикагеля.

Использовали такие растворители, как дихлорметан/метанол 20/1 до дихлорметан/метанол 5/1. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высыхания в условиях пониженного давления. Получили 2,38 г (2,03 ммоль, 91% теории, 76% чистоты) желаемого продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.37$ мин, $m/z = 897$ (M+H)⁺.

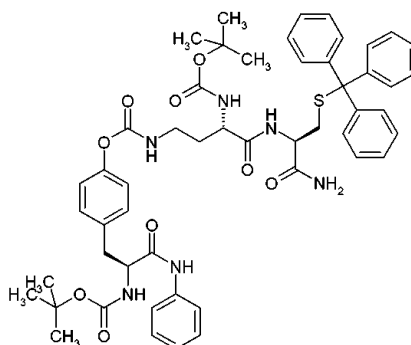
Пример 26А. Аллил-О-({(3S)-4-{{(2R)-1-анилино-1-оксо-3-(триметилсульфанил)пропан-2-ил}амино}-3-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-4-оксобутил} карбамоил)-N-(трет-бутоксикарбонил)-L-тирозинат



456 мг (0,68 ммоль) соединения из примера 2А растворили в 8 мл дихлорметана. Добавили 300 (0,68 ммоль) N-фенил-S-тригил-L-цистеинамида, 0,12 мл (0,68 ммоль) N,N-диизопропилэтиламина и 260 мг (0,68 ммоль) HATU. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. Растворитель удалили из реакционной смеси при пониженном давлении. Исходный продукт очистили двумя порциями с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в колонке C18 с градиентом вода-метанол от 9/1 до 1/9. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высыхания в условиях пониженного давления. Получили 361 г (0,37 ммоль, 53% теории) желаемого продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.48$ мин, $m/z = 987$ (M+H)⁺.

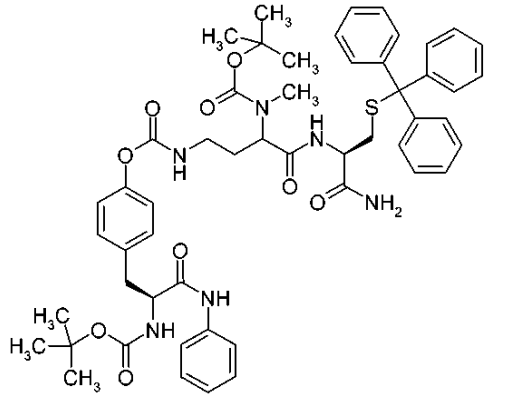
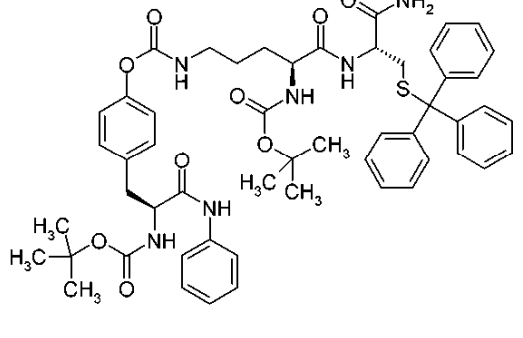
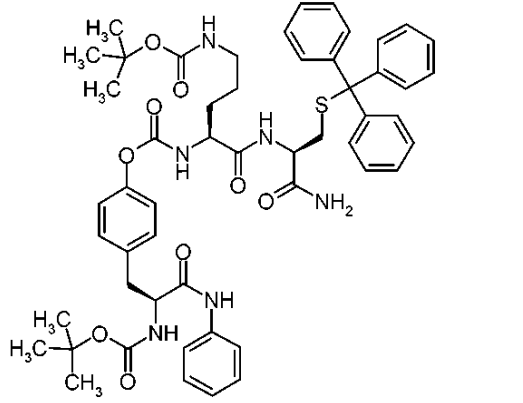
Пример 1В. трет-Бутил-[(2S)-1-{{(2R)-1-амино-1-оксо-3-(триметилсульфанил)пропан-2-ил}амино}-4-{{(4-{{(2S)-3-анилино-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-3-оксопропил}фенокси)карбонил}амино}-1-оксобутан-2-ил}карбамат

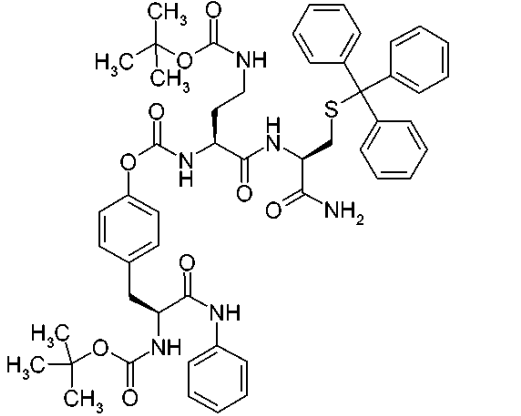
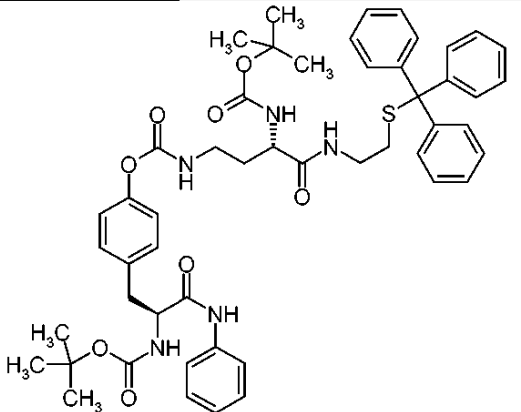


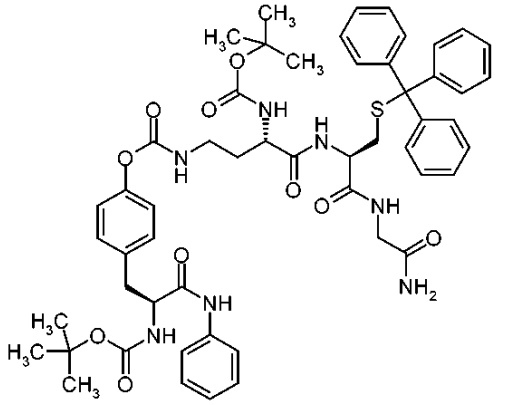
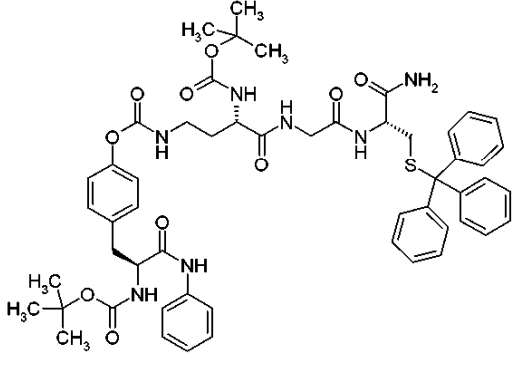
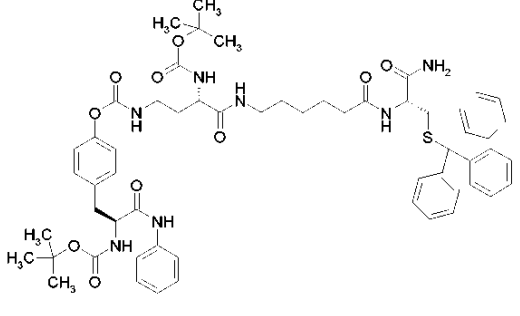
250 мг (0,29 ммоль) соединения из примера 1 растворили в 10 мл дихлорметана. Добавили 40 (0,43 ммоль) анилина, 164 мкл (0,43 ммоль) HATU и 75 мг (0,43 ммоль) DIEA. Реакционная смесь нагревалась в течение 30 мин в запаянной трубке при 60°C в микроволновом синтезаторе. Исходный продукт сконцентрировали до высыхания в условиях пониженного давления. Исходный продукт растворили в метаноле и очистили с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в колонке C18 с градиентом вода-метанол для выхода 271 мг продукта (88% теории).

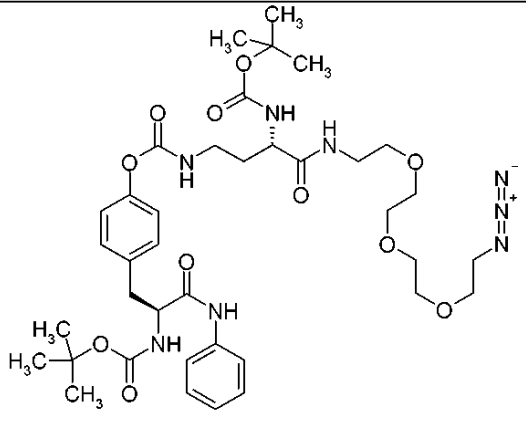
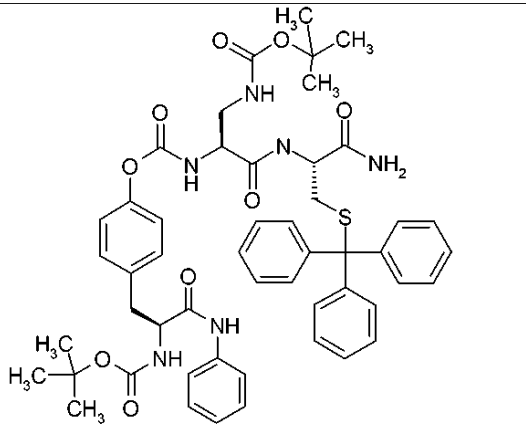
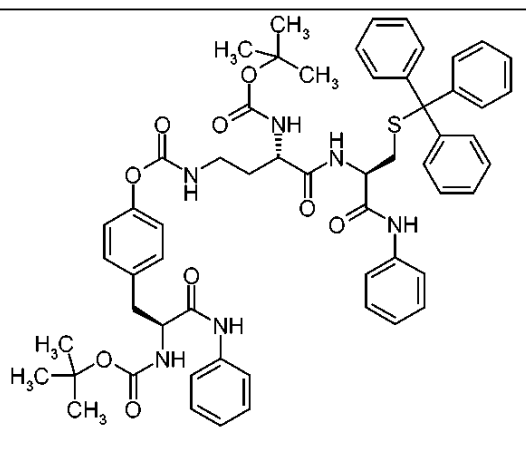
LC-MS (метод 1): $R_t = 1,31$ мин, $m/z = 945$ (M+H)⁺.

Примеры из указанной ниже таблицы получили по аналогии с примером 18 с использованием соответствующей карбоновой кислоты (демонстрационные примеры 2-12).

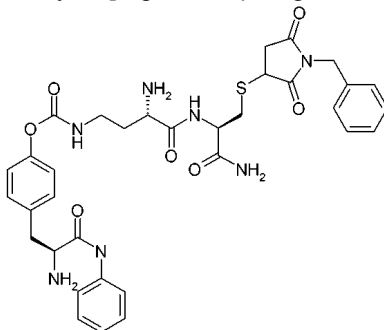
Пример	Структура	Характеристика
2В		LC-MS (метод 1): $R_t = 1.34$ и 1.37 мин, $m/z = 959$ (M+H) ⁺
3В		LC-MS (метод 1): $R_t = 1.32$ мин, $m/z = 959$ (M+H) ⁺
4В		LC-MS (метод 1): $R_t = 1.32$ мин, $m/z = 959$ (M+H) ⁺

5B	 <p>The structure of compound 5B is a complex molecule. It features a central chain of amide bonds. At the top, there is a tert-butyl ester group attached to a methylene group, which is further connected to an amide nitrogen. This nitrogen is linked to a methylene group, which is connected to another amide nitrogen. This second amide nitrogen is attached to a methylene group, which is connected to a third amide nitrogen. This third amide nitrogen is attached to a methylene group, which is connected to a sulfur atom. The sulfur atom is bonded to two phenyl rings. The central chain also includes a para-substituted phenoxy group and a primary amide group. At the bottom, there is another tert-butyl ester group attached to a methylene group, which is connected to an amide nitrogen. This nitrogen is attached to a methylene group, which is connected to another amide nitrogen. This second amide nitrogen is attached to a methylene group, which is connected to a sulfur atom. The sulfur atom is bonded to two phenyl rings. The bottom part also includes a para-substituted phenoxy group and a primary amide group.</p>	LC-MS (метод 1): $R_t = 1.30$ мин, $m/z = 945$ (M+H) ⁺
6B	 <p>The structure of compound 6B is similar to 5B but with a different central chain. It features a central chain of amide bonds. At the top, there is a tert-butyl ester group attached to a methylene group, which is further connected to an amide nitrogen. This nitrogen is linked to a methylene group, which is connected to another amide nitrogen. This second amide nitrogen is attached to a methylene group, which is connected to a sulfur atom. The sulfur atom is bonded to two phenyl rings. The central chain also includes a para-substituted phenoxy group and a primary amide group. At the bottom, there is another tert-butyl ester group attached to a methylene group, which is connected to an amide nitrogen. This nitrogen is attached to a methylene group, which is connected to another amide nitrogen. This second amide nitrogen is attached to a methylene group, which is connected to a sulfur atom. The sulfur atom is bonded to two phenyl rings. The bottom part also includes a para-substituted phenoxy group and a primary amide group.</p>	LC-MS (метод 1): $R_t = 1.43$ мин, $m/z = 903$ (M+H) ⁺

7B		<p>LC-MS (метод 1): $R_t = 1.29$ мин, $m/z = 1002$ (M+H)⁺</p>
8B		<p>LC-MS (метод 1): $R_t = 1.27$ мин, $m/z = 1002$ (M+H)⁺</p>
9B		<p>LC-MS (метод 1): $R_t = 1.29$ мин, $m/z = 1058$ (M+H)⁺</p>

10B		LC-MS (метод 2): $R_t = 2.42$ мин, $m/z = 801 (M+H)^+$
11B		LC-MS (метод 1): $R_t = 1.36$ мин, $m/z = 931 (M+H)^+$
12B		LC-MS (метод 1): $R_t = 1.48$ мин, $m/z = 1022 (M+H)^+$

Пример 1С. О-{{(3S)-3-Амино-4-((2R)-1-амино-3-[(1-бензил-2,5-диоксопирролидин-3-ил)сульфанил]-1-оксопропан-2-ил)амино)-4-оксобутил}карбамоил}-N-фенил-L-тирозинамид



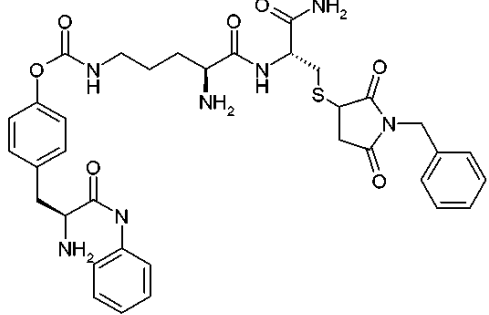
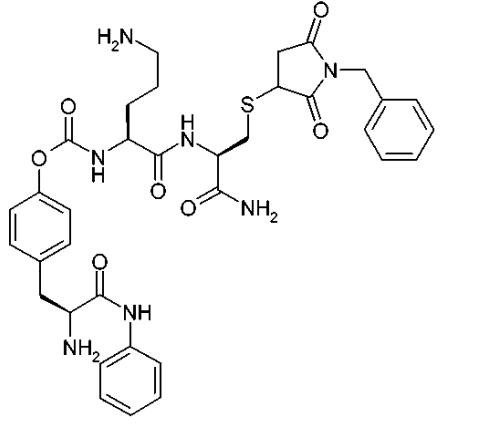
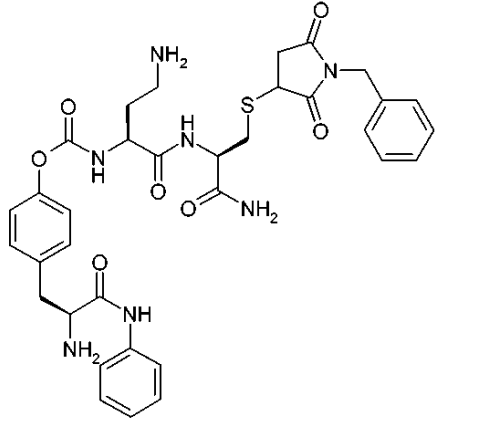
238 мг (0,25 ммоль) соединения из примера 1В растворили в 10 мл дихлорэтана. Добавили 0,12 мл триэтилсилана, около 10 мл трифторуксусной кислоты и около 0,5 мл воды. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Добавили 100 мл дихлорэтана, и реакционную

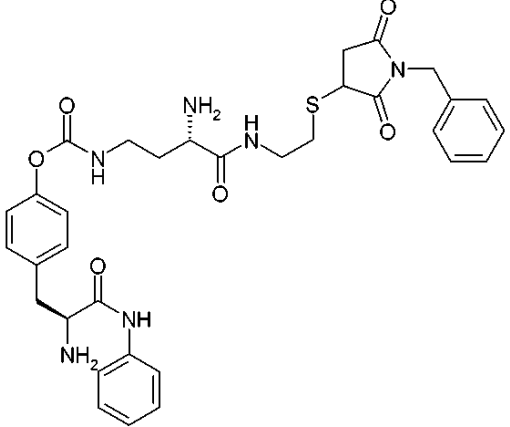
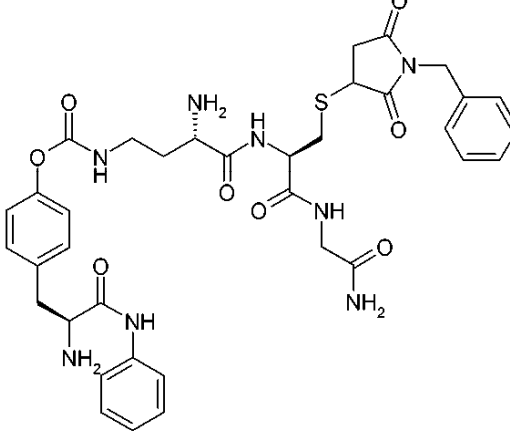
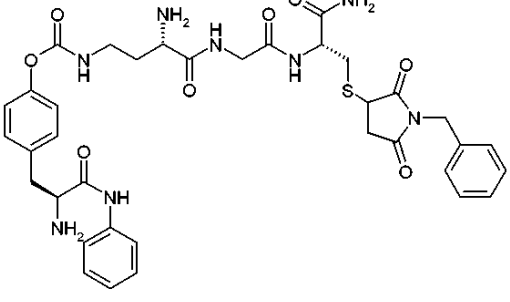
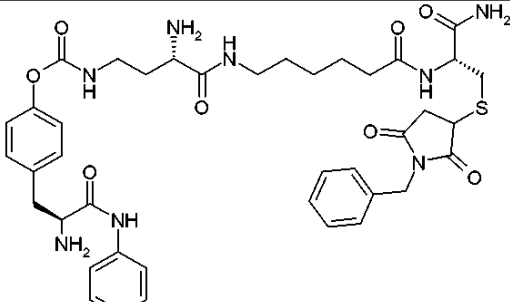
смесь испарили при пониженном давлении до около 1 мл объема растворителя. Добавили около 100 мл воды, и реакционную смесь извлекали три раза с около 50 мл дихлорметана. В водную фазу добавили 15 мл уксусной кислоты. Водную фазу заморозили и лиофилизировали. Лиофилизат растворили в около 50 мл метанола и добавили 1,183 мг (0,98 ммоль) N-бензилmaleимида. Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь испарили до высыхания и растворили в около 5 мл метанола и очистили с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в C18 с градиентом вода-метанол. Фракции собрали в 20 мл пробирки в автоматизированный коллектор фракций. Перед тем, как собрать их, в каждую пробирку налили 0,5 мл уксусной кислоты для обеспечения достаточной кислотности. Все фракции, содержащие соединение из примера 1С, объединили. Ацетонитрил частично удалили в роторном испарителе при температуре водяной бани 30°C и около 50 мбар за около 30 мин. Оставшийся раствор лиофилизировали после добавления 0,5 мл уксусной кислоты. Общий выход составил 168 г (0,24 ммоль, 98% теории) желаемого продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 0,55$ мин, $m/z = 690$ (M+H)⁺.

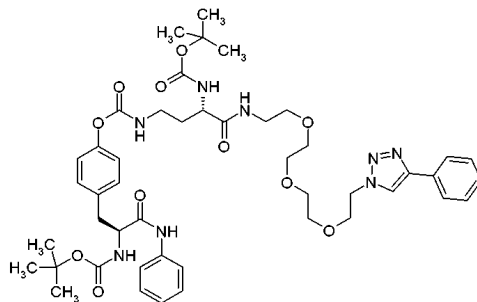
Примеры из указанной ниже таблицы получили по аналогии с примером 1С с использованием соответствующих прекурсоров (примеры 2В-9В).

Пример	Структура	Характеристика
2С		LC-MS (метод 1): $R_t = 0,64$ мин, $m/z = 704$ (M+H) ⁺

3C		LC-MS (метод 1): $R_t = 0.63$ мин, $m/z = 704 (M+H)^+$
4C		LC-MS (метод 1): $R_t = 0.61$ мин, $m/z = 704 (M+H)^+$
5C		LC-MS (метод 1): $R_t = 0.55$ мин, $m/z = 690 (M+H)^+$

6C		<p>LC-MS (метод 1): $R_t = 0.67$ мин, $m/z = 647 (M+H)^+$</p>
7C		<p>LC-MS (метод 1): $R_t = 0.61$ мин, $m/z = 747 (M+H)^+$</p>
8C		<p>LC-MS (метод 1): $R_t = 0.61$ мин, $m/z = 747 (M+H)^+$</p>
9C		<p>LC-MS (метод 2): $R_t = 1.53$ мин, $m/z = 803 (M+H)^+$</p>

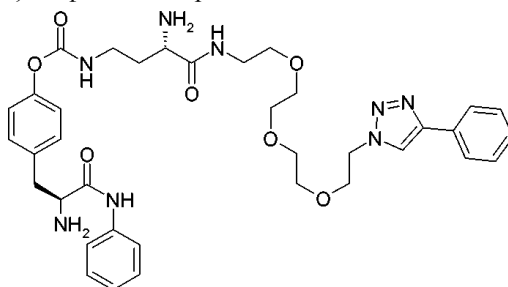
Пример 10Ca. N-Альфа-(трет-бутоксикарбонил)-O-{[(14S)-14-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-13-оксо-1-(4-фенил-1H-1,2,3-триазол-1-ил)-3,6,9-триокса-12-азагексадекан-16-ил]карбамоил}-N-фенил-L-тирозинамид



40 мг (0,05 ммоль) соединения из примера 10B растворили в 4 мл ДМСО и 1 мл воды. Добавили 10 мг (0,10 ммоль) фенилацетилена, 0,8 мг сульфата(II)меди (0,005 ммоль), 445 мг (2,25 ммоль) аскорбата натрия и 1,8 мг (0,01 ммоль) 1,10-фенантролина. pH реакционной смеси установили на уровне 4 путем добавления 3-4 капель 10% серной кислоты и смешивали реакционную смесь в течение ночи. Реакционную смесь растворили в около 10 мл воды и дважды извлекли с около 10 мл этилацетата. Комбинированные органические фазы испарили до высыхания и растворили в около 5 мл метанола и очистили с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в C18 с градиентом вода-метанол. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высыхания в условиях пониженного давления. Получили 36 г (0,04 ммоль, 79% теории) желаемого продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.12$ мин, $m/z = 903$ (M+H)⁺.

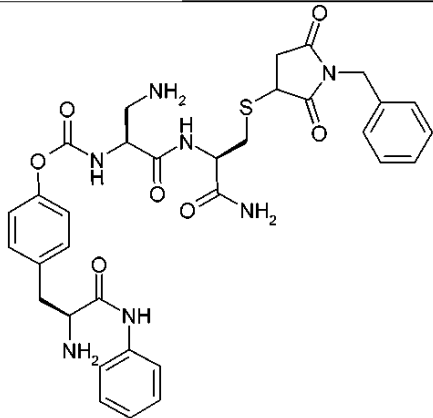
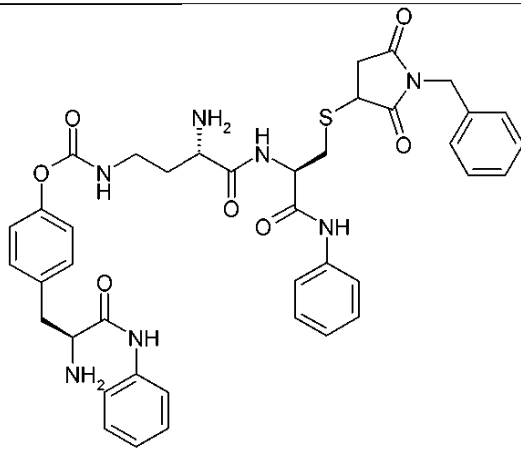
Пример 10Cb. O-{[(14S)-14-Амино-13-оксо-1-(4-фенил-1H-1,2,3-триазол-1-ил)-3,6,9-триокса-12-азагексадекан-16-ил]карбамоил}-N-фенил-L-тирозинамид



36 мг (0,04 ммоль) соединения из примера 10Ca растворили в 2,5 мл дихлорэтана. Добавили 0,02 мл триэтилсилана, около 2,5 мл трифторуксусной кислоты и около 0,1 мл воды. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Реакционную смесь испарили до высыхания, повторно растворили в около 15 мл воды. Реакционную смесь извлекли три раза с около 10 мл дихлорметана. Водную фазу лиофилизировали после добавления около 0,5 мл уксусной кислоты. Лиофилизат повторно растворили в около 5 мл метанола и очистили с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в C18 с градиентом вода-метанол. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высыхания в условиях пониженного давления. Получили 13 г (0,02 ммоль, 45% теории) желаемого продукта.

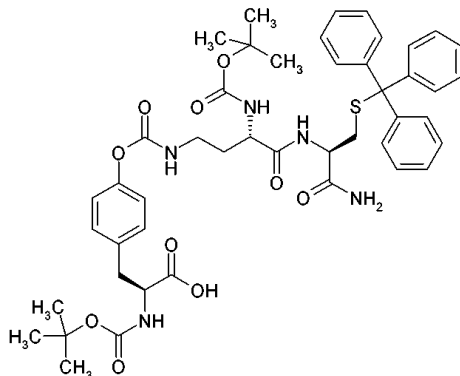
LC-MS (метод 1): $R_t = 0.57$ мин, $m/z = 703$ (M+H)⁺.

Примеры из указанной ниже таблицы получили по аналогии с примером 1С с использованием соответствующих прекурсоров (примеры 11В и 12В).

Пример	Структура	Характеристика
11С		LC-MS (метод 1): $R_t = 0.60$ мин, $m/z = 676 (M+H)^+$
12С		LC-MS (метод 2): $R_t = 1.69$ мин, $m/z = 767 (M+H)^+$

Рабочие примеры.

Пример 1. О-({(3S)-4-{{(2R)-1-Амино-1-оксо-3-(третилсульфанил)пропан-2-ил}амино}-3-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-4-оксобутил} карбамоил)-N-(трет-бутоксикарбонил)-L-тирозин

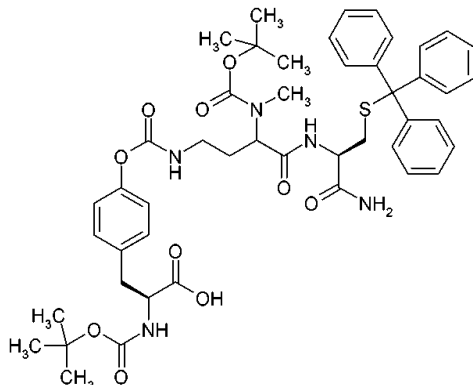


4,14 г (4,55 ммоль) соединения из примера 3А растворили в 90 мл тетрагидрофурана. Добавили 3,17 (22,8 ммоль) триэтиламина, 0,86 мл (22,8 ммоль) муравьиной кислоты и 0,526 г (0,455 ммоль) тетракис(трифенилфосфин)палладия(0). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакцию растворили с около 100 мл воды и дважды извлекли с около 100 мл дихлорметана. Комбинированные органические фазы извлекли с соевым раствором, осушили над натрий сульфатом и сконцентрировали до высыхания при пониженном давлении. Исходный продукт растворили в дихлорметане и хроматографировали над около 500 мл силикагеля. Использовали такие растворители, как дихлорметан, дихлорметан/метанол 20/1, дихлорметан/метанол 1/1. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высыхания в условиях пониженного давления. Получили 2,62 г исходного продукта с чистотой 94,5%. Далее продукт очистили с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в С18 с градиентом вода-метанол для выхода 2,35 мг продукта (2,70 ммоль, 59% теории) чистого продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.22$ мин, $m/z = 871$ (M+H)⁺.

¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆, δ/ppm): δ = 7.92 (d, 1H), 7.65 (t, 1H), 7.28-7.35 (m, 12H), 7.25-7.28 (t, 3H), 7.15-7.20 (m, 4H), 6.95 (d, 2H), 4.29 (q, 1H), 4.00 (m, 1H), 3.92 (m, 1H), 3.11 (m, 3H), 2.90 (m, 1H), 2.36 (m, 2H), 1.84 (m, 1H), 1.68 (m, 1H), 1.34 (d, 18H).

Пример 2. O-[(4-{[(2R)-1-Амино-1-оксо-3-(третилсульфанил)пропан-2-ил]амино}-3-[(трет-бутоксикарбонил)-(метил)амино]-4-оксобутил)карбамоил]-N-(трет-бутоксикарбонил)-L-тирозин

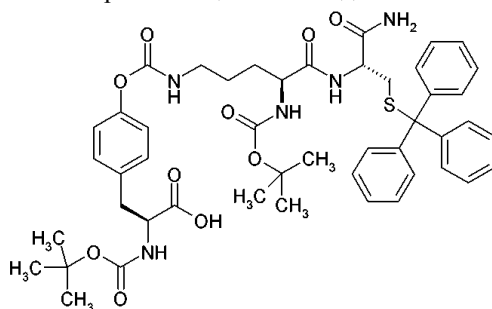


2,2 г (2,38 ммоль) соединения из примера 8А растворили в 48 мл тетрагидрофурана. Добавили 1,66 (11,9 ммоль) триэтиламина, 0,45 мл (11,9 ммоль) муравьиной кислоты и 0,275 г (0,238 ммоль) тетра-кис(трифенилфосфин)палладия(0). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакцию растворили с около 50 мл воды и дважды извлекли с около 50 мл дихлорметана. Комбинированные органические фазы извлекли с солевым раствором, осушили над натрий сульфатом и сконцентрировали до высыхания при пониженном давлении. Исходный продукт растворили в дихлорметане и хроматографировали над около 100 мл силикагеля. Использовали такие растворители, как дихлорметан, дихлорметан/метанол 50/1, дихлорметан/метанол 4/1. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высыхания в условиях пониженного давления. Получили 1,44 г (1,61 ммоль, 68% теории) продукта в виде смеси диастереомеров.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.20$ и 1.24 мин, $m/z = 884$ (M+H)⁺.

¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆, δ/ppm): δ = 8.00 (m, 1H), 7.65-7.90 (m, 4H), 7.18-7.35 (m, 18H), 7.10 (m, 2H), 6.96 (m, 4H), 4.60 (m, 1H), 4.46 (m, 1H), 4.30 (m, 2H), 4.05 (m, 2H), 3.00 (m, 4H), 2.75 (m, 6H), 2.36 (m, 3H), 2.00 (m, 2H), 1.82 (m, 2H), 1.40 (m, 3H), 1.35 (s, 18H).

Пример 3. N²-(трет-Бутоксикарбонил)-N⁵-[(4-{(2S)-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-2-карбокситил} феноксикарбонил]-L-орнитил-S-третил-L-цистеинамид

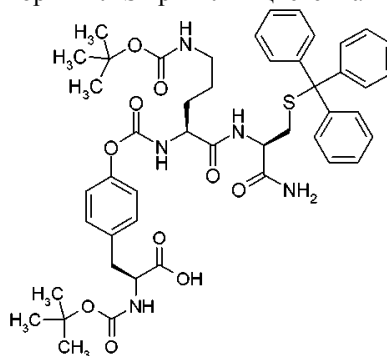


3,06 г (2,33 ммоль) соединения из примера 10А растворили в 46 мл тетрагидрофурана. Добавили 1,63 (11,6 ммоль) триэтиламина, 0,44 мл (11,6 ммоль) муравьиной кислоты и 0,265 г (0,233 ммоль) тетра-кис(трифенилфосфин)палладия(0). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакцию растворили с около 50 мл воды и дважды извлекли с около 50 мл дихлорметана. Комбинированные органические фазы извлекли с солевым раствором, осушили над натрий сульфатом и сконцентрировали до высыхания при пониженном давлении. Исходный продукт растворили в дихлорметане и хроматографировали над около 500 мл силикагеля. Использовали такие растворители, как дихлорметан, дихлорметан/метанол 40/1, дихлорметан/метанол 1/1. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высыхания в условиях пониженного давления. Получили 1,40 г исходного продукта с чистотой 86%. Далее продукт очистили с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в колонке C18 с градиентом вода-метанол для выхода 2 фракций: 0,93 г продукта (45% теории).

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.18$ мин, $m/z = 885$ (M+H)⁺.

¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆, δ/ppm): δ = 7.89 (d, 1H), 7.65 (t, 1H), 7.25-7.35 (m, 12H), 7.20-7.25 (m, 6H), 7.10-7.20 (m, 3H), 6.95 (d, 2H), 4.29 (m, 1H), 4.05 (m, 1H), 3.88 (m, 1H), 3.11 (d, 1H), 3.00 (m, 4H), 2.75 (m, 2H), 2.36 (m, 3H), 1.64 (m, 1H), 1.51 (m, 3H), 1.36 (s, 9H), 1.32 (s, 9H).

Пример 4. N⁵-(трет-Бутоксикарбонил)-N²-[4-{(2S)-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-2-карбоксиил}феноксикарбонил]-L-орнитил-S-третил-L-цистеинамид

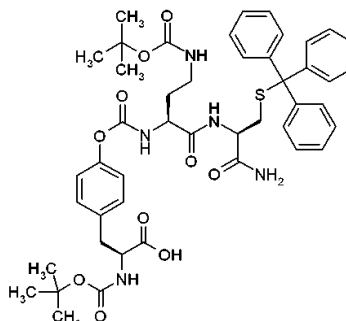


5,27 г (5,65 ммоль) соединения из примера 12А растворили в около 60 мл тетрагидрофурана. Добавили 2,1 (15,2 ммоль) триэтиламина, 0,57 мл (15,2 ммоль) муравьиной кислоты и 0,35 г (0,30 ммоль) тетраakis(трифенилфосфин)палладия(0). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакцию растворили с около 60 мл воды и дважды извлекли с около 50 мл дихлорметана. Комбинированные органические фазы извлекли с солевым раствором, осушили над натрий сульфатом и сконцентрировали до высыхания при пониженном давлении. Исходный продукт растворили в дихлорметане и хроматографировали над около 500 мл силикагеля. Использовали такие растворители, как дихлорметан, дихлорметан/метанол 20/1 и дихлорметан/метанол 1/1. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высыхания в условиях пониженного давления. Далее исходный продукт очистили с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в колонке С18 с градиентом вода-метанол для выхода 1,37 г (24% теории) продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.17$ мин, $m/z = 885$ (M+H)⁺.

¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆, δ/ppm): δ = 12.6 (bs, 1H), 8.05 (d, 1H), 7.97 (d, 1H), 7.06-7.39 (m, 20H), 6.97 (d, 2H), 6.79 (t, 1H), 4.30 (dd, 1H), 4.07 (m, 1H), 4.00 (m, 1H), 2.85-3.04 (m, 3H), 2.30-2.40 (m, 2H), 1.65 (m, 1H), 1.41-1.60 (m, 4H), 1.37 (s, 9H), 1.32 (s, 9H).

Пример 5. N-(трет-Бутоксикарбонил)-O-[[4R,7S)-4-карбамоил-13,13-диметил-6,11-диоксо-1,1,1-трифенил-12-окса-2-тиа-5,10-дiazатетрадекан-7-ил]карбамоил]-L-тирозин

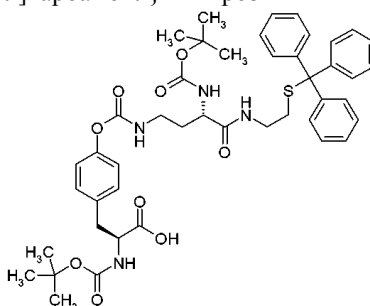


4,91 г (5,40 ммоль) соединения из примера 14А растворили в около 110 мл тетрагидрофурана. Добавили 3,8 (27 ммоль) триэтиламина, 1,02 мл (27 ммоль) муравьиной кислоты и 0,62 г (0,54 ммоль) тетраakis(трифенилфосфин)палладия(0). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакцию растворили с около 60 мл воды и дважды извлекли с около 50 мл дихлорметана. Комбинированные органические фазы извлекли с солевым раствором, осушили над натрий сульфатом и сконцентрировали до высыхания при пониженном давлении. Исходный продукт растворили в дихлорметане и хроматографировали над около 500 мл силикагеля. Использовали такие растворители, как дихлорметан, дихлорметан/метанол 40/1 и дихлорметан/метанол 1/1. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высыхания в условиях пониженного давления. Далее исходный продукт очистили с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в колонке С18 с градиентом вода-метанол для выхода 1,96 г (42% теории) продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.20$ мин, $m/z = 871$ (M+H)⁺.

¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆, δ/ppm): δ = 12.6 (bs, 1H), 8.05 (t, 2H), 7.16-7.39 (m, 19H), 7.12 (d, 1H), 6.98 (d, 2H), 6.83 (t, 1H), 4.32 (dd, 1H), 4.00-4.11 (m, 2H), 2.92-3.12 (m, 3H), 2.81 (m, 1H), 2.30-2.40 (m, 2H), 1.82 (m, 1H), 1.67 (m, 1H), 1.38 (s, 9H), 1.32 (s, 9H).

Пример 6. N-(трет-Бутоксикарбонил)-O-{[(3S)-3-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-4-оксо-4-{[2-(тритилсульфанил)этил]амино} бутил]карбамоил}-L-тирозин

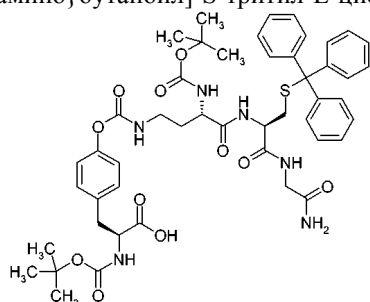


98 мг (0,1 ммоль) соединения из примера 15А растворили в около 4 мл тетрагидрофурана. Добавили 70 мкл (0,5 ммоль) триэтиламина, 19 мкл (0,5 ммоль) муравьиной кислоты и 11 мг (0,01 ммоль) тетраakis(трифенилфосфин)палладия(0). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакцию растворили с около 5 мл воды и дважды извлекли с около 5 мл дихлорметана. Комбинированные органические фазы извлекли с солевым раствором, осушили над натрий сульфатом и сконцентрировали до высыхания при пониженном давлении. Далее исходный продукт очистили с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в колонке С18 с градиентом вода-метанол для выхода 67 г (79% теории) продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.32$ мин, $m/z = 827$ (M+H)⁺.

¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆, δ/ppm): δ 12.6 (bs, 1H), 7.85 (t, 1H), 7.59 (m, 1H), 7.29-7.37 (m, 12H), 7.18-7.27 (m, 5H), 7.07 (bs, 1H), 6.98 (d, 2H), 6.88 (d, 1H), 4.07 (m, 1H), 3.90 (m, 1H), 2.93-3.09 (m, 5H), 2.81 (m, 1H), 2.20 (t, 2H), 1.78 (m, 1H), 1.64 (m, 1H), 1.36 (s, 9H), 1.32 (s, 9H).

Пример 7. N-(2S)-2-[(трет-Бутоксикарбонил)амино]-4-{[(4-{(2S)-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-2-карбоксиэтил} фенокси)карбонил]амино} бутаноил]-S-тритил-L-цистеинилглицинамид

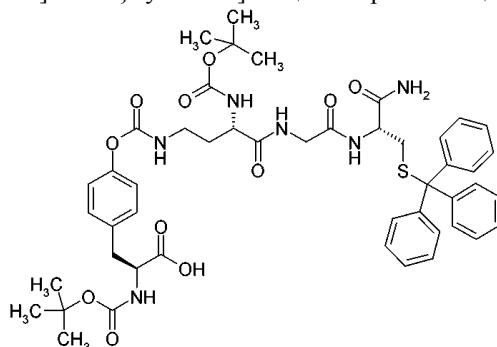


60 мг (0,031 ммоль) соединения из примера 16А растворили в около 3 мл тетрагидрофурана. Добавили 22 мкл (0,16 ммоль) триэтиламина, 6 мкл (0,16 ммоль) муравьиной кислоты и 4 мг (0,003 ммоль) тетраakis(трифенилфосфин)палладия(0). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакцию растворили с около 5 мл воды и дважды извлекли с около 5 мл дихлорметана. Комбинированные органические фазы извлекли с солевым раствором, осушили над натрий сульфатом и сконцентрировали до высыхания при пониженном давлении. Далее исходный продукт очистили с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в колонке С18 с градиентом вода-метанол для выхода 26 г (86% теории) продукта.

LC-MS (метод 2): $R_t = 2.55$ мин, $m/z = 927$ (M+H)⁺.

¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆, δ/ppm): δ 12.6 (bs, 1H), 8.08 (m, 2H), 7.63 (t, 1H), 7.18-7.38 (m, 18H), 7.03-7.15 (m, 3H), 6.99 (d, 2H), 4.28 (dd, 1H), 3.95-4.10 (m, 2H), 3.64 (dd, 1H), 3.51 (m, 1H), 3.04-3.13 (m, 2H), 3.00 (dd, 1H), 2.81 (m, 1H), 2.42 (d, 2H), 1.84 (m, 1H), 1.67 (m, 1H), 1.36 (s, 9H), 1.32 (s, 9H).

Пример 8. N-[(2S)-2-[(трет-Бутоксикарбонил)амино]-4-{[(4-{(2S)-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-2-карбоксиэтил} фенокси)карбонил]амино} бутаноил]глицил-S-тритил-L-цистеинамид

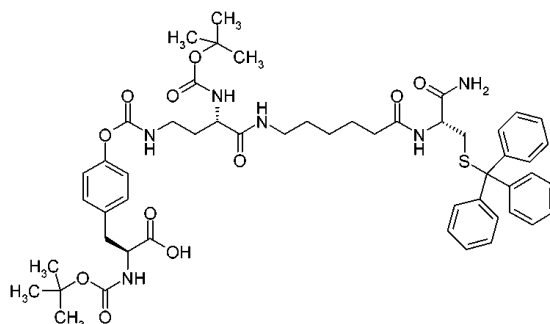


860 г (0,89 ммоль) соединения из примера 19А растворили в около 20 мл тетрагидрофурана. Добавили 620 мкл (4,45 ммоль) триэтиламина, 168 мкл (4,45 ммоль) муравьиной кислоты и 103 мг (0,089 ммоль) тетраakis(трифенилфосфин)палладия(0). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакцию растворили с около 50 мл воды и дважды извлекли с около 50 мл дихлорметана. Комбинированные органические фазы извлекли с солевым раствором, осушили над натрий сульфатом и сконцентрировали до высыхания при пониженном давлении. Далее исходный продукт очистили с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в колонке С18 с градиентом вода-метанол для выхода 329 мг (38% теории) продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.16$ мин, $m/z = 927$ (M+H)⁺.

¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆, δ/ppm): d = 8.16 (d, 1H), 8.04 (t, 1H), 7.64 (t, 1H), 7.20-7.39 (m, 15H), 7.15 (d, 3H), 7.07 (d, 1H), 6.95 (d, 2H), 4.28 (dd, 1H), 4.02 (dd, 1H), 3.91 (m, 1H), 3.76 (m, 2H), 2.99-3.15 (m, 3H), 2.88 (m, 1H), 2.29-2.42 (m, 2H), 1.86 (m, 1H), 1.68 (m, 1H), 1.37 (s, 9H), 1.33 (s, 9H).

Пример 9. O-({(3S)-4-[(6-{{(2R)-1-Амино-1-оксо-3-(триметилсульфанил)пропан-2-ил}амино)-6-оксогексил]амино]-3-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-4-оксобутил; карбамоил)-N-(трет-бутоксикарбонил)-L-тирозин

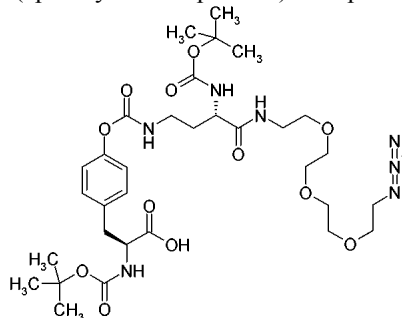


250 мг (0,24 ммоль) соединения из примера 22А растворили в около 5 мл тетрагидрофурана. Добавили 170 мкл (1,22 ммоль) триэтиламина, 48 мкл (1,22 ммоль) муравьиной кислоты и 28 мг (0,024 ммоль) тетраakis(трифенилфосфин)палладия(0). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакцию растворили с около 20 мл воды и дважды извлекли с около 20 мл дихлорметана. Комбинированные органические фазы извлекли с солевым раствором, осушили над натрий сульфатом и сконцентрировали до высыхания при пониженном давлении. Далее исходный продукт очистили с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в колонке С18 с градиентом вода-метанол для выхода 167 мг (65% теории) продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.19$ мин, $m/z = 983$ (M+H)⁺.

¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆, δ/ppm): d = 12.6 (bs, 1H), 8.00 (d, 1H), 7.75 (t, 1H), 7.63 (t, 1H), 7.18-7.37 (m, 19H), 7.12 (d, 1H), 7.08 (s, 1H), 7.00 (d, 2H), 4.31 (m, 1H), 4.06 (m, 1H), 3.93 (m, 1H), 2.92-3.11 (m, 6H), 2.81 (dd, 1H), 2.30 (m, 2H), 2.10 (t, 2H), 1.79 (m, 1H), 1.66 (m, 1H), 1.40-1.54 (m, 3H), 1.37 (s, 9H), 1.32 (s, 9H), 1.23 (m, 2H).

Пример 10. O-({(14S)-1-Азидо-14-[(третбутоксикарбонил)амино]-13-оксо-3,6,9-триокса-12-азагексадекан-16-ил; карбамоил)-N-(трет-бутоксикарбонил)-L-тирозин



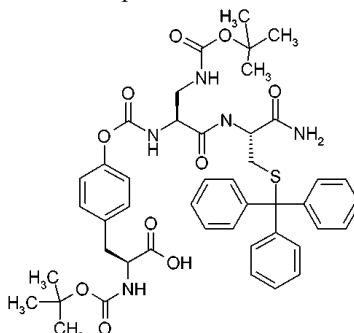
276 г (0,344 ммоль) соединения из примера 23А растворили в около 15 мл тетрагидрофурана. Добавили 235 мкл (1,68 ммоль) триэтиламина, 63 мкл (1,68 ммоль) муравьиной кислоты и 39 мг (0,034 ммоль) тетраakis(трифенилфосфин)палладия(0). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакцию растворили с около 20 мл воды и дважды извлекли с около 20 мл дихлорметана. Комбинированные органические фазы извлекли с солевым раствором, осушили над натрий сульфатом и сконцентрировали до высыхания при пониженном давлении. Далее исходный продукт очистили с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в колонке С18 с градиентом вода-метанол для выхода 167 мг (65% теории) продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 0.98$ мин, $m/z = 726$ (M+H)⁺.

¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆, δ/ppm): d = 7.85 (t, 1H), 7.61 (t, 1H), 7.15 (d, 2H), 6.91-6.99 (m, 3H), 3.96

(m, 1H), 3.86 (bs, 1H), 3.59 (dd, 2H), 3.46-3.57 (m, 9H), 3.40 (m, 4H), 3.13-3.29 (m, 2H), 2.98-3.11 (m, 3H), 2.82-2.92 (m, 1H), 1.79 (m, 1H), 1.66 (m, 1H), 1.38 (s, 9H), 1.34 (s, 9H).

Пример 11. 3-[(трет-Бутоксикарбонил)амино]-N-[(4-{(2S)-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-2-карбоксиил} фенокси)карбонил]-L-аланил-S-третил-L-цистеинамид

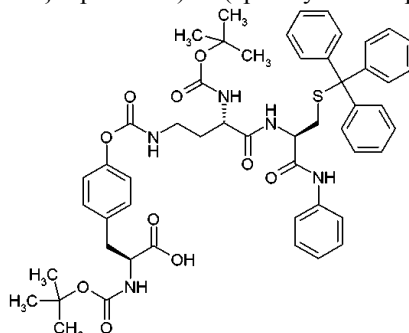


2,38 г (2,03 ммоль) соединения из примера 25А растворили в около 35 мл тетрагидрофурана. Добавили 1,42 (10 ммоль) триэтиламина, 0,38 мл (10 ммоль) муравьиной кислоты и 0,24 г (0,20 ммоль) тетраакис(трифенилфосфин)палладия(0). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакцию растворили с около 20 мл воды и дважды извлекли с около 30 мл дихлорметана. Комбинированные органические фазы извлекли с соевым раствором, осушили над натрий сульфатом и сконцентрировали до высыхания при пониженном давлении. Исходный продукт растворили в дихлорметане и хроматографировали над около 70 мл силикагеля. Использовали такие растворители, как дихлорметан/метанол 10/1 до дихлорметан/метанол 1/1. Содержащие продукт частицы смешали и сконцентрировали до высыхания в условиях пониженного давления для выхода 0,72 г (41% теории) продукта.

LC-MS (метод 1): $R_t = 1.18$ мин $m/z = 855$ (M-H)⁻.

¹H-ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆, δ/ppm): δ = 8.15 (m, 1H), 7.75 (m, 1H), 7.16-7.39 (m, 19H), 6.99 (d, 2H), 6.80 (m, 1H), 4.25 (m, 2H), 4.13 (m, 2H), 4.00 (m, 2H), 2.92-3.12 (m, 3H), 2.81 (m, 1H), 2.40 (m, 2H), 1.38 (s, 9H), 1.32 (s, 9H), 1.10 (m, 4H).

Пример 12. O-({(3S)-4-{{(2R)-1-Анилино-1-оксо-3-(третилсульфанил)пропан-2-ил}амино}-3-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-4-оксобутил}карбамоил)-N-(трет-бутоксикарбонил)-L-тирозин



405 мг (0,41 ммоль) соединения из примера 26А растворили в 10 мл тетрагидрофурана. Добавили 0.29 мкл (2,05 ммоль) триэтиламина, 78 мкл (2,05 ммоль) муравьиной кислоты и 47 мг (0,04 ммоль) тетраакис(трифенилфосфин)палладия(0). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакцию растворили с около 10 мл воды и дважды извлекли с около 10 мл дихлорметана. Комбинированные органические фазы извлекли с соевым раствором, осушили над натрий сульфатом и сконцентрировали до высыхания при пониженном давлении. Далее исходный продукт очистили с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в колонке C18 с градиентом вода-метанол для выхода 306 мг (79% теории) продукта.

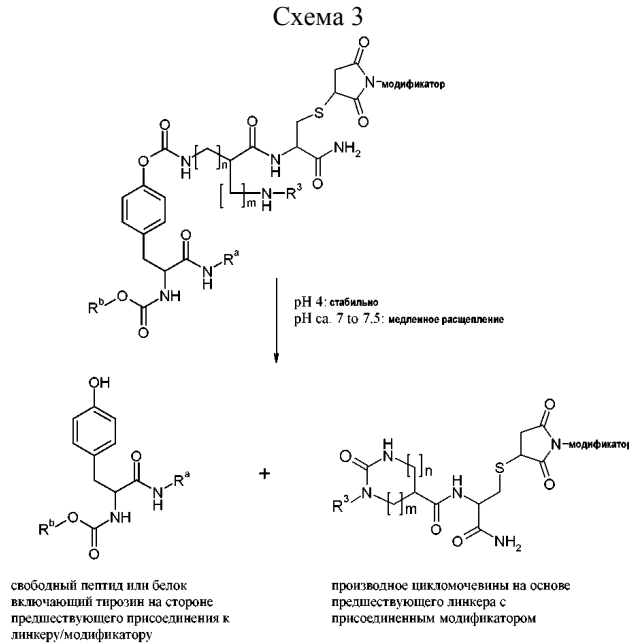
LC-MS (метод 1): $R_t = 1.39$ мин, $m/z = 947$ (M+H)⁺.

¹H-ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆, δ/ppm): δ = 8.08 (d, 1H), 7.60 (m, 1H), 7.55 (m, 1H), 7.28-7.35 (m, 16H), 7.22-7.6 (m, 4H), 7.07 (m, 2H), 6.92 (m, 2H), 4.60 (m, 1H), 4.05 (m, 4H), 2.85-3.20 (m, 4H), 2.80 (m, 1H), 2.45 (m, 2H), 1.85 (m, 1H), 1.66 (m, 1H), 1.35 (d, 18H), 1.28 (m, 2H).

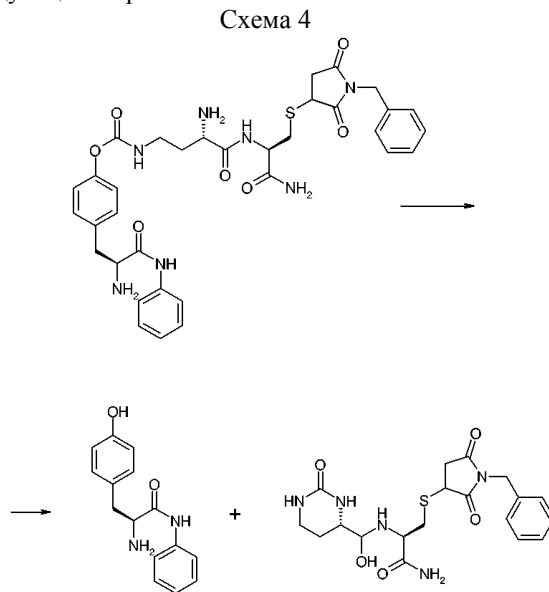
В. Оценка активности линкера носителя.

Пригодность соединений по настоящему изобретению для использования в качестве линкера носителя может иллюстрироваться следующими системами анализа. Для иллюстрации различной кинетики различных линкеров были синтезированы простые производные молекулы на основе тирозина, а также контролировалось расщепление на различных временных отрезках в буферном веществе при pH 4 и 7.4. Образование цикломочевины с сопутствующим высвобождением группы OH свободного тирозина имеет различную кинетику расщепления, основываясь на точном составе структуры линкера на основе тирозина. Это можно легко измерить в искусственных условиях и использовать для прогнозирования кинетики

в естественных условиях. На схеме 3 показан пример распада пролекарства, высвобождающего тирозин, содержащий производное вещества пептида и цикломочевины, основываясь на предыдущем линкере с прикрепленным модификатором.



С примером 1С, O-{{(3S)-3-амино-4-((2R)-1-амино-3-[(1-бензил-2,5-диоксипирролидин-3-ил)сульфанил]-1-оксипропан-2-ил}амино)-4-оксобутил}карбамоил}-N-фенил-L-тирозинамид, реакция расщепления происходит следующим образом.



1) Описание теста (в искусственных условиях).

Для исследования кинетики с учетом стабильности различных линкеров, растворили 0,3 мг сухого пробного соединения в 0,5 мл ацетонитрила. Образец очищали в течение около 10 с для лучшего растворения. Затем добавили 1,0 мл буферных растворов и снова прочистили образцы.

Химический состав используемого раствора/буферного вещества.

pH 4: 1 л дистиллированной воды довели до уровня pH 4 с 1 N соляной кислоты,

pH 7,4: 90 г натрий хлорида, 13,61 г калий дигидроген фосфата и 83,35 г 1 M натрий гидроксидного раствора растворили в 1 л дистиллированной воды. Данный раствор растворили с водой в соотношении 1:10.

Концентрацию пробного соединения анализировали с помощью ВЭЖХ каждый час в течение 24 ч при комнатной температуре. Количество пробного соединения определяли пиковые участки.

Метод ВЭЖХ.

Агилент 1100 с DAD (G1315B), насос для двухкомпонентных смесей (g1312A), автоматический пробозаборник (G1329A), колонный термостат (G1330B), колонка: Кромасил 100 C18/250×4 мм/5 мкм, температура колонки: 30°C, элюент А: вода + 5 мл перхлорная кислота/l, элюент В: ацетонитрил, гради-

ент: 0-1,0 мин 90% А, 10% В; 1,0-20,0 мин 10% А, 90% В; 20,0-21,0 мин 10% А, 90% В; 21,0-23,0 мин 90% А, 10% В; 23,0-25,0 мин 90% А, 10% В; скорость потока: 1,5 мл/мин, обнаружение: 210 нм, вводный объем: 10 мкл.

Результаты расщепления пробного соединения представлены в таблице.

Пример №	% расщепления	% расщепления	% расщепления	% расщепления	% расщепления
	pH 4, 0 ч	pH 4, 24 ч	pH 7,4, 0 ч	pH 7,4, 6 ч	pH 7,4, 24 ч
1С	0	1	0	7	21
2С	0	0	0	6	21
3С	0	0	0	2	11
4С	0	0	0	23	65
5С	0	0	0	75	100
6С	0	0	0	6	20
7С	0	0	0	6	23
8С	0	0	0	6	23
9С	0	0	0	7	25
10Сb	0	0	0	4	14
11С	0	19	0	100	100
12С	0	0	0	29	76

Данные показывают, что пример 11С расщепляется очень быстро, даже при pH 4. Примеры 4С, 5С и 12С расщепляются быстро, в то время как примеры 3С и 10Сb расщепляются медленно. Все оставшиеся имеют среднюю скорость расщепления.

С. Примеры осуществления фармацевтических составов.

Соединения по настоящему изобретению могут быть преобразованы в фармацевтические препараты следующими способами:

i.v. раствор:

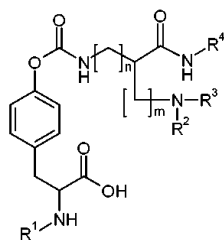
Соединение согласно данному изобретению растворили при концентрации ниже растворимости при насыщении в физиологически допустимом растворителе (например, буферные вещества при pH от 4 до 7, изотонический раствор хлористого натрия, 5% раствор глюкозы и/или 30% раствор PEG 400). Раствор стерилизовали путем фильтрации и влили его в стерильные и апиrogenные контейнеры для инъекций.

s.c. раствор:

Соединение согласно данному изобретению растворили при концентрации ниже растворимости при насыщении в физиологически допустимом растворителе (например, буферные вещества при pH от 4 до 7, изотонический раствор хлористого натрия, 5% раствор глюкозы и/или 30% раствор PEG 400). Раствор стерилизовали путем фильтрации и влили его в стерильные и апиrogenные контейнеры для инъекций.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I)



(I).

в которой n представляет собой число 0, 1, 2 или 3;

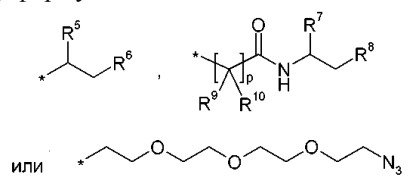
m представляет собой число 0, 1, 2 или 3;

где m и n вместе представляют собой число 1, 2, 3 или 4;

R¹ представляет собой трет-бутилоксикарбонил или (9H-флуорен-9-илметокси)карбонил;

R² представляет собой трет-бутилоксикарбонил;

R^3 представляет собой водород, метил, этил, н-пропил, изопропил или бензил;
 R^4 представляет собой группу формулы



где * означает точку присоединения к азоту;

r представляет собой число 1, 2, 3, 4 или 5;

R^5 представляет собой водород, аминокарбонил, фениламинкарбонил или $-(C=O)NHCH_2(C=O)NH_2$;

R^6 представляет собой -S-третил;

R^7 представляет собой водород или аминокарбонил;

R^8 представляет собой -S-третил;

R^9 представляет собой водород;

R^{10} представляет собой водород,

или его физиологически допустимая соль.

2. Соединение по п.1, отличающееся тем, что

n представляет собой число 2 или 3;

m представляет собой число 0 или

n представляет собой число 0;

m представляет собой число 2 или 3 или

n представляет собой число 0;

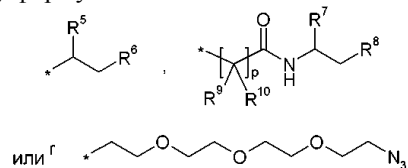
m представляет собой число 1;

R^1 представляет собой трет-бутилоксикарбонил или (9H-флуорен-9-илметокси)карбонил;

R^2 представляет собой трет-бутилоксикарбонил;

R^3 представляет собой водород, метил, этил, н-пропил, изопропил или бензил;

R^4 представляет собой группу формулы



где * означает точку присоединения к азоту;

r представляет собой число 1, 2, 3, 4 или 5;

R^5 представляет собой водород, аминокарбонил, фениламинкарбонил или $-(C=O)NHCH_2(C=O)NH_2$;

R^6 представляет собой -S-третил;

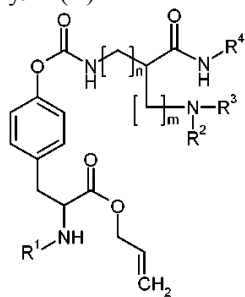
R^7 представляет собой водород или аминокарбонил;

R^8 представляет собой -S-третил;

R^9 представляет собой водород;

R^{10} представляет собой водород.

3. Способ получения соединения формулы (I) или его физиологически допустимой соли по п.1, отличающийся тем, что соединение формулы (II)



в которой n , m , R^1 , R^2 , R^3 и R^4 , каждый, имеют значения, как определено в п.1, вступает в реакцию с соединением, выбранным из тетраакс(трифенилфосфин)палладия(0) и трис-(дипенилиден-ацетон)дипалладия(0), и восстанавливающим агентом, выбранным из муравьиной кислоты и триэтилсилана.

