РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** (11) **2 435 768** (13) **C2**

(51) МПК
C07D 413/14 (2006.01)
A61K 31/422 (2006.01)
A61K 31/5377 (2006.01)
A61P 7/02 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: **2008136769/04, 06.02.2007**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
06.02.2007

Приоритет(ы):
(30) Конвенционный приоритет:
16.02.2006 DE 102006007146.8

(43) Дата публикации заявки: **27.03.2010** Бюл. № 9

(45) Опубликовано: **10.12.2011** Бюл. № **34**

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **WO 2005028473 A1, 31.03.2005. WO 0100622 A1, 04.01.2001. EA 6389 B1, 29.12.2005.**

(85) Дата начала рассмотрения заявки PCT на национальной фазе: **16.09.2008**

(86) Заявка PCT:
EP 2007/001135 (06.02.2007)

(87) Публикация заявки PCT:
WO 2007/093328 (23.08.2007)

Адрес для переписки:
105064, Москва, а/я 88, "Патентные поверенные Квашнин, Сапельников и партнеры", пат.пов. В.П.Квашнину, рег.№ 4

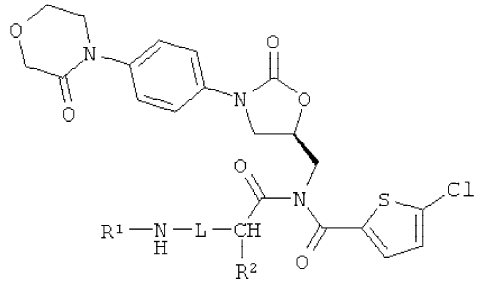
(72) Автор(ы):
ЛЕРХЕН Ханс-Георг (DE),
КРЕНЦ Урсула (DE),
ШЛЕММЕР Карл-Хайнц (DE),
ПЕРЦБОРН Элизабет (DE),
КЕЛЬДЕНИХ Йорг (DE)

(73) Патентообладатель(и):
Байер Шеринг Фарма Акциенгезельшафт (DE)

(54) АМИНОАЦИЛЬНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ПРОЛЕКАРСТВА И ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ТРОМБОЭМБОЛИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

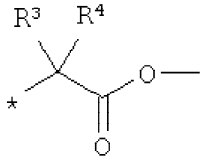
(57) Реферат:

Изобретение относится к соединению формулы (I):

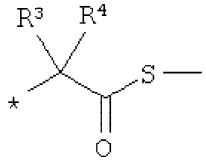


(I)

в которой R^1 означает водород или алкил с 1-4 атомами углерода, R^2 означает водород и L означает алкандиильную группу с 1-4 атомами углерода, одна CH_2-группа в которой может быть заменена на атом кислорода или группу формулы:



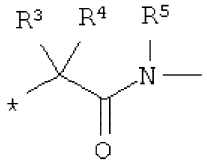
,

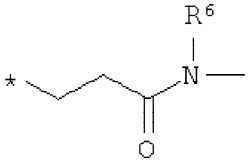


,

RU 2435768 C2

RU 2435768 C2



или


,

в которой * означает место соединения с атомом азота, R^3 означает водород, метил, пропан-2-ил, пропан-1-ил, имидазол-4-илметил, гидроксиметил или 4-аминобутан-1-ил или R^3 соединен с R^1, совместно с которым образует $(CH_2)_3$- или $(CH_2)_4$-группу, R^4 означает водород или метил, R^5 означает алкил с 1-4 атомами углерода и R^6 означает водород или алкил с 1-4 атомами углерода, а также к его соли и к способу их получения. Технический результат - получены новые соединения, которые могут найти свое применение в медицине для лечения и/или профилактики болезней, прежде всего тромбоэмболических заболеваний. 3 н. и 2 з.п. ф-лы, 4 табл.

RU 2435768 C2

RU 2435768 C2

RUSSIAN FEDERATION

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 435 768** (13) **C2**

(51) Int. Cl.
C07D 413/14 (2006.01)
A61K 31/422 (2006.01)
A61K 31/5377 (2006.01)
A61P 7/02 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: **2008136769/04, 06.02.2007**

(24) Effective date for property rights:
06.02.2007

Priority:
(30) Priority:
16.02.2006 DE 102006007146.8

(43) Application published: **27.03.2010** Bull. 9

(45) Date of publication: **10.12.2011 Bull. 34**

(85) Commencement of national phase: **16.09.2008**

(86) PCT application:
EP 2007/001135 (06.02.2007)

(87) PCT publication:
WO 2007/093328 (23.08.2007)

Mail address:
105064, Moskva, a/ja 88, "Patentnye poverennye Kvashnin, Sapel'nikov i partnery", pat.pov. V.P.Kvashninu, reg.№ 4

(72) Inventor(s):
LERKhEN Khans-Georg (DE),
KRENTs Ursula (DE),
ShLEMMER Karl-Khajnts (DE),
PERTsBORN Ehlizabet (DE),
KEL'DENIKh Jorg (DE)

(73) Proprietor(s):
Bajer Shering Farma Aktsiengezel'shaft (DE)

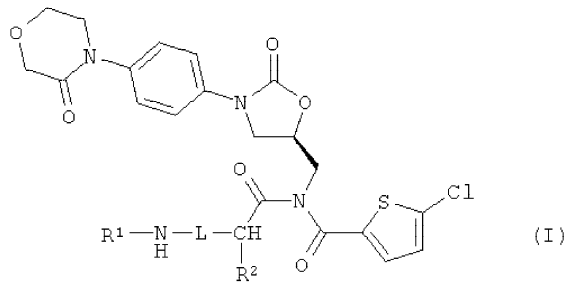
RU 2435768 C2

(54) AMINOACYL DERIVATIVE PRODRUGS AND PREPARATIONS FOR TREATING THROMBOEMBOLIC DISEASES

(57) Abstract:

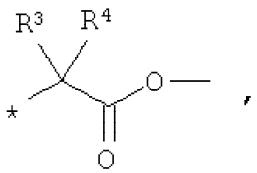
FIELD: medicine, pharmaceutics.

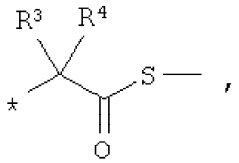
SUBSTANCE: invention refers to a compound of formula

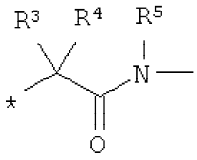


(I)

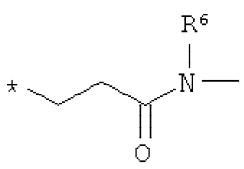
in which R^1 means hydrogen or alkyl with 1-4 carbon atoms, R^2 means hydrogen and L means an alkandiyl group with 1-4 carbon atoms, one CH_2-group in which can be substituted by with oxygen atom or a group of formula:







or



in which * means a conjunction with nitrogen atom, R^3 means hydrogen, methyl, propane-2-yl, propane-1-yl, imidazol-4-

RU 2435768 C2

ylmethyl, hydroxymethryl or 4-aminobutan-4-yl, or R^3 is connected with R^1 together with which forms $(CH_2)_3$- or $(CH_2)_4$- -group, R^4 means hydrogen or methyl, R^5 means alkyl with 1-4 carbon atoms, and R^6 means hydrogen or alkyl with 1-4 carbon atoms, and also to its salt and to a method of preparing it.

EFFECT: there are prepared new compounds which can find application in medicine for treating and/or preventing diseases, first of all thromboembolic diseases.

5 cl, 4 tbl, 23 ex

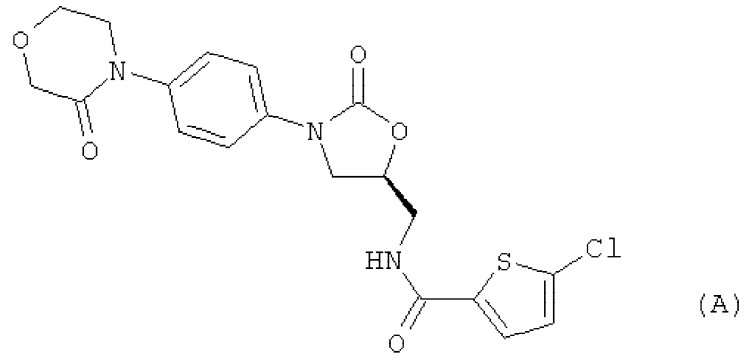
RU 2435768 C2

RU 2435768 C2

Настоящее изобретение относится к производным пролекарства 5-хлор-N-({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)-тиофен-2-карбоксамида, способу их получения, их применению для лечения и/или профилактики болезней, а также к их применению для изготовления лекарственных средств, предназначенных для лечения и/или профилактики болезней, прежде всего тромбоэмболических заболеваний.

Пролекарствами называют производные действующего вещества, которые перед непосредственным высвобождением действующего вещества претерпевают протекающую in vivo одностадийную или многостадийную биотрансформацию ферментативного и/или химического типа. Для оптимизации комплекса свойств лежащего в основе пролекарства действующего вещества, как правило, используют остаток пролекарства [P.Ettmayer и другие, J. Med. Chem. 47, 2393 (2004)]. При этом для обеспечения оптимального действия как структура остатка пролекарства, так и необходимый механизм высвобождения действующего вещества следует приводить в чрезвычайно точное соответствие с индивидуальным действующим веществом, показанием, местом действия и способом применения. Большое количество лекарственных средств применяют в виде пролекарств, обладающих более высокой биодоступностью по сравнению с лежащим в их основе действующим веществом, которой достигают, например, благодаря оптимизации физико-химических характеристик, в частности растворимости, активных и пассивных абсорбционных свойств или специфического распределения в тканях. Из обширного перечня посвященной пролекарствам литературы особо следует упомянуть, например, H.Bundgaard (издатель), Design of Prodrugs: Bioreversible derivatives for various functional groups and chemical entities, издательство Elsevier Science Publishers B.V., 1985.

5-Хлор-N-({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)тиофен-2-карбоксамид [BAY 59-7939, соединение (A)] является орально действующим прямым ингибитором фактора Xa серин-протеазы, которая выполняет незаменимую функцию при регулировании свертывания крови. В настоящее время указанное соединение находится на стадии углубленного клинического испытания в качестве возможного нового действующего вещества лекарственных средств, используемых для предупреждения и лечения тромбоэмболических заболеваний [S.Roehrig и другие, J. Med. Chem. 48, 5900 (2005)].



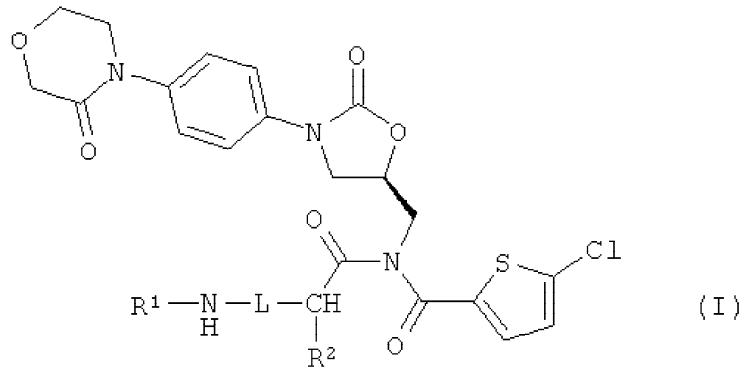
(A)

Однако соединение (A) обладает лишь ограниченной растворимостью в воде и физиологических средах, что, например, осложняет его внутривенное применение в качестве действующего вещества. В связи с этим в основу настоящего изобретения была положена задача выявить производные или пролекарства соединения (A), которые обладают повышенной растворимостью в указанных средах и одновременно допускают возможность контролируемого высвобождения действующего вещества

(A) в организме пациента после применения.

В международной заявке WO 2005/028473 описаны ацилоксиметилкарбаматные пролекарства оксазолидинонов, используемые для повышения оральной биодоступности. Из международной заявки WO 01/00622 известно об ацильных пролекарствах карбаматных ингибиторов инозин-5'-монофосфат-дегидрогеназы. Иной тип амидных пролекарств оксазолидинонов, которые высвобождают лежащее в их основе действующее вещество в соответствии с многостадийным механизмом активирования, приведен в международной заявке WO 03/006440.

Объектом настоящего изобретения являются соединения общей формулы (I):



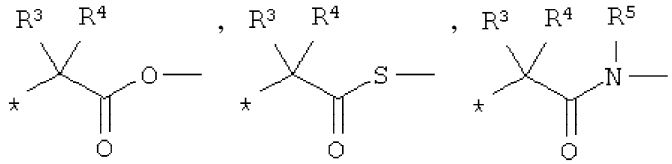
(I)

в которой

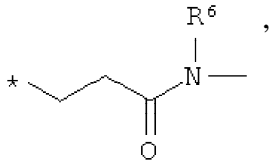
R^1 означает водород или алкил с 1-4 атомами углерода, который может быть замещен гидрокси или алкокси с 1-4 атомами углерода,

R^2 означает водород или алкил с 1-4 атомами углерода и

L означает алкандиильную группу с 1-4 атомами углерода, одна CH_2-группа в которой может быть заменена на атом кислорода или группу формулы:



или



в которой

* означает место соединения с атомом азота,

R^3 означает боковую группу природной α-аминокислоты или ее гомологов или изомеров или

R^3 соединен с R^1, совместно с которым образует $(CH_2)_3$- или $(CH_2)_4$-группу,

R^4 означает водород или метил,

R^5 означает алкил с 1-4 атомами углерода и

R^6 означает водород или алкил с 1-4 атомами углерода,

а также их соли, сольваты и сольваты солей.

Предлагаемыми в изобретении соединениями являются соединения формулы (I), их соли, сольваты и сольваты солей, указанные ниже соединения, обладающие формулой (I), их соли, сольваты и сольваты солей, а также указанные ниже в качестве примеров осуществления изобретения соединения, обладающие формулой (I), их соли,

сольваты и сольваты солей, если под указанными ниже соединениями, обладающими формулой (I), уже не подразумеваются соли, сольваты и сольваты солей.

Предлагаемые в изобретении соединения в зависимости от их структуры могут находиться в форме стереоизомеров (энантиомеров, диастереомеров). В связи с этим настоящее изобретение относится также к энантиомерам или диастереомерам и их смесям. Стереоизомеры с соответствующей структурой могут быть выделены из подобных смесей энантиомеров и/или диастереомеров известными методами.

В случае если предлагаемые в настоящем изобретении соединения могут находиться в форме таутомеров, изобретение относится ко всем без исключения таутомерным формам.

В соответствии с настоящим изобретением предпочтительными солями являются физиологически приемлемые соли предлагаемых в изобретении соединений. Под подобными солями подразумеваются также соли, которые непригодны для фармацевтического применения, однако могут быть использованы, например, для выделения или очистки предлагаемых в изобретении соединений.

Физиологически приемлемыми солями предлагаемых в изобретении соединений являются образующиеся по реакции присоединения соли минеральных кислот, карбоновых кислот и сульфокислот, например соли соляной кислоты, бромистоводородной кислоты, серной кислоты, фосфорной кислоты, метансульфокислоты, этансульфокислоты, толуолсульфокислоты, бензолсульфокислоты, нафталиндисульфокислоты, уксусной кислоты, трифторуксусной кислоты, пропионовой кислоты, молочной кислоты, винной кислоты, яблочной кислоты, лимонной кислоты, фумаровой кислоты, малеиновой кислоты и бензойной кислоты.

В соответствии с настоящим изобретением под сольватами подразумевают формы предлагаемых в изобретении соединений, которые представляют собой комплексы, образуемые этими соединениями в твердом или жидком состоянии благодаря координации молекул растворителя. Гидраты являются особой формой сольватов и образуются благодаря координации молекул воды. В соответствии с настоящим изобретением предпочтительными сольватами являются гидраты.

Согласно настоящему изобретению заместители в отсутствие особых указаний могут означать следующее.

Алкил с 1-4 атомами углерода и алкил с 1-3 атомами углерода согласно изобретению означают неразветвленный или разветвленный алкильный остаток с 1-4, соответственно 1-3 атомами углерода. Предпочтительным является неразветвленный алкильный остаток с 1-3 атомами углерода. Примерами предпочтительных алкильных остатков являются метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, втор-бутил и трет-бутил.

Алкокси с 1-4 атомами углерода согласно изобретению означает неразветвленный или разветвленный алкоксильный остаток с 1-4 атомами углерода. Примерами предпочтительных алкоксильных остатков являются метокси, этокси, н-пропокси, изопропокси, н-бутокси и трет-бутокси.

Алкандиил с 1-4 атомами углерода согласно изобретению означают неразветвленный или разветвленный двухвалентный алкильный остаток с 1-4 атомами углерода. Предпочтительным является неразветвленный алкандиильный остаток с 2-4 атомами углерода. Примерами предпочтительных алкандиильных остатков являются метилен, 1,2-этилен, этан-1,1-диил, 1,3-пропилен, пропан-1,1-диил, пропан-1,2-диил, пропан-2,2-диил, 1,4-бутилен, бутан-1,2-диил, бутан-1,3-диил и бутан-2,3-диил.

Остатком R^3 могут являться как боковые группы α-аминокислот природного происхождения, так и боковые группы гомологов и изомеров подобных α-аминокислот. При этом α-аминокислота может обладать как L-, так и D-конфигурацией или может являться смесью соответствующих L- и D-форм. Примерами боковых групп являются водород (глицин), метил (аланин), пропан-2-ил (валин), пропан-1-ил (норвалин), 2-метилпропан-1-ил (лейцин), 1-метилпропан-1-ил (изолейцин), бутан-1-ил (норлейцин), фенил (2-фенилглицин), бензил (фенилаланин), п-гидроксибензил (тирозин), индол-3-илметил (триптофан), имидазол-4-илметил (гистидин), гидроксиметил (серин), 2-гидроксиэтил (гомосерин), 1-гидроксиэтил (треонин), меркаптометил (цистеин), метилтиометил (S-метилцистеин), 2-меркаптоэтил (гомоцистеин), 2-метилтиоэтил (метионин), карбамоилметил (аспарагин), 2-карбамоилэтил (глутамин), карбоксиметил (аспарагиновая кислота), 2-карбоксиэтил (глутаминовая кислота), 4-аминобутан-1-ил (лизин), 4-амино-3-гидроксибутан-1-ил (гидроксилизин), 3-аминопропан-1-ил (орнитин), 3-гуанидинопропан-1-ил (аргинин) и 3-уреидопропан-1-ил (цитруллин).

Предпочтительными α-аминокислотными боковыми группами в качестве остатка R^3 являются водород (глицин), метил (аланин), пропан-2-ил (валин), пропан-1-ил (норвалин), имидазол-4-илметил (гистидин), гидроксиметил (серин), 1-гидроксиэтил (треонин), карбамоилметил (аспарагин), 2-карбамоилэтил (глутамин), 4-аминобутан-1-ил (лизин), 3-аминопропан-1-ил (орнитин) и 3-гуанидинопропан-1-ил (аргинин). Предпочтительной является соответствующая L-конфигурация.

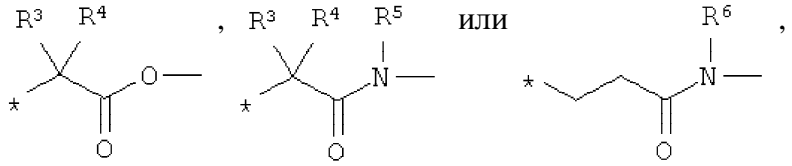
В случае если остатки предлагаемых в изобретении соединений содержат заместители, количество последних в отсутствие особых указаний может составлять один или более. В случае замещения предлагаемых в изобретении соединений несколькими остатками того или иного типа последние являются такими, как указано выше, независимо друг от друга. Предпочтительным является замещение одним, двумя или тремя одинаковыми или разными заместителями. Еще более предпочтительным является замещение одним заместителем.

Предпочтительными являются соединения формулы (I), в которой

R^1 означает водород или алкил с 1-4 атомами углерода,

R^2 означает водород и

L означает алкандиильную группу с 2-4 атомами углерода или группу формулы:



или ,

в которой

* означает место соединения с атомом азота,

R^3 означает водород, метил, пропан-2-ил, пропан-1-ил, имидазол-4-илметил, гидроксиметил, 1-гидроксиэтил, карбамоилметил, 2-карбамоилэтил, 4-аминобутан-1-ил, 3-аминопропан-1-ил или 3-гуанидинопропан-1-ил или

R^3 соединен с R^1, совместно с которым образует $(CH_2)_3$- или $(CH_2)_4$-группу,

R^4 означает водород или метил,

R^5 означает метил и

R^6 означает водород или метил,

а также их соли, сольваты и сольваты солей.

При этом особое значение имеют соединения формулы (I), в которой R^1 означает водород или алкил с 1-3 атомами углерода.

Особое значение имеют также соединения формулы (I), в которой

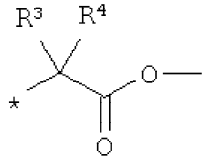
L означает неразветвленную алкандиильную группу с 2-4 атомами углерода.

Особенно предпочтительными являются соединения формулы (I), в которой

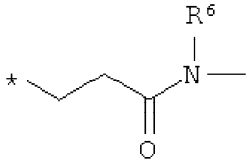
R^1 означает водород, метил или н-бутил,

R^2 означает водород и

L означает CH_2CH_2-группу или группу формулы:



или



,

в которой

* означает место соединения с атомом азота,

R^3 означает водород, метил, пропан-2-ил, пропан-1-ил, имидазол-4-илметил, гидроксиметил, 1-гидроксиэтил, карбамоилметил, 2-карбамоилэтил, 4-аминобутан-1-ил, 3-аминопропан-1-ил или 3-гуанидинопропан-1-ил или

R^3 соединен с R^1, совместно с которым образует $(CH_2)_3$- или $(CH_2)_4$-группу,

R^4 означает водород или метил и

R^6 означает водород или метил,

а также их соли, сольваты и сольваты солей.

При этом особое значение имеют соединения формулы (I), в которой

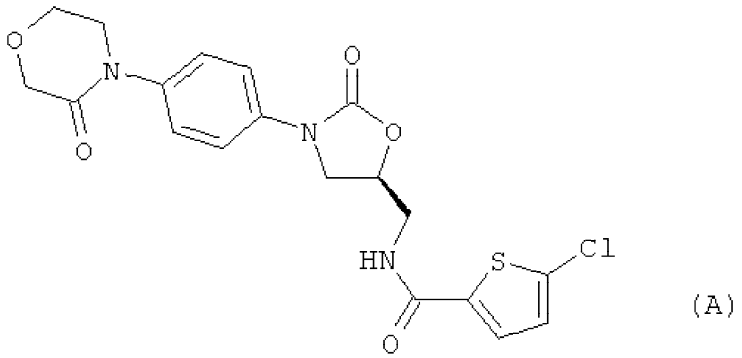
R^1 означает водород или метил.

Особое значение имеют также соединения формулы (I), в которой

L означает CH_2CH_2-группу.

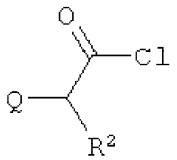
Другим объектом настоящего изобретения является способ получения предлагаемых в изобретении соединений формулы (I), отличающийся тем, что

[A] соединение (A):



(A)

благодаря реализуемому в инертном растворителе в присутствии основания взаимодействию с соединением формулы (II):



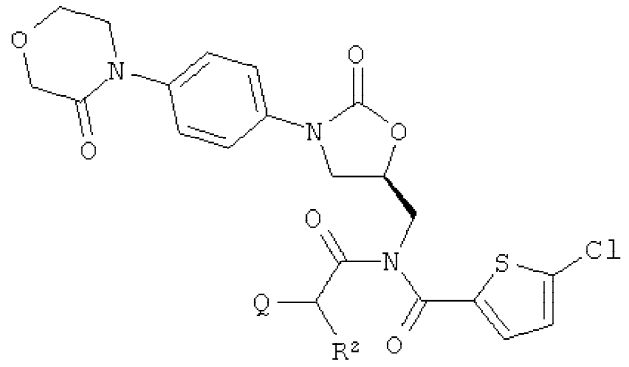
(II)

,

в которой R^2 такой, как указано выше, и

Q означает отщепляемую группу, например, такую как хлор, бром или йод,

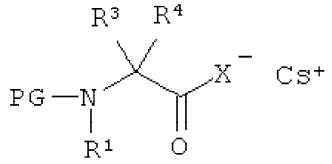
переводят в соединение формулы (III):



(III)

в которой Q и R^2 такие, как указано выше,

которое в инертном растворителе подвергают взаимодействию с цезиевой солью α-аминокарбоновой или α-аминотиокарбоновой кислоты формулы (IV):



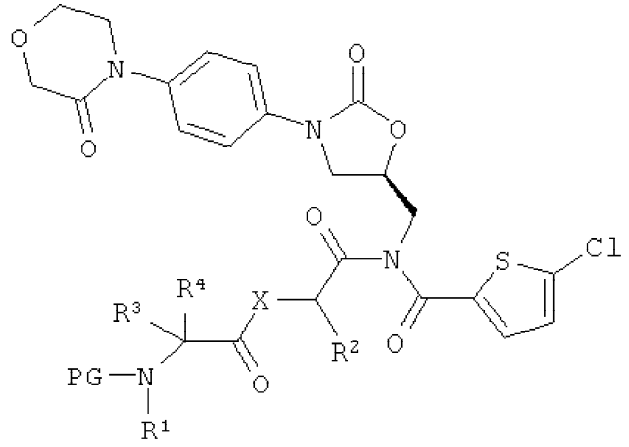
(IV)

в которой R^1, R^3 и R^4 соответственно такие, как указано выше,

PG означает аминозащитную группу, например, такую как трет-бутоксикарбонил (Boc) или бензилоксикарбонил (Z), и

X означает атом кислорода или серы,

приводящему к образованию соединения формулы (V):

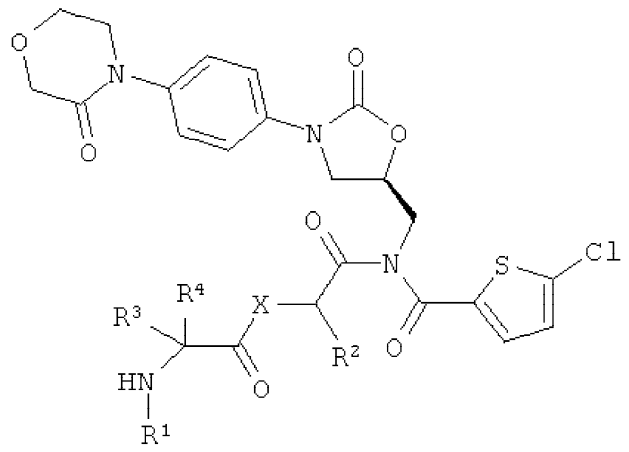


(V)

в которой R^1, R^2, R^3, R^4, PG и X соответственно такие, как указано выше,

и защитную группу PG удаляют обычными методами, получая соединение формулы (I-A):

,

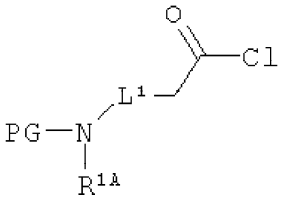


(I-A)

в которой R^1, R^2, R^3, R^4 и X соответственно такие, как указано выше,

[B] соединение (A) подвергают осуществляемому в инертном растворителе в присутствии основания взаимодействию с соединением формулы (VI):

,



(VI)

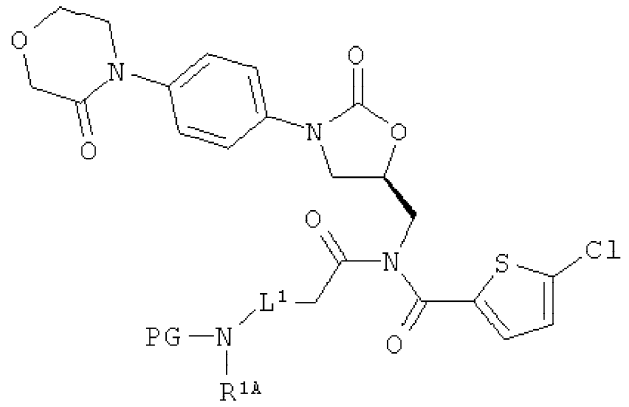
в которой PG такой, как указано выше,

R^{1A} означает алкил с 1-4 атомами углерода, который может быть замещен гидрокси или алкокси с 1-4 атомами углерода, и

L^1 означает алкандиильную группу с 1-4 атомами углерода, в которой одна CH_2-группа может быть заменена на атом кислорода,

приводящему к образованию соединения формулы (VII):

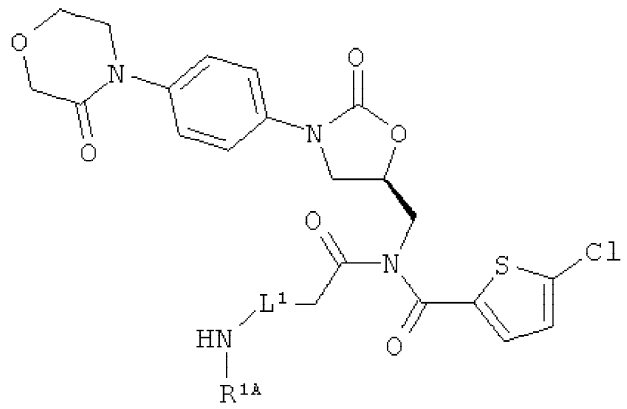
,



(VII)

в которой R^{1A}, L^1 и PG соответственно такие, как указано выше,

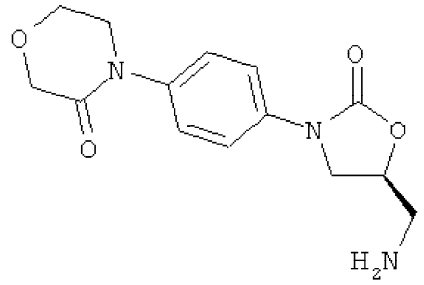
и защитную группу PG удаляют обычными методами, получая соединение формулы (I-B):



(I-B)

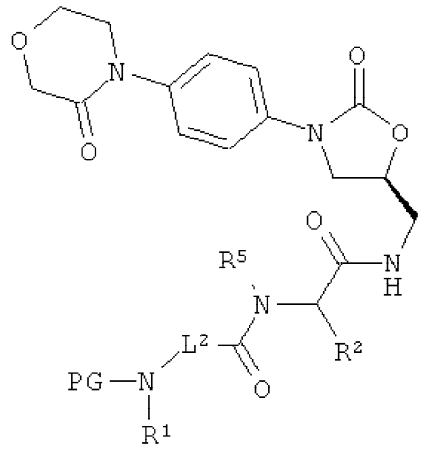
в которой R^{1A} и L^1 такие, как указано выше,

[C] соединение (B):



(B)

стандартными методами химии пептидов переводят в соединение формулы (VIII):

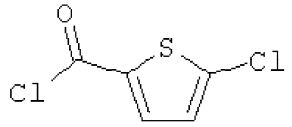


(VIII)

в которой PG, R^1, R^2 и R^5 соответственно такие, как указано выше, и

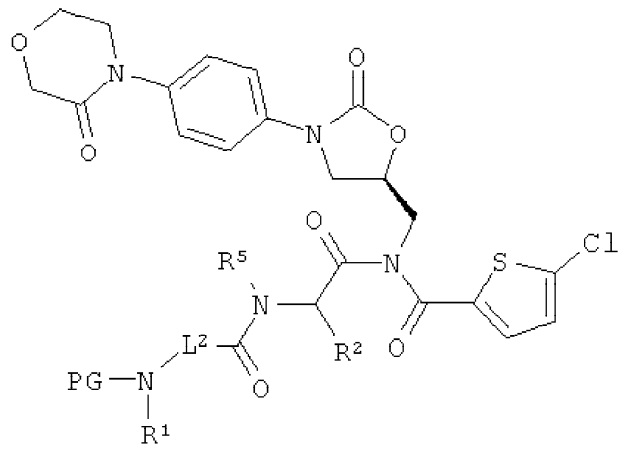
L^2 означает $(CH_2)_2$- или CR^3R^4-группу, в которой R^3 и R^4 соответственно такие, как указано выше,

которое подвергают осуществляемому в инертном растворителе в присутствии основания взаимодействию с соединением формулы (IX):



(IX)

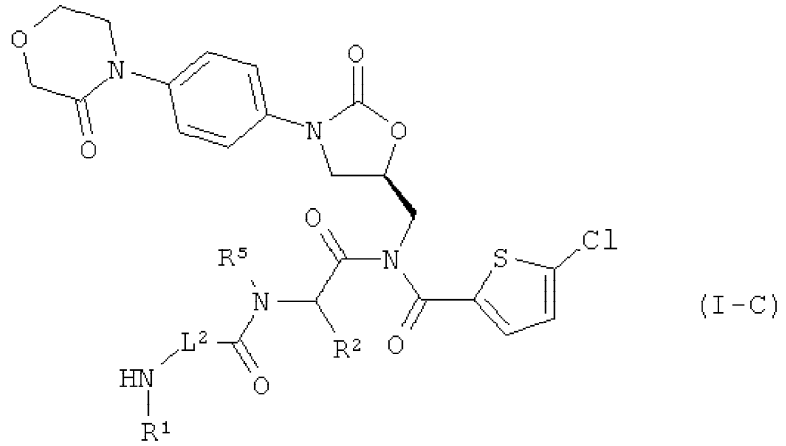
приводящему к образованию соединения формулы (X):



(X)

в которой PG, L^2, R^1, R^2 и R^5 соответственно такие, как указано выше,

и защитную группу PG удаляют обычными методами, получая соединение формулы (I-C):

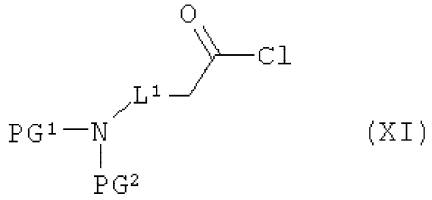


(I-C)

в которой L^2, R^1, R^2 и R^5 соответственно такие, как указано выше,

или

[D] соединение (A) подвергают осуществляемому в инертном растворителе в присутствии основания взаимодействию с соединением формулы (XI):



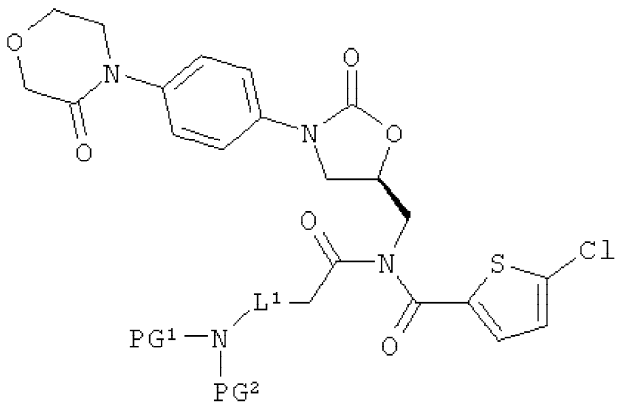
(XI)

в которой

L^1 означает алкандиильную группу с 1-4 атомами углерода, в которой одна CH_2-группа может быть заменена на атом кислорода, и

PG^1 и PG^2 независимо друг от друга означают аминозащитную группу, например, такую как трет-бутоксикарбонил (Boc), бензилоксикарбонил (Z) или п-метоксибензил (PMB), и могут быть одинаковыми или разными,

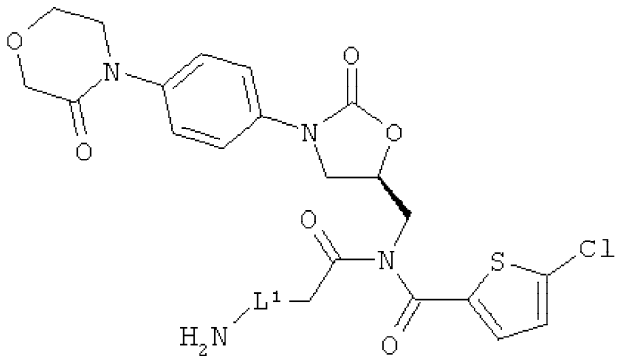
приводящему к образованию соединения формулы (XII):



(XII)

в которой L^1, PG^1 и PG^2 соответственно такие, как указано выше,

и защитные группы PG^1 и PG^2 одновременно или последовательно удаляют обычными методами, получая соединение формулы (I-D):



(I-D)

в которой L^1 такой, как указано выше,

и соответствующие соединения формул (I-A), (I-B), (I-C) или (I-D) при необходимости с использованием соответствующих (i) растворителей и/или (ii) кислот переводят в их сольваты, соли и/или сольваты солей.

Соединения формул (I-A), (I-B), (I-C) и (I-D) могут образоваться также непосредственно при реализации указанных выше способов в виде соответствующих солей. Подобные соли обработкой основаниями в инертном растворителе, методами хроматографии или посредством ионообменных смол при необходимости могут быть переведены в соответствующие свободные основания.

В соответствии с указанными выше реакционными последовательностями функциональные группы, при необходимости присутствующие в остатках R^1, R^{1A} и/или R^3, в случае целесообразности и необходимости также могут находиться во временно защищенном состоянии. При этом введение и удаление этих защитных групп, подобно защитным группам PG, PG^1 и PG^2, осуществляют обычными, известными из химии пептидов методами [см., например, T.W.Greene, P.G.M.Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, издательство Wiley, Нью-Йорк, 1999; M.Bodanszky, A.Bodanszky, The Practice of Peptide Synthesis, издательство Springer, Берлин, 1984].

При этом при необходимости присутствующие в остатках R^1, R^{1A} и/или R^3 подобные защитные группы могут быть удалены одновременно с отщеплением защитных групп PG или на отдельной реакционной стадии, реализуемой до или после отщепления защитных групп PG.

В соответствии с рассмотренными выше способами в качестве аминозащитной группы PG, PG^1 или PG^2 предпочтительно используют трет-бутоксикарбонил (Boc),

бензилоксикарбонил (Z) или п-метоксибензил (PMB). Отщепление этих защитных групп осуществляют обычными методами, предпочтительно взаимодействием с сильной кислотой, такой как водородхлорид, водородбромид или трифторуксусная кислота, в инертном растворителе, таком как диоксан, дихлорметан или уксусная кислота, причем отщепление при необходимости можно осуществлять также в отсутствие дополнительного инертного растворителя.

Превращение (B) → (VIII) осуществляют стандартными методами химии пептидов ацилированием соединения (B) соответствующим защищенным дипептидным производным или последовательным сочетанием отдельных, при необходимости надлежащим образом защищенных аминокислотных компонентов [см., например, M.Bodanszky, Principles of Peptide Synthesis, издательство Springer, Berlin, 1993; H.-D.Jakubke, H.Jeschkeit, Aminosauren, Peptide, Proteine, издательство Chemie, Вейнгейм, 1982].

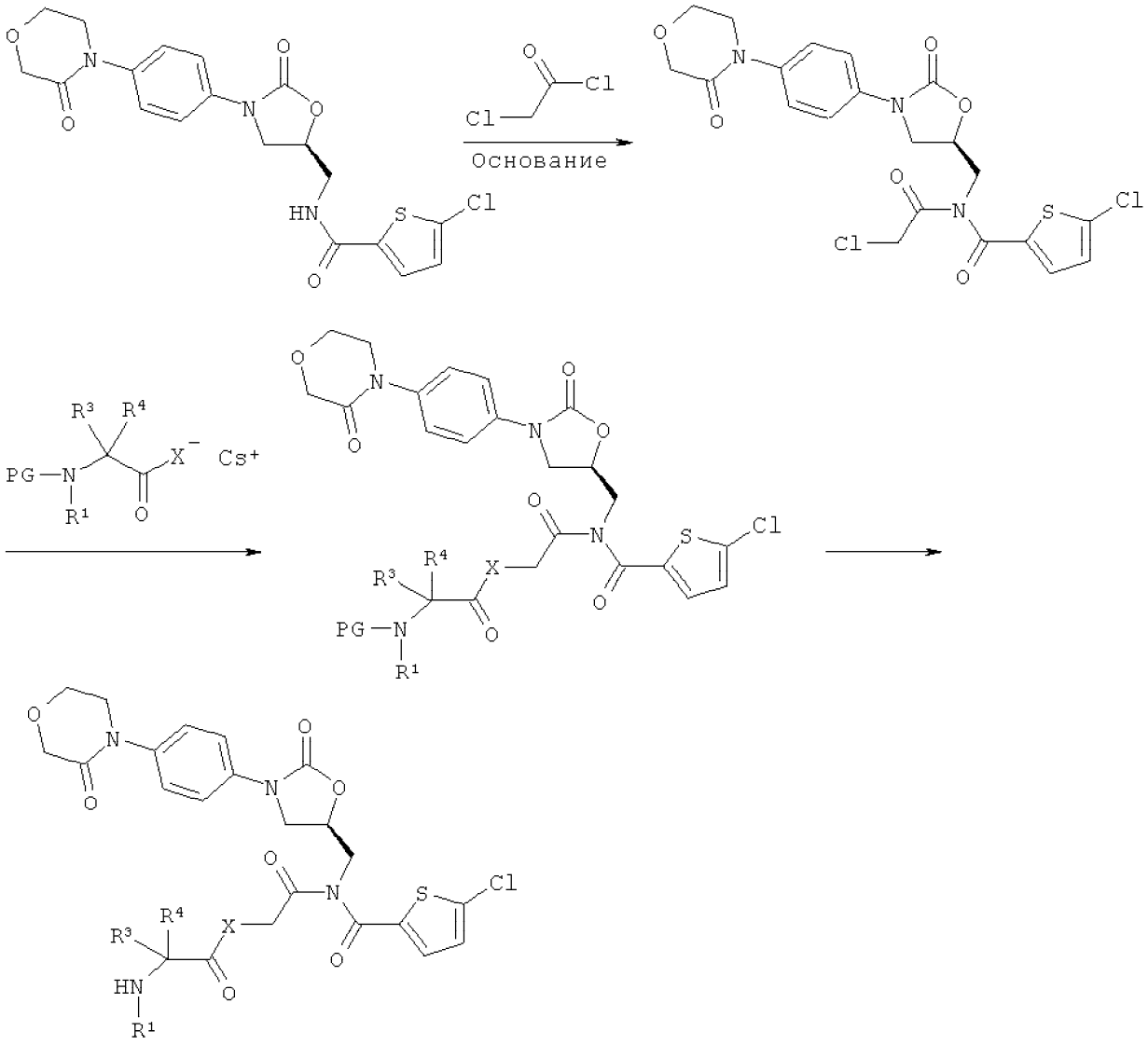
В качестве инертного растворителя на реакционных стадиях (A)+(II) → (III), (A)+(VI) → (VII), (VIII)+(IX) → (X) и (A)+(XI) → (XII) предпочтительно используют тетрагидрофуран, N,N-диметилформамид или диметилсульфоксид, причем особенно предпочтительным является N,N-диметилформамид. Основанием, пригодным для осуществления указанных реакций, прежде всего является гидрид натрия. Указанные реакции в общем случае осуществляют при нормальном давлении в температурном интервале от 0 до +40°C.

Реакционную стадию (III)+(IV) → (V) предпочтительно осуществляют в среде используемого в качестве растворителя N,N-диметилформамида. Взаимодействие в общем случае осуществляют при нормальном давлении в температурном интервале от 0 до +50°C, предпочтительно от +20 до +50°C. Его предпочтительно можно осуществлять также при ультразвуковой обработке.

Соединения формул (II), (IV), (VI), (IX) и (XI) являются известными из литературы, коммерчески доступными продуктами, которые можно синтезировать известными из литературы методами. Получение соединений (A) и (B) описано в S.Roehrig и другие, J. Med. Chem. 48, 5900 (2005).

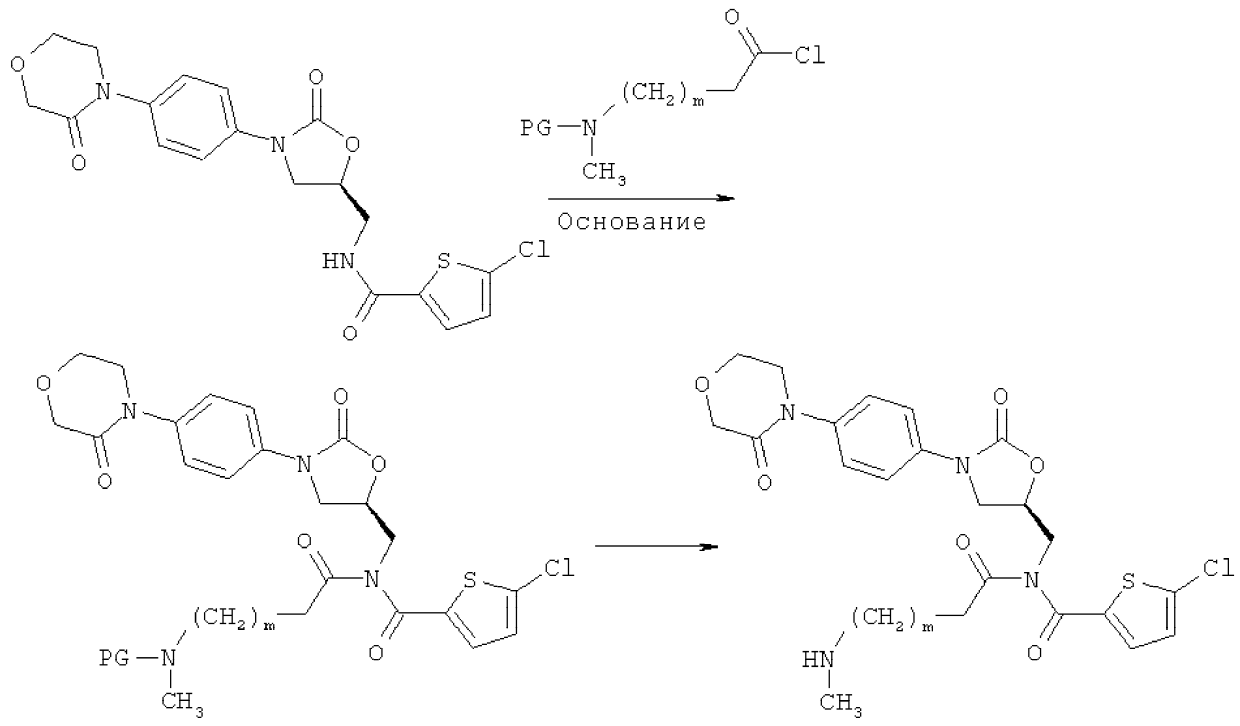
Получение предлагаемых в изобретении соединений может быть представлено в виде следующих реакционных схем.

Схема 1



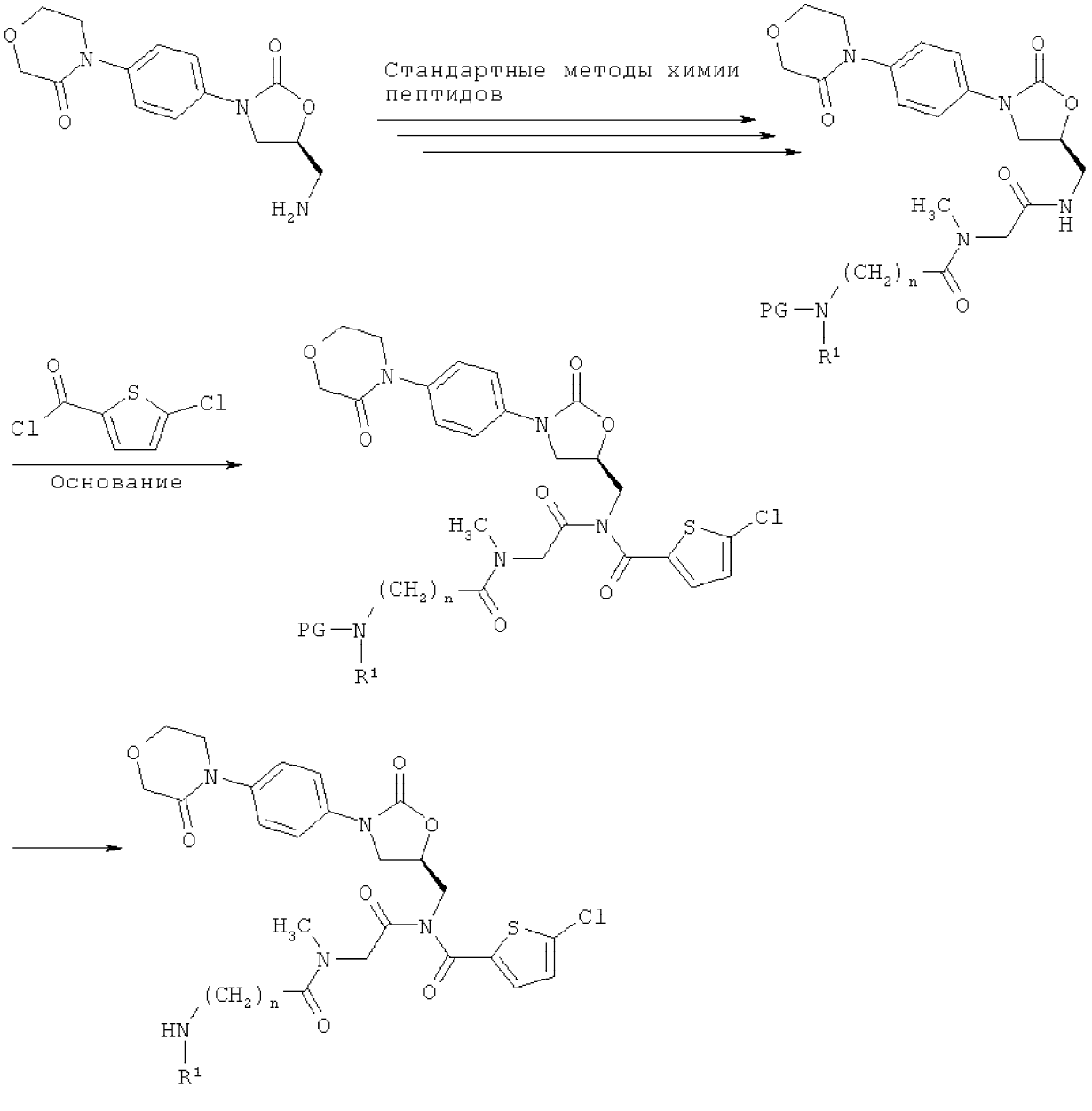
[X означает кислород или серу; PG означает аминозащитную группу, например трет-бутоксикарбонил (Boc) или бензилоксикарбонил (Z)].

Схема 2



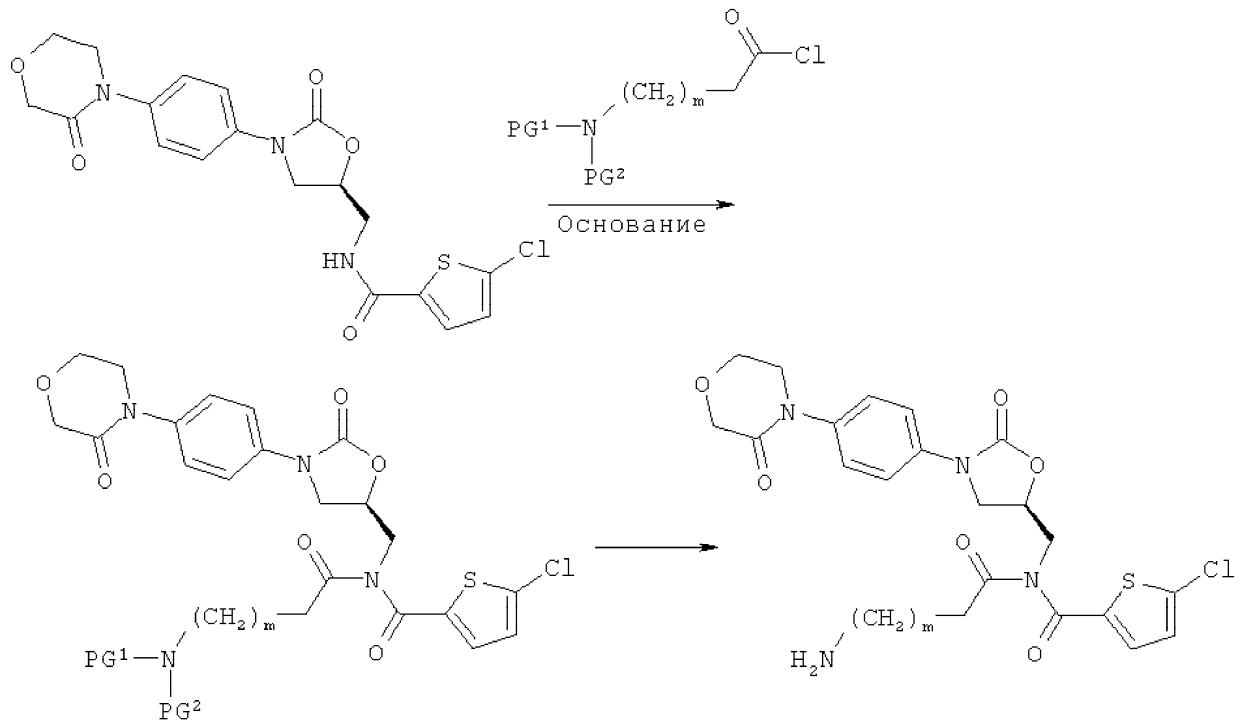
[m означает целое число от 1 до 4; PG означает аминозащитную группу, например трет-бутоксикарбонил (Boc) или бензилоксикарбонил (Z)].

Схема 3



[n означает 1 или 2; PG означает аминозащитную группу, например трет-бутоксикарбонил (Boc) или бензилоксикарбонил (Z)].

Схема 4



[m означает целое число от 1 до 4; PG^1, PG^2 означают аминозащитные группы, например трет-бутоксикарбонил (Boc), бензилоксикарбонил (Z) или п-метоксибензил (PMB)].

Предлагаемые в изобретении соединения и их соли являются полезными пролекарствами действующего вещества - соединения (A). С одной стороны, они обладают высокой стабильностью при pH, равном 4, а с другой стороны, эффективным превращением в действующее вещество - соединение (A), происходящим in vivo при физиологическом показателе pH. Кроме того, предлагаемые в изобретении соединения хорошо растворимы в воде и других физиологически совместимых средах, в связи с чем они пригодны для терапии прежде всего при внутривенном применении.

Другим объектом настоящего изобретения является применение предлагаемых в изобретении соединений для лечения и/или профилактики заболеваний, предпочтительно тромбоэмболических заболеваний и/или тромбоэмболических осложнений.

К тромбоэмболическим заболеваниям в соответствии с настоящим изобретением прежде всего относятся такие заболевания, как инфаркт миокарда с повышением и без повышения сегмента ST, стабильная стенокардия, нестабильная стенокардия, повторные закупорки и рестенозы после вмешательств в венечные сосуды сердца, таких как ангиопластика или аортокоронарное шунтирование, периферические облитерирующие эндартерииты, эмболии легочной артерии, глубокие венозные тромбозы и тромбозы почечной вены, кратковременные приступы ишемии, а также тромботическое и тромбоэмболическое кровоизлияние в мозг.

Таким образом, предлагаемые в изобретении вещества пригодны также для предупреждения и лечения тромбоэмболий сердечного происхождения, например, таких как мозговые ишемии, апоплексия и систематические тромбоэмболии и ишемии, у пациентов с острой, прерывистой или постоянной мерцательной аритмией, например, такой как мерцание предсердий, у подвергаемых кардиоверсии пациентов, а

также у пациентов, страдающих заболеваниями сердечных клапанов или снабженных искусственными сердечными клапанами. Кроме того, предлагаемые в изобретении соединения пригодны для лечения пациентов с распространенным внутрисосудистым свертыванием крови.

Тромбоэмболические осложнения возникают также при микроангиопатических гемолитических анемиях, экстракорпоральных кровообращениях, таких как экстракорпоральный гемодиализ, а также при наличии у пациентов искусственных клапанов сердца.

Кроме того, предлагаемые в изобретении соединения пригодны для профилактики и/или лечения атеросклеротических заболеваний сосудов и воспалительных заболеваний, таких как ревматические заболевания двигательного аппарата, а также для профилактики и/или лечения болезни Альцгеймера. Кроме того, предлагаемые в изобретении соединения можно использовать для торможения опухолевого роста и метастазирования, при микроангиопатии, старческой дегенерации макулы, диабетической ретинопатии, диабетической нефропатии и других микрососудистых заболеваниях, а также для предупреждения и лечения тромбоэмболических осложнений, например, таких как венозные тромбоэмболии, возникающих у онкологических пациентов, прежде всего подвергнутых обширному хирургическому вмешательству или химио- и лучевой терапии.

Другим объектом, настоящего изобретения является применение предлагаемых в изобретении соединений для лечения и/или профилактики заболеваний, прежде всего указанных выше заболеваний.

Другим объектом настоящего изобретения является применение предлагаемых в изобретении соединений для изготовления лекарственного средства, предназначенного для лечения и/или профилактики заболеваний, прежде всего указанных выше заболеваний.

Другим объектом настоящего изобретения является способ лечения и/или профилактики заболеваний, прежде всего указанных выше заболеваний, предусматривающий применение предлагаемых в изобретении соединений.

Другим объектом настоящего изобретения являются лекарственные средства, содержащие предлагаемое в изобретении соединение и одно или несколько других действующих веществ, которые прежде всего предназначены для лечения и/или профилактики указанных выше заболеваний. Примерами предпочтительных действующих веществ, пригодных для использования в соответствующих комбинациях, являются:

- вещества, снижающие уровень липидов, прежде всего ингибиторы HMC-CoA-(3-гидрокси-3-метилглутарил-кофермент А)-редуктазы;
- вещества, используемые для коронарной терапии/вазодилататоры, прежде всего ингибиторы ферментов превращения ангиотензина (ACE-ингибиторы); антагонисты рецептора AII (ангиотензина II); антагонисты β-адреноблокатора; антагонисты альфа-1-адреноблокатора; диуретики; блокаторы кальциевого канала; вещества, способствующие повышению уровня циклического гуанозинмонофосфата (cGMP), например, такие как стимуляторы растворимой гуантилатциклазы;
- активаторы плазминогена (тромболитики/фибринолитики) и соединения, повышающие тромболиз/фибринолиз, такие как ингибиторы ингибитора активатора плазминогена (PAI-ингибиторы) или ингибиторы активированного тромбином ингибитора фибринолиза (TAFI-ингибиторы);
- вещества с противосвертывающим действием (антикоагулянты);

- вещества, подавляющие агрегацию тромбоцитов (ингибиторы агрегации тромбоцитов);
- антагонисты рецептора фибриногена (антагонисты гликопротеида-IIb/IIIa);
- антиаритмические средства.

Другим объектом настоящего изобретения являются лекарственные средства, содержащие по меньшей мере одно предлагаемое в изобретении соединение обычно в сочетании с одним или несколькими инертными, нетоксичными, фармацевтически пригодными вспомогательными веществами, а также их применение для указанных выше целей.

Предлагаемые в изобретении соединения могут обладать систематическим и/или местным действием. В соответствии с этим они пригодны, например, для орального, парентерального, пульмонального или назального применения. Предлагаемые в изобретении соединения можно применять в виде форм, соответствующих указанным выше способам применения.

Для орального приема пригодны функционирующие согласно уровню техники формы применения, которые содержат предлагаемые в изобретении соединения в кристаллическом, аморфизованном и/или растворенном состоянии и способны быстро и/или модифицированно их высвобождать: под подобными формами применения подразумевают, например, таблетки (без покрытия или с покрытием, которое, например, обладает устойчивостью к воздействию желудочного сока, замедленной растворимостью или отсутствием растворимости и обеспечивает контролируемое высвобождение предлагаемого в изобретении соединения), таблетки, способные к быстрому разрушению в полости рта, пленки/облатки, пленки/лиофилизаты, капсулы (например, капсулы из жесткого или мягкого желатина), драже, гранулы, пеллеты, порошки, эмульсии, суспензии, аэрозоли или растворы.

Парентеральное применение (например, внутривенное, внутриартериальное, интракардиальное, интраспинальное или интралюмбальное) позволяет исключить стадию резорбции или включает стадию резорбции (например, внутримышечное, подкожное, внутрикожное, чрескожное или внутрибрюшинное применение). Для парентерального применения, в частности, пригодны такие лекарственные формы, как, например, инъекционные и инфузионные препараты в виде растворов, суспензий, эмульсий, лиофилизатов или стерильных порошков.

Для прочих способов применения пригодны, например, ингаляционные лекарственные формы (в частности, порошковые ингаляторы, распылители) или назально применяемые лекарственные формы, такие как капли, растворы или распыляемые растворы.

Предпочтительным является парентеральное, прежде всего внутривенное применение.

Предлагаемые в изобретении соединения могут быть преобразованы в указанные выше формы применения. Соответствующий технологический процесс может быть реализован известным образом благодаря смешиванию предлагаемых в изобретении соединений с инертными, нетоксичными, фармацевтически пригодными вспомогательными веществами. К подобным вспомогательным веществам относятся, в частности, основы (например, микрокристаллическая целлюлоза, лактоза, маннитол), растворители (например, жидкие полиэтиленгликоли), эмульгаторы, диспергаторы, смачивающие агенты (например, додецилсульфат натрия, полиоксисорбитанолеат), связующие вещества (например, поливинилпирролидон), синтетические и природные полимеры (например, альбумин), стабилизаторы (в

частности, антиоксиданты, например, такие как аскорбиновая кислота), красители (в частности, неорганические пигменты, например, такие как оксиды железа) и средства для корректировки вкуса и/или запаха.

Предпочтительная дозировка действующего вещества, обеспечивающая достижение эффективного результата при парентеральном применении, в общем случае составляет примерно от 0,001 до 1 мг, предпочтительно от 0,01 до 0,5 мг на кг массы тела. В случае орального применения оптимальной дозировке соответствует примерный интервал от 0,01 до 100 мг, предпочтительно от 0,01 до 20 мг и еще более предпочтительно от 0,1 до 10 мг на кг массы тела.

Несмотря на это в некоторых случаях может возникать необходимость в корректировании указанных дозировок, которое определяется массой тела, способом применения действующего вещества, индивидуальным отношением к нему, а также типом препарата и моментом времени, соответственно периодичностью его применения. Так, например, в определенных случаях могут оказаться достаточными дозировки, более низкие по сравнению с указанными выше нижними предельными значениями, тогда как в иных случаях могут потребоваться дозировки, превышающие указанные выше максимальные значения. В последнем случае рекомендуется распределять дозировку на несколько применяемых в течение суток доз.

Приведенные ниже примеры предназначены для пояснения изобретения и не ограничивают его объема.

В отсутствие особых указаний процентные данные в нижеследующих опытах и примерах приведены в массовых процентах, части в массовых частях. Количественные соотношения между растворителями, степени разбавления и концентрации растворов жидких компонентов в жидкостях указаны в соответствующих объемных единицах.

А. Примеры

Сокращения и аббревиатуры

abs.	абсолютный
Boc	трет-бутоксикарбонил
ТХ	тонкослойная хроматография
ДМФ	N,N-диметилформамид
ДМСО	диметилсульфоксид
d.Th.	выход от теоретического
h	час(-ы)
ВЭЖХ	высокоэффективная жидкостная хроматография под высоким давлением
ЖХ-МС	комбинированная жидкостная хромато-масс-спектрометрия
мин	минута(-ы)
МС	масс-спектрометрия
ЯМР	ядерный магнитный резонанс
P	пара
Pd/C	палладий на активированном угле
PMB	п-метоксибензил
quant.	количественный выход
Rf	время удержания (при тонкослойной хроматографии)
RT	комнатная температура
Rt	время удержания (при ВЭЖХ)
UV	УФ-спектрометрия
об.	объемное соотношение компонентов раствора
Z	бензилоксикарбонил

Методы ЖХ-МС и ВЭЖХ

Метод 1 (препаративная ВЭЖХ)

Колонка VP 250/21 Nukleodur 100-5 C18 ec, Macherey & Nagel Nr. 762002; элюент A: вода/0,01% трифторуксусной кислоты, элюент B: ацетонитрил/0,01% трифторуксусной кислоты; градиент: 0 мин 0% B → 20 мин 20% B → 40 мин 20% B → 60 мин 30% B → 80 мин 30% B → 90 мин 100% B → 132 мин 100% B; расход 5 мл/мин; комнатная температура; УФ-детектор: 210 нм.

Метод 2 (аналитическая ВЭЖХ)

Колонка XTerra 3,9×150 WAT 186000478; элюент A: 10 мл 70%-ной перхлорной кислоты в 2,5 л воды, элюент B: ацетонитрил; градиент: 0,0 мин 20% B → 1 мин 20% B → 4 мин 90% B → 9 мин 90% B; комнатная температура; расход 1 мл/мин.

Метод 3 (ЖХ-МС)

Прибор Micromass LCT с ВЭЖХ Agilent серии 1100; колонка Waters Symmetry C18, 3,5 мкм, 50 мм × 2,1 мм; элюент A: 1 л воды + 1 мл 98-100%-ной муравьиной кислоты, элюент B: 1 л ацетонитрила + 1 мл 98-100%-ной муравьиной кислоты; градиент: 0 мин 100% A → 1 мин 100% A → 6 мин 10% A → 8 мин 0% A → 10 мин 0% A → 10,1 мин 100% A → 12 мин 100% A; расход: 0-10 мин 0,5 мл/мин → 10,1 мин 1 мл/мин → 12 мин 0,5 мл/мин; температура 40°C; УФ-детектор DAD: 208-500 нм.

Метод 4 (ЖХ-МС)

Прибор Micromass ZQ с ВЭЖХ серии HP 1100; УФ-детектор DAD; колонка Phenomenex Synergi, 2 мкм, гидро-RP Mercury 20 мм × 4 мм; элюент A: 1 л воды + 0,5 мл 50%-ной муравьиной кислоты, элюент B: 1 л ацетонитрила + 0,5 мл 50%-ной муравьиной кислоты; градиент: 0,0 мин 90% A → 2,5 мин 30% A → 3,0 мин 5% A → 4,5 мин 5% A; расход; 0,0 мин 1 мл/мин → 2,5 мин/3,0 мин/4,5 мин 2 мл/мин; температура 50°C; УФ-детектор: 210 нм.

Метод 5 (ЖХ-МС)

Прибор Micromass Quattro LCZ с ВЭЖХ Agilent серии 1100; колонка Phenomenex Synergi, 2 мкм, гидро-RP Mercury 20 мм × 4 мм; элюент A: 1 л воды + 0,5 мл 50%-ной муравьиной кислоты, элюент B: 1 л ацетонитрила + 0,5 мл 50%-ной муравьиной кислоты; градиент: 0,0 мин 90% A → 2,5 мин 30% A → 3,0 мин 5% A → 4,5 мин 5% A; расход: 0,0 мин 1 мл/мин → 2,5 мин/3,0 мин/4,5 мин 2 мл/мин; температура 50°C; УФ-детектор: 208-400 нм.

Метод 6 (ЖХ-МС)

Масс-спектрометр типа Micromass ZQ; ВЭЖХ: Waters Alliance 2795; колонка Phenomenex Synergi, 2 мкм, гидро-RP Mercury 20 мм × 4 мм; элюент A: 1 л воды + 0,5 мл 50%-ной муравьиной кислоты, элюент B: 1 л ацетонитрила + 0,5 мл 50%-ной муравьиной кислоты; градиент: 0,0 мин 90% A → 2,5 мин 30% A → 3,0 мин 5% A → 4,5 мин 5% A; расход: 0,0 мин 1 мл/мин → 2,5 мин/3,0 мин/4,5 мин 2 мл/мин; температура 50°C; УФ-детектор: 210 нм.

Метод 7 (аналитическая хиральная ВЭЖХ)

Хиральная силикагелевая фаза (250 мм × 4,6 мм) на основе поли(N-метакрилоил-L-лейциндициклопропилметиламида); элюент: изогексан/этилацетат 35:65 (об.); температура 24°C; расход 2 мл/мин; УФ-детектор: 270 нм.

Метод 8 (аналитическая хиральная ВЭЖХ)

Хиральная силикагелевая фаза (250 мм × 4,6 мм) на основе поли(N-метакрилоил-L-лейцин-трет-бутиламида); элюент: изогексан/этилацетат 35:65 (об.); температура 24°C; расход 2 мл/мин; УФ-детектор: 270 нм.

Метод 9 (аналитическая хиральная ВЭЖХ)

Хиральная силикагелевая фаза (250 мм × 4,6 мм) на основе поли(N-метакрилоил-L-лейцин-трет-бутиламида); элюент: изогексан/этилацетат 65:35 (об.); температура 24°C;

расход 2 мл/мин; УФ-детектор: 270 нм.

Метод 10 (препаративная хиральная ВЭЖХ)

Хиральная силикагелевая фаза (670 мм × 40 мм) на основе поли(N-метакрилоил-L-лейцин-дициклопропилметиламида); элюент: изогексан/этил ацетат 25:75 (об.); температура 24°C; расход 80 мл/мин; УФ-детектор: 270 нм.

Метод 11 (препаративная хиральная ВЭЖХ)

Хиральная силикагелевая фаза (670 мм × 40 мм) на основе поли(N-метакрилоил-L-лейцин-трет-бутиламида); элюент: изогексан/этилацетат 65:35 (об.); температура 24°C; расход 50 мл/мин; УФ-детектор: 260 нм.

Метод 12 (ЖХ-МС)

Прибор Micromass Quattro LCZ с ВЭЖХ Agilent серии 1100; колонка Phenomenex Onyx Monolithic C18, 100 мм × 3 мм; элюент A: 1 л воды + 0,5 мл 50%-ной муравьиной кислоты, элюент B: 1 л ацетонитрила + 0,5 мл 50%-ной муравьиной кислоты; градиент: 0,0 мин 90% A → 2 мин 65% A → 4,5 мин 5% A → 6 мин 5% A; расход: 2 мл/мин; температура печи 40°C; УФ-детектор: 208-400 нм.

Метод 13 (ЖХ-МС)

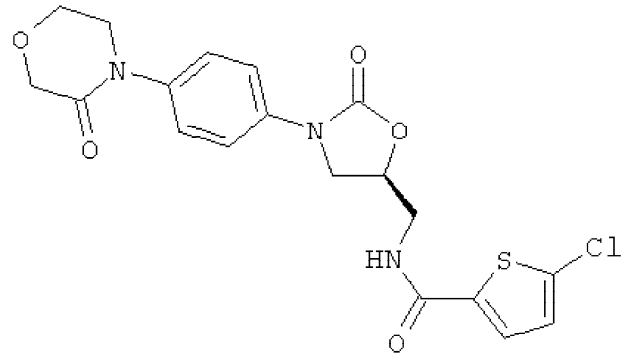
Прибор Micromass Platform LCZ с ВЭЖХ Agilent серии 1100; колонка Thermo Hypersil GOLD, 3 мкм, 20 мм × 4 мм; элюентA: 1 л воды + 0,5 мл 50%-ной муравьиной кислоты, элюент B: 1 л ацетонитрила + 0,5 мл 50%-ной муравьиной кислоты; градиент: 0,0 мин 100% A → 0,2 мин 100% A → 2,9 мин 30% A → 3,1 мин 10% A → 5,5 мин 10% A; температура печи 50°C; расход 0,8 мл/мин; УФ-детектор: 210 нм.

ЯМР-спектроскопия

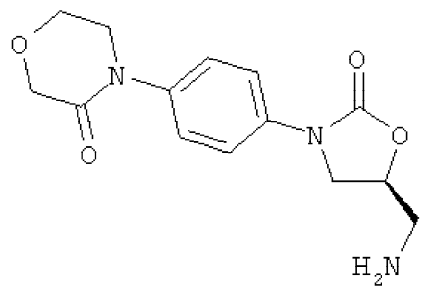
ЯМР-измерения осуществляли при частоте 400,13 МГц. Образцы обычно растворяли в ДМСО-d_6; температура 302 К.

Исходные соединения и промежуточные продукты

В качестве исходных продуктов используют 5-хлор-N-({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)тиофен-2-карбоксамид [соединение (A)] и 4-{4-[(5S)-5-(аминометил)-2-оксо-1,3-оксазолидин-3-ил]фенил} морфолин-3-он [соединение (B)], получение которых описано в S.Roehrig и другие, J. Med. Chem. 48, 5900 (2005).



(A)



(B)

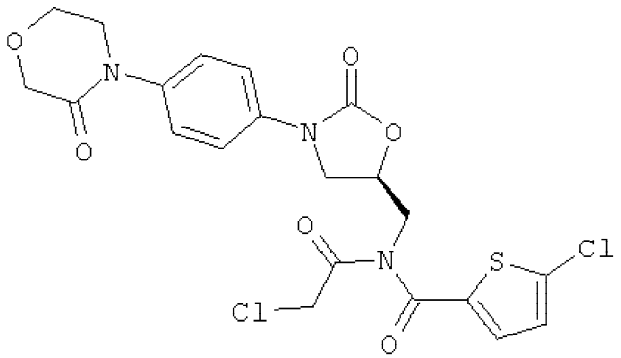
Общая методика 1 ацилирования аминогруппы соединения (B)

Используемые карбоксильные компоненты (в большинстве случаев пригодные защищенные производные аминокислоты или пептида) являются коммерчески доступными продуктами, или их получают стандартными методами. Предпочтительным является непосредственное ацилирование 4-{4-[(5S)-5-(аминометил)-2-оксо-1,3-оксазолидин-3-ил]фенил}морфолин-3-она [соединения (B)] пригодными защищенными производными пептидов. В другом варианте можно также последовательно выполнить следующие операции: присоединить производное аминокислоты, при необходимости удалить защитную группу и затем стандартными методами реализовать взаимодействие с другими пригодными защищенными производными аминокислот или пептидов.

2,3 ммоль соответствующего карбоксильного компонента растворяют в 30 мл ДМФ и полученный раствор смешивают с 2,3 ммоль 1-гидрокси-1H-бензотриазола, 2 ммоль N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимид гидрохлорида, 4,5 ммоль N,N-диизопропилэтиламина, а затем с 1,5 ммоль используемого в качестве аминного компонента 4-{4-[(5S)-5-(аминометил)-2-оксо-1,3-оксазолидин-3-ил]фенил} морфолин-3-она [соединения (B)]. После трехчасового перемешивания при комнатной температуре реакционную смесь концентрируют, остаток вводят в дихлорметан и встряхивают соответственно по два раза с 5%-ной лимонной кислотой, 5%-ным раствором гидрокарбоната натрия и водой. Органическую фазу концентрируют и остаток подвергают очистке флэш-хроматографией на силикагеле, используя в качестве элюента смесь ацетонитрила с водой (30:1). Соответствующие фракции объединяют и удаляют растворитель. Остаток растворяют в смеси дихлорметана с метанолом, целевой продукт осаждают диэтиловым эфиром и сушат в высоком вакууме.

Промежуточное соединение 1A

5-Хлор-N-(хлорацетил)-N-({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)тиофен-2-карбоксамид



1 г (2,3 ммоль) 5-хлор-N-({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)тиофен-2-карбоксамида [соединения (A)] растворяют под аргоном в 170 мл абсолютного ДМФ. Добавляют 110 мг (4,6 ммоль) гидрида натрия и компоненты перемешивают в течение 20 минут при комнатной температуре. Затем добавляют 3,5 г (31 ммоль) хлорацетилхлорида, поддерживая температуру реакции на уровне комнатной. Через 30 минут при охлаждении добавляют 25 мл воды и смесь выдерживают два дня при комнатной температуре. Затем растворитель отгоняют в вакууме, причем температура не должна превышать +25°C. Остаток переводят в 500 мл дихлорметана и встряхивают с пятью порциями воды объемом 200 мл каждая. Органическую фазу сушат над сульфатом магния, фильтруют и концентрируют до

объема около 50 мл. При перемешивании добавляют 200 мл диэтилового эфира и осадок (в основном непревращенный исходный продукт) отделяют фильтрованием. Маточный щелок концентрируют, остаток подвергают очистке флэш-хроматографией на силикагеле, используя в качестве элюента смесь толуола с этанолом (10:1). Соответствующие фракции объединяют и растворитель удаляют. Остаток подвергают лиофилизации из диоксана.

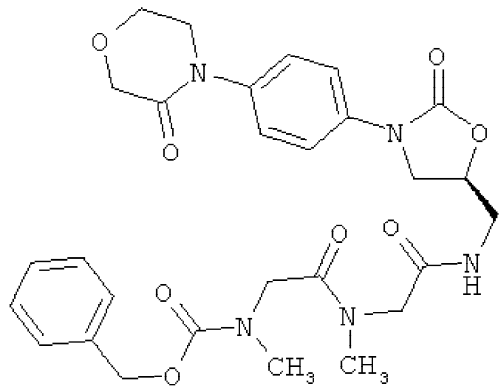
Выход 111 мг (9,5% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=5,09 мин.

ЖХ-МС (метод 4): R_t=2,31 мин; m/z=512 $(M+H)^+$.

Промежуточное соединение 2A

N-[(бензилокси)карбонил-N-метилглицил-N^2-метил-N-({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)глицинамид



На первой стадии 511 мг (1,5 ммоль) используемого в качестве карбоксильного компонента Z-саркозина в соответствии с общей методикой 1 подвергают взаимодействию с соединением (B) (выход 697 мг, 92% от теоретического).

Затем 200 мг (0,4 ммоль) полученного промежуточного соединения с целью удаления защитной бензилоксикарбонильной группы подвергают реализуемому стандартными методами гидрогенолизу посредством палладия на активированном угле (выход 130 мг, 89% от теоретического).

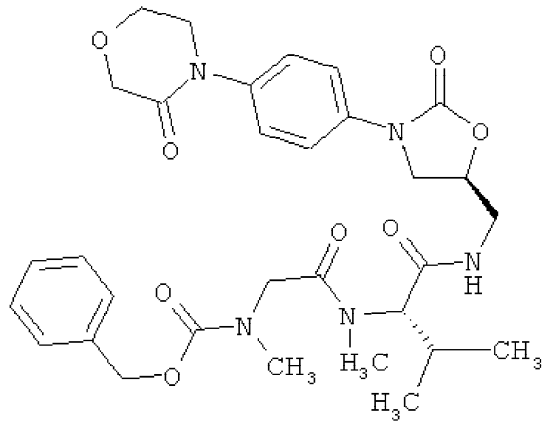
На третьей стадии полученное соединение в соответствии с общей методикой 1 вновь соединяют со 120 мг (0,54 ммоль) Z-саркозина (выход 201 мг, 98% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,21 мин.

ЖХ-МС (метод 6): R_t=1,54 мин; m/z=568 $(M+H)^+$.

Промежуточное соединение 3A

N-[(бензилокси)карбонил]-N-метилглицил-N^2-метил-N-({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)-L-валинамид



На первой стадии 529 мг (2,3 ммоль) используемого в качестве карбоксильного компонента Boc-N-метилвалина в соответствии с общей методикой 1 подвергают взаимодействию с соединением (B) (выход 750 мг, 97% от теоретического).

Затем от 750 мг (1,5 ммоль) полученного выше промежуточного соединения стандартным методом в дихлорметане посредством трифторуксусной кислоты отделяют защитную трет-бутоксикарбонильную группу (выход 740 мг, 96% от теоретического).

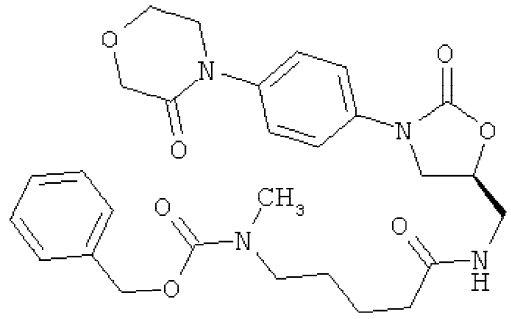
На третьей стадии 200 мг (0,39 ммоль) полученного указанным выше образом соединения в соответствии с общей методикой 1 соединяют со 129 мг (0,58 ммоль) Z-саркозина (выход 206 мг, 88% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,68 мин.

ЖХ-МС (метод 5): R_t=1,96 мин; m/z=610 $(M+H)^+$.

Промежуточное соединение 4A

Бензилметил-{5-оксо-5-[({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)амино]пентил}карбамат



32 мг (0,119 ммоль) используемой в качестве карбоксильного компонента 5-[[(бензилокси)карбонил](метил)амино]валерьяновой кислоты в соответствии с общей методикой 1 подвергают взаимодействию с соединением (B).

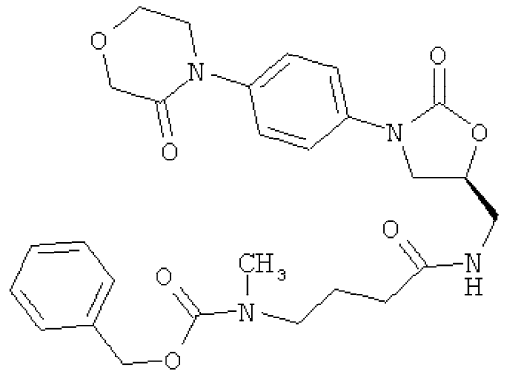
Выход 45 мг (91% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,51 мин.

ЖХ-МС (метод 4): R_t=2,02 мин; m/z=539 $(M+H)^+$.

Промежуточное соединение 5A

Бензилметил-{5-оксо-5-[({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)амино]бутил}карбамат



313 мг (0,96 ммоль) используемой в качестве карбоксильного компонента 5-[[(бензилокси)карбонил](метил)амино]масляной кислоты в соответствии с общей методикой 1 подвергают взаимодействию с соединением (B).

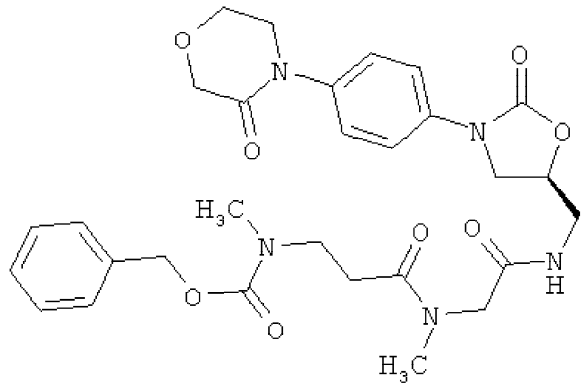
Выход 298 мг (71% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,42 мин.

ЖХ-МС (метод 4): R_t=1,89 мин; m/z=525 $(M+H)^+$.

Промежуточное соединение 6A

N-[(бензилокси)карбонил]-N-метил-β-аланил-N^2-метил-N-({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)глицинамид



На первой стадии 511 мг (1,5 ммоль) используемого в качестве карбоксильного компонента Z-саркозина в соответствии с общей методикой 1 подвергают взаимодействию с соединением (B) (выход 697 мг, 92% от теоретического).

Затем от 200 мг (0,4 ммоль) полученного промежуточного соединения стандартным методом гидрогенолиза посредством палладия на активированном угле отделяют защитную бензилоксикарбонильную группу (выход 130 мг, 89% от теоретического).

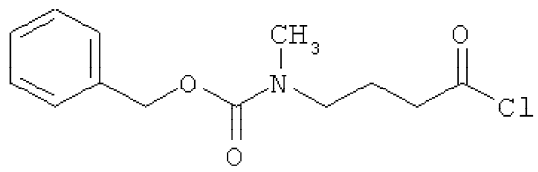
На третьей стадии 100 мг полученного указанным выше образом соединения в соответствии с общей методикой 1 соединяют с 98,2 мг (0,41 ммоль) Z-N-метил-β-аланина (выход 87 мг, 54% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,28 мин.

ЖХ-МС (метод 6): R_t=1,60 мин; m/z=582 $(M+H)^+$.

Промежуточное соединение 7A

Бензил(4-хлор-4-оксобутил)метилкарбамат

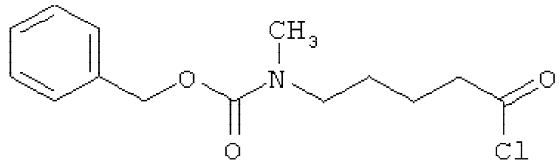


Сначала из коммерчески доступной 4-{[(бензилокси)карбонил]амино}-масляной кислоты известным из литературы методом [Y.Aramaki и другие, Chem. Pharm. Bull., 52, 258 (2004)] синтезируют 4-[[(бензилокси)карбонил]-(метил)амино]масляную кислоту. В другом варианте синтез может быть осуществлен также введением бензилоксикарбонильной защитной группы в ω-N-метиламиноалкилкарбоновые кислоты, которые могут быть получены в соответствии с P.Quitt и другие [Helv. Chim. Acta, 46, 327 (1963)].

1,74 г (6,92 ммоль) 4-[[(бензилокси)карбонил](метил)амино]масляной кислоты растворяют в 35 мл дихлорметана и полученный раствор смешивают с 3,5 мл (48 ммоль) тионилхлорида. Смесь в течение 1 часа нагревают с обратным холодильником. Затем ее концентрируют в вакууме, остаток вновь смешивают с дихлорметаном и вторично концентрируют. Остается вязкое масло, которое подвергают сушке в высоком вакууме. Получают 1,8 г целевого соединения (выход от теоретического 96%), которое используют для дальнейшего синтеза без дополнительной очистки и определения характеристик.

Промежуточное соединение 8A

Бензил (5-хлор-5-оксопентил)метилкарбамат

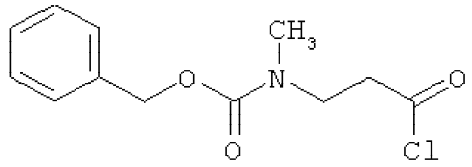


Сначала известным методом аналогично промежуточному соединению 7A синтезируют 5-[[(бензилокси)карбонил](метил)амино]валерьяновую кислоту.

1,97 г (7,43 ммоль) 5-[[(бензилокси)карбонил](метил)амино]валерьяновой кислоты растворяют в 30 мл дихлорметана и полученный раствор смешивают с 4,9 мл (67,3 ммоль) тионилхлорида. Смесь в течение 1 часа нагревают с обратным холодильником. Затем ее концентрируют в вакууме, остаток вновь смешивают с дихлорметаном и вторично концентрируют. Остается вязкое масло, которое подвергают сушке в высоком вакууме. Получают 2 г целевого соединения (выход от теоретического 95%), которое используют для дальнейшего синтеза без дополнительной очистки и определения характеристик.

Промежуточное соединение 9A

Бензил (3-хлор-3-оксопропил)метилкарбамат



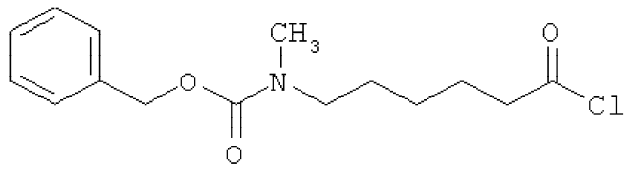
Сначала из коммерчески доступной 3-{[(бензилокси)карбонил]амино}-пропионовой кислоты известным из литературы методом [Y.Aramaki и другие, Chem. Pharm. Bull., 52, 258 (2004)] синтезируют 3-[[(бензилокси)-карбонил](метил)амино] пропионовую кислоту. В другом варианте синтез можно осуществлять также введением защитной бензилоксикарбонильной группы в ω-N-метиламиноалкилкарбоновые кислоты, которые могут быть получены в соответствии с P.Quitt и другие [Helv. Chim. Acta, 46, 327 (1963)].

850 мг (3,58 ммоль) 3-[[(бензилокси)карбонил](метил)амино]пропионовой кислоты растворяют в 15 мл дихлорметана и полученный раствор смешивают с 1,5 мл

оксалилхлорида. Смесь в течение 3 часов нагревают с обратным холодильником. Затем ее концентрируют в вакууме, остаток вновь смешивают с дихлорметаном и вторично концентрируют. Остается вязкое масло, которое подвергают сушке в высоком вакууме. Получают 915 мг целевого соединения (количественный выход), которое используют для дальнейшего синтеза без дополнительной очистки и определения характеристик.

Промежуточное соединение 10A

Бензил(6-хлор-6-оксогексил)метилкарбамат

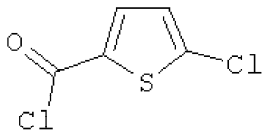


Сначала из коммерчески доступной 6-{[(бензилокси)карбонил]амино}капроновой кислоты известным из литературы методом [Y.Aramaki и другие, Chem. Pharm. Bull., 52, 258 (2004)] получают 6-[[(бензилокси)карбонил]-(метил)амино]капроновую кислоту. В другом варианте синтез можно осуществлять также введением защитной бензилоксикарбонильной группы в ω-N-метиламиноалкилкарбоновые кислоты, которые могут быть получены в соответствии с P.Quitt и другие [Helv. Chim. Acta, 46, 327 (1963)].

3850 мг (13,8 ммоль) 6-[[(бензилокси)карбонил](метил)амино]капроновой кислоты растворяют в 60 мл дихлорметана и полученный раствор смешивают с 4 мл оксалилхлорида. Смесь в течение 3 часов нагревают с обратным холодильником. Затем ее концентрируют в вакууме, остаток вновь смешивают с дихлорметаном и вторично концентрируют. Остается вязкое масло, которое подвергают сушке в высоком вакууме. Получают 4,1 г целевого соединения (количественный выход), которое используют для дальнейшего синтеза без дополнительной очистки и определения характеристик.

Промежуточное соединение 11A

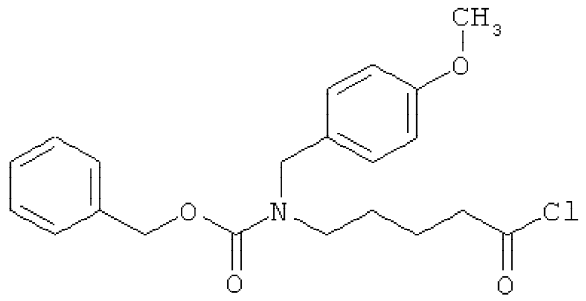
5-Хлортиофен-2-карбонилхлорид



480 мг (2,95 ммоль) 5-хлортиофен-2-карбоновой кислоты растворяют в 24 мл дихлорметана и полученный раствор смешивают с 2,4 мл (27,5 ммоль) оксалилхлорида. Смесь в течение 16 часов нагревают с обратным холодильником. Затем ее концентрируют в вакууме, остаток вновь смешивают с дихлорметаном и вторично концентрируют. Остается вязкое масло, которое подвергают сушке в высоком вакууме. Получают 534 мг целевого соединения (количественный выход), которое используют для дальнейшего синтеза без дополнительной очистки и определения характеристик.

Промежуточное соединение 12A

Бензил(5-хлор-5-оксопентил)(4-метокси-бензил)карбамат



Стадия a)

10 г (85,4 ммоль) 5-аминовалерьяновой кислоты, 17,4 г (128 ммоль) п-анисового альдегида и 10,3 г (85,4 ммоль) сульфата магния вводят в 330 мл этанола и смесь нагревают в течение 1 часа с обратным холодильником. Затем ее фильтруют, промывают этанолом и фильтрат смешивают с 1,94 г (51,2 ммоль) вводимого в течение 15 минут порциями боргидрида натрия. Добавляют 10 мл воды, а затем 128 мл 2М раствора едкого натра. Через 5 минут смесь разбавляют 300 мл воды и встряхивают с тремя порциями этилацетата объемом по 200 мл каждая. Показатель pH водной фазы посредством 4М соляной кислоты устанавливают на уровне 2 и концентрируют в вакууме. Остаток подвергают очистке флэш-хроматографией на силикагеле, используя в качестве элюента смесь ацетонитрил/вода/уксусная кислота (5:1:0,1). Фракции продукта концентрируют и перемешивают с этилацетатом и диэтиловым эфиром. Остаток отсасывают на фильтре и сушат в высоком вакууме. Получают 9,1 г защищенной п-метоксибензильной группой 5-аминовалерьяновой кислоты (выход от теоретического 45%).

Стадия b)

Полученное выше производное 5-аминовалерьяновой кислоты вводят в смесь диоксана с водой (1:1), посредством раствора едкого натра показатель pH устанавливают на уровне 10 и по каплям добавляют 12,97 г (76 ммоль) бензилхлоркарбоната. После 15-минутного перемешивания при комнатной температуре диоксан отгоняют в вакууме и показатель pH оставшегося раствора посредством 2М соляной кислоты устанавливают на уровне 2. Раствор экстрагируют этилацетатом и органическую фазу дважды промывают водой. Затем ее концентрируют и остаток сушат в высоком вакууме. После этого осуществляют очистку остатка флэш-хроматографией на силикагеле, используя в качестве элюента ацетонитрил. Фракции продукта концентрируют и остаток сушат в высоком вакууме. Получают 5,6 г Z-защищенной аминокислоты (выход от теоретического 38%).

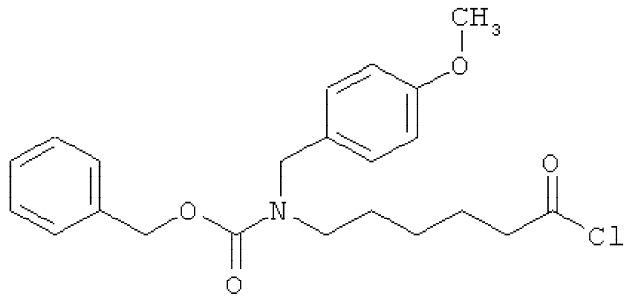
ЖХ-МС (метод 3): R_t=2,47 мин; m/z=372 $(M+H)^+$.

Стадия c)

5,6 г (15 ммоль) полученной на стадии b) 5-{[(бензилокси)карбонил](4-метоксибензил)амино}валерьяновой кислоты растворяют в 60 мл дихлорметана и полученный раствор смешивают с 2,2 мл тионилхлорида. Смесь в течение 30 минут нагревают с обратным холодильником. Затем ее концентрируют в вакууме, остаток вновь смешивают с дихлорметаном и вторично концентрируют. Остается вязкое масло, которое подвергают сушке в высоком вакууме. Получают 5,7 г целевого соединения (выход от теоретического 98%), которое используют для дальнейшего синтеза без дополнительной очистки и определения характеристик.

Промежуточное соединение 13A

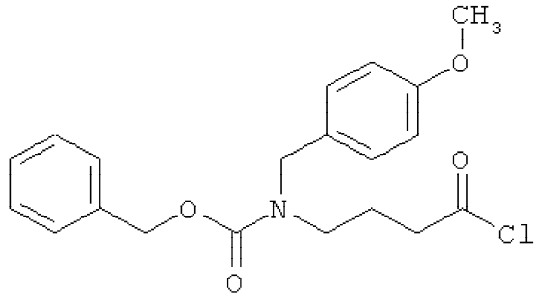
Бензил(6-хлор-6-оксогексил)(4-метокси-бензил)карбамат



Целевое соединение получают из 6-аминокапроновой кислоты аналогично промежуточному соединению 12A.

Промежуточное соединение 14A

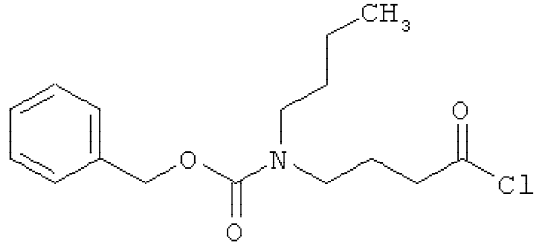
Бензил(4-хлор-4-оксобутил)(4-метокси-бензил)карбамат



Целевое соединение получают из 4-аминомасляной кислоты аналогично промежуточному соединению 12A.

Промежуточное соединение 15A

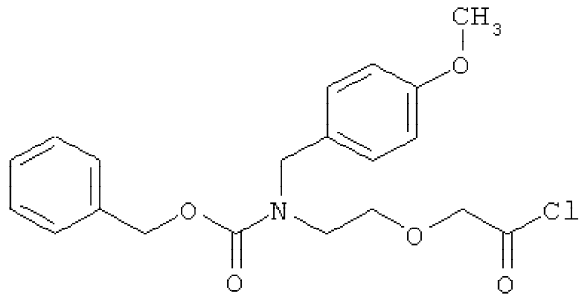
Бензилбутил(4-хлор-4-оксобутил)-карбамат



Сначала известным из литературы методом [Org. Prep. Proc. Int., 9 (2), 49 (1977)] получают 4-{[(бензилокси)карбонил](бутил)амино}масляную кислоту, в которую вводят Z-защитную группу. После этого аналогично промежуточному соединению 7A получают соответствующий хлорангидрид.

Промежуточное соединение 16A

Бензил[2-(2-хлор-2-оксоэтокси)этил](4-метоксибензил)карбамат



Стадия a)

12 г (74,4 ммоль) трет-бутил(2-гидроксиэтил)карбамата перемешивают в течение 1 часа при комнатной температуре с 43,6 г (223,3 ммоль) трет-бутилбромацетата в

смеси 400 мл толуола с 20 г концентрированного раствора едкого натра в присутствии 200 мг (0,59 ммоль) гидросульфата тетрабутиламмония. Затем вновь добавляют 15 г трет-бутилбромацетата и компоненты перемешивают при комнатной температуре еще в течение одного часа. Реакционную смесь разбавляют толуолом и водой и осуществляют разделение фаз. Органическую фазу сушат и концентрируют в вакууме. Остаток смешивают с 100 мл безводной трифторуксусной кислоты и в течение 90 минут перемешивают при комнатной температуре. Смесь концентрируют, смолистый остаток обрабатывают диэтиловым эфиром. Осуществляют декантирование и оставшуюся смолу подвергают сушке в высоком вакууме. Получают 10,8 г промежуточного соединения ((2-аминоэтокси)уксусной кислоты в виде трифторацетата) (выход от теоретического 62%).

Тонкослойная хроматография (ацетонитрил/вода/ледяная уксусная кислота 5:1:0,2): R_f=0,08.

Стадия b)

Полученную на стадии a) аминокислоту превращают в (2-{[(бензилокси)-карбонил](4-метоксибензил)амино}этокси)уксусную кислоту аналогично получению промежуточного соединения 12A.

Выход 2,56 г (13% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=5,16 мин.

ЖХ-МС (метод 12): R_t=3,1 мин; m/z=374 $(M+H)^+$.

Стадия c)

2,56 г (6,86 ммоль) полученной (2-{[(бензилокси)карбонил](4-метокси-бензил)амино}этокси)уксусной кислоты превращают в целевое соединение взаимодействием с тионилхлоридом аналогично получению промежуточного соединения 12A.

Выход 2,65 г (99% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=5,11 мин.

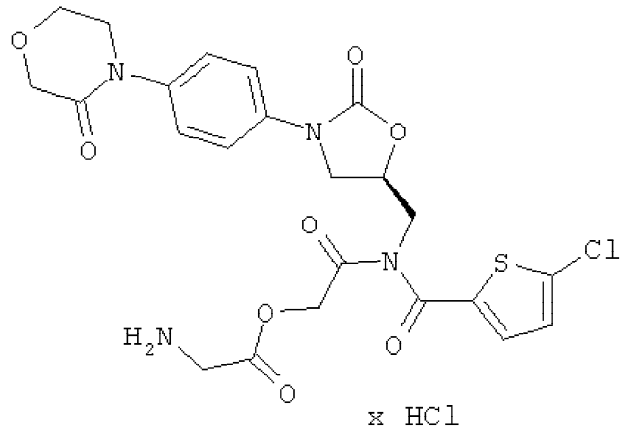
Примеры осуществления изобретения

Общая методика 2 получения цезиевых солей карбоновых кислот или пригодных защищенных производных аминокислоты

1 ммоль соответствующей карбоновой кислоты растворяют в смеси 10 мл диоксана с 10 мл воды, и полученный раствор смешивают с 0,5 ммоль карбоната цезия. После этого выполняют лиофилизацию продукта.

Пример 1

2-[[(5-Хлор-2-тиенил)карбонил]({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)амино]-2-оксоэтилглицинат гидрохлорид



Стадия a)

11 мг (21 мкмоль) промежуточного соединения 1A и 7,9 мг (26 мкмоль) цезиевой соли Boc-глицина (полученной из Boc-глицина в соответствии с общей методикой 2) растворяют в 5 мл ДМФ. После трехчасового перемешивания при комнатной температуре раствор подвергают очистке препаративной ВЭЖХ (метод 1). Соответствующие фракции концентрируют и сушат в высоком вакууме.

Выход 7 мг (50% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=5,2 мин.

ЖХ-МС (метод 6): R_t=2,11 мин; m/z=651 $(M+H)^+$.

Стадия b)

7 мг (11 мкмоль) полученного выше защищенного промежуточного соединения смешивают с 3 мл раствора водородхлорида в диоксане концентрацией 22%. Через 30 минут смесь концентрируют в вакууме при температуре ≤25°C и остаток подвергают лиофилизации из диоксана.

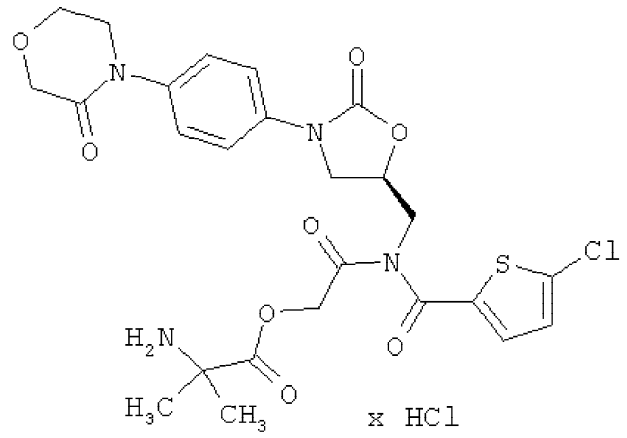
Выход 4,5 мг (72% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,2 мин.

ЖХ-МС (метод 5): R_t=1,41 мин; m/z=551 $(M+H)^+$.

Пример 2

2-[[(5-Хлор-2-тиенил)карбонил]({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)амино]-2-оксоэтил-2-метил-аланинат гидрохлорид



Стадия a)

38 мг (74 мкмоль) промежуточного соединения 1A и 32,3 мг (96 мкмоль) цезиевой соли N-Boc-2-метилаланина (полученной из N-Boc-2-метилаланина в соответствии с общей методикой 2) растворяют в 38 мл ДМФ. После трехчасового перемешивания при комнатной температуре с ультразвуковой обработкой раствор подвергают очистке препаративной ВЭЖХ (метод 1). Соответствующие фракции концентрируют и сушат в высоком вакууме.

Выход 29 мг (58% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=5,38 мин.

ЖХ-МС (метод 6): R_t=2,27 мин; m/z=679 $(M+H)^+$.

Стадия b)

16,3 мг (24 мкмоль) полученного выше защищенного промежуточного соединения смешивают с 3 мл раствора водородхлорида в диоксане концентрацией 22%. Через 30 минут смесь концентрируют в вакууме при температуре ≤25°C и остаток подвергают лиофилизации из диоксана.

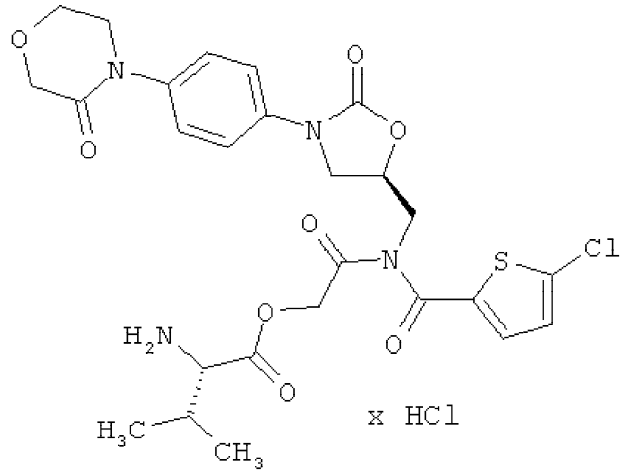
Выход 13 мг (88% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,3 мин.

ЖХ-МС (метод 6): R_t=1,27 мин; m/z=579 $(M+H)^+$.

Пример 3

2-[[(5-Хлор-2-тиенил)карбонил]({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)амино]-2-оксоэтил-L-валинат гидрохлорид



Стадия a)

19 мг (37 мкмоль) промежуточного соединения 1A и 16,8 мг (48 мкмоль) цезиевой соли N-Boc-валина (полученной из N-Boc-валина в соответствии с общей методикой 2) растворяют в 10 мл ДМФ. После 1,5-часового перемешивания при комнатной температуре с ультразвуковой обработкой раствор подвергают очистке препаративной ВЭЖХ (метод 1). Соответствующие фракции концентрируют и сушат в высоком вакууме.

Выход 13,5 мг (53% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=5,45 мин.

ЖХ-МС (метод 4): R_t=2,69 мин; m/z=693 $(M+H)^+$.

Стадия b)

13,5 мг (19 мкмоль) полученного выше защищенного промежуточного соединения смешивают с 3 мл раствора водородхлорида в диоксане концентрацией 22%. Через 30 минут смесь концентрируют в вакууме при температуре ≤25°C и остаток подвергают лиофилизации из диоксана.

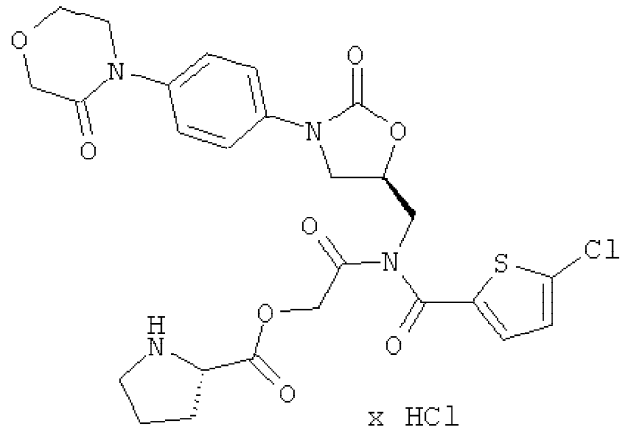
Выход 12 мг (98% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,43 мин.

ЖХ-МС (метод 5): R_t=1,54 мин; m/z=593 $(M+H)^+$.

Пример 4

2-[[(5-Хлор-2-тиенил)карбонил]({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)амино]-2-оксоэтил-L-пролинат гидрохлорид



Стадия a)

20 мг (39 мкмоль) промежуточного соединения 1A и 17,6 мг (51 мкмоль) цезиевой соли N-Boc-пролина (полученной из N-Boc-пролина в соответствии с общей методикой 2) растворяют в 5 мл ДМФ. После двухчасового перемешивания при комнатной температуре с ультразвуковой обработкой раствор подвергают очистке препаративной ВЭЖХ (метод 1). Соответствующие фракции концентрируют и сушат в высоком вакууме.

Выход 11,4 мг (42% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=5,44 мин.

ЖХ-МС (метод 4): R_t=2,61 мин; m/z=691 $(M+H)^+$.

Стадия b)

11,3 мг (16 мкмоль) полученного выше защищенного промежуточного соединения смешивают с 2,5 мл раствора водородхлорида в диоксане концентрацией 22%. Через 30 минут смесь концентрируют в вакууме при температуре ≤25°C и остаток подвергают лиофилизации из диоксана.

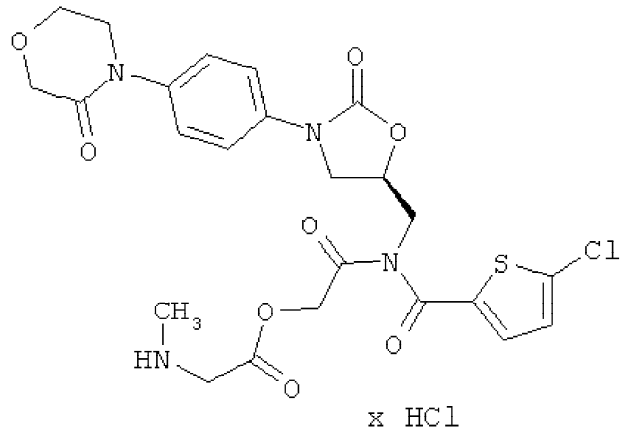
Выход 10 мг (97% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,34 мин.

ЖХ-МС (метод 6): R_t=1,26 мин; m/z=591 $(M+H)^+$.

Пример 5

2-[[(5-Хлор-2-тиенил)карбонил]({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)амино]-2-оксоэтил-N-метилглицинат гидрохлорид



Стадия a)

20 мг (39 мкмоль) промежуточного соединения 1A и 17,5 мг (55 мкмоль) цезиевой соли N-Boc-саркозина (полученной из N-Boc-саркозина в соответствии с общей

методикой 2) растворяют в 4 мл ДМФ. После трехчасового перемешивания при комнатной температуре с ультразвуковой обработкой раствор подвергают очистке препаративной ВЭЖХ (метод 1). Соответствующие фракции концентрируют и сушат в высоком вакууме.

Выход 11 мг (42% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=5,35 мин.

ЖХ-МС (метод 5); R_t=2,43 мин; m/z=665 $(M+H)^+$.

Стадия b)

11 мг (16 мкмоль) полученного выше защищенного промежуточного соединения смешивают с 2 мл раствора водородхлорида в диоксане концентрацией 22%. Через 30 минут смесь концентрируют в вакууме при температуре ≤25°C и остаток подвергают лиофилизации из диоксана.

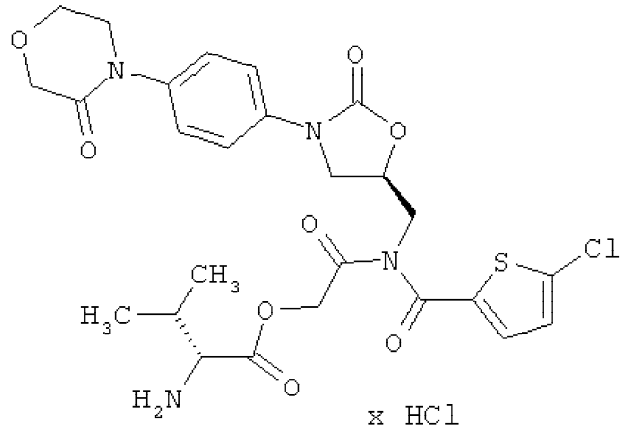
Выход 9,5 мг (96% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,24 мин.

ЖХ-МС (метод 4): R_t=1,57 мин; m/z=565 $(M+H)^+$.

Пример 6

2-[[(5-Хлор-2-тиенил)карбонил]({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)амино]-2-оксоэтил-D-валинат гидрохлорид



Стадия a)

20 мг (40 мкмоль) промежуточного соединения 1A и 19 мг (55 мкмоль) цезиевой соли Boc-D-валина (полученной из Boc-D-валина в соответствии с общей методикой 2) растворяют в 4 мл ДМФ. После двухчасового перемешивания при комнатной температуре раствор подвергают очистке препаративной ВЭЖХ (метод 1). Соответствующие фракции концентрируют и сушат в высоком вакууме.

Выход 23 мг (85% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=5,6 мин.

ЖХ-МС (метод 4): R_t=2,72 мин; m/z=693 $(M+H)^+$.

Стадия b)

23 мг (33 мкмоль) полученного выше защищенного промежуточного соединения смешивают с 3 мл раствора водородхлорида в диоксане концентрацией 22%. Через 30 минут смесь концентрируют в вакууме при ≤25°C и остаток подвергают лиофилизации из диоксана.

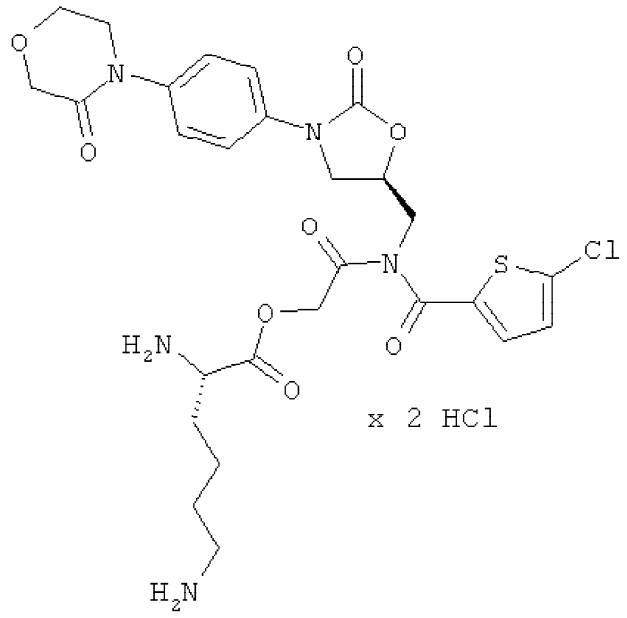
Выход 20 мг (96% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,5 мин.

ЖХ-МС (метод 6): R_t=1,3 мин; m/z=593 $(M+H)^+$.

Пример 7

2-[[(5-Хлор-2-тиенил)карбонил]({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)амино]-2-оксоэтил-L-лизинат дигидрохлорид



Стадия a)

20 мг (40 мкмоль) промежуточного соединения 1A и 26 мг (55 мкмоль) цезиевой соли N,N'-бис-Boc-лизина (полученной из N,N'-бис-Boc-лизина в соответствии с общей методикой 2) растворяют в 4 мл ДМФ. После двухчасового перемешивания при комнатной температуре раствор подвергают очистке препаративной ВЭЖХ (метод 1). Соответствующие фракции концентрируют и сушат в высоком вакууме.

Выход 14 мг (43% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=5,63 мин.

ЖХ-МС (метод 5): R_t=2,66 мин; m/z=822 $(M+H)^+$.

Стадия b)

14 мг (17 мкмоль) полученного выше защищенного промежуточного соединения смешивают с 2,5 мл раствора водородхлорида в диоксане концентрацией 22%. Через 30 минут смесь концентрируют в вакууме при температуре ≤25°C и остаток подвергают лиофилизации из диоксана.

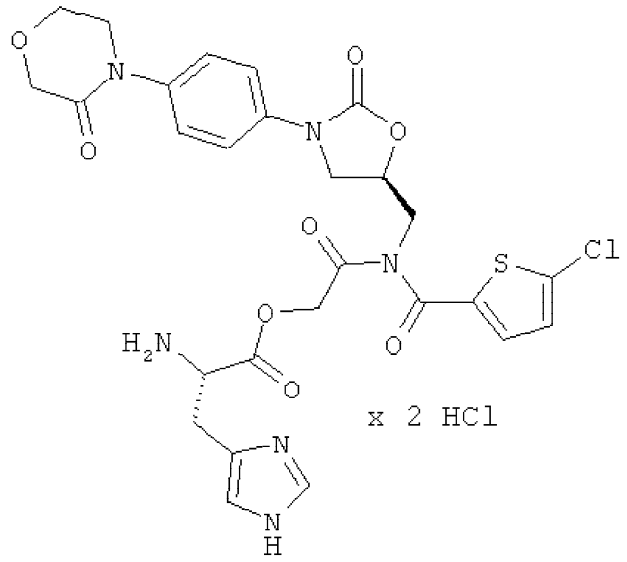
Выход 10 мг (86% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,1 мин.

ЖХ-МС (метод 6): R_t=0,92 мин; m/z=622 $(M+H)^+$.

Пример 8

2-[[(5-Хлор-2-тиенил)карбонил]({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)амино]-2-оксоэтил-L-гистидинат дигидрохлорид



Стадия a)

20 мг (40 мкмоль) промежуточного соединения 1A и 21 мг (55 мкмоль) цезиевой соли Boc-L-гистидина (полученной из Boc-L-гистидина в соответствии с общей методикой 2) растворяют в 4 мл ДМФ. После 2,5-часового перемешивания при комнатной температуре растворитель отгоняют в вакууме. Остаток вводят в смесь ацетонитрила с водой (1:1) и подвергают очистке препаративной ВЭЖХ (метод 1). Соответствующие фракции концентрируют и сушат в высоком вакууме.

Выход 21,9 мг (77% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,64 мин.

ЖХ-МС (метод 5): R_t=1,67 мин; m/z=731 $(M+H)^+$.

Стадия b)

21,9 мг (30 мкмоль) полученного выше защищенного промежуточного соединения смешивают с 6 мл раствора водородхлорида в диоксане концентрацией 22%. Через 90 минут смесь концентрируют в вакууме при температуре ≤25°C. Остаток вводят в смесь ацетонитрила с водой (1:1) и подвергают очистке препаративной ВЭЖХ (метод 1). Соответствующие фракции концентрируют и остаток подвергают лиофилизации из диоксана.

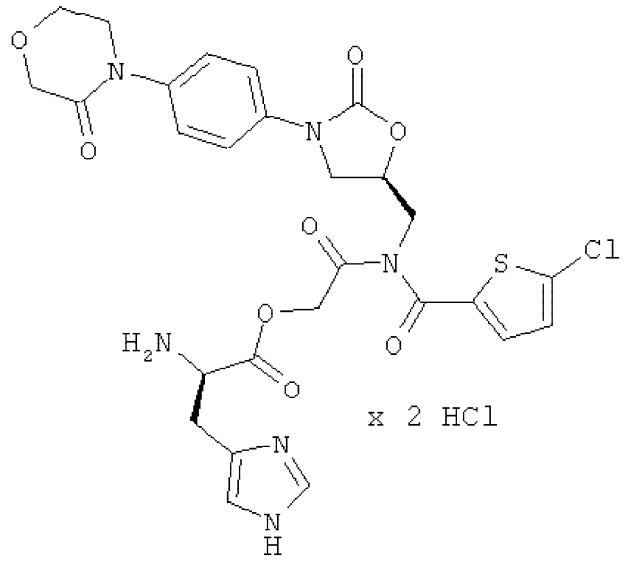
Выход 7,2 мг (34% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,11 мин.

ЖХ-МС (метод 6): R_t=2,56 мин; m/z=631 $(M+H)^+$.

Пример 9

2-[[(5-Хлор-2-тиенил)карбонил]({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)амино]-2-оксоэтил-D-гистидинат дигидрохлорид



Стадия a)

25 мг (49 мкмоль) промежуточного соединения 1A и 26 мг (68 мкмоль) цезиевой соли Boc-D-гистидина (полученной из Boc-D-гистидина в соответствии с общей методикой 2) растворяют в 5 мл ДМФ. После 16-часового перемешивания при комнатной температуре растворитель отгоняют в вакууме. Остаток вводят в смесь ацетонитрила с водой (1:1) и подвергают очистке препаративной ВЭЖХ (метод 1). Соответствующие фракции концентрируют и сушат в высоком вакууме.

Выход 18,3 мг (51% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,62 мин.

Стадия b)

18 мг (25 мкмоль) полученного выше защищенного промежуточного соединения смешивают с 2 мл раствора водородхлорида в диоксане концентрацией 22%. Через 4 часа смесь концентрируют в вакууме при температуре ≤25°C. Остаток переводят в смесь ацетонитрила с водой (1:1) и подвергают очистке препаративной ВЭЖХ (метод 1). Соответствующие фракции концентрируют и остаток подвергают лиофилизации из диоксана.

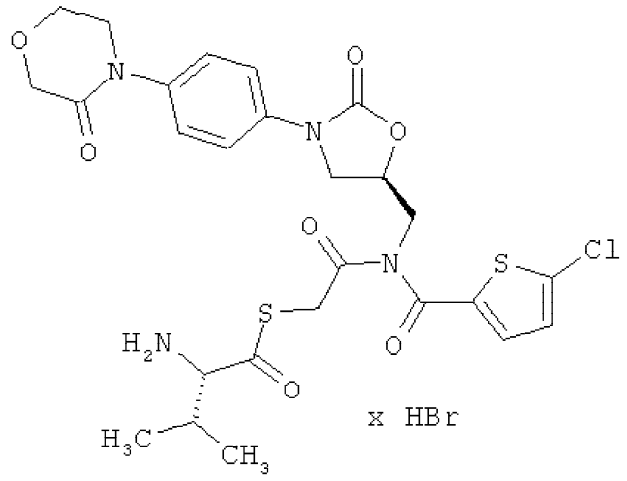
Выход 6 мг (37% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,1 мин.

ЖХ-МС (метод 5): R_t=1,15 мин; m/z=631 $(M+H)^+$.

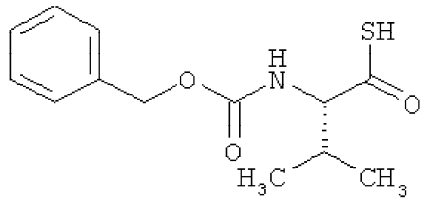
Пример 10

S-{2-[[(5-хлор-2-тиенил)карбонил]({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)-фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)амино]-2-оксоэтил}(2S)-2-амино-3-метилбутантиоат гидробромид



Стадия a)

(2S)-2-{[(бензилокси)карбонил]амино}-3-метилбутантио-S-кислота



Целевое соединение получают из Z-валина известным из литературы методом [R.Michelot и другие, Bioorg. Med. Chem., 1996, 4, 2201].

Стадия b)

200 мг (748 мкмоль) (2S)-2-{[(бензилокси)карбонил]амино}-3-метилбутантио-S-кислоты вводят в 10 мл диоксана и 10 мл воды и перемешивают со 110 мг (337 мкмоль) карбоната цезия. После образования прозрачного раствора выполняют лиофилизацию продукта. С количественным выходом получают 300 мг цезиевой соли.

27 мг (68 мкмоль) полученной цезиевой соли, а также 25 мг (49 мкмоль) промежуточного соединения 1A растворяют в 5 мл ДМФ. После двухчасового перемешивания при комнатной температуре растворитель отгоняют в вакууме. Остаток вводят в смесь ацетонитрила с водой (1:1) и подвергают очистке препаративной ВЭЖХ (метод 1). Соответствующие фракции концентрируют и сушат в высоком вакууме.

Выход 24 мг (66% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=5,62 мин.

ЖХ-МС (метод 6): R_t=2,47 мин; m/z=743 $(M+H)^+$.

Стадия c)

24 мг (32,3 мкмоль) полученного выше защищенного промежуточного соединения смешивают с 2 мл раствора водородбромида в ледяной уксусной кислоте концентрацией 33%. После часового перемешивания при комнатной температуре смесь концентрируют в вакууме при температуре ≤25°C и остаток подвергают лиофилизации из смеси диоксана с водой.

Выход 21 мг (94% от теоретического).

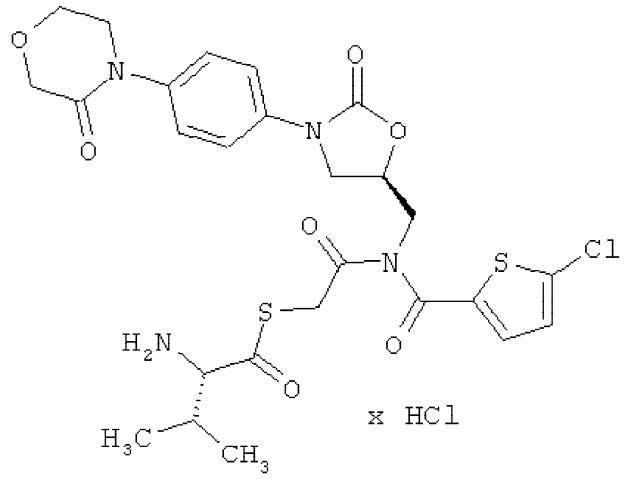
ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,43 мин.

ЖХ-МС (метод 4): R_t=1,63 мин; m/z=609 $(M+H)^+$.

Пример 11

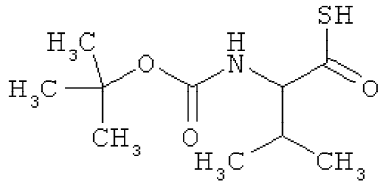
S-{2-[[(5-хлор-2-тиенил)карбонил]({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)-фенил]-

1,3-оксазолидин-5-ил}метил)амино]-2-оксоэтил}-(2S)-2-амино-3-метилбутантиоат гидрохлорид



Стадия a)

(2S)-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-3-метилбутантио-S-кислота



Целевое соединение получают из Boc-валина известным из литературы методом [R.Michelot и другие, Bioorg. Med. Chem., 1996, 4, 2201).

Стадия b)

200 мг (857 мкмоль) (2S)-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-3-метилбутантио-S-кислоты вводят в 10 мл диоксана и 10 мл воды и перемешивают со 126 мг (386 мкмоль) карбоната цезия. После образования прозрачного раствора выполняют лиофилизацию продукта. С количественным выходом получают 310 мг цезиевой соли.

25 мг (68 мкмоль) полученной цезиевой соли, а также 25 мг (49 мкмоль) промежуточного соединения 1A растворяют в 4 мл ДМФ. После часового перемешивания при комнатной температуре растворитель отгоняют в вакууме. Остаток переводят в смесь ацетонитрила с водой (1:1) и подвергают очистке препаративной ВЭЖХ (метод 1). Соответствующие фракции концентрируют и сушат в высоком вакууме.

Выход 23 мг (65% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=5,64 мин.

ЖХ-МС (метод 4): R_t=2,76 мин; m/z=709 $(M+H)^+$.

Стадия c)

23 мг (32 мкмоль) полученного выше защищенного промежуточного соединения смешивают с 4 мл раствора водородхлорида в диоксане концентрацией 22%. После часового перемешивания при комнатной температуре смесь концентрируют в вакууме при температуре ≤25°C и остаток подвергают лиофилизации из диоксана.

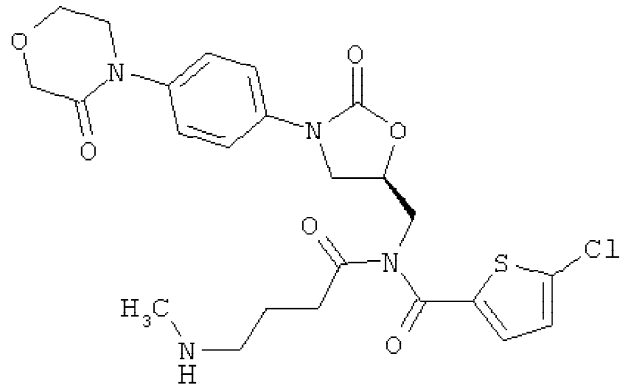
Выход 20 мг (97% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,47 мин.

ЖХ-МС (метод 6): R_t=1,35 мин; m/z=609 $(M+H)^+$.

Пример 12

5-Хлор-N-[4-(метиламино)бутаноил]-N-({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)тиофен-2-карбоксамид гидробромид



x HBr

Стадия a)

145,4 мг (0,334 ммоль) соединения (A) растворяют в 25 мл ДМФ, полученный раствор смешивают с 24 мг (1 ммоль) гидрида натрия и смесь в течение 30 минут перемешивают при комнатной температуре. Затем добавляют 1,8 г (6,67 ммоль) промежуточного соединения 7A. Компоненты дополнительно перемешивают при комнатной температуре в течение 15 минут, после чего смешивают с несколькими каплями воды. Смесь концентрируют и остаток переводят в 300 мл дихлорметана. Смесь встряхивают сначала с водой, а затем с тремя порциями 5%-ного раствора гидрокарбоната натрия объемом по 300 мл каждая. Фазу дихлорметана отделяют и концентрируют. Остаток смешивают со смесью 15 мл дихлорметана с 10 мл диэтилового эфира. Нерастворившуюся часть отделяют фильтрованием, оставшийся раствор концентрируют. Остаток подвергают очистке препаративной ВЭЖХ (метод 1). Соответствующие фракции, которые содержат образовавшийся в результате енолизации моноацильного соединения бис-ацилированный побочный продукт, концентрируют и сушат в высоком вакууме. Получают 41 мг чистой фракции (выход от теоретического 13,6%), а также 59 мг фракции с небольшим содержанием примесей (выход от теоретического 19,6%), которые совместно используют на следующей стадии.

ВЭЖХ (метод 2): R_t=6,06 мин.

ЖХ-МС (метод 5): R_t=2,88 мин; m/z=902 $(M+H)^+$.

Стадия b)

100 мг (0,11 ммоль) полученного выше Z-защищенного промежуточного соединения вводят в 3,3 мл ледяной уксусной кислоты и смешивают с 17 мл раствора водородбромида в ледяной уксусной кислоте концентрацией 33%. В этих условиях происходит также расщепление енольного эфира. После пятиминутного перемешивания при комнатной температуре синтез целевого соединения прекращают и реакционную смесь концентрируют в высоком вакууме. Остаток дважды концентрируют из ацетонитрила, а затем подвергают очистке препаративной ВЭЖХ.

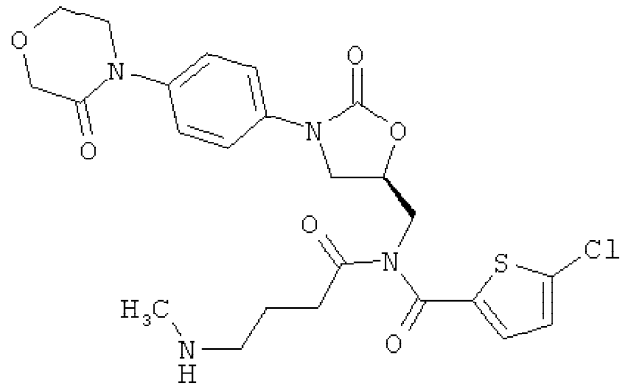
Выход 29,6 мг (73,5% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,2 мин.

ЖХ-МС (метод 6): R_t=1,19 мин; m/z=535 $(M+H)^+$.

Пример 13

5-Хлор-N-[4-(метиламино)бутаноил]-N-({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)тиофен-2-карбоксамид гидрохлорид



x HCl

59 мг (0,096 ммоль) соединения из примера 12 растворяют в 40 мл смеси ацетонитрила с водой (1:1) и полученный раствор смешивают с 1 г (4,8 ммоль) сложного ди-трет-бутилового эфира пироугольной кислоты («Boc-ангидрида»). Затем порциями добавляют 37 мкл N,N-диизопропилэтиламина, при этом показатель pH не должен превышать 7,8. Примерно через 15 минут после завершения реакции показатель pH посредством уксусной кислоты устанавливают в диапазоне от 3 до 4 и продукт концентрируют в вакууме. Остаток вводят в ацетонитрил и подвергают очистке препаративной ВЭЖХ (метод 1). Соответствующие фракции концентрируют и сушат в вакууме. Получают 15,5 мг защищенного Boc-группой промежуточного соединения (выход от теоретического 26%). 12,5 мг (0,02 ммоль) полученного продукта подвергают обработке 5 мл раствора водородхлорида в диоксане концентрацией 22%. Через 10 минут смесь концентрируют в вакууме при температуре ≤25°C. Остаток вводят в воду и встряхивают с дихлорметаном. Показатель pH водной фазы посредством соляной кислоты устанавливают на уровне 4, после чего осуществляют лиофилизацию продукта.

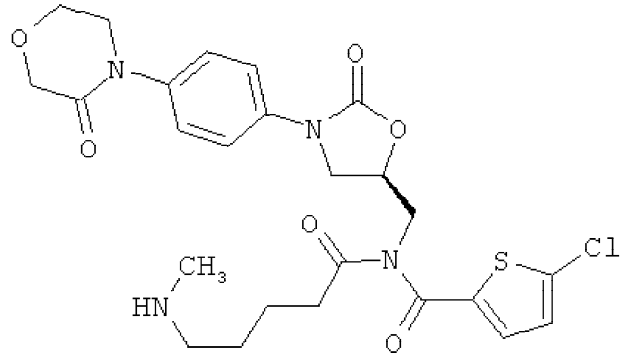
Выход 3,5 мг (31% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,24 мин.

ЖХ-МС (метод 5): R_t=1,43 мин; m/z=535 $(M+H)^+$.

Пример 14

5-Хлор-N-[5-(метиламино)пентаноил]-N-({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)тиофен-2-карбоксамид гидробромид



x HBr

Стадия a)

153,6 мг (0,352 ммоль) соединения (A) растворяют в 25 мл ДМФ, полученный раствор смешивают с 25 мг (1 ммоль) гидрида натрия и смесь в течение 30 минут

перемешивают при комнатной температуре. Затем добавляют 2 г (7,05 ммоль) растворенного в 5 мл ДМФ промежуточного соединения 8A. Компоненты перемешивают при комнатной температуре еще в течение 15 минут, а затем смешивают с несколькими каплями воды. Продукт концентрируют и остаток вводят в 500 мл дихлорметана. Смесь встряхивают с двумя порциями 5%-ного раствора гидрокарбоната натрия объемом 300 мл каждая. Фазу дихлорметана отделяют и концентрируют. Остаток подвергают очистке препаративной ВЭЖХ (метод 1). Соответствующие фракции, которые содержат образовавшийся в результате енолизации моноацильного соединения бис-ацилированный побочный продукт, концентрируют и сушат в высоком вакууме. Получают 50 мг фракции с небольшим содержанием примесей (выход от теоретического 15,2%), которую без дополнительной обработки используют на следующей стадии.

ВЭЖХ (метод 2): R_t=6,23 мин.

Стадия b)

50 мг (0,027 ммоль) полученного выше Z-защищенного промежуточного соединения вводят в 1 мл ледяной уксусной кислоты и смешивают с 5 мл раствора водородбромида в ледяной уксусной кислоте концентрацией 33%. В этих условиях происходит также расщепление енольного эфира. После 10-минутного перемешивания при комнатной температуре синтез целевого соединения прекращают и реакционную смесь концентрируют в высоком вакууме. Остаток дважды концентрируют из ацетонитрила, а затем несколько раз подвергают очистке методом препаративной ВЭЖХ.

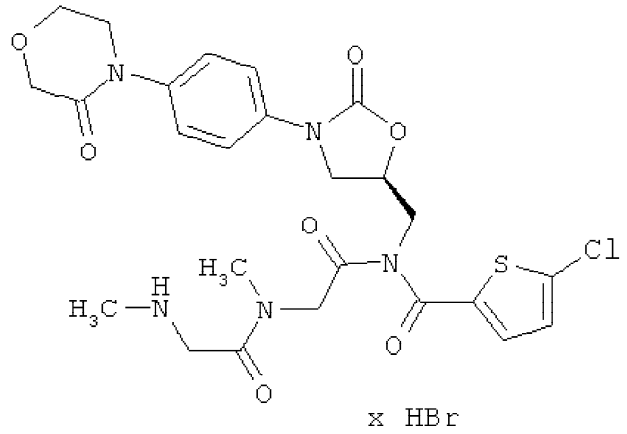
Выход 0,5 мг (3% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,32 мин.

ЖХ-МС (метод 4): R_t=1,31 мин; m/z=549 $(M+H)^+$.

Пример 15

N-метилглицил-N-[(5-хлор-2-тиенил)карбонил]-N^2-метил-N-({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)глицинамид гидробромид



Стадия a)

108 мг (0,19 ммоль) промежуточного соединения 2A растворяют в 25 мл ДМФ, полученный раствор смешивают с 14 мг (0,57 ммоль) гидрида натрия и смесь в течение 15 минут перемешивают при комнатной температуре. Добавляют 534 мг (2,95 ммоль) растворенного в 5 мл ДМФ промежуточного соединения 11A. Компоненты перемешивают при комнатной температуре еще в течение 10 минут, а затем смешивают с несколькими каплями воды. Продукт концентрируют и остаток вводят в 500 мл дихлорметана. Смесь встряхивают с тремя порциями 5%-ного раствора

гидрокарбоната натрия объемом по 300 мл каждая. Фазу дихлорметана отделяют и концентрируют. Остаток подвергают двукратной очистке препаративной ВЭЖХ (метод 1). Соответствующие фракции концентрируют и сушат в высоком вакууме.

Выход 31 мг (23% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=5,15 мин.

ЖХ-МС (метод 5): R_t=2,28 мин; m/z=712 $(M+H)^+$.

Стадия b)

31 мг (0,044 ммоль) полученного выше Z-защищенного промежуточного соединения вводят в 1 мл ледяной уксусной кислоты и смешивают с 3 мл раствора водородбромида в ледяной уксусной кислоте концентрацией 33%. После 45-минутного перемешивания при комнатной температуре продукт концентрируют в высоком вакууме. Остаток подвергают многократной очистке методом препаративной ВЭЖХ.

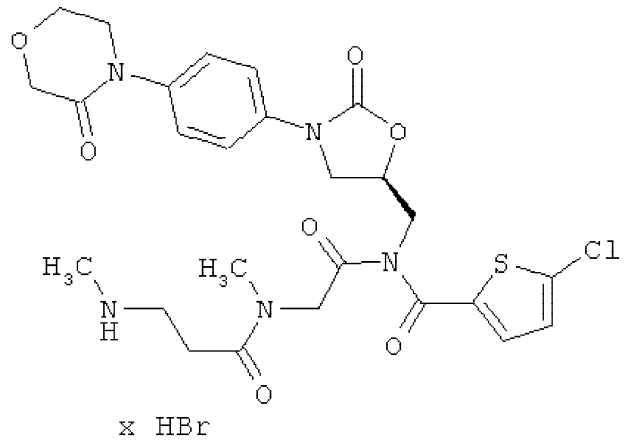
Выход 1 мг (3,3% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,23 мин.

ЖХ-МС (метод 4): R_t=1,32 мин; m/z=578 $(M+H)^+$.

Пример 16

N-метил-β-аланил-N-[(5-хлор-2-тиенил)карбонил]-N^2-метил-N-({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}-метил)глицинамид гидробромид



Стадия a)

40 мг (0,069 ммоль) промежуточного соединения 6A растворяют в 10 мл ДМФ, полученный раствор смешивают с 5 мг (0,21 ммоль) гидрида натрия и смесь в течение 15 минут перемешивают при комнатной температуре. Затем добавляют 249 мг (1,38 ммоль) растворенного в 5 мл ДМФ промежуточного соединения 11A. Компоненты перемешивают при комнатной температуре еще в течение 15 минут, после чего смешивают с несколькими каплями воды. Затем смесь концентрируют и остаток вводят в 500 мл дихлорметана. Смесь встряхивают с двумя порциями 5%-ного раствора гидрокарбоната натрия объемом 50 мл каждая. Фазу дихлорметана отделяют и концентрируют. Остаток подвергают двойной очистке препаративной ВЭЖХ (метод 1). Соответствующие фракции концентрируют и сушат в высоком вакууме.

Выход 4,6 мг (9,2% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=5,16 мин.

ЖХ-МС (метод 6): R_t=2,17 мин; m/z=726 $(M+H)^+$.

Стадия b)

4,2 мг (0,006 ммоль) полученного Z-защищенного промежуточного соединения

смешивают с 1 мл раствора водородбромида в ледяной уксусной кислоте концентрацией 33%. После 30-минутного перемешивания при комнатной температуре смесь концентрируют в высоком вакууме. Остаток вводят в воду, встряхивают с дихлорметаном и водную фазу подвергают лиофилизации.

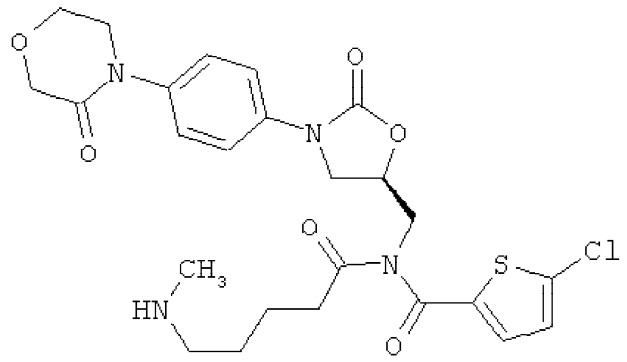
Выход 2 мг (51% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,25 мин.

ЖХ-МС (метод 6): R_t=1,16 мин; m/z=592 $(M+H)^+$.

Пример 17

5-Хлор-N-[5-(метиламино)пентаноил]-N-({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)тиофен-2-карбоксамид гидрохлорид



x HCl

Стадия a)

1,96 г (4,5 ммоль) соединения (A) растворяют в 70 мл ДМФ, полученный раствор смешивают с 323 мг (13,5 ммоль) гидрида натрия и смесь в течение 30 минут перемешивают при комнатной температуре. Затем добавляют 5,1 г (18 ммоль) растворенного в 10 мл ДМФ промежуточного соединения 8A. Компоненты перемешивают при комнатной температуре еще в течение 15 минут, а затем смешивают с 20 мл воды. Смесь концентрируют и остаток вводят в 500 мл этилацетата. Смесь встряхивают с тремя порциями 5%-ного раствора гидрокарбоната натрия объемом 300 мл каждая. Отделяют и концентрируют фазу этилацетата. Остаток перемешивают с 40 мл смеси дихлорметана с диэтиловым эфиром (2:1), а затем фильтруют. Оставшийся раствор концентрируют в вакууме. Остаток в течение 2 часов перемешивают со 100 мл насыщенного раствора водородхлорида в дихлорметане, при этом происходит расщепление образовавшегося вначале енольного эфира. Продукт концентрируют и остаток подвергают очистке флэш-хроматографией на силикагеле, используя в качестве элюента смесь этилацетата с толуолом (5:1). Соответствующие фракции концентрируют и получают 721 мг Z-защищенного промежуточного соединения (выход от теоретического 23,5%).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=5,54 мин.

Стадия b)

720 мг (1,05 ммоль) полученного выше Z-защищенного промежуточного соединения перемешивают в течение ночи в 20 мл безводной трифторуксусной кислоты. Затем смесь концентрируют в высоком вакууме, поддерживая температуру около 20°C. Остаток вводят в 100 мл соляной кислоты с pH, равным 3, и смесь последовательно встряхивают с двумя порциями дихлорметана и двумя порциями этилацетата объемом 100 мл каждая. Водную фазу концентрируют и остаток подвергают очистке методом препаративной ВЭЖХ. В результате концентрирования

соответствующих фракций и лиофилизации из соляной кислоты (pH 3) получают целевое соединение.

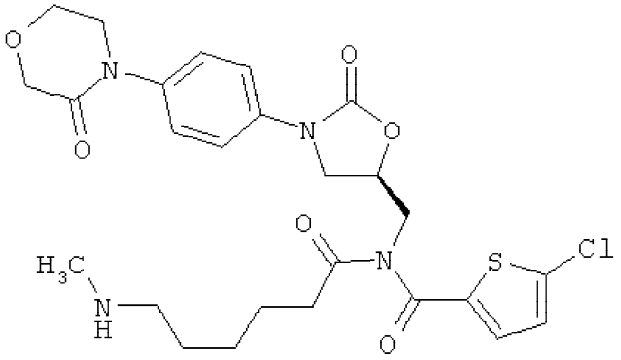
Выход 20 мг (3,3% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,29 мин.

ЖХ-МС (метод 5): R_t=1,27 мин; m/z=549 $(M+H)^+$.

Пример 18

5-Хлор-N-[6-(метиламино)гексаноил]-N-({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)тиофен-2-карбоксамид гидрохлорид



x HCl

Стадия a)

2 г (4,59 ммоль) соединения (A) растворяют в 70 мл ДМФ, полученный раствор смешивают с 330 мг (13,8 ммоль) гидрида натрия и смесь в течение 30 минут перемешивают при комнатной температуре. Добавляют 5,1 г (18 ммоль) растворенного в 10 мл ДМФ промежуточного соединения 10A. Компоненты перемешивают при комнатной температуре еще в течение 15 минут, после чего смешивают с 20 мл воды. Затем смесь концентрируют и остаток в течение 2 часов перемешивают со 100 мл насыщенного раствора водородхлорида в дихлорметане, причем происходит расщепление образовавшегося вначале енольного эфира. Продукт концентрируют и остаток вводят в 600 мл этилацетата. Смесь трижды встряхивают с 10%-ным раствором карбоната натрия. Отделяют и концентрируют фазу этилацетата. Остаток перемешивают со 150 мл смеси дихлорметана с диэтиловым эфиром (2:1), а затем фильтруют. Оставшийся раствор концентрируют в вакууме и остаток подвергают очистке флэш-хроматографией на силикагеле, используя в качестве элюента смесь этилацетата с толуолом (5:1). Соответствующие фракции концентрируют, причем продукт содержит небольшое количество примесей. В результате повторной очистки флэш-хроматографией на силикагеле с использованием в качестве элюента смеси ацетонитрила с дихлорметаном (1:1) получают 572 мг чистого Z-защищенного промежуточного соединения (выход от теоретического 18%).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=5,68 мин.

Стадия b)

572 мг (0,82 ммоль) полученного выше промежуточного соединения в течение 6 часов подвергают ультразвуковой обработке в 50 мл безводной трифторуксусной кислоты. После этого реакционную смесь концентрируют в высоком вакууме, поддерживая температуру около 20°C. Остаток вводят в 100 мл соляной кислоты с показателем pH, равным 3. Водную фазу концентрируют и остаток подвергают очистке методом препаративной ВЭЖХ. После концентрирования соответствующих фракций и лиофилизации из соляной кислоты (pH 3) получают 283 мг целевого

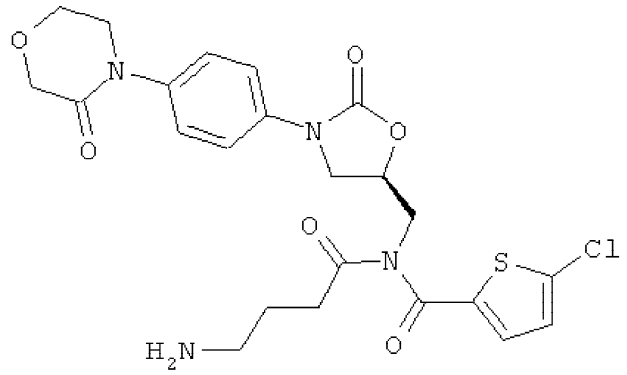
соединения (выход от теоретического 58%).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,35 мин.

ЖХ-МС (метод 6): R_t=1,24 мин; m/z=563 $(M+H)^+$.

Пример 19

N-(4-аминобутаноил)-5-хлор-N-({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)тиофен-2-карбоксамид гидрохлорид



x HCl

Стадия a)

1,33 г (3,06 ммоль) соединения (A) растворяют в 75 мл ДМФ, полученный раствор смешивают с 220 мг (9,2 ммоль) гидрида натрия и смесь в течение 30 минут перемешивают при комнатной температуре. Затем добавляют 11,5 г (30,6 ммоль) растворенного в 10 мл ДМФ промежуточного соединения 14A. Компоненты перемешивают при комнатной температуре еще в течение 15 минут, после чего смешивают с 20 мл воды. Затем смесь концентрируют и остаток вводят в 300 мл этилацетата. Смесь встряхивают с тремя порциями раствора 10%-ного карбоната натрия объемом 300 мл каждая. Органическую фазу отделяют и концентрируют, остаток вводят в 50 мл дихлорметана. После кратковременного перемешивания нерастворенные компоненты отделяют фильтрованием и концентрируют фазу дихлорметана. Остаток подвергают очистке флэш-хроматографией на силикагеле, используя в качестве элюента смесь этилацетата с толуолом (5:1). Концентрируют содержащие бис-ацилированный побочный продукт фракции (m/z=1113). Остаток в течение 2 часов перемешивают с 10 мл насыщенного раствора водородхлорида в дихлорметане, причем происходит расщепление образовавшегося вначале енольного эфира. Смесь концентрируют и остаток вновь подвергают очистке флэш-хроматографией на силикагеле, используя в качестве элюента смесь этилацетата с толуолом (5:1). Соответствующие фракции концентрируют, получая 151 мг двукратно защищенного промежуточного соединения (выход от теоретического 7%).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=5,83 мин.

ЖХ-МС (метод 6): R_t=2,61 мин; m/z=775 $(M+H)^+$.

Стадия b)

151 мг (0,2 ммоль) полученного выше промежуточного соединения перемешивают в течение ночи при комнатной температуре в 8 мл безводной трифторуксусной кислоты. Состав концентрируют в высоком вакууме, поддерживая температуру около 20°C. Остаток вводят в 100 мл соляной кислоты с показателем pH, равным 3, и встряхивают с 75 мл дихлорметана, а затем дважды с этилацетатом. Водную фазу концентрируют и остаток подвергают лиофилизации из соляной кислоты с показателем pH, равным 3.

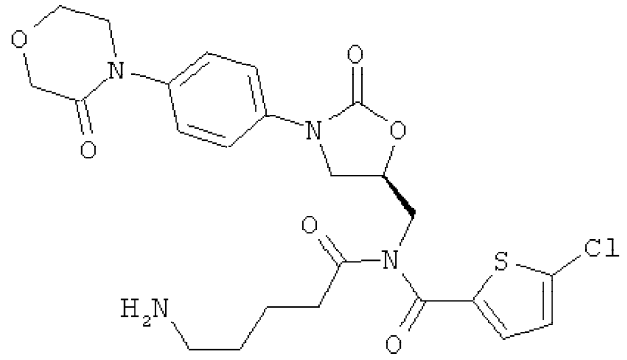
Выход: 70 мг (64% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,13 мин.

ЖХ-МС (метод 5): R_t=1,38 мин; m/z=521 $(M+H)^+$.

Пример 20

N-(5-аминопентаноил)-5-хлор-N-({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)тиофен-2-карбоксамид гидрохлорид



x HCl

Стадия a)

2,83 г (6,5 ммоль) соединения (A) растворяют в 100 мл ДМФ, смешивают с 468 мг (19,5 ммоль) гидрида натрия и смесь в течение 30 минут перемешивают при комнатной температуре. Затем добавляют 7,6 г (19,5 ммоль) растворенного в 10 мл ДМФ промежуточного соединения 12A. Компоненты перемешивают при комнатной температуре еще в течение 15 минут, после чего смешивают с 20 мл воды. Затем смесь концентрируют и остаток в течение 1 часа перемешивают со 150 мл насыщенного раствора водородхлорида в дихлорметане, причем происходит расщепление образовавшегося вначале енольного эфира. Продукт концентрируют и остаток вводят в 700 мл этилацетата. Смесь встряхивают с двумя порциями 10%-ного раствора карбоната натрия объемом 200 мл каждая. Органическую фазу отделяют и концентрируют, остаток вводят в 30 мл этилацетата, а также 30 мл диэтилового эфира. После кратковременного перемешивания нерастворенные компоненты отделяют фильтрованием и концентрируют органическую фазу. Остаток подвергают очистке флэш-хроматографией на силикагеле, используя в качестве элюента смесь этилацетата с толуолом (4:1). Соответствующие фракции концентрируют и остаток вводят в 10 мл этилацетата. Добавляют 100 мл охлажденного диэтилового эфира и смесь выдерживают в течение 30 минут при 0°C. Смесь фильтруют и остаток подвергают повторной обработке посредством 100 мл диэтилового эфира. Остаток после повторного фильтрования подвергают сушке. Получают 1 г двукратно защищенного промежуточного соединения (выход от теоретического 20%).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=5,92 мин.

ЖХ-МС (метод 6): R_t=2,68 мин; m/z=789 $(M+H)^+$.

Стадия b)

1 г (1,3 ммоль) полученного выше промежуточного соединения в течение 6 часов подвергают ультразвуковой обработке в 70 мл безводной трифторуксусной кислоты. Затем продукт концентрируют в высоком вакууме, поддерживая температуру около 20°C. Остаток вводят в 350 мл соляной кислоты с показателем pH, равным 3, и после 15-минутного перемешивания при комнатной температуре встряхивают со 100 мл дихлорметана. Водную фазу отделяют и вновь встряхивают со 100 мл этилацетата. Водную фазу отделяют, удаляют остаточный этилацетат кратковременной отгонкой в

высоком вакууме и в заключение подвергают лиофилизации.

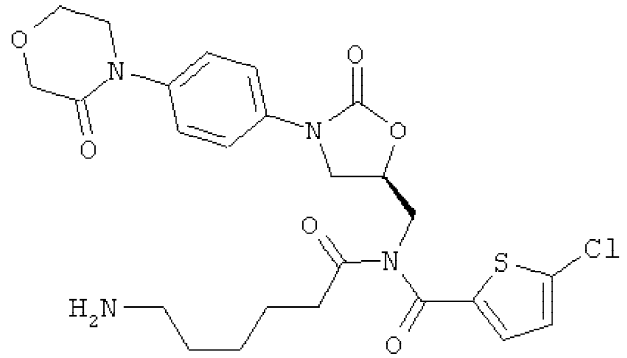
Выход 586 мг (выход от теоретического 81%).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,2 мин.

ЖХ-МС (метод 6): R_t=1,17 мин; m/z=535 $(M+H)^+$.

Пример 21

N-(6-аминогексаноил)-5-хлор-N-({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)тиофен-2-карбоксамид гидрохлорид



x HCl

Стадия a)

1,6 г (3,7 ммоль) соединения (A) растворяют в 50 мл ДМФ, полученный раствор смешивают с 263 мг (11 ммоль) гидрида натрия и смесь перемешивают в течение 30 минут при комнатной температуре. Затем добавляют 14,1 г (36,6 ммоль) растворенного в 10 мл ДМФ промежуточного соединения 13A. Компоненты перемешивают при комнатной температуре еще в течение 15 минут, после чего смешивают с 20 мл воды. Смесь концентрируют и остаток вводят в 500 мл этилацетата. Смесь встряхивают с тремя порциями 10%-ного раствора карбоната натрия объемом 100 мл каждая. Органическую фазу отделяют и концентрируют, остаток вводят в 15 мл смеси дихлорметана с диэтиловым эфиром (2:1). После перемешивания нерастворенные компоненты отделяют фильтрованием и концентрируют органическую фазу. Остаток подвергают очистке флэш-хроматографией на силикагеле, используя в качестве элюента смесь этилацетата с толуолом (5:1). Получают 256 мг двукратно защищенного промежуточного соединения (выход от теоретического 9%).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=6,07 мин.

ЖХ-МС (метод 5): R_t=2,92 мин; m/z=803 $(M+H)^+$.

Стадия b)

256 мг (0,32 ммоль) полученного выше промежуточного соединения в течение ночи перемешивают при комнатной температуре в 10 мл безводной трифторуксусной кислоты. Затем смесь концентрируют в высоком вакууме, поддерживая температуру около 20°C. Остаток вводят в 100 мл соляной кислоты с показателем pH, равным 3, и после 15-минутного перемешивания при комнатной температуре встряхивают со 100 мл дихлорметана. Водную фазу отделяют и вновь встряхивают со 100 мл этилацетата. Водную фазу концентрируют, остаток подвергают очистке методом препаративной ВЭЖХ. Соответствующие фракции концентрируют и остаток подвергают лиофилизации из соляной кислоты с показателем pH, равным 3.

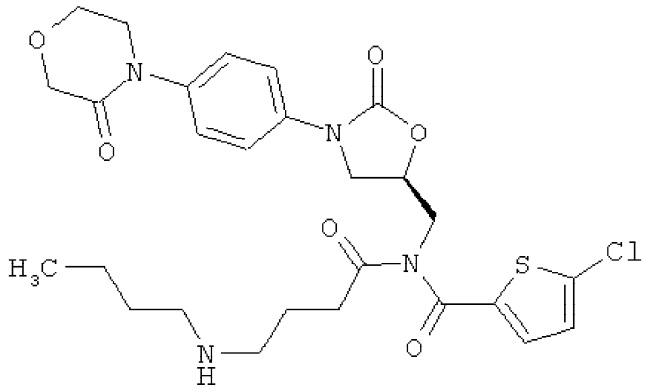
Выход 29 мг (16% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,28 мин.

ЖХ-МС (метод 6): R_t=1,24 мин; m/z=549 $(M+H)^+$.

Пример 22

N-[4-(бутиламино)бутаноил]-5-хлор-N-({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)-фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)тиофен-2-карбоксамид гидрохлорид



x HCl

Стадия a)

3,215 г (7,38 ммоль) соединения (A) растворяют в 60 мл ДМФ, полученный раствор смешивают с 531 мг (22,1 ммоль) гидрида натрия и смесь перемешивают в течение 30 минут при комнатной температуре. Затем добавляют 6,9 г (22,1 ммоль) растворенного в 10 мл ДМФ промежуточного соединения 15A. Компоненты перемешивают при комнатной температуре еще в течение 10 минут, после чего смешивают с 10 мл воды. Смесь концентрируют и остаток в течение ночи перемешивают с 70 мл насыщенного раствора водородхлорида в дихлорметане, причем происходит расщепление образовавшегося вначале енольного эфира. Продукт фильтруют, оставшийся раствор концентрируют. Остаток вводят в 600 мл этилацетата и встряхивают с тремя порциями 10%-ного раствора карбоната натрия объемом 100 мл каждая, а также с водой. Отделяют и концентрируют фазу этилацетата. Остаток подвергают очистке флэш-хроматографией на силикагеле, используя в качестве элюента смесь ацетонитрила с дихлорметаном (1:1). Соответствующие фракции концентрируют. Оставшийся смолистый продукт вводят в 20 мл этилацетата и смешивают с 40 мл охлажденного диэтилового эфира. Отделенный фильтрованием остаток промывают диэтиловым эфиром. После сушки в высоком вакууме получают 1,7 г Z-защищенного промежуточного соединения (выход от теоретического 32,4%).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=6,0 мин.

ЖХ-МС (метод 12): R_t=3,9 мин; m/z=711 $(M+H)^+$.

Стадия b)

1,7 г (2,39 ммоль) защищенного промежуточного соединения вводят в 50 мл безводной трифторуксусной кислоты и в течение пяти часов обрабатывают ультразвуком. Затем смесь концентрируют в высоком вакууме, поддерживая температуру около 20°C. Остаток вводят в 200 мл соляной кислоты с показателем pH, равным 3, и встряхивают с тремя порциями этилацетата объемом 25 мл каждая. Водную фазу подвергают лиофилизации, снова вводят в соляную кислоту с показателем pH, равным 3, фильтруют и вновь подвергают лиофилизации.

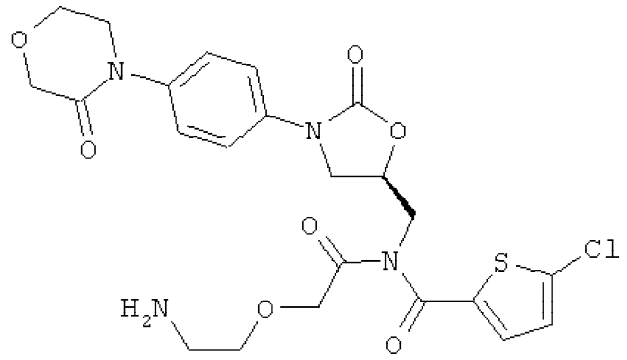
Выход 450 мг (31% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,57 мин.

ЖХ-МС (метод 13): R_t=2,81 мин; m/z=577 $(M+H)^+$.

Пример 23

N-[(2-аминоэтокси)ацетил]-5-хлор-N-({(5S)-2-оксо-3-[4-(3-оксоморфолин-4-ил)фенил]-1,3-оксазолидин-5-ил}метил)тиофен-2-карбоксамид гидрохлорид



x HCl

Стадия a)

589,6 мг (1,35 ммоль) соединения (A) растворяют в 25 мл ДМФ, полученный раствор смешивают с 97 мг (4 ммоль) гидрида натрия и смесь перемешивают в течение 30 минут при комнатной температуре. Затем добавляют 2,65 г (6,76 ммоль) растворенного в 4 мл ДМФ промежуточного соединения 16A. Компоненты перемешивают при комнатной температуре еще в течение 10 минут, после чего смешивают с 5 мл воды. Смесь концентрируют и остаток в течение ночи перемешивают со 150 мл насыщенного раствора водородхлорида в дихлорметане. Смесь вновь концентрируют и остаток вводят в 200 мл этилацетата. Смесь встряхивают с двумя порциями 10%-ного раствора карбоната натрия объемом 50 мл каждая. Органическую фазу отделяют и концентрируют, остаток перемешивают с 30 мл этилацетата. Нерастворившиеся компоненты отделяют фильтрованием и концентрируют органическую фазу. Остаток подвергают очистке флэш-хроматографией на силикагеле, используя в качестве элюента смесь ацетонитрила с дихлорметаном (1:1). Содержащие целевой продукт фракции концентрируют и остаток вновь подвергают очистке препаративной ВЭЖХ (метод 1). Соответствующие фракции концентрируют и сушат. Получают 30 мг двукратно защищенного промежуточного соединения (выход от теоретического 3%).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=5,71 мин.

ЖХ-МС (метод 12): R_t=3,74 мин; m/z=791 $(M+H)^+$.

Стадия b)

30 мг (0,038 ммоль) защищенного промежуточного соединения в течение ночи перемешивают в 50 мл безводной трифторуксусной кислоты. Затем смесь концентрируют в высоком вакууме, поддерживая температуру около 20°C. Остаток вводят в 30 мл соляной кислоты с показателем pH, равным 3, и смешивают смесь с 20 мл дихлорметана. Осуществляют разделение фаз и водную фазу встряхивают с 20 мл дихлорметана, а затем с 20 мл этилацетата. Водную фазу отделяют, остаточный этилацетат удаляют кратковременной отгонкой в высоком вакууме и остаток подвергают лиофилизации.

Выход 17 мг (78% от теоретического).

ВЭЖХ (метод 2): R_t=4,14 мин.

ЖХ-МС (метод 12): R_t=1,67 мин; m/z=537 $(M+H)^+$.

B. Определение растворимости, стабильности и способности к высвобождению

a) Определение растворимости

Испытуемое вещество суспендируют в воде или разбавленной соляной кислоте с показателем pH, равным 4. Полученную суспензию в течение 24 часов встряхивают при комнатной температуре. После 30-минутного ультрацентрифугирования с ускорением 224000g надосадочную жидкость разбавляют диметилсульфоксидом и анализируют методом ВЭЖХ. Количественное определение осуществляют по двухпозиционной калибровочной кривой испытуемого соединения в диметилсульфоксиде.

Метод ВЭЖХ

Прибор Agilent 1100 с УФ-детектором DAD (G1315A), четырехходовой насос (G1311A), автоматическая пипетка CTC NTS PAL, дегазатор (G1322A) и термостат колонки (G1316A); колонка Zorbax Extend-C18, 3,5 мкм; температура 40°C; элюент A: вода + 5 мл перхлорной кислоты в литре, элюент B: ацетонитрил; расход 0,7 мл/мин; градиент: 0-0,5 мин 98% A, 2% B; ступенчато 0,5-4,5 мин 10% A, 90% B; 4,5-6 мин 10% A, 90% B; ступенчато 6,5-6,7 мин 98% A, 2% B; 6,7-7,5 мин 98% A, 2% B.

В таблице 1 приведена растворимость соединений, полученных в соответствии с представленными примерами осуществления изобретения, в разбавленной соляной кислоте с показателем pH, равным 4.

Таблица 1

Номер примера	Растворимость [мг/л]
1	320
2	>500
3	340
4	480
5	330
6	860
7	340
10	680
11	960
12	350

Деструкция соединений в указанных растворах отсутствовала.

В соответствии с данным испытанием растворимость лежащего в основе действующего вещества [соединения (A)] в разбавленной соляной кислоте с показателем pH, равным 4, составляла 8,1 мг/л.

Растворимость соединения из примера 13 в 5%-ной декстрозе с установленным соляной кислотой показателем pH, равным 4, составляла 2,70 г/л, в то время как растворимость соединений из примеров 20, 21 и 22 превышала 3 г/л.

b) Стабильность в буферных растворах с различными значениями показателя pH

Навеску 0,3 мг испытуемого вещества помещают в пробирку для ВЭЖХ объемом 2 мл и смешивают с 0,5 мл ацетонитрила. Для растворения вещества пробирку около 10 секунд подвергают воздействию ультразвука. Затем добавляют 0,5 мл соответствующего буферного раствора и образец вновь обрабатывают ультразвуком.

Использовали следующие буферные растворы:

pH 4,0: 1 л подвергнутой ультратонкой фильтрации воды с установленным 1H соляной кислотой показателем pH, равным 4,0,

pH 7,4: к 90 г хлорида натрия, 13,61 г гидрофосфата калия и 83,35 г 1M раствора едкого натра добавляли подвергнутую ультратонкой фильтрации воду до объема 1 л, а затем разбавляли в соотношении 1:10.

Образцы раствора объемом 5 мкл в течение 24 часов при 37°C ежечасно

анализируют методом ВЭЖХ на содержание неизменившегося испытуемого вещества. Количественную оценку выполняют по площадям соответствующих пиков в процентах.

Метод ВЭЖХ

Прибор Agilent 1100 с УФ-детектором DAD (G1314A), бинарный насос (G1312A), автоматическая пипетка (G1329A), печь колонки (G1316A), термостат (G1330A); колонка Kromasil 100 C18, 125 мм × 4,6 мм, 5 мкм; температура колонки 30°C; элюент A: вода + 5 мл перхлорной кислоты в литре, элюент B: ацетонитрил.

Градиент 1:

0-1,0 мин 98% A, 2% B → 1,0-13,0 мин 50% A, 50% B → 13,0-17,0 мин 10% A, 90% B → 17,0-18,0 мин 10% A, 90% B → 18,0-19,5 мин 98% A, 2% B → 19,5-23,0 мин 98% A, 2% B; расход 2,0 мл/мин; УФ-детектор: 210 нм.

Градиент 2:

0-3,0 мин 78% A, 22% B → 3,0-15,0 мин 78% A, 22% B → 15,0-17,0 мин 10% A, 90% B → 17,0-18,0 мин 10% A, 90% B → 18,0-20,0 мин 98% A, 2% B → 20,0-23,0 мин 98% A, 2% B; расход 2,0 мл/мин; УФ-детектор: 210 нм.

Градиент 3:

0-3,0 мин 70% A, 30% B → 3,0-15,0 мин 70% A, 30% B → 15,0-17,0 мин 10% A, 90% B → 17,0-18,0 мин 10% A, 90% B → 18,0-20,0 мин 98% A, 2% B → 20,0-23,0 мин 98% A, 2% B; расход: 2,0 мл/мин; УФ-детектор: 210 нм.

В таблице 2 приведены отношения площадей пиков (F) в соответствующие моменты времени к площадям пиков в начальный момент времени для представленных примеров осуществления изобретения.

Таблица 2

Номер примера	Показатель pH буфера	Испытуемое вещество через 4 ч [F(t=4ч)×100/F(t=0ч)], %	Испытуемое вещество через 24 ч [F(t=24ч)×100/F(t=0ч)], %
1	4	100	99
1	7,4	49	3
2	4	100	100
2	7,4	96	80
3	4	100	99
3	7,4	88	48
4	4	100	100
4	7,4	31	0
5	4	100	94
5	7,4	68	14
6	4	100	98
6	7,4	90	59
7	4	100	99
7	7,4	48	3
8	4	99	81
8	7,4	2	0
10	4	100	99
10	7,4	8	0
11	4	100	99
11	7,4	10	0
12	4	100	98
12	7,4	0	0
13	4	99	91
14	4	57	0
14	7,4	0	0
17	4	83	55

18	4	100	99
19	4	100	97
19	7,4	0	0
20	4	98	90
20	7,4	0	0
21	4	100	100
21	7,4	92	66
22	4	100	98

В результате испытания установлено, что при pH, равном 7,4, одновременно со снижением содержания испытуемого вещества происходит увеличение содержания соединения (A) в качестве действующего вещества.

c) Стабильность in vitro в плазме крысы (определение методом ВЭЖХ)

1 мг вещества растворяют в 1,25 мл диметилсульфоксида. Затем добавляют 1,25 мл воды. Образец полученного раствора объемом 500 мкл смешивают с 500 мкл плазмы крысы с температурой 37°C и смесь встряхивают. Для анализа методом ВЭЖХ тут же отбирают первую часть указанного образца объемом 10 мкл. В течение двухчасового периода после 2, 5, 10, 30, 60 и 90 минут от начала инкубации отбирают дополнительные аликвотные количества и определяют содержание соответствующего испытуемого вещества и высвобождающегося из него действующего вещества - соединения (A).

Метод ВЭЖХ

Прибор Agilent 1100 с УФ-детектором DAD (G1314A), бинарный насос (G1312A), автоматическая пипетка (G1329A), печь колонки (G1316A), термостат (G1330A); колонка Kromasil 100 C18, 250 мм × 4,6 мм, 5 мкм; температура колонки 30°C; элюент A: вода + 5 мл перхлорной кислоты в литре, элюент B: ацетонитрил.

Градиент

0-0,5 мин 98% A, 2% B → 0,5-3,0 мин 73% A, 27% B → 3,0-18,0 мин 73% A, 27% B → 18,0-20,0 мин 10% A, 90% B → 20,0-21,0 мин 90% A, 10% B → 21,0-22,5 мин 98% A, 2% B → 22,5-25,0 мин 98% A, 2% B; расход 2,0 мл/мин; УФ-детектор: 248 нм.

Результаты

В соответствии с данным испытанием расщепление соединений из примеров 13, 17, 20, 22 и 23 происходит с периодом полувыделения соединения (A) в качестве действующего вещества, составляющим менее 2 минут.

d) Стабильность в плазме крысы и человека in vitro (определение методами ЖХ/МС-МС)

В водяной бане нагревают до температуры 37°C определенный объем (например, 2,0 мл) находящейся в закрытой пробирке плазмы. По достижении заданной температуры добавляют раствор определенного количества испытуемого вещества (объем растворителя не превышает 2% от объема плазмы). Плазму встряхивают и тут же отбирают первый образец объемом от 50 до 100 мкл. Затем в разные моменты времени от начала инкубации в течение двух часов отбирают еще от 4 до 6 аликвотных образцов.

Для осаждения белка образцы плазмы смешивают с ацетонитрилом. После центрифугирования пригодным методом ЖХ/МС-МС выполняют количественное определение испытуемого вещества и в некоторых случаях известных продуктов его расщепления в надосадочной жидкости.

Стабильность гепаринизованной крови крысы или человека определяют аналогично плазме.

В таблице 3 приведены определенные в разные моменты времени концентрации (c)

соединений из примера 6 и выделившегося из них действующего вещества - соединения (A) в плазме крыс Wistar.

Таблица 3

Время инкубации, [ч]	с для примера 6, [мг/л]	с для соединения (A), [мг/л]
0	0,403	0,0789
0,08	0,0756	0,155
0,17	0,0079	0,175
0,5	н.о.*	0,178
1	н.о.*	0,186
2	н.о.*	0,187

В таблице 4 приведены определенные в разные моменты времени концентрации (c) соединений из примера 13 и выделившегося из них действующего вещества - соединения (A) в плазме крыс Wistar.

Таблица 4

Время инкубации, [ч]	с для примера 13, [мг/л]	с для соединения (A), [мг/л]
0	0,5	0,178
0,08	н.о.*	0,237
0,17	н.о.*	0,247
0,5	н.о.*	0,257
1	н.о.*	0,275

* Отсутствие возможности определения (концентрация ниже порога обнаружения).

e) Исследование фармакокинетики на крысах Wistar (внутривенные инъекции)

В день дачи испытуемого вещества в яремную вену подопытных животных (мужских особей крыс Wistar с массой тела 200-250 г) под наркозом (Isofluran®) имплантируют катетер для отбора крови.

В день выполнения экспериментов в хвостовую вену стеклянным шприцем Hamilton® вводят определенную дозу испытуемого вещества в виде раствора (дача пилюли, длительность применения менее 10 с). В течение 24 часов после инъекции через катетер последовательно от 8 до 12 раз отбирают образцы крови. Для выделения плазмы образцы центрифугируют в гепаринизованных трубках. Для осаждения белка в соответствующий момент времени определенный объем плазмы смешивают с ацетонитрилом. После центрифугирования пригодным методом ЖХ/МС-МС выполняют количественное определение испытуемого вещества и в некоторых случаях известных продуктов его расщепления в надосадочной жидкости.

На основании измеренных концентраций в плазме выполняют расчет фармакокинетических характеристик испытуемого вещества, соответственно высвобождающегося из него действующего вещества - соединения (A), таких как AUC, C_{max}, $T_{1/2}$ (период полувыделения) и CL (коэффициент очищения крови).

f) Анализ гепатоцитов для определения метаболической стабильности

Для обеспечения максимально линейных экспериментальных кинетических условий метаболическую стабильность испытуемых соединений по отношению к гепатоцитам определяют инкубированием соединений при пониженных концентрациях (предпочтительно менее 1 мкмоль) и незначительных количествах клеток (предпочтительно $1 \cdot 10^6$ в мл). С целью определения периода полувыделения (то есть деструкции соединения) методом ЖХ-МС в определенный промежуток времени отбирают семь образцов инкубационного раствора. На основании указанных полупериодов рассчитывают различные параметры очищения крови (CL) и значения

F_{max} (см. ниже).

Показатели CL и F_{max} представляют собой меру фазы 1 и фазы 2 метаболизма соединения в гепатоцитах. Для обеспечения как можно более незначительного воздействия органического растворителя на ферменты в инкубационных составах его концентрацию в общем случае ограничивают 1% (ацетонитрил) или 0,1% (диметилсульфоксид).

Для всех видов и пород животных число гепатоцитов в печени принимают равным $1{,}1 \cdot 10^8$ в расчете на грамм печени. Параметры CL, расчет которых основан на значениях периода полувыделения, выходящих за пределы инкубационного периода (обычно 90 минут), можно рассматривать лишь в качестве грубого приближения.

Ниже приведены расчетные параметры их значения.

F_{max} при тщательном перемешивании, [%]	Максимально возможная биодоступность после орального применения
Расчет:	$(1\text{-}CL_{blood}$ well-stirred/QH)·100
CL_{blood} well-stirred [л/(ч·кг)]	Расчетный параметр очищения крови (для тщательно перемешанной модели)
Расчет:	$(QH \cdot CL'_{intrinsic})/(QH+CL'_{intrinsic})$
$CL'_{intrinsic}$ [мл/(мин·кг)]	Максимальная способность печени (гепатоцитов) метаболизировать соединение (при отсутствии лимитирования скорости кровотока через печень)
Расчет:	$CL'_{intrinsic,\ apparent}$·специфичное для вида число гепатоцитов [$1{,}1 \cdot 10^8$/г печени] ·специфичная для вида масса печени [г/кг]
$CL'_{intrinsic,\ apparent}$ [МЛ/(мин·мг)]	Константа выделения, нормированная делением на число используемых гепатоцитов x ($x \cdot 10^6$/мл)
Расчет:	k_{el} [л/мин]/(число клеток [$x \cdot 10^6$]/инкубационный объем [мл])

(QH означает специфичный для вида кровоток через печень).

д) Определение антитромботического действия на модели артериовенозного шунта для крыс

Мужские особи крыс (штамм HSD CPB:WU) натощак наркотизируют внутрибрюшинной инъекцией раствора Rompun/Ketavet (12 мг/кг / 50 мг/кг). Тромбообразование в артерионевозном шунте провоцируют методом, описанным в публикации P.C.Wong и другие, Thrombosis Research, 83 (2), 117-126 (1996). С этой целью осуществляют открытое препарирование левой яремной вены и правой сонной артерии. В артерию вводят полиэтиленовый катетер длиной 8 см (PE60, фирма Becton-Dickinson), являющийся продолжением шланга из полимера Tygon длиной 6 см (R-3606, внутренний диаметр 3,2 мм, фирма Kronlab), который с целью формирования тромбогенной поверхности снабжен ворсованной и уложенной в виде двойной петли нейлоновой нитью (60×0,26 мм, фирма Berkley Trilene). В яремную вену вводят полиэтиленовый катетер длиной 2 см (PE60, фирма Becton-Dickinson), который соединяют полиэтиленовым катетером длиной 6 см (PE160, фирма Becton-Dickinson) со шлангом из полимера Tygon. Перед открытием шунта шланги заполняют физиологическим раствором поваренной соли. В течение 15 минут обеспечивают экстракорпоральную циркуляцию. Затем шунт удаляют и сразу же взвешивают тромбированную нейлоновую нить. Перед экспериментом определяют вес исходной нейлоновой нити. До начала экстракорпоральной циркуляции выполняют инъекцию испытуемого вещества (в виде раствора в физиологическом растворе поваренной соли с показателем pH, установленным на уровне 4 0,1H соляной кислотой).

C. Примеры приготовления фармацевтических составов

Предлагаемые в изобретении соединения могут быть преобразованы в следующие

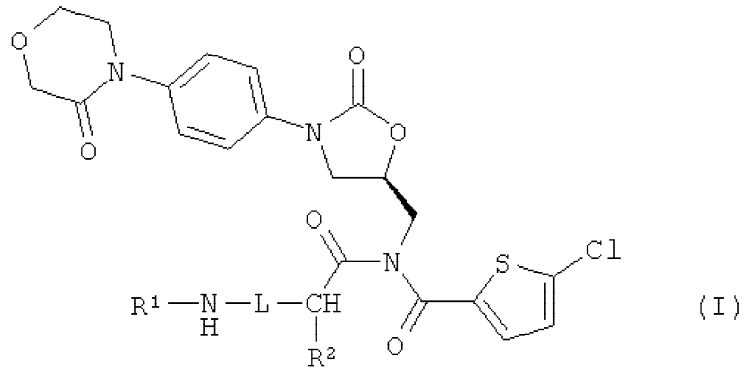
фармацевтические составы.

Раствор для внутривенных инъекций

Предлагаемое в изобретении соединение растворяют в физиологически совместимом растворителе (например, изотоническом растворе поваренной соли, 5%-ном растворе глюкозы и/или 30% растворе полиэтиленгликоля PEG 400, показатель pH которых устанавливают в интервале от 3 до 5) в концентрации ниже точки насыщения. Раствор при необходимости подвергают фильтрованию в стерильных условиях и/или расфасовывают в стерилизованные и освобожденные от пирогенных примесей сосуды для инъекций.

Формула изобретения

1. Соединение формулы (I):

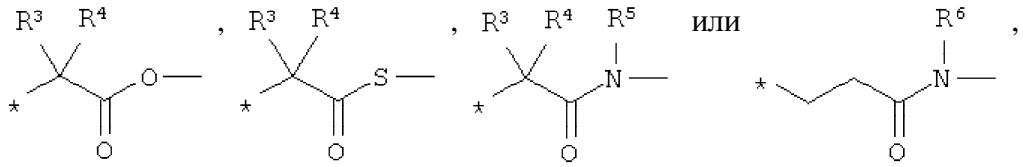


(I)

в которой R^1 означает водород или алкил с 1-4 атомами углерода,

R^2 означает водород и

L означает алкандиильную группу с 1-4 атомами углерода, одна CH_2-группа в которой может быть заменена на атом кислорода или группу формулы:



в которой * означает место соединения с атомом азота,

R^3 означает водород, метил, пропан-2-ил, пропан-1-ил, имидазол-4-илметил, гидроксиметил или 4-аминобутан-1-ил, или

R^3 соединен с R^1, совместно с которым образует $(CH_2)_3$- или $(CH_2)_4$-группу,

R^4 означает водород или метил,

R^5 означает алкил с 1-4 атомами углерода, и

R^6 означает водород или алкил с 1-4 атомами углерода,

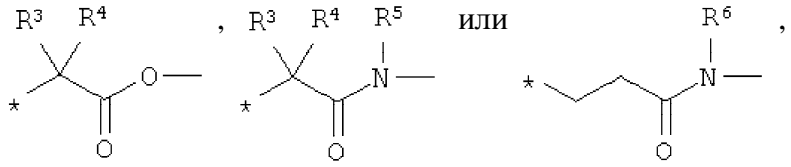
а также его соли.

2. Соединение формулы (I) по п.1, в которой

R^1 означает водород или алкил с 1-4 атомами углерода,

R^2 означает водород и

L означает алкандиильную группу с 2-4 атомами углерода или группу формулы:



в которой * означает место соединения с атомом азота,

R^3 означает водород, метил, пропан-2-ил, пропан-1-ил, имидазол-4-ил-метил, 4-аминобутан-1-ил, или

R^3 соединен с R^1, совместно с которым образует $(CH_2)_3$- или $(CH_2)_4$-группу,

R^4 означает водород или метил,

R^5 означает метил и

R^6 означает водород или метил,

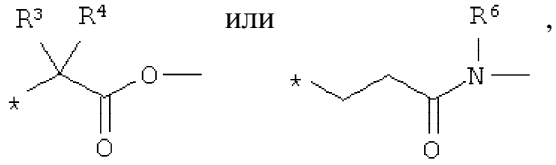
а также его соли.

3. Соединение формулы (I) по п.1 или 2, в которой

R^1 означает водород, метил или н-бутил,

R^2 означает водород и

L означает CH_2CH_2-группу или группу формулы:



в которой * означает место соединения с атомом азота,

R^3 означает водород, метил, пропан-2-ил, пропан-1-ил, имидазол-4-ил-метил, 4-аминобутан-1-ил, или

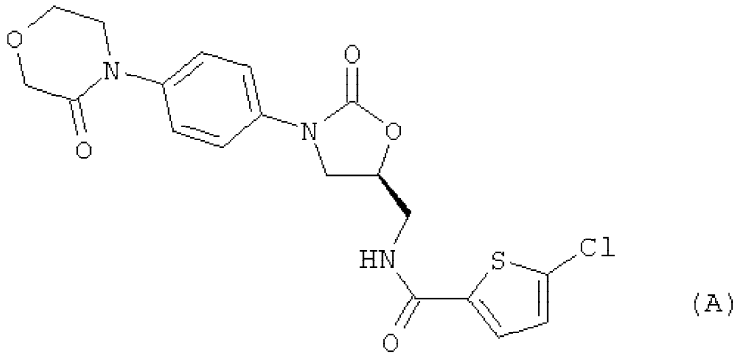
R^3 соединен с R^1, совместно с которым образует $(CH_2)_3$- или $(CH_2)_4$-группу,

R^4 означает водород или метил и

R^6 означает водород или метил,

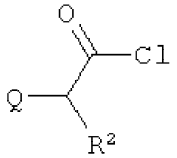
а также его соли.

4. Способ получения соединений формулы (I) по пп.1-3, отличающийся тем, что соединение (A):



(A)

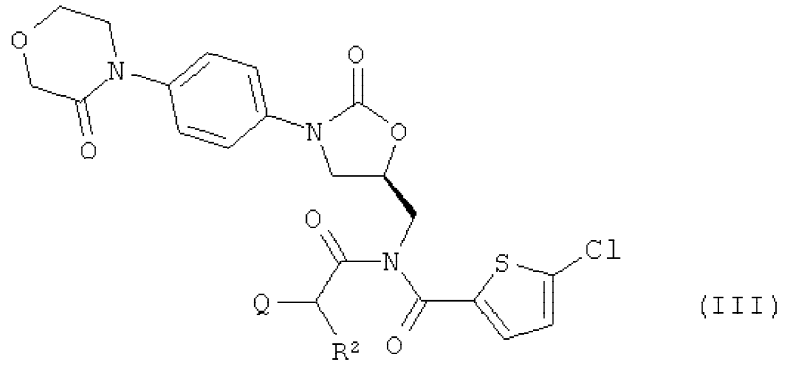
благодаря реализуемому в инертном растворителе в присутствии основания взаимодействию с соединением формулы (II):



(II)

в которой R^2 такой, как указано в пп.1-3, и

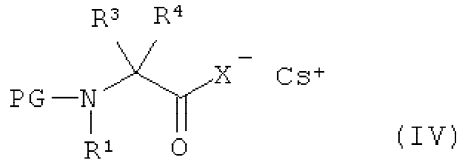
Q означает отщепляемую группу, например, такую как хлор, бром или йод, переводят в соединение формулы (III):



(III)

в которой Q и R^2 такие, как указано выше,

которое в инертном растворителе подвергают взаимодействию с цезиевой солью α-аминокарбоновой или α-аминотиокарбоновой кислоты формулы (IV):

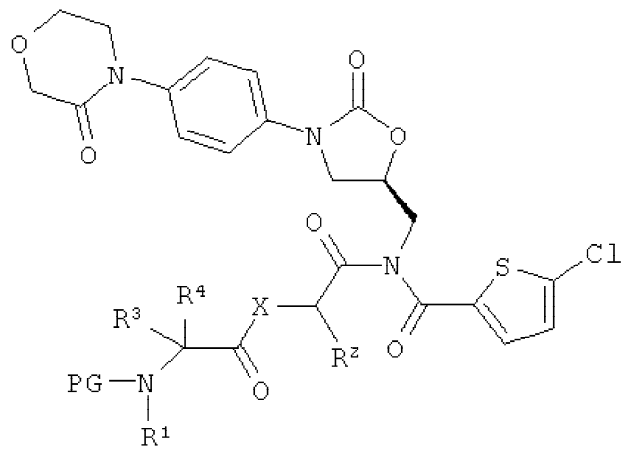


(IV)

в которой R^1, R^3 и R^4 соответственно такие, как указано в пп.1-3,

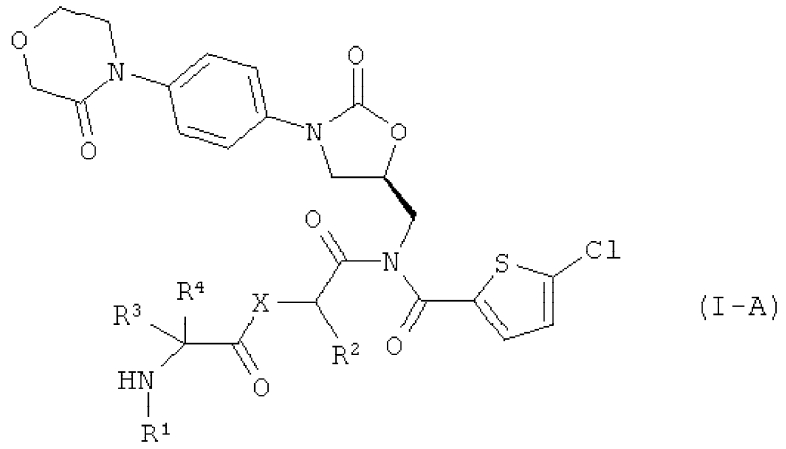
PG означает аминозащитную группу, например, такую как трет-бутоксикарбонил (Boc) или бензилоксикарбонил (Z), и

X означает атом кислорода или серы, приводящему к образованию соединения формулы (V):



(V)

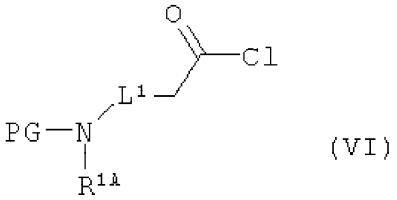
в которой R^1, R^2, R^3, R^4, PG и X соответственно такие, как указано выше, затем удаляют защитную группу PG, получая соединение формулы (I-A):



(I-A)

в которой R^1, R^2, R^3, R^4 и X соответственно такие, как указано выше, и соединение формулы (I-A) при необходимости с использованием соответствующих (i) растворителей и/или (ii) кислот переводят в его сольваты, соли и/или сольваты солей.

5. Способ получения соединений формулы (I) по пп.1-3, отличающийся тем, что соединение (A) подвергают осуществляемому в инертном растворителе в присутствии основания взаимодействию с соединением формулы (VI):

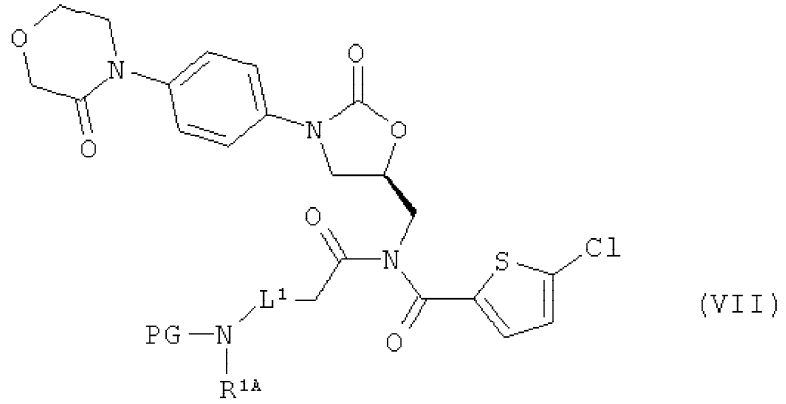


(VI)

в которой PG такой, как указано выше,

R^{1A} означает алкил с 1-4 атомами углерода, который может быть замещен гидрокси или алкокси с 1-4 атомами углерода, и

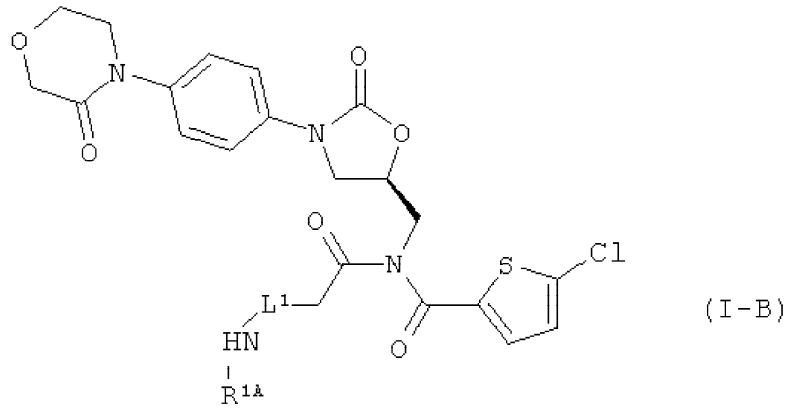
L^1 означает алкандиильную группу с 1-4 атомами углерода, в которой одна CH_2-группа может быть заменена на атом кислорода, приводящему к образованию соединения формулы (VII):



(VII)

в которой R^{1A}, L^1 и PG соответственно такие, как указано выше,

затем удаляют защитную группу PG, получая соединение формулы (I-B):



(I-B)

в которой R^{1A} и L^1 такие, как указано выше,

и соединение формулы (I-B) при необходимости с использованием соответствующих (i) растворителей и/или (ii) кислот переводят в его сольваты, соли и/или сольваты солей.