



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 221 808** ⁽¹³⁾ **C2**

(51) МПК⁷ **C 07 K 5/06, C 07 D 409/12, 403/12, 417/12, 407/12, 413/12, A 61 K 38/05, 31/397, 31/40, A 61 P 7/02**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

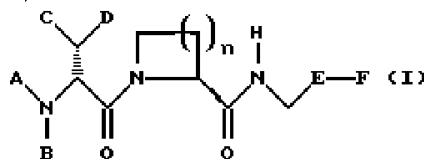
(21), (22) Заявка: 2001121138/04, 29.12.1999
(24) Дата начала действия патента: 29.12.1999
(30) Приоритет: 29.12.1998 KR 1998/60266
14.08.1999 KR 1999/33490
(46) Дата публикации: 20.01.2004
(56) Ссылки: EP 0672658 A1, 20.09.1995. RU
2024549 C1, 15.12.1994. WO 98/47876 A1,
29.10.1998. WO 97/02284 A1, 23.01.1997.
(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную
фазу: 30.07.2001
(86) Заявка РСТ:
KR 99/00830 (29.12.1999)
(87) Публикация РСТ:
WO 00/39124 (06.07.2000)
(98) Адрес для переписки:
129010, Москва, ул. Б. Спасская, 25, стр.3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры", пат.пов. Н.Г.Лебедевой

(71) Заявитель:
ЭЛ ДЖИ ЛАЙФ САЕНСИЗ ЛТД. (KR)
(72) Изобретатель: ЛИ Коо (KR),
ДЗУНГ Вон Хиук (KR), ПАРК Чеол Вон (KR), ЛИ
Санг Коо (KR), ЛИ Сун Хва (KR), ПАРК Хее Донг
(KR)
(73) Патентообладатель:
ЭЛ ДЖИ ЛАЙФ САЕНСИЗ ЛТД. (KR)
(74) Патентный поверенный:
Лебедева Наталья Георгиевна

(54) ИНГИБИТОРЫ ТРОМБИНА

(57)
Изобретение относится к соединениям формулы I, значения радикалов определены в формуле изобретения, и их фармацевтически приемлемым солям. Соединения по изобретению являются ингибиторами тромбина и могут использоваться для модулирования функционирования тромбина, а также в качестве антикоагулянтов.

Соединения также обладают высокой биологической доступностью. 2 с. и 7 з.п. ф-лы, 2 табл.



RU 2 221 808 C2

RU 2 221 808 C2



RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 221 808** ⁽¹³⁾ **C2**

(51) Int. Cl.⁷ **C 07 K 5/06, C 07 D 409/12, 403/12, 417/12, 407/12, 413/12, A 61 K 38/05, 31/397, 31/40, A 61 P 7/02**

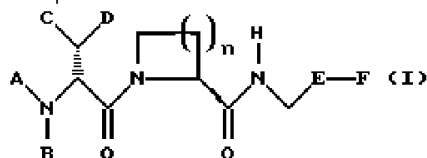
(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 2001121138/04, 29.12.1999
 (24) Effective date for property rights: 29.12.1999
 (30) Priority: 29.12.1998 KR 1998/60266
 14.08.1999 KR 1999/33490
 (46) Date of publication: 20.01.2004
 (85) Commencement of national phase: 30.07.2001
 (86) PCT application:
 KR 99/00830 (29.12.1999)
 (87) PCT publication:
 WO 00/39124 (06.07.2000)
 (98) Mail address:
 129010, Moskva, ul. B. Spasskaja, 25, str.3,
 OOO "Juridicheskaja firma Gorodisskij i
 Partnery", pat.pov. N.G.Lebedevoj

(71) Applicant:
 EhL DZhi LAJF SAENSIZ LTD. (KR)
 (72) Inventor: LI Koo (KR),
 DZUNG Von Khiuk (KR), PARK Cheol Von
 (KR), LI Sang Koo (KR), LI Sun Khva (KR), PARK
 Khee Dong (KR)
 (73) Proprietor:
 EhL DZhi LAJF SAENSIZ LTD. (KR)
 (74) Representative:
 Lebedeva Natal'ja Georgievna

(54) **THROMBIN INHIBITORS**

(57) Abstract:
 FIELD: organic chemistry, biochemistry,
 pharmacy. SUBSTANCE: invention relates to
 compounds of the formula (I)



wherein radical values are determined in the
 invention claim and their pharmaceutically
 acceptable salts. Compounds are inhibitors
 of thrombin and can be used for modulation
 of thrombin function and as anticoagulating
 agents. Compounds show high biological
 availability also. EFFECT: valuable
 biological properties of inhibitors. 9 cl, 2 tbl, 47 ex

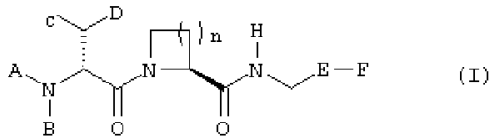
RU 2 221 808 C2

RU 2 221 808 C2

Текст описания в факсимильном виде (см. графическую часть)а

Формула изобретения:

1. Соединение, имеющее формулу I



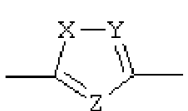
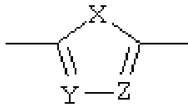
и его фармацевтически приемлемые соли, где n равно 1, 2 или 3;

A обозначает водород, C₁-C₆-алкил, -SO₂R¹, -SO₃R¹, -CO₂R² или -(CH₂)_mCO₂R¹, где R¹ обозначает водород, C₁-C₆-алкил, C₃-C₇-циклоалкил, -(CH₂)_mарил или -NR³R⁴; R² обозначает C₁-C₆-алкил или C₁-C₆-алкенил; m равно 1, 2 или 3; где арил обозначает фенил и R³ и R⁴ независимо означают водород, C₁-C₆-алкил или C₃-C₇-циклоалкил;

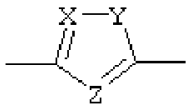
B обозначает водород или C₁-C₆-алкил;

C и D независимо означают водород, фенил, незамещенный или замещенный одним или двумя галогенами, или C₃-C₇-циклоалкил;

E обозначает



или



где X обозначает S, O или NR⁵;

Y и Z независимо означают N или CR⁶, где R⁵ обозначает водород или C₁-C₄-алкил; R⁶ обозначает водород или C₁-C₄-алкил;

F обозначает -C(NH)N(R⁷)₂, -C(NH₂)NN(R⁷)₂ или CH₂N(R⁷), где

R⁷ обозначает водород; при условии, что, когда E обозначает



и F обозначает -C(NH)N(R⁷)₂, исключены соединения,

где n равно 1 или 2;

A обозначает водород, C₁-C₆-алкил, SO₂R¹, -CO₂R² или -(CH₂)_mCO₂R¹; R¹ обозначает водород или C₁-C₆-алкил; R² обозначает C₁-C₆-алкил; R⁵ и R⁶ одновременно не обозначают водород;

B обозначает водород;

C и D независимо означают фенил, незамещенный или замещенный одним или двумя галогенами, или C₃-C₇-циклоалкил.

2. Соединение по п.1, где A выбран из

группы, включающей водород, -SO₂R¹, -SO₃H, -CO₂R² и -(CH₂)_mCO₂R¹, где m, R¹ и R² такие, как указано в п.1.

3. Соединение по п.2, где A выбран из группы, включающей -SO₂NR³R⁴ и -(CH₂)_mCO₂R¹, где m, R¹, R³ и R⁴ такие, как указано в п.1.

4. Соединение по п.2, где A выбран из группы, включающей водород, -SO₂R¹, -CO₂R², -(CH₂)_mCO₂H и -(CH₂)_mCO₂(C₁-C₆-алкил), где m равно 1 или 2, и R¹ обозначает C₁-C₆-алкил, -(CH₂)_mарил или -NR³R⁴, где R³ и R⁴ такие, как указано в п.1.

5. Соединение по п.1, где C и D независимо выбраны из фенила, незамещенного или замещенного одним или двумя галогенами, или циклогексила.

6. Соединение по п.5, где C и D независимо выбраны из фенила или циклогексила.

7. Соединение по п.1, где соединение выбрано из группы, включающей

N-аминсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амид,
N-аминсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-аминометил-2-тиенил)метил]амид,
N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амид,
N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидразоно-2-тиенил)метил]амид,
N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-аминометил-2-тиенил)метил]амид,
N-бензилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амид,
N-трет-бутоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амид,
N-метоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амид,
N-аминсульфонил-D-3,4-дихлорфенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амид,

N-метоксикарбонил-D-дициклогексилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амид,
N-аминсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(4-амидино-2-тиенил)метил]амид,
N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(4-амидино-2-тиенил)метил]амид,
N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(4-аминометил-2-тиенил)метил]амид,
N-метоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(4-амидино-2-тиенил)метил]амид,
N-аминсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-3-тиенил)метил]амид,
N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидразоно-3-тиенил)метил]амид,
N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-аминометил-3-тиенил)метил]амид,
N-метоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-3-тиенил)метил]амид,
N-циклогексилсульфамоил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амид,

N-аллилоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амид,
N-бензилсульфонил-D-циклогексилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амид,
N-циклогексилсульфамоил-D-циклогексилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амид,

ОПИСАНИЕ

Настоящее изобретение относится к ингибиторам тромбина, которые могут использоваться в качестве антикоагулянтов. В частности, данное изобретение относится к пептидным производным, обладающих противотромбической активностью и высокой пероральной биологической доступностью, а также к способу модуляции тромбина, в частности, к способу его ингибирования.

ИЗВЕСТНЫЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Тромбоз характеризуется чрезмерным свертыванием крови. Это состояние играет существенную роль в сердечно-сосудистых и родственных им заболеваниях, и тромботические явления лежат в основе заболеваемости и смертности, связанных с сердечно-сосудистым заболеванием. Тромбоз может вызвать ряд болезненных состояний, характеризующихся участком кровеносного сосуда, на котором образуется тромб.

Тромбин является трипсиноподобной протеазой, которая играет ключевую роль в каскаде коагуляции крови, катализируя превращение фибриногена в нерастворимый фибрин. Этот фермент также активирует фактор V и фактор VIII собственного продуцирования, и к тому же сильно активирует тромбоциты. Поэтому давно признано, что тромбин является основным регулятором тромбоза и гемостаза, и его ингибирование становится основной терапевтической целью при лечении

сердечно-сосудистых заболеваний, таких как инфаркт миокарда, нестабильная ангина, тромбоз глубоких вен и эмболия легких.

Непрямые ингибиторы тромбина, такие как гепарин и варфарин (кумарин), применяют в качестве противотромботических терапевтических средств, однако, с некоторыми ограничениями. Гепарин характеризуется низкой биологической доступностью, и связан с побочными действиями, такими как проблемы кровотечения, кроме того, он не способен ингибировать тромбин, связанный в тромб. Варфарин является эффективным пероральным антикоагулянтом, но он имеет узкое терапевтическое окно, а также требует постоянного контроля за пациентом. Естественный ингибитор протеина, гирудин, может вызывать осложнения в виде кровотечений.

Обычно большинство низкомолекулярных ингибиторов тромбина основаны на пептидах или псевдопептидных матрицах, которые оказывают воздействие путем прямого механизма действия против мишеневого фермента. Как сообщается, одним из первых примеров эффективных ингибиторов тромбина являются трипептидные альдегиды, такие как D-Phe-Pro-Arg-N и Me-D-Phe-Pro-Arg-N (Bajusz et al., J. Med. Chem. 1990, 33, 1729).

Недавно D-Phe-Pro-агматин и его производные были описаны как ингибиторы тромбина в патенте США 4346078 и WO 93/11152 (агматин = 1-амино-4-гуанидинобутан). Эти соединения отличаются от предшествующих трипептидных соединений тем, что в соединениях агматина отсутствует карбонильная группа,

существующая в подобных соединениях, содержащих боковую цепь Arg.

Позднее были описаны некоторые трипептидные ингибиторы тромбина, в которых в положение P1 вместо аргматина включен 4-амидинобензиламиин (WO 94/29336). Сообщается, что эти соединения на основе амидина проявляют хорошую противотромбическую активность (WO 95/23609). Однако этот класс соединений обладает обычно недостаточной или низкой пероральной биологической доступностью.

Описаны некоторые ингибиторы тромбина, несущие уникальную аминокислоту - D-дифенилаланин в положении P3 (WO 93/11152, США 5510369, WO 97/15190). Сообщается, что эти соединения обладают высокой эффективностью действия против тромбина в сравнении с соответствующими аналогами D-фенилаланина. (J. Med. Chem. 1992, 35, 3365; J. Med. Chem. 1997, 40, 830). Кроме того, некоторые соединения этого класса демонстрируют высокую биологическую доступность (J. Med. Chem. 1997, 40, 3687; J. Med. Chem. 1997, 40, 3726).

Показано, что в некоторых ингибиторах тромбина и ингибиторах фактора Ха группы амидинотиофена подходят лучше, чем замещенные пара-бензамидина (WO 95/23609, WO 98/24784, Bioorg. Med. Chem. Lett. 1998, 8, 1683). Кроме того, 2,5-тиофен и другие 5-членные гетероциклические группы эффективно работают в качестве изостеры пара-фенилена в ингибиторах для других ферментов, служащих лекарственной мишенью, таких как тимидилатрет-синтаза и глицинамид-

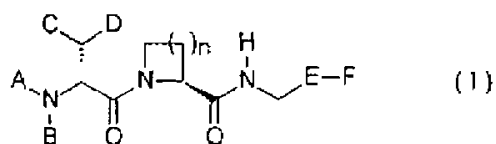
рибонуклеотид-формилтрансфераза (J. Med. Chem. 1991, 34, 1594; Cancer Research 1994, 54, 1021; WO 97/41115).

Таким образом, существует необходимость разработки ингибиторов тромбина, которые обладали бы улучшенной пероральной биологической доступностью и стабильностью по сравнению с вышеуказанными ингибиторами. Авторами найдено, что соединения по данному изобретению, указанные ниже, являются эффективными ингибиторами *in vitro* и *in vivo*. В частности, некоторые соединения по данному изобретению обладают высокой биологической доступностью при пероральном применении.

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к соединениям, описываемых приведенной ниже формулой I и их фармацевтически приемлемым солям, которые модулируют и/или ингибируют сериновую протеазу - тромбин, а также к способу модулирования.

Более конкретно, в одном аспекте изобретение относится к соединениям формулы I:



и его фармацевтически приемлемым солям, где:

n равно 1, 2 или 3;

A обозначает водород, C₁-C₆-алкил, -SO₂R¹, -SO₃R¹, -CO₂R² или -(CH₂)_mCO₂R¹,

где

R^1 обозначает водород, C_1-C_6 -алкил, C_3-C_7 -циклоалкил, $-(CH_2)_m$ арил или $-NR^3R^4$;

R^2 обозначает C_1-C_6 -алкил или C_1-C_6 -алкенил, и

m равно 1, 2 или 3,

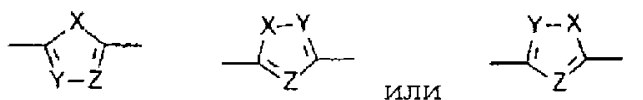
где

арил обозначает фенил, и R^3 и R^4 независимо означают водород, C_1-C_6 -алкил или C_3-C_7 -циклоалкил;

B обозначает водород или C_1-C_6 -алкил;

C и D независимо означают водород, фенил, незамещенный или замещенный одним или двумя галогенами, или C_3-C_7 -циклоалкил;

E обозначает



где

X обозначает S , O или NR^5 , и


Y и Z независимо означают N или CR^6 ,

где

R^5 обозначает водород или C_1-C_4 -алкил, и

R^6 обозначает водород или C_1-C_4 -алкил; и

F обозначает $-C(NH)N(R^7)_2$, $-C(NH_2)NN(R^7)_2$ или $CH_2N(R^7)$, где R^7 обозначает водород;

при условии, что, когда E обозначает  и F обозначает $-C(NH)N(R^7)_2$, исключены соединения,

где

n равно 1 или 2;

A обозначает водород, C₁-C₆-алкил, SO₂R¹, -CO₂R² или -(CH₂)_mCO₂R¹;

R¹ обозначает водород или C₁-C₆-алкил;

R² обозначает C₁-C₆-алкил;

B обозначает водород;

C и D независимо означают фенил, незамещенный или замещенный одним или двумя галогенами, или C₃-C₇-циклоалкил.

Соединения формулы I по изобретению могут быть использованы для опосредования активности трипсиноподобных сериновых протеаз. В частности, соединения могут использоваться для модуляции и/или ингибирования активности трипсиноподобных сериновых протеаз, тем самым обеспечивая лечение тромбоза и других сердечно-сосудистых заболеваний, таких как инфаркт миокарда, нестабильная ангина, тромбофлебит глубоко расположенных вен и эмболия легких.

Предпочтительно, в соединении формулы (I) A выбран из группы, включающей водород, -SO₂R¹, -SO₃H, -CO₂R² и -(CH₂)_mCO₂R¹, где m, R¹ и R² такие, как указано выше.

Более предпочтительно, A выбран из группы, включающей -SO₂NR³R⁴ и -(CH₂)_mCO₂R¹, где m, R¹, R³ и R⁴ такие, как указано выше.

Еще более предпочтительно, A выбран из группы, включающей водород, -SO₂R¹, -CO₂R², -(CH₂)_mCO₂H и -(CH₂)_mCO₂(C₁-C₆-алкил), где m равно 1 или 2, и R¹ обозначает

C_1-C_6 -алкил, $-(CH_2)_n$ арил или $-NR^3R^4$, где R^3 и R^4 такие, как указано выше.

Предпочтительны также соединения, где С и D независимо выбраны из фенила, незамещенного или замещенного одним или двумя галогенами, или циклогексила, особенно, из фенила или циклогексила.

Термины и сокращения, используемые в настоящем описании, имеют общепринятые значения, за исключением особо оговоренных случаев.

Когда в химические структуры включены хиральные углероды, то, если не описана конкретная ориентация, предполагается, что термин охватывает обе стереоизомерные формы.

Типичные защитные группы, реагенты и растворители хорошо известны в данной области. Специалисту хорошо известны возможные защитные группы, реагенты и растворители; предполагается, что все это входит в рамки объема изобретения и приложенных пунктов.

Термин "фармацевтически приемлемая соль" означает соль, которая сохраняет биологическую эффективность свободных кислот или оснований указанного соединения, и которая не является биологически или иным образом неподходящей. Соединение по изобретению может обладать в достаточной степени кислотными, в достаточной степени основными группами или группами обеих функциональностей, и, следовательно, реагировать с любым соединением из числа неорганических или органических оснований, и неорганических или органических

кислот, образуя фармацевтически приемлемую соль. Характерные примеры фармацевтически приемлемых солей включают соли, полученные взаимодействием соединений по настоящему изобретению с неорганической или органической кислотой или неорганическим основанием, такие как соли, включающие сульфаты, пиросульфаты, бисульфаты, сульфиты, бисульфиты, фосфаты, первичные кислые фосфаты, вторичные кислые фосфаты, метафосфаты, пирофосфаты, хлориды, бромиды, йодиды, ацетаты, пропионаты, деканоаты, каприлаты, акрилаты, формиаты, изобутираты, капроаты, гептаноаты, пропиолаты, оксалаты, малонаты, сукцинаты, субераты, себацинаты, fumarаты, малеаты, бутин-1,4-диоаты, гексин-1,6-диоаты, бензоаты, хлорбензоаты, метилбензоаты, динитробензоаты, гидроксibenзоаты, метоксибензоаты, фталаты, сульфонаты, ксиленсульфонаты, фенилацетаты, фенилпропионаты, фенил-бутираты, цитраты, лактаты, -гидроксibuтираты, соли L-2-гидрокислот, тартраты, метансульфонаты, пропансульфонаты, нафталин-1-сульфонаты, нафталин-2-сульфонаты и манделаты.

Некоторые сокращения, используемые в настоящем описании, означают следующее:

Woc:	третбутоксикарбонил
Pro:	пролин
EDC:	1-этил-3-(3-диметиламинопропил) карбо- диимидгидрохлорид
HOBT:	1-гидроксibenзонитрилгидрат
TFA:	трифторуксусная кислота (ТФУ)

AcOH:	уксусная кислота
DMF:	диметилформамид (ДМФ)
EtOAc:	этилацетат
HCl:	хлористый водород
rt:	комнатная температура (комн.т.)
TEA:	триэтиламин
FAB MS:	масс-спектр бомбардировки ускоренными атомами.

Если соединение по изобретению является основанием, желаемая фармацевтически приемлемая соль может быть получена любым подходящим способом, отвечающим требованиям данной области, например, обработкой свободного основания неорганической кислотой, такой как хлористоводородная кислота, бромистоводородная кислота, серная кислота, азотная кислота, фосфорная кислота и тому подобное, или органической кислотой, такой как уксусная кислота, малеиновая кислота, янтарная кислота, миндальная кислота, фумаровая кислота, малоновая кислота, пировиноградная кислота, щавелевая кислота, гликолевая кислота, салициловая кислота, пиранозидиловой кислотой, такой как глюкуроновая кислота или галактуроновая кислота, альфа-гидроксикислотой, такой как лимонная кислота или винная кислота, аминокислотой, такая как аспарагиновая кислота или глутаминовая кислота, ароматической кислотой, такой как бензойная кислота или коричная кислота, сульфоновой кислотой, такой как п-толуолсульфокислота или этансульфокислота, или тому подобное.

Если соединение по изобретению является кислотой, желаемая фармацевтически приемлемая соль может быть получена любым подходящим способом, например, обработкой свободной кислоты неорганическим или органическим основанием, таким как амин (первичный, вторичный или третичный), гидроксид щелочного металла или гидроксид щелочноземельного металла, или тому подобное. Иллюстративные примеры подходящих солей включают органические соли, полученные из аминокислот, таких как глицин и аргинин, аммиака, первичных, вторичных и третичных аминов, и циклических аминов, таких как пиперидин, морфолин и пиперазин, и неорганические соли, полученные из натрия, кальция, калия, магния, марганца, железа, меди, цинка, алюминия и лития.

В случае агентов, которые являются твердыми, специалистам в данной области понятно, что соединения по изобретению и соли могут существовать в различных кристаллических или полиморфных формах, имеется в виду, что все эти формы входят в рамки объема настоящего изобретения и приложенных формул.

Предпочтительные соединения по изобретению включают, но не в порядке ограничения, следующие:

1. N-аминосульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,
2. N-аминосульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-аминометил-2-тиенил) метил] амид,
3. N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-

тиенил) метил] амид,

4. N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидразоно-2-тиенил) метил] амид,

5. N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-аминометил-2-тиенил) метил] амид,

6. N-бензилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

7. N-трет-бутоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

8. N-метоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

9. N-аминосульфонил-D-3,4-дихлорфенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

10. N-метоксикарбонил-D-дициклогексилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

11. N-аминосульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(4-амидино-2-тиенил) метил] амид,

12. N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(4-амидино-2-тиенил) метил] амид,

13. N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(4-аминометил-2-тиенил) метил] амид,

14. N-метоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(4-амидино-2-тиенил) метил] амид,

15. N-аминосульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-3-тиенил) метил] амид,

16. N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-3-

тиенил) метил] амид,

17. N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидразоно-3-тиенил) метил] амид,

18. N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-аминометил-3-тиенил) метил] амид,

19. N-метоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-3-тиенил) метил] амид,

20. N-циклогексилсульфамоил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

21. N-аллилкарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

22. N-бензилсульфонил-D-циклогексилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

23. N-циклогексилсульфамоил-D-циклогексилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

24. N-метилсульфамоил-D-циклогексилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

25. N-метилсульфонил-D-циклогексилглицинил-L-пролил- [(5-амидино-3-тиенил) метил] амид,

26. N- (трет-бутоксикарбонил) метил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

27. N- (трет-бутоксикарбонил) метил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-гидроксиамидино-2-тиенил) метил] амид,

28. N-карбоксиметил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

29. N-метил-N-карбоксиметил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-

амидино-2-тиенил) метил] амид,

30. N-гидроксисульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

31. N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-азетидин-2-карбоксил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

32. N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(4-амидино-5-метил-2-тиенил) метил] амид,

33. N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-фуранил) метил] амид,

34. N-метоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-фуранил) метил] амид,

35. N-аминосульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-3-фуранил) метил] амид,

36. N-аминосульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(4-амидино-2-тиазолил) метил] амид,

37. N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-1-метил-2-пирролил) метил] амид,

38. N-карбоксиметил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-3-тиенил) метил] амид,

39. N-карбоксиметил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(4-амидино-2-тиазолил) метил] амид,

40. N- [2- (метоксикарбонил) этил] -D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид

41. N- (2-карбоксиэтил) -D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

42. N-Вос-D-Дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидразоно-2-

тиенил) метил] амид,

43. D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидразоно-2-тиенил) метил] амид,

44. N-метоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-азетидин-2-карбоксил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

45. N-(2-карбоксиэтил) -D-дифенилаланил-L-азетидин-2-карбоксил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

46. N-карбоксиметил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-гидроксиамидино-2-тиенил) метил] амид,

47. N-(метоксикарбонил) метил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-гидроксиамидино-2-тиенил) метил] амид,

48. D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

49. N-(3-карбоксипропил) -D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

50. N-(MeO)₂P(O) -D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

51. N-(Me)₂P(O) -D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

52. N-(HO)₂P(O) -D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

53. N-метил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

54. N-фенил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

55. N- [(N,N-диэтилкарбоксамидо) метил] -D-дифенилаланил-L-

пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

56. N- [(N,N-диэтилкарбоксамидо) этил] -D-дифенилаланил-L-

пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

57. N-аминосульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиазолил) метил] амид,

58. N-аминосульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(2-амидино-4-тиазолил) метил] амид,

59. N-аминосульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(4-амидино-2-тиазолил) метил] амид,

60. N-аминосульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(2-амидино-5-тиазолил) метил] амид,

61. N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиазолил) метил] амид,

62. N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(2-амидино-4-тиазолил) метил] амид,

63. N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(4-амидино-2-тиазолил) метил] амид,

64. N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(2-амидино-5-тиазолил) метил] амид,

65. N-метоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиазолил) метил] амид,

66. N-метоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(2-амидино-4-тиазолил) метил] амид,

67. N-метоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(4-амидино-2-тиазолил) метил] амид,

68. N-метоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(2-амидино-

5-тиазолил) метил] амид,

69. N-карбоксиметил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиазолил) метил] амид.

70. N-карбоксиметил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(2-амидино-4-тиазолил) метил] амид,

71. N-карбоксиметил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(2-амидино-5-тиазолил) метил] амид,

72. N-аминосульфони́л-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-оксазолил) метил] амид,

73. N-аминосульфони́л-D-дифенилаланил-L-пролил- [(2-амидино-4-оксазолил) метил] амид,

74. N-аминосульфони́л-D-дифенилаланил-L-пролил- [(4-амидино-2-оксазолил) метил] амид,

75. N-аминосульфони́л-D-дифенилаланил-L-пролил- [(2-амидино-5-оксазолил) метил] амид,

76. N-метилсульфони́л-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-оксазолил) метил] амид,

77. N-метилсульфони́л-D-дифенилаланил-L-пролил- [(2-амидино-4-оксазолил) метил] амид,

78. N-метилсульфони́л-D-дифенилаланил-L-пролил- [(4-амидино-2-оксазолил) метил] амид,

79. N-метилсульфони́л-D-дифенилаланил-L-пролил- [(2-амидино-5-оксазолил) метил] амид,

80. N-метоксикарбони́л-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-оксазолил) метил] амид,

81. N-метоксикарбони́л-D-дифенилаланил-L-пролил- [(2-амидино-

4-оксазолил) метил] амид,

82. N-метоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(4-амидино-2-оксазолил) метил] амид,

83. N-метоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(2-амидино-5-оксазолил) метил] амид,

84. N-карбоксиметил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-оксазолил) метил] амид,

85. N-карбоксиметил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(2-амидино-4-оксазолил) метил] амид,

86. N-карбоксиметил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(4-амидино-2-оксазолил) метил] амид,

87. N-карбоксиметил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(2-амидино-5-оксазолил) метил] амид,

88. N-аминосульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(2-амидино-4-изоксазолил) метил] амид,

89. N-аминосульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(4-амидино-2-изоксазолил) метил] амид,

90. N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(2-амидино-4-изоксазолил) метил] амид,

91. N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(4-амидино-2-изоксазолил) метил] амид,

92. N-метоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(2-амидино-4-изоксазолил) метил] амид,

93. N-метоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(4-амидино-2-изоксазолил) метил] амид,

94. N-карбоксиметил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(4-амидино-2-

изоксазолил) метил] амид,

95. N-карбоксиметил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(2-амидино-4-изоксазолил) метил] амид,

96. N-аминосульфони́л-D-дифенилаланил-L-пролил- [(4-амидино-2-пиразолил) метил] амид,

97. N-метилсульфони́л-D-дифенилаланил-L-пролил- [(4-амидино-2-пиразолил) метил] амид,

98. N-метоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(4-амидино-2-пиразолил) метил] амид,

99. N-карбоксиметил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(4-амидино-2-пиразолил) метил] амид,

100. N-аминосульфони́л-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-пирролил) метил] амид,

101. N-аминосульфони́л-D-дифенилаланил-L-пролил- [(4-амидино-2-пирролил) метил] амид,

102. N-аминосульфони́л-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-3-пирролил) метил] амид,

103. N-метилсульфони́л-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-пирролил) метил] амид,

104. N-метилсульфони́л-D-дифенилаланил-L-пролил- [(4-амидино-2-пирролил) метил] амид,

105. N-метилсульфони́л-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-3-пирролил) метил] амид,

106. N-метоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-пирролил) метил] амид,

107. N-метоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(4-амидино-

2-пирролил) метил] амид,

108. N-метоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-3-пирролил) метил] амид,

109. N-карбоксиметил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-пирролил) метил] амид,

110. N-карбоксиметил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(4-амидино-2-пирролил) метил] амид,

111. N-карбоксиметил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-3-пирролил) метил] амид,

112. N-аминосульфонил-D-дициклогексилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

113. N-метилсульфонил-D-дициклогексилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

114. N-карбоксиметил-D-дициклогексилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

115. N-аминосульфонил-D-бис- (пара-метоксифенил) аланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

116. N-метилсульфонил-D-бис- (пара-метоксифенил) аланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

117. N-метоксикарбонил-D-бис- (пара-метоксифенил) аланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

118. N-карбоксиметил-D-бис- (пара-метоксифенил) аланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

119. N-аминосульфонил-D-бис- (пара-аминофенил) аланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

120. N-метилсульфонил-D-бис- (пара-аминофенил) аланил-L-пролил-

[(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

121. N-метоксикарбонил-D-бис- (пара-аминофенил) аланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

122. N-карбоксиметил-D-бис- (пара-аминофенил) аланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

123. N-аминосульфони́л-D-бис- (пара-хлорфенил) аланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

124. N-метилсульфони́л-D-бис- (пара-хлорфенил) аланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

125. N-метоксикарбонил-D-бис- (пара-хлорфенил) аланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид,

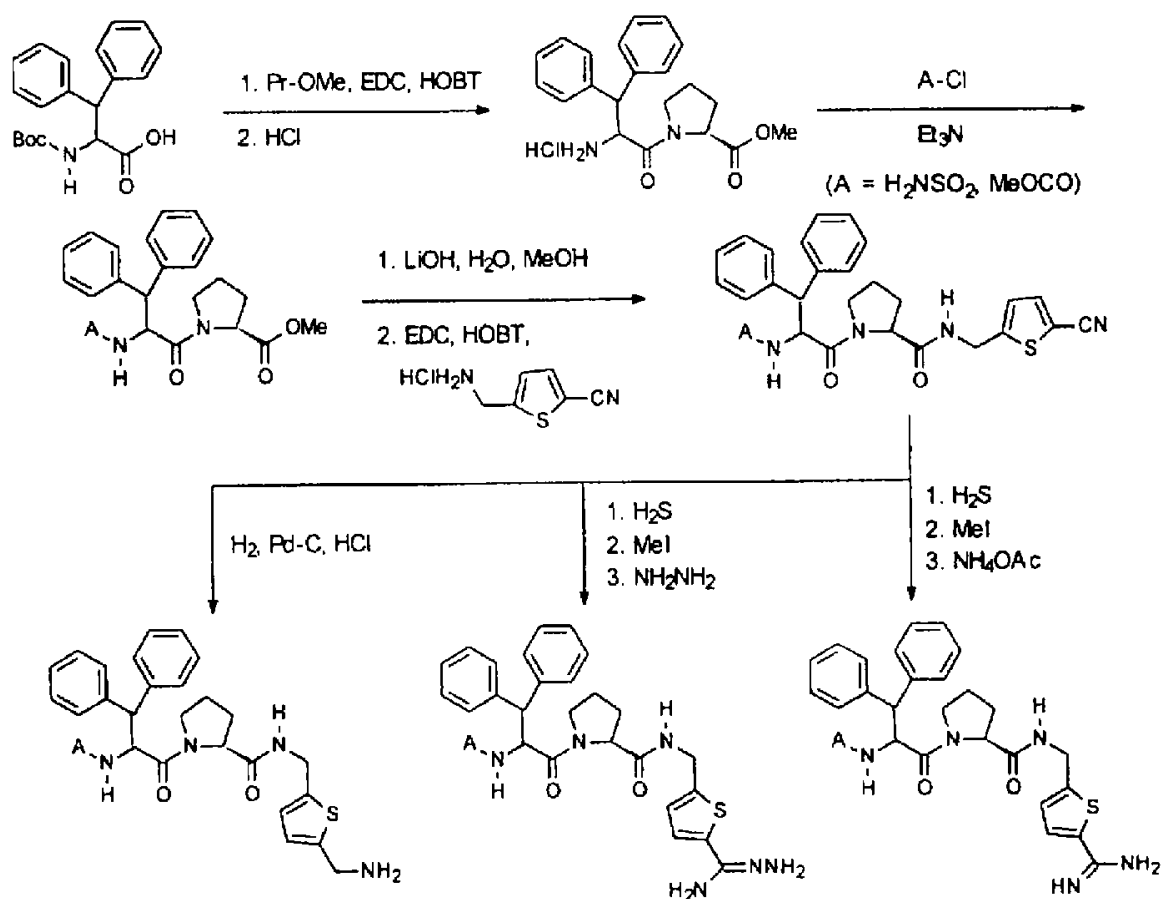
126. N-карбоксиметил-D-бис- (пара-хлорфенил) аланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амид.

Соединения по настоящему изобретению могут быть получены согласно общей методике, кратко изложенной ниже.

Как поясняется примерами 1 и 8 (схема 1), защищенную аминокислоту, такую как N-Вос-D-дифенилаланин, подвергают реакции сочетания с пролинметилловым эфиром, используя сочетающий агент, такой как EDC и НОВТ. Полученный дипептид обрабатывают сильной кислотой, такой как газообразная хлористоводородная кислота или фтористоводородная кислота, для удаления трет-бутоксикарбонильной (Вос) защитной группы. Образующийся свободный амин подвергают взаимодействию с сульфонилирующим реагентом, таким как сульфоамилхлорид, и основанием, таким как триэтиламин. Карбаматрет-содержащие соединения получают, используя хлорформиаты. Затем продукт

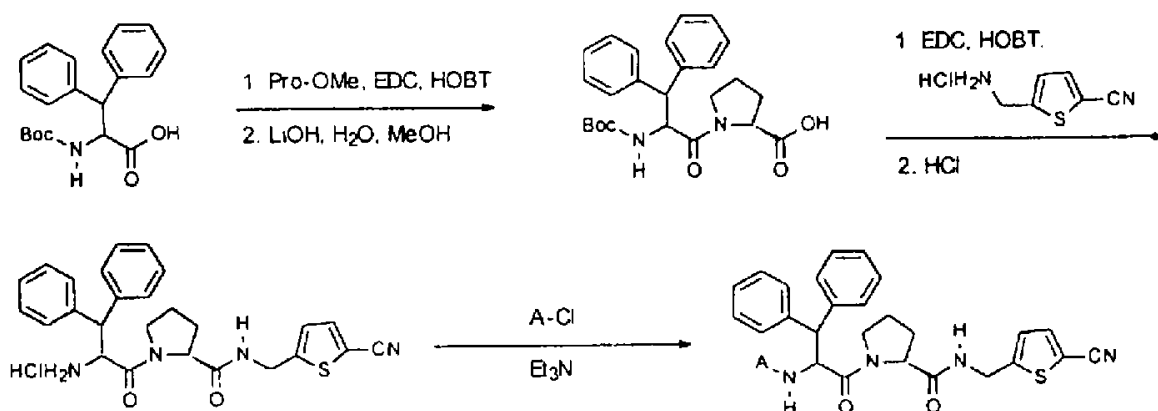
гидролизуют основанием, таким как гидроокись лития, и образующуюся кислоту подвергают реакции сочетания с желаемым амином, таким как 5-(аминометил)тиофен-2-карбонитрил. Продукт сочетания превращают в амидин по трехстадийной реакционной последовательности, включающей последовательную обработку сероводородом, метилйодидом и ацетатом аммония. Соединение амидразона получают обработкой гидразином, вместо ацетата аммония, на конечной стадии. Промежуточный нитрил также превращают в метиламин каталитическим гидрированием в присутствии сильной кислоты, такой как хлористоводородная кислота.

Схема 1



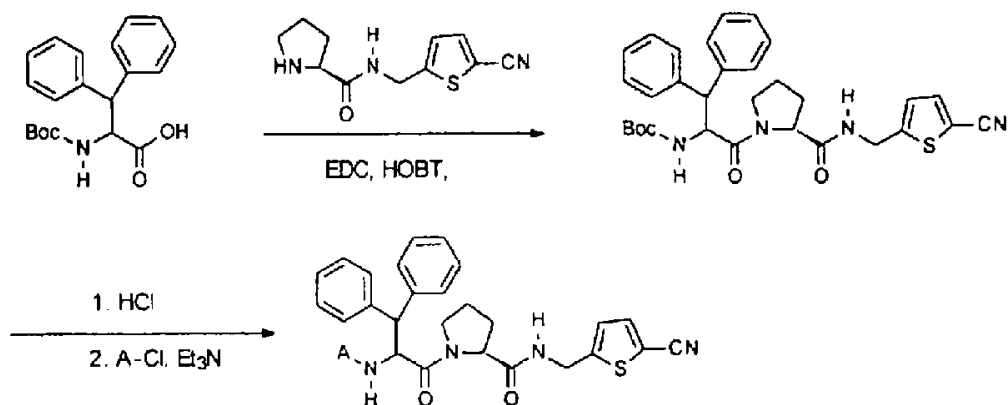
Альтернативный способ, описанный в схеме 2, состоит в гидролизе Boc-защищенного дипептида перед введением функциональной аминогруппы и последующей реакции сочетания полученной кислоты с желаемым амином. Защитную группу продукта сочетания удаляют и свободный амин затем сульфонилируют.

Схема 2



N-Boc-D-дифенилаланин может быть подвергнут реакции сочетания непосредственно со связанным амином пролином, как иллюстрируется примером 32 (схема 3). Затем с продукта снимают защиту и потом сульфонилируют.

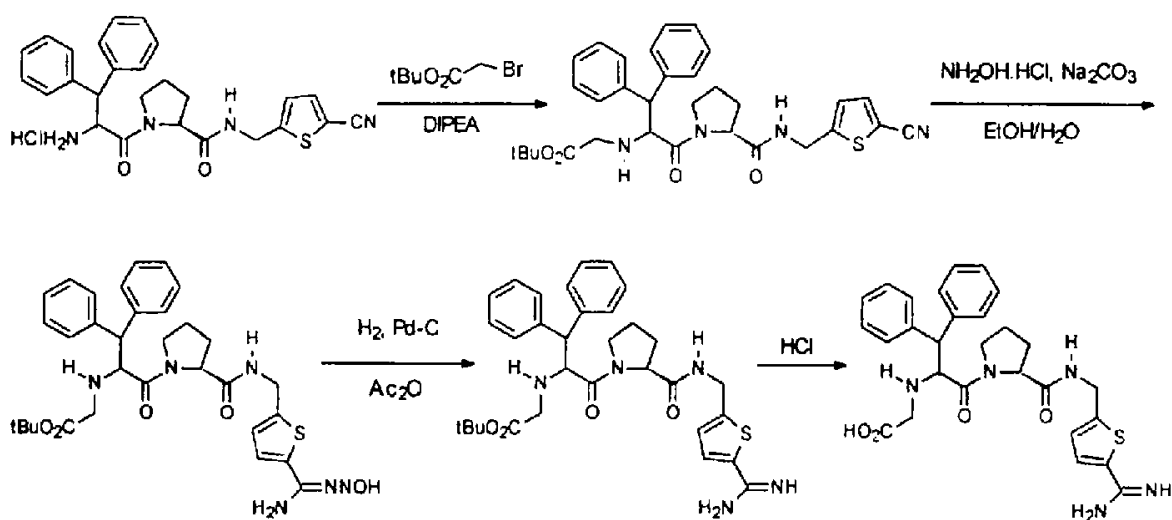
Схема 3



Другой способ синтеза соединений по изобретению, в частности, замещенных N-карбоксиалкилом соединений, такой,

как иллюстрируется примерами 28 и 29 (схема 4). Соединение, содержащее свободную аминогруппу, реагирует с алкилирующим агентом, таким как трет-бутилбромацетат, и основанием, таким как диизопропилэтиламин (DIPEA). Полученное соединение обрабатывают гидроксиламингидрохлоридом в присутствии основания, такого как карбонат натрия, и образующийся амидоксим каталитически гидрируют в присутствии уксусного ангидрида, получая амидин. Трет-бутиловую группу удаляют кислотой, такой как трифторуксусная кислота и хлористоводородная кислота, получая продукт.

Схема 4



Амидное сочетание, используемое для получения соединений по настоящему изобретению, как правило, выполняют карбодимидным способом с реагентами, такими как дициклогексилкарбодимид (DCC) или 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодимид (EDC). Другой способ получения амидной или пептидной связи включает, но не в порядке ограничения, способы синтеза через хлорангидрид, азид, смешанный ангидрид или активированный сложный эфир. Введение и снятие одной или

нескольких защитных групп является стандартным приемом. Способы подходящей защиты и снятия защиты приведены в "Protective Groups in Organic Synthesis", 3rd Edition, by T.W. Green and Peter G.M. Wuts (1999), издатели John Wiley & Sons, Inc.

Реакции амидного сочетания выполняют в инертном органическом растворителе, таком как диметилформамид, диметилацетамид, тетрагидрофуран, дихлорметан, хлороформ и тому подобные общепринятые растворители или смеси подобных растворителей.

Настоящее изобретение касается способов модуляции активности трипсиноподобной сериновой протеазы, например, в тканях млекопитающих, путем введения агента по изобретению. Активность соединений по изобретению в качестве модуляторов активности трипсиноподобной сериновые протеазы, такой как активность тромбина, может быть измерена любым подходящим способом, доступным специалистам в данной области, включая испытания *in vivo* и/или *in vitro*. Эти свойства могут быть, например, оценены использованием одного или нескольких биологических способов тестирования, приведенных ниже в примерах.

Активные агенты по изобретению могут быть включены в состав фармацевтических композиций, как описано ниже. Фармацевтические композиции по данному изобретению включают эффективное модулирующее, регулирующее или ингибирующее количество соединения формулы I и инертный, фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель. В каждом варианте

составления фармацевтических композиций эффективные уровни агентов по изобретению должны быть такими, чтобы обеспечить благоприятное терапевтическое воздействие, включающее модуляцию трипсиноподобных сериновых протеаз. Под "эффективными уровнями" понимаются уровни, при которых действия таких трипсиноподобных сериновых протеаз как тромбин, по меньшей мере, регулируются. Указанные композиции получают в унифицированной лекарственной форме, соответствующей способу введения, например, парентерального или перорального введения.

Композиции по изобретению могут быть получены способами, широко известными для получения фармацевтических композиций, например, использованием общепринятых технических приемов, таких как смешивание, растворение, гранулирование, получение драже, растирание в порошок, эмульгирование, инкапсулирование, улавливание или лиофилизация. Фармацевтические композиции могут быть сформулированы общепринятым способом с применением одного или нескольких физиологически приемлемых носителей, которые могут быть выбраны из наполнителей и вспомогательных веществ, способствующих переработке активных соединений в препараты, которые могут быть использованы в фармации.

Фармацевтические композиции могут также включать подходящие носители или наполнители а твердой или гелевой фазе. Примеры таких носителей или наполнителей включают карбонат кальция, фосфат кальция, сахара, крахмалы,

производные целлюлозы, желатин и полимеры, такие как полиэтиленгликоли. Таким образом, если используется твердый носитель, препарат может быть таблетирован, помещен в твердую желатиновую капсулу в форме порошка или пилюли, или в форме таблетки или лепешки. Количество твердого носителя можно варьировать, но обычно оно составляет приблизительно от 25 мг до 1 г. Если используется жидкий носитель, препарат будет иметь форму сиропа, эмульсии, мягкой желатиновой капсулы, стерильного раствора для инъекции или суспензии в ампуле либо флаконе, или неводной жидкой суспензии.

Для получения устойчивой водорастворимой лекарственной формы фармацевтически приемлемую соль агента по изобретению растворяют в водном растворе органической или неорганической кислоты, таком как 0,3 М раствор янтарной или лимонной кислоты. Если растворимая форма соли не доступна, агент может быть растворен в сорастворителе или комбинации сорастворителей. Примеры подходящих сорастворителей включают, но не в порядке ограничения, спирт, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль 300, полисорбат 80, глицерин или тому подобное в интервале концентраций 0-60% от общего объема. При типичном варианте выполнения изобретения соединение формулы I растворяют в DMSO (DMCO) и разбавляют водой. Композиция может также быть в форме раствора солевой формы активного ингредиента в соответствующем водном растворителе, таком как вода или изотонический солевой раствор, или раствор декстрозы.

Фармацевтическим носителем для гидрофобных соединений является система соразтворителей, включающая бензиловый спирт, неполярный сурфактант, смешиваемый с водой органический полимер и водную фазу. Система соразтворителей может быть VPD-системой соразтворителей. VPD означает раствор 3% м/о бензинового спирта, 8% м/о неполярного сурфактанта-полисорбата 80 и 65% м/о полиэтиленгликоля 300, доведенный до заданного объема абсолютным этанолом. VPD-система соразтворителей (VPD:5W) содержит VPD, разбавленный 1:1 5% раствором декстрозы в воде. Эта система соразтворителей хорошо растворяет гидрофобные соединения и сама по себе проявляет низкую токсичность при системном введении. Естественно, пропорции системы соразтворителей можно значительно варьировать, не нарушая ее показателей растворимости и токсичности. Кроме того, компоненты соразтворителей можно заменять идентичными: например, другие низко-токсичные неполярные сурфактанты могут быть использованы вместо полисорбата 80; размер частиц фракции полиэтиленгликоля может варьироваться; полиэтиленгликоль можно заменить другими биологически совместимыми полимерами, например, поливинилпирролидоном; и другими сахарами или полисахаридами можно заменить декстрозу.

Альтернативно, могут быть использованы другие системы доставки гидрофобных фармацевтических соединений. Липосомы и эмульсии являются известными примерами доставляющих растворителей или носителей для гидрофобных лекарственных

средств. Некоторые органические растворители, такие как диметилсульфоксид, также могут быть использованы, хотя обычно ценой большей токсичности. Кроме того, соединения могут быть доставлены использованием систем замедленного высвобождения, таких как полупроницаемые матрицы из твердых гидрофобных полимеров, содержащие терапевтический агент. Разнообразные материалы для замедленного высвобождения созданы и известны специалистам в данной области. Капсулы для замедленного высвобождения могут, в зависимости от их химической природы, высвобождать соединения от нескольких недель до 100 дней. В зависимости от химической природы и биологической стабильности терапевтического реагента могут быть использованы дополнительные способы стабилизации белка.

Понятно, что фактические дозы агентов, используемые в композициях по изобретению, будут меняться в зависимости от конкретного используемого сочетания, конкретной сформулированной композиции, способа введения и размера частиц, пациента и требующего лечения заболевания. Оптимальные дозировки для данного конкретного состояния устанавливаются специалистами в данной области на основании общепринятых тестов по определению дозы с учетом полученных для агента экспериментальных данных. Типичная обычно используемая суточная доза перорального назначения составляет приблизительно от 0,001 до 1000 мг/кг массы тела, более желательно приблизительно от 0,001 до 50 мг/кг массы тела и наиболее предпочтительно 1-20 мг/кг, при курсах лечения,

повторяемых с соответствующими интервалами. Введение пролекарств обычно осуществляется дозами на уровне масс, химически эквивалентных уровням масс полностью активной формы. Для внутривенного введения наиболее предпочтительны дозы в пределах приблизительно от 0,01 до 10 мг/кг/минута при постоянной скорости вливания. Для удобства ингибиторы тромбина могут быть введены в виде разделенных общих доз за два, три или четыре приема за день. Кроме того, они могут быть введены в интраназальной форме путем местного применения подходящих интраназальных растворителей, либо трансдермальным способом с применением трансдермальных наклеиваемых на кожу пластырей, хорошо известных специалистам в данной области. При введении в форме системы трансдермальной доставки лекарство, конечно же, вводится скорее в непрерывном, чем периодическом режиме.

Терапевтически эффективные количества агентов по изобретению могут быть использованы для лечения болезней, опосредованных модуляцией или регуляцией трипсиноподобной сериновой протеазы. Имеется в виду, что "эффективное количество" означает, что количество агента, вводимого нуждающемуся в таком лечении млекопитающему, достаточно для эффективного лечения заболевания, опосредованного действием одной или нескольких трипсиноподобных сериновых протеаз, таких как тромбин. Таким образом, например, терапевтически эффективное количество соединения формулы I, соли, активного метаболита или пролекарства равно количеству, достаточному для

модуляции, регуляции или ингибирования активности одной или нескольких протеинкиназ, так что заболевание, опосредованное этой активностью, ослабляется или частично снимается.

Количество данного агента, которое будет соответствовать такому количеству, изменяется в зависимости от таких факторов, как конкретное соединение, заболевание и его тяжесть, тождественность (например, масса) нуждающегося в лечении млекопитающего, но, несмотря на это, легко может быть определено специалистами в данной области. Подразумевается, что "лечение" означает, по меньшей мере, ослабление заболевания у млекопитающего, такого как человек, зависящего, по меньшей мере, частично, от активности одной или нескольких трипсиноподобной сериновой протеазы, такой как тромбин, и включает: профилактику развития заболевания у млекопитающего, особенно когда млекопитающее предрасположено к заболеванию, но диагноз не показывает его наличия; модуляцию и/или ингибирование заболевания; и/или частичное снятие симптомов заболевания.

Соответствующий состав зависит от выбранного способа введения. Соединения по изобретению могут быть введены во внутривенной (большая пилюля или вливание), внутрибрюшинной, подкожной или внутримышечной форме, все используемые формы хорошо известны специалистам в области фармации. Эффективное, но не токсическое количество желаемого соединения может быть использовано в качестве средства против агрегации. Для лечения глазного накапливания фибрина соединения могут быть

введены внутрь глаза или местно, а также перорально или парентерально.

Для инъекции агенты по изобретению могут быть сформулированы в водных растворах, предпочтительно в физиологически совместимых буферных растворах, таких как раствор Hanks'а, раствор Ringer'а или физиологический солевой буферный раствор. Для внутримышечного введения в составе используются смачивающие вещества, способные проникать через барьер. Такие смачивающие вещества общеизвестны в данной области.

Соединения перорального назначения легко могут быть сформулированы путем объединения активных соединений с фармацевтически приемлемыми носителями, известными в данной области. Такие носители дают возможность сформулировать соединения по изобретению в виде таблеток, пилюль, драже, капсул, жидкостей, гелей, сиропов, суспензий и тому подобного для приема через рот пациентом в целях лечения. Фармацевтические препараты для перорального применения могут быть получены использованием твердого наполнителя в смеси с активным ингредиентом (агентом), при необязательном растирании образующейся смеси, и переработкой смеси гранул, по желанию, после добавления подходящих вспомогательных средств, с целью получения таблеток или сердцевин драже. Подходящие наполнители включают такие наполнители, как сахара, включающие лактозу, сахарозу, маннит или сорбит; и целлюлозные препараты, например, кукурузный крахмал,

пшеничный крахмал, рисовый крахмал, картофельный крахмал, желатин, камедь, метилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, натрийкарбоксиметилцеллюлозу или поливинилпирролидон (ПВП). По желанию могут быть добавлены дезинтегрирующие средства, такие как сшитый поливинилпирролидон, агар или альгиновая кислота, либо ее соли, такие как альгинат натрия.

На сердцевинные драже наносят подходящие покрытия. С этой целью могут быть использованы концентрированные растворы сахара, которые необязательно могут содержать гуммиарабик, поливинилпирролидон, Carborol-гель, полиэтиленгликоль и/или двуокись титана, растворы глазури и подходящие органические растворители или смеси растворителей. Красители или пигменты могут быть добавлены в оболочки таблеток или драже, чтобы опознавать или отличать различные комбинации активных агентов.

Фармацевтические препараты, которые могут быть использованы перорально, включают вставные капсулы, полученные из желатина, а также мягкие, запаянные капсулы из желатина и пластификатора, такого как глицерин или сорбит. Вставные капсулы могут содержать активные ингредиенты в смеси с наполнителями, такими как лактоза, связующими веществами, такими как крахмалы, и/или смазывающие вещества, такие как тальк или стеарат магния, и, необязательно, стабилизаторы. В мягких капсулах активные ингредиенты могут быть растворены или суспендированы в подходящих жидкостях, таких как жирные масла, вазелин или жидкие полиэтиленгликоли. Кроме того,

могут быть добавлены стабилизаторы. Все составы перорального назначения должны быть в дозировках, подходящих для такого применения. Композиции для щечного применения могут иметь форму таблеток или лепешек, сформулированных общепринятым способом.

Соединения, применяемые по данному изобретению для интраназального введения или ингаляции обычно поставляются в форме аэрозольного спрея, переносимого из упаковок под давлением или ингалятора с помощью подходящего пропеллента, например, дихлордифторметана, трихлорфторметана, дихлортетрафторэтана, двуокиси углерода или другого подходящего газа. В случае аэрозоля под давлением стандартная дозировка может быть отмерена за счет предусмотренного клапана для отпуска дозированного количества. Для использования в ингаляторе или инсуффляторе могут быть сформулированы капсулы и картриджи из желатина, содержащие порошкообразную смесь из соединения и подходящей порошковой основы, такой как лактоза или крахмал.

Соединения могут быть сформулированы для парентерального введения путем инъекций, например, инъекцией ударной дозы вещества или непрерывным вливанием. Составы для инъекции могут быть представлены в стандартной лекарственной форме, например, в ампулах или контейнерах с множественной дозой, с добавленным консервантом. Композиции могут принимать такие формы, как суспензии, растворы или эмульсии в масле или водных разбавителях и могут содержать используемые в рецептуре средства, такие как суспендирующие, стабилизирующие

и/или диспергирующие.

Фармацевтические составы для парентерального применения включают водные растворы активных соединений в водорастворимой форме. Кроме того, суспензии активных агентов могут быть получены в виде соответствующих масляных суспензий для инъекции. Подходящие лиофильные растворители или разбавители включают жирные масла, такие как кунжутное масло, или синтетические эфиры жирных кислот, такие как этилолеат или триглицериды, или липосомы. Водные суспензии для инъекции могут содержать вещества, повышающие вязкость суспензии, такие как натрийкарбоксиметилцеллюлоза, сорбит или декстран. Необязательно, суспензии могут также содержать подходящие стабилизаторы или средства, повышающие растворимость соединений и дающие возможность получения высококонцентрированных растворов.

Либо иначе, активный ингредиент может быть в форме порошка для растворения в подходящем разбавителе, например, в стерильной апиrogenной воде, перед употреблением. Соединения могут также быть сформулированы в ректальные композиции, такие как суппозитории или удерживающие клизмы, например, содержащие общепринятые основы для суппозиториев, такие как масло какао или другие глицериды.

В дополнение к вышеуказанным составам соединения могут также быть сформулированы в виде депо-препарата. Такие составы длительного действия могут быть введены путем имплантации (например, подкожно или внутримышечно) или путем

внутримышечной инъекции. Так, например, соединения могут быть сформулированы с подходящими полимерными или гидрофобными материалами (например, в виде эмульсии в подходящем масле) или ионообменными смолами, или как ограниченно растворимые производные, например, ограниченно растворимая соль.

Ингибиторы тромбина могут также применяться совместно с подходящими антикоагулянтами или противотромбическими средствами, такими как активаторы плазминогена или стрептокиназа, для достижения синергических эффектов в лечении различных патологий сосудов (ascular). Например, ингибиторы тромбина усиливают эффективность опосредованной плазминогенным активатором тромболитической реперфузии ткани. Ингибиторы тромбина могут быть введены первыми после образования тромба, а активатор плазминогена ткани или другой активатор плазминогена вводят потом. Они также могут быть объединены с гепарином, аспирином или варфарином.

Антикоагулянтная терапия показана для лечения и профилактики тромботических состояний, в особенности заболевания коронарной артерии и цереброваскулярного заболевания. Квалифицированным специалистам в данной области хорошо известны случаи, требующие антикоагулянтной терапии. Используемый здесь термин "пациент" принят для обозначения млекопитающих, таких как приматы, включая человека, овец, лошадей, крупный рогатый скот, свиней, собак, кошек, крыс и мышей.

Требуемую при использовании ингибиторов тромбина дозу

подбирают в соответствии с различными факторами, включающими тип, вид, возраст, массу, пол и состояние пациента; тяжесть требующего лечения заболевания; путь введения; функции почек и печени пациента и конкретное используемое соединение или его соль. Врач-специалист или ветеринарный врач легко могут определить и прописать эффективное количество лекарственного средства, требующееся для предупреждения, противостояния или остановки развития заболевания.

Ингибирование тромбина используют не только в антикоагулянтной терапии индивидуумов с тромботическими заболеваниями, но и всякий раз, когда необходимо ингибирование коагуляции крови, как для предотвращения коагуляции консервированной цельной крови, так и для предотвращения коагуляции других биологических проб для тестирования и хранения. Итак, ингибиторы тромбина могут быть добавлены или приведены в контакт с любой средой, в которой содержится или предполагается, что содержится, тромбин и где желательно, чтобы коагуляция крови была ингибирована, например, при контакте крови млекопитающих с материалом, выбранным из группы, включающей сосудистые трансплантаты, стенты, ортопедический протез, сердечные протезы и экстракорпоральные циркуляционные системы.

Агенты по изобретению могут быть получены с применением указанных ниже реакционных способов и синтетических схем, использованием существующих в данной области методик и применением легко доступного исходного материала.

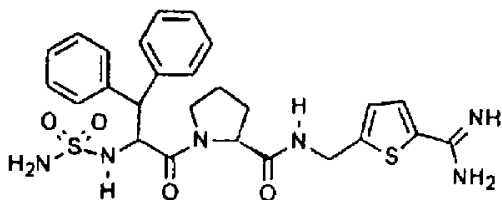
Получение предпочтительных соединений по данному изобретению подробно описано в последующих примерах, но специалисту понятно, что описанные химические реакции легко могут быть адаптированы для получения ряда других ингибиторов протеинкиназы по изобретению. Например, синтез не приведенных в примерах соединений по изобретению может быть успешно осуществлен путем модификаций, очевидных для специалистов в данной области, например, соответствующей защитой мешающих групп, выбором других подходящих реагентов, известных в данной области, или путем стандартных изменений условий реакции. Альтернативно другие реакции, описанные здесь или известные в данной области, будут признаны пригодными для получения дополнительных соединений по изобретению.

В приведенных в экспериментальной части примерах спектров ¹H-ЯМР используются следующие обозначения:

м мультиплет,
с синглет,
д дублет,
дд двойной дублет,
т триплет,
кв квартет,
ушир.с уширенный синглет.

ПРИМЕР 1

Получение N-аминосульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил- [(5-амидино-2-тиенил) метил] амида •ТФУ



А) 5-(Бромметил) тиофен-2-карбонитрил

Смесь 5-метилтиофен-2-карбонитрила (9,9 г, 80,5 ммоль), перекиси бензоила (0,23 г, 0,95 ммоль) и N-бромсукцинимиды (15 г, 84,3 ммоль) в четыреххлористом углероде (200 мл) нагревают до температуры кипения с обратным холодильником в течение 6 ч. Полученную суспензию фильтруют и фильтрат разбавляют дихлорметаном (400 мл), промывают насыщенным раствором бикарбоната натрия, сушат над сульфатом магния и концентрируют в вакууме. Остаток очищают колоночной хроматографией (EtOAc:n-гексан, 1:4), получая указанное в заголовке соединение в виде желтого масла (14,0 г, 86%).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 7,50 (д, 1H), 7,13 (д, 1H), 4,68 (с, 2H).

FAB MS: 203 $[\text{M}+1]^+$

В) 5-(Аминометил) тиофен-2-карбонитрил·HCl

К охлажденному раствору 5-(бромметил) тиофен-2-карбонитрила (4,2 г, 20,8 ммоль) в ТГФ (500 мл) добавляют порциями гидрид натрия (60% дисперсия в масле, 1,0 г, 25 ммоль). К этой суспензии добавляют порциями ди-трет-бутилиминодикарбоксилат (4,9 г, 22,9 ммоль). После перемешивания в течение 3 ч полученный раствор разбавляют этилацетатом (400 мл), промывают водой, сушат над сульфатом магния и концентрируют в вакууме. Остаток очищают колоночной

хроматографией (EtOAc:n-гексан, 1:4), получая 5-(N,N-Вос₂-аминометил)тиофен-2-карбонитрил в виде желтой пены. Этот твердый продукт растворяют в этилацетате (150 мл) и охлаждают до 0°C. Через раствор в течение 10 мин барботируют газообразный HCl и смесь оставляют нагреваться до комнатной температуры. Растворитель удаляют в вакууме, получая указанное в заголовке соединение в виде бледно-желтого твердого вещества (2,4 г, 86%).

¹H-ЯМР (CD₃OD) δ 7,48 (д, 1H), 7,20 (д, 1H), 4,21 (с, 2H)

FAB MS: 175 [M+1]⁺

С) Метилловый эфир N-аминосульфонил-D-дифенилаланил-L-пролина

К перемешиваемому раствору хлорсульфонилоцианата (6,3 г, 45 ммоль) в дихлорметане (25 мл) добавляют по каплям муравьиную кислоту (2,13 г, 45 ммоль). Смесь нагревают до температуры кипения с обратным холодильником в течение 5 ч и охлаждают, получая 1,8 н раствор сульфамойлхлорида в дихлорметане. К охлажденному (0°C) раствору метилового эфира D-дифенилаланил-L-пролина•HCl (2,5 г, 6,47 ммоль) в дихлорметане (100 мл) добавляют 1,8 н раствор сульфамойлхлорида (6 мл) и триэтиламина (2,7 мл). После завершения реакции полученный раствор разбавляют дихлорметаном (40 мл), промывают насыщенным раствором соли, сушат над сульфатом магния и концентрируют в вакууме. Остаток очищают колоночной хроматографией (EtOAc:n-гексан, 2:1), получая указанное в

заголовке соединение (1,88 г, 67%).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 7,38 - 7,20 (м, 4H), 7,18 (м, 6H), 5,85 (д, 1H), 5,29 (с, 2H), 4,95 (дд, 1H), 4,75 (м, 1H), 4,14 (д, 1H), 3,67 (с, 3H), 2,70 (м, 1H), 1,74 (м, 3H), 1,38 (м, 1H).

FAB MS: 431 $[\text{M}+1]^+$

D) N-Аминосульфони́л-D-дифенилалани́л-L-пролин

К суспензии метилового эфира N-аминосульфони́л-D-дифенилалани́л-L-пролина (1,88 г, 4,36 ммоль) в смеси воды (100 мл) и метанола (150 мл) добавляют 0,5 н гидроокись лития (40 мл), и смесь перемешивают в течение ночи при комн.т. Полученный раствор подкисливают до pH 2 добавлением 1 н HCl и растворитель частично удаляют упариванием в вакууме. Осадок собирают фильтрованием, получая указанное в заголовке соединение в виде белого твердого кристаллического вещества (1,68 г, 92%).

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 7,40 (м, 2H), 7,33 (м, 2H), 7,24 (м, 6H), 4,95 (дд, 1H), 4,29 (д, 1H), 4,05 (м, 1H), 3,75 (м, 1H), 2,87 (м, 1H), 1,83 - 1,72 (м, 3H), 1,43 (м, 1H).

FAB MS: 417 $[\text{M}+1]^+$

E) N-Аминосульфони́л-D-дифенилалани́л-L-пролил-[(5-циано-2-тиенил)метил]амид

Смесь N-аминосульфони́л-D-дифенилалани́л-L-пролина (0,2 г, 0,48 ммоль), 5-(аминометил)тиофен-2-карбонитрила $\cdot\text{HCl}$ (0,1 г, 0,57 ммоль), EDC (0,14 г, 0,72 ммоль), НОВТ (0,08 г, 0,62 ммоль) и триэтиламина (0,2 мл, 1,44 ммоль) в ДМФ (2 мл) перемешивают в течение 2 ч при комн.т. Растворитель удаляют в

вакууме, и остаток растворяют в EtOAc и промывают последовательно насыщенным раствором бикарбоната натрия, 1 н HCl и насыщенным раствором соли. Затем раствор сушат над сульфатом магния и концентрируют в вакууме, остаток очищают колоночной хроматографией (EtOAc:н-гексан, 2:1), получая указанное в заголовке соединение (0,2 г, 78%).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 1,38 (м, 1H), 1,50 (м, 1H), 1,92 (м, 2H), 2,61 (м, 1H), 3,63 (м, 1H), 4,12 (м, 1H), 4,40 (м, 2H), 4,52 (м, 1H), 4,89 (м, 1H), 5,25 (м, 2H), 6,87 (м, 1H), 7,15-7,55 (м, 11H).

FAV MS: 537 $[\text{M}+1]^+$

F) N-Аминосульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амид•ТФУ

Раствор связанного соединения, полученного на стадии E (0,2 г, 0,37 ммоль) в пиридине (2 мл) насыщают газообразным H_2S . Смесь оставляют стоять на 1 день, после чего растворитель удаляют в вакууме, получая тиаамид в виде желтого твердого вещества. К этому веществу добавляют ацетон (2 мл) и йодметан (0,07 мл, 1,12 ммоль), и смесь нагревают до температуры кипения с обратным холодильником в течение 1 ч. Затем растворитель упаривают в вакууме, образующийся метилтиоамидат растворяют в ацетонитриле (2 мл). К этому раствору добавляют ацетат аммония (0,09 г, 1,12 ммоль), за 10 мин, и смесь нагревают до температуры кипения с обратным холодильником в течение 1 ч. Раствор охлаждают и концентрируют, и остаток очищают колоночной хроматографией,

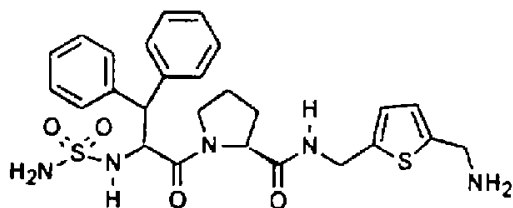
используя 10% метанол в хлороформе, что дает указанное в заголовке соединение, которое дополнительно очищают препаративной ВЭЖХ (градиент ТФУ (0,1%)-H₂O-МеОН). Очищенные фракции лиофилизуют, получая белый твердый продукт (0,15 г, 60%) в виде соли ТФУ.

¹H-ЯМР (CD₃OD) δ 1,46 (м, 1H), 1,62 (м, 1H), 1,73 (м, 1H), 1,85 (м, 1H), 2,90 (м, 1H), 3,76 (м, 1H), 4,05 (кв, 1H), 4,31 (д, 1H), 4,59 (м, 1H), 4,62 (м, 1H), 4,98 (м, 1H), 7,25-7,51 (м, 11H), 7,77 (м, 1H).

FAB MS: 555 [M+1]⁺

ПРИМЕР 2

Получение N-аминосульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-аминометил-2-тиенил) метил] амида • HCl



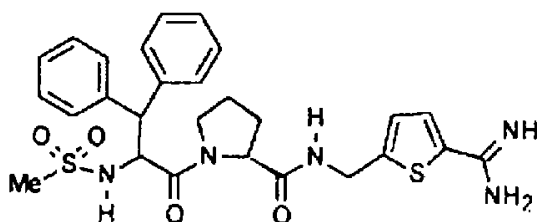
N-Аминосульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-циано-2-тиенил)метил]амид, полученный по примеру 1, стадии E (0,1 г, 0,19 ммоль) растворяют в метаноле (2 мл). К указанному раствору добавляют 10% палладий-на-углероде (100 мг) и 3 капли конц. HCl, и смесь перемешивают в течение 2 дней в атмосфере H₂ (60 фунт/кв.дюйм = 4,22 кг/см²). Реакционную смесь фильтруют через целит и фильтрат концентрируют в вакууме. Остаток очищают препаративной ВЭЖХ (градиент ТФУ (0,1%)-H₂O-МеОН), получая указанное в заголовке соединение (40 мг, 36%) в виде твердого белого вещества.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 1,41 (м, 1H), 1,50 (м, 1H), 1,72 (м, 1H), 1,82 (м, 1H), 2,98 (м, 1H), 3,75 (м, 1H), 4,05 (м, 3H), 4,38 (м, 3H), 4,98 (м, 1H), 7,20-7,51 (м, 12H).

FAB MS: 542 $[\text{M-H}]^+$

ПРИМЕР 3

Получение N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил] амида •ТФУ



А) N-Метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролин

К охлажденному (0°C) раствору метилового эфира D-дифенилаланил-L-пролина •HCl (2 г, 5,67 ммоль) в дихлорметане (100 мл) добавляют метансульфонилхлорид (0,52 мл, 6,8 ммоль) и триэтиламин (3,1 мл, 22,7 ммоль) и смесь перемешивают в течение 2 ч при комн.т. После завершения реакции образующуюся смесь промывают 1 н HCl и затем насыщенным раствором соли, сушат над сульфатом магния и концентрируют в вакууме. Остаток очищают колоночной хроматографией (EtOAc:н-гексан, 1:2), что дает метиловый эфир N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролина (2,1 г, 86%). Указанное соединение затем гидролизуют, в основном, по методике примера 1, стадии D, получая указанное в заголовке соединение (1,8 г, 90%).

^1H -ЯМР (CD_3OD) δ 1,45 (м, 1H), 1,70-1,90 (м, 3H), 2,91 (м, 4H), 3,85 (м, 1H), 4,11 (м, 1H), 4,32 (м, 1H), 4,98 (м, 1H), 7,18-7,42 (м, 10H).

FAV MS: 417 $[\text{M}+1]^+$

В) N-Метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-циано-2-тиенил)метил]амид

Указанное в заголовке соединение получают из N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролина и 5-(аминометил)тиофен-2-карбонитрила.HCl, в основном, согласно способу сочетания примера 1, стадии E; выход 88%.

^1H -ЯМР (CDCl_3) δ 1,45 (м, 2H), 1,72 (м, 1H), 2,06 (м, 1H), 2,56 (м, 1H), 2,80 (с, 3H), 3,61 (м, 1H), 4,28 (м, 1H), 4,36 (д, 1H), 4,50 (м, 2H), 4,83 (м, 1H), 5,44 (м, 1H), 6,96 (м, 1H), 7,22-7,51 (м, 11H).

FAV MS: 537 $[\text{M}+1]^+$

С) N-Метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амид•ТФУ

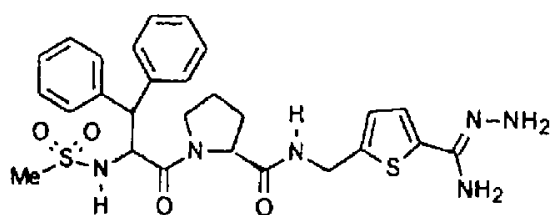
Указанное в заголовке соединение получают из соединения, полученного на стадии В, используя методику, описанную в примере 1, стадии F; выход 54%.

^1H -ЯМР (CD_3OD) δ 1,42 (м, 1H), 1,64 (м, 1H), 1,81 (м, 2H), 2,87 (с, 3H), 2,95 (м, 1H), 3,72 (м, 1H), 4,04 (м, 1H), 4,31 (д, 1H), 4,58 (м, 2H), 5,02 (м, 1H), 7,18-7,42 (м, 9H), 7,50 (м, 2H), 7,78 (м, 1H).

FAV MS: 554 $[\text{M}+1]^+$

ПРИМЕР 4

Получение N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидразоно-2-тиенил)метил]амида •ТФУ



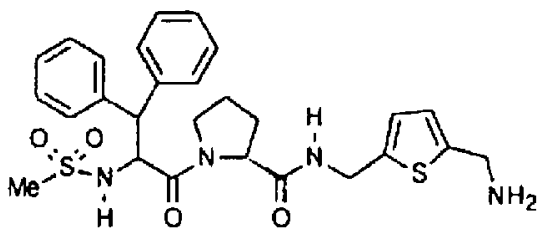
Раствор N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-циано-2-тиенил)метил]амида •ТФУ, полученного по примеру 3, стадии В (0,2 г, 0,37 ммоль) в пиридине (2 мл) насыщают газообразным H_2S . Затем смесь оставляют стоять в течение 1 дня, и растворитель удаляют в вакууме. Полученный желтый твердый продукт растворяют в ацетоне (2 мл) и йодметане (0,07 мл, 1,12 ммоль), и смесь нагревают до температуры кипения с обратным холодильником в течение 1 ч. Затем растворитель упаривают в вакууме, остаток растворяют в ацетонитриле (2 мл). К указанному раствору добавляют 80% гидразин (0,07 мл, 1,12 ммоль) за 10 мин, и смесь перемешивают 1 ч. Раствор концентрируют, и сырой продукт очищают препаративной ВЭЖХ (градиент ТФУ (0,1%)- H_2O -MeOH), получая указанное в заголовке соединение в виде белого твердого вещества (0,14 г, 55%).

1H -ЯМР (CD_3OD) δ 1,39 (м, 1H), 1,52 (м, 1H), 1,80 (м, 2H), 2,92 (м, 4H), 3,69 (м, 1H), 4,03 (м, 1H), 4,31 (д, 1H), 4,50 (м, 2H), 5,02 (м, 1H), 7,02 (м, 1H), 7,21-7,55 (м, 11H).

FAB MS: 569 $[M+1]^+$

ПРИМЕР 5

Получение N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-аминометил-2-тиенил)метил]амида •ТФУ



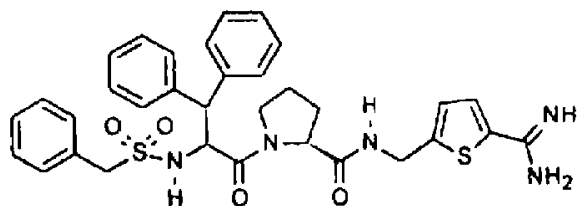
Указанное в заголовке соединение получают из N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-циано-2-тиенил)метил]амида •ТФУ (смотри пример 3, стадию В) в основном используя методику, описанную в примере 2; выход 42%.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 1,47 (м, 1H), 1,60 (м, 1H), 1,79 (м, 2H), 2,84 (с, 3H), 2,93 (м, 1H), 3,71 (м, 1H), 4,03 (м, 1H), 4,31 (м, 3H), 4,46 (м, 2H), 4,98 (м, 1H), 7,25-7,50 (м, 12H).

FAB MS: 541 $[\text{M}+1]^+$

ПРИМЕР 6

Получение N-бензилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амида •ТФУ



А) N-Бензилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролин

Указанное соединение получают тем же способом, что описан в примере 3, стадии А, за тем исключением, что используют бензилсульфонилхлорид вместо метансульфонилхлорида; выход 46%.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 1,40 (м, 1H), 1,68-1,88 (м, 3H), 2,88

(м, 1H), 3,93 (м, 1H), 4,15 (м, 1H), 4,37-4,43 (м, 3H), 5,02 (м, 1H), 7,17-7,48 (м, 15H).

FAB MS: 493 [M+1]⁺

В) N-Бензилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-циано-2-тиенил)метил]амид

Указанное соединение получают из N-бензилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролина, используя методику, описанную в примере 1, стадии Е; выход 85%.

¹H-ЯМР (CDCl₃) δ 1,38 (м, 1H), 1,46 (м, 1H), 1,69 (м, 1H), 2,15 (м, 1H), 2,57 (м, 1H), 3,60 (м, 1H), 3,99 (д, 1H), 4,13 (д, 1H), 4,28 (м, 2H), 4,47 (м, 2H), 4,69 (м, 1H), 4,88 (м, 1H), 6,89 (м, 1H), 7,18 (м, 2H), 7,18-7,52 (м, 14H).

FAB MS: 613 [M+1]⁺

С) N-Бензилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амид•ТФУ

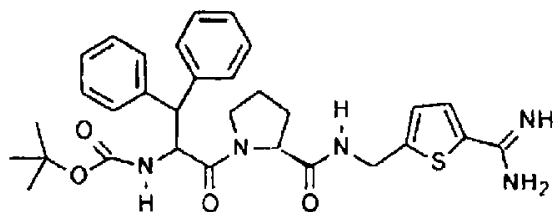
Указанное в заголовке соединение получают из соединения, полученного на стадии В, используя методику, описанную в примере 1, стадии F; выход 45%.

¹H-ЯМР (CD₃OD) δ 1,46 (м, 1H), 1,62 (м, 1H), 1,82 (м, 2H), 3,00 (м, 1H), 3,78 (м, 1H), 4,03 (м, 1H), 4,21 (с, 2H), 4,32 (д, 1H), 4,59 (с, 2H), 5,12 (д, 1H), 7,09 (м, 1H), 7,15-7,45 (м, 15H), 7,57 (м, 1H).

FAB MS: 630 [M+1]⁺

ПРИМЕР 7

Получение N-трет-бутоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амида•ТФУ



А) N-Вос-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амид

К раствору N-Вос-D-дифенилаланил-L-пролина (2 г, 4,8 ммоль) в ДМФ (20 мл) добавляют 5-(аминометил)тиофен-2-карбонитрил·HCl (1 г, 5,7 ммоль, полученный по примеру 1, стадии В), EDC (1,4 г, 7,2 ммоль), НОВТ (0,8 г, 6,2 ммоль) и триэтиламин (2 мл, 14,4 ммоль), и смесь перемешивают в течение ночи при комн.т. Растворитель удаляют в вакууме и остаток растворяют в EtOAc и последовательно промывают насыщенным раствором бикарбоната натрия, 1 н HCl и насыщенным раствором соли. Затем раствор сушат над сульфатом магния и концентрируют в вакууме, остаток очищают колоночной хроматографией (EtOAc:н-гексан, 2:1), получая указанное в заголовке соединение (2,3 г, 86%).

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 7,44 (м, 2H), 7,21 (м, 1H), 4,98 (с, 2H), 4,40 (м, 2H), 3,79 (м, 1H), 3,10-2,97 (м, 3H), 2,17-1,88 (м, 3H), 1,74 (м, 1H).

FAB MS: 558 $[\text{M}+1]^+$

В) N-трет-Бутоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амид·ТФУ

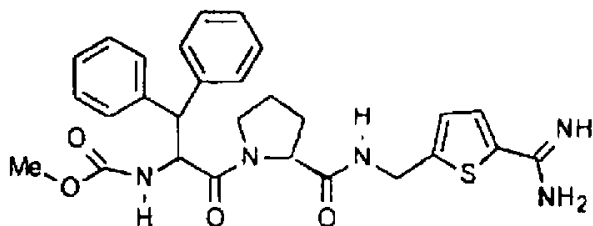
Указанное в заголовке соединение получают из соединения, полученного на стадии А, используя методику, описанную в примере 1, стадии F; выход 54%.

^1H -ЯМР (CD_3OD) δ 7,78 (д, 1H), 7,45 (м, 2H), 7,22 (м, 1H), 7,16 (д, 1H), 4,94 (с, 2H), 4,59 (с, 2H), 4,40 (м, 2H), 3,81 (м, 1H), 3,09 (м, 1H), 2,96 (м, 2H), 1,98

FAV MS: 576[M+1]⁺

ПРИМЕР 8

Получение N-метоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил] амида •ТФУ



А) D-Дифенилаланил-L-пролил-[(5-циано-2-тиенил)метил] амид •HCl

К охлажденному раствору N-вос-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-циано-2-тиенил)метил] амида, полученного по примеру 7, стадии А (0,2 г, 0,37 ммоль) в метаноле (20 мл) добавляют порциями ацетилхлорид (2 мл). После перемешивания в течение 3 ч при комн.т., раствор удаляют досуха, получая указанное в заголовке соединение в виде белого твердого вещества (0,271 г, 100%).

^1H -ЯМР (CDCl_3) δ 8,52 (м, 1H), 7,55-7,12 (м, 11H), 6,84 (д, 1H), 4,77 (д, 1H), 4,57 (д, 1H), 4,50 (дд, 1H), 4,23 (д, 1H), 4,18 (дд, 1H), 3,77 (т, 1H), 2,43 (кв, 1H), 1,94 (м, 1H), 1,62 (м, 1H), 1,48 (м, 1H), 1,30 (м, 1H)

FAV MS: 459 [M+1]⁺

В) N-Метоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-циано-2-

тиенил) метил] амид

D-Дифенилаланил-L-пролил-[(5-циано-2-тиенил)метил]-амид•HCl (0,271 г) растворяют в дихлорметане (2 мл) и охлаждают до 0°C. К указанному раствору добавляют триэтиламин (0,22 мл, 1,59 ммоль) и метилхлорформиата (0,04 мл, 0,67 ммоль), и смесь перемешивают при комн.т. в течение 2 ч. Раствор концентрируют, и остаток очищают колоночной хроматографией (EtOAc:n-гексан. 2:1), получая указанное в заголовке соединение (0,18 г, 67%).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 1,50 (м, 1H), 1,67 (м, 1H), 1,88 (м, 2H), 3,01 (м, 1H), 3,20 (с, 3H), 3,81 (м, 1H), 4,09 (м, 1H), 4,29 (д, 1H), 4,55 (м, 1H), 4,63 (м, 1H), 4,93 (м, 1H), 5,18 (м, 1H), 7,12-7,54 (м, 11H), 7,68 (м, 1H).

FAB MS: 516 [M+1]⁺

C) N-Метоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амид

Указанное в заголовке соединение получают из соединения, полученного на стадии В, в основном используя методику, примера 1; стадии F; выход 63%.

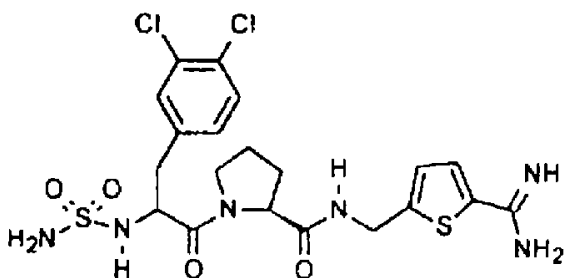
$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 1,49 (м, 1H), 1,65 (м, 1H), 1,85 (м, 2H), 2,91 (м, 1H), 3,30 (с, 3H), 3,84 (м, 1H), 4,07 (м, 1H), 4,36 (м, 1H), 4,52 (м, 1H), 4,66 (м, 1H), 5,14 (м, 1H), 7,18-7,52 (м, 11H), 7,81 (м, 1H).

FAB MS: 533 [M+1]⁺

ПРИМЕР 9

Получение N-аминосульфонил-D-3,4-дихлорфенилаланил-L-пролил-

[(5-амидино-2-тиенил) метил] амида •ТФУ



А) N-Аминосульфони́л-D-3,4-дихлорфенилалани́л-L-пролин

Указанное в заголовке соединение получают из метилового эфира D-3,4-дихлорфенилалани́л-L-пролина (смотри J. Med. Chem. 1997, 40, 3726), используя методику, описанную в примере 1, стадиях С и D; выход 60%.

^1H -ЯМР (CD_3OD) δ 1,30 (м, 1H), 1,74 (м, 1H), 1,88-1,93 (м, 2H), 2,78 (м, 3H), 3,71 (м, 1H), 4,30-4,42 (м, 2H), 5,23 (м, 1H), 7,11-7,42 (м, 3H).

FAV MS: 410 $[\text{M}+1]^+$

В) N-Аминосульфони́л-D-3,4-дихлорфенилалани́л-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил) метил] амид •ТФУ

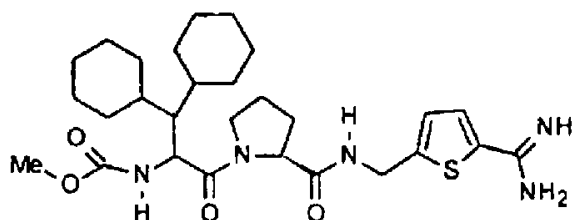
Указанное в заголовке соединение получают из соединения, полученного по стадии А, применяя методику, описанную в примере 1, стадиях Е и F; выход 32%.

^1H -ЯМР (CD_3OD) δ 1,38 (м, 1H), 1,67 (м, 1H), 1,84-2,01 (м, 2H), 2,84 (м, 2H), 3,02 (м, 1H), 3,88 (м, 1H), 4,25-4,52 (м, 4H), 7,18-7,62 (м, 5H).

FAV MS: 547 $[\text{M}+1]^+$

ПРИМЕР 10

Получение N-метоксикарбонил-D-дициклогексилалани́л-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил) метил] амида •ТФУ



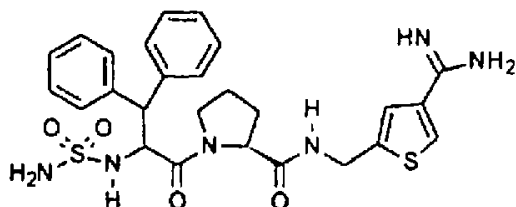
Указанное в заголовке соединение получают из метилового эфира D-дициклогексилаланил-L-пролина·HCl (смотри J. Med. Chem. 1997, 40, 3726), используя методику, описанную в примере 7, стадии А и примере 8; выход 24%.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 1,09-2,18 (м, 27H), 3,19-3,34 (м, 4H), 3,92 (м, 1H), 4,21-4,52 (м, 3H), 5,05 (м, 1H), 7,47 (м, 1H), 7,71 (м, 1H).

FAB MS: 546 $[\text{M}+1]^+$

ПРИМЕР 11

Получение N-аминосульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(4-амидино-2-тиенил)метил] амида·ТФУ



А) 4-Бром-2-(гидроксиметил)тиофен

4-Бромтиофен-2-карбоксальдегид (4 г, 18,8 ммоль) растворяют в смеси дихлорметан/метанол (9/1, о/о, 100 мл) и раствор охлаждают до 0°C. К полученному раствору добавляют натрийборгидрид (0,35 г, 94 ммоль), и смесь перемешивают в течение 3 ч при комн.т. Реакционную смесь нейтрализуют, добавляя 1 н HCl, экстрагируют дихлорметаном, и экстракты сушат над сульфатом магния и концентрируют в вакууме. Остаток

очищают колоночной хроматографией (EtOAc:n-гексан, 1:4), получая указанное в заголовке соединение (3,5 г, 97%).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 4,52 (с, 2H), 7,19 (м, 1H), 7,42 (м, 1H).

FAB MS: 194 $[\text{M}+1]^+$

В) 2-(Гидроксиметил)тиофен-4-карбонитрил

Смесь 4-бром-2-(гидроксиметил)тиофена (3,5 г, 18,1 ммоль) и цианида одновалентной меди (2,5 г, 28,2 ммоль) в ДМФ (100 мл) нагревают до температуры кипения с обратным холодильником в течение 6 ч. Реакционную смесь разбавляют дихлорметаном (100 мл), промывают водным аммиаком, сушат над сульфатом магния и концентрируют в вакууме. Остаток очищают колоночной хроматографией (EtOAc:n-гексан, 2:1), получая указанное в заголовке соединение (1,88 г, 75%).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 4,46 (с, 2H), 7,12 (м, 1H), 7,46 (м, 1H).

FAB MS: 140 $[\text{M}+1]^+$

С) 2-(Бромметил)тиофен-4-карбонитрил

К охлажденному (0°C) раствору 2-(гидроксиметил)тиофен-4-карбонитрила (1,14 г, 8,2 ммоль) в дихлорметане (50 мл) добавляют трифенилфосфин (2,8 г, 10,6 ммоль) и четырехбромистый углерод (3,3 г, 9,9 ммоль). После перемешивания в течение 3 ч при комн.т. растворитель удаляют в вакууме и остаток подвергают хроматографии, используя EtOAc и n-гексан (1:4), что дает указанное в заголовке соединение (1,6 г, 96%).

^1H -ЯМР (CDCl_3) δ 4,38 (с, 2H), 7,15 (м, 1H), 7,40 (м, 1H).

FAB MS: 203 $[\text{M}+1]^+$

D) 2-(Аминометил)тиофен-4-карбонитрил $\cdot\text{HCl}$

Указанное соединение получают из 2-(бромметил)тиофен-4-карбонитрила (1,6 г, 8,0 ммоль), используя методику, описанную в примере 1, стадии В; выход 80%.

^1H -ЯМР (CD_3OD) см δ (м, 1H).

FAB MS: 139 $[\text{M}+1]^+$

E) N-Аминосульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(4-амидино-2-тиенил)метил]амид $\cdot\text{TfO}$

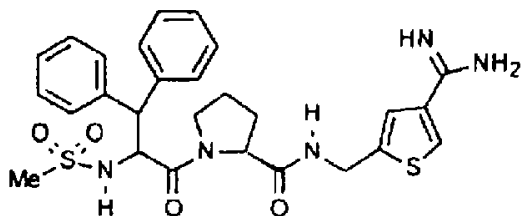
Указанное соединение получают из 2-(аминометил)тиофен-4-карбонитрила $\cdot\text{HCl}$ и N-аминоссульфонил-D-дифенилаланил-L-пролина, используя методику, описанную в примере 1, стадиях E и F; выход 40%.

^1H -ЯМР (CD_3OD) δ 1,47 (м, 1H), 1,65 (м, 1H), 1,74 (м, 1H), 1,89 (м, 1H), 2,92 (м, 1H), 3,86 (м, 1H), 4,15 (м, 1H), 4,31 (м, 1H), 4,61 (м, 2H), 4,99 (м, 1H), 7,25-7,51 (м, 11H), 7,77 (м, 1H).

FAB MS: 555 $[\text{M}+1]^+$

ПРИМЕР 12

Получение N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(4-амидино-2-тиенил)метил]амида $\cdot\text{TfO}$



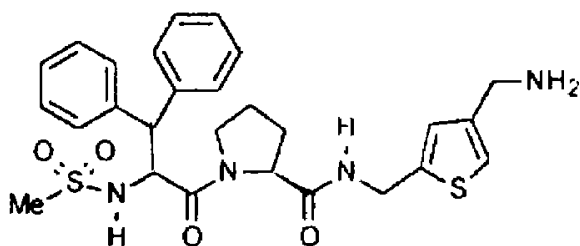
Указанное соединение получают из N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролина (пример 3, стадия А) и 2-(аминометил)тиофен-4-карбонитрила·HCl (пример 11, стадия D), в основном используя методику примера 1; стадий Е и F; выход 59%.

^1H -ЯМР (CDCl_3) δ 1,51 (м, 1H), 1,64 (м, 1H), 1,92 (м, 2H), 2,91-3,01 (м, 4H), 3,72 (м, 1H), 4,12 (м, 1H), 4,28 (д, 1H), 4,55 (м, 2H), 5,07 (м, 1H), 7,18-7,52 (м, 11H), 7,74 (м, 1H).

FAB MS: 554 $[\text{M}+1]^+$

ПРИМЕР 13

Получение N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(4-аминометил-2-тиенил)метил] амида·HCl



Указанное соединение получают из N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(4-циано-2-тиенил)метил] амида (пример 12), используя методику примера 2; выход 38%.

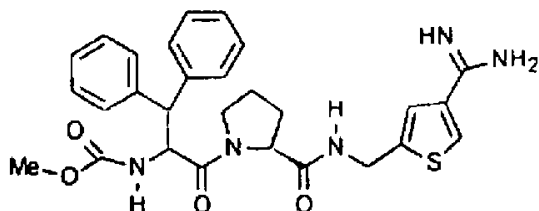
^1H -ЯМР (CD_3OD) δ 1,42 (м, 1H), 1,65 (м, 1H), 1,81 (м, 2H), 2,78 (с, 3H), 2,90 (м, 1H), 3,82 (м, 1H), 4,11 (м, 1H),

4,35 (м, 3H), 4,45 (м, 2H), 5,02 (м, 1H), 7,20-7,55 (м, 12H).

FAB MS: 541 [M+1]⁺

ПРИМЕР 14

Получение N-метоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(4-амидино-2-тиенил) метил] амида •ТФУ



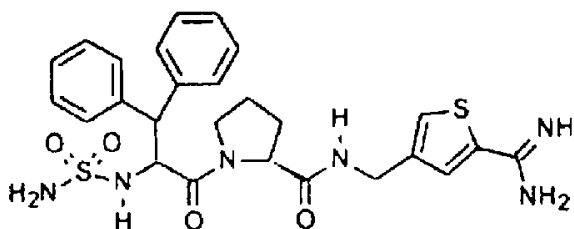
Указанное соединение получают из N-Вос-D-дифенилаланил-L-пролина и 2-(аминометил)тиофен-4-карбонитрила •HCl (пример 11, стадия D), используя методику, описанную в примере 1, стадиях E и F; выход 32%.

¹H-ЯМР (CD₃OD) δ 1,49 (м, 1H), 1,65 (м, 1H), 1,82 (м, 2H), 2,92 (м, 1H), 3,45 (с, 3H), 3,83 (м, 1H), 4,07 (м, 1H), 4,36 (м, 2H), 4,59 (м, 1H), 5,14 (м, 1H), 7,18-7,48 (м, 11H), 7,75(м, 1H).

FAB MS: 516 [M+1]⁺

ПРИМЕР 15

Получение N-аминосульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-3-тиенил) метил] амида •ТФУ



А) 2-Йодтиофен-4-карбоксальдегид

К раствору 3-тиофенкарбоксальдегида (500 мг, 4,46 ммоль)

в смеси 1:1 уксусной кислоты и воды (10 мл) добавляют 95% серной кислоты (0,31 мл). К полученной смеси последовательно добавляют HIO_4 (305 мг, 1,34 ммоль) и йод (680 мг, 2,67 ммоль), и смесь перемешивают 3 ч при 60°C . После завершения реакции добавляют водный раствор NaHSO_3 (6 мл), смесь подщелачивают до pH 12 добавлением 10 н NaOH и экстрагируют дихлорметаном. Экстракты сушат над сульфатом магния и концентрируют в вакууме. Остаток очищают колоночной хроматографией ($\text{EtOAc}:\text{n-гексан}$, 3:97), получая указанное в заголовке соединение (390 мг, 37%).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 9,76 (с, 1H), 8,08 (д, 1H), 7,68 (д, 1H).

FAB MS: 239 $[\text{M}+1]^+$

В) 4-(Гидроксиметил)-2-йодтиофен

Раствор 2-йодтиофен-4-карбоксальдегида (5 г, 21 ммоль) в метаноле (100 мл) охлаждают до 0°C . К полученному раствору добавляют боргидрид натрия (1,2 г, 31,5 ммоль), и смесь перемешивают 30 мин при 0°C . Реакцию гасят добавлением насыщенного раствора хлорида аммония и концентрируют. Остаток растворяют в EtOAc , промывают насыщенным раствором соли, сушат над сульфатом магния и концентрируют в вакууме. Сырой продукт очищают колоночной хроматографией ($\text{EtOAc}:\text{n-гексан}$, 1:4); выход 4,53 г (90%).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 7,15 (с, 2H), 4,52 (с, 2H).

FAB MS: 241 $[\text{M}+1]^+$

С) 4-(Гидроксиметил)тиофен-2-карбонитрил

Указанное соединение получают из 4-(гидроксиметил)-2-йодтиофена (1,2 г, 5 ммоль), используя методику, описанную в примере 11, стадии А; выход 536 мг (77%).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 7,58 (с, 1H), 7,48 (с, 1H), 4,47 (с, 2H).

FAB MS: 140 $[\text{M}+1]^+$

D) 4-(Бромметил)тиофен-2-карбонитрил

Указанное соединение получают из 4-(гидроксиметил)тиофен-2-карбонитрила (536 мг, 3,85 ммоль), используя методику, описанную в примере 11, стадии С; выход 754 мг (97%).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 7,59 (с, 1H), 7,49 (с, 1H), 4,89 (с, 2H).

FAB MS: 203 $[\text{M}+1]^+$

E) 4-(Аминометил)тиофен-2-карбонитрил $\cdot\text{HCl}$

Указанное соединение получают из 4-(бромметил)тиофен-2-карбонитрила (188 мг, 4,7 ммоль), используя методику, описанную в примере 1, стадии В; выход 231 мг (95%).

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 7,75 (с, 1H), 7,64 (с, 1H), 4,65 (с, 2H).

FAB MS: 139 $[\text{M}+1]^+$

F) N-Аминосульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-3-тиенил)метил]амид $\cdot\text{TfU}$

Указанное соединение получают из 4-(аминометил)тиофен-2-карбонитрила $\cdot\text{HCl}$ и N-аминоссульфонил-D-дифенилаланил-L-пролин, используя методику, описанную в примере 1, стадиях Е и F;

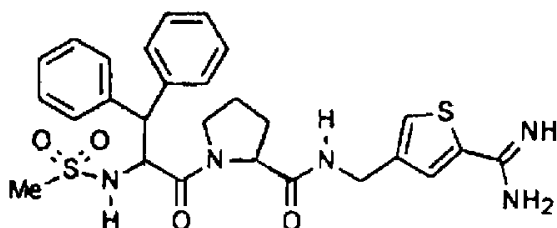
ВЫХОД 41%.

^1H -ЯМР (CD_3OD) δ 7,83 (д, 1H), 7,82 (д, 1H), 7,43 (м, 2H), 7,36 (м, 2H), 7,24 (м, 6H), 4,45 (дд, 1H), 4,32 (д, 1H), 4,21 (дд, 1H), 4,04 (м, 1H), 3,76 (м, 1H), 2,88 (м, 1H), 1,83-1,45 (м, 4H).

FAB MS: 555 $[\text{M}+1]^+$

ПРИМЕР 16

Получение N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-3-тиенил) метил] амида •ТФУ



А) N-Метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-циано-3-тиенил) метил] амид

Указанное соединение получают из N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролина (пример 3, стадия А) и 4-(аминометил) тиофен-2-карбонитрила •HCl (пример 15, стадия Е), используя методику, описанную в примере 1, стадии Е; выход 89%.

^1H -ЯМР (CDCl_3) δ 7,60 (д, 1H), 7,38 (м, 5H), 7,23 (м, 6H), 4,81 (дд, 1H), 4,39-4,36 (м, 3H), 4,23 (м, 1H), 3,58 (м, 1H), 2,83 (с, 3H), 2,55 (м, 1H), 1,70 (м, 2H), 1,41 (м, 2H).

FAB MS: 537 $[\text{M}+1]^+$

В) N-Метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-3-тиенил) метил] амид •ТФУ

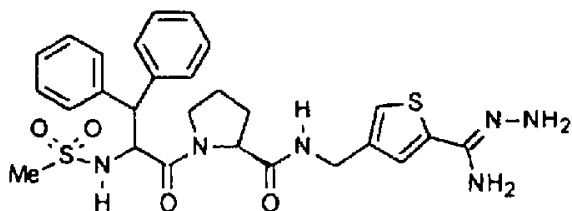
Указанное соединение получают из соединения, полученного на стадии А, используя методику, описанную в примере 1, стадии F; выход 53%.

^1H -ЯМР (CD_3OD) δ 7,62 (д, 1H), 7,51 (д, 1H), 7,54-7,23 (м, 10H), 4,99 (д, 1H), 4,39 (м, 4H), 4,11 (дд, 1H), 3,78 (м, 1H), 2,95 (м, 1H), 2,90 (с, 3H), 1,82-1,43 (м, 4H).

FAB MS: 554 $[\text{M}+1]^+$

ПРИМЕР 17

Получение N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидразоно-3-тиенил)метил]амида•ТФУ



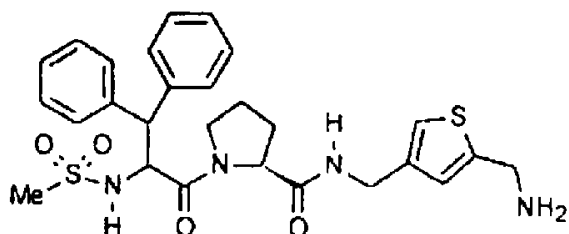
Указанное соединение получают из N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-циано-3-тиенил)метил]амида (пример 16, стадия А), используя методику, описанную в примере 4; выход 63%.

^1H -ЯМР (CD_3OD) δ 7,52 (д, 1H), 7,42 (д, 1H), 7,34-7,10 (м, 10H), 4,99 (д, 1H), 4,29 (м, 3H), 4,00 (дд, 1H), 3,68 (м, 1H), 3,27 (м, 1H), 2,91 (м, 1H), 2,80 (с, 3H), 1,79-1,32 (м, 4H).

FAB MS: 569 $[\text{M}+1]^+$

ПРИМЕР 18

Получение N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-аминометил-3-тиенил)метил]амида•ТФУ



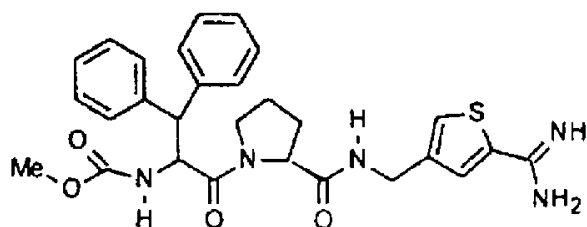
Указанное соединение получают из N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-циано-3-тиенил)метил]амида (пример 16, стадия А), используя методику, описанную в примере 2; выход 75%.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 7,47 (д, 2H), 7,36 (м, 2H), 7,26 (м, 6H), 6,93 (д, 1H), 6,87 (д, 1H), 5,00 (д, 1H), 4,44 (с, 2H), 4,30 (м, 2H), 4,12 (с, 2H), 3,79 (м, 1H), 2,92 (м, 1H), 2,85 (с, 3H), 1,78-1,32 (м, 4H).

FAB MS: 541 $[\text{M}+1]^+$

ПРИМЕР 19

Получение N-метоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-3-тиенил)метил]амида • ТФУ



Указанное соединение получают из N-Вос-D-дифенилаланил-L-пролина и 4-(аминометил)тиофен-2-карбонитрила • HCl (пример 15, стадия Е), используя методику, описанную в примере 7; стадии А, а затем пример 8; выход 47%.

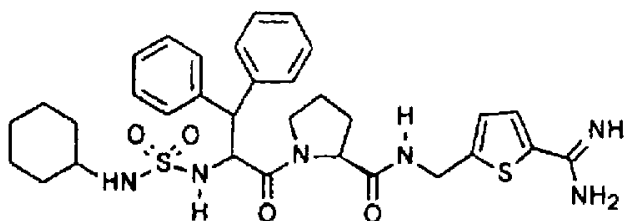
$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 1,48 (м, 1H), 1,61 (м, 1H), 1,83 (м, 2H), 2,92 (м, 1H), 3,45 (с, 3H), 3,81 (м, 1H), 4,08 (м, 1H),

4,37 (д, 1H), 4,55 (кв, 2H), 5,15 (м, 1H), 7,15-7,49 (м, 12H).

FAV MS: 516 [M+1]⁺

ПРИМЕР 20

Получение N-циклогексилсульфамоил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил) метил] амида •ТФУ



А) Циклогексилсульфамоилхлорид

К раствору циклогексилсульфаминовой кислоты (5 г, 27,9 ммоль) в бензоле (30 мл) добавляют по каплям фосфорпентахлорид (6,4 г, 30,7 ммоль), и смесь нагревают до температуры кипения с обратным холодильником в течение 4 ч. Затем растворитель удаляют, остаток перегоняют при пониженном давлении, получая указанное в заголовке соединение (5 г, 91%).

В) N-циклогексилсульфамоил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил) метил] амид •ТФУ

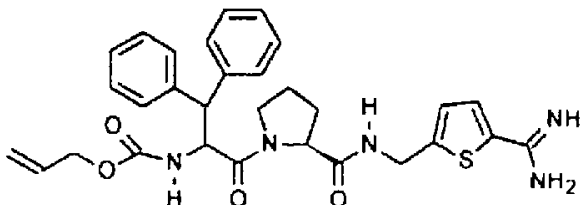
Указанное соединение получают из циклогексилсульфамоилхлорида в основном по методике примера 3; выход 41%.

¹H-ЯМР (CD₃OD) δ 7,76 (д, 1H), 7,49-7,10 (м, 10H), 7,03 (д, 1H), 4,97 (м, 1H), 4,60 (дд, 1H), 4,50 (дд, 1H), 4,30 (д, 1H), 4,04 (м, 1H), 3,85 (м, 1H), 3,05 (м, 1H), 2,73 (м, 1H), 1,86 (м, 3H), 1,75 (м, 2H), 1,55 (м, 3H), 1,28-1,00 (м, 6H).

FAB MS: 637 [M+1]⁺

ПРИМЕР 21

Получение N-аллилоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амида •ТФУ



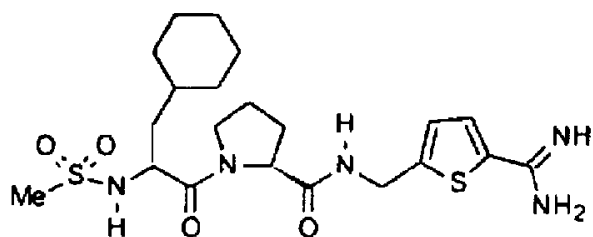
Указанное соединение получают из аллилхлорформиата в основном по методике примера 8; выход 56%.

¹H-ЯМР (CD₃OD) δ 7,79 (д, 1H), 7,41-7,18 (м, 10H), 7,12 (д, 1H), 5,74 (м, 1H), 5,15 (д, 2H), 5,08 (д, 1H), 4,86 (дд, 1H), 4,65 (м, 1H), 4,53 (дд, 1H), 4,36 (д, 2H), 4,23 (дд, 1H), 4,09 (дд, 1H), 3,81 (м, 1H), 2,92 (м, 1H), 1,85-1,49 (м, 4H).

FAB MS: 560 [M+1]⁺

ПРИМЕР 22

Получение N-метилсульфонил-D-циклогексилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амида •ТФУ



Указанное соединение получают из метилового эфира D-циклогексилаланил-L-пролина в основном по методике примера 3; выход 41%.

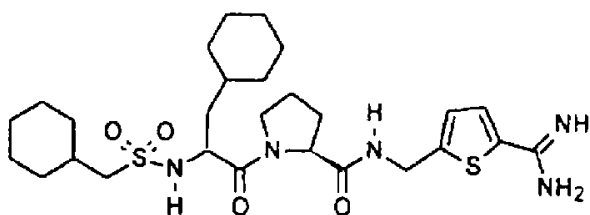
¹H-ЯМР (CD₃OD) δ 7,77 (д, 1H), 7,18 (д, 1H), 5,05 (м,

1H), 4,58 (м, 2H), 4,41 (дд, 1H), 4,30 (дд, 1H), 3,85 (м, 1H), 3,39 (м, 1H), 2,85 (с, 3H), 2,23 (м, 1H), 2,12-1,15 (м, 15H), 1,10 (м, 2H).

FAB MS: 484 [M+1]⁺

ПРИМЕР 23

Получение N-бензилсульфонил-D-циклогексилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амида•ТФУ



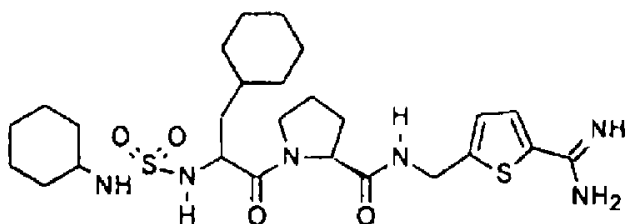
Указанное соединение получают из метилового эфира D-циклогексилаланил-L-пролина•HCl и бензилсульфонилхлорида, используя методику, описанную в примере 3; выход 45%.

¹H-ЯМР (CD₃OD) δ 7,68 (д, 1H), 7,52-7,30 (м, 5H), 7,12 (д, 1H), 4,98 (м, 1H), 4,56 (с, 2H), 4,42 (д, 1H), 4,32 (д, 1H), 4,22 (д, 1H), 4,12 (м, 1H), 3,77 (м, 1H), 3,46 (м, 1H), 2,21 (м, 1H), 2,04 (м, 3H), 1,92-1,12 (м, 11H), 0,95 (м, 2H).

FAB MS: 560 [M+1]⁺

ПРИМЕР 24

Получение N-циклогексилсульфоамид-D-циклогексилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амида•ТФУ



Указанное соединение получают из D-циклогексилаланил-L-

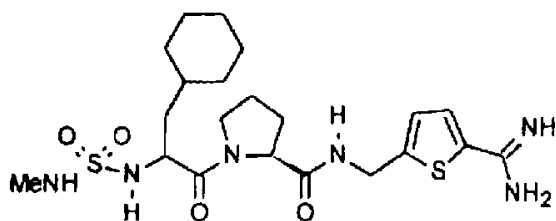
пролина•НСl и циклогексилсульфамоилхлорида, используя методику, описанную в примере 3; выход 39%.

^1H -ЯМР (CD_3OD) δ 7,43 (д, 1H), 6,95 (д, 1H), 4,62 (м, 3H), 4,45 (дд, 1H), 4,27 (м, 1H), 4,12 (м, 1H), 3,42 (м, 1H), 3,22 (м, 1H), 2,37 (м, 1H), 2,20-1,10 (м, 24H), 0,91 (м, 2H).

FAB MS:567 $[\text{M}+1]^+$

ПРИМЕР 25

Получение N-метилсульфамоил-D-циклогексилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амида•ТФУ



А) Метилсульфамоилхлорид

Указанное соединение получают из метилсульфаминовой кислоты (5 г, 45,9 ммоль), используя методику, описанную в примере 20, стадии А; выход 70%.

В) N-Метилсульфамоил-D-циклогексилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амид•ТФУ

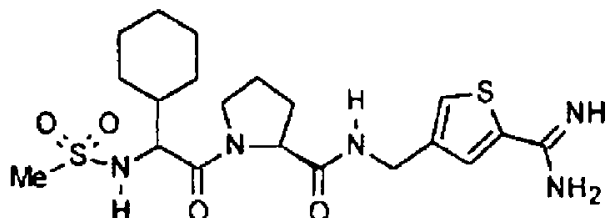
Указанное соединение получают из D-циклогексилаланил-L-пролина•НСl и метилсульфамоилхлорида, используя методику, описанную в примере 3; выход 30%.

^1H -ЯМР (CD_3OD) δ 7,84 (д, 1H), 7,20 (д, 1H), 4,59 (м, 2H), 4,42 (м, 1H), 4,18 (м, 1H), 3,92 (м, 1H), 3,55 (м, 1H), 2,53 (с, 3H), 2,22 (м, 1H), 2,02 (м, 3H), 1,91-1,15 (м, 11H), 1,01 (м, 2H).

FAB MS: 499 [M+1]⁺

ПРИМЕР 26

Получение N-метилсульфонил-D-циклогексилглицинил-L-пролил-
[(5-амидино-3-тиенил) метил] амида •ТФУ



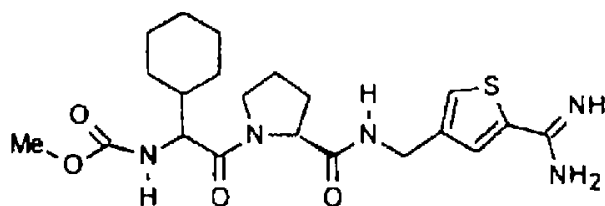
Указанное соединение получают из метилового эфира D-циклогексилглицинил-L-пролина •HCl и 4-(аминометил)тиофен-2-карбонитрила •HCl (пример 15, стадия F), в основном по методике примера 3; выход 46%.

¹H-ЯМР (CD₃OD) δ 7,85 (с, 1H), 7,84 (с, 1H), 4,45 (дд, 1H), 4,37 (д, 2H), 4,01 (д, 1H), 3,89 (м, 1H), 3,68 (м, 1H), 2,90 (с, 3H), 2,24-1,05 (м, 14H).

FAB MS: 470 [M+1]⁺

ПРИМЕР 27

Получение N-метоксикарбонил-D-циклогексилглицинил-L-пролил-
[(5-амидино-3-тиенил) метил] амида •ТФУ



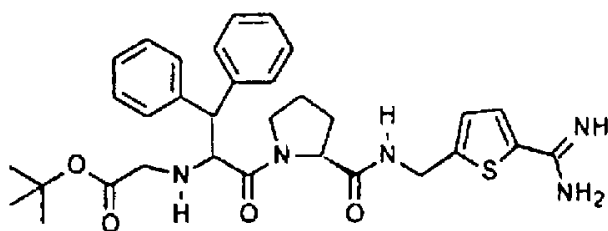
Указанное соединение получают из N-Вос-D-циклогексил-глицинил-L-пролина и 4-(аминометил)тиофен-2-карбонитрила •HCl (пример 15, стадия F), в основном по методикам примера 7, стадии А и примера 8; выход 42%

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 7,82 (с, 1H), 7,75 (с, 1H), 4,55 (д, 2H), 4,48 (д, 1H), 4,33 (д, 1H), 4,14 (д, 1H), 4,02 (м, 1H), 3,69 (м, 1H), 3,39 (с, 3H), 2,40-1,05 (м, 14H).

FAV MS:450 $[\text{M}+1]^+$

ПРИМЕР 28

Получение N-(трет-бутоксикарбонил)метил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амида \cdot 2AcOH



А) N-(трет-Бутоксикарбонил)метил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-циано-2-тиенил)метил]амид

К охлажденному (0°C) раствору D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-циано-2-тиенил)метил]амида \cdot HCl, полученного по примеру 8, стадии А, (3,03 г, 6,06 ммоль) в ацетонитриле (60 мл) добавляют диизопропилэтиламин (4,22 мл, 24,24 ммоль) и трет-бутилбромацетат (4,22 мл, 9,09 ммоль), и смесь перемешивают 2 дня при комн.т. Затем реакционную смесь концентрируют в вакууме, остаток очищают колоночной хроматографией

(EtOAc:n-гексан, 7:3), получая указанное в заголовке соединение (2,51 г, 72%).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 8,12 (т, 1H), 7,37 (м, 5H), 7,19 (м, 5H), 6,93 (д, 1H), 4,61 (дд, 1H), 4,49 (дд, 1H), 4,25 (д, 2H), 4,12 (дд, 1H), 3,24 (с, 2H), 2,67 (м, 1H), 2,07 (м, 1H),

1,67 (м, 1H), 1,43 (м, 2H), 1,37 (с, 9H), 1,25 (м, 1H).

FAB MS: 573 [M+1]⁺

В) N-(трет-Бутоксикарбонил)метил-D-дифенилаланил-L-пролил-
[(5-гидроксиамидино-2-тиенил)метил]амид

К раствору соединения, полученного по стадии А (2,31 г, 4,03 ммоль), в смеси этанола и воды 4:1 (60 мл) добавляют гидроксиламингидрохлорид (1,04 г, 14,91 ммоль) и карбонат натрия (726 мг, 6,85 ммоль), и смесь нагревают до температуры кипения с обратным холодильником 1 ч. Затем реакционную смесь концентрируют в вакууме, остаток разбавляют EtOAc, промывают насыщенным раствором соли, сушат над сульфатом магния и концентрируют в вакууме, получая указанное в заголовке соединение (2,36 г, 96%).

¹H-ЯМР (CD₃OD) δ 8,13 (т, 1H), 7,42-7,35 (м, 4H), 7,27-7,11 (м, 6H), 7,01 (д, 1H), 6,83 (д, 1H), 4,87 (с, 1H), 4,56 (дд, 1H), 4,44 (дд, 1H), 4,27 (м, 3H), 3,32 (м, 1H), 3,25 (дд, 1H), 2,73 (м, 2H), 1,80-1,42 (м, 4H), 1,41 (с, 9H).

FAB MS: 606 [M+1]⁺

С) N-(трет-Бутоксикарбонил)метил-D-дифенилаланил-L-пролил-
[(5-амидино-2-тиенил)метил]амид•2AcOH

Соединение, полученное на стадии В (2,36 г, 3,89 ммоль), растворяют в метаноле (45 мл). К указанному раствору добавляют 10% палладий-на-углероде (240 мг), уксусный ангидрид (0,74 мл, 7,78 ммоль), и смесь перемешивают в течение 8 ч в атмосфере Н₂ (1 атм). Реакционную смесь фильтруют через целит и фильтрат концентрируют в вакууме.

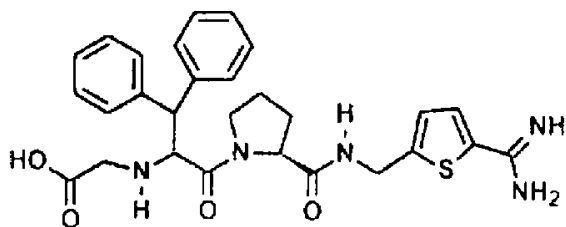
Остаток очищают препаративной ВЭЖХ (градиент H₂O-МеОН), получая указанное в заголовке соединение (1,6 г, 70%).

¹H-ЯМР (CD₃OD) δ 7,81 (д, 1H), 7,59 (д, 2H), 7,44 (т, 2H), 7,35-7,16 (м, 7H), 4,98 (д, 1H), 4,61 (с, 2H), 4,44 (д, 1H), 4,06 (м, 1H), 3,62 (кв, 2H), 3,62 (дд, 1H), 2,91 (м, 1H), 1,77 (м, 3H), 1,47 (с, 9H), 1,35 (м, 1H).

FAV MS: 590 [M+1]⁺

ПРИМЕР 29

Получение N-карбоксиметил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил) метил] амида • 2ТФУ



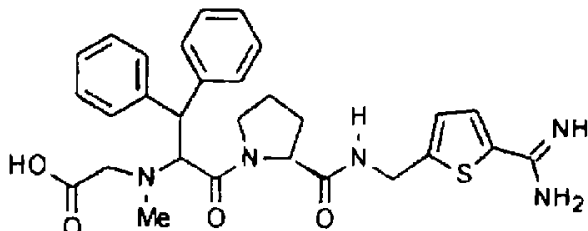
К охлажденному (0°C) раствору N-(трет-бутоксикарбонил)метил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил) метил] амида • 2AcOH (1,4 г, 2,37 ммоль, смотри пример 28) в дихлорметане (15 мл) добавляют ТФУ (15 мл), и смесь перемешивают 3,5 ч. Затем реакционную смесь концентрируют в вакууме, остаток очищают препаративной ВЭЖХ (градиент ТФУ (0,1%)-H₂O-МеОН), получая указанное в заголовке соединение (1,2 г, 80%).

¹H-ЯМР (CD₃OD) δ 7,80 (д, 1H), 7,62 (д, 2H), 7,48 (м, 2H), 7,39-7,22 (м, 6H), 7,18 (д, 1H), 5,32 (д, 1H), 4,60 (дд, 2H), 4,58 (д, 1H), 4,06 (м, 1H), 3,84 (дд, 2H), 3,49 (м, 1H), 2,84 (м, 1H), 1,80 (м, 3H), 1,30 (м, 1H).

FAB MS: 534 [M+1]⁺

ПРИМЕР 30

Получение N-метил-N-карбоксиметил-D-дифенилаланил-L-пролил-
[(5-амидино-2-тиенил)метил]амида • 2ТФУ



А) N-Метил-N-(трет-бутоксикарбонил)метил-D-дифенилаланил-L-
пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амид • 2ТФУ

Раствор N-(трет-бутоксикарбонил)метил-D-дифенилаланил-L-
пролил-[(5-циано-2-тиенил)метил]амида, полученного по примеру
28, стадии А (0,18 г, 0,32 ммоль), в пиридине (2 мл) насыщают
газообразным H₂S. Смесь оставляют стоять в течение 1 дня при
комн.т., затем растворитель удаляют в вакууме, получая
тиоамид в виде желтого твердого вещества. К указанному
продукту добавляют ацетонитрил (2 мл) и йодметан (0,2 мл,
3,15 ммоль), и смесь нагревают до температуры кипения с
обратным холодильником в течение 4 ч. Затем растворитель
упаривают в вакууме, полученный метилтиоамидат растворяют в
ацетонитриле (2 мл). К образовавшемуся раствору добавляют
ацетат аммония (0,24 г, 3,15 ммоль), и смесь нагревают до
температуры кипения с обратным холодильником в течение 2 ч.
Раствор охлаждают и концентрируют, и остаток очищают
препаративной ВЭЖХ (градиент ТФУ (0,1%)-H₂O-МеОН), получая
указанное в заголовке соединение (0,14 г, 64%).

^1H -ЯМР (CD_3OD) δ 7,79 (д, 1H), 7,50 (м, 2H), 7,41-7,10 (м, 9H), 5,01 (д, 1H), 4,70-4,40 (м, 3H), 4,02 (м, 1H), 3,59 (м, 1H), 3,37 (с, 2H), 3,20 (м, 1H), 2,91 (с, 3H), 1,78 (м, 3H), 1,56 (м, 10H).

FAV MS: 604 $[\text{M}+1]^+$

В) N-Метил-N-карбоксиметил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амид•2ТФУ

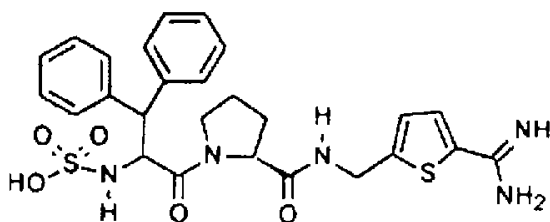
Указанное соединение получают из соединения, полученного по стадии А, используя методику, описанную в примере 29; выход 64%.

^1H -ЯМР (CD_3OD) δ 7,81 (д, 1H), 7,62 (д, 1H), 7,43-7,12 (м, 10H), 5,22 (д, 1H), 4,69 (д, 1H), 4,61 (м, 2H), 3,93 (м, 1H), 3,71 (с, 2H), 3,50 (м, 1H), 3,13 (м, 1H), 2,84 (с, 3H), 1,81 (м, 3H).

FAV MS: 548 $[\text{M}+1]^+$

ПРИМЕР 31

Получение N-гидроксисульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амида•ТФУ



N-Гидроксисульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-циано-2-тиенил)метил]амид•DIPA

К охлажденному (0°C) раствору D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-циано-2-тиенил)метил]амида•HCl (175 мг, 0,344 ммоль) в

дихлорметане (10 мл) добавляют хлорсульфоновую кислоту (0,033 мл, 0,5 ммоль) и диизопропилэтиламин (DIPA, 0,226 мл, 1,3 ммоль), и смесь перемешивают 3 ч при комн.т. После завершения реакции реакцию смесь разбавляют дихлорметаном, промывают 1 н HCl и затем насыщенным раствором соли, сушат над сульфатом магния и концентрируют в вакууме, получая указанное в заголовке соединение (230 мг, 99%).

^1H -ЯМР (CDCl_3) δ 1,20-1,35 (м, 15H), 1,44 (м, 2H), 1,63 (м, 1H), 2,00 (м, 1H), 2,62 (м, 1H), 2,91 (м, 2H), 3,44 (м, 2H), 3,80 (м, 1H), 4,24 (д, 1H), 4,29 (д, 1H), 4,40-4,58 (м, 2H), 4,83 (д, 1H), 6,97 (д, 1H), 7,12-7,45 (м, 9H), 7,39 (д, 1H), 7,47 (м, 2H).

FAB MS: 539 $[\text{M}+1]^+$

В) N-Гидроксисульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амид•ТФУ

К раствору соединения, полученного по стадии А (230 мг), в этаноле (5 мл) добавляют гидроксилламингидрохлорид (74 мг, 1,03 ммоль) и диизопропиламин (195 мг, 1,4 ммоль), и смесь перемешивают в течение ночи при комн.т. Реакционную смесь концентрируют в вакууме, получая белое твердое вещество (380 мг). Указанный твердый продукт растворяют в метаноле (5 мл) и добавляют 10% палладий-на-углероде (120 мг) и уксусную кислоту (0,5 мл). Затем смесь перемешивают в течение 36 ч в атмосфере H_2 (1 атм), реакцию смесь фильтруют через целит и фильтрат концентрируют в вакууме. Остаток очищают препаративной ВЭЖХ (градиент ТФУ (0,1%)- H_2O -MeOH),

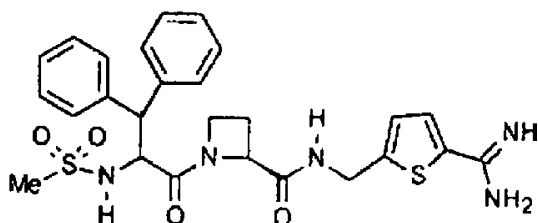
получая указанное в заголовке соединение (130 мг, 57%).

^1H -ЯМР (CD_3OD) δ 1,45-1,90 (м, 4H), 2,88 (м, 1H), 3,86 (м, 1H), 4,06 (м, 1H), 4,23 (д, 1H), 4,43 (м, 1H), 4,64 (м, 1H), 5,00 (д, 1H), 7,11-7,40 (м, 9H), 7,45 (м, 2H), 7,70 (д, 1H).

FAB MS: 556 $[\text{M}+1]^+$

ПРИМЕР 32

Получение N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-азетидин-2-карбоксил-[(5-амидино-2-тиенил) метил] амида • ТФУ



А) N-Вос-L-азетидин-2-карбоксил-[(5-циано-2-тиенил) метил] амид

К охлажденному (0°C) раствору N-Вос-L-2-азетидин-карбоновой кислоты (0,5 г, 4,94 ммоль) в ДМФ (3 мл) добавляют 5-(аминометил)тиофен-2-карбонитрил • HCl (0,48 г, 2,74 ммоль), EDC (0,62 г, 3,24 ммоль), НОВТ (0,40 г, 2,99 ммоль) и триэтиламин (1,04 мл, 7,47 ммоль), и смесь перемешивают 2 ч при комн.т. Растворитель удаляют в вакууме и остаток растворяют в EtOAc, промывают последовательно насыщенным раствором бикарбоната натрия, 1N HCl и насыщенным раствором соли. Затем раствор сушат над сульфатом магния и концентрируют в вакууме, остаток очищают колоночной хроматографией (EtOAc:н-гексан, 2:1), получая указанное в

заголовке соединение (0,54 г, 68%).

^1H -ЯМР (CDCl_3) δ 7,46 (д, 1H), 6,97 (д, 1H), 4,75-4,50 (м, 3H), 3,92 (м, 1H), 3,79 (м, 1H), 2,52-2,40 (м, 2H), 1,42 (с, 9H).

FAB MS: 322 $[\text{M}+1]^+$

В) N-Вос-D-дифенилаланил-L-азетидин-2-карбоксил-[(5-циано-2-тиенил)метил]амид

К охлажденному (0°C) раствору соединения, полученного по стадии А (1,4 г, 2,37 ммоль) в дихлорметане (15 мл) добавляют ТФУ (15 мл), и смесь перемешивают 3 ч при комн.т. Образовавшийся раствор концентрируют в вакууме, получая соединение со снятой Вос-защитой в виде соли с ТФУ (0,52 г, 93%). Указанный продукт (0,2 г, 0,6 ммоль) растворяют в ДМФ (6 мл) и к полученному раствору добавляют Вос-D-дифенилаланин (0,18 г, 0,54 ммоль), EDC (0,13 г, 0,7 ммоль), НОВТ (0,09 г, 0,54 ммоль). Смесь перемешивают, пока она не станет прозрачной, и затем охлаждают до 0°C . После этого добавляют триэтиламин (0,3 мл, 2,16 ммоль), образующуюся смесь перемешивают еще в течение 2 ч при комн.т. Растворитель удаляют в вакууме, и остаток растворяют в EtOAc, промывают последовательно насыщенным раствором бикарбоната натрия, 1 н HCl и насыщенным раствором соли. Затем раствор сушат над сульфатом магния и концентрируют в вакууме, остаток очищают колоночной хроматографией (EtOAc:н-гексан, 2:1), получая указанное в заголовке соединение (0,2 г, 69%).

^1H -ЯМР (CDCl_3) δ 8,30 (ушир.с, 1H), 7,45-7,14 (м, 11H),

6,96 (д, 1H), 4,83 (ушир.с, 1H), 4,67-4,48 (м, 3H), 4,43 (м, 1H), 4,32 (м, 1H), 4,04 (м, 1H), 2,97 (м, 1H), 2,21 (м, 1H), 2,02 (м, 1H), 1,28 (с, 9H).

FAV MS: 545 [M+1]⁺

С) N-Метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-азетидин-2-карбоксил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амид•ТФУ

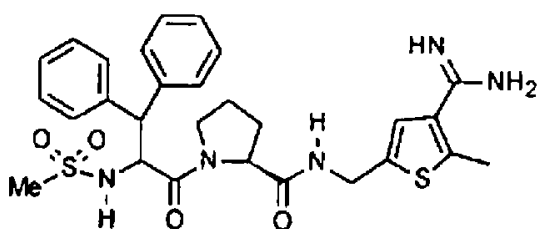
Указанное соединение получают из соединения, полученного на стадии В, используя ту же методику, что описана в примере 8, за тем исключением, что используют метансульфонилхлорид вместо метилхлорформиата; выход 47%.

¹H-ЯМР (CD₃OD) δ 7,78 (д, 1H), 7,45-7,18 (м, 11H), 4,65 (д, 1H), 4,61 (с, 2H), 4,34-4,19 (м, 3H), 3,48 (м, 1H), 2,81 (с, 3H), 2,09 (м, 2H).

FAV MS: 540 [M+1]⁺

ПРИМЕР 33

Получение N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(4-амидино-5-метил-2-тиенил)метил]амида•ТФУ



А) 5-Аминометил-2-метилтиофен-3-карбонитрил•НСl

Указанное соединение получают из 4-бром-5-метилтиофен-2-карбоксальдегида, используя методику, описанную в примере 11, стадиях А - D; выход 22%.

¹H-ЯМР (CD₃OD) δ 2,59 (с, 3H), 4,52 (с, 2H), 7,00 (с,

1H), 7,25 (с, 1H).

FAB MS: 153 [M+1]⁺

В) N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(4-амидино-5-метил-2-тиенил)метил]амид•ТФУ

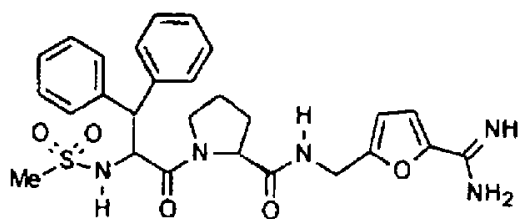
Указанное соединение получают из N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролина (пример 3, стадия А) и 2-аминометил-5-метилтиофен-4-карбонитрила•НСl, используя методику, описанную в примере 1, стадиях Е и F; выход 38%.

¹H-ЯМР (CD₃OD) δ 1,48 (м, 1H), 1,62 (м, 1H), 1,90 (м, 2H), 2,65 (с, 2H), 2,90-3,03 (м, 4H), 3,62 (м, 1H), 4,02 (м, 1H), 4,34 (д, 1H), 4,52 (м, 2H), 5,11 (м, 1H), 7,19-7,56 (м, 11H).

FAB MS: 568 [M+1]⁺

ПРИМЕР 34

Получение N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-фуранил)метил]амида•ТФУ



Указанное соединение получают из N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролина (пример 3, стадия А) и 5-(аминометил)фуран-2-карбонитрила•НСl, используя методику, описанную в примере 1, стадиях Е и F; выход 20%.

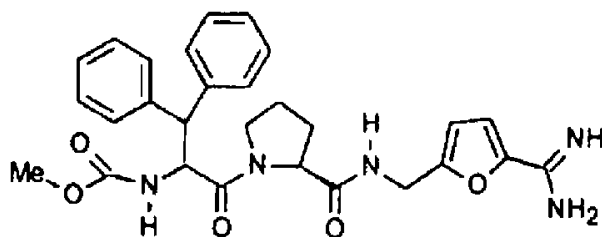
¹H-ЯМР (CD₃OD) δ 7,48 (м, 3H), 7,35 (м, 2H), 7,25 (м, 6H), 6,62 (д, 1H), 5,02 (д, 1H), 4,44 (м, 2H), 4,32 (д, 2H),

4,02 (дд, 1H), 3,71 (м, 1H), 2,93 (м, 1H), 2,85 (с, 3H),
1,79-1,39 (м, 4H).

FAB MS: 538 [M+1]⁺

ПРИМЕР 35

Получение N-метоксикарбонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-фуранил)метил] амида • ТФУ



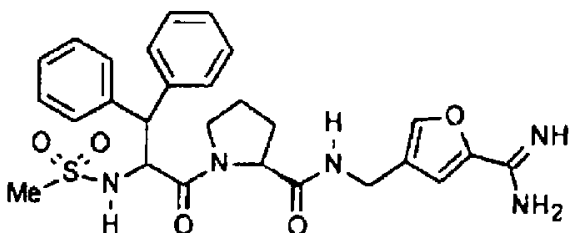
Указанное соединение получают из N-Вос-D-дифенилаланил-L-пролина и 5-(аминометил)фуран-2-карбонитрила • HCl, используя методику, описанную в примере 7, стадии А, и примере 8; выход 35%.

¹H-ЯМР (CD₃OD) δ 7,49 (д, 1H), 7,39 (д, 2H), 7,34 (т, 2H), 7,25 (м, 6H), 6,57 (д, 1H), 5,15 (д, 1H), 4,59 (д, 1H), 4,37 (дд, 2H), 4,05 (дд, 1H), 3,85 (м, 1H), 3,39 (с, 3H), 2,89 (м, 1H), 1,82-1,46 (м, 4H).

FAB MS: 518 [M+1]⁺

ПРИМЕР 36

Получение N-аминосульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-3-фуранил)метил] амида • ТФУ



А) 4-(Аминометил)фуран-2-карбонитрил•HCl

Указанное соединение получают из 2-бром-4-(гидрокси-метил)фурана (смотри Acta. Chemica. Scandinavica. 1991, 45, 914), используя методику, описанную в примере 11, стадиях В - D; выход 61%.

^1H -ЯМР (CD_3OD) δ 7,54 (с, 1H), 7,12 (с, 1H), 4,32 (с, 2H).

FAB MS: 159 $[\text{M}+1]^+$

В) N-аминосульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-3-фуранил)метил]амид•ТФУ

Указанное соединение получают из N-аминосульфонил-D-дифенилаланил-L-пролина (смотри пример 1, стадию D) и 4-(аминометил)фуран-2-карбонитрила•HCl, используя методику, описанную в примере 1, стадиях E и F; выход 36%.

^1H -ЯМР (CD_3OD) δ 7,83 (с, 1H), 7,47 (с, 1H), 7,43 (д, 2H), 7,35 (т, 2H), 7,25 (м, 6H), 4,93 (д, 1H), 4,31 (д, 2H), 4,11 (дд, 1H), 4,02 (дд, 1H), 3,75 (м, 1H), 2,88 (м, 1H), 1,84-1,45 (м, 4H).

FAB MS: 539 $[\text{M}+1]^+$

ПРИМЕР 37

Получение N-аминосульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(4-амидино-2-тиазолил)метил]амида•ТФУ

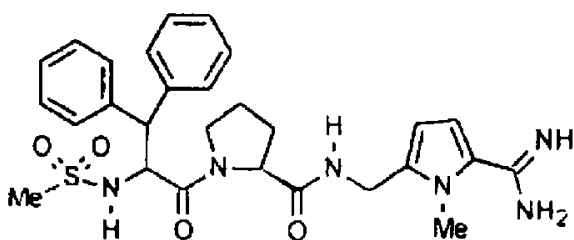
описанную в примере 1, стадиях Е и F; выход 48%.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 8,56 (с, 1H), 7,45 (д, 2H), 7,35 (т, 2H), 7,25 (м, 6H), 4,95 (д, 1H), 4,67 (м, 2H), 4,34 (д, 1H), 4,11 (дд, 1H), 3,78 (м, 1H), 2,89 (м, 1H), 1,90-1,45 (м, 4H).

FAB MS: 556 $[\text{M}+1]^+$

ПРИМЕР 38

Получение N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-1-метил-2-пирролил)метил] амида •ТФУ



Указанное соединение получают из N-метилсульфонил-D-дифенилаланил-L-пролина (смотри пример 3, стадию А) и 5-(аминометил)-1-метилпиррол-2-карбонитрила, используя методику, описанную в примере 1, стадиях Е и F; выход 17%.

5-(Аминометил)-1-метил-пиррол-2-карбонитрил получают из 1,5-диметилпиррол-2-карбонитрила, используя методику, описанную в примере 1, стадиях А и В.

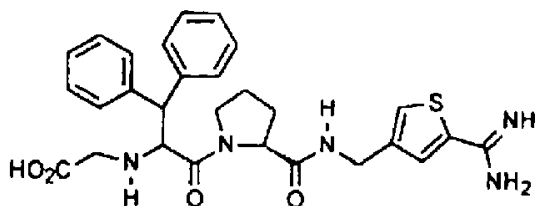
$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 1,40 (м, 1H), 1,65 (м, 1H), 1,84 (м, 2H), 2,81 (с, 3H), 2,97 (м, 1H), 3,69 (с, 3H), 3,78 (м, 1H), 4,02 (м, 1H), 4,30 (д, 1H), 4,56 (м, 2H), 5,00 (м, 1H), 6,22 (д, 1H), 6,88 (д, 1H), 7,23-7,50 (м, 9H), 7,65 (м, 1H).

FAB MS: 551 $[\text{M}+1]^+$

ПРИМЕР 39

Получение N-карбоксиметил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-

амидино-3-тиенил) метил] амида • 2ТФУ



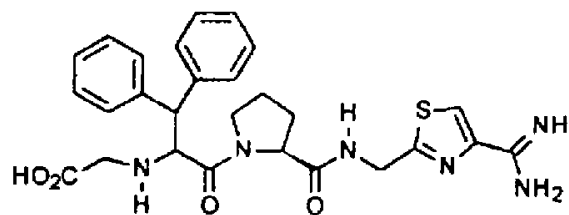
Указанное соединение получают из D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-циано-3-тиенил) метил] амида • HCl (полученного по методике примера 19), использованием методик, описанных в примерах 28 и 29; выход 41%.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 7,91 (с, 1H), 7,88 (с, 1H), 7,67 (д, 2H), 7,50 (т, 2H), 7,38-7,25 (м, 6H), 5,34 (д, 1H), 4,58 (д, 1H), 4,42 (дд, 2H), 4,07 (дд, 1H), 3,78 (дд, 2H), 3,53 (м, 1H), 2,89 (м, 1H), 1,83-1,72 (м, 3H), 1,31 (м, 1H).

ФАВ MS: 534 $[\text{M}+1]^+$

ПРИМЕР 40

Получение N-карбоксиметил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(4-амидино-2-тиазолил) метил] амида • 2ТФУ



А) D-Дифенилаланил-L-пролил-[(4-циано-2-тиазолил) метил] амид • HCl

Указанное соединение получают из 2-(аминометил)тиазол-4-карбонитрила • HCl (смотри пример 37, стадию А), используя методики, описанные в примере 7 стадии А и примере 8, стадии А.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 8,56 (с, 1H), 7,54-7,23 (м, 10H), 4,77 (д, 1H), 4,57 (д, 1H), 4,55 (дд, 1H), 4,23 (м, 2H), 3,77 (м, 1H), 2,41 (м, 1H), 1,94 (м, 1H), 1,62-1,35 (м, 3H).

FAB MS: 460 $[\text{M}+1]^+$

В) N-карбоксиметил-D-дифенилаланил-L-пролил-[(4-амидино-2-тиазолил)метил]амид•2ТФУ

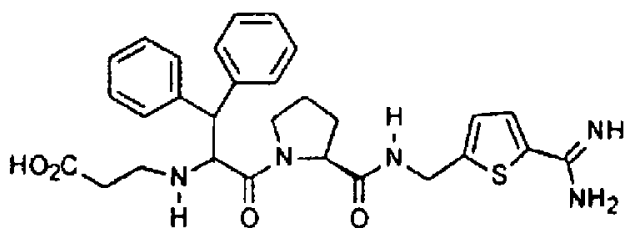
Указанное соединение получают из соединения, полученного по стадии А, используя методики, описанные в примерах 28 и 29; общий выход 35%.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 8,63 (с, 1H), 7,65 (д, 2H), 7,52 (т, 2H), 7,45-7,23 (м, 6H), 5,31 (д, 1H), 4,74 (с, 2H), 4,55 (д, 1H), 4,13 (м, 1H), 3,78 (дд, 2H), 3,52 (м, 1H), 2,86 (м, 1H), 1,81 (м, 3H), 1,37 (м, 1H).

FAB MS: 535 $[\text{M}+1]^+$

ПРИМЕР 41

Получение N-(2-карбоксиил)-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амида•2ТФУ



А) N-[2-(метоксикарбонил)этил]-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-циано-2-тиенил)метил]амид

Смесь D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-циано-2-тиенил)метил]амида•HCl (400 мг, 0,81 ммоль, полученного по примеру 8, стадии А), карбоната натрия (690 мг, 6,5 ммоль), йодида

натрия (609 мг, 4,065 ммоль), тетрабутиламмонийбромидом (79 мг, 0,244 ммоль) и метил-3-бромпропионата (0,2 мл, 1,626 ммоль) в толуоле (8 мл) нагревают до температуры кипения с обратным холодильником в течение 5 ч. Реакционную смесь концентрируют в вакууме, и остаток очищают колоночной хроматографией (EtOAc:н-гексан, 7:3), получая указанное в заголовке соединение (180 мг, 41%).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 7,97 (т, 1H), 7,42 (д, 1H), 7,38-7,13 (м, 10H), 6,93 (д, 1H), 4,52 (дд, 2H), 4,31 (д, 1H), 4,22 (дд, 1H), 4,14 (дд, 1H), 3,61 (с, 1H), 3,44 (м, 1H), 2,87 (м, 1H), 2,70 (м, 2H), 2,34 (м, 2H), 2,23 (м, 1H), 1,82 (м, 1H), 1,53 (м, 1H), 1,24 (м, 1H).

FAB MS: 545 $[\text{M}+1]^+$

В) N-[2-(метоксикарбонил)этил]-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амид•2AcOH

Указанное соединение получают из соединения, полученного по стадии А (160 мг), используя методику, описанную в примере 28, стадиях В и С; выход 54%.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 7,74 (д, 1H), 7,35-7,11 (м, 10H), 6,98 (д, 1H), 4,72 (дд, 1H), 4,30 (дд, 1H), 4,17 (с, 2H), 4,16 (дд, 1H), 3,53 (с, 3H), 3,52 (м, 1H), 2,89 (м, 2H), 2,75 (м, 1H), 2,38 (м, 2H), 1,89 (м, 2H), 1,62 (м, 1H), 1,40 (м, 1H).

FAB MS: 562 $[\text{M}+1]^+$

С) N-(2-Карбоксиэтил)-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амид•2TfU

Смесь соединения, полученного на стадии В (91 мг,

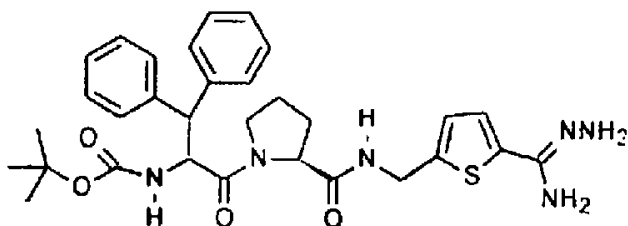
0,16 ммоль), 0,5 н LiOH (10 мл) и воды (3 мл) перемешивают в течение 3 ч при комн.т. Реакционную смесь нейтрализуют 1 н HCl и концентрируют в вакууме. Остаток очищают препаративной ВЭЖХ (градиент ТФУ (0,1%)-H₂O-МеОН), получая указанное в заголовке соединение (55 мг, 44%).

¹H-ЯМР (CD₃OD) δ 7,81 (д, 1H), 7,62 (д, 2H), 7,50 (т, 2H), 7,42-7,32 (м, 6H), 7,21 (д, 1H), 5,12 (д, 1H), 4,61 (дд, 2H), 4,50 (д, 1H), 4,11 (м, 1H), 3,60 (м, 1H), 2,78 (м, 1H), 2,68 (м, 2H), 1,83 (м, 3H), 1,30 (м, 1H).

FAV MS: 548 [M+1]⁺

ПРИМЕР 42

Получение N-Вос-D-Дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидразоно-2-тиенил)метил]амида•ТФУ



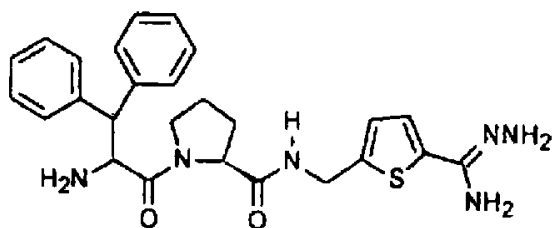
Указанное соединение получают из N-Вос-D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидино-2-тиенил)метил]амида (пример 7, стадия А), используя методику, описанную в примере 4.

¹H-ЯМР (CD₃OD) δ 7,67 (д, 1H), 7,49-7,17 (м, 10H), 7,12 (д, 1H), 5,10 (д, 1H), 4,60 (дд, 2H), 4,33 (д, 1H), 4,07 (м, 1H), 3,80 (м, 1H), 2,93 (м, 1H), 1,89-1,73 (м, 2H), 1,58 (м, 1H), 1,47 (м, 1H), 1,29 (с, 9H).

ПРИМЕР 43

Получение D-дифенилаланил-L-пролил-[(5-амидразоно-2-

тиенил) метил] амида • 2ТФУ

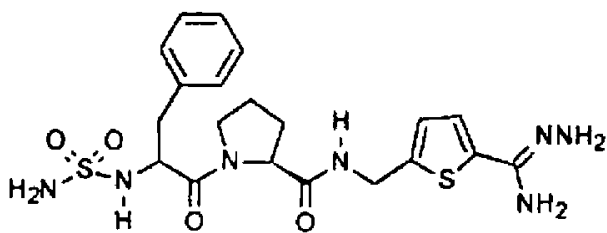


К раствору соединения, полученного по стадии А (0,05 г, 0,071 ммоль) в метаноле добавляют 0,4 н раствор HCl в метаноле (0,9 мл), и смесь перемешивают в течение 2 ч. Растворитель удаляют в вакууме, и остаток очищают препаративной ВЭЖХ (градиент ТФУ (0,1%)-H₂O-МеОН), получая указанное в заголовке соединение (45 мг, 88%).

¹H-ЯМР (CD₃OD) δ 7,69 (д, 1H), 7,59 (м, 2H), 7,47 (м, 2H), 7,40 (м, 2H), 7,30 (м, 4H), 7,19 (д, 1H), 5,10 (д, 1H), 4,61 (дд, 2H), 4,45 (д, 1H), 4,07 (м, 1H), 3,58 (м, 1H), 2,82 (м, 1H), 1,78 (м, 3H), 1,33 (м, 1H).

ПРИМЕР 44

Получение N-метилсульфонил-D-фенилаланил-L-пролил-[(5-амидразоно-2-тиенил)метил] амида • ТФУ



Указанное в заголовке соединение получают из метилового эфира D-фенилаланил-L-пролина • HCl, используя методики, описанные в примере 7, стадиях А и В, и затем по примеру 4.

¹H-ЯМР (CD₃OD) δ 8,52 (м, 1H), 7,72 (д, 1H), 7,19 (д,

1Н), 4,58 (м, 2Н), 4,41 (дд, 1Н), 4,31 (м, 1Н), 3,85 (м, 1Н), 3,58 (м, 1Н), 2,87 (с, 3Н), 2,28-0,85 (м, 17Н).

ПРИМЕР 45: Исследование фермента *in vitro* по определению констант ингибирования

Активность тромбина измеряют спектрофотометрически, используя в качестве субстрата тозил-Gly-Pro-Arg-p-нитроанилидацетат (Chromozym TH, Boehringer Mannheim). Используемый в этом тесте тромбин получают из человеческой плазмы согласно методике Ngai и Chang (смотри, *Biochem. J.* 1991, 280, 805). Каждое соединение растворяют в ДМСО, получая 1 мМ основной раствор, разбавления которого производят буферным раствором для исследования (0,1 М TrisHCl, 0,15 М NaCl, 0,1% полиэтиленгликоль 8000, pH 7,8). Различные концентрации ингибитора смешивают с 0,3 NIH единицами тромбина в 0,8 мл буферного раствора. Смесь инкубируют в течение 10 мин при комнатной температуре, после чего добавляют 0,2 мл субстрата до конечной концентрации 20 мкМ. Высвобождение p-нитроанилина при гидролизе субстрата регистрируют с помощью приборов в течение 5 мин, измеряя повышение оптической плотности при 381 нм с помощью UV2100S спектрометра (Shimadzu). График обратной зависимости начальной скорости от концентрации ингибитора получают из хода кривых, обрабатывая данные с применением программы линейной регрессии. Затем константы ингибирования (значения K_i) получают из уравнения зависимости Dixon'a (смотри, *Biochem. J.* 1953, 55, 170). В этих условиях значение K_m для

гидролиза субстрата равно 5,2 мкМ, как определено из анализа, путем нелинейной регрессии, начальной скорости при допущении кинетики Michaelis-Menten'a.

В некоторых исследованиях с высоко эффективными ингибиторами ($K_i < 0,1$ нМ), где степень ингибирования тромбина очень высока, использован более чувствительный анализ. В этом тесте, берут концентрации Chromozum TH и тромбина 80 мкМ и 1,5 мЕд/мл, соответственно, а мониторинг реакции гидролиза осуществляют в течение 1,5 ч.

В таблице 1 показана активность ингибирования тромбина (значения K_i), полученная для иллюстративных соединений по данному изобретению. Установлено, что соединения по настоящему изобретению обладают прекрасной ингибирующей активностью в отношении тромбина.

ПРИМЕР 46: Фармакокинетические исследования по определению пероральной биологической доступности

Sprague-Dawley самцов крыс (250-300 г) фиксируют индивидуально на хирургической доске (Dae Jong Instrument Company, Seoul, Korea) в положении на спине. Бедренную артерию и бедренную вену (только iv-в/в) крыс канюлируют, вводя полиэтиленовые трубки (PE-50, Clay Adams, Parsippany, NJ, USA) при легкой анестезии с помощью эфира. После полного выхода из анестезии крысам дают 30 мг/кг испытуемого соединения, растворенного в дистиллированной воде путем принудительного кормления через рот, либо соединение вводят при 10 мг/кг в бедренную вену для внутривенного (в/в)

исследования. Пробы крови (0,25 мл) отбирают из бедренной артерии на 0 (для контроля), 1 (только в/в), 5, 15, 30, 60, 90 (только в/в), 120, 180 и 240 мин после введения лекарственного средства.

Гончих собак (кобелей) (7-10 кг, Hazleton Research Product Inc., Kalamazoo, MI, USA) помещают индивидуально в камеру для исследования метаболизма с целью изучения распределения в плазме. Собакам перорально вводят 10 мг/кг испытуемого соединения, растворенного в дистиллированной воде, путем принудительного кормления через рот или инъекцией 2 мг/0,2 мл/кг в цефалическую вену, используя INTROCAN®. Пробы крови отбирают из цефалической вены на 0 (для контроля), 1, 5 (только в/в), 15, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 360 (только ро - п/о) и 480 (только п/о) мин после введения лекарственного средства.

Пробы крови отбирают в гепаринизированную пробирку (25 Ед/мл), депротонируют 2 объемами метанола и центрифугируют. Полученный супернатант (60 мкл) анализируют ВЭЖХ, элюируя смесью 0,1% водного раствора трифторуксусной кислоты и ацетонитрила в соотношении 81% к 19%. Регистрируют концентрацию в плазме испытуемого соединения и используют для расчета фармакокинетических параметров: максимальная плазменная концентрация испытуемого соединения (C_{max}), время максимальной концентрации в плазме (T_{max}), площадь, ограничиваемая кривой (AUC - ПОК) и фракция абсорбированного испытуемого соединения (F).

Соединения по настоящему изобретению демонстрируют обычно хорошее пероральное всасывание на крысах и собаках. В частности, соединения, несущие группу D-дифенилаланина, обладают большей способностью всасываться по сравнению с соответствующими соединениями, содержащими D-циклогексилаланин. Таблица 2 иллюстрирует фармакокинетические результаты для некоторых характерных соединений по изобретению, полученные при пероральном введении лекарственного средства на крысах.

ПРИМЕР 47: Исследования *in vivo* указанных в формуле изобретения соединений проводят на основании следующей методики.

Sprague-Dawley самцов крыс (масса тела 250-300 г, 3-4/группа) анестезируют внутрибрюшинной инъекцией раствора уретана (1,25 г/кг). Брюшную полость хирургически ракрывают срединным разрезом и нижнюю полую вену осторожно расслаивают, освобождая от окружающей соединительной ткани. Подвздошно-поясничную вену и семенную перевязывают шелковой нитью. Образование тромбов инициируют вливанием препарата тромбопластина (Simplastin®), используя инфузионный насос (Model 100, IITC Life Science, USA), через левую бедренную вену при 0,5 мл/кг/мин. Simplastin® (Organon Teknika, USA) восстанавливают 4 мл дистиллированной воды и затем разбавляют дистиллированной водой при соотношении 1:2,5. Через 30 секунд после начала вливания полую вену перевязывают ниже левой почечной вены. По окончании вливания полую вену также

перевязывают выше подвздошных вен на расстоянии 16 мм от верхней нити. После 15 минут застоя тромбы, образующиеся внутри сосуда, осторожно удаляют и взвешивают. Перед взвешиванием избыток крови удаляют, промокая сырой тромб влажной фильтровальной бумагой Whatman (смотри, Millet, J.; Theveniaux, J.; Brown, N. L. Thromb. Haemost. 1992, 67, 176).

Солевой раствор (контроль) или испытуемые соединения (1 мг/кг) впрыскивают в виде ударной дозы через бедренную вену за 5 минут до вливания тромбопластина. Объем инъекции ударной дозы вещества составляет 0,5 мл/кг.

Противотромбическую активность выражают в процентах, где:

$$\text{Противотромбическая активность (\%)} = 100 \times (A - B) / A$$

A = средняя масса тромба контрольной группы

B = средняя масса тромба испытуемой группы

Результаты показывают, что соединения по настоящему изобретению эффективны в предупреждении тромбической окклюзии. В частности, соединения, содержащие группы как D-дифенилаланина, так и амидина, обладают прекрасной противотромбической активностью. Например, при дозе 1 мг/кг, соединения примеров 1, 3, 11, 15, 19, 29 и 41 обладают 100% эффективностью в ингибировании образования тромбов в модели венозных тромбов на крысах.

Таблица 1

Пример	Ki (нМ)
1	0,003
2	4,7
3	0,004

Пример	Ki (нМ)
23	0,03
24	0,024
25	0,053

4	0,53
5	5,80
6	0,021
7	0,007
8	0,014
9	0,065
10	0,052
11	0,022
12	0,040
13	0,073
14	0,17
15	0,056
16	0,045
17	0,41
18	6,21
19	0,060
20	0,011
21	0,017
22	0,02

26	4,6
27	13,7
28	0,062
29	0,015
30	0,003
31	0,10
32	0,053
33	0,12
34	1,4
35	4,6
36	0,013
37	0,12
38	0,23
39	0,20
40	0,60
41	0,011
42	84
43	9,1
44	395

ТАБЛИЦА 2

Фармакокинетические параметры после перорального введения лекарственного средства крысам (30 мг/кг)

Пример	C_{max} (мг/мл)	T_{max} (мин)	ПОК (мкг·мин/мл)
1	2,2	60	253
5	1,8	32	280
8	9,6	60	1615
11	2,1	45	254
14	4,5	80	850
19	5,2	80	1297
29	9,5	15	1390
35	7,1	45	965
39	4,6	15	212
40	11,1	25	1126
41	4,9	20	503

Все цитируемые здесь документы, включая патенты с зарубежным приоритетом, включены здесь в качестве ссылок.

Очевидно также, что предшествующее описание, построенное на примерах, носит разъяснительный характер и предназначено для иллюстрации изобретения и его предпочтительных вариантов выполнения. Для специалиста ясно, что в ходе эксперимента возможны очевидные модификации и вариации, которые могут быть осуществлены без отклонения от общего характера изобретения. Таким образом, подразумевается, что изобретение ограничивается не вышеуказанным описанием, а приложенными пунктами и их эквивалентами.

RU 2221808 C2

RU 2221808 C2