



РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 194 038** ⁽¹³⁾ **C2**

(51) МПК⁷ **C 07 D 211/60, 401/06, 401/12, 401/14, A 61 K 31/445, 31/4545, A 61 P 7/02/(C 07 D 401/06, 211:00, 215:00), (C 07 D 401/14, 211:00, 213:00, 241:00)**

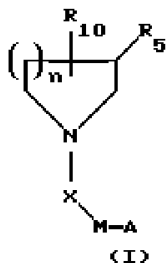
(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

(21), (22) Заявка: 98121706/04, 29.04.1997
(24) Дата начала действия патента: 29.04.1997
(30) Приоритет: 01.05.1996 US 60/016,675
(43) Дата публикации заявки: 20.10.2000
(46) Дата публикации: 10.12.2002
(56) Ссылки: WO 95/25091 A2, 21.09.1995. WO 95/08536 A1, 30.03.1995. SU 1486059 A3, 07.06.1989.
(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную фазу: 01.12.1998
(86) Заявка РСТ: US 97/07130 (29.04.1997)
(87) Публикация РСТ: WO 97/41102 (06.11.1997)
(98) Адрес для переписки: 129010, Москва, ул. Б. Спасская, 25, стр.3, ООО "Юридическая фирма Городисский и Партнеры", Н.Г. Лебедевой

(71) Заявитель:
ОРТО-МакНЕЙЛ ФАРМАСЬЮТИКАЛ, ИНК. (US)
(72) Изобретатель: КОСТАНЦО Майкл Дж. (US), ХОЭКСТРА Уильям Дж. (US), МАРЬЯНОФФ Брюс Е. (US)
(73) Патентообладатель:
ОРТО-МакНЕЙЛ ФАРМАСЬЮТИКАЛ, ИНК. (US)
(74) Патентный поверенный:
Лебедева Наталья Георгиевна

(54) **КАРБОКСАМИДНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ПИРРОЛИДИНА ИЛИ ПИПЕРИДИНА, ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ НА ИХ ОСНОВЕ И СПОСОБ ИНГИБИРОВАНИЯ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ**

(57)
Изобретение относится к новым производным пирролидина или пиперидина ф-лы (I), их энантиомерам и фармацевтически приемлемым солям



где R_{10} - H или $C(O)N(R^1)YZ$, R_1 - H, Y - $(CH_2)_p$, $(CH_2)_qCH(R^3)$ или $CH(R^3)(CH_2)_q$, R^3 - арил, алкил или гетероарил, $q = 1-3$, $p = 2$ или 3, Z - CO_2H , CO_2 -алкил или 5-тетразол, X-C(O), M- $(CH_2)_n$, или пиперидин-1-ил, $n = 2$, $n = 2$, R_5 - H, A выбирают из пиперидин-2-ила, пиперидин-3-ила, пиперидин-4-ила или N-замещенного пиперидина. Соединения ф-лы (I) ингибируют агрегацию тромбоцитов и могут найти применение в медицине. 3 с. и 2 з.п. ф-лы, 6 табл.



RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 194 038** ⁽¹³⁾ **C2**
(51) Int. Cl.⁷ **C 07 D 211/60, 401/06,
401/12, 401/14, A 61 K 31/445,
31/4545, A 61 P 7/02/(C 07 D
401/06, 211:00, 215:00), (C 07 D
401/14, 211:00, 213:00, 241:00)**

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

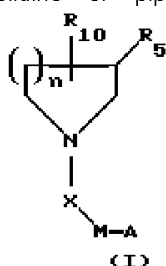
(21), (22) Application: 98121706/04, 29.04.1997
(24) Effective date for property rights: 29.04.1997
(30) Priority: 01.05.1996 US 60/016,675
(43) Application published: 20.10.2000
(46) Date of publication: 10.12.2002
(85) Commencement of national phase: 01.12.1998
(86) PCT application:
US 97/07130 (29.04.1997)
(87) PCT publication:
WO 97/41102 (06.11.1997)
(98) Mail address:
129010, Moskva, ul. B. Spasskaja, 25, str.3,
OOO "Juridicheskaja firma Gorodisskij i
Partnery", N.G. Lebedevoj

(71) Applicant:
ORTO-MakNEJL FARMAS'JuTIKAL, INK. (US)
(72) Inventor: KOSTANTsO Majkl Dzh. (US),
KhOEhKSTRA Uil'jam Dzh. (US), MAR'JaNOFF
Brjus E. (US)
(73) Proprietor:
ORTO-MakNEJL FARMAS'JuTIKAL, INK. (US)
(74) Representative:
Lebedeva Natal'ja Georgievna

(54) CARBOXAMIDE DERIVATIVES OF PYRROLIDINE OR PIPERIDINE, PHARMACEUTICAL COMPOSITION
BASED ON THEREOF AND METHOD OF INHIBITION OF PLATELET AGGREGATION

(57) Abstract:

FIELD: organic chemistry, pharmacy.
SUBSTANCE: invention relates to novel
derivatives of pyrrolidine or piperidine of
the formula (I), their



enantiomers and pharmaceutically acceptable

salts: where R_{10} means H or $C(O)N(R^1)YZ$;
 R_1 means H; Y means $(CH_2)_p(CH_2)_qCH(R^3)$
or $CH(R^3)(CH_2)_q$; R^3 means aryl, aralkyl or
heteroaryl; $q = 1-3$; $p = 2$ or 3 ; Z means CO_2H ,
 CO_2 -alkyl or 5-tetrazole; X means $C(O)$; M
means $(CH_2)_m$ or piperidine-1-yl; $m = 2$; $n = 2$;
 R_5 means H; A is taken among
piperidine-2-yl, piperidine-3-yl,
piperidine-4-yl of N-substituted piperidine.
Compounds of the formula (I) inhibit
aggregation of platelets and can be used in
medicine. EFFECT: improved method of
inhibition, valuable medicinal properties. 5
cl, 6 tbl

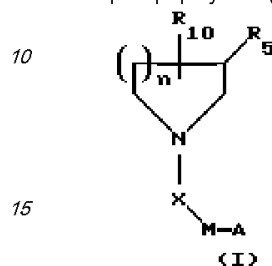
Предпосылки к изобретению

Агрегация тромбоцитов является первоначальной гемостатической реакцией для сокращения кровотечения, индуцированного вазкулярным повреждением. Однако патологическое распространение этого нормального гемостатического процесса может привести к образованию тромба. Конечным, обычным путем в агрегации тромбоцитов является связывание фибриногена с активированным, подвергнутого воздействию тромбоцитов гликопротеином IIb/IIIa (GPIIb/IIIa). Агенты, которые препятствуют связыванию фибриногена с GPIIb/IIIa, следовательно, ингибируют агрегацию тромбоцитов. Эти агенты, следовательно, полезны при лечении тромбоцит-опосредованных тромботических нарушений, таких как артериальный и венозный тромбоз, острый инфаркт миокарда, нестабильная стенокардия, реокклюзия после тромболитической терапии и пластической операции на сосудах, воспаление и различные вазо-окклюзивные нарушения. Рецептор фибриногена (GPIIb/IIIa) активируется стимулами, такими как ADP, коллаген и тромбин, подвергающими домены связывания действию двух различных пептидных областей фибриногена: α -цепь Arg-Gly-Asp (RGD) и γ -цепь His-His-Leu-Gly-Gly-Ala-Lys-Gln-Ala-Gly-Asp-Val (HHLGGAKQAGDV, γ 400-411). Поскольку было показано, что эти пептидные фрагменты сами ингибируют связывание фибриногена с GPIIb/IIIa, миметик этих фрагментов может служить также в качестве антагониста. На самом деле, до настоящего изобретения были открыты сильнодействующие антагонисты на основе RGD, которые ингибируют как связывание фибриногена с GPIIb/IIIa, так и агрегацию тромбоцитов, например, Ro-438857 (L. Aliq, J. Med. Chem., 1992, 35, 4393) имеет IC_{50} 0,094 мкМ против индуцированной тромбином агрегации тромбоцитов *in vitro*. Некоторые из этих агентов показали также эффективность *in vivo* в качестве антитромботических агентов и в некоторых случаях были также использованы вместе с фибринолитической терапией, например t-PA или стрептокиназой (J.A. Zablocki, Current Pharmaceutical Design 1995, 1, 533). Как показано результатами фармакологических исследований, описанных далее, соединения настоящего изобретения проявляют способность блокировать связывание фибриногена с выделенным GPIIb/IIIa (IC_{50} 0,0002-1,39 мкМ), ингибировать агрегацию тромбоцитов *in vitro* в присутствии различных стимулов тромбоцитов (0,019-65,0 мкМ против тромбина) и, кроме того, ингибировать *ex vivo* агрегацию тромбоцитов в моделях животных. Кроме того, было показано, что эти агенты проявляют эффективность в моделях тромбоза животных в качестве их предшественников ("Nipecotic Acid Derivatives As Antithrombotic Compounds", серийный номер заявки 08/213772, подача 16 марта 1994). Соединения настоящего изобретения проявляют эффективность в качестве антитромботических агентов благодаря их способности предотвращать агрегацию тромбоцитов. Кроме того, поскольку соединения данного изобретения ингибируют интегрин-опосредованную межклеточную

адгезию или адгезию клетка-матрица, они могут быть также полезными против воспаления, резорбции костей, метастазов опухолевых клеток и так далее (D. Cox, Drug News and Perspectives 1995, 8, 197).

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

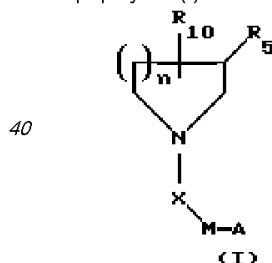
Настоящее изобретение относится к соединениям, представленным следующей общей формулой (I):



где A, X, M, R₅, R₁₀ и n такие, как определено ниже. Эти ингибиторы агрегации тромбоцитов полезны при лечении тромбоцит-опосредованных тромботических нарушений, таких как артериальный и венозный тромбоз, острый инфаркт миокарда, реокклюзия после тромболитической терапии и пластической операции на сосудах, воспаление, нестабильная стенокардия и различные вазо-окклюзивные нарушения. Эти соединения также полезны в качестве антитромботических средств, используемых в сочетании с фибринолитической терапией (например, t-PA или стрептокиназой). Фармацевтические композиции, содержащие такие соединения, также являются частью настоящего изобретения.

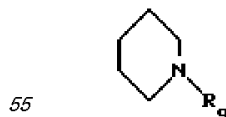
ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Более конкретно, настоящее изобретение относится к соединениям следующей формулы (I):



где M представляет (CH₂)_m или пиперидин-1-ил;

где A выбирают из любого из пиперидин-2-ила, пиперидин-3-ила, пиперидин-4-ила, пиперазин-1-ила, пирролидин-2-ила, пирролидин-3-ила, NHR² или



где R₉ выбирают из любого из H, алкила, CH(NH), CMe(NH) или ацила, предпочтительно R₉ представляет водород;

где R₁₀ представляет H или C(O)N(R¹)YZ;

где R₁ выбирают из H или циклоалкила;

где R² выбирают из любого из H, алкила или ацила. Предпочтительно R² представляет водород;

где R₅ представляет H или C(O)NHQ(CHW)_rCO₂R₈; где Q выбирают из

CH₂, CH-арил, CH-гетероарил, CH-замещенный гетероарил или CH-алкил; предпочтительно, Q представляет CH₂, CH-замещенный гетероарил или CH-гетероарил; W выбирают из H или N(R₆)-T-R₇, предпочтительно, W представляет H, когда Q представляет CH, и N(R₆)-T-R₇, когда Q представляет CH₂; где R₆ выбирают из любого из H, алкила или ацила; предпочтительно R₆ представляет водород, T выбирают из C(O), C(N-CN) или SO₂, предпочтительно, T представляет C(O) и R₇ выбирают из любого из алкила, арила, аралкила, алкокси или аминоалкила; и R₈ выбирают из H, алкила или аралкила; предпочтительно, R₈ представляет H;

где m равно целому числу 1, 2 или 3. Предпочтительно, m равно 1 или 2;

где X выбирают из любого из C(O), C(O)O, C(O)NH, CH₂ или SO₂;

где n равно целому числу 1, 2 или 3;

где r равно 0 или 1;

где R¹ выбирают из H или циклоалкила;

где Y выбирают из любого из (CH₂)_p, CH(R³)(CH₂)_q, (CH₂)_qCH(R³),

(CH(COR⁴))CH₂)_q, (CH₂)_qCHON или пиперидин-3-карбоновой кислоты, при условии, что, когда Y представляет (CH₂)_p и p равно 2, X отличен от C(O), или, когда X представляет C(O), то либо R¹ отличен от H, либо R² отличен от H, и при условии, что, когда Y представляет CH(CO₂R⁴)CH₂)_q, X отличен от C(O) или CH₂;

где p равно 2 или 3;

где q равно 1, 2 или 3. Предпочтительно, q равно 1;

где R³ представляет алкил, C₂-C₈-алкенил, C₂-C₈-алкинил, арил, аралкил или гетероарил;

где R⁴ представляет H или алкил или циклоалкил. Предпочтительно, R⁴ представляет водород;

где Z представляет CO₂H, CO₂-алкил, SO₃H, PO₃H₂ или 5-тетразол; при условии, что по меньшей мере один из R₅ и R₁₀ представляет водород;

или их энантиомеру или фармацевтически приемлемой соли.

Предпочтительно, группа C(O)N(R¹)YZ присоединена к углероду кольца центрального азацикла в 3- или 4-положении (4-положении, когда кольцо более чем пятичленное), и наиболее предпочтительно, в 3-положении.

Используемый здесь, если не указано иное, термин алкил и алкокси, используют ли его отдельно или как часть замещающей группы, включает неразветвленные и разветвленные цепи, имеющие 1-8 углеродов. Например, алкильные радикалы включают метил, этил, пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил, н-пентил, 3-(2-метил)бутил, 2-пентил, 2-метилбутил, неопентил, н-гексил, 2-гексил и 2-метилпентил. Алкокси-радикалы представляют кислород-простые эфиры, образованные из ранее описанных алкильных групп с неразветвленной или разветвленной цепью. Циклоалкильные группы содержат 5-8 атомов углерода в кольце и предпочтительно

6-7 атомов углерода.

Термин "арил", "гетероарил" или "замещенный гетероарил", используемый здесь отдельно или в комбинации с другими терминами, обозначает ароматические или гетероароматические группы, такие как фенил, нафтил, пиридил, тиенил, фуранил или хинолинил, где заместителем является алкильная группа. Термин "аралкил" означает алкильную группу, замещенную арильной группой.

Термин "ацил", используемый здесь, означает органический радикал, имеющий 2-6 атомов углерода, образованный из органической кислоты путем удаления гидроксильной группы.

Соединения настоящего изобретения могут присутствовать также в форме фармацевтически приемлемой соли. Фармацевтически приемлемая соль обычно имеет форму, в которой атом азота на 1-пиперидиновом (пирролидиновом, пиперазиновом) заместителе протонируется неорганической или органической кислотой. Характерные органические или неорганические кислоты включают хлористоводородную, бромистоводородную, иодистоводородную, перхлорную, серную, азотную, фосфорную, уксусную, пропионовую, гликолевую, молочную, янтарную, малеиновую, фумаровую, яблочную, винную, лимонную, бензойную, миндальную, метансульфоновую, гидроксиэтансульфоновую, бензолсульфоновую, щавелевую, памовую, 2-нафталинсульфоновую, п-толуолсульфоновую, циклогексансульфаминовую, салициловую, сахариную или трифторуксусную.

Особенно предпочтительные соединения настоящего изобретения включают те соединения, указанные в таблице I, где "Замест." обозначает положение присоединения группы C(O)N(R¹)YCO₂H к центральному азациклу и где буква "R" после цифры "3" обозначает абсолютную конфигурацию (правила Кана-Ингольда-Перлога). Те цифры, не имеющие никакой установленной конфигурации, представляют рацемические смеси.

Соединения изобретения, где R₅ представляет H, R₁₀ представляет C(O)N(R¹)YZ, M представляет (CH₂)_m и A представляет пиперидин-2-ил, пиперидин-3-ил, пиперидин-4-ил, пиперазин-1-ил, пирролидин-2-ил, пирролидин-3-ил или NHR², можно получить, как показано на схеме AA. В этой схеме аллиловый эфир нипекотиновой кислоты (либо рацемическая смесь, либо любой отдельный энантиомер) можно обработать связанной со смолы 4-пиперидинпропионовой кислотой в присутствии DIC/HOBT и третичного амина. Аллиловый эфир затем удаляют через палладий-опосредованный катализ и продолжают повторяющийся процесс азосочетания, получая конечный продукт после омыления триметилсиланолатом калия (например, соединение 1). По аналогии, соединения (соединения 2 и 3), у которых третичный амид заменен на мочевины и уретан, были получены реакцией амина

(спирта), осажденного на твердом носителе, с п-нитрофенилхлорформиадом и затем с этилникотатом (S.M. Hutchins Tetrahedron Lett. 1994, 35, 4055).

Промежуточные соединения эфиры тризамещенной 3-аминопропионовой кислоты получали с использованием модифицированной методики Кневенагеля (Knoevenagel) (Scheme AG; T. Profft, J. Prakt. Chem., 1965, 30, 18) с последующей этерификацией Фишера получаемой карбоновой кислоты (когда они коммерчески недоступны). Эти промежуточные соединения получали в энантимерно-обогащенной форме разделением (расщеплением) пенициллинамидазой рацемических фенилацетамидов, таких как промежуточный AG3 (V.A. Soloshonok, Tetrahedron: Asymmetry 1995, 6, 1601). И здесь, нежелательный R-энантиомер гидролизуют амидазой, тогда как целевой S-энантиомер сохраняет фенилацетильную группу. Разделения можно также проводить на (-)-эфедриновых солях рацемических тризамещенных 3-N-Вос-аминопропионовых кислот, как опубликовано (J.A. Zablocki, J. Med. Chem., 1995, 38, 2378). Этилникотат и этилизоникотат являются коммерчески доступными промежуточными продуктами.

Синтез 5- и 7-членных кольцевых аналогов никотамидов (4 и 17, соответственно) осуществляли синтезом в твердой фазе с использованием метилпирролидин-3-карбоксилатных и метилгексагидроазепин-3-карбоксилатных промежуточных соединений для аналогичного превращения AA2 в AA3 (схема AA). Метилпирролидин-3-карбоксилат и метилгексагидроазепин-3-карбоксилат получили, как опубликовано (H. Paroport, J. Org. Chim., 1974, 39, 893). Например, N-бензилгексагидроазепин-2-он взаимодействовал с системой диизопропиламид лития/диэтилкарбонат и этот продукт затем восстанавливали литий-алюминийгидридом, получая N-бензил-3-гидроксиметилгексагидроазепин. Бензильную группу удаляли гидрогенолизом (H_2 , Pd/C, MeOH), азот защищали (ди-трет-бутилдикарбонат/гидроксид натрия) и спирт окисляли триоксидом хрома, получая N-Вос-гексагидроазепин-3-карбоновую кислоту. Вос-группу удаляли совместно с этерификацией карбоксилата с использованием HCl/MeOH, получая метилгексагидроазепин-3-карбоксилат.

Аналоги пиперазина получали, как приводится в качестве примера в схеме AB, как опубликовано (S.G. Gilbreath, J. Am. Chem. Soc., 1988, 110, 6172). Тетразолы (13) получали из соответствующих нитрилов с использованием системы азидотриметилсилан/оксид дибутилолова, как опубликовано (схема AC; S. J. Wittenberger, J. Org. Chem., 1993, 58, 4139). И здесь, нитрильный предшественник AC2 получали стандартным сочетанием амидной связи с 3-аминопропионитрилом и восстанавливали на конечной синтетической стадии с использованием опосредованного диоксидом платины гидрирования (W.J. Hoekstra, J. Med. Chem., 1995, 38, 1582).

Аналоги N-метилпиперидина можно получить методиками на основе Fmoc синтезов пептидов в твердой фазе, как

показано на схеме AD (P. Sieber, Tetrahedron Lett. 1987, 28, 6147). Fmoc-защитные группы расщепляли с использованием 20% пиперидин/DMF, сочетания проводили с использованием DIC/NOBT/DMF и конечные продукты удаляли из смолы 95% TFA.

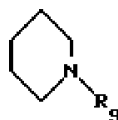
Сульфонамид 12 получали, как показано на схеме AE. Промежуточный AE1 выделяли в две стадии из 4-пиридинэтансульфоновой кислоты путем гидрирования/защиты, как описано (J. I. DeGaw, J. Heterocyclic Chem., 1966, 3, 90) и затем хлорировали с использованием стандартных условий для хлорирования тионилхлоридом (P.J. Hearst, Org. Syn. 1950, 30, 58), получая AE2. Промежуточный AE2 затем превращали в конечный продукт с использованием стандартного синтеза в фазе раствора (W.J. Hoekstra, J. Med. Chem., 1995, 38, 1582).

Пиперидинпропилникотамид 20 получали, как показано на схеме AF. Сложный эфир AF1 защищали Вос-группой с использованием стандартных Вос-ON-условий (D. S. Tarbell, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1972, 69, 730) и затем восстанавливали в его соответствующий первичный спирт системой DiBAL-H/THF (E. Winterfeldt, Synthesis 1975, 617), получая промежуточный AF2. Это соединение превращали в его соответствующий тозилат AF3 с использованием п-TsCl (L.F. Awad, Bull. Chem. Soc. Jpn., 1986, 59, 1578). Этилникотат затем алкилировали промежуточным AF3 с использованием стандартных условий (бензол/нагревание; I. Seki, Chem. Pharm. Bull. Jpn., 1970, 18, 1104).

Энантимерно обогащенный этиловый эфир (R)-(-)-никотиновой кислоты выделяли хиральным разделением рацемического материала в виде его соответствующей соли D-винной кислоты (A. M. Akkerman, Rec. Trav. Chim. Pays-Bas, 1951, 70, 899).

Особенно предпочтительные соединения настоящего изобретения включают те соединения, показанные в таблице I (и таблице II), где буква "R" после цифры "3" обозначает абсолютную конфигурацию (правила Кана-Ингольда-ПРЕЛОГА).

Антагонисты диаминопропионовые кислоты, где R_5 представляет $C(O)NHQ(CHW)_rCO_2R_8$, R_{10} представляет H, M представляет пиперидин-1-ил и A представляет



можно получить, как показано на схеме AH. Метил-N- α -Z-диаминопропионат ацилировали HBTU-активированным AN1, Z-группу удаляли гидрогенолизом для получения AN2 (для 23 Z-группу сохраняли), и затем получаемый первичный амин реагировал с требуемым изоцианатом (или алкилхлорформиадом для 24, алкилсульфонилхлоридом для 25) для получения AN3. Вос-группу промежуточного AN3 удаляли HC1 и получаемый вторичный амин ацилировали HBTU-активированным AN4 для получения AN5. Этот материал омыляли гидроксидом лития и Вос-группу удаляли HC1 для получения 22.

Антагонисты на основе бипиперидин-мочевины настоящего

изобретения можно получить, как показано на схеме AJ. Промежуточный AJ1 получали, как описано в схеме AG. AJ1 ацилировали п-нитрофенилхлорформиаом и затем давали реагировать с Вос-биперидином (для синтеза, см. W. Bondinell, заявка на патент WO 94/14776). Сложный эфир AJ2 омыляли гидроксидом лития и Вос-группу удаляли HC1 для получения 27. Промежуточные соединения замещенные пиперидинальдегиды, такие как AK2, получали восстановлением литийалюминийгидридом их соответствующих метиловых эфиров никотиновых кислот (AK1) с последующим окислением диоксидом марганца (схема AK). Альдегиды затем превращали в β-аминокислоты, как показано на схеме AG. Формамидин AL3 получали, как показано на схеме AL. Амин AL1 ацилировали этилформимидатом, как описано M.K. Scott (J. Med. Chem. , 1983, 26, 534). Сложный эфир AL2 омыляли 4NHCl (комнатная температура, 20 ч), получая 33. Антагонисты типа тризамещенных β-аминокислот были синтезированы, как показано на схеме AM. Разделенный 6-метилпиридил-β-аминоэфир ацилировали HBTU-активированным AM1 и продукт сочетания обрабатывали HC1, получая амин AM2. Амин ацилировали HBTU-активированным AM4, сложный эфир омыляли и Вос-группу удаляли при помощи HC1, получая 31.

Для получения фармацевтических композиций настоящего изобретения одно или более соединений формулы (I) или их солей изобретения в качестве активного ингредиента однородно смешивают с фармацевтическим носителем согласно обычным методикам приготовления фармацевтических средств, этот носитель может принимать большое число форм в зависимости от формы препарата, которая желательна для введения, например перорального или парентерального, такого как внутримышечное. При получении композиций в виде пероральной лекарственной формы можно применять любую из обычных фармацевтических сред. Так, для жидких пероральных препаратов, таких как, например, суспензии, эликсиры и растворы, подходящие носители и добавки включают воду, гликоли, масла, спирты, отдушки, консерванты, красители и тому подобное; для твердых пероральных препаратов, таких как, например, порошки, капсулы, каплеты, желатиновые капсулы и таблетки, подходящие носители и добавки включают крахмалы, сахара, разбавители, гранулирующие агенты, смазывающие вещества, связующие, дезинтегрирующие агенты и тому подобное. Вследствие легкости их введения таблетки и капсулы представляют наиболее благоприятные пероральные формы единичной дозы, в этих случаях очевидно, что применяют твердые фармацевтические носители. При желании, таблетки могут быть покрыты сахаром или покрыты энтеросолюбильной оболочкой с применением стандартных методик. Для парентерального введения носитель обычно включает стерильную воду, хотя могут быть включены другие ингредиенты, например, для таких целей, как способствование растворению или для консервирования. Можно также приготовить инъекционные

суспензии, в этом случае можно применять подходящие жидкие носители, суспендирующие агенты и тому подобное. Фармацевтические композиции будут содержать, на единичную дозу, например, таблетку, капсулу, порошок, инъекцию, чайную ложку и тому подобное, количество активного ингредиента, необходимое для доставки эффективной дозы, как описано выше. Фармацевтические композиции будут содержать, на единичную дозу, например, таблетку, капсулу, порошок, инъекцию, суппозиторий, чайную ложку и тому подобное, от примерно 0,03 мг до 100 мг/кг (предпочтительно, 0,1-30 мг/кг) и могут быть даны при дозе от примерно 0,1 до 300 мг/кг/день (предпочтительно 1-50 мг/кг/день). Дозировки, однако, могут меняться в зависимости от потребности пациентов, серьезности состояния, которое лечат, и используемого соединения. Можно использовать либо ежедневное введение, либо пост-периодическую дозировку.

БИОЛОГИЯ

Соединения настоящего изобретения препятствуют связыванию фибриногена с гликопротеином тромбоцитов IIb/IIIa (GPIIb/IIIa) и тем самым ингибируют агрегацию тромбоцитов. Такие соединения, следовательно, полезны при лечении тромбоцит-опосредованных тромботических нарушений, таких как артериальный и венозный тромбоз, острый инфаркт миокарда, реокклюзия после тромболитической терапии и пластической операции на сосудах и различные вазо-окклюзивные нарушения. Поскольку конечным обычным путем в нормальной агрегации тромбоцитов является связывание фибриногена с активированным, подвергнутым воздействию GPIIb/IIIa, ингибирование этого связывания представляет вполне состоятельный антитромботический подход. Рецептор активируется такими стимулами, как АДР, коллаген и тромбин, подвергающими домены связывания действию двух различных пептидных областей фибриногена: α-цепь Arg-Gly-Asp (RGD) и γ-цепь 400-411. Как показано результатами фармакологических исследований, описанных ниже, соединения настоящего изобретения проявляют способность блокировать связывание фибриногена с выделенным GPIIb/IIIa (IC₅₀ 0,0002-1,39 мкМ), ингибировать агрегацию тромбоцитов in vitro в присутствии различных стимулов тромбоцитов (0,019-65,0 мкМ против тромбина) и, следовательно, ингибировать ex vivo агрегацию тромбоцитов на моделях животных.

ИСПЫТАНИЯ НА СВЯЗЫВАНИЕ IN VITRO ОЧИЩЕННОГО В ТВЕРДОЙ ФАЗЕ ГЛИКОПРОТЕИНА IIb/IIIa

Пластину микротитратора с 96 лунками иммулон-2 (Dynatech-Immulon) покрывают 50 мкл/лунку RGD-подобным очищенным GPIIb/IIIa (эффективный диапазон 0,5-10 мкг/мл) в 10 мМ HEPES 150 мМ NaCl, 1 мМ при pH 7,4. Пластину покрывают и инкубируют в течение ночи при 4°C. Раствор GPIIb/IIIa выгружают и добавляют 150 мкл 5% BSA и инкубируют при комнатной температуре в течение 1-3 ч. Пластину промывают экстенсивно модифицированным буфером Tyrode. В лунки, которые содержат испытываемые соединения (25 мкл/лунку),

добавляют биотинилированный фибриноген (25 мкл/лунку) при удвоенной 2-х конечной концентрации. Пластины покрывают и инкубируют при комнатной температуре в течение 2-4 ч. За двадцать минут до завершения инкубации добавляют одну каплю Реагента А (набор пероксидазы из хрена ABC, Vecta Stain, Vector Laboratories, Inc.) и одну каплю Реагента В при смешивании к 5 мл модифицированной буферной смеси Tyrode и оставляют стоять. Раствор лиганда выгружают и пластину промывают (5•200 мкл/лунку) модифицированным буфером Tyrode. Добавляют реагент Vecta Stain HRP-биотин-авидин (50 мкл/лунку, как получен выше) и инкубируют при комнатной температуре в течение 15 мин. Раствор Vecta Stain выгружают и лунки промывают (5•200 мкл/лунку) модифицированным буфером Tyrode. Добавляют проявляющий буфер (10 мл 50 мМ цитрат/фосфатного буфера, pH 5,3, 6 мг о-фенилендиамина, 6 мкл 30% H₂O₂; 50 мкл/лунку) и инкубируют при комнатной температуре в течение 3-5 мин и затем добавляют 2 NH₂SO₄ (50 мкл/лунку). Считывают оптическую плотность при 490 нМ. Результаты приводятся в таблицах III и IV.

ИСПЫТАНИЕ НА ИНГИБИРОВАНИЕ IN VITRO ИНДУЦИРОВАННОЙ ТРОМБИНОМ АГРЕГАЦИИ ГЕЛЬ-ФИЛЬТРОВАННЫХ ТРОМБОЦИТОВ

Процент агрегации тромбоцитов вычисляют как увеличение в пропускании света концентрата тромбоцитов, обработанных соединением, по сравнению с концентратом контроль-обработанных тромбоцитов. Кровь человека получают от нормальных доноров без лекарственных средств в пробирки, содержащие 0,13 М цитрата натрия. Обогащенную тромбоцитами плазму (PRP) собирают центрифугированием цельной крови при 200-х г в течение 10 мин при 25°C. PRP (5 мл) гель-фильтруют через Sepharose 2B (объем слоя 50 мл) и количество тромбоцитов доводят до 2•10⁷ тромбоцитов на образец. К силицированной кювете добавляют следующие компоненты: концентрированный тромбоцитный фильтрат и буфер Tyrode (0,14 М NaCl, 0,0027 М KCl, 0,012 М NaHCO₃, 0,76 мМ Na₂HPO₄, 0,0055 М глюкозы, 2 мг/мл BSA и 5,0 мМ HEPES, pH 7,4) в количестве, равном 350 мкл, 50 мкл 20 мМ кальция и 50 мкл испытуемого соединения. Агрегацию контролируют в агрегометре BIODATA в течение 3 мин после добавления агониста (50 мкл тромбина, 1 единица/мл). Результаты приводятся в таблицах III и IV.

ИССЛЕДОВАНИЕ НА СОБАКАХ EX VIVO

Взрослых собак-дворняжек (8-13 кг) анестезировали пентобарбиталом натрия (35 мг/кг, внутривенно) и переводили на искусственное дыхание. Артериальное кровяное давление и частоту сердечных сокращений измеряли с использованием датчика давления Millar с катетером-наконечником, вставленным в бедренную артерию. Другой датчик Millar помещали в левый желудочек (LV) через сонную артерию для измерения конечного диастолического давления LV и показателей сократимости сердечной мышцы. Электрокардиограмму в отведении II регистрировали из электродов для

конечностей. Катетеры помещали в бедренную артерию и вену для взятия проб крови и инфузионного введения лекарственных средств, соответственно. Реакции непрерывно регистрировали с использованием системы Modular Instruments data acquisition system.

Пробы артериальной крови (5-9 мл) отбирали в пробирки, содержащие 3,8% цитрата натрия для получения плазмы, обогащенной тромбоцитами (PRP), и определения влияния на параметры коагуляции; протромбиновое время (PT) и активированное парциальное тромбопластиновое время (APPT). Отдельные пробы крови (1,5 мл) были отобраны в EDTA (этилендиаминтетрауксусная кислота) для определения гематокрита и количества клеток (тромбоцитов, RBC и лейкоцитов). Темплатное время кровотечения определяли на внутриротовой поверхности с использованием устройства для рассечения symplate и фильтровальной бумаги Whatman.

Агрегацию PRP проводили с использованием агрегометра BioData. Для агрегации цельной крови использовали агрегометр Chronolog impedance. PT и APTT определяли на анализаторе коагуляции либо BioData, либо ACL 3000+. Клетки подсчитывали при помощи Sysmex K-1000.

Соединения растворяли в небольшом объеме диметилформамида (DMF) и разбавляли солевым раствором до конечной концентрации 10% DMF. Соединения вводили внутривенным путем инфузионным насосом Harvard. Дозы вводили на протяжении интервала 15 мин при постоянной скорости 0,33 мл/мин. Данные получали после каждой дозы и с интервалами 30 мин после конца введения лекарственного средства. Пероральные дозы вводили в виде водных растворов через шприц.

Соединения вызывали заметное ингибирование реакций агрегации тромбоцитов ex vivo. Так, в цельной крови соединения ингибировали коллаген-стимулированную (или ADP) агрегацию в дозах 0,1-10 мг/кг с заметным ингибированием коллаген-стимулированного выделения АТФ тромбоцитов. В PRP соединения также ингибировали стимулированную коллагеном агрегацию тромбоцитов с заметной активностью при 0,1-10 мг/кг. Соединения не имели измеримого гемодинамического действия при дозах вплоть до 1 мг/кг, внутривенно. Лекарственные средства вызывают повышение в темплатном времени кровотечения при 0,1-1 мг/кг с быстрым восстановлением после обработки. Никакого влияния на коагуляцию (PT и APTT) не наблюдали во время обработки, и числа тромбоцитов, лейкоцитов и RBC не изменялись при любой дозе соединений.

Результаты показывают, что соединения являются широко эффективными ингибиторами агрегации тромбоцитов ex vivo (антагонизируя как коллагеновый, так и ADP пути) после внутривенного введения доз, в интервале от 0,1 до 1 мг/кг, или 1-10 мг/кг перорально (таблицы V и VI). Антиагрегирующие действия сопровождалось повышениями времени кровотечения при более высоких дозах. Никакие другие

гемодинамические или гематологические эффекты не наблюдались.

Соединения 16 и 18 проявляли эффективность в модели тромбоза с использованием артериовенозного шунтирования собак в доза-зависимом способе (способ описан в "Производные никотиновой кислоты в качестве антитромботических соединений", серийный заявки 08/213772, поданной 16 марта 1994). Например, соединения 16 ингибируют образование тромба при кумулятивных дозах 10, 30 и 100 мкг/кг/мин, введенных внутривенной инфузией (75%, 37%, 12% веса тромба относительно контроля с носителем соответственно). Соединение 18 ингибирует образование тромба при кумулятивных дозах 3, 10 и 30 мкг/кг/мин, введенных внутривенной инфузией (82%, 41%, 12% веса тромба относительно контроля с носителем соответственно).

Примеры

Защищенные аминокислоты были приобретены у Aldrich Chemical или Bachem Bioscience Inc. 2-Хлортритиловую смолу и смолу Wang получали от Novabiochem Corp. Энантиомерно-обогащенные этиловые эфиры циклоалкилиден-3-карбоновых кислот выделяли хиральным разделением рацемического материала, как опубликовано (A. M. Akkerman, Rec. Trav. Chim. Pays-Bas, 1951, 70, 899). Все другие химикаты были приобретены у Aldrich Chemical Company, Inc. Конечные продукты, кислотно-аддитивные соли, можно превратить в свободные основания основной ионнообменной хроматографией. Спектры высокополевого ^1H ЯМР регистрировали на спектрометре Bruker AC-360 при 360 МГц, константы взаимодействия даются в Герцах. Точки плавления определяли на устройстве для измерения точки плавления Mel-Temp II и не корректировали. Микроанализы проводили в Robertson Microlit Laboratories, Inc., Madison, New Jersey. В тех случаях, когда продукт получали в виде соли, свободное основание получали методами, известными специалистам в данной области, например основной ионнообменной очисткой. В примерах и на тексте описания следующие аббревиатуры имеют значения, перечисленные ниже:

Bn или Bzl = Бензил

Boc = трет-Бутоксикарбонил

Boc-ON =

2-(трет-Бутоксикарбонилоксиимино)-2-фенилацетонитрил

BOP-C1 = Хлорангидрид бис(2-оксо-3-оксазолидинил)фосфиновой кислоты

CP = соединение

DCE = 1,2-Дихлорэтан

DCM = Дихлорметан

DIBAL-H = Диизобутилалюминийгидрид

DIC = Диизопропилкарбодиимид

DIEA = Диизопропилэтиламин

DMAP = 4-Диметиламинопиридин

DMF = N,N-Диметилформамид

EDC =

Этилдиметиламинопропилкарбодиимид

EDTA = Этилендиаминтетрауксусная кислота

Et₂O = Простой эфир

HBTU = Гексафторфосфат

2-(1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилу

рония

HOBT = Гидроксibenзотриазол

i-Pr = Изопропил

KOTMS = Триметилсиланолат калия

NMM = N-Метилморфолин

Nip = Нипекотил (если не оговорено особо, рацемический в 3-положении)

NT = не испытывали

PPT = осадок

PTSA = п-Толуолсульфоновая кислота

KT = комнатная температура

TFA = Трифторуксусная кислота

TMSN₃ = Азидотриметилсилан

Z = Бензилоксикарбонил

Аллил-3-(4-пиперидин)пропионат • HCl (предшественник АД1)

К смеси 3-(4-пиридин)акриловой кислоты (10,0 г, 0,066 моль) и водного HCl (2,0 N, 50 мл) в атмосфере азота добавляли оксид платины (IV) (0,54 г). Эту смесь гидрируют при 3,515 ат (50 psi) при КТ в течение 21 ч, фильтруют через целит (Celite) и выпаривают, получая 3-(4-пиперидин)пропионовую кислоту • HCl в виде белого порошка (12,9 г, 99%). Этот порошок обрабатывают аллиловым спиртом (50 мл) и нагревают при 50°C в течение 2 ч. Этот раствор охлаждают до КТ, выпаривают приблизительно до объема 10 мл и разбавляют Et₂O (250 мл). Получаемый осадок собирают и промывают Et₂O, получая белый порошок (14,5 г, 94%):

^1H NMR (DMSO-d₆) δ 8.7-9.1 (m, 2 H), 5.9 (m, 1 H), 5.25 (d, J=7.15, 2 H), 4.53 (d, J=4, 2 H), 3.21 (d, J=8, 2 H), 2.74 (t, J=7, 2 H), 2.35 (t, J=4, 2 H), 1.72 (d, J=8, 2 H), 1.5 (m, 3 H), 1.3 (m, 2 H); MS m/e 198 (M⁺).

Метил-(S)-3-амино-3-(3-пиридил)пропионат • 2HCl (AG5)

Промежуточный фенилацетамид AG3 получают с использованием стандартных методов, как показано на схеме AG (E. Proff, J. Pract. Chem., 1965, 30, 18). Смесь AG1 (0,47 моль), EtOH (100 мл), NH₄OAc (0,47 моль) и малоновой кислоты (0,70 моль) нагревают при кипячении с обратным холодильником в течение 6 ч, охлаждают и фильтруют. Белый твердый продукт промывают EtOH и MeOH и сушат. Этот твердый продукт растворяют в смеси 2:1 ацетон/вода (360 мл), обрабатывают триэтиламино (0,72 моль) и фенилацетилхлоридом (0,36 моль) и перемешивают в течение 22 ч. Смесь выпаривают и остаток растворяют в воде (500 мл) и pH устанавливают до 12 (IN NaOH). pH водного слоя устанавливают до 2 (концентр. HCl), экстрагируют Et₂O и выпаривают до получения белой пены. Пену очищают хроматографией на силикагеле (10% MeOH/DCM), получая AG3. pH раствора соединения AG3 (0,22 моль) в воде (600 мл) при КТ устанавливают до 7,5 с использованием KOH (3,0 N) и раствор обрабатывают пенициллинамидазой (91520 единиц, Sigma). Эту смесь перемешивают в течение 47 г, подкисляют до pH 1 при помощи HCl (концентр.) и получаемый осадок фильтруют через целит. Фильтрат экстрагируют Et₂O (3•300 мл), концентрируют в вакууме и обрабатывают MeOH/концентр. NH₄OH (9: 1). Этот содержащий продукт раствор очищают хроматографией на

силикагеле (элюент DCM/MeOH/NH₄OH, 78:18:4), получая аммониевую соль (S)-3-фенилацетида-3-(3-пиридил)пропионой кислоты (19,5 г, 58%). Этот продукт обрабатывают CH₂Cl₂ (6,0 N, 292 мл), нагревают при кипячении с обратным холодильником в течение 5 ч, охлаждают до КТ и экстрагируют Et₂O (3•200 мл). pH водного слоя устанавливают до pH 12, концентрируют в вакууме и получаемый твердый продукт растирают с MeOH (2•300 мл). Этот раствор выпаривают, получая приблизительно 14 г натриевой соли. Этот материал обрабатывают MeOH (500 мл), 2,2-диметоксипропаном (44 мл) и HCl (4 N в диоксане, 84 мл) и перемешивают в течение 90 ч при КТ. Эту смесь фильтруют и фильтрат концентрируют в вакууме. Получаемый не совсем белый твердый продукт растирают с Et₂O (2•150 мл) и сушат, получая соединение AG5 (16,7 г, 96% энантиомерного избытка, ee) в виде белого, аморфного твердого продукта.

Пример 1

N-3-(4-Пиперидинпропионил)нипекотил-(3-амино-3-фенил)пропионовая кислота • TFA (1)

В спекшийся стеклянный сосуд на 25 мл в атмосфере азота загружают 2-хлортритилхлоридную смолу (0,24 г, 0,36 ммоль, Novabiochem) и DMF (5 мл). Смолу перемешивают в

атмосфере азота в течение 5 мин для набухания и DMF удаляют. Смолу последовательно обрабатывают DMF (5 мл), DIEA (0,31 мл, 5 экв.) и аллил-3-(4-пиперидин)пропионат•HCl (0,20 г, 2,4 экв.) и перемешивают в течение 8 ч. Получаемый темно-зеленый раствор удаляют и смолу промывают DMF (3•5), водным DMF (25%, 3•5 мл), THF (3•5 мл), DCM (3•5 мл) и Et₂O (5 мл). Смоле дают набухать в DCE (5 мл) и обрабатывают смесью гидрата фторида тетрабутиламмония (0,28 г, 3 экв.), азидотриметилсилана (0,38 мл, 10 экв.), тетракис(трифенилфосфин)палладия (0,084 г, 20 мол.%) и DCE (5 мл). Смолу перемешивают в течение 15 ч и оранжевый раствор удаляют. Смолу промывают DCM (3•5 мл), DMF (3•5 мл), THF (3•5 мл), THF (3•5 мл) и Et₂O (5 мл). Смоле дают набухать в DMF (5 мл) и обрабатывают DIEA (0,18 мл, 3 экв.), аллилнипекотат • HCl (0,17 г, 3 экв.), DIC (0,17 мл, 3 экв.) и HOBT (1 мг). Смолу перемешивают в течение 15 ч и затем реакционный раствор удаляют. Смолу промывают DMF (3•5 мл), водным DMF (25%, 3•5 мл), THF (3•5 мл), DCM (3•5 мл) и Et₂O (5 мл). Смоле дают набухать в DCE (5 мл) и обрабатывают смесью гидрата фторида тетрабутиламмония (0,28 г, 3 экв.), азидотриметилсилана (0,38 мл, 10 экв.), тетракис(трифенилфосфин)палладия (0,084 г, 20 мол.%) и DCE (5 мл). Смолу перемешивают в течение 15 ч и оранжевый раствор удаляют. Смолу промывают DCM (3•5 мл), DMF (3•5 мл), THF (3•5 мл) и Et₂O (5 мл). Смоле дают набухать в DMF (5 мл) и обрабатывают DIEA (0,18 мл, 3 экв.), метил-D,L-3-амино-3-фенилпропионат • HCl (0,23 г, 3 экв.), DIC (0,17 мл, 3 экв.) и HOBT (1 мг). Смолу перемешивают в течение 17 ч и затем реакционный раствор удаляют. Смолу промывают DMF (3•5 мл), водным DMF

(25%, 3•5 мл), THF (3•5 мл), DCM (3•5 мл) и Et₂O (5 мл). Смоле дают набухать в THF (5 мл) и обрабатывают раствором KOTMS (0,23 г, 10 экв.) и THF (2 мл). Смолу перемешивают в течение 18 ч и затем реакционный раствор удаляют. Смолу промывают DMF (3•5 мл), смесью уксусная кислота/THF (1:1, два раза), водным DMF (25%, 3•5 мл), THF (3•5 мл), DCM (3•5 мл) и Et₂O (5 мл). Смолу обрабатывают TFA/DCM (1:1, 10 мл), перемешивают в течение 15 мин и получаемый красный раствор собирают. Этот раствор выпаривают и получаемое масло растирают с Et₂O (3•5 мл) и сушат, получая соединение 1 в виде прозрачного стекла (0,11 г):

¹H NMR (DMSO-d₆) δ 8.6 (m, 1 H), 8.42 (d, J=7, 1 H), 8.2 (m, 1 H); 7.3 (m, 3 H), 7.2 (m, 2 H), 5.18 (d, J=6, 1 H), 4.3 (m, 1 H), 3.7 (m, 1 H), 3.2 (m, 3 H), 2.8 (m, 2 H), 2.6 (m, 2 H), 2.3 (m, 5 H), 1.1-1.9 (m, 11 H); MS m/e 416 (MH⁺).

С использованием той же общей методики синтеза в твердой фазе, как описано в примере 1, соединения указанных примеров получали по схеме AA, как описано в конкретном примере.

Пример 2

N-(4-Пиперидинметиламинокарбонил)нипекотил-(3-амино-2-метил)-пропионовая кислота • TFA (2)

Соединение 2 получают, как показано на схеме AA. Связанному смолу 4-пиперидинметиламину (0,36 ммоль) дают набухать в DCE (5 мл), обрабатывают п-нитрофенилхлорформиадом (0,36 ммоль) и DIEA (0,36 ммоль), перемешивают в течение 1 ч, и растворитель удаляют. Смолу промывают (см. пример 1), дают ей набухать в DCE (5 мл), обрабатывают солью аллилнипекотат • HCl (0,36 ммоль) и DIEA (0,72 ммоль) и перемешивают в течение 16 ч. Растворитель удаляют, смолу промывают (см. пример 1) и аллиловый эфир расщепляют до соответствующей кислоты (см. пример 1). Смоле дают набухать в DMF (5 мл), кислоту сочетают с метил-3-амино-2-метилпропионатом (0,36 ммоль) и синтез завершают, как показано в примере 1. Соединение 2 выделяют в виде прозрачного стекла (0,11 г):

¹H NMR (CD₃OD) δ 3.9 (m, 2 H); 3.2 (m, 4 H), 3.10 (d, J=7, 2 H), 2.9 (m, 3H), 2.6 (m, 2 H), 2.3 (m, 1 H), 1.9 (m, 4 H), 1.7-1.9 (m, 5 H), 1.3-1.5 (m, 5 H), 1.11 (d, J=7, 3 H); MS m/e 356 (MH⁺).

Пример 3

α-Метилловый эфир N-(4-пиперидинметилоксикарбонил)нипекотил-D-аспарагиновой кислоты • TFA (3)

Соединение 3 получают, как показано на схеме AA. Связанному смолу 4-пиперидинметанолу (0,36 ммоль) дают набухать в DCE (5 мл), обрабатывают п-нитрофенилхлорформиадом (0,36 ммоль) и DIEA (0,36 ммоль), перемешивают в течение 1 ч, и растворитель удаляют. Смолу промывают (см. пример 1), дают набухать в DCE (5 мл), обрабатывают аллилнипекотат • HCl (0,36 ммоль) и DIEA (0,72 ммоль) и перемешивают в течение 16 ч. Растворитель удаляют, смолу промывают (см. пример 1) и аллиловый эфир расщепляют до

соответствующей кислоты (см. пример 1). Смоле дают набухать в DMF (5 мл), кислоту сочетают с H-D-Asp(OBn)-Оме (0,36 ммоль) и синтез завершают, как показано в примере 1. Соединение 3 выделяют в виде желтого стекла (0,019 г):

^1H NMR (CD_3OD) δ 4.8 (m, 2 H), 3.9 (m, 3 H), 3.70 (d, J=9, 4 H), 3.39 (s, 3 H), 3.3 (m, 2 H), 2.9 (m, 4 H), 2.8 (m, 2 H), 1.9 (m, 4 H), 1.7 (m, 2 H), 1.4 (m, 4 H); MS m/e 400 (MH^+).

Пример 4

N-3-(4-Пиперидинпропионил)пирролидин-3-карбокси-[3-амино-3-(4-толил)] пропионовая кислота • TFA (4)

Соединение 3 получают, как показано на схеме AA. Промежуточному AA2 (0,36 ммоль) дают набухать в DCE (5 мл), обрабатывают метилпирролидин-3-карбоксилат • HCl (0,36 ммоль), DIC (0,72 ммоль) и DIEA (0,72 ммоль) и перемешивают в течение 16 ч. Растворитель удаляют, смолу промывают (см. пример 1) и метиловый эфир расщепляют до соответствующей кислоты при помощи KOTMS (см. пример 1). Смоле дают набухать в DMF (5 мл), кислоту сочетают с метил-3-амино-3-(4-толил)пропионатом (0,36 ммоль) и затем синтез завершают, как показано в примере 1. Соединение 4 выделяют в виде прозрачного стекла (0,081 г):

^1H NMR (CD_3OD) δ 7.19 (d, J=5, 2 H), 7.10 (d, J=5, 2 H), 5.31 (dd, J= 3,10; 1 H) 3.6 (m, 4 H), 3.3 (m, 2 H), 2.9 (m, 4 H), 2.7 (m, 2 H), 2-3 (m, 2 H), 2.1 (m, 3 H), 1.9 (m, 4 H), 1.6 (m, 4 H), 1.3 (m, 4 H); MS m/e 416 (MH^+).

Пример 5

N-3-(4-Пиперидинпропионил)изонипекотил -(3-амино-3-метил)пропионовая кислота • TFA (5)

Соединение 5 получают, как показано на схеме AA. Промежуточному AA2 (0,36 ммоль) дают набухать в OCE (5 мл), обрабатывают этилизонипекотатом (0,36 ммоль), DIC (0,72 ммоль) и DIEA (0,72 ммоль) и перемешивают в течение 16 ч. растворитель удаляют, смолу промывают (см. пример 1) и этиловый эфир расщепляют до соответствующей кислоты при помощи KOTMS (см. пример 1). Смоле дают набухать в DMF (5 мл), кислоту сочетают с метил-3-амино-3-метилпропионатом (0,36 ммоль) и затем синтез завершают, как показано в примере 1. Соединение 5 выделяют в виде рыжевато-коричневого стекла (0,033 г):

^1H NMR (CD_3OD) δ 4.5 (m, 1 H), 4.2 (m, 1 H), 3.9 (m, 1 H), 3.3 (m, 2 H), 3.3 (m, 3 H) 3.1 (m, 1 H), 2.9 (m, 3 H), 2.7 (m, 2 H), 2.4 (m, 2 H), 2.0 (m, 2 H), 1.7 (m, 2 H) 1.5 (m, 6 H), 1.3 (m, 2 H), 1.15 (d, J=9, 3 H); MS m/e 354 (MH^+).

Пример 6

N-3-(4-Пиперидинпропионил)изонипекотил -[3-амино-3-(4-карбоксифенил)пропионовая кислота • TFA (6)

Соединение 6 получают, как показано на схеме AA. Промежуточному AA2 (0,36 ммоль) дают набухать в DCE (5 мл), обрабатывают этилизонипекотатом (0,36 ммоль), DIC (0,72 ммоль) и DIEA (0,72 ммоль) и перемешивают в течение 16 ч, растворитель удаляют, смолу промывают (см. пример 1) и этиловый эфир расщепляют до соответствующей кислоты

KOTMS (см. пример 1). Смоле дают набухать в DMF (5 мл), кислоту сочетают с метил-3-амино-3-(4-карбоксиметилфенил)пропионатом (0,36 ммоль) и затем синтез завершают, как показано в примере 1. Соединение 6 выделяют в виде рыжевато-коричневого стекла (0,034 г):

^1H NMR (CD_3OD) δ 7.9 (m, 3 H), 7.43 (d, J = 5, 2 H), 5.4 (m, 1 H), 4.5 (m, 1 H), 4.0 (m, 1 H), 3.3 (m, 4 H), 3.1 (m, 1 H), 2.9 (m, 2 H), 2.7 (m, 2 H), 2.7 (m, 1 H), 2.5 (m, 4 H), 2.0 (m, 2 H), 1.2-1.9 (m, 10 H); MS m/e 460 (MH^+).

Пример 7

N-3-(4-N-Метилпиперидинпропионил)нипекотил-3-аминопропионовая кислота • TFA (7)

Соединение 7 получают, как показано на схеме AD. Связанный смолой Fmos- β -Ala (1 ммоль) обрабатывают смесью 20% пиперидин/DMF (10 мл), перемешивают в течение 2 ч, и растворитель удаляют. Смолу промывают DMF, дают набухать в DMF (10 мл) и обрабатывают Fmos-нипекотиновой кислотой (1 ммоль), DIC (2 ммоль) и DIEA (1 ммоль). Смолу перемешивают в течение 16 ч, растворитель удаляют и смолу промывают DMF и DCM. Смолу промывают смесью 20% пиперидин/DMF (10 мл) в течение 2 ч, растворитель удаляют и смолу промывают DMF. Смоле дают набухать в DMF (10 мл), обрабатывают

4-N-метилпиперидинпропионовой кислотой (1 ммоль), DIC (2 ммоль) и DIEA (1 ммоль) и перемешивают в течение 16 ч. Растворитель удаляют и смолу промывают DMF и DCM. Смолу расщепляют 95% TFA (10 мл) и TFA выпаривают, получая 7 в виде белого порошка (0,26 г): т.пл. 172-177°C;

^1H NMR (CDCl_3) δ 4.4 (m, 1 H), 3.7 (m, 1 H), 3.4 (m, 1 H), 3.2 (m, 1 H), 3.1 (m, 1 H), 2.7 (m, 2 H), 2.3 (m, 6 H), 2.21 (s, 3 H), 1.9 (m, 4 H), 1.3-1.8 (m, 10 H); MS m/e 354 (MH^+).

Пример 8

N-3-(4-Пиперидинпропионил)нипеколит-4-оксонипекотиновая кислота • TFA (8)

Соединение 8 получают, как показано на схеме AA. Промежуточному AA2 (0,36 ммоль) дают набухать в DCE (5 мл), обрабатывают этилнпекотатом (0,36 ммоль), DIC (0,72 ммоль) и DIEA (0,72 ммоль) и перемешивают в течение 16 ч. Растворитель удаляют, смолу промывают (см. пример 1) и этиловый эфир расщепляют до соответствующей кислоты KOTMS (см. пример 1). Смоле дают набухать в DMF (5 мл), кислоту сочетают с метил-4-оксонипекотатом (0,36 ммоль) и затем синтез завершают, как показано в примере 1. Соединение 8 выделяют в виде прозрачного стекла (0,04 г):

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.5 (m, 1 H), 8.2 (m, 1 H), 6.5 (m, 1 H), 4.3 (m, 1 H), 3.4 -3.8 (m 4 H), 3.2 (m, 2 H), 3.0 (m, 1 H), 2.8 (m, 2 H), 2.2-2.6 (m, 6 H), 1.8 (m, 2 H) 1.1-1.7 (m, 11 H); MS m/e 394 (MH^+).

Пример 9

N-3-(4-Пиперидинпропионил)нипекотил-[3-амино-3-(2-триметилсилилэтинил)]пропионовая кислота • TFA (9)

Соединение 9 получают, как показано на схеме AA. Промежуточному AA2 (0,36 ммоль) дают набухать в DCE (5 мл), обрабатывают этилнпекотатом (0,36 ммоль), DIC (0,72

ммоль) и DIEA (0,72 ммоль) и перемешивают в течение 16 ч. Растворитель удаляют, смолу промывают (см. пример 1) и этиловый эфир расщепляют до соответствующей кислоты KOTMS (см. пример 1). Смоле дают набухать в DMF (5 мл), кислоту сочетают с метил-3-амино-3-(2-триметилсилилэтинил)пропионатом (для получения см. J. Zablocki, J. Med. Chem., 1995, 38, 2378; 0,36 ммоль) и затем синтез завершают, как показано в примере 1. Соединение 9 выделяют в виде желтого стекла (0,12 г):

^1H NMR (CD_3OD) δ 3.8 (m, 1 H), 3.2-3.4 (m, 4 H), 2.9 (m, 3 H), 2.7 (m, 2 H), 2.3-2.5 (m, 2 H), 1.9 (m, 4 H), 1.1-1.9 (m, 13 H), 0.0 (s, 9 H); MS m/e 436 (MH^+).

Пример 10

N-(6-Аминокапроил)нипекотил-3-амино-3-(3-пиридил)пропионовая кислота • 3TFA (10)

Соединение 10 получают, как показано на схеме AA. Связанной смолой 6-аминокапроновой кислоте (0,36 ммоль) дают набухать в DCT (5 мл), обрабатывают этилнпекотатом (0,36 ммоль), DIC (0,72 ммоль) и DIEA (0,72 ммоль) и перемешивают в течение 16 ч. Растворитель удаляют, смолу промывают (см. пример 1) и этиловый эфир расщепляют до соответствующей кислоты при помощи KOTOMS (см. пример 1). Смоле дают набухать в DMF (5 мл), кислоту сочетают с метил-3-амино-3-(3-пиридил)пропионатом (0,36 ммоль) и затем синтез завершают, как показано в примере 1. Соединение 10 выделяют в виде прозрачного стекла (0,008 г):

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.6 (m, 2 H), 8.1 (s, 1 H), 7.0-7.7 (m, 5 H), 5.15 (t, J=3, 1 H), 4.4 (m, 1 H), 4.1 (m, 1 H), 3.7 (m, 2 H), 3.1 (m, 1 H), 2.7 (m, 4 H), 2.5 (m, 1 H), 2.3 (m, 2 H), 1.2-1.9 (m, 11 H); MS m/e 391 (MH^+).

Анализ. Вычислено для $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_4 \bullet 3 \text{ TFA} \bullet 2\text{H}_2\text{O}$ (768,60): C 40,63; H 4,85; N 7,29; F 22,25. Найдено: C 40,81; H 4,70; N 6,12; F 23,83.

Пример 11

N-3-(4-Пиперидинпропионил)-R(-)-нипекотил-(3-амино-2-гидроксипропионовая кислота • TFA (11)

Соединение 11 получают, как показано на схеме AA. Промежуточному AA2 (0,36 ммоль) дают набухать в OCE (5 мл), обрабатывают этил-R-нипекотатом (0,36 ммоль), DIC (0,72 ммоль) и DIEA (0,72 ммоль) и перемешивают в течение 16 ч. Растворитель удаляют, смолу промывают (см. пример 1) и этиловый эфир расщепляют до соответствующей кислоты при помощи KOTOMS (см. пример 1). Смоле дают набухать в DMF (5 мл), кислоту сочетают с метил-3-амино-2-гидроксипропионатом (0,36 ммоль) и затем синтез завершают, как показано в примере 1. Соединение 11 выделяют в виде розового стекла (0,05 г):

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.5 (m, 1 H), 8.2 (m, 1 H), 7.8 (m, 1 H), 4.0-4.4 (m, 2 H), 3.7 (m, 1 H), 3.2 (m, 3 H), 2.8 (m, 3 H), 2.6 (m, 1 H), 2.1-2.3 (m, 3 H), 1.8 (m, 4 H), 1.0-1.4 (m, 10 H); MS m/e 358 (MH^+).

Пример 12

N-3-(4-Пиперидинэтансульфонил)нипекотил-3-аминопропионовая кислота • HCl (12)

Соединение 12 получали, как показано на схеме AE. Промежуточный AE1 синтезируют следующей методикой.

2-(4-Пиридин)-этансульфовую кислоту (3,0 г, 0,016 моль) растворяют в водной HCl (2,0 N, 12 мл) и этот раствор обрабатывают диоксидом платины (0,13 г) и гидрируют при 3,515 ат (50 psi) при КТ в течение 18 ч. Смесь фильтруют через целит и выпаривают, получая 2-(4-пиперидин)этансульфовую кислоту • HCl (3,5 г, белый порошок). Этот порошок растворяют в водном THF (1:1, 70 мл) при КТ и обрабатывают NMM (3,7 мл, 2,2 экв.) и бензилхлорформиатом (2,2 мл, 1 экв.). Эту смесь перемешивают в течение 15 ч, подкисляют водной лимонной кислотой и экстрагируют CHCl_3 (2•100 мл). Органический слой сушат Na_2SO_4 и выпаривают, получая 2-(4-N-Z-пиперидин)этансульфовую кислоту (2,75 г, золотистое масло). Это масло превращают в конечный продукт 12 в пять синтетических стадий (схема AE, W.J. Hoekstra, J. Med. Chem., 1995, 38, 1582) и выделяют в виде прозрачного стекла (0,060 г):

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.9 (m, 1 H), 8.6 (m, 1 H), 3.5 (m, 2 H), 3.1-3.3 (m, 4 H), 3.0 (m, 2 H), 2.6-2.8 (m, 4 H), 2.3 (m, 3 H), 1.65-1.9 (m, 5 H), 1.6 (m, 3 H), 1.2-1.4 (m, 5 H); MS m/e 376 (MH^+).

Пример 13

N-3-(4-Пиперидинпропионил)нипекотил-5H-(2-аминоэтил)тетразол • HCl (13)

Соединение 13 получают, как показано в схеме AC. Промежуточный AC1 (получен, как в W.J. Hoekstra, J. Med. Chem., 1995, 38, 1582; 1,9 ммоль) растворяют в DCM (50 мл) и обрабатывают BOP-Cl (1,9 ммоль), NMM (1,9 ммоль) и 3-аминопропионитрилом (1,9 ммоль). Реакционную смесь перемешивают в течение 18 ч, разбавляют насыщенным NH_4Cl и слои разделяют. Органический слой выпаривают и продукт очищают хроматографией на силикагеле (10% EtOH/DCM), получая масло. Масло растворяют в толуоле (10 мл), обрабатывают азидотриметилсианом (2,4 ммоль) и оксидом дибутилолова (1,2 ммоль) и нагревают при кипении с обратным холодильником в течение 16 ч. Охлаждение дает коричневый осадок, который растирают с Et_2O . Этот твердый продукт гидрируют над диоксидом платины (0,08 г) в MeOH (12 мл) при 3,515 ат (50 psi) в течение 15 ч, фильтруют и выпаривают, получая 13 в виде желтой пены (0,065 г):

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.9 (m, 1 H), 8.6 (m, 1 H), 8.13 (d, J=28, 1 H), 4.2 (m, 2 H), 3.2 (m, 3 H), 3.0 (m, 4 H), 2.7 (m, 4 H), 2.31 (q, J=8, 2 H), 1.7-1.9 (m, 3 H), 1.4-1.6 (m, 5 H), 1.1-1.3 (m, 4 H); MS m/e 364 (MH^+).

Пример 14

N-3-(4-N-Метилпиперазинпропионил)нипекотил-[3-амино-3-(3,4-метилendioксифенил)]пропионовая кислота • Na (14)

Соединение 14 получают, как показано на схеме AB. Этилнпекотат (3 ммоль) растворяют в DCM (50 мл), обрабатывают акрилоилхлоридом (3 ммоль) и NMM (3 ммоль) и перемешивают в течение 1 ч. Растворитель выпаривают, и остаток растворяют в EtOH (50 мл) и обрабатывают N-метилпиперазином (3 ммоль). Раствор нагревают при 60°C в течение 15 ч, охлаждают до КТ, и растворитель выпаривают. Остаток распределяют между

DCM (100 мл) и водой (10 мл) и слои разделяют. Органический слой сушат и выпаривают, получая пену. Пену растворяют в воде, обрабатывают NaOH (3 ммоль), перемешивают в течение 1 ч и выпаривают, получая АВЗ-На. Этот синтез завершают, как иллюстрировано (W.J. Hoekstra, J. Med. Chem., 1995, 38, 1582), с использованием метил-3-амино-3-(3,4-метилendioксифенил)пропионата (2,5 ммоль), получая 14 в виде белого аморфного твердого продукта (0,14 г):

$^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 6.8 (m, 3 H), 5.91 (s, 2 H), 5.0 (m, 1 H), 4.0 (m, 1 H); 3.7 (m, 1 H), 2.8-3.4 (m, 11 H), 2.69 (s, 3 H), 2.4-2.6 (m, 7 H), 1.9 (m, 1 H), 1.7 (m, 2 H), 1.5 (m, 1 H); MS m/e 475 (MH^+).

Анализ. Вычислено для

$\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}_6 \cdot \text{Na} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (514,56): C 56,02; H 6,86; N 10,89. Найдено: C 55,72; H 6,78; N 10,52.

Пример 15

N-3-(4-N-Метилпиперазинпропионил)-нипекотил-[3-амино-3-(3-хинолинил)] пропионовая кислота • 3TFA (15)

Соединение 15 получают, как описано в примере 14. Синтез завершают, как иллюстрировано (W.J. Hoekstra, J. Med. Chem., 1995, 38, 1582), с использованием метил-3-амино-3-(3-хинолинил)пропионата (6 ммоль) с АВЗ. Соединение 15 выделяют в виде желтого порошка (1,89 г):

$^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.94 (s, 1 H), 8.12 (s, 1 H), 7.9 (m, 2 H), 7.6 (m, 2 H), 7.07 (d, J=4, 1 H), 5.2 (m, 1 H), 4.1 (m, 1 H), 3.7 (m, 1 H), 3.1-3.3 (m, 2 H), 2.9 (m, 2 H), 2.6 (m, 2 H), 2.43 (s, 3 H), 1.9-2.4 (m, 12 H), 1.2-1.5 (m, 4 H); MS m/e 482 (MH^+).

Пример 16

N-3-(4-Пиперидинпропионил)-R-(-)-нипекотил-[(S)-3-амино-3-(3,4-Пиперидинпропионил)-R-(-)-нипекотил-[(S)-3-амино-3-(3,4-метилendioксифенил)] пропионовая кислота • HCl (16)

К охлажденному (5°C) раствору Вос-R-нипекотиновой кислоты (9 ммоль) и метил-(S)-3-амино-3-(3,4-метилendioксифенил)пропионата (см. пример AG5; 9 ммоль) в MeCN (100 мл) добавляют HBTU (9 ммоль), HOBT (9 ммоль) и NMM (18 ммоль). Эту смесь перемешивают в течение 15 ч, разбавляют водой (10 мл) и выпаривают. Остаток разбавляют EtOAc (100 мл) и органический слой сушат и выпаривают, получая белую пену. Пену обрабатывают HCl (2 N в диоксане, 20 мл), перемешивают в течение 3 ч и выпаривают до пены. Пену растворяют в MeCN (100 мл) и обрабатывают Вос-пиперидинпропионовой кислотой (7 ммоль), HBTU (7 ммоль), HOBT (7 ммоль) и NMM (14 ммоль) с перемешиванием в течение 6 ч. Смесь разбавляют водой (10 мл), выпаривают и разбавляют EtOAc (100 мл). Органический слой сушат, выпаривают и очищают хроматографией на силикагеле (7% EtOH/DCM), получая пену. К раствору, пены (4,6 моль) в THF, охлажденному на ледяной бане, по каплям добавляют LiOH • H_2O (6,9 ммоль, растворенный в 30 мл воды). Эту смесь перемешивают в течение 1,5 ч, подкисляют AcOH (1,7 мл) и нагревают до КТ. Раствор разбавляют CHCl_3 (75 мл), и слои разделяют. Органический слой сушат (Na_2SO_4) и выпаривают, получая белую пену.

Пену растворяют в диоксане (20 мл) и анизоле (0,3 мл), охлаждают на ледяной бане, обрабатывают HCl (15 мл, 4,0 N в диоксане) и перемешивают в течение 3 ч, получая осадок. Осадок фильтруют и промывают Et_2O (150 мл) и MeCN (20 мл), получая 16 в виде белого порошка (1,78 г); т.пл. $190-200^\circ\text{C}$;

$^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.9 (m, 1 H), 8.6 (m, 1 H), 8.4 (m, 1 H), 6.83 (d, J= 5, 1 H), 6.79 (d, J=5, 1 H), 6.7 (m, 1 H), 5.95 (s, 2 H), 5.08 (dd, J=5, 11.1 H), 4.1-4.3 (m, 1 H), 3.7 (m, 1 H), 3.15 (d, J=10, 2 H), 3.0 (m, 1 H), 2.7 (m, 2 H), 2.8 (m, 3 H), 2.31 (d, J=7, 2 H), 1.81 (d, J=10, 2 H), 1.2-1.7 (m, 11 H); MS m/e 480 (MH^+); $[\alpha]^{24\text{D}} = 0.478^\circ$ (с 1.00. MeOH),

Пример 17

N-3-(4-Пиперидинпропионил)-гексагидроазепин-3-карбокси-[3-амино-3-(3-хинолинил)]пропионовая кислота • 2 TFA (17)

Соединение 17 получают, как показано на схеме AA. Промежуточному AA2 (0,36 ммоль) дают набухать в DCE (5 мл), обрабатывают метилгексагидроазепин-3-карбоксилат • HCl (0,36 ммоль), DIC (0,72 ммоль) и DIEA (0,72 ммоль) и перемешивают в течение 16 ч. Растворитель удаляют, смолу промывают (см. пример 1) и метиловый эфир расщепляют, превращая в соответствующую кислоту при помощи KOTMS (см. пример 1). Смолу дают набухать в DMF (5 мл), кислоту сочетают с метил-3-амино-3-(3-хинолинил)-пропионатом (0,36 ммоль) и затем синтез завершают, как показано в примере 1. Соединение 17 выделяют в виде стекла (0,10 г):

$^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 9.06 (s, 1 H), 8.9 (m, 1 H), 8.2 (m, 1 H), 8.04 (s, 1 H), 8.0 (t, J=4, 2 H), 7.8 (t, J=4, 2 H), 5.6 (m, 1 H), 3.8 (m, 1 H), 3.3 (m, 4 H), 3.0 (m, 2 H), 2.7 (m, 4 H), 2.0-2.4 (m, 6 H), 1.7-1.9 (m, 4 H), 1.1-1.6 (m, 8 H); MS m/e 481 (MH^+).

Пример 18

N-3-(4-Пиперидинпропионил)-R-(-)-нипекотил-[(S)-3-амино-3-(3-хинолинил)] пропионовая кислота • 2 HCl (18)

Соединение 18, полученное, как описано в примере 16, исходя из Вос-R-нипекотиновой кислоты (7,1 ммоль) и метил-(S)-3-амино-3-(3-хинолинил)пропионата (см. пример AG5; 7,1 ммоль), выделяют в виде белых хлопьев (1,11 г); т.пл. $142-144^\circ\text{C}$; MS m/e 467 (MH^+); $[\alpha]^{24\text{D}} = -173^\circ$ (с = 0,1, MeOH). Анализ. Вычислено для $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_4 \cdot 2,25 \text{ HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (566,64): C 55,11; H 6,80; N 9,89; Cl 14,08. Найдено: C 54,85; H 6,62; N 10,04; Cl 13,68.

Пример 19

N-3-(4-Пиперидинпропионил)-R-(-)-нипекотил-[(S)-3-амино-3-(2-трет-бутилэтинил)]пропионовая кислота • HCl (19)

Соединение 19, полученное, как описано в примере 16, исходя из Вос-R-нипекотиновой кислоты (3,2 ммоль) и метил-(S)-3-амино-3-(2-трет-бутилэтинил)пропионата (см. J. A. Zablocki, J. Med. Chem., 1995, 38, 2378; 3,2 ммоль), выделяют в виде белого порошка (0,33 г); MS m/e 420 (MH^+). Анализ. Вычислено для $\text{C}_{23}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_4 \cdot 1,07 \text{ HCl} \cdot 0,43 \text{ H}_2\text{O}$ (468,97): C 59,21; H 8,42; N 8,96; Cl 8,09. Найдено: C 58,92; H 8,58; N 8,76; Cl 7,82.

Пример 20

N-3-(4-Пиперидинпропил)-нипекотил-[(S)-3-амино-3-(3,4-метилendioксифенил)]пропионовая кислота • 2TFA (20)

Соединение 20 получают, как показано на схеме AF. Промежуточный AF3 (2,8 ммоль) растворяют в бензоле (50 мл), обрабатывают этилнпекотатом (2,8 ммоль) и нагревают при кипении с обратным холодильником в течение 7 ч. Реакционную смесь охлаждают, распределяют между водой (15 мл) и EtOAc (70 мл) и слои разделяют. Органический слой сушат и выпаривают, получая AF4. AF4 превращают в 20, как описано ранее ((W.J. Hoekstra, J. Med. Chem., 1995, 38, 1582), и выделяют в виде белого порошка (0,33 г):

^1H NMR (CD_3OD) δ 8.6-8.8 (m, 3 H), 6.7-6.9 (m, 3 H), 5.91 (s, 2 H), 5.1-5.2 (m, 1 H), 3.3-3.5 (m, 4 H), 2.8-3.1 (m, 6 H), 2.6-2.7 (m, 3 H), 1.5-2.0 (m, 11 H), 1.2-1.4 (m, 4 H); MS m/e 446 (MH^+).

Пример 21

N-3-(4-Пиперидинпропионил)-R-(-)-нипекотил-[(S)-3-амино-3-(3-пиридил)]пропионовая кислота • 2 TFA (21)

Соединение 21, полученное, как описано в примере 16, исходя из Вос-R-нипекотиновой кислоты (6,4 ммоль) и метил-(S)-3-амино-3-(3-пиридил)пропионата (см. пример AG5; 6,4 ммоль), выделяют в виде белого аморфного твердого продукта (1,60 г): т.пл. 74-81°C; MC m/e 417 (MH^+). Анализ. Вычислено для $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_4$ • 2,1 $\text{C}_2\text{HF}_3\text{O}_2$ • 0,7 H_2O (668,58): C 47,07; H 5,35; N 8,38; F 17,90; KF 1,89. Найдено: C 47,08; H 5,31; N 8,41; F 17,68; KF 2,00.

Пример 22

N-3-(4-Пиперидинпропионил)-R-(-)-нипекотил-[(S)-2-(3-метоксианилино)карбониламино-3-амино]пропионовая кислота (22)

Метил-Вос-R-нипекотил-[(S)-2-Z-амино-3-амино]пропионат (получен из метил-N- α -Z-L-диаминопропионата и Вос-R-нипекотиновой кислоты, как показано в примере 16; 9,5 ммоль) растворяют в MeOH (40 мл) и гидрируют при 3,515 ат (50 psi) над гидроксидом палладия (0,4 г) в течение 24 ч. Смесь фильтруют и выпаривают, получая белый твердый продукт АН2. АН2 (9,1 ммоль) растворяют в DCM (100 мл), охлаждают (5°C), обрабатывают 3-метоксифенилизоцианатом (9,1 ммоль) и NMM (9,1 ммоль) и перемешивают в течение 17 ч. Раствор разбавляют насыщенным NH_4Cl (10 мл), слои разделяют и органический слой сушат, выпаривают до масла и очищают хроматографией на силикагеле (4% EtOH/DCM), получая АН3. Промежуточный АН3 превращают в 22 в четыре стадии, как в примере 16, получая белый аморфный твердый продукт (1,35 г): т.пл. 72-76°C;

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.7 (m, 3 H); 7.8 (m, 1 H), 7.1 (m, 2 H), 6.8 (d, 1 H), 6.5 (d, 2 H), 3.66 (s, 3 H), 3.4 (m, 2 H), 3.2 (d, 2 H), 2.7 (dd, 4 H), 2.3 (m, 3 H), 1.6 (m, 3 H), 1.1-1.7 (m, 11 H); MS m/e 504 (MH^+).

Анализ. Вычислено для $\text{C}_{25}\text{H}_{37}\text{N}_5\text{O}_6$ • 1,2 HCl • 1,0 H_2O (565,37): C 53,11; H 7,17; N 12,39; Cl 7,53. Найдено: C 53,40; H 7,44; N 12,14; Cl 7,66.

С использованием той же самой общей методики синтеза, как описано в примере 22,

соединения примеров 26, 28-30 получают по схеме АН, указанной в конкретном примере. Для карбаматных аналогов применяемым ацилирующим агентом был подходящий алкилхлорформат (аналогичное превращение АН2 в АН3; один молярный эквивалент). Для сульфонамидов применяемым сульфорирующим агентом был подходящий сульфонилхлорид (один молярный эквивалент).

Пример 23

N-3-(4-Пиперидинпропионил)-R-(-)-нипекотил-[(S)-2-бензилоксикарбониламино-3-амино]пропионовая кислота • HCl (23)

Соединение 23, полученное из метил-N- α -Z-L-диаминопропионата (8,8 ммоль) и Вос-R-нипекотиновой кислоты (8,8 ммоль), как показано в примере 16, выделяют в виде белого порошка (1,65 г): т.пл. 110-113°C; MC m/e 489 (MH^+).

Анализ. Вычислено для

$\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_6$ • 1,15 HCl • 0,5 H_2O • 0,5 диоксан (583,57): C 55,56; H 7,41; N 9,60; Cl 6,99. Найдено: C 55,23; H 7,79; N 9,85; Cl 7,01.

Пример 24

N-3-(4-Пиперидинпропионил)-R-(-)-нипекотил-[(S)-2-(3-хлорбензилокси)карбониламино-3-амино]пропионовая кислота • HCl (24)

Соединение 24, полученное реакцией 3-хлорбензилоксикарбонилхлорида (6,6 ммоль) с АН2 (6,6 ммоль), как описано в примере 22, выделяют в виде белого аморфного твердого продукта (1,33 г): т.пл. 89-96°C; MC m/e 524 (MH^+). Анализ. Вычислено для $\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_6$ • 1,25 HCl • 0,5 H_2O • 1,0 диоксан (637,20): C 50,89; H 7,08; N 8,78; Cl 12,52. Найдено: C 51,10; H 6,71; N 8,38; Cl 12,20.

Пример 25

N-3-(4-Пиперидинпропионил)-R-(-)-нипекотил-[(S)-2-бензилсульфониламино-3-амино]пропионовая кислота • HCl (25)

Соединение 25, полученное реакцией бензилсульфонилхлорида (5,2 ммоль) с АН2 (5,2 ммоль), как показано в примере 22, выделяют в виде белого порошка (0,87 г): т.пл. 145-149°C; MC m/e 509 (MH^+). Анализ. Вычислено для $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}$ • 1,3 HCl • 0,3 диоксан (568,06): C 50,75; H 7,04; N 9,86; Cl 8,11. Найдено: C 51,03; H 6,93; N 9,46; Cl 7,85.

Пример 26

N-3-(4-Пиперидинпропионил)-R-(-)-нипекотил-[(S)-2-(3,5-диметоксианилино)карбониламино-3-амино]пропионовая кислота • HCl (26)

Соединение 26, полученное реакцией 3,5-диметоксифенил-изоцианата (10,2 ммоль) с АН2 (10,2 ммоль), как показано в примере 22, выделяют в виде белого порошка (1,89 г): т.пл. 190-193°C; MC m/e 534 (MH^+). Анализ. Вычислено для $\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{N}_5\text{O}_7$ • 1,2 HCl • 0,2 диоксан (585,40): C 53,35; H 7,20; N 11,96; Cl 7,27. Найдено: C 53,48; H 7,38; N 12,05; Cl 6,97.

Пример 27

N-(4,4'-Бипиперидин-1-ил)карбонил]-R-(-)-нипекотил-[(S)-3-амино-3-(3-пиридил)]пропионовая кислота • 3HCl (27)

Промежуточный АН1 (5,5 ммоль), полученный, как показано в примере 16, растворяют в DCM (140 мл), охлаждают (5°C), обрабатывают

п-нитрофенилхлорформиаом (5,5 ммоль) и (16,5 ммоль) и перемешивают в течение 2 ч. Смесь разбавляют водой (15 мл), слои разделяют и органический слой сушат и выпаривают до масла. Масло растворяют в MeCN (70 мл), обрабатывают M-Вос-4,4'-биперидином (7,5 ммоль) и DMAP (5,5 ммоль) и нагревают при кипячении с обратным холодильником в течение 24 ч. Смесь охлаждают, выпаривают до получения твердого продукта и распределяют между EtOAc (150 мл) и NaOH (1 N, 20 мл). Слой разделяют и органический слой сушат, выпаривают до получения твердого продукта и очищают хроматографией на силикагеле (8% EtOH/DCM), получая AJ2 в виде зеленого стекла (1,5 ммоль). AJ2 омыляют и освобождают от защитной группы, как описано в примере 16, получая 27 в виде бледно-желтого порошка (0,73 г): т.пл. 121-125°C; MC m/e 472 (MH⁺). Анализ. Вычислено для C₂₅H₃₇N₅O₄ • 3,6 HCl • 1,0 диоксан (690,98): C 50,41; H 7,09; N 10,14; Cl 18,47. Найдено: C 50,80; H 7,31; N 10,20; Cl 18,78.

Пример 28

N-3-(4-Пиперидинпропионил)-R-(-)-нипекотил-[(S)-2-(2-нафтиламино)карбониламино-3-амино]пропионовая кислота HCl • (28)

Соединение 28, полученное реакцией 2-нафтилизотиоцианата (8,5 ммоль) с AH2 (8,5 ммоль), как показано в примере 22, выделяют в виде белого порошка (1,65 г): т. пл. 187-193°C; MC m/e 524 (MH⁺). Анализ. Вычислено для C₂₈H₃₇N₅O₅ • 1,36 HCl • 0,72 диоксан (602,07): C 55,86; H 7,39; N 11,63; Cl 8,01. Найдено: C 56,03; H 7,11; N 11,23; Cl 7,97.

Пример 29

N-3-(4-Пиперидинпропионил)-R-(-)-нипекотиламинометил-5-(S)-(3-N-бензил)имидазолин-2,4-дион • HCl (29)

Гидрохлорид

N-3-(4-пиперидинпропионил)-R-(-)-нипекотил-[(S)-2-(2-бензиламино)карбониламино-3-амино]пропионовой кислоты (0,15 г), полученный из промежуточного AH2 (4,4 ммоль) и бензилизотиоцианата (4,4 ммоль), как описано в примере 22, растворяют в водной HCl (3 N) и перемешивают в течение 18 ч при КТ. Этот раствор концентрируют в вакууме, получая белый твердый продукт. Этот продукт растирают и сушат, получая 29 в виде белой пены (0,144 г):

¹H NMR (DMSO-d₆) δ 9.0 (m, 1 H), 8.6 (m, 1 H), 8.3 (m, 1 H), 7.2 (m, 5 H), 4.48 (s, 2 H), 4.2 (m, 2 H), 3.7 (m, 1 H), 3.4 (m, 1 H), 3.2 (d, 3 H), 2.7 (d, 3 H), 2.2 (m, 3 H), 1.7 (m, 3 H), 1.0-1.6 (m, 10 H); MS m/e 470 (MH⁺).

Пример 30

N-3-(4-Пиперидинпропионил)-R-(-)-нипекотил-[(S)-2-(фенетиламино)карбониламино-3-амино]пропионовая кислота • HCO₂H (30)

Соединение 30, полученное реакцией 2-фенетилизотиоцианата (4,1 ммоль) с AH2 (4,1 ммоль), как показано в примере 22, выделяют в виде рыжевато-коричневой пены (0,41 г): т. пл. 65-72°C; MC m/e 502 (MH⁺). Анализ. Вычислено для C₂₆H₃₉N₅O₅ • 1,2 HCO₂H • 1,0 H₂O (574,87): C 56,83; H 7,61; N 12,18. Найдено: C 57,12; H 7,80; N 11,85.

6-Метил-3-пиридинкарбоксальдегид (AK2)

Альдегидный предшественник AK2 получают в две стадии с использованием стандартных условий. AK1 (0,066 моль) растворяют в THF (100 мл), охлаждают (-78 °C), обрабатывают LiAlH₄ (0,066 моль) и перемешивают в течение 4 ч. Реакционную смесь гасят насыщенным NH₄Cl, нагревают, фильтруют с промыванием CHCl₃ (250 мл) и слои разделяют. Органический слой сушат и выпаривают, получая светлое масло (0,054 моль). Масло растворяют в DCM (200 мл), обрабатывают MnO₂ (70 г) и нагревают при кипячении с обратным холодильником в течение 6 ч. Смесь охлаждают, фильтруют и растворитель выпаривают, получая AK2 (0,052 моль) в виде коричневого масла.

Пример 31

N-3-(4-Пиперидинпропионил)-R-(-)-нипекотил-[(S)-3-амино-3-(6-метил-3-пиридил)]пропионовая кислота • 2 HCl (31)

Соединение 31 получают, как описано в примере 16, исходя из Вос-R-нипекотиновой кислоты (6,9 ммоль) и метил-(S)-3-амино-3-(6-метил-3-пиридил)пропионата (см. примеры AK5, AG5; 6,9 ммоль). Соединение 31 выделяют в виде белой пены (1,20 г): т.пл. 99-105°C; MC m/e 431 (MH⁺). Анализ. Вычислено для C₂₃H₃₄N₄O₄ • 2,24 HCl • 1,0 H₂O • 0,24 ацетонитрил (534,33): C 51,70; H 7,35; N 11,11; Cl 14,82. Найдено: C 51,32; H 7,45; N 11,23; Cl 14,42.

Пример 32

N-3-(4-Пиперидинпропионил)-R-(-)-нипекотил-[(S)-3-амино-3-(5-бром-3-пиридил)]пропионовая кислота • 2 HCl (32)

Соединение 32, полученное, как описано в примере 16, исходя из Вос-R-нипекотиновой кислоты (4,8 ммоль) и метил-3-S-амино-3-(5-бром-3-пиридил)пропионата (см. примеры AK5, AG5; 4,8 ммоль), выделяют в виде белой пены (1,24 г): т.пл.98-101°C; MC m/e 496 (MH⁺). Анализ. Вычислено для C₂₂H₃₁Br₄O₄ • 2,2 HCl • 1,0 H₂O • (593,67): C 44,51; H 5,98; N 9,44, Cl 13,14. Найдено: C 44,17; H 6,37; N 9,81; Cl 13,10.

Пример 33

N-3-(4-Формамидинопиперидинпропионил)-R-(-)-нипекотил-[(S)-3-амино-3-(3-пиридил)]пропионовая кислота • 2HCl (33)

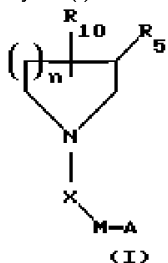
Формамидин 33 получают по методике M.K.Scott (J.Med. Chem., 1983, 26, 534), как показано на схеме AL. Промежуточный AL1 (см. пример 21; 2,3 ммоль) растворяют в EtOH (20 мл), обрабатывают этилформимидат • HCl (3,7 ммоль), перемешивают в течение 22 ч и фильтруют. Фильтрат обрабатывают Et₂O (40 мл), охлаждают на ледяной бане и фильтруют, получая стекловидный AL2. AL2 растворяют в водной HCl (4N, 15 мл), перемешивают в течение 28 ч и выпаривают, получая 33 в виде белой пены (0,75 г): т.пл. 49-55°C.

¹H NMR (DMSO-d₆) δ 9.35 (s, 1 H), 9.1 (m, 2 H), 8.8 (m, 2 H), 8.70 (d, 1 H), 8.5 (m, 1 H), 7.8 (m, 2 H), 5.2 (dd, 1 H), 4.2 (m, 1 H), 3.8 (m, 2 H), 3.2 (m, 2 H), 2.8 (m, 2 H), 2.6 (m, 1 H), 2.3 (m, 2 H), 1.8 (m, 3 H), 1.0-1.7 (m, 12 H); MS m/e 444 (MH⁺).

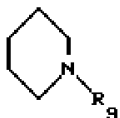
Формула изобретения:

1. Карбоксамидные производные пирролидина или пиперидина общей

формулы (I)



где R₁₀ представляет H или C(O)N(R¹)YZ,
где R¹ представляет H; Y представляет
(CH₂)_p, (CH₂)_qCH(R³) или CH(R³) (CH₂)_q; где R³
представляет арил, аралкил или
гетероарил, q = 1-3 и p = 2 или 3; Z
представляет CO₂H, CO₂-алкил или
5-тетразол;
X представляет C(O);
M представляет (CH₂)_m или
пиперидин-1-ил, где m = 2;
n = 2;
R₅ представляет H;
A выбирают из любого из
пиперидин-2-ила, пиперидин-3-ила,
пиперидин-4-ила или



где R₉ представляет H, алкил, CH(NH),
CMe(NH) или ацил,
их энантиомеры и фармацевтически
приемлемые соли.

2. Соединение по п. 1, выбранное из
группы, состоящей из:

N-3-(4-пиперидинпропионил)нипекотил(3-а
мино-3-фенил)пропионовая кислота,

N-3-(4-пиперидинпропионил)изонипекотил-
[3-амино-3-(4-карбоксифенил)] пропионовая
кислота,

N-3-(4-пиперидинпропионил)нипекотил-5H-
(2-аминоэтил)тетразол,

5 N-3-(4-пиперидинпропионил)-R-(-)-нипекот
ил-[(S)-3-амино-3-(3,4-метилendioксифенил)]
пропионовая кислота,

N-3-(4-пиперидинпропионил)-R-(-)-нипекот
ил-[(S)-3-амино-3-(3-хинолинил)] пропионовая
кислота,

10 N-3-(4-пиперидинпропионил)-нипекотил-[(S)
-3-амино-3-(3,4-метилendioксифенил)]
пропионовая кислота,

N-3-(4-пиперидинпропионил)-R-(-)-нипекоти
л-[(S)-3-амино-3-(3-пиридил)] пропионовая
кислота,

15 N-[(4,4'-бипиперидин-1-ил)карбонил]
-R-(-)-нипекотил-[(S)-3-амино-3-(3-пиридил)]
пропионовая кислота,

N-3-(4-пиперидинпропионил)-R-(-)-нипекот
ил-[(S)-3-амино-3-(6-метил-3-пиридил)]
пропионовая кислота,

20 N-3-(4-пиперидинпропионил)-R-(-)-нипекот
ил-[(S)-3-амино-3-(5-бром-3-пиридил)]
пропионовая кислота и

N-3-(4-формамидинопиперидинпропионил)
-R-(-)-нипекотил-[(S)-3-амино-3-(3-пиридил)]
пропионовая кислота.

25 3. Фармацевтическая композиция,
ингибирующая агрегацию тромбоцитов,
содержащая соединение по п. 1 в
эффективном количестве в комбинации с
фармацевтически приемлемым носителем.

30 4. Способ ингибирования агрегации
тромбоцитов, включающий введение
пациенту эффективного количества
соединения по п. 1.

5. Способ по п. 4, где количество
соединения по п. 1 составляет 0,1-300
мг/кг/день.

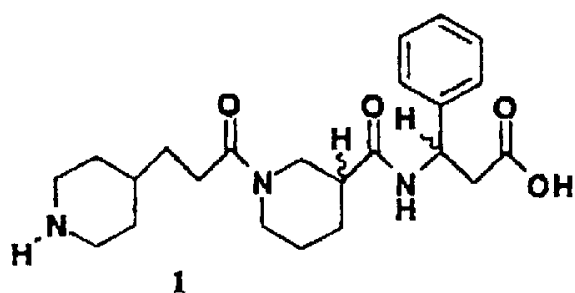
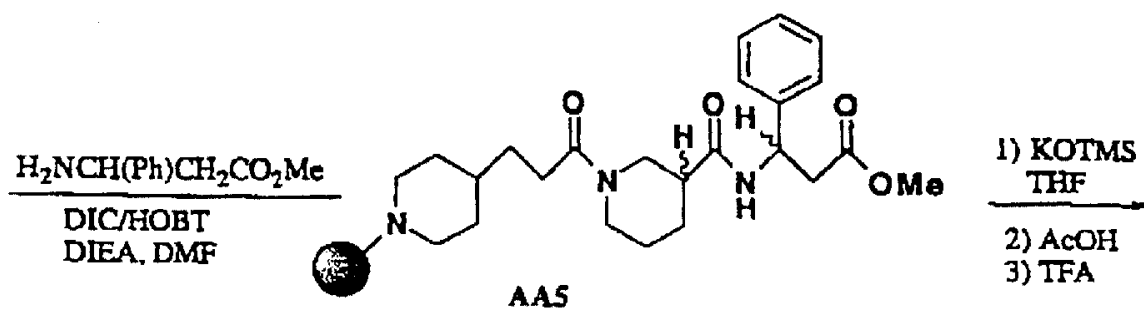
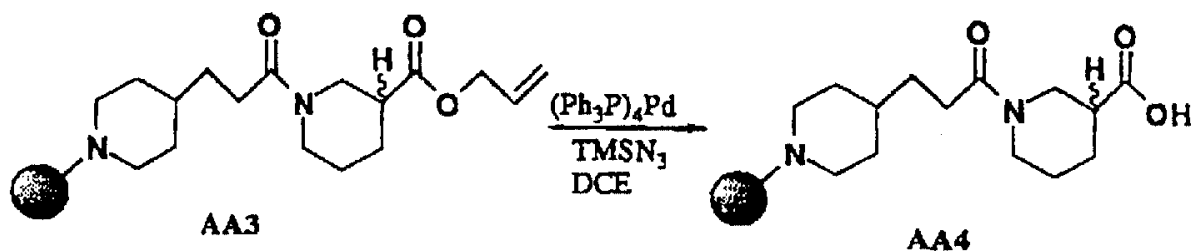
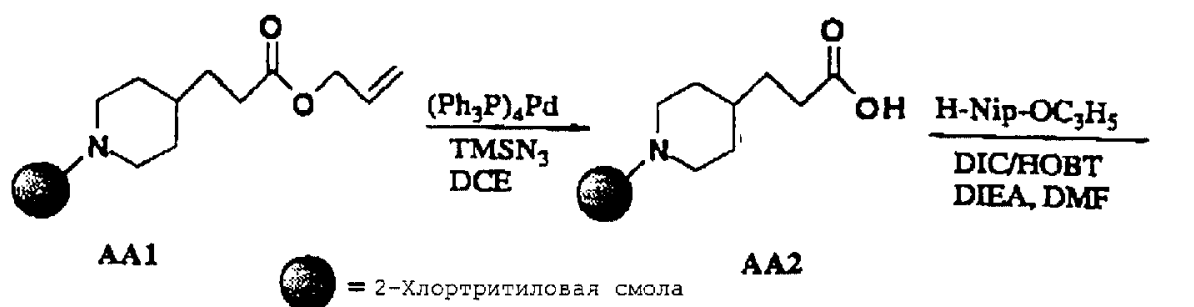
40

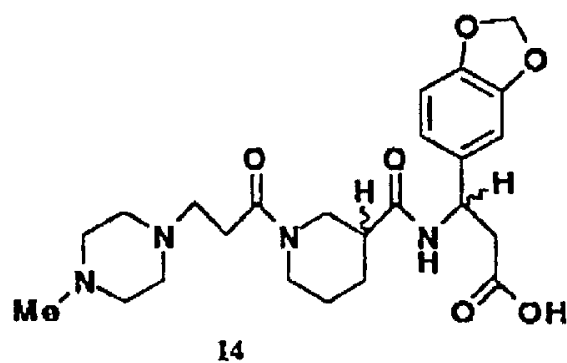
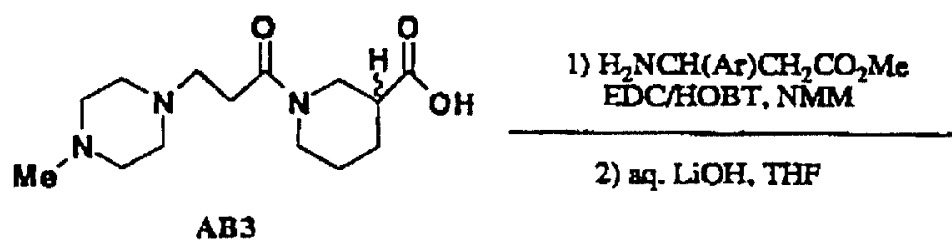
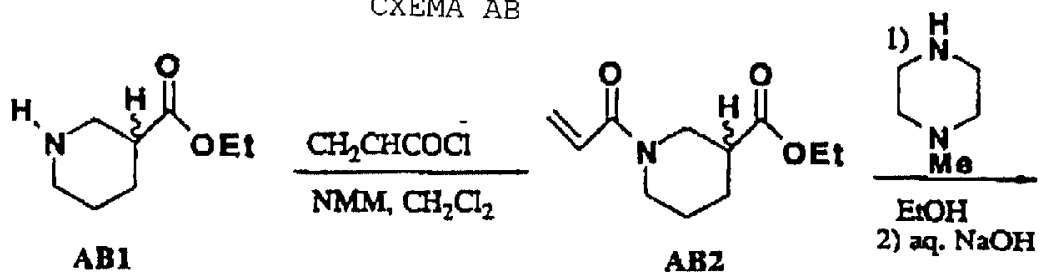
45

50

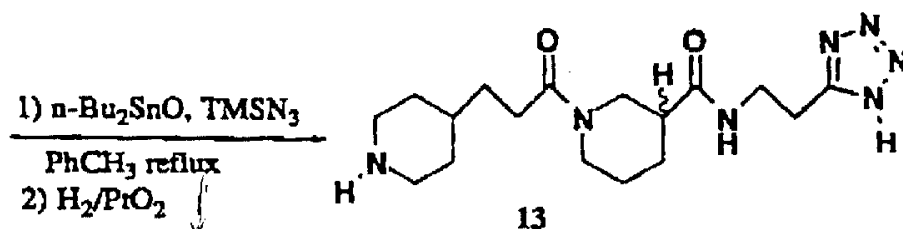
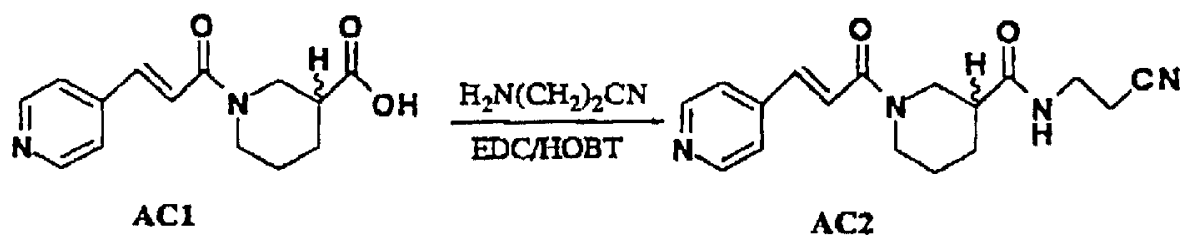
55

60



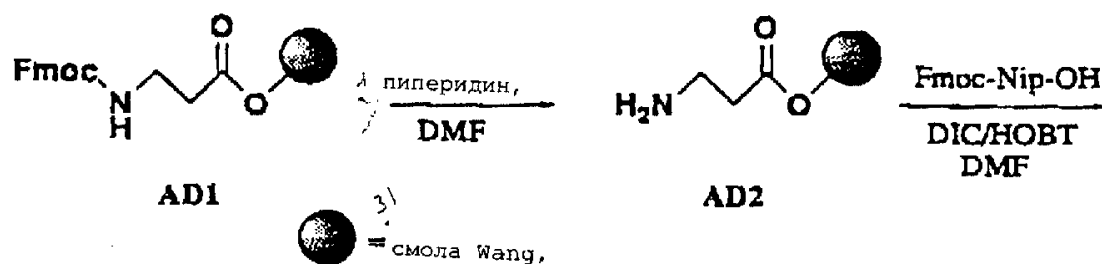


CXEMA AC,

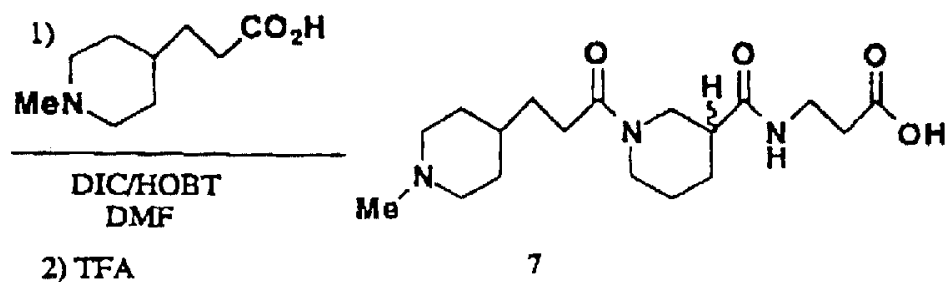


кипячение с обратным холодильником,

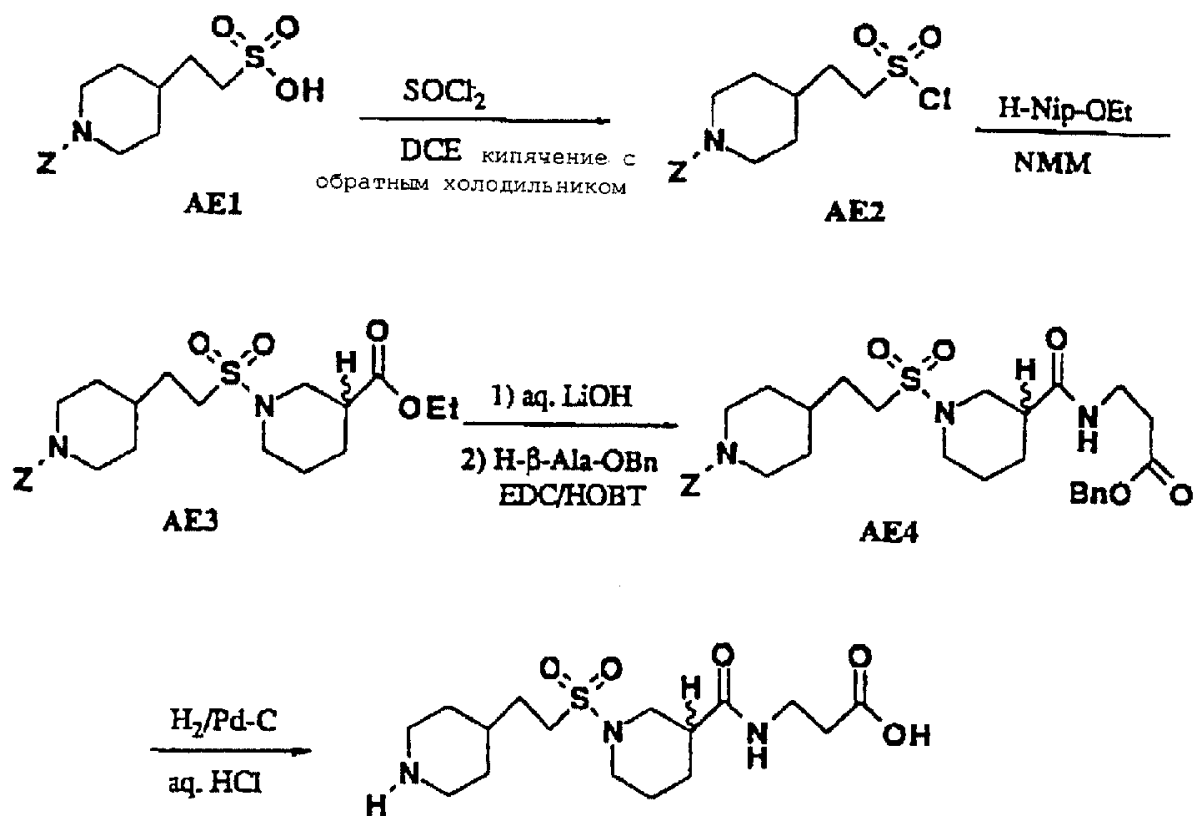
CXEMA AD,



= смола Wang,

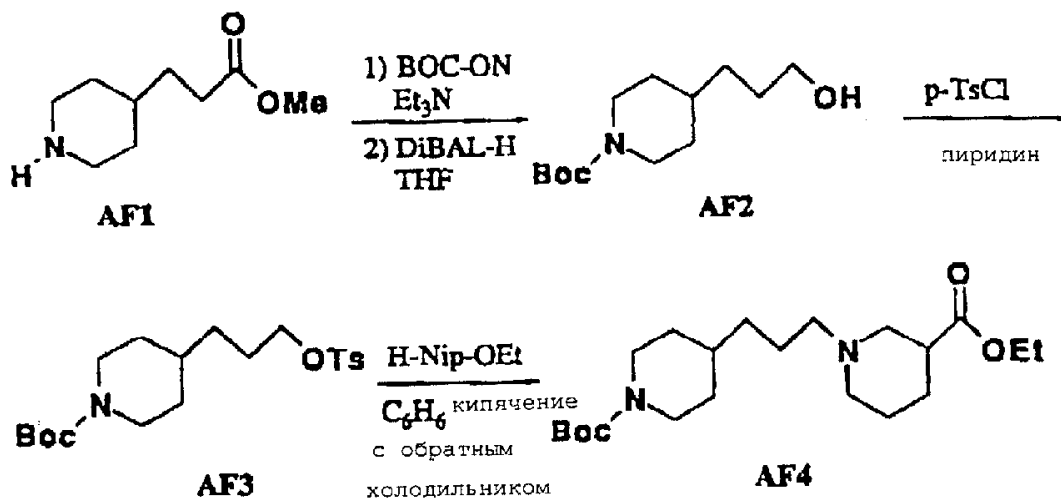


CHEMA AE,

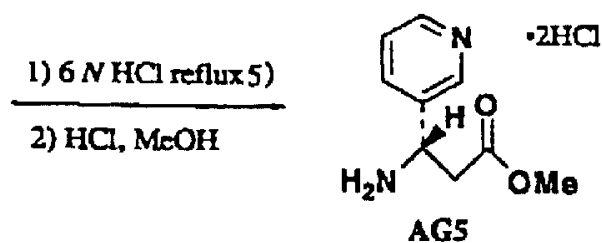
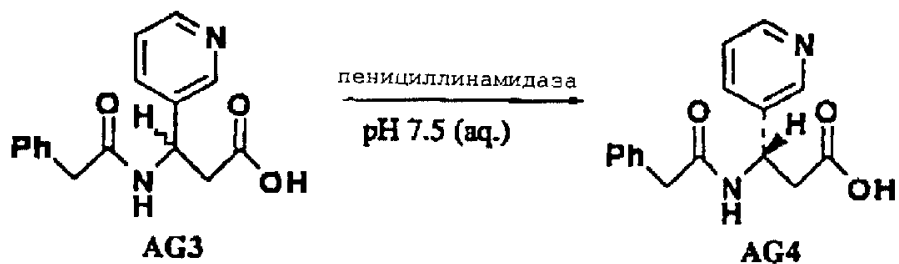
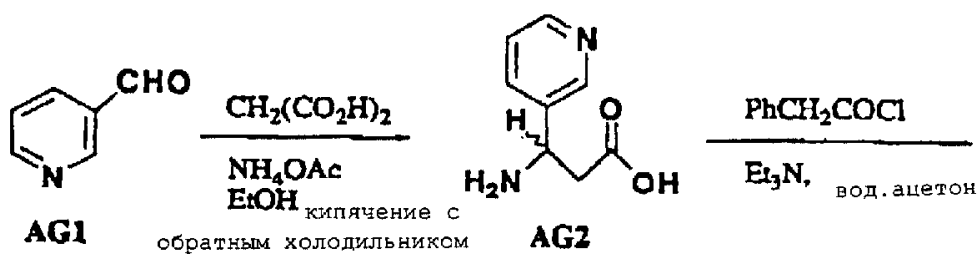


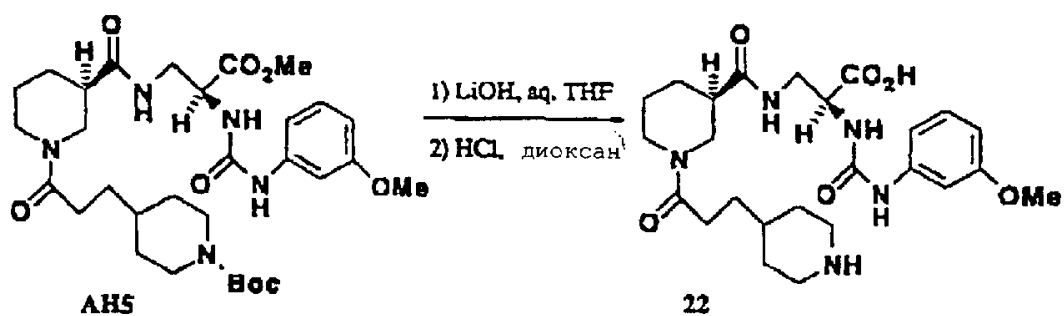
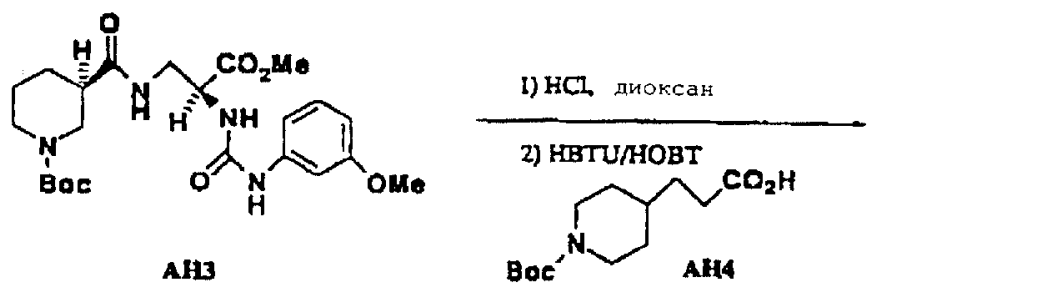
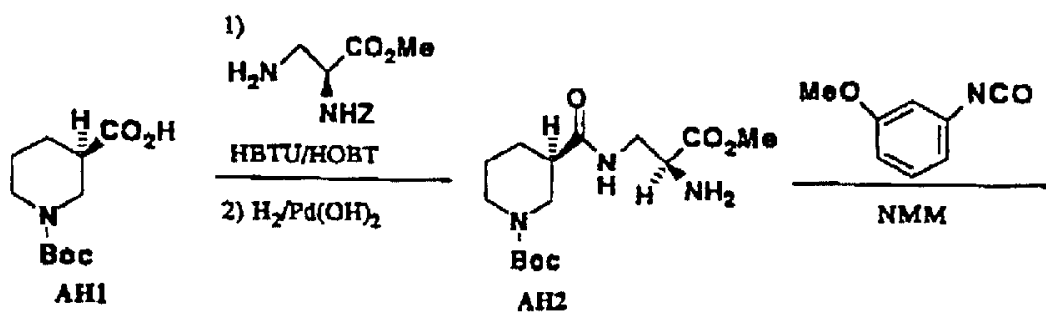
12

CHEMA AF,

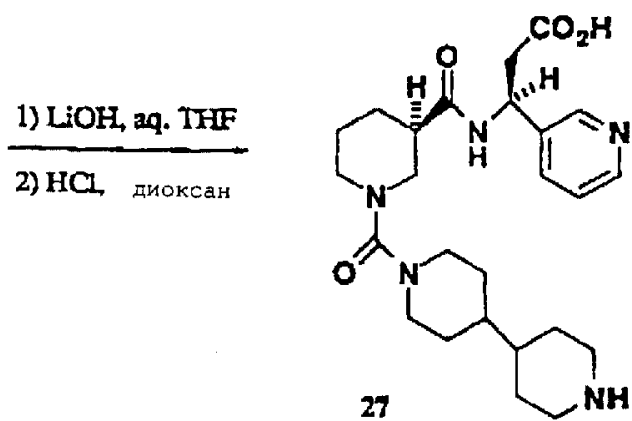
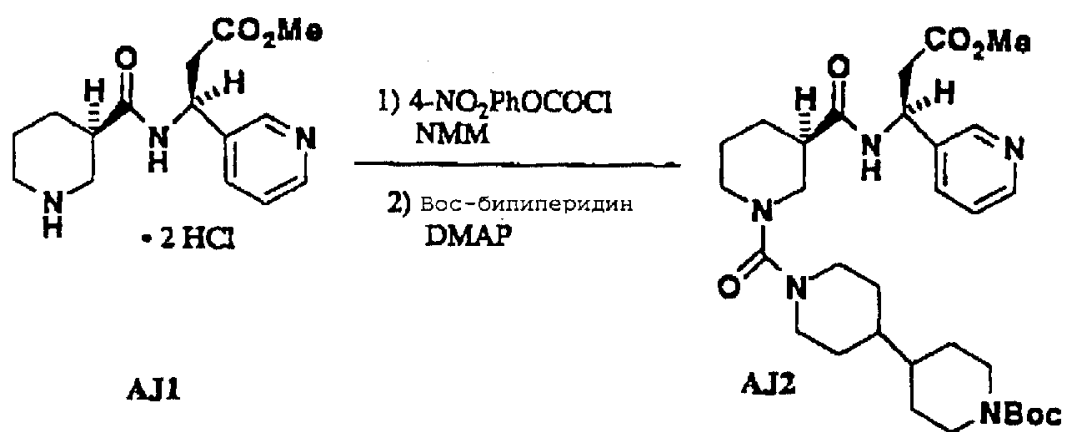


20

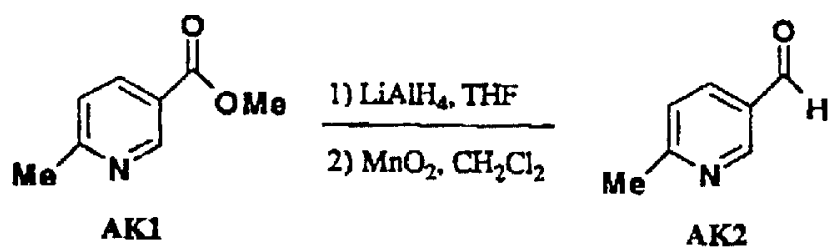




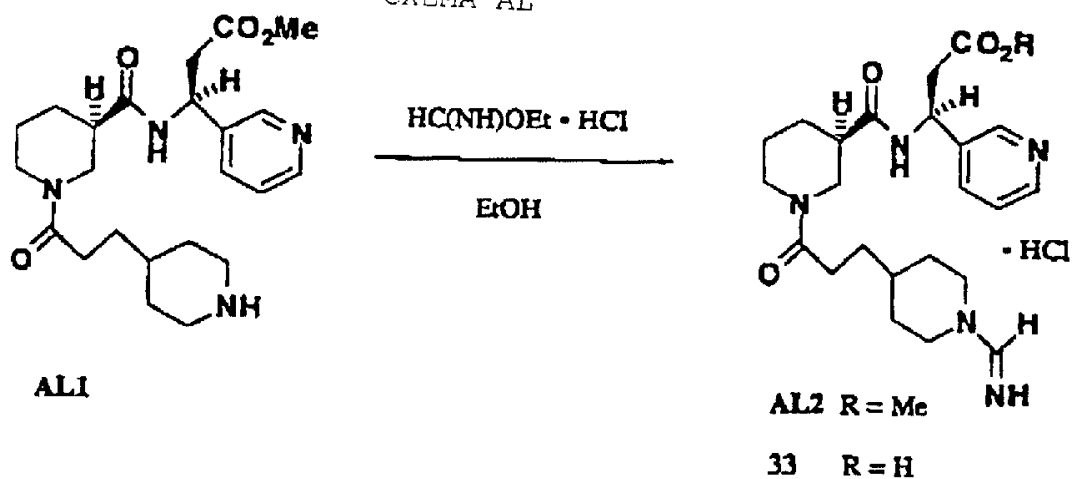
CXEMA AJ,



CXEMA AK



CXEMA AL



CXEMA AM

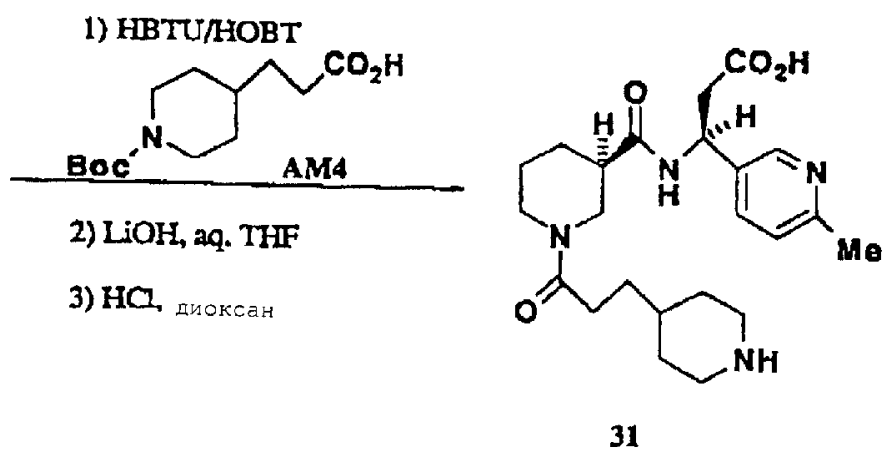
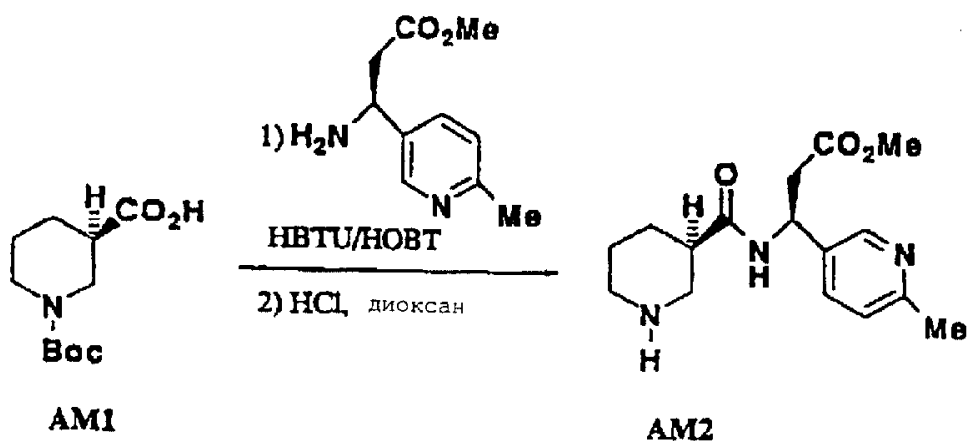
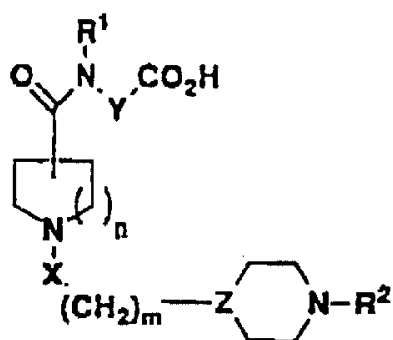
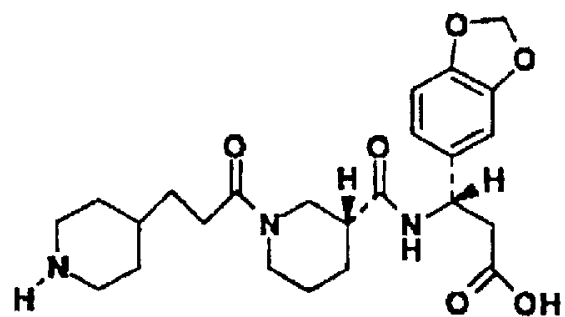
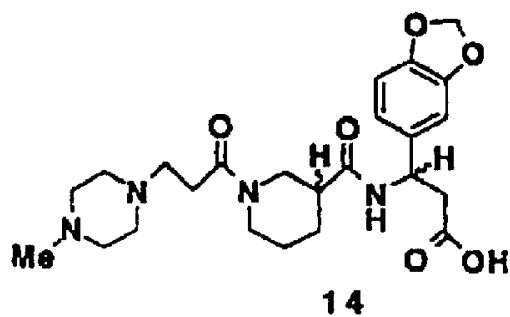
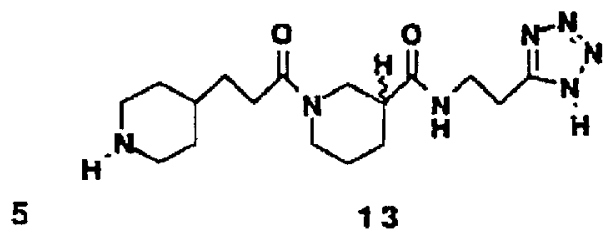
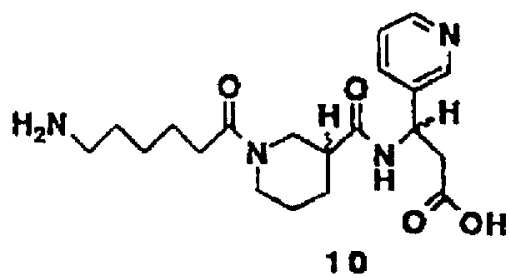
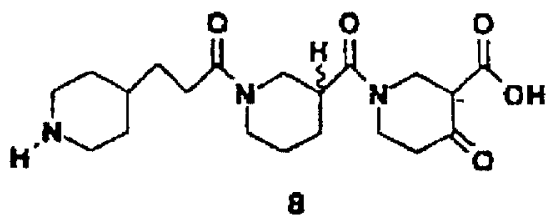
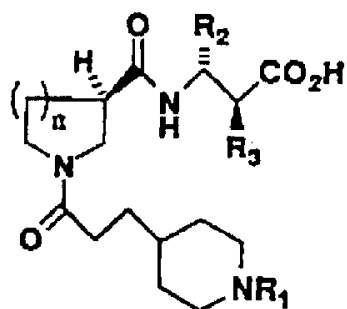


Таблица I

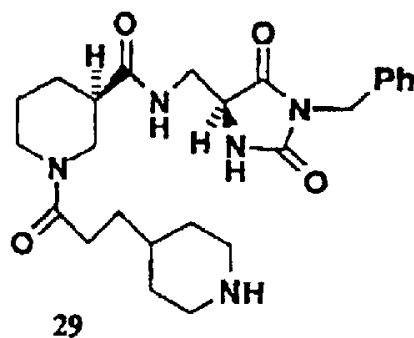
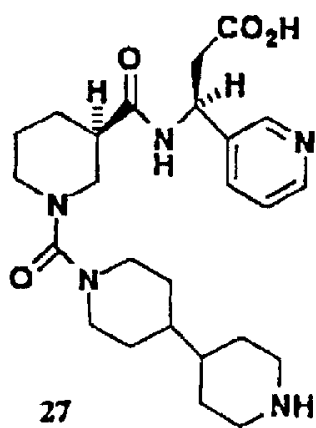


#	Замест.	m	n	X	R ¹	R ²	Y	Z
1	3	2	2	C(O)	H	H	CH(Ph)CH ₂	CH
2	3	1	2	NHCO	H	H	CH ₂ CHMe	CH
3	3	1	2	OC(O)	H	H	(R)-CH(CO ₂ Me)CH ₂	CH
4	3	2	1	C(O)	H	H	CH(3-Me-Ph)CH ₂	CH
5	4	2	2	C(O)	H	H	CH(Me)CH ₂	CH
6	4	2	2	C(O)	H	H	CH(4-CO ₂ H-Ph)CH ₂	CH
7	3	2	2	C(O)	H	Me	CH ₂ CH ₂	CH
8	См. структуру							
9	3	2	2	C(O)	H	H	CH(Me ₃ Si-этинил)CH ₂	CH
10	См. структуру							
11	3R	2	2	CO	H	H	CH ₂ CH(OH)	CH
12	3	2	2	SO ₂	H	H	CH ₂ CH ₂	CH
13	См. структуру,							
14	3	2	2	CO	H	Me	CH(3,4-OCH ₂ O-Ph)CH ₂	N
15	3	2	2	CO	H	Me	CH(3-хинолинил)CH ₂	N
16	3R	2	2	CO	H	H	S-CH(3,4-OCH ₂ O-Ph)CH ₂	CH
17	3	2	3	CO	H	H	CH(3-хинолинил)CH ₂	CH
18	3R	2	2	CO	H	H	S-CH(3-хинолинил)CH ₂	CH
19	3R	2	2	CO	H	H	S-CH(трет-бутилэтинил)CH ₂	CH
20	3	2	2	CH ₂	H	H	S-CH(3,4-OCH ₂ O-Ph)CH ₂	CH
21	3R	2	2	CO	H	H	S-CH(3-пиридил)CH ₂	CH





#	n	R1	R2	R3
22	2	H	H	NHCONH(3-MeOPh)
23	2	H	H	NHCOOCH ₂ Ph
24	2	H	H	NHCOOCH ₂ (3-ClPh)
25	2	H	H	NHSO ₂ CH ₂ Ph
26	2	H	H	NHCONH(3,5-diMeOPh)
27	См. структуру ниже.			
28	2	H	H	NHCONH(2-нафтил)
29	См. структуру ниже			
30	2	H	H	NHCONHCH ₂ CH ₂ Ph
31	2	H	6-Me-3-пиридил	H
32	2	H	5-Br-3-пиридил	H
33	2	CH(NH)	3-пиридил	H



Результаты in vitro

№ соедине- ния	Связывание фибриногена		Агрегация тромбоцитов	
	% ингиб. (50 мкМ)	IC ₅₀ (мкМ)	% ингиб. (50 мкМ)	IC ₅₀ (мкМ)
1	95,0%	0,003	83.0%	3.6
2	93,0%	0,027	95.7%	54.0
3	81,0%	NT	26.2%	>100
4	89,9%	0.121	81.0%	26.0
5	89,0%	0.012	100%	10.0
6	90,7%	0.197	71.2%	73.0
7	100%	0.006	75.6%	2.4
8	93,0%	0.332	94.8%	65.0
9	99,0%	0.002	90.9%	0.37
10	91,3%	0.019	85.0%	1.6
11	79,6%	0.004	99.2%	1.55
12	97,0%	0.025	88.0%	15.5
13	95,0%	1.39	67.0%	25.5
14	99,0%	0.004	91.0%	0.91
15	100%	0.0091	92.2%	1.9
16	100%	0.0005	94.0%	0.028
17	96,0%	0.005	89.6%	0.45
18	100%	0.0002	100%	0.019
19	99,0%	0.021	92.1%	0.079
20	99,0%	0.0007	89.7%	37.0
21	100%	0.0005	100%	0.060

• Индуцированная тромбином агрегация гель-
фильтрованных тромбоцитов.

Таблица IV

Результаты in vitro

№ соедине- ния	Связывание фибриногена		Агрегация тромбоцитов*	
	% ингиб. (50 мкМ)	IC ₅₀ (мкМ)	% ингиб. (50 мкМ)	IC ₅₀ (мкМ)
22	100%	0,0007	94,0%	0,046
23	100%	0,0003	97,0%	0,027
24	100%	0,0004	100%	0,018
25	100%	0,0003	97,0%	0,007
26	100%	0,0003	97,0%	0,016
27	100%	0,0006	100%	0,45
28	100%	0,0002	100%	0,17
29	100%	0,068	100%	042
30	100%	0,0008	100%	0,19
31	100%	0,0003	100%	0,045
32	100%	0,0004	100%	0,020
33	100%	0,0007	100%	030

• Индуцированная тромбином агрегация гель-фильтрованных тромбоцитов.

Таблица V

Результаты исследования на собаках *ex vivo*

№ соедине- ния	Внутривенная доза		Пероральная доза	
	Доза	Продолжи- тельность*	Доза	Продолжи- тельность*
15	1мг/кг	30 мин	10 мг/кг	120 мин
16	0,1мг/кг	60 мин	1мг/кг	60 мин
	0,3мг/кг	NT	3мг/кг	> 180 мин
18	0,1мг/кг	30 мин	1мг/кг	150 мин
19	1мг/кг	30 мин	10мг/кг	90 мин
21	0,3мг/кг	150 мин	1мг/кг	180 мин

• Означает продолжительность > 50% ингибирования коллаген- или ADP-индуцированной агрегации тромбоцитов *ex vivo*.

Таблица VI

Результаты расследования на собаках *ex vivo*

№ соедине- ния	Внутривенная доза		Пероральная доза	
	Доза	Продолжи- тельность*	Доза	Продолжи- тельность*
22	0,3 мг/кг	180 мин	3 мг/кг	60 мин
23	0,1 мг/кг	60 мин	1 мг/кг	180 мин
	0,3 мг/кг	NT	3 мг/кг	150 мин
24	0,3 мг/кг	90 мин	3 мг/кг	120 мин
25	0,3 мг/кг	30 мин	3 мг/кг	60 мин
26	0,3 мг/кг	NT	3 мг/кг	60 мин
27	0,3 мг/кг	60 мин	3 мг/кг	120 мин
28	0,3 мг/кг	NT	3 мг/кг	120 мин
30	0,3 мг/кг	105 мин	3 мг/кг	180 мин
31	0,3 мг/кг	120 мин	3 мг/кг	> 180 мин
31	0,3 мг/кг	60 мин	3 мг/кг	180 мин

• Означает продолжительность > 50% ингибирования коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов *ex vivo*.