

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **203450**

(21) Numer zgłoszenia: **354957**

(13) **B1**

(22) Data zgłoszenia: **05.05.2000**

(51) Int.Cl.
C07D 405/12 (2006.01)
A61K 31/44 (2006.01)
A61P 7/00 (2006.01)

(86) Data i numer zgłoszenia międzynarodowego:
05.05.2000, PCT/US00/12464

(87) Data i numer publikacji zgłoszenia międzynarodowego:
16.11.2000, WO00/68188
PCT Gazette nr 46/00

Opis patentowy
przedrukowano ze względu
na zauważone błędy

(54) **Związki hamujące przyłączanie integryn do ich receptorów,
kompozycja farmaceutyczna zawierająca te związki oraz ich zastosowanie**

(30) Pierwszeństwo:

07.05.1999,US,60/132,967

10.12.1999,US,60/170,441

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

22.03.2004 BUP 06/04

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

30.10.2009 WUP 10/09

(73) Uprawniony z patentu:

**ENCYSIVE PHARMACEUTICALS INC,
Houston,US**

(72) Twórca(y) wynalazku:

Ronald J. Biediger,Houston,US
George W. Holland,North Caldwell,US
Jamal M. Kassir,Houston,US
Wen Li,Houston,US
Robert V. Market,Pearland,US
Ian L. Scott,Delanson,US
Chengde Wu,Pearland,US

(74) Pełnomocnik:

**Sulima Zofia, Rzecznik Patentowy,
SULIMA.GRABOWSKA.SIERZPUTOWSKA,
Biuro Patentów i Znaków Towarowych Sp.j.**

PL 203450 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest nowa grupa związków chemicznych, hamujących przyłączenie integryn do ich receptorów, kompozycja farmaceutyczna zawierająca te związki oraz ich zastosowanie.

Niniejszy wynalazek dotyczy ogólnie hamowania przyłączenia $\alpha_4\beta_1$ integryny do jej receptorów, np. VCAM-1 (cząsteczka-1 adhezji komórki naczyniowej) i fibronektyny. Wynalazek dotyczy także związków, które hamują to przyłączenie, jak również farmaceutycznie aktywnych kompozycji zawierających takie związki i zastosowania takich związków albo w powyższej formie, albo w preparatach do kontroli lub zapobiegania stanom chorobowym, w których uczestniczy $\alpha_4\beta_1$.

Po zaatakowaniu tkanki przez mikroorganizm lub jej uszkodzeniu, krwinki białe, zwane także leukocytami, odgrywają główną rolę w odpowiedzi zapalnej.

Jednym z najważniejszych aspektów odpowiedzi zapalnej jest adhezja komórkowa. Na ogół krwinki białe krążą w krwiobiegu. Jednakże, gdy tkanka zostaje zainfekowana lub uszkodzona, krwinki białe rozpoznają naruszoną lub uszkodzoną tkankę, łączą się ze ścianką naczynia włosowatego i migrują poprzez naczynie włosowate do naruszonej tkanki. Zdarzeniom tym, pośredniczy rodzina białek nazywanych cząsteczkami adhezji komórkowej.

Istnieją trzy główne typy krwinek białych: granulocyty, monocyty i limfocyty. Integryna $\alpha_4\beta_1$ (zwana także VLA-4 dla bardzo późnego antygeny-4) jest heterodimerskim białkiem występującym na powierzchni monocytów, limfocytów i dwóch podklas granulocytów: eozynofili i bazofili. Białko to odgrywa kluczową rolę w adhezji komórkowej poprzez jego zdolność do rozpoznawania i łączenia się z VCAM-1 i fibronektyną, białkami związanymi z komórkami śródbłonna, które wyścielają wewnętrzną ściankę naczyń włosowatych.

Po infekcji lub uszkodzeniu tkanki otaczającej naczynie włosowate, komórki śródbłonna wytwarzają serię cząsteczek adhezyjnych, obejmującą VCAM-1, które są krytyczne dla wiązania krwinek białych potrzebnych do zwalczania infekcji. Przed związaniem z VCAM-1 lub fibronektyną krwinki białe początkowo łączą się z pewnymi cząsteczkami adhezji w celu spowolnienia ich przepływu i umożliwienia komórkom „toczenia się” wzdłuż aktywowanego śródbłonna. Następnie monocyty, limfocyty, bazofile i eozynofile są zdolne do mocnego łączenia się z VCAM-1 lub fibronektyną na ścianie naczynia krwionośnego poprzez integrynę $\alpha_4\beta_1$. Istnieją dowody takiego wzajemnego oddziaływania oraz zaangażowania w przechodzenie tych krwinek białych do uszkodzonej tkanki, jak również ich początkowego obracania się.

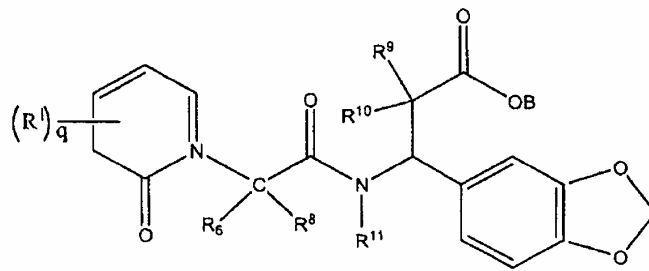
Chociaż migracja krwinki białej do miejsca uszkodzenia pomaga zwalczyć infekcję i niszczyć obce substancje, w wielu przypadkach ta migracja może stać się niekontrolowana, obejmując znaczne nagromadzenie krwinek białych w tym miejscu, wywołujące ogólne uszkodzenie tkanki. Związki zdolne do blokowania tego procesu mogą wobec tego być korzystne jako środki terapeutyczne. Zatem przydatne byłoby opracowanie inhibitorów, które zapobiegałyby wiązaniu krwinek białych z VCAM-1 i fibronektyny.

Niektóre choroby, które można leczyć hamując wiązanie $\alpha_4\beta_1$ obejmują między innymi miażdżycę naczyń, reumatoidalne zapalenie stawów, astmę, alergię, stwardnienie rozsiane, toczeń, chorobę zapalną jelit, odrzucenie przeszczepu, nadwrażliwość kontaktową i cukrzycę typu I. Oprócz występowania na niektórych krwinkach białych $\alpha_4\beta_1$ znajduje się także na różnych komórkach rakowych, włączając komórki białaczki, czerniaka, chłoniaka i mięsaka. Sugeruje się, że zjawisko adhezji komórkowej z udziałem $\alpha_4\beta_1$ może być związane z przerzutami niektórych typów raków. Inhibitory wiązania $\alpha_4\beta_1$ mogą zatem także być przydatne w leczeniu pewnych postaci raka.

Wydzielanie i oczyszczanie peptydu hamującego wiązanie $\alpha_4\beta_1$ do białka ujawniono w opisie patentowym St. Zjedn. Ameryki nr 5510332. Peptydy, które hamują wiązanie ujawniono w zgłoszeniach nr WO 95/15973, EP 0 341 915, EP 0 422 938 A1, opisie patentowym St. Zjedn. Ameryki nr 5192746 i zgłoszeniu nr WO 96/06108. Nowe związki, które są przydatne do hamowania i zapobiegania adhezji komórkowej i patologii związanych z adhezją komórkową ujawniono w zgłoszeniach WO 96/22966, WO 98/04247 i WO 98/04913.

Zatem przedmiotem wynalazku jest wytworzenie nowych związków, które są inhibitorami wiązania $\alpha_4\beta_1$ i kompozycji farmaceutycznych zawierających takie nowe związki.

Istotą wynalazku są nowe związki o ogólnym wzorze I:



lub jego farmaceutycznie dopuszczalna sól, w którym

q oznacza liczbę od 0 do 4;

B, R⁶, R⁹, R¹⁰ i R¹¹ każdy niezależnie oznacza wodór;

R¹ w każdym przypadku oznacza niezależnie wybrany z grupy obejmującej C₁₋₃ alkil, arylo(C₁₋₃ alkil), (C₁₋₃alkiloksy)arylo(C₁₋₃alkil), (C₁₋₃alkilo)arylo(C₁₋₃alkil), fluorowcoarylo(C₁₋₃alkil), tioaryl i arylokarbonyl; i

R⁸ w każdym przypadku oznacza niezależnie wybrany z grupy obejmującej (C₁-C₆)alkanoil i (C₃-C₆)cykloalkil.

Dla związku według wynalazku korzystne jest, gdy R¹ oznacza arylo(C₁-C₃)alkil.

Korzystne związki obejmują

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((2S)-2-(3-benzyl-5-metylo-2-okso-1(2H)-pirydynylo)-heksanoiloamino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((2S)-2-(3-(4-metoksybenzyl)-5-metylo-2-okso-1(2H)-pirydynylo)heksanoiloamino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((2S)-2-(3-(4-metylobenzyl)-5-metylo-2-okso-1(2H)-pirydynylo)heksanoiloamino)propanowi,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((2S)-2-(3-(4-fluorobenzyl)-5-metylo-2-okso-1(2H)-pirydynylo)heksanoiloamino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((2S)-2-(3-(4-chlorobenzyl)-5-metylo-2-okso-1(2H)-pirydynylo)heksanoiloamino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((2S)-2-(3-(3-chlorobenzyl)-5-metylo-2-okso-1(2H)-pirydynylo)heksanoiloamino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((2S)-2-[2-okso-3-(fenylokarbonylo)-1(2H)-pirydynylo]heksanoilo)amino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((2S)-2-[2-okso-3-(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo]heksanoilo)amino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((1-[2-okso-3(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo]cykloheksylo)carbonylo)amino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-((2-[2-okso-5(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo]heksanoilo)amino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-((2-[2-okso-3((2-tiofenylometylo)amino)-1(2H)-pirydynylo]heksanoilo)amino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-((2-[2-okso-3(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo]butanoilo)amino)propanowy

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-((2-[2-okso-3(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo]acetylo)amino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((1-[2-okso-3(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo]cykloheksylo)karbonylo)amino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-([2-[3-[(2chlorofenyl)metylo]-5-metylo-2-okso-1(2H)-pirydynylo]heksanoilo)amino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-((2-(2-okso-5(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo)heksanoilo)amino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-((2-(2-okso-5(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo)pentanoilo)amino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-((2-(2-okso-5(fenylokarbonylo)-1(2H)-pirydynylo)heksanoilo)amino)propanowy,

Kompozycja farmaceutyczna według wynalazku zawierająca fizjologicznie dopuszczalny nośnik, charakteryzuje się tym, że zawiera, co najmniej jeden związek według określonych w niniejszym wynalazku.

Zastosowanie związków określonych w niniejszym wynalazku polega na tym, że stosuje się je do wytwarzania leku do leczenia choroby wybranej selektywnie z grupy obejmującej astmę, miażdżycę, reumatoidalne zapalenie stawów, alergię, stwardnienie rozsiane, toczeń, chorobę zapalną jelit, odrzucenie przeszczepu, nadwrażliwość kontaktową, cukrzycę typu I, białaczkę i raka mózgu.

Zastosowanie wynalazku związane jest z lekiem, który hamuje przyłączenia $\alpha_4\beta_1$ integryny do VCAM-1 i obejmuje ekspozycję komórki wytwarzającej $\alpha_4\beta_1$ integrynę wobec komórki wytwarzającej VCAM-1 w obecności skutecznej ilości związku według wynalazku. VCAM-1 może występować na powierzchni komórki śródbłonka naczyniowego, komórki odslaniającej antygen lub komórki innego typu. $\alpha_4\beta_1$ może występować na białej krwince takiej jak monocyt, limfocyt, granulocyt; komórce macierzystej; lub dowolnej innej komórce, która naturalnie wytwarza $\alpha_4\beta_1$.

Stosowany tu termin „alkil”, sam lub w połączeniu, odnosi się do C₁-C₃ nasyconych węglowodorów, z których usunięto jeden atomu wodoru. Przykłady takich grup alkilowych obejmują metyl, etyl, n-propyl, izo-propyl.

Stosowany tu termin „cykloalkil” odnosi się do alifatycznego układu pierścieniowego mającego 3 do 6 atomów węgla i od 1 do 2 pierścieni, obejmując, lecz nie ograniczając się między innymi do takich jak cyklopropyl, cyklopentyl, lub cykloheksyl. Grupy cykloalkilowe mogą być niepodstawione lub podstawione przez jeden lub dwa podstawniki niezależnie wybrane spośród takich grup jak C₁-C₃alkil, fluorowcoalkil, alkoksyl, tioalkoksyl, amino, alkiloamino, dialkiloamino, hydroksyl, atom fluorowca, merkapto, nitro, karboksyaldehyd, karboksyl, alkoksylkarbonyl i karboksamid. „Cykloalkil” obejmuje formy cis lub trans. Ponadto, podstawniki mogą zajmować pozycje albo endo albo egzo w zmostkowanych układach bicyklicznych.

Stosowany tu termin „fluorowiec” lub „atom fluorowca” odnosi się do I, Br, Cl lub F.

Stosowany tu termin „fluorowcoalkil” odnosi się do niższego rodnika alkilowego, do którego jest przyłączony co najmniej jeden atom fluorowca między innymi np. chlorometyl, fluoroetyl, trifluorometyl i pentafluoroetyl.

Stosowany tu termin „alkoksy”, sam lub w połączeniu, odnosi się do rodnika alkiloeterowego, w którym termin „alkil” ma znaczenie zdefiniowane powyżej. Przykłady odpowiednich rodników alkiloeterowych obejmują między innymi metoksy, etoksy, n-propoksy, izopropoksy.

Stosowany tu termin „karboksylo” odnosi się do rodnika kwasu karboksylowego, -C(O)OH.

Stosowany tu termin „tioalkoksy” odnosi się do rodnika tioeterowego o wzorze alkilo-S-, w którym „alkil” ma znaczenie zdefiniowane poprzednio.

Stosowany tu termin „karboksyaldehyd” odnosi się do grupy -C(O)R, w której R oznacza atom wodoru.

Stosowane tu terminy „karboksamid” lub „amid” odnoszą się do grup -C(O)NR_aR_b, w których R_a i R_b, niezależnie od siebie oznaczają atom wodoru, alkil lub dowolny inny odpowiedni podstawnik.

Stosowany tu termin „karboksyl” odnosi się do -C(O)O. Stosowany tu termin „alkiloamino” odnosi się do grupy R_eNH-, w której R_e oznacza niższą grupę alkilową, między innymi np. etyloamino, propyloamino.

Stosowany tu termin „dialkiloamino” odnosi się do grupy R_fR_gN-, w której R_f i R_g są niezależnie wybrane spośród takich jak niższy alkil między innymi np. metyloetyloamino.

Stosowany tu termin „amino” odnosi się do grupy H₂N-.

Stosowany tu termin „alkoksylkarbonylo” odnosi się do grupy alkoksylowej, jak określono uprzednio, przyłączonej do grupy macierzystej cząsteczki poprzez grupę karbonylową. Przykłady alkoksylkarbonyli obejmują między innymi metoksykarbonyl i etoksykarbonyl.

Stosowany tu termin „arylo” lub „aromatyczny”, sam lub w połączeniu odnosi się do podstawionej lub niepodstawionej karbocyklicznej grupy aromatycznej mającej około 6 do 12 atomów węgla, takiej jak fenyl, naftyl, indenyl, indanyl, azulenyl, fluorenyl i antraceny; lub heterocyklicznej grupy aromatycznej zawierającej co najmniej jeden endocykliczny atom N, O lub S, takiej jak furyl, tienyl, pirydydyl, pirolil, oksazolil, tiazolil, imidazolil, pirazolil, 2-pirazolinyl, pirazolidynyl, izoksazolil, izotiazolil, 1,2,3-oksadiazolil, 1,2,3-triazolil, 1,3,4-tiadiazolil, pirydazynyl, pirymidynyl, pirazynyl, 1,3,5-triazynyl, 1,3,5-tritiany, indolizynyl, indolil, izoindolil, 3H-indolil, indolinyl, benzo[b]furanyl, 2,3-dihydrobenzofuranyl, benzo[b]tiofenyl, 1H-indazolil, benzoimidazolil, benzotiazolil, purynyl, 4H-chinolizynyl, izochinolinyl, cynnolinyl, ftalazynyl, chinazoliny, chinoksaliny, 1,8-naftrydynyl, pterydynyl, karbazolil, akrydynyl, fenazylnyl, fenotiazynyl, fenoksyazylnyl, pirazolo[1,5-c]triazynyl itp. „Aralkil” (aryloalkil) i „alkiloaryl” obejmują termin „alkil” zdefiniowany powyżej. Pierścienie mogą być wielokrotnie podstawione.

Stosowany tu termin aryloalkil, sam lub w połączeniu, odnosi się do rodnika alkilowego podstawionego przez aryl, w którym terminy „alkil” i „aryl” mają zdefiniowane poprzednio znaczenia. Przykłady odpowiednich rodników aralkilowych obejmują między innymi fenylometyl, fenetyl, feniloheksyl, difenylometyl, pirydylometyl, tetrazolil metyl, furylometyl, imidazolilometyl, indolilometyl, tienylopropyl itp.

Stosowany tu termin „tioaryl”, sam lub w połączeniu, odnosi się do rodnika o wzorze arylo-S-, w którym termin „aryl” ma znaczenie poprzednio zdefiniowane. Przykładem tioarylu jest rodnik tiofenylowy.

Zastosowanie powyższych terminów obejmuje podstawione i niepodstawione grupy. Podstawnikami może być jedna lub więcej grup takich jak alkohole, etery, estry, amidy, sulfony, siarczki, hydroksyle, nitro, cyjano, karboksyle, aminy, heteroatomy, niższe alkile, niższe alkoksyle, niższe alkoxykarbonyle, alkoxyalkoksyle, acyloksyle, fluorowce, trifluorometoksyle, trifluorometyle, alkile, aryloalkile, alkenyle, alkinyle, arylo, cyjano, karboksyle, karboalkoksyle, karboksyalokile, cykloalkile, cykloalkiloalkile, heterocyklile, alkiloheterocyklile, heterocykliloalkile, okso, arylosulfonyle i aryloalkiloamino-karbonyle lub dowolne podstawniki według poprzedzających paragrafów lub dowolne z tych podstawników albo przyłączone bezpośrednio albo przez odpowiednie grupy łączące. Grupy łączące typowo są krótkołańcuchowe o 1-3 atomach, zawierające dowolne kombinacje -C-, -C(O)-, -NH-, -S-, -S(O)-, -O-, -C(O)O- lub -S(O)O-. Pierścienie mogą być wielokrotnie podstawione.

Terminy „elektronoakceptorowy” lub „elektronodonorowy” odnoszą się do zdolności podstawnika do odciągania lub dostarczania elektronów względem zdolności wodoru, gdyby wodór zajmował w cząsteczce tę samą pozycję. Terminy te są dobrze zrozumiałe dla fachowców w dziedzinie i omówione w Advanced Organic Chemistry wg. J. March, 1985, str. 16-18, wprowadzonej tu na zasadzie odsyłacza. Grupy elektroakceptorowe obejmują fluorowiec, nitro, karboksyl, niższy alkenyl, niższy alkinyl, karboksoaldehyd, karboksamid, aryl, czwartorzędową grupę amoniową, trifluorometyl i niższy aryloalkanoil. Grupy elektronodonorowe obejmują między innymi grupy takie jak hydroksyl, niższy alkil, amino, niższy alkiloamino, di(niższy alkil)amino, aryloksyl, merkaptol, niższy alkilotio, niższy alkilomerkapto i disiarczek. Fachowiec w dziedzinie doceni, że wymienione podstawniki mogą mieć właściwości elektronodonorowe lub elektroakceptorowe w różnych warunkach chemicznych. Ponadto, niniejszy wynalazek rozważa dowolną kombinację podstawników wybraną spośród powyżej zidentyfikowanych grup.

Najkorzystniejszymi podstawnikami elektronodonorowymi lub elektroakceptorowymi są atom fluorowca, nitro, alkanoil, karboksoaldehyd, aryloalkanoil, aryloksyl, karboksyl, karboksamid, cyjano, sulfonyl, sulfotlenek, heterocyklil, guanidyna, czwartorzędowy amoniowy, niższy alkenyl, niższy alkinyl, sole sulfoniowe, hydroksyl, niższy alkoksyl, niższy alkil, amino, niższy alkiloamino, di(niższy alkil)amino, amina, niższy alkil, merkaptol, merkaptolalkil, alkilotio i alkilotio.

Stosowany tu termin „kompozycja” obejmuje produkt zawierający określone składniki w określonych ilościach, jak również dowolny produkt, który otrzymuje się, bezpośrednio lub pośrednio, z połączenia określonych składników w określonych ilościach.

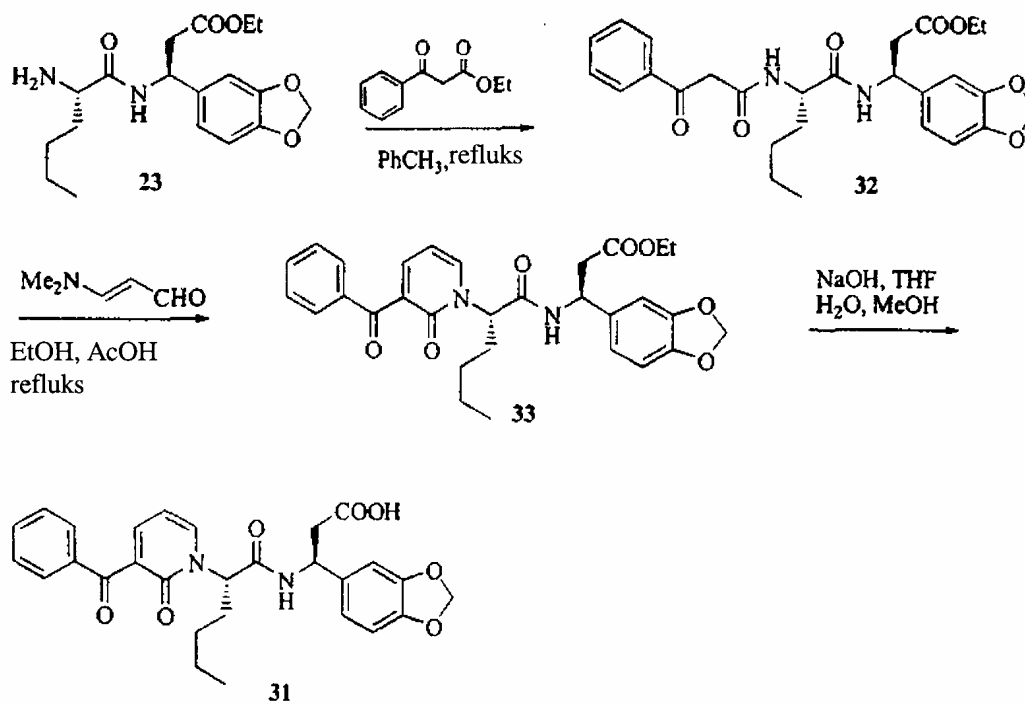
Odpowiednie podstawniki grup takich jak aryl, alkil, cykloalkil, gdy występują, obejmują alkohole, aminy, heteroatomy lub dowolne kombinacje arylo, alkoxy, alkoxyalkoxy, alkilu, lub cykloalkilu przyłączonych albo bezpośrednio, albo poprzez odpowiednie grupy łączące. Grupami łączącymi typowo są krótkie łańcuchy o 1-3 atomach, obejmujące dowolną kombinację C, C=O, CO₂, O, N, S, S=O, SO₂, jak np. między innymi etery, amidy, aminy, moczniki, sulfamidy, sulfonoamidy.

Przykładowo R¹ w ogólnym Wzorze I może niezależnie oznaczać: tienylometyl, 2-tienylometyl, 1,3-tiazol-2-ilometyl, benzyl, tienyl, 3-pirydynylometyl, 3-metylo-1-benzotiofen-2-yl, allil, 3-metoksybenzyl, propyl, 2-etoksyetyl, 2-pirydynyloetyl, 2-(1H-indol-3-ilo)etyl, 1H-benzoimidazol-2-il, 4-piperidynylometyl, 4-metoksyfenyl, 4-chlorofenyl, 2-metylofenyl, izopropyl, 2-okso-1-pirolidynyl.

Skróty stosowane na schematach i w poniższych przykładach oznaczają: BOC dla t-butyloksykarbonylu; EtOAc dla octanu etylu; DMF dla dimetyloformamidu; THF dla tetrahydrofuranu; Tos dla p-toluenosulfonylu; DCC dla dicykloheksylokarbodiimidu; HOBT dla 1-hydroksybenzotriazolu; TFAA dla bezwodnika trifenylooctowego; NMM dla N-metylomorfoliny; DIPEA dla diizopropylometyloaminy; DCM dla dichlorometanu; LHMDs dla heksametylodisilazydku litu; NHMDs dla heksametylodisilazydku sodu; CDI dla 1,1'-karbonylodiimidazolu; HBTU dla heksafluorofosforanu O-benzotriazol-1-ilo-N,N,N',N'-tetrametyluronowego, EDCI dla chlorowodoru 1-[3-(dimetyloamino)propyl]-3-etylokarbodiimidu i TBS dla solanki buforowanej TRIS. Dla aminokwasów zastosowano następujące skróty: C dla L-cysteiny; D dla kwasu L-asparaginowego; E dla kwasu L-glutaminowego; G dla glicyny; H dla L-histydyny; I dla L-izoleucyny; L dla L-leucyny; N dla L-asparaginy; P dla L-proliny; Q dla L-glutaminy; S dla L-seryny; T dla L-treoniny; V dla L-waliny i W dla L-tryptofanu.

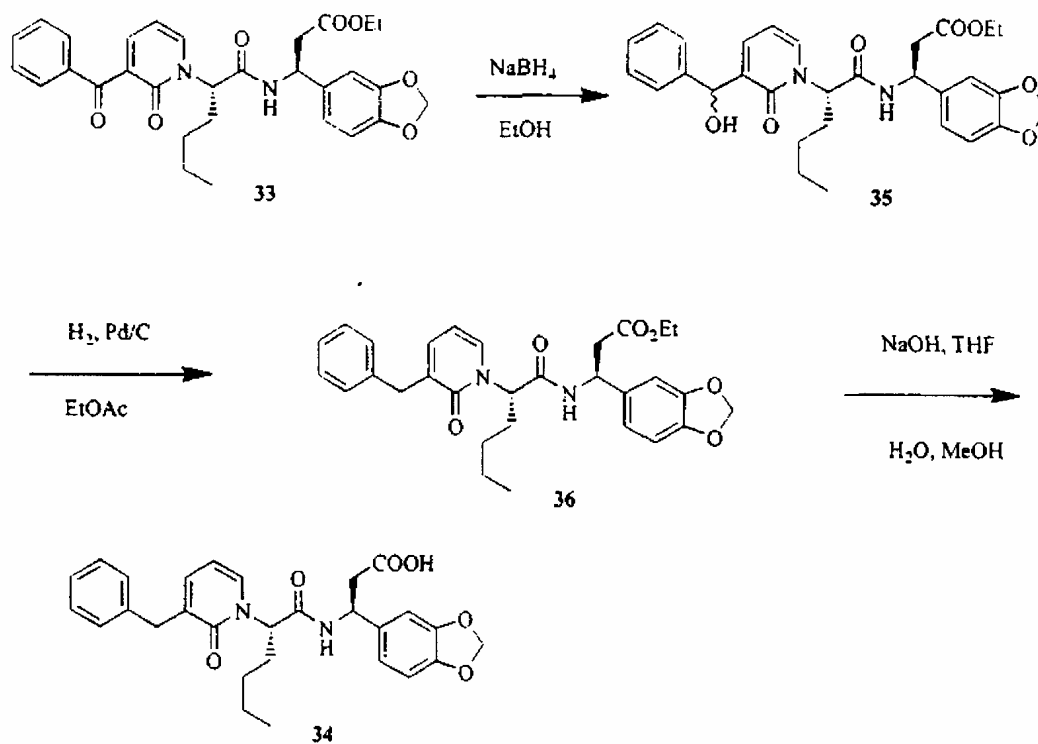
Przykłady procedur stosowanych przy syntezie związków zilustrowano następującymi schematami.

Schemat 3, przedstawiony poniżej, ilustruje procedurę opisaną w Przykładzie 11.



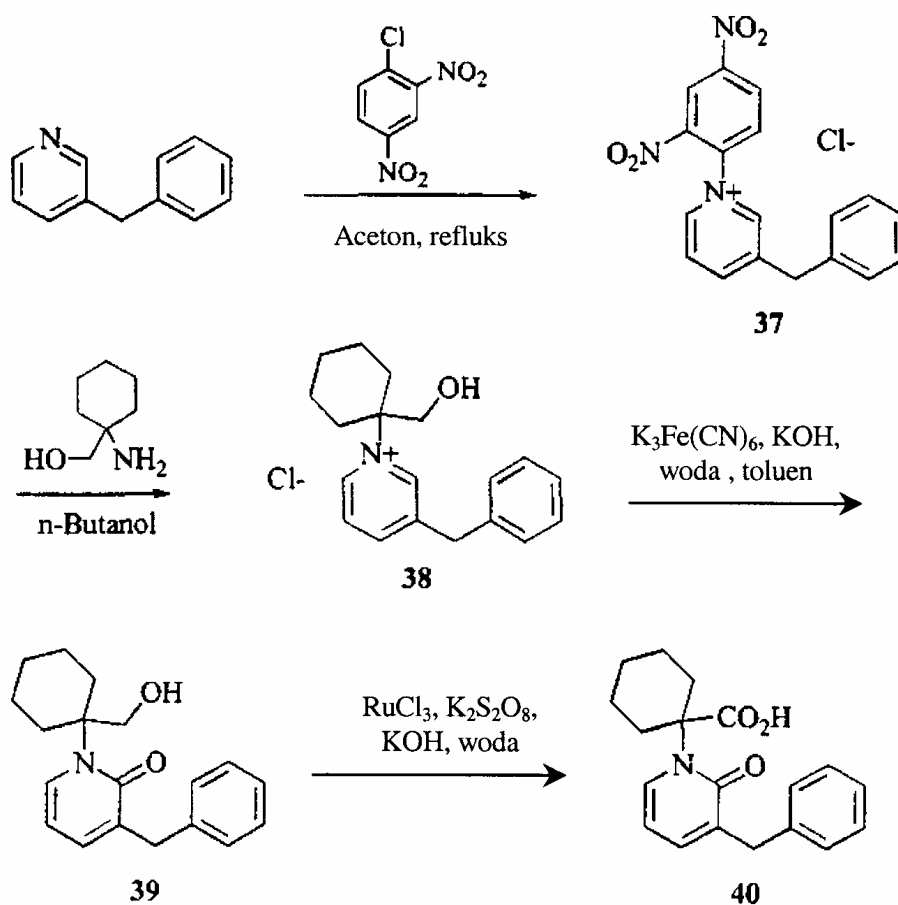
Schemat 3

Schemat 4, przedstawiony poniżej, ilustruje Przykład 12.



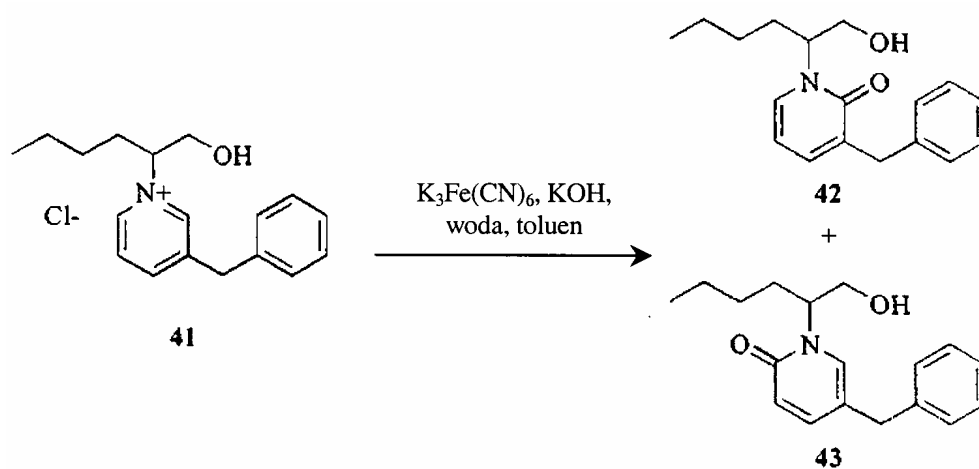
Schemat 4

Schemat 5, przedstawiony poniżej, ilustruje procedurę z Przykładu 13.



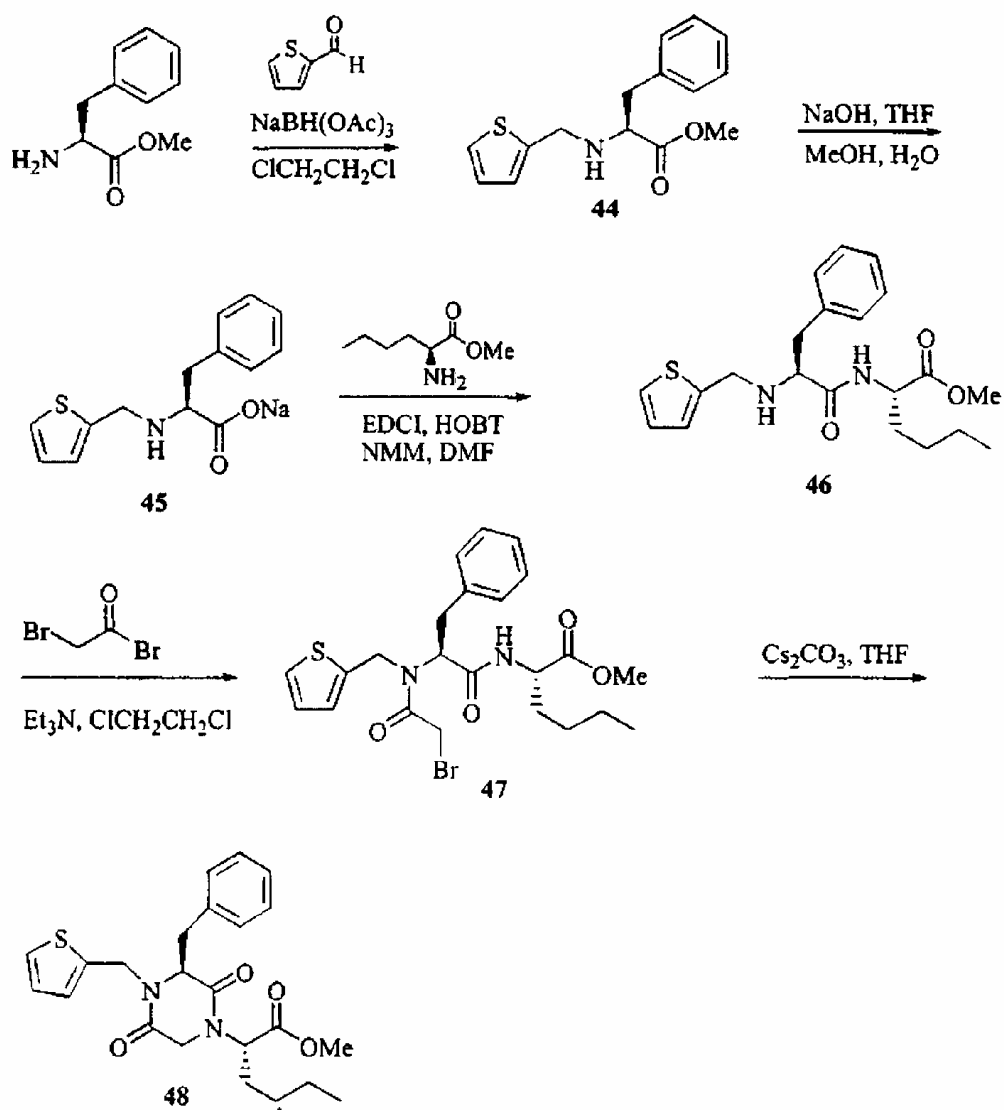
Schemat 5

Schemat 6, przedstawiony poniżej, ilustruje procedurę opisaną w Przykładzie 14.



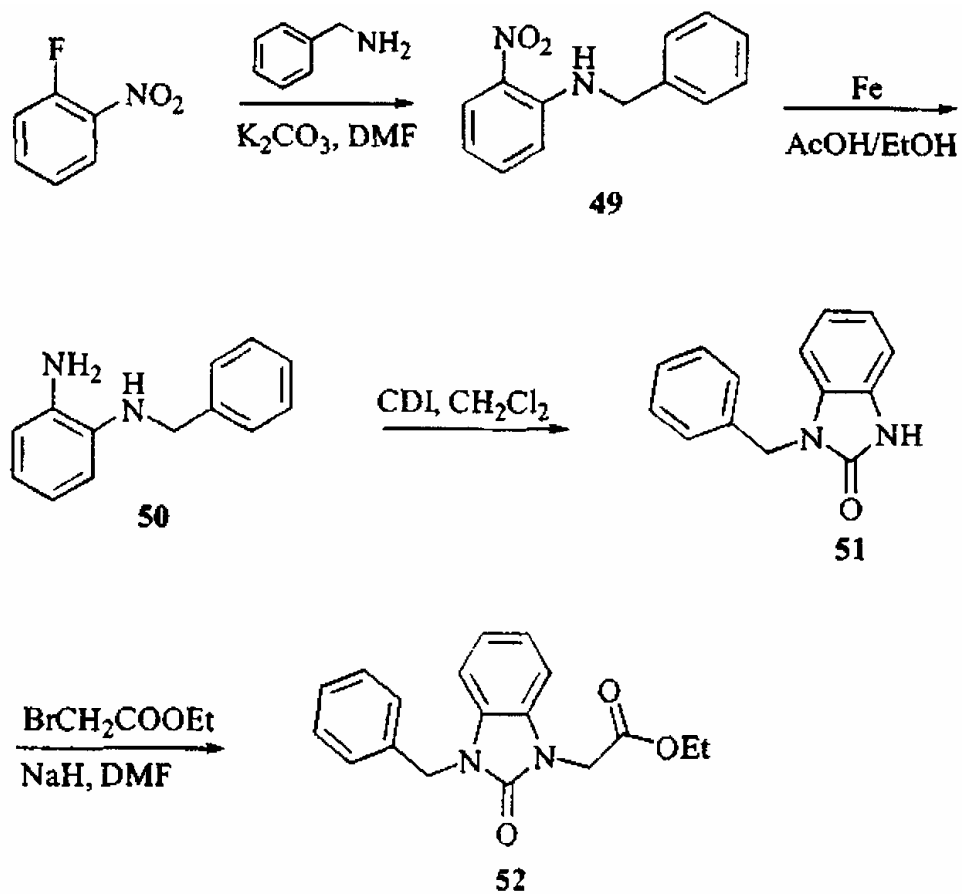
Schemat 6

Schemat 7, przedstawiony poniżej, ilustruje procedurę opisaną w Przykładzie 15.



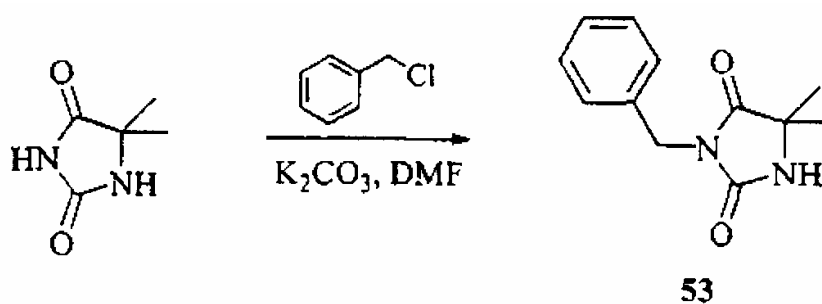
Schemat 7

Schemat 8, przedstawiony poniżej, ilustruje procedurę opisaną w Przykładzie 16.



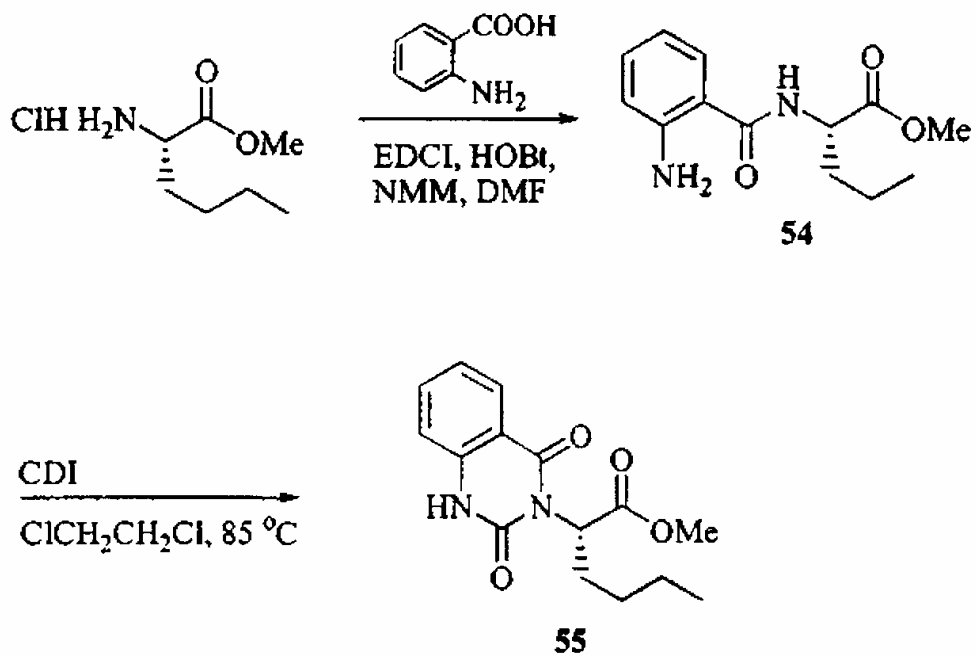
Schemat 8

Schemat 9, przedstawiony poniżej, ilustruje procedurę opisaną w Przykładzie 17.



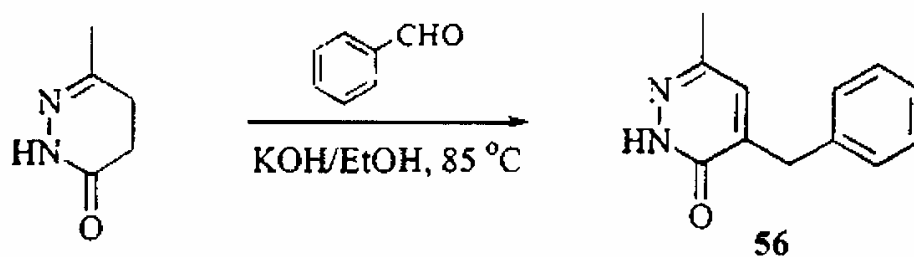
Schemat 9

Schemat 10, przedstawiony poniżej, ilustruje procedurę opisaną w Przykładzie 18.



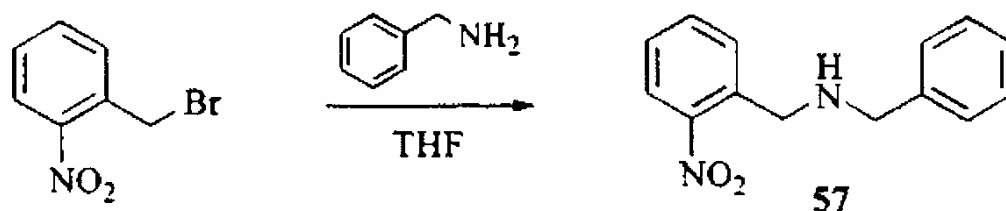
Schemat 10

Schemat 11, przedstawiony poniżej, ilustruje procedurę opisaną w Przykładzie 19.



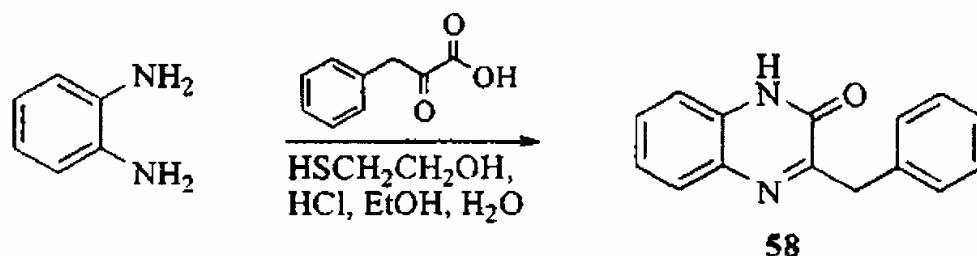
Schemat 11

Schemat 12, przedstawiony poniżej, ilustruje procedurę opisaną w Przykładzie 20.



Schemat 12

Schemat 13, przedstawiony poniżej, ilustruje procedurę opisaną w Przykładzie 21.



Szczegółowy opis przygotowania reprezentatywnych związków według wynalazku podano w Przykładach.

Związki według wynalazku można stosować w postaci farmaceutycznie dopuszczalnych soli pochodzących od kwasów nieorganicznych lub organicznych. Wyrażenie „farmaceutycznie dopuszczalna sól” oznacza sole, które, zgodnie z wiedzą medyczną, są odpowiednie do zastosowania w kontakcie z tkankami ludzi i niższych zwierząt bez nadmiernej toksyczności, podrażnienia, reakcji alergicznej itp. i są współmierne do rozsądnych wartości stosunku zysk/ryzyko. Farmaceutycznie dopuszczalne sole są dobrze znane w dziedzinie. Np. S. M. Berge i in. opisują szczegółowo farmaceutycznie dopuszczalne sole w J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66: 1 i kolejne. Sole te można wytworzyć in situ podczas końcowego rozdzielania i oczyszczania związków według wynalazku lub oddzielnie, poprzez poddanie reakcji wolnej zasady z odpowiednim kwasem organicznym. Reprezentatywne kwasowe sole addycyjne obejmują, lecz nie ograniczają się do takich jak octan, adypinian, alginian, cytrynian, asparaginian, benzoosan, benzenosulfonian, wodorosiarczan, maślan, kamforan, kamforosulfonian, diglukonian, glicerofosforan, hemisiarczan, heptanonian, heksanonian, fumaran, chlorowodorek, bromowodorek, jodowodorek, 2-hydroksyetanosulfonian (izotionian), mleczan, maleinian, metanosulfonian, nikotynian, 2-naftalenosulfonian, szczawian, palmitynian, pektynian, nadtlenosiarczan, 3-fenylpropionian, pikrynian, piwalan, propionian, bursztynian, winian, tiocyjanian, fosforan, glutaminian, wodorowęglan, p-toluenosulfonian i undekanonian. Także zasadowe grupy zawierające atom azotu mogą być czwartorzędowane z takimi środkami jak halogenki niższego alkilu takie jak chlorki, bromki i jodki metylu, etylu, propylu i butylu; dialkilościany takie jak siarczany dimetylu, dietylu, dibutylu i diamylu; długołańcuchowe halogenki takie jak chlorki, bromki i jodki decylu, laurylu, mirystylu i stearylu; halogenki aryloalkili takie jak bromki benzylu i fenetylu i inne. W ten sposób otrzymuje się produkty dające się zdyspergować lub rozpuścić w wodzie lub w oleju. Przykłady kwasów, które można stosować do wytwarzania farmaceutycznie dopuszczalnych kwasowych soli addycyjnych obejmują kwasy nieorganiczne takie jak kwas chlorowodorowy, kwas bromowodorowy, kwas siarkowy i kwas fosforowy i takie kwasy organiczne jak kwas szczawiowy, kwas maleinowy, kwas bursztynowy i kwas cytrynowy.

Zasadowe sole addycyjne można wytworzyć in situ podczas końcowego rozdzielania i oczyszczania związków według wynalazku poprzez poddanie reakcji grupy zawierającej kwas karboksylowy

z odpowiednią zasadą taką jak wodorotlenek, węglan lub wodorowęglan kationu metalu farmaceutycznie dopuszczalnego lub z amoniakiem lub organiczną, pierwszorzędową, drugorzędową lub trzeciorzędową aminą. Farmaceutycznie dopuszczalne sole obejmują między innymi kationy metali alkalicznych lub metali ziem alkalicznych, jak sole litu, sodu, potasu, wapnia, magnezu i glinu itp., oraz nietoksyczne kationy czwartorzędowe amoniaku i aminy, obejmujące między innymi sole amoniowe, tetrametyloamoniowe, tetraetyloamoniowe, metyloamoniowe, dimetyloamoniowe, trimetyloamoniowe, trietyloamoniowe, dietyloamoniowe i etyloamoniowe. Inne reprezentatywne organiczne aminy przydatne do powstawania soli addycyjnych z zasadami obejmują etylenodiaminę, etanoloaminę, dietanoloaminę, piperydynę, piperazynę itp.

Postacie dawkowania do miejscowego podawania związku według wynalazku obejmują proszki, spraye, maście i środki do inhalacji. Związek aktywny miesza się w sterylnych warunkach z farmaceutycznie dopuszczalnym nośnikiem i dowolnymi potrzebnymi środkami konserwującymi, buforami lub propelentami, które mogą być wymagane. Preparaty oczne, maście do oczu, proszki i roztwory są także objęte zakresem wynalazku.

Faktyczne poziomy dawkowania aktywnych składników w kompozycjach farmaceutycznych według wynalazku można zmieniać, uzyskując ilość aktywnego związku (związków) która jest skuteczna do osiągnięcia pożądanej odpowiedzi terapeutycznej u poszczególnego pacjenta, kompozycji i sposobu podawania. Wybrany poziom dawkowania będzie zależał od aktywności poszczególnego związku, sposobu podawania, stopnia zaawansowania stanu leczonego i warunków i dotychczasowej historii choroby leczonego pacjenta. Jednakże znane w dziedzinie jest rozpoczęcie od dawek związku mniejszych niż wymagane do osiągnięcia pożądanego efektu terapeutycznego i stopniowe zwiększanie dawki aż do osiągnięcia pożądanego efektu.

Stosowaną w powyższym lub innych leczeniach terapeutycznie skuteczną ilość jednego ze związków według niniejszego wynalazku można stosować w postaci czystej lub, gdy takie postacie występują, w postaci farmaceutycznie dopuszczalnej soli, estru lub proleku. Alternatywnie, związek można podawać w formie kompozycji farmaceutycznej zawierającej konkretny związek w połączeniu z jednym lub więcej farmaceutycznie dopuszczalnych rozczynników. Wyrażenie „terapeutycznie skuteczna ilość” związku według wynalazku oznacza wystarczającą ilość związku do leczenia zaburzenia, przy rozsądnej wartości stosunku korzyść/ryzyko, odpowiedniej do dowolnego leczenia. Zrozumiałe będzie jednakże, że ogólne dzienne użycie związków i kompozycje według niniejszego wynalazku zostanie ustalone przez lekarza leczącego, zgodnie z wiedzą medyczną. Specyficzna terapeutycznie skuteczna wielkość dawki dla dowolnego poszczególnego pacjenta będzie zależała od rozmaitych czynników, obejmujących rodzaj choroby i stan zaawansowania choroby; aktywność specyficznego zastosowanego związku; zastosowaną specyficzną kompozycję; wiek, masę ciała, ogólny stan zdrowia, płeć i dietę pacjenta; czas podawania, sposób podawania i szybkość wydalania stosowanego specyficznego związku; czas trwania leczenia; leki stosowane w połączeniu lub przypadkowo ze stosowanym specyficznym związkiem; i takie jak czynniki dobrze znane w medycynie. Np. jest dobrze znane w dziedzinie zapoczątkowanie dawki związku na poziomie niższym niż wymagany do osiągnięcia pożądanego efektu terapeutycznego i stopniowe zwiększanie dawkowania aż do osiągnięcia pożądanego efektu.

Ogólna dzienna dawka związków według wynalazku podawana ludziom lub niższemu zwierzęciu mieści się w zakresie od około 0,0001 do około 1000 mg/kg/dzień. Dla celów podawania doustnego, bardziej korzystnie mogą być dawki w zakresie od około 0,001 do około 5 mg/kg/dzień. Jeśli to pożądane, skuteczną dzienną dawkę można podzielić na wiele dawek do podawania; w konsekwencji, kompozycje pojedynczej dawki mogą zawierać takie ilości lub ich podporcje tworzące dzienną dawkę.

Niniejszy wynalazek obejmuje także kompozycje farmaceutyczne, które zawierają związki według niniejszego wynalazku skomponowane razem z jednym lub więcej nietoksycznych, farmaceutycznie dopuszczalnych nośników. Kompozycje farmaceutyczne można szczególnie komponować do podawania doustnego w postaci stałej lub ciekłej, do iniekcji pozajelitowej lub do podawania doodbytniczego.

Kompozycje farmaceutyczne według wynalazku można podawać u ludzi i innych ssaków doustnie, doodbytniczo, pozajelitowo, dożbiornikowo, dopochwowo, dootrzewnowo, miejscowo (jako proszki, maście lub krople), policzkowo lub jako doustny lub donosowy spray. Stosowany tu termin „pozajelitowo” odnosi się do sposobów podawania obejmujących iniekcję dożylnie, domięśniowo, dootrzewnowo, domostkowo, podskórną i dostawowo oraz wlew.

Zgodnie z innym aspektem, niniejszy wynalazek obejmuje kompozycję farmaceutyczną zawierającą składnik według niniejszego wynalazku i fizjologicznie tolerowany rozcieńczalnik. Niniejszy

wynalazek obejmuje jeden lub więcej związków opisanych powyżej, skomponowanych w kompozycji razem z jednym lub więcej nietoksycznych fizjologicznie tolerowanych lub dopuszczalnych rozcieńczalników, nośników, środków wspomagających lub rozczynników, które ogólnie opisuje się tu jako rozcieńczalniki między innymi do iniekcji pozajelitowo, do dostarczania donosowo, do podawania doustnego w postaci stałej lub ciekłej, do podawania doodbytniczo lub miejscowo.

Kompozycje można także dostarczać poprzez cewnik w celu miejscowego dostarczania w miejsce docelowe, poprzez stent do naczynia wieńcowego, albo poprzez biodegradowalny polimer. Związki do dostarczania celowego można także kompleksować ligandami, takimi jak przeciwciała.

Kompozycje odpowiednie do iniekcji pozajelitowo mogą obejmować fizjologicznie dopuszczalne, sterylne wodne lub niewodne roztwory, dyspersje, zawiesiny lub emulsje i sterylne proszki do przywrócenia do pierwotnej postaci sterylnych roztworów lub dyspersji do wstrzykiwania. Przykłady odpowiednich wodnych i niewodnych nośników, rozcieńczalników, rozpuszczalników lub rozczynników obejmują wodę, etanol, poliole (glikol propylenowy, poli(glikol etylenowy), glicerol, itp.), oleje roślinne (takie jak oliwa z oliwek), estry organiczne do wstrzykiwania takie jak oleinian etylu i odpowiednie ich mieszaniny.

Kompozycje te mogą także zawierać środki wspomagające takie jak środki konserwujące, zwilżające, emulgujące i dozujące. Zapobieganie działaniu mikroorganizmów można zapewnić przez różne środki przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze, np. parabeny, chlorobutanol, fenol, kwas sorbinowy, itp. Może także być pożądane dodanie środków izotonicznych, np. cukrów, chlorku sodu itp. Przedłużoną absorpcję postaci farmaceutycznej do wstrzykiwania można uzyskać przez zastosowanie środków opóźniających absorpcję, np. monostearynianu glinu i żelatyny.

Zawiesiny, oprócz aktywnych związków, mogą zawierać emulgatory, jak np. etoksylované alkohole izostearylowe, polioksyetylenowany sorbitol i estry sorbitolu, mikrokrystaliczna celuloza, metawodorotlenek glinu, bentonit, agar-agar i guma tragakantowa, albo mieszaniny tych substancji itp.

Odpowiednią płynność można utrzymać, na przykład stosując materiały powlekające takie jak lecytyna, utrzymując wymagany rozmiar cząstki w przypadku zawiesin i stosując środki powierzchniowo czynne.

W pewnych przypadkach, w celu przedłużenia wpływu leku, pożądane jest spowolnienie absorpcji leku z podskórnej lub domięśniowej iniekcji. Można to przeprowadzić przez zastosowanie ciekłej zawiesiny krystalicznej lub bezpostaciowej substancji o słabej rozpuszczalności w wodzie. Stopień absorpcji leku zależy ponadto od jego szybkości rozpuszczania, który z kolei może zależeć od wymiaru kryształu i postaci krystalicznej. Alternatywnie, opóźnioną absorpcję z podawania pozajelitowego postaci leku przeprowadza się przez rozpuszczenie lub zawieszenie leku w rozczynniku olejowym.

Formy depotu do wstrzykiwania wytwarza się tworząc matryce mikrokapsułkowanego leku w biodegradowalnych polimerach takich jak polilaktyd-poliglikolid. Szybkość uwalniania leku może być kontrolowana zależnie od proporcji leku do polimeru i własności poszczególnego stosowanego polimeru. Przykłady innych biodegradowalnych polimerów obejmują poli(ortoestry) i poli(bezwodniki). Preparaty depotu do wstrzykiwania wytwarza się także przez zatrzymanie leku w liposomach lub mikroemulsjach, które są kompatybilne z tkankami ciała. Preparaty do wstrzykiwania można sterylizować np. przez filtrację poprzez filtr zatrzymujący bakterie lub metodą włączania środków sterylizujących w postaci sterylnych stałych kompozycji, które można rozpuszczać lub rozpraszać w sterylnej wodzie lub innym sterylnym medium do wstrzykiwania bezpośrednio przed użyciem.

Stale postaci dawkowania do podawania doustnego obejmują kapsułki, tabletki, pigułki, proszki i granulki. W takich stałych postaciach dawkowania aktywny związek można mieszać z co najmniej jednym obojętnym, farmaceutycznie dopuszczalnym rozczynnikiem lub nośnikiem, takim jak cytrynian sodu lub fosforan dwuwapniowy i/lub a) wypełniacze lub obciążacze takie jak skrobie, laktoza, sacharoza, glukoza, mannitol i kwas krzemowy; b) spoiwa takie jak karboksymetyloceluloza, alginiany, żelatyna, poliwinylpirolidon, sacharoza i guma arabska; c) środki utrzymujące wilgoć takie jak glicerol; d) środki rozdrabniające takie jak agar-agar, węglan wapnia, skrobia ziemniaczana lub z tapioki, kwas alginowy, pewne krzemiany i węglan sodu; e) środki opóźniające roztwarzanie takie jak parafina; f) przyspieszacze absorpcji takie jak czwartorzędowe związki amoniowe; g) środki zwilżające takie jak alkohol cetylowy i monostearynian glicerolu; h) absorbenty takie jak kaolin i glinka bentonitowa i i) lubrykanty takie jak talk, stearynian wapnia, stearynian magnezu, stałe poli(glikole etylenowe), laurylosiarczan sodu i ich mieszaniny. W przypadku kapsułek, tabletek i pigułek postać dawkowania może także obejmować środki buforujące.

Stale kompozycje podobnego typu można także stosować jako wypełniacze w wypełnianych miękkich i twardych kapsułkach żelatynowych stosując takie rozczynniki jak laktoza lub cukier mleko-

wy, jak również poli(glikole etylenowe) o dużej masie cząsteczkowej itp. Stałe postacie dawkowania tabletki, drażetki, kapsułki, pigułki i granulki można wytwarzać z powłokami i osłonami takimi jak powłoczenia zabezpieczające przed działaniem soku żołądkowego i inne powłoki dobrze znane w dziedzinie kompozycji farmaceutycznych. Mogą one ewentualnie zawierać środki zmętniające i mogą także mieć taki skład, aby uwalniały aktywny składnik (składniki) tylko lub preferencyjnie, w określonej części przewodu jelitowego, ewentualnie w sposób opóźniony. Przykłady substancji zatapiających, które można stosować obejmują substancje polimeryczne i woski.

Aktywne związki mogą być także w postaci mikrokapsułkowanej, ewentualnie z jednym lub więcej z wyżej wymienionych rozczynników.

Ciekłe postacie dawkowania do podawania doustnego obejmują farmaceutycznie dopuszczalne emulsje, roztwory, zawiesiny, syropy i eliksiry. Oprócz związków aktywnych, ciekłe postacie dawkowania mogą zawierać obojętne rozcieńczalniki powszechnie stosowane w dziedzinie, takie jak np. woda lub inne rozpuszczalniki, środki rozpuszczające i emulgatory takie jak alkohol etylowy, alkohol izopropylowy, węglan etylu, octan etylu, alkohol benzylowy, benzoesan benzylu, glikol propylenowy, 1,3-butylenoglikol, dimetyloformamid, oleje (w szczególności oleje z nasion bawełny, orzechów ziemnych, kukurydzy, kiełków, z oliwek, olej rycynowy i olej sezamowy), glicerol, alkohol tetrahydrofurfurylowy, poli(glikole etylenowe) i estry kwasu tłuszczowego sorbitolu i ich mieszaniny.

Oprócz obojętnych rozcieńczalników doustne kompozycje mogą także obejmować środki wspomagające takie jak środki zwilżające, emulgujące i zawieszające, słodzące, smakowe i środki zapachowe.

Kompozycje do podawania doodbytniczego lub dopochwowego to korzystnie czopki, które można wytworzyć przez zmieszanie związków według wynalazku z odpowiednimi niedrażniącymi rozczynnikami lub nośnikami takimi jak masło kakaowe, glikol polietylenowy lub wosk czopkowy, które są stałe w temperaturze pokojowej, lecz ciekłe w temperaturze ciała, a zatem topią się w odbycie lub jamie pochwy i uwalniają związek aktywny.

Związki według niniejszego wynalazku można także podawać w postaci liposomów. Znane jest w dziedzinie, że liposomy na ogół pochodzą od fosfolipidów lub innych substancji lipidowych. Liposomy tworzone są przez jedno- lub wielowarstwowe struktury ciekłokrystaliczne zawieszane w środowisku wodnym. Można stosować dowolny nietoksyczny, fizjologicznie dopuszczalny i metabolizowalny lipid zdolny do tworzenia liposomów. Kompozycje według niniejszego wynalazku w postaci liposomu mogą zawierać, oprócz związku według niniejszego wynalazku, stabilizatory, środki konserwujące, rozczynniki itp. Korzystnymi lipidami są lipidy naturalne i syntetyczne fosfolipidy i fosfatydylocholino (lecytyny) stosowane oddzielnie lub razem.

Metody tworzenia liposomów są znane w dziedzinie. Patrz np. Prescott, Ed., *Methods in Cell Biology*, Tom XIV, Academic Press, Nowy Jork, N. Y. (1976), strona 33 i kolejne.

Stosowany tu termin „farmaceutycznie dopuszczalne proleki” oznacza te proleki związków według niniejszego wynalazku, które są, zgodnie z wiedzą medyczną, odpowiednie do zastosowania w kontakcie z tkankami ludzi i niższych zwierząt bez nadmiernej toksyczności, podrażnienia, reakcji alergicznej itp., odpowiadających rozsądnym wartościom stosunku zysk/ryzyko i skuteczne w ich zamierzonym zastosowaniu, jak również postacie dwubiegunowe, jeśli to możliwe, związków według wynalazku. Proleki według niniejszego wynalazku mogą być szybko przekształcone *in vivo* w związek macierzysty o powyższym wzorze, np. w wyniku hydrolizy we krwi. Dokładne omówienie zawiera T. Higuchi i V. Stella, *Pro-drugs as Novel Delivery Systems*, Tom 14 A. C. S. Symposium Series, oraz w Edward B. Roche, wydanie *Bioreversible Carriers in Drug Design*. American Pharmaceutical Association i Pergamon Press (1987), niniejszym załączone na zasadzie odsyłacza.

Związki według wynalazku mogą występować w postaci stereoizomerów, w których występują centra asymetryczne lub chiralne. Są to stereoizomery „R” lub „S”, zależnie od konfiguracji podstawników wokół chiralnego atomu węgla. Niniejszy wynalazek obejmuje różne stereoizomery i ich mieszaniny. Stereoizomery obejmują enancjomery i diastereomery i mieszaniny enancjomerów lub diastereomerów. Poszczególne stereoizomery związków według niniejszego wynalazku można wytworzyć syntetycznie z dostępnych w handlu substancji wyjściowych, które zawierają centra asymetryczne lub chiralne lub metodą otrzymywania mieszanin racemicznych, a następnie rozdzielanie dobrze znane fachowcom w dziedzinie.

Sposoby rozdzielania obejmują przykładowo (1) przyłączenie mieszaniny enancjomerów do chiralnej substancji pomocniczej, rozdzielanie uzyskanej mieszaniny diastereomerów metodą rekryystalizacji lub chromatografii i oddzielanie optycznie czystego produktu od substancji pomocniczej lub (2)

bezpośrednie rozdzielanie mieszaniny enancjomerów optycznych z zastosowaniem chiralnej kolumny chromatograficznej.

Związki według wynalazku mogą występować w postaci niesolwatowanej jak również solwatowanej, obejmujące postaci hydratowane, takie jak hemihydraty. Ogólnie, dla celów wynalazku postaci solwatowane, z farmaceutycznie dopuszczalnymi rozpuszczalnikami takimi jak między innymi woda i etanol są równoważne postaciom niesolwatowanym.

Komórką wytwarzającą $\alpha_4\beta_1$ integrynę może być naturalnie występująca krwinka biała, komórka tuczna lub komórka innego typu, która naturalnie posiada zdolność ekspresji $\alpha_4\beta_1$ na powierzchni komórki lub komórka transfekowana wektorem ekspresji, który zawiera polinukleotyd (np. genomowy DNA lub cDNA), kodujący $\alpha_4\beta_1$ integrynę. Najczęściej, $\alpha_4\beta_1$ integryna występuje na powierzchni krwinki białej takiej jak monocyt, limfocyt lub granulocyt (np. eozynofil lub bazofil).

Komórką dającą ekspresję VCAM-1 może być naturalnie występująca komórka (np. komórka śródbłonna) lub komórka transfekowana wektorem ekspresji zawierającym polinukleotyd kodujący VCAM-1. Metody wytwarzania transfekowanych komórek z ekspresją VCAM-1 są dobrze znane w dziedzinie.

Gdy VCAM-1 istnieje na powierzchni komórki, ekspresję tego VCAM-1 najczęściej wywołują cytokiny zapalne takie jak czynnik α martwicy guza $TNF\alpha$, interleukina-4 i interleukina-1 β .

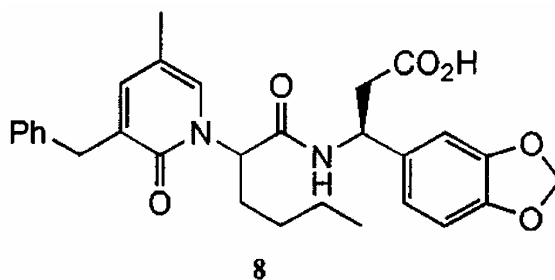
Gdy komórki wytwarzające $\alpha_4\beta_1$ integryny i VCAM-1 znajdują się w żywym organizmie, związek według niniejszego wynalazku podaje się w skutecznej ilości żywemu organizmowi. Korzystnie związek znajduje się w kompozycji farmaceutycznej według wynalazku. Sposób według niniejszego wynalazku jest szczególnie przydatny do wytwarzania leku do leczenia chorób związanych z niekontrolowaną migracją krwinek białych do uszkodzonej tkanki. Takie choroby obejmują między innymi astmę, miażdżycę naczyń, reumatoidalne zapalenie stawów, alergię, stwardnienie rozsiane, toczeń, chorobę zapalną jelit, odrzucenie przeszczepu, nadwrażliwość kontaktową, cukrzycę typu I, białaczkę i raka mózgu. Podawanie korzystnie wykonuje się wewnątrznaczyniowo, podskórnym, donosowo, przezskórnym lub doustnie.

Białko, do którego przyłącza się $\alpha_4\beta_1$ integryna może być wytwarzane albo na powierzchni komórki albo być częścią macierzy pozakomórkowej. Szczególnie korzystne białka to fibronektyna lub inwazyjna.

Zdolność związków według niniejszego wynalazku do hamowania wiązania opisano szczegółowo w przykładach przedstawionych poniżej. Przykłady te przedstawia się w celu opisu korzystnych rozwiązań i zastosowań według wynalazku i nie mają one na celu ograniczenia wynalazku, jeśli nie określono tego inaczej w załączonych zastrzeżeniach patentowych.

Przykład 1

Związek 8, kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-((2R,S)-2-(3-benzylo-5-metylo-2-okso-1(2H)-pirydynylo)heksanoiloamino)propanowy, o budowie przedstawionej poniżej, zsyntetyzowano następująco.



Struktury związków zidentyfikowanych numerami w tym Przykładzie występują na Schemacie 1 powyżej

Etap 1: Roztwór 540 mg chlorowodoru estru metylowego kwasu 2-aminoheksanowego 1 w 20 ml chlorku metylenu przemyto nadmiarem nasyconego wodorowęglanu sodu. Warstwę organiczną oddzielono, wysuszono nad siarczanem magnezu i zateżono pod próżnią otrzymując 365 mg estru metylowego kwasu 2-aminoheksanowego jako bezbarwny olej. Materiał ten połączono z 5 ml benzenu, 0,28 ml aldehydu propionowego i nadmiarem siarczanu magnezu. Po mieszanii przez 15 minut, mieszaninę reakcyjną odsączono i zateżono pod próżnią otrzymując 420 mg związku 2 jako bezbarwny olej. Związek 2 stosowano bezpośrednio bez dalszego oczyszczania.

Etap 2: Do łaźni lodowej dodano schłodzony roztwór 1050 mg związku 2 w 10 ml eteru dietylowego, w atmosferze azotu, dodano 0,80 ml trietyloaminy i roztwór 964 mg chlorku 3-fenylpropanoilu

w 2 ml eteru dietylowego. Łażnię lodową usunięto i mieszaninę reakcyjną mieszano przez 30 minut. Mieszaninę reakcyjną następnie zatężono pod próżnią i pozostałość dalej rozdzielono chromatograficznie na żelu krzemionkowym stosując 15% octan etylu / heksan jako eluent otrzymując 468 mg związku 3 jako bezbarwny olej. Związek 3: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ 0,87 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H), 1,26 (m, 4H), 1,68 (dd, $J = 7,0, 1,1$ Hz, 3H), 1,74 (m, 1H), 1,97 (m, 1H), 2,70 (t, $J = 7,9$ Hz, 2H), 2,96 (t, $J = 7,9$ Hz, 2H), 3,68 (s, 3H), 4,96 (dd, $J = 10,1, 5,3$ Hz, 1H), 5,32 (dq, $J = 13,9, 7,0$ Hz, 1H), 6,13 (dd, $J = 13,9, 1,1$ Hz, 1H), 7,20 (m, 2H), 7,25 (m, 3H).

Etap 3: N,N-Dimetyloformamid (1,63 ml) dodano wkraplając do schłodzonej w lodzie kolby zawierającej 4,57 ml tlenochloru fosforu szczelnie zamkniętej w atmosferze azotu. Po 5 minutach, roztwór reakcyjny przelano do kolby zawierającej 2,22 mg związku 3. Tę mieszaninę mieszano w temperaturze pokojowej w atmosferze azotu przez 2 godziny i następnie ogrzewano w 75°C przez 46 godzin. Ciemno zabarwioną mieszaninę reakcyjną wylano na lód i zmieszano z nadmiarem wodorowęglanu sodu i octanu etylu. Mieszaninę nasycono chlorkiem sodu i warstwę organiczną oddzielono. Warstwę wodną ekstrahowano (3 x 100 ml) octanem etylu. Połączone substancje organiczne wysuszono nad siarczanem magnezu i zatężono pod próżnią otrzymując 1,70 mg ciemno zabarwionego oleju. Ekstrakcja warstwy wodnej chlorkiem metylenu (3 X) pozwoliła otrzymać dodatkowo 200 mg materiału po suszeniu (MgSO_4) i kondensacji w próżni. Połączone pozostałe oleje dalej oczyszczano chromatograficznie na żelu krzemionkowym stosując 20% - 25% octan etylu / heksan jako eluent i otrzymując 815 mg związku 4 jako żółty olej. Związek 4: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ 0,87 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H), 1,18 (m, 1H), 1,31 (m, 3H), 1,87 (m, 1H), 2,00 (d, $J = 0,7$ Hz, 3H), 2,16 (m, 1H), 3,72 (s, 3H), 3,85 (br. s, 2H), 5,57 (dd, $J = 10,1, 5,7$ Hz, 1H), 6,82 (br. s, 1H), 6,94 (br. s, 1H), 7,23 (m, 3H), 7,30 (m, 2H).

Etap 4: Do roztworu 86 mg związku 4 w 3 ml tetrahydrofuranu dodano 1 ml 2N wodorotlenku sodu i 2 ml metanolu. Po całkowitej hydrolizie, mieszaninę reakcyjną zakwaszono 2N kwasem solnym i nasycono chlorkiem sodu. Mieszaninę ekstrahowano (3X) octanem etylu i połączone ekstrakty wysuszono siarczanem magnezu i zatężono pod próżnią otrzymując 80 mg związku 5 jako jasnożółty olej. Związek 5: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ 0,88 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H), 1,18 (m, 1H), 1,33 (m, 3H), 2,04 (d, $J = 0,7$ Hz, 3H), 2,07 (m, 1H), 2,27 (m, 1H), 3,86 (d, $J = 16,1$ Hz, 1H), 3,90 (d, $J = 16,1$ Hz, 1H), 5,04 (dd, $J = 9,0, 6,8$ Hz, 1H), 6,96 (br. s, 1H), 6,98 (br. s, 1H), 7,23 (m, 3H), 7,31 (m, 2H).

Etap 5: Do roztworu 80 mg związku 5 w 1 ml N,N-dimetyloformamidu w temperaturze pokojowej i w atmosferze azotu, dodano 78 mg (S)-związku 6, 0,057 ml diizopropylotyoaminy i 137 mg HBTU. Mieszaninę mieszano przez 16 godzin i następnie zmieszano z octanem etylu / heksan 1:1. Tę mieszaninę przemyto 2N kwasem solnym, nasyconym wodorowęglanem sodu, wodą (2X) i na końcu solanką. Powstały roztwór wysuszono nad siarczanem magnezu i zatężono pod próżnią otrzymując 156 mg żółtego oleju. Materiał ten dalej oczyszczano chromatograficznie na żelu krzemionkowym stosując 25% octan etylu jako eluent i otrzymując 109 mg związku 7 jako bezbarwnego oleju. Związek 7: (mniej polarny diastereomer): $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ 0,85 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H), 1,11 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H), 1,18 (m, 1H), 1,30 (m, 3H), 1,78 (m, 1H), 2,02 (d, $J = 0,8$ Hz, 3H), 2,14 (m, 1H), 2,57 (dd, $J = 15,4, 7,1$ Hz, 1H), 2,66 (dd, $J = 15,4, 6,6$ Hz, 1H), 3,86 (br. s, 2H), 3,95 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H), 5,17 (m, 1H), 5,42 (t, $J = 7,7$ Hz, 1H), 5,93 (s, 2H), 6,72 (m, 2H), 6,74 (m, 1H), 6,90 (m, 1H), 7,11 (br. s, 1H), 7,23 (m, 3H), 7,30 (m, 2H), 7,37 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H).

Etap 6: Roztwór składający się ze 109 mg związku 7, 3 ml tetrahydrofuranu, 1 ml 2N wodorotlenku sodu i 2 ml metanolu mieszano w temperaturze pokojowej do zakończenia hydrolizy. Mieszaninę następnie rozcieńczono wodą i ekstrahowano eterem dietylowym. Warstwę wodną zakwaszono 2N kwasem solnym i ekstrahowano (3X) octanem etylu. Połączone ekstrakty wysuszono siarczanem magnezu i zatężono pod próżnią otrzymując 103 mg związku 8, mieszaninę diasteroizomeryczną 1:1, jako biaława piana.

Mieszaninę diasteroizomeryczną oddzielono stosując HPLC z odwróconymi fazami stosując gradient 30 -55% acetonitrilu z wodą otrzymując Związek 9 (R,S) i Związek 10 (S,S).

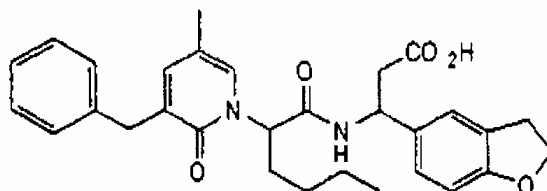
Związek 9 (najbardziej polarny diastereomer): $^1\text{H NMR}$ (CD_3SOCD_3): δ 0,83 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H), 1,13 (m, 2H), 1,26 (m, 2H), 1,76 (m, 1H), 1,96 (s nakrywający m, 4H), 2,62 (dd, $J = 15,8, 6,6$ Hz, 1H), 2,70 (dd, $J = 15,8, 8-4$ Hz, 1H), 3,69 (d, $J = 14,8$ Hz, 1H), 3,73 (d, $J = 14,8$ Hz, 1H), 5,09 (m, 1H), 5,47 (dd, $J = 9,2, 6,6$ Hz, 1H), 6,71 (dd, $J = 8,0, 1,5$ Hz, 1H), 6,77 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 6,84 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 7,00 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 7,14-7,30 (m, 6H), 8,70 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H).

Związek 10: (najmniej polarny diastereomer) NMR (CD_3SOCD_3): δ 0,76 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H), 1,01 (m, 2H), 1,20 (m, 2H), 1,98 (br. s, 3H), 2,60 (dd, $J = 15,8, 7,0$ Hz, 1H), 2,68 (dd, $J = 15,8, 7,7$ Hz, 1H), 3,71 (d, $J = 15,0$ Hz, 1H), 3,76 (d, $J = 15,0$ Hz, 1H), 5,05 (ddd, $J = 8,0, 7,7, 7,0$ Hz, 1H), 5,51 (dd, $J =$

9,2, 6,6 Hz, 1H), 5,98 (s, 2H), 6,77 (dd, J = 8,0, 1,4 Hz, 1H), 6,83, (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,89 (d, J = 1,4 Hz, 1H), 7,02 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,18 (m, 1H), 7,25 (m, 4H), 7,38 (m, 1H), 8,79 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 12,08 (br. s, 1H).

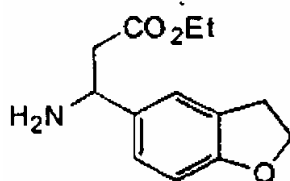
Przykład 2

Związek 12, kwas (3S)-3-((2R,S)-2-(3-benzyl-5-metylo-2-okso-1(2H)-pirydynylo)heksanoilo-amino)-3-(2,3-dihydro-1-benzofuran-5-ylo)propanowy, przedstawiony poniżej, zsyntetyzowano zgodnie z procedurą z Przykładu 1,



12

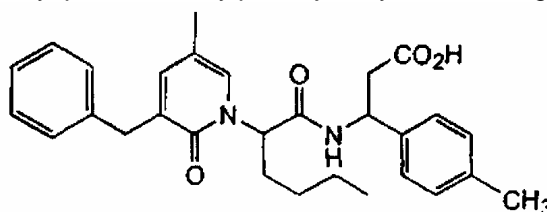
z wyjątkiem tego, że związek A, przedstawiony poniżej, zastąpił związek 6 w etapie 5.



A

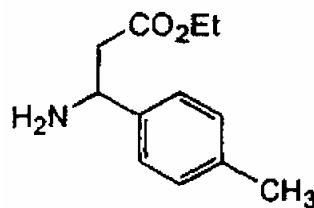
Przykład 3

Związek 13, kwas (3S)-3-((2R,S)-2-(3-benzyl-5-metylo-2-okso-1(2H)-pirydynylo)heksanoilo-amino)-3-(4-metylofenylo)propanowy, przedstawiony poniżej, otrzymano według procedury z Przykładu 1,



13

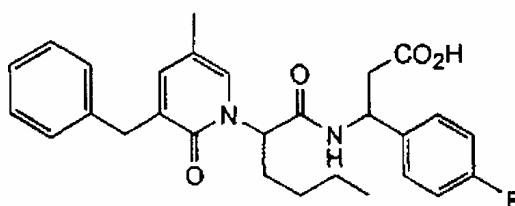
z wyjątkiem tego, że związek B, przedstawiony poniżej, zastąpił związek 6 w etapie 5.



B

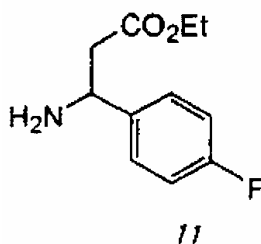
Przykład 4

Związek 14, kwas (3S)-3-((2R,S)-2-(3-benzyl-5-metylo-2-okso-1(2H)-pirydynylo)heksanoilo-amino)-3-(4-fluorofenylo)propanowy, przedstawiony poniżej otrzymano według procedury z Przykładu 1,



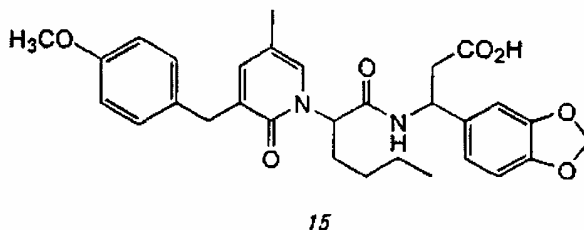
14

z wyjątkiem tego, że związek 11, przedstawiony poniżej, zastąpił związek 6 w etapie 5.



Przykład 5

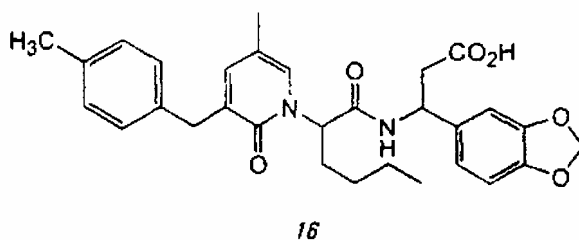
Związek 15, kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-((2R,S)-2-(3-(4-metoksybenzylo)-5-metylo-2-okso-1(2H)-pirydynylo)heksanoiloamino)-3-(4-fluorofenylo)propanowy, przedstawiony poniżej, można otrzymać według procedury z Przykładu 1,



z wyjątkiem tego, że chlorek 3-(4-metoksyfenylo)-propanoilu powinien zastąpić chlorek 3-fenylopropanoilu w etapie 2.

Przykład 6

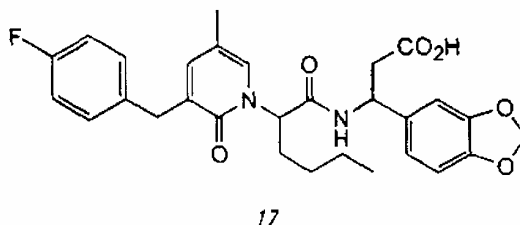
Związek 16, kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-((2R,S)-2-(3-(4-metylobenzylo)-5-metylo-2-okso-1(2H)-pirydynylo)heksanoiloamino)propanowy, przedstawiony poniżej, można otrzymać według procedury z Przykładu 1,



z wyjątkiem tego, że chlorek 3-(4-metylofenylo)-propanoilu powinien zastąpić chlorek 3-fenylopropanoilu w etapie 2.

Przykład 7

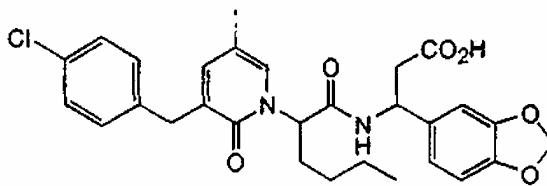
Związek 17, kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-((2R,S)-2-(3-(4-fluorobenzoylo)-5-metylo-2-okso-1(2H)-pirydynylo)heksanoiloamino)propanowy, przedstawiony poniżej, otrzymano według procedury z Przykładu 1,



z wyjątkiem tego, że chlorek 3-(4-fluorofenylo)-propanoilu zastąpił chlorek 3-fenylopropanoilu w etapie 2.

Przykład 8

Związek 18, kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-((2R,S)-2-(3-(4-chlorobenzoylo)-5-metylo-2-okso-1(2H)-pirydynylo)heksanoiloamino)propanowy, przedstawiony poniżej, otrzymano według procedury z Przykładu 1,

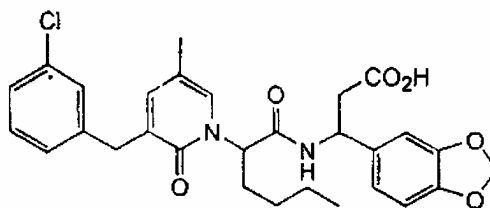


18

z wyjątkiem tego, że chlorek 3-(4-chlorofenilo)-propanoilu zastąpił chlorek 3-fenylpropanoilu w etapie 2.

Przykład 9

Związek 19, kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-((2R,S)-2-(3-(3-chlorobenzilo)-5-metylo-2-okso-1(2H)-pirydynilo)heksanoiloamino)propanowy, przedstawiony poniżej, otrzymano według procedury z Przykładu 1,



19

z wyjątkiem tego, że chlorek 3-(3-chlorofenilo)-propanoilu zastąpił chlorek 3-fenylpropanoilu w etapie 2.

Przykład 10

Synteza kwasu (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-((2S)-2-[2-okso-3-(2-tienylometylo)-1-imidazolidinylo]heksanoiloamino)propanowego (20).

Etap 1: Do roztworu 6 (680 mg, 2,87 mmol) i N-tert-butoksykarbonylo-L-norleucyny (696 mg, 3,01 mmol) w DMF (14,4 ml) w temperaturze pokojowej w atmosferze suchego azotu, kolejno dodano N,N-diizopropylloetyloaminę (0,52 ml, 3,0 mmol) i HBTU (1,25 g, 3,3 mmol). Powstałą mieszaninę mieszano w temperaturze pokojowej przez noc następnie rozcieńczono mieszaniną 1:1 heksany:octan etylu i przemyto 2N HCl, H₂O, nasyconym NaHCO₃, H₂O (3X) i solanką. Fazę organiczną wysuszono nad MgSO₄ i przesączono i przesącz zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując 22 (1,27 g, 98%) jako jasnożółty osad.

Etap 2: Do kolby zawierającej 22 (1,27 g, 2,82 mmol) uszczelnionej gumową przegrodą w temperaturze pokojowej w atmosferze suchego azotu, dodano strzykawką HCl (7,2 ml, 4,0 M w dioksanie, 28,8 mmol). Igłę do doprowadzania azotu usunięto i mieszaninę w uszczelnionej kolbie mieszano przez 1 godzinę. Mieszaninę rozcieńczono CH₂Cl₂ i przemyto nasyconym NaHCO₃. Fazę organiczną wysuszono nad MgSO₄ i przesączono i przesącz zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując 23 (892 mg, 90%) jako jasnożółty olej.

Etap 3: Do roztworu etanoloaminy (1,70 g, 27,8 mmol) i 2-tiofenokarboksoaldehydu (0,52 ml, 5,6 mmol) w 1,2-dichloroetane (22 ml) w temperaturze pokojowej w atmosferze suchego azotu, dodano triacetoksyborowodorek sodu (1,66 g, 7,8 mmol). Powstałą mieszaninę mieszano w temperaturze pokojowej przez noc, a następnie rozcieńczono CH₂Cl₂ i przemyto mieszaniną 1:1 nasyconego NaHCO₃ i solanki. Fazę wodną ekstrahowano CH₂Cl₂ i fazy organiczne połączono, wysuszono nad MgSO₄ i przesączono. Przesącz zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując 24 (840 mg, 97%) jako bladeżółty olej.

Etap 4: Roztwór aminalu 24 (840 mg, 5,41 mmol) w metanolu (10 ml) mieszano w temperaturze pokojowej przez 30 minut, schłodzono do 0°C i następnie dodano borowodorek sodu (106 mg, 2,8 mmol). Mieszaninę pozostawiono do ogrzania do temperatury pokojowej i następnie mieszano przez 1 godzinę. Reakcję wygaszono wkraplając wodę, a następnie rozcieńczono CH₂Cl₂ i mieszaniną 1:1 nasyconego NaHCO₃ i solanki. Fazę wodną ekstrahowano CH₂Cl₂ (2X) i fazy organiczne połączono, wysuszono nad MgSO₄ i przesączono. Przesącz zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując 25 (420 mg, 49%) jako bladeżółty lepki olej.

Etap 5: Roztwór 25 (420 mg, 2,67 mmol) i di-tert-butylo diwęglanu (650 mg, 2,98 mmol) w CH_2Cl_2 (10 ml) mieszano w temperaturze pokojowej w atmosferze suchego azotu przez 20 minut i następnie zatężono. Pozostałość odsączono przez żel krzemionkowy, wmywając układem 7:3 heksany:octan etylu wzrastającym do 3:2 heksany: octan etylu otrzymując 26 (610 mg, 88%) jako bezbarwny, lepki olej.

Etap 6: Do roztworu metylosulfotlenku (0,49 ml, 6,9 mmol) w CH_2Cl_2 (11 ml) schłodzonego do -78°C w atmosferze suchego azotu dodano strzykawką chlorek oksalilu (1,7 ml, 2,0 M w CH_2Cl_2 , 3,4 mmol). Powstałą mieszaninę mieszano w -78°C przez 15 minut, następnie dodano rurką roztwór 26 (590 mg, 2,3 mmol) w CH_2Cl_2 (10 ml) i płukano CH_2Cl_2 (5 ml). Mieszaninę mieszano w -78°C przez 30 minut, dodano trietyloaminę (0,96 ml, 6,9 mmol) i mieszaninę pozostawiono do ogrzania do temperatury pokojowej. Mieszaninę rozcieńczono CH_2Cl_2 i przemyto nasyconym NaHCO_3 . Fazę organiczną wysuszono nad MgSO_4 , przesączono i przesącz zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując 27 (630 mg) jako jasnożółty olej. Materiał ten stosowano bez oczyszczania.

Etap 7: Do roztworu 27 (102 mg, 0,40 mmol) i 23 (140 mg, 0,40 mmol) w 1,2-dichloroetanie (4 ml) w temperaturze pokojowej w atmosferze suchego azotu, dodano triacetoksyborowoderek sodu (119 mg, 0,56 mmol). Powstałą mieszaninę mieszano przez 2 godziny, następnie rozcieńczono octanem etylu i przemyto nasyconym NaHCO_3 i solanką. Fazę organiczną wysuszono nad MgSO_4 , przesączono i przesącz zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując 28 (232 mg) jako jasnożółty olej. Materiał ten stosowano bez oczyszczania.

Etap 8: Do kolby zawierającej 28 (232 mg surowy materiał, 0,40 mmol teoretycznie z poprzedniego etapu) uszczelniono gumową błoną w temperaturze pokojowej w atmosferze suchego azotu, strzykawką dodano HCl (1,95 ml, 4,0 M w dioksanie, 7,8 mmol). Iglę po azocie usunięto i mieszaninę w uszczelnionej kolbie mieszano przez 15 minut. Mieszaninę rozcieńczono CH_2Cl_2 i przemyto 1:1 mieszaniną nasyconego NaHCO_3 : solanki. Fazę organiczną wysuszono nad MgSO_4 , przesączono i przesącz zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując 29 (180 mg) jako jasnożółty olej. Materiał ten stosowano bez oczyszczania.

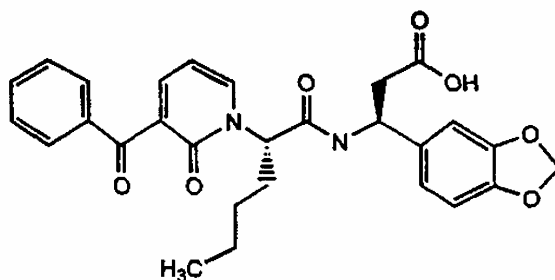
Etap 9: Do roztworu 29 (180 mg surowy materiał, 0,40 mmol teoretycznie z poprzedniego etapu) w 1,2-dichloroetanie (3,7 ml) w temperaturze pokojowej w atmosferze suchego azotu, dodano karbonylodiiimidazol (66 mg, 0,41 mmol). Mieszaninę ogrzewano do 50°C (temperatura łaźni olejowej) przez 1 godzinę, następnie zatężono. Pozostałość zebrano w octanie etylu i przemyto 2N HCl , H_2O , nasyconym NaHCO_3 i solanką. Fazę organiczną wysuszono nad MgSO_4 , przesączono i przesącz zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość odsączono przez żel krzemionkowy wmywając układem 3:2 heksany:octan etylu zwiększając do 1:1 heksany:octan etylu i otrzymując 30 (114 mg, 55% z 3 etapów) jako bezbarwny olej.

Etap 10: Do roztworu 30 (114 mg, 0,22 mmol) w THF (3 ml) w temperaturze pokojowej, NaOH (1 ml, 2N w H_2O , 0,2 mmol) i dodano metanolu (wystarczająco do otrzymania klarownego roztworu, około 2 ml). Powstałą mieszaninę mieszano przez 15 minut, następnie rozcieńczono wodą i ekstrahowano eterem. Fazę wodną zakwaszono HCl (2N) i ekstrahowano octanem etylu. Warstwę octanu etylu przemyto solanką, wysuszono nad MgSO_4 , przesączono i przesącz zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując 20 (111 mg, 100%) jako białą pianę. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CD_3SOCD_3) δ 0,82 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H), 1,09 (m, 2H), 1,25 (m, 2H), 1,48 (m, 1H), 1,64 (m, 1H), 2,61 (dd, $J = 15,8, 7,0$ Hz, 1H), 2,70 (dd, $J = 15,8, 8,0$ Hz, 1H), 3,20 (m, 3H), 3,50 (m, 1H), 4,27 (dd, $J = 9,5, 5,9$ Hz, 1H), 4,38 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H), 4,54 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H), 5,08 (ddd, $J = 8,1, 8,0, 7,0$ Hz, 1H), 5,91 (s, 2H), 6,76 (dd, $J = 8,0, 1,5$ Hz, 1H), 6,83 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 6,88 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 6,99 (m, 2H), 7,43 (dd, $J = 4,4, 1,8$ Hz, 1H), 8,43 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H).

Syntetyczne procedury podobne do opisanych powyżej można zastosować do otrzymania następujących związków: kwas (3S)-(1,3-benzodioksol-5-ilo)-3-(((2S)-2-(2-okso-3-(2-tienylometylo)tetrahydro-1(2H)-pyrimidinylo)heksanoilo)amino)propanowy, kwas (3S)-3-(1,3-benzodioksol-5-ilo)-3-(((2S)-2-(2-okso-4-(2-tienylo)-3-(2-tienylometylo)tetrahydro-1((2H)-pyrimidinylo)heksanoilo)amino)propanowy i kwas (3S)-3-(1,3-benzodioksol-5-ilo)-3-(((2S)-2-(2-okso-3-(2-tienylometylo)-1,3-diazepan-1-ylo)heksanoilo)amino)propanowy.

Przykład 11

Synteza kwasu (3S)-3-(1,3-benzodioksol-5-ilo)-3-(((2S)-2-[2-okso-3-(fenylokarbonylo)-1(2H)-pirydinylo]heksanoilo)amino)propanowego (31).



31

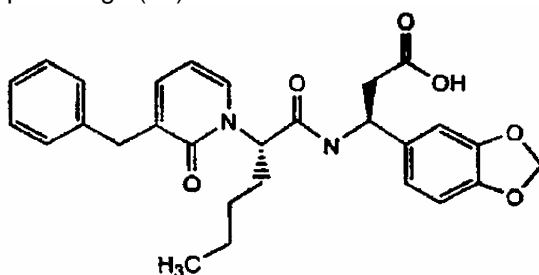
Etap 1: Roztwór 23 (541 mg, 1,54 mmol) i benzoiooctanu etylu (0,53 ml, 3,09 mmol) w toluenie (15 ml) ogrzewano w temperaturze wrzenia przez 2 godziny. Powstałą mieszaninę schłodzono do temperatury pokojowej i zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość rekrytalizowano z układu heksany/CH₂Cl₂ otrzymując związek 32 (310 mg, 40%) jako bładożółtego osadu.

Etap 2: Do zawiesiny 32 (851 mg, 1,71 mmol) w etanolu (absolutny, 6,8 ml) i kwasu octowego (lodowaty, 0,34 ml) w temperaturze pokojowej w atmosferze azotu, dodano strzykawką 3-(dimetylamino)akryloaldehydu (1,02 ml, 10,2 mmol). Powstałą mieszaninę ogrzewano w temperaturze wrzenia przez noc, schłodzono do temperatury pokojowej i rozcieńczono octanem etylu. Tę mieszaninę przemyto HCl (2N, dwa razy) i solanką. Fazę organiczną wysuszono nad MgSO₄, przesączono i przesącz zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość oczyszczano chromatografią na żelu krzemionkowym, wymywając układem 3:2 heksany:octan etylu otrzymując 33 (476 mg, 52%) jako jasnożółty olej.

Etap 3: Do roztworu 33 (115 mg, 0,22 mmol) w THF (6 ml) w temperaturze pokojowej, dodano wodny roztwór NaOH (2N, 2 ml) i metanol (4 ml). Powstały roztwór mieszano przez 15 minut, rozcieńczono wodą i ekstrahowano Et₂O. Fazę wodną zakwaszono HCl (2N) i ekstrahowano octanem etylu. Warstwę octanu etylu przemyto wodą i solanką, wysuszono nad MgSO₄ i przesączono. Przesącz zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((2S)-2-[2-okso-3-(fenylokarbonylo)-1(2H)-pirydynylo]heksanoilo)amino)propanowy (31, 100 mg, 92%) jako bładożółtą pianę. ¹H NMR (400 MHz, CD₃SO₂CD₃): δ 0,81 (t, J = 7,3 Hz, 3H), 1,08 (m, 2H), 1,25 (m, 2H), 1,80 (m, 1H), 1,93 (m, 1H), 2,61 (dd, J = 15,8, 6,8 Hz, 1H), 2,68 (dd, J = 15,8, 7,9 Hz, 1H), 5,09 (m, 1H), 5,49 (dd, J = 9,5, 6,2 Hz, 1H), 5,98 (s, 2H), 6,24 (t, J = 7,0 Hz, 1H), 6,78 (dd, J = 8,1, 1,4 Hz, 1H), 6,84 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 6,89 (d, J = 1,4 Hz, 1H), 7,49 (t, J = 7,7 Hz, 2H), 7,62 (m, 1H), 7,70 (m, 3H), 7,97 (dd, J = 7,0, 2,2 Hz, 1H), 8,87 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 12,11 (br. s, 1H).

Przykład 12

Synteza kwasu (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((2S)-2-[2-okso-3-(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo]heksanoilo)amino)propanowego (34).



34

Etap 1: Do roztworu 33 (88 mg, 0,17 mmol) w etanolu (absolutny, 4 ml) w temperaturze pokojowej, dodano NaBH₄ (12,5 mg, 0,33 mmol). Powstałą mieszaninę mieszano przez 20 minut, następnie wygaszono HCl (2N, 2 ml). Powstałą mieszaninę rozcieńczono wodą i octanem etylu i warstwę organiczną przemyto nasyconym wodnym NaHCO₃ i solanką. Warstwę organiczną wysuszono nad MgSO₄ i przesączono i przesącz zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując 35 (85 mg, 96%) jako bładożółty olej. Materiał ten stosowano bez oczyszczania.

Etap 2: Do roztworu 35 (85 mg, 0,16 mmol) w octanie etylu (4 ml) w temperaturze pokojowej w atmosferze azotu, dodano Pd/C (10% podstawy suchej masy, typu Degussa E101 NE/W, ~50%

zawartość wody, 36 mmol). Powietrze atmosferyczne zastąpiono wodorem (przerzucano pomiędzy próżnią i wodorem z balona pięć razy) i mieszaninę energicznie mieszano przez 1,5 godziny. Mieszaninę odsączono przez Celit i przesącz zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość oczyszczano chromatograficznie na żelu krzemionkowym, wymywając układem 7:3 heksany:octan etylu i otrzymując 36 (32 mg, 39%) jako bezbarwny olej.

Etap 3: Do roztworu 36 (32 mg, 0,062 mmol) w THF (3 ml) w temperaturze pokojowej, dodano wodny NaOH (2N, 1 ml) i metanol (2 ml). Powstały roztwór mieszano przez 15 minut, rozcieńczono wodą i ekstrahowano Et₂O. Fazę wodną zakwaszono HCl (2N) i ekstrahowano octanem etylu. Warstwę octanu etylu przemyto wodą i solanką, wysuszono nad MgSO₄ i przesączono. Przesącz zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość zebrano w acetonitrylu (3 ml) i wodzie (7 ml) i mieszaninę liofilizowano otrzymując kwas (3S)-3-(1,3-benzodioksol-5-ilo)-3-((2S)-2-[2-okso-3-(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo]heksanoilo)amino)propanowy (34, 31 mg, 100%) jako biały proszek. ¹H NMR (400 MHz, CD₃SO₂CD₃): δ 0,76 (t, J = 7,3 Hz, 3H), 1,01 (m, 2H), 1,22 (m, 2H), 1,70 (m, 1H), 1,87 (m, 1H), 2,60 (dd, J = 15,8, 7,0 Hz, 1H), 2,68 (dd, J = 15,8, 7,9 Hz, 1H), 3,72 (d, J = 15,0 Hz, 1H), 3,77 (d, J = 15,0 Hz, 1H), 5,06 (m, 1H), 5,54 (dd, J = 92, 6,6 Hz, 1H), 5,98 (s, 2H), 6,16 (t, J = 7,0 Hz, 1H), 6,77 (dd, J = 8,1, 1,4 Hz, 1H), 6,83 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 6,89 (d, J = 1,4 Hz, 1H), 7,13 (m, 1H), 7,18 (m, 1H), 7,26 (m, 4H), 7,59 (dd, J = 7,0, 1,8 Hz, 1H), 8,83 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 12,11 (br. s, 1H).

Przykład 13

Synteza kwasu (3S)-3-(1,3-benzodioksol-5-ilo)-3-((1-[2-okso-3-(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo]cykloheksylo)karbonylo)amino)propanowego.

Etap 1: Do roztworu 3-benzopyridyny (1,65 g, 9,77 mmol) w acetonie (3,5 ml), dodano 1-chloro-2,4-dinitrobenzen (2,00 g, 9,56 mmol) i mieszaninę ogrzewano w temperaturze wrzenia przez noc. Mieszaninę schłodzono do temperatury pokojowej, rozcieńczono acetonem i rozpuszczalnik zlano znad osadu. Surowy osad przemyto acetonem (2 razy) i eterem dietylowym (1 raz), za każdym razem dekantując i otrzymując 37 (3,57 g, 100%) jako szary osad.

Etap 2: Do roztworu 1-amino-1-hydroksymetylocykloheksanu (0,45 g, 3,5 mmol) w n-butanolu (8,75 mL), dodano stały chlorek N-(2,4-dinitrofenylo)-3-benzopyridyniowy (37,1,23 g, 3,3 mmol). Powstały roztwór ogrzewano w temperaturze wrzenia przez 2,5 dnia w atmosferze azotu. Mieszaninę schłodzono, rozcieńczono wodą i przesączono. Przesącz zalkalizowano zatężonym NH₄OH (2 mL) i ekstrahowano octanem etylu. Warstwę wodną zatężono do sucha otrzymując 38 (0,56 g) jako żółty olej, który stosowano bez dalszego oczyszczania.

Etap 3: Do roztworu surowego 38 (0,56 g, 3,5 mmol teoretycznie) w wodzie (10 ml), dodano roztwór żelazocyjanku potasu (3,3 g, 10 mmol) w wodzie (15 ml) wkraplając poprzez lejek przez ponad 30 minut w 0°C. Następnie dodano roztwór KOH (0,76 g, 13,5 mmol) w wodzie (5 ml) przez 30 minut. Dodano toluen (10 ml) i roztwór mieszano przez jedną godzinę w 0°C. Warstwy oddzielono i warstwę wodną ekstrahowano ponownie z toluenem. Połączone ekstrakty wysuszono nad Na₂SO₄ i przesączono i przesącz zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość poddano chromatografii na żelu krzemionkowym, wymywając układem 7:13 heksany: octan etylu otrzymując 39 (20 mg, 1,9%, dwa etapy).

Etap 4: Do zawiesiny 39 (20 mg, 0,068 mmol) w wodnym KOH (1M, 0,70 mL) dodano nadsiarczan potasu (0,073 g, 0,270 mmol) i chlorek rutenu (III) (1 mg, katalityczny) i THF (0,25 ml). Mieszaninę mieszano przez 1 godzinę i ekstrahowano dichlorometanem. Warstwę wodną zakwaszono i ekstrahowano octanem etylu (3 razy). Ekstrakty octanu etylu połączone, wysuszono nad MgSO₄ i przesączono. Przesącz zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując 40 (0,0148 g, 70%) jako opalony osad.

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioksol-5-ilo)-3-((1-[2-okso-3-(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo]cykloheksylo)karbonylo)amino)propanowy otrzymany z 40 zgodnie z procedurami opisanymi w Przykładzie 1. ¹H NMR (400 MHz, CD₃SO₂CD₃): δ 1,40 (m, 4H), 1,68 (m, 2H), 2,04 (m, 2H), 2,60 (d, J = 7,0 Hz, 2H), 3,67 (d, J = 15,2 Hz, 1H), 3,72 (d, J = 15,2 Hz, 1H), 5,12 (m, 1H), 5,95 (m, 2H), 6,19 (t, J = 7,0 Hz, 1H), 6,74 (dd, J = 7,8, 1,4 Hz, 1H), 6,76 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 6,90 (d, J = 1,4 Hz, 1H), 7,10 (d, J = 5,8 Hz, 1H), 7,20 (m, 5H), 7,57 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,66 (dd, J = 7,7, 1,8 Hz, 1H).

Przykład 14

Synteza kwasu (3S)-3-(1,3-benzodioksol-5-ilo)-3-((2-[2-okso-5-(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo]heksanoilo)amino)propanowego.

Etap 1: Do mieszaniny 41 (otrzymanej zgodnie z procedurami opisanymi w Przykładzie 13, dodano wkraplając 1,75 g surowego pomarańczowego oleju, 5,0 mmol teoretycznie) w wodzie (25 ml) w 0°C, roztwór żelazocyjanku potasu (4,7 g, 14 mmol) w wodzie (22 ml) poprzez lejek przez 30 minut. Następnie dodano roztwór KOH (1,1 g, 19 mmol) w wodzie (7 ml) przez 30 minut. Dodano toluen

(15 ml) i roztwór mieszano przez jedną godzinę w 0°C. Warstwy rozdzielono i warstwę wodną ekstrahowano ponownie toluenem. Połączone ekstrakty wysuszono nad Na₂SO₄ i przesączono i przesącz zateżono pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość poddano chromatografii na żelu krzemionkowym, wymywając układem 7:13 heksany:octan etylu otrzymując 42 (główny produkt, 0,36 g, 29%) i 43 (produkt mniejszościowy, 0,10 g, 7,0%).

Kwas (3S)-3-(1,3-Benzodioksol-5-ilo)-3-({2-[2-okso-5-(fenylometylo-1(2H)-pirydynylo]heksanoilo}amino)propanowy otrzymano z 42 zgodnie z procedurami opisanymi w Przykładach 1 i 13. ¹H NMR (400 MHz, CD₃SO₂CD₃): δ 0,77 (t, J = 7,3 Hz, 3H), 1,00 (m, 2H), 1,20 (m, 2H), 1,75 (m, 1H), 1,88 (m, 1H), 2,65 (m, 2H), 3,70 (s, 2H), 5,08 (m, 1H), 5,49 (dd, J = 9,9, 6,2 Hz, 1H), 5,98 (s, 2H), 6,32 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 6,77 (dd, J = 8,1, 1,5 Hz, 1H), 6,83 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 6,89 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 7,20 (m, 4H), 7,28 (m, 4H), 7,61 (d, J = 2,6 Hz, 1H), 8,81 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 12,10 (br. s, 1H).

Przykład 15

Synteza kwasu (3S)-3-(1,3-benzodioksol-5-ilo)-3-({(2S)-2-[(3S)-2,5-dioksol-3-(fenylometylo)-4-(2-tiofenylometylo)tetrahydro-1(2H)-pirazynylo]heksanoilo}amino)propanowy.

Etap 1: Do roztworu estru metylowego fenylalaniny (2,32 g, 12,9 mmol) w DCE (50 ml) w temperaturze pokojowej, dodano 2-tiofenokarboksoaldehyd (1,2 ml, 12,9 mmol) i NaBH(OAc)₃ (4,11 g, 19,4 mmol). Mieszaninę reakcyjną mieszano w temperaturze pokojowej przez 24 godziny, rozcieńczono CH₂Cl₂ (300 ml) i przemyto wodą (300 ml). Warstwę organiczną wysuszono nad MgSO₄ i przesączono i przesącz zateżono pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość oczyszczano chromatograficznie na żelu krzemionkowym, wymywając układem 9:1 heksany:octan etylu otrzymując 44 (2,78 g, 78%).

Etap 2: Do roztworu 44 (1,50 g, 5,45 mmol) w metanolu (10 ml), tetrahydrofuranie (10 ml) i wodzie (10 ml), dodano wodorotlenku sodu (880 mg, 21,8 mmol). Mieszaninę reakcyjną mieszano w temperaturze pokojowej przez 48 godzin. Mieszaninę zateżono pod zmniejszonym ciśnieniem do wodnego roztworu i następnie liofilizowano otrzymując 45 (1,42 g).

Etap 3: Do roztworu 45 (500 mg, 1,91 mmol) i chlorowodoru estru metylowego norleucyny (382 mg, 2,10 mmol) w DMF (10 ml) w temperaturze pokojowej, dodano chlorowodorek 1-[3-(dime-tyloamino)propylo]-3-etylokarbodiimidu (401 mg, 2,10 mmol), 1-hydroksybenzotriazol (238 mg, 2,10 mmol) i 4-metylomorfolinę (0,23 ml, 2,10 mmol). Mieszaninę reakcyjną mieszano w temperaturze pokojowej przez 24 godziny następnie mieszaninę zebrano w octanie etylu (200 ml) i przemyto wodą (2 razy, 200 ml). Warstwę organiczną wysuszono nad MgSO₄ i przesączono i przesącz zateżono pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość oczyszczano chromatografią na żelu krzemionkowym, wymywając układem 9:1 heksany:octan etylu otrzymując 46 (422 mg, 57%).

Etap 4: Do roztworu 46 (415 mg, 1,07 mmol) DCE (10 ml) i trietylaminy (0,15 ml, 1,07 mmol) w 0°C, dodano bromek bromoacetylu (0,090 ml, 1,07 mmol) i mieszaninę reakcyjną ogrzano do temperatury pokojowej i mieszano przez 24 godziny. Mieszaninę zebrano CH₂Cl₂ (150 ml) i przemyto wodą (150 ml). Warstwę organiczną wysuszono nad MgSO₄ i przesączono i przesącz zateżono pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość oczyszczano chromatografią na żelu krzemionkowym, wymywając układem 4:1 heksany:octan etylu otrzymując 47 (381 mg, 70%).

Etap 5: Do roztworu 47 (375 mg, 0,74 mmol) w THF (8 ml), dodano Cs₂CO₃ (360 mg, 1,10 mmol). Mieszaninę reakcyjną mieszano w temperaturze pokojowej przez 4 godziny. Mieszaninę rozpuszczono w octanie etylu (150 ml) i przemyto wodą (150 ml). Warstwę organiczną wysuszono nad MgSO₄ i przesączono i przesącz zateżono pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość oczyszczano chromatografią na żelu krzemionkowym, wymywając układem 4:1 heksany:octan etylu otrzymując 48 (145,0 mg, 46%).

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioksol-5-ilo)-3-({(2S)-2-[(3S)-2,5-dioksol-3-(fenylometylo)-4-(2-tiofenylo-metylo)tetrahydro-1(2H)-pirazynylo]heksanoilo}amino)propanowy otrzymano z 48 zgodnie z procedu-rami opisanymi w Przykładzie 1. MS: obliczono: (M - H)⁻ = 604,2 m/z; znaleziono: (M - H)⁻ = 604,4 m/z.

Przykład 16

Synteza kwasu (3S)-3-(1,3-benzodioksol-5-ilo)-3-({2-[2-okso-3-(fenylometylo)-2,3-dihydro-1H-benzimidazol-1-ilo]acetylo}amino)propanowego.

Etap 1: Mieszaninę 1-fluoro-2-nitrobenzenu (0,50 g, 3,54 mmol), benzyloaminy (0,38 g, 3,54 mmol) i K₂CO₃ (0,98 g, 7,08 mmol) w DMF (10 mL) mieszano w temperaturze pokojowej przez noc. Mieszaninę następnie rozdzielono pomiędzy EtOAc i wodę. Warstwę organiczną przemyto wodą i solanką, wysuszono nad MgSO₄ i przesączono. Przesącz zateżono do sucha otrzymując 49 (0,79 g, 98%) jako pomarańczowy osad.

Etap 2: Do roztworu 49 (0,79 g, 3,5 mmol) w etanolu (7,0 mL) i kwasie octowym (7,0 mL) w temperaturze pokojowej, dodano proszek Fe (2,44 g, 34,6 mmol) i zawiesinę mieszano energicznie w 40°C aż chromatografia cienkowarstwowa wykazała całkowite zużycie 49. Mieszaninę odsączono poprzez Celite, przemyto chloroformem. Przesącz rozcieńczono nasyconym wodorowęglanem sodu i warstwę chloroformową wysuszono nad Na₂SO₄ i przesączono. Przesącz zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem i pozostałość oczyszczano chromatograficznie na żelu krzemionkowym (4:1 wzrastające do 1:1 heksany:octan etylu) otrzymując związek 50 (0,35 g, 50%)

Etap 3: Roztwór 50 (0,25 g, 1,26 mmol) i GDI (0,22 g, 1,4 mmol) w CH₂Cl₂ (12 mL) mieszano w temperaturze pokojowej przez noc. Mieszaninę rozcieńczono EtOAc i przemyto HCl (3x) i solanką. Warstwę organiczną wysuszono nad MgSO₄ i przesączono, a przesącz zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując 51 (0,23 g, 82%) jako brązowy osad.

Etap 4: Do roztworu 51 (0,19 g, 0,85 mmol) w bezwodnym DMF (5 mL) w 0°C dodano NaH (60% zawiesina w oleju mineralnym, 0,044 g, 1,1 mmol). Mieszaninę mieszano w 0°C przez 10 minut przed dodaniem bromooctanu etylu (0,21 g, 0,13 mmol). Po mieszanii w temperaturze pokojowej przez noc, mieszaninę wylano na lodową wodę i ekstrahowano EtOAc (2 razy). Warstwę organiczną przemyto wodą i solanką, wysuszono nad MgSO₄ i przesączono. Przesącz zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem otrzymując 52 (0,25 g, 95%) jako brązowy osad.

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioksol-5-ilo)-3-({2-[2-okso-3-(fenylometylo)-2,3-dihydro-1H-benzimidazol-1-ilo]acetylo-}amino)propanowy otrzymano z 52 zgodnie z procedurami opisanymi w Przykładzie 1. ¹H NMR (400 MHz, CD₃COCD₃): δ 2,79 (m, 2H), 4,56 (m, 2H), 5,02 (s, 2H), 5,31 (m, 1H), 5,90 (s, 2H), 6,92 (m, 7H), 7,25 (m, 5H), 7,91 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 10,79 (br. S, 1H).

Przykład 17

Synteza kwasu (3S)-3-(1,3-benzodioksol-5-ilo)-3-({2-[5,5-dimetylo-2,4-dioekso-3-(fenylometylo)tetrahydro-1H-imidazol-1-ilo]heksanoilo}amino)propanowego.

Etap 1: Do roztworu 5,5-dimetylohydantoiny (2,00 g, 15,6 mmol) w DMF (30 mL) w temperaturze pokojowej, dodano K₂CO₃ (6,5 g, 47 mmol) i chlorek benzylu (2,20 mL, 18,7 mmol). Powstałą mieszaninę mieszano przez noc, rozcieńczono wodą i ekstrahowano octanem etylu. Warstwę organiczną przemyto solanką, wysuszono nad MgSO₄ i przesączono. Przesącz zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem i pozostałość oczyszczano chromatografią na żelu krzemionkowym, wymywając 6:1 wzrastającym do 3:1 heksany:octan etylu otrzymując 53 (3,21 g, 94%).

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioksol-5-ilo)-3-({2-[5,5-dimetylo-2,4-dioekso-3-(fenylometylo)tetrahydro-1H-imidazol-1-ilo]heksanoilo}amino)propanowy otrzymano z 53 zgodnie z procedurami opisanymi w Przykładach 1 i 16. Temp. Topn.: 53-55°C.

Przykład 18

Synteza kwasu (3S)-3-(1,3-benzodioksol-5-ilo)-3-({(2S)-2-[2,4-dioekso-1-(fenylometylo)-1,4-dihydro-3(2H)-chinazolinylo]heksanoilo}amino)propanowego.

Etap 1: Do roztworu kwasu antranilowego (450 mg, 3,30 mmol) i chlorowodoru estru metylowego norleucyny (500 mg, 2,75 mmol) w dimetyloformamidzie (10 ml) w temperaturze pokojowej, dodano chlorowodorek 1-[3-(dimetylamino)propylo]-3-etylokarbodiimidu (640 mg, 3,30 mmol), 1-hydroksybenzotriazol (450 mg, 3,30 mmol) i 4-metylomorfolinę (610 mg, 5,50 mmol). Mieszaninę reakcyjną mieszano w temperaturze pokojowej przez 24 godziny następnie mieszaninę zebrano w octanie etylu (200 ml) i przemyto wodą (2 x 200 ml). Warstwę organiczną wysuszono nad MgSO₄ i przesączono i przesącz zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość oczyszczano chromatograficznie na żelu krzemionkowym, wymywając układem 4:1 zwiększając do 1:1 heksany:octan etylu otrzymując 54 (860 mg, 99%).

Etap 2: Roztwór 54 (0,86 g, 3,26 mmol) i CDI (0,79 g, 4,89 mmol) w bezwodnym ClCH₂CH₂Cl (30 mL) ogrzewano w 85°C przez noc. Mieszaninę schłodzono do temperatury pokojowej i zatężono i pozostałość zalano EtOAc. Warstwę organiczną przemyto w HCl (3 x) i solanką, wysuszono nad MgSO₄ i przesączono. Przesącz następnie zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem i pozostałość oczyszczano chromatograficznie na żelu krzemionkowym (heksany:EtOAc, 5:1 zwiększając do 1:1) otrzymując 55 jako biały osad (0,67 g, 71%). Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioksol-5-ilo)-3-({(2S)-2-[2,4-dioekso-1-(fenylometylo)-1,4-dihydro-3(2H)-chinazolinylo]heksanoilo}amino)propanowy otrzymano z 55 zgodnie z procedurami wskazanymi w Przykładach 1 i 16. ¹H NMR (400 MHz, CD₃SO₂CD₃): δ 0,80 (m, 3H), 1,1-1,6 (m, 4H), 2,03 (m, 1H), 2,20 (m, 1H), 2,63 (m, 2H), 5,20 (m, 2H), 5,35 (m, 1H), 5,47 (m, 1H), 5,91 (d, J = 11,0 Hz, 1H), 5,96 (d, J = 3,3 Hz, 1H), 6,64-6,87 (m, 3H), 7,30 (m, 6H), 7,68 (m, 1H), 8,14 (m, 2H), 12,09 (br. S, 1H).

Przykład 19

Synteza kwasu (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-({2-[3-metylo-6-okso-5-(fenylometylo)-1(6H)-pirydazylo]heksanoilo}amino)propanowego.

Etap 1: Do mieszaniny dihydropirydazyonu (2,50 g, 19,21 mmol) w EtOH (6 mL) w temperaturze pokojowej, dodano benzaldehyd (2,04 g, 19,21 mmol) i stały KOH (1,3 g, 23,05 mmol). Tę mieszaninę ogrzewano do 85°C przez noc, schłodzono do temperatury pokojowej i wylano na wodę z lodem. Powstałą mieszaninę zakwaszono do pH = 4 stężonym HCl i strąt zebrano przez filtrowanie, przemywając wodą. Powstały osad następnie wysuszono pod próżnią otrzymując 56 (3,6 g, 85%).

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-({2-[3-metylo-6-okso-5-(fenylometylo)-1(6H)-pirydazylo]heksanoilo}amino)propanowy otrzymano z 56 zgodnie z procedurami opisanymi w Przykładach 1 i 16. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{CD}_3\text{SO}_2\text{CD}_3$): δ 0,80 (m, 3H), 1,18 (m, 4H), 1,95 (m, 2H), 2,18 (s, 3H), 2,65 (m, 2H), 3,79 (m, 2H), 5,06 (m, 1H), 5,26 (m, 1H), 5,97 (d, $J = 2,2$ Hz, 2H), 6,81 (m, 3H), 6,98 (s, 1H), 7,27 (m, 5H), 8,27 (m, 1H), 12,14 (br. s, 1H).

Przykład 20

Synteza kwasu (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-({2-[2-okso-3-(fenylometylo)-3,4-dihydro-1(2H)-chinazolinilo]heksanoilo}amino)propanowego.

Etap 1: Roztwór bromku 2-nitrobenzylu (0,50 g, 2,31 mmol) i benzyloaminy (0,49 g, 4,62 mmol) w THF (5 mL) mieszano w temperaturze pokojowej przez noc i następnie rozcieńczono EtOAc. Warstwę organiczną przemyto 1 N NaOH (dwa razy) i solanką, wysuszono nad MgSO_4 i przesączono. Przesącz zatężono pod zmniejszonym ciśnieniem i pozostałość oczyszczano chromatograficznie na żelu krzemionkowym (heksany : EtOAc, 3:1 zwiększając do 1:1) otrzymując 57 (0,5 g, 89%) jako olej.

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-({2-[2-okso-3-(fenylometylo)-3,4-dihydro-1(2H)-chinazolinilo]heksanoilo}amino)propanowy otrzymano z 57 zgodnie z procedurami opisanymi w Przykładach 1 i 16. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{CD}_3\text{SO}_2\text{CD}_3$): δ 0,78 (m, 3H), 1,21 (m, 4H), 1,88 (m, 1H), 2,14 (m, 1H), 2,65 (m, 2H), 4,26 (m, 2H), 4,43 (m, 1H), 4,80 (m, 1H), 5,03 (m, 1H), 5,18 (m, 1H), 5,92 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 5,97 (s, 1H), 6,70 (m, 2H), 6,80 (m, 1H), 6,95 (m, 2H), 7,12 (m, 2H), 7,30 (m, 5H), 8,20 (m, 1H), 12,09 (br. s, 1H).

Przykład 21

Synteza kwasu (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-({2-[2-okso-3-(fenylometylo)-1(2H)-chinoksalinylo]heksanoilo}amino)propanowego.

Etap 1: Do roztworu 1,2-fenylendiaminy (2,64 g, 14,4 mmol) i kwasu fenylopirogronowego (2,00 g, 12,2 mmol) w etanolu (absolutny, 20 mL), dodano roztwór 2-merkaptioetanolu (1,6 mL) w 2N HCl (18,3 mL). Powstałą mieszaninę ogrzewano w temperaturze wrzenia przez 2 godziny, następnie pozostawiono do ochłodzenia do temperatury pokojowej i przesączono, przemywając strąt etanolem (dwa razy). Osad wysuszono pod próżnią otrzymując 58 (1,88 g, 65%) jako biały osad.

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-({2-[2-okso-3-(fenylometylo)-1(2H)-chinoksalinylo]heksanoilo}amino)propanowy otrzymano z 58 zgodnie z procedurami opisanymi w Przykładach 1 i 16. MS: obliczono $(\text{M}-\text{H})^- = 540,21$; znaleziono $(\text{M}-\text{H})^- = 540,21$.

Przykład 22

Zdolność związków według wynalazku do hamowania wiązania określono przy pomocy procedury, w której 26-aminokwasowy peptyd zawierający sekwencję CS1 fibronektyny z N-końcową Cys (CDELPQLVTLPHPNLHGPEILDVPST) sprzężono a aktywowaną maleimidem albuminą jaja kurzego. Albuminą surowicy wołu (BSA) i albuminą jaja kurzego sprzężoną z CS1 powleczono 96-studzienkowe polistyrenowe płytki w stężeniu 0,5 ng/ml w TBS (50 mM Tris, pH 7,5; 150 mM NaCl) w 4°C przez 16 godzin. Płytki przemyto trzy razy TBS i zablokowano TBS zawierającym 3% BSA w temperaturze pokojowej na 4 godziny. Zablokowane płytki przemyto trzy razy w buforze wiążącym (TBS; 1 mM MgCl_2 ; 1 mM CaCl_2 ; 1 mM MnCl_2) przed testami. Komórki Ramos znakowane fluorescencyjnie kalceiną AM zawieszono ponownie w buforze wiążącym (10^7 komórek / ml) i rozcieńczono 1:2 tym samym buforem z lub bez związku. Komórki dodano szybko do studzienek ($2,5 \times 10^5$ komórek/studzienkę) i inkubowano przez 30 minut w 37°C. Po trzech przemyciach buforem wiążącym, przylegające komórki poddano lizie i zliczono stosując fluorymetr. Wyniki przedstawiono w Tabeli 1, 2 i 3. IC_{50} zdefiniowano jako dawkę wymaganą do otrzymywania 50% inhibicji. MS w Tabeli 3 oznacza widmo masowe. „nd” w Tabelach oznacza „nie określono”. A w Tabeli 2 oznacza hamowanie i procent inhibicji wskazuje hamowanie przylegania komórek, gdy związek wprowadzono do eksperymentu w stężeniu 100 μM . Im niższa wartość IC_{50} i wyższa procentowość hamowania, tym bardziej związek jest wydajny w zapobieganiu adhezji komórkowej.

Tabela 1

Związek	IC ₅₀ (nM)	Dane z widma masowego (m/z)
8	7	Obliczono (M-H) ⁻ = 503,22 znaleziono (M-H) ⁻ = 503,24
9	2000	Obliczono (M-H) ⁻ = 503,22 znaleziono (M-H) ⁻ = 503,24
10	3	Obliczono (M-H) ⁻ = 503,22 znaleziono (M-H) ⁻ = 503,22
12	40	Obliczono (M-H) ⁻ = 501,24 znaleziono (M-H) ⁻ = 501,27
13	70	Obliczono (M-H) ⁻ = 473,24 znaleziono (M-H) ⁻ = 473,26
14	150	Obliczono (M-H) ⁻ = 477,22 znaleziono (M-H) ⁻ = 477,25
15	30	Obliczono (M+H) ⁺ = 535,25 znaleziono (M+H) ⁺ = 535,00
16	35	Obliczono (M+H) ⁺ = 519,25 znaleziono (M+H) ⁺ = 519,18
17	60	Obliczono (M-H) ⁻ = 521,21 znaleziono (M-H) ⁻ = 521,22
19	6	Obliczono (M-H) ⁻ = 537,18 znaleziono (M-H) ⁻ = 537,22

Tabela 2

Związek	IC ₅₀ (μM)	%A	Dane z widma masowego m/z
kwas (3S)-3-(1,3-benzodioksol-5-ilo)-3-(((2S)-2-[2-okso-3-(2-tienylometylo)-1-imidazolidynylo]heksanoilo)-amino)propanowy, 20	0,15	100	Obliczono (M-H) ⁻ = 486,37 znaleziono (M-H) ⁻ = 486,20
kwas (3S)-3-(1,3-benzodioksol-5-ilo)-3-(((2S)-2-(2-okso-3-(2-tienylometylo)tetrahydro-1(2H)-pirymidynylo)heksanoilo)amino)propanowy	0,005	100	Obliczono (M-H) ⁻ = 500,18 znaleziono (M-H) ⁻ = 500,22
kwas (3S)-3-(1,3-benzodioksol-5-ilo)-3-(((2S)-2-(2-okso-4-(2-tienylo)-3-(2-tienylometylo)tetrahydro-1(2H)-pirymidynylo)heksanoilo)amino)propanowy	0,05	100	Obliczono (M-H) ⁻ = 582,17 znaleziono (M-H) ⁻ = 582,21
kwas (3S)-3-(1,3-benzodioksol-5-ilo)-3-(((2S)-2-[2-okso-3-(2-tienylometylo)-1,3-diazepan-1-ylo]heksanoilo)amino)propanowy	nd	nd	nd

Tabela 3

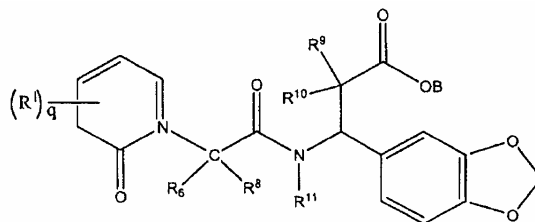
Związek	Dane z widma masowego (m/z)	IC ₅₀ (μM)
kwas (3S)-3-(1,3-benzodioksol-5-ilo)-3-(((2S)-2-[2,5-dioksol-1-(2-tiofenylometylo)-1,2,3,5-tetrahydro-4H-1,4-benzodiazepin-4-ylo]heksanoilo)amino)propanowy	Obliczono (M-H) ⁻ = 576,18 znaleziono (M-H) ⁻ = 576,18	1,5
Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioksol-5-ilo)-3-(((2S)-2-[(3S)-2,5-dioksol-3-(fenylo)metyle]-4-(2-tiofenylometylo)tetrahydro-1(2H)-pirazylo]heksanoilo)amino)propanowy	Obliczono (M-H) ⁻ = 604,21 znaleziono (M-H) ⁻ = 604,24	6
Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioksol-5-ilo)-3-((2-[3-(fenyloksy)fenylo]-acetylo)amino)propanowy	Obliczono (M-H) ⁻ = 418,11 znaleziono (M-H) ⁻ = 418,12	>100

cd. tabeli 3

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-({2-[2-okso-3-((2-tiofenylo-metylo)amino)-1(2H)-pirydynylo]heksanoilo}amino)propanowy	Obliczono (M-H) ⁻ = 510,17 znaleziono (M-H) ⁻ = 510,21	1,3
Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-({2-[2-okso-3-(fenylometylo)-2,3-dihydro-1H-benzimidazol-1-ilo]acetylo}amino)propanowy	Obliczono (M-H) ⁻ = 472,15 znaleziono (M-H) ⁻ = 472,18	0,2
Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-({2-[2-okso-3-(fenylometylo)-2,3-dihydro-1H-benzimidazol-1-ilo]heksanoilo}amino)propanowy	Obliczono (M-H) ⁻ = 528,21 znaleziono (M-H) ⁻ = 528,22	0,07
Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-({2-[2-okso-3-(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo]butanoilo}amino)propanowy	Obliczono (M-H) ⁻ = 461,17 znaleziono (M-H) ⁻ = 461,18	0,03
Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-({(2S)-2-[2-okso-3-fenylometylo]-1(2H)-pirydynylo]heksanoilo}amino)propanowy, 31	Obliczono (M-H) ⁻ = 503,18 znaleziono (M-H) ⁻ = 503,18	0,55
Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-({2-[2-okso-3-(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo]acetylo}amino)propanowy	Obliczono (M-H) ⁻ = 433,14 znaleziono (M-H) ⁻ = 433,16	0,45
Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-({1-[2-okso-3-(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo]cykloheksylo}karbonylo)amino]propanowy	Obliczono (M-H) ⁻ = 501,20 znaleziono (M-H) ⁻ = 501,24	50
Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-({(2S)-2-[2-okso-3-(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo]heksanoilo}amino)propanowy, 34	Obliczono (M-H) ⁻ = 489,20 znaleziono (M-H) ⁻ = 489,20	0,004
Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-({2-[2-okso-3-fenylometylo]-2,3-dihydro-1H-imidazol-1-ilo]heksanoilo}amino)propanowy	Obliczono (M-H) ⁻ = 478,20 znaleziono (M-H) ⁻ = 478,23	0,06
Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-({(2S)-2-[2,4-dioksol-1-fenylometylo]-1,4-dihydro-3(2H)-chinazolinylo]heksanoilo}amino)propanowy	Obliczono (M-H) ⁻ = 556,21 znaleziono (M-H) ⁻ = 556,22	0,1
Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-({2-[3-((2-chlorofenylometylo)-5-metylo-2-okso-1(2H)-pirydynylo]heksanoilo}amino)propanowy	Obliczono (M-H) ⁻ = 537,18 znaleziono (M-H) ⁻ = 537,22	0,01
Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-({2-[5,5-dimetylo-2,4-dioksol-3-(fenylometylo)tetrahydro-1H-imidazol-1-ilo]heksanoilo}amino)propanowy	Obliczono (M-H) ⁻ = 522,22 znaleziono (M-H) ⁻ = 522,22	20
Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-({2-[2-okso-5-(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo]heksanoilo}amino)propanowy	Obliczono (M-H) ⁻ = 489,20 znaleziono (M-H) ⁻ = 489,21	0,04
Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-({2-[2-okso-3-(fenylometylo)-1(2H)-chinoksalinylo]heksanoilo}amino)propanowy	Obliczono (M-H) ⁻ = 540,21 znaleziono (M-H) ⁻ = 540,21	100
Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-({2-[2-okso-3-(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo]pentanoilo}amino)propanowy	Obliczono (M-H) ⁻ = 475,18 znaleziono (M-H) ⁻ = 475,19	0,06
Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-({2-[3-metylo-6-okso-5-(fenylometylo)-1(6H)-pirydazynylo]heksanoilo}amino)propanowy	Obliczono (M-H) ⁻ = 504,21 znaleziono (M-H) ⁻ = 504,24	0,06
Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-({2-[2-okso-3-(fenylometylo)-3,4-dihydro-1(2H)-chinazolinylo]heksanoilo}amino)propanowy	Obliczono (M-H) ⁻ = 542,23 znaleziono (M-H) ⁻ = 542,26	0,4
Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-({2-[2-okso-3-(fenylometylo)-1(2H)-chinolinylo]heksanoilo}amino)propanowy	Obliczono (M-H) ⁻ = 539,22 znaleziono (M-H) ⁻ = 539,22	2

Zastrzeżenia patentowe

1. Związek o wzorze



lub jego farmaceutycznie dopuszczalna sól, w którym

q oznacza liczbę od 0 do 4;

B, R⁶, R⁹, R¹⁰ i R¹¹ każdy niezależnie oznacza wodór;

R¹ w każdym przypadku oznacza niezależnie wybrany z grupy obejmującej C₁₋₃ alkil, arylo(C₁₋₃alkil), (C₁₋₃alkiloksy)arylo(C₁₋₃alkil), (C₁₋₃alkilo)arylo(C₁₋₃alkil), fluorowcoarylo(C₁₋₃alkil), tioaryl i arylokarbonyl; i

R⁸ w każdym przypadku oznacza niezależnie wybrany z grupy obejmującej (C₁-C₆) alkanoil i (C₃-C₆)cykloalkil.

2. Związek według zastr. 1 **znamienny tym**, że R¹ oznacza arylo(C₁-C₃)alkil.

3. Związek według zastr. 1, **znamienny tym**, że jest wybrany z grupy obejmującej:

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((2S)-2-(3-benzylo-5-metylo-2-okso-1(2H)-pirydynylo)-heksanoiloamino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((2S)-2-(3-(4-metoksybenzylo)-5-metylo-2-okso-1(2H)-pirydynylo)heksanoiloamino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((2S)-2-(3-(4-metylobenzylo)-5-metylo-2-okso-1(2H)-pirydynylo)heksanoiloamino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((2S)-2-(3-(4-fluorobenzylo)-5-metylo-2-okso-1(2H)-pirydynylo)heksanoiloamino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((2S)-2-(3-(4-chlorobenzylo)-5-metylo-2-okso-1(2H)-pirydynylo)heksanoiloamino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((2S)-2-(3-(3-chlorobenzylo)-5-metylo-2-okso-1(2H)-pirydynylo)heksanoiloamino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((2S)-2-[2-okso-3-(fenylokarbonylo)-1(2H)-pirydynylo]-heksanoiloamino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((2S)-2-[2-okso-3-(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo]heksanoiloamino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((1-[2-okso-3-(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo]cykloheksylo)karbonyloamino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((2-[2-okso-5-(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo]heksanoiloamino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((2-[2-okso-3-[(2-tiofenylometylo)amino]-1(2H)-pirydynylo]heksanoiloamino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((2-[2-okso-3-(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo]butanoiloamino)propanowy

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((2-[2-okso-3-(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo]acetylo)-amino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((1-[2-okso-3-(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo]cykloheksylo)karbonyloamino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((2-[3-[(2chlorofenylometylo)-5-metylo-2-okso-1(2H)-pirydynylo]heksanoiloamino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((2-(2-okso-5-(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo)heksanoiloamino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((2-(2-okso-5-(fenylometylo)-1(2H)-pirydynylo)pentanoiloamino)propanowy,

Kwas (3S)-3-(1,3-benzodioxol-5-ilo)-3-(((2-(2-okso-5-(fenylokarbonylo)-1(2H)-pirydynylo)heksanoiloamino)propanowy,

4. Kompozycja farmaceutyczna zawierająca farmaceutycznie dopuszczalny nośnik, **znamienna tym**, że zawiera związek określony w zastrz. 1.

5. Zastosowanie związku określonego w zastrz. 1 do wytwarzania leku do leczenia choroby selektywnie wybranej z grupy obejmującej astmę, miażdżycę, reumatoidalne zapalenie stawów, alergię, stwardnienie rozsiane, toczeń, chorobę zapalną jelit, odrzucenie przeszczepu, nadwrażliwość kontaktową, cukrzycę typu I, białaczkę i raka mózgu.