



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 075 481** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) МПК⁶ **C 07 K 5/06, A 61 K 38/05, 38/55**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

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

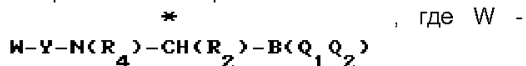
(21), (22) Заявка: 5001319/04, 12.08.1991
(30) Приоритет: 13.08.1990 GB 9017694
(46) Дата публикации: 20.03.1997
(56) Ссылки: Европейский патент N 0293881, кл. C 07 K 5/00, 1988.

(71) Заявитель:
Сандос АГ (CH)
(72) Изобретатель: Райнер Меттерних[DE]
(73) Патентообладатель:
Сандос АГ (CH)

(54) ПРОИЗВОДНЫЕ БОРСОДЕРЖАЩИХ ПЕПТИДОВ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ, ОБЛАДАЮЩАЯ ИНГИБИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТЬЮ К ТРИПСИНОПОДОБНЫМ СЕРИНЫМ ПРОТЕАЗАМ

(57) Реферат:

Использование: в биологии и медицине, в частности в химии борсодержащих пептидов для композиций, обладающих ингибирующей активностью к трипсиноподобным сериновым протеазам. Сущность изобретения: производные борсодержащих пептидов общей ф-лы 1:



водород, N-защитающая группа: бензилоксикарбонил, C₁-C₆-алканоил или C₁-C₆-алкоксикарбонил; Y - TMSal-Pro, (p-TBDPS-O-Me)Phal-Pro, n-OH-Me-Phal-Pro,

TMSal-Adgly, или частичная пептидная последовательность ф-лы 2: -NH-CH(R₃)-C(O)AA, где R₃ - CH₂-Si(CH₃)₃, -CH₂C(CH₃)₃ или метилнафталиновая группа, или метилен-адамантил; AA - пептидный радикал: Pro, Gly, Ala, Leu, Val, Ile, Asp, Glu; Q₁ и Q₂ - вместе пинандиольная или группа -O-CH₂CH₂-O; R₁ - водород, R₂ - AX, где A - (CH₂)_Z; Z = 2-5; X - NH₂, -NH-C(NH)-NH₂, N₃, C₁-C₄-алкокси, Si(CH₃)₃, или R₁ и R₂ - триметильная группа, и фармацевтическая композиция, содержащая фармацевтически приемлемый носитель и борсодержащий пептид ф-лы 1 в количестве 0,02-15 мг/кг тела. 2 с и 3 з.п. ф-лы, 2 табл.



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 075 481** ⁽¹³⁾ **C1**
 (51) Int. Cl.⁶ **C 07 K 5/06, A 61 K 38/05,**
38/55

RUSSIAN AGENCY
 FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 5001319/04, 12.08.1991
 (30) Priority: 13.08.1990 GB 9017694
 (46) Date of publication: 20.03.1997

(71) Applicant:
Sandos AG (CH)
 (72) Inventor: **Rajner Metternikh[DE]**
 (73) Proprietor:
Sandos AG (CH)

(54) DERIVATIVES OF BORON-CONTAINING PEPTIDES AND PHARMACEUTICAL COMPOSITION EXHIBITING INHIBITING ACTIVITY TO TRYPSIN-LIKE SERINE PROTEASES

(57) Abstract:

FIELD: biochemistry, chemistry of peptides. SUBSTANCE: product: derivatives of boron-containing peptides of the general formula (I):

W-Y- $\text{N}(\text{R}_4)-\overset{*}{\text{CH}}(\text{R}_2)-\text{B}(\text{Q}_1\text{Q}_2)$ where: W - hydrogen, N-protected group: benzylhydroxycarbonyl, C₁-C₆-alkanoyl or C₁-C₆-alkoxycarbonyl; Y - TMSal-Pro, (p-TBDPS-O-Me)Phal-Pro, n-OH-Me-Phal-Pro, TMSal-Adgly or partial peptide sequence of the formula (II): -NH-CH(R₃)-C(O)AA where R₃—CH₂-Si(CH₃)₃, -CH₂C(CH₃)₃ or

methylenenaphthalene group, or methyleneadamantyl; AA - peptide radical: Pro-Gly-Ala-Leu-Val-Ile-Asp-Glu; Q₁ and Q₂ - together pinanediol or group -O-CH₂CH₂-O-; R₁ - hydrogen; R₂ - AX where A - (CH₂)_Z, Z = 2-5; X - NH₂, -NH-C(NH)-NH₂; N₃; C₁-C₄-alkoxy, Si(CH₃)₃ or R₁ and R₂ - trimethyl group, and pharmaceutical composition containing an acceptable carrier and boron-containing peptide of the formula (I)

$\text{N}(\text{R}_4)-\overset{*}{\text{CH}}(\text{R}_2)-\text{B}(\text{Q}_1\text{Q}_2)$ taken at dose 0.02-15 mg/body weight. EFFECT: higher efficiency. 5 cl, 2 tbl

RU 2 075 481 C1

RU 2 075 481 C1

Изобретение относится к новым биологически активным соединениям - производным борсодержащих пептидов и фармацевтической композиции, обладающей ингибирующей активностью к трипсинподобным сериновым протеазам, которые могут найти применение в биологии и медицине.

Из ингибиторов трипсинподобных сериновых протеаз важную роль в организме играют тромбин, фактор X_6 , калликреин, плазмин, а также протеазы, подобные пролил-эндопептидазе и протеазе IgAl.

Тромбин, концевой фермент в коагуляционной системе, расщепляет растворенный фибриноген в фибрин, который затем поперечно связывается, и образуется нерастворимый гель, являющийся матрицей для тромба. При повреждении сосуда указанный процесс необходим для прекращения кровотечения. При нормальных условиях количество тромбина в плазме не очень велико. Рост концентрации тромбина может привести к образованию тромбов, вызывающих тромбоэмболическую болезнь, одну из самых распространенных и значительных медицинских проблем нашего времени.

Тромбин способствует кровоостанавливающему регулированию посредством нескольких биологических реакций. В дополнение к своей основной функции, переводу фибриногена в фибрин, тромбин активирует фактор XIII, который ответствен за связывание фибрина. Тромбин также вызывает за счет положительного механизма обратной связи активацию факторов V и VIII, которые необходимы (оба) для его собственного образования из протромбина. Тромбин играет другую важную роль; его связь с кровяными пластинками инициирует их агрегацию и сгущение, которое приводит к прекращению кровотечения.

Воздействия тромбина регулируются естественными ингибиторами в плазме. Самыми важными из них являются антитромбин III и гепарин. Эти два соединения были выделены и терапевтически и профилактически используются при отсутствии равновесия в гемостатическом механизме с риском для активации протромбина.

Синтетические ингибиторы тромбина, имеющие оральную активность, были бы полезны как альтернативные подкожному введению этих природных ингибиторов. В результате значительных исследований в этой области синтезированы хорошие ингибиторы тромбина *in vitro*, но до сих пор нет реального хорошего препарата для орального терапевтического применения. Имитацией ряда аминокислот фибриногена, важного природного субстрата тромбина, были получены несколько хороших коротко-пептидных субстратов тромбина. Эти пептидные субстраты могут быть также переведены в ингибиторы фермента. Таким образом, хромогенные субстраты D-Phe-Pro-Arg-PNA и D-Phe-Pip-Arg-PNA подобны ряду предшественников расщепления крови тромбином. Соответствующие обратимые и необратимые ингибиторы D-Phe-Pro-Arginal и D-Phe-Pro-Arg-CH₂Cl проявляют ингибирующую способность *in vitro* в пределах

10^{-8} M.

Хлорметилкетоны обычно являются неспецифическим реактивом для идеального применения в терапии, а пептидный альдегид, пример которого упомянут выше, имеет достаточно низкое значение LD₅₀.

Фактор X_a фермент коагуляции, ответственный за образование тромбина путем полного протеолиза его предшественника протромбина. По основному влиянию фактор X_a , по меньшей мере, в 10 раз более тромбогенный *in vivo*, чем тромбин. Это следует из того, что фактор X_a - один этап перевода упомянутого тромбина в большую каскадную систему, а также с учетом того, что одна молекула фактора X_a может образовать много молекул тромбина из его предшественника. Его активность можно также объяснить довольно незначительным удалением фактора X_a организмом. Тромбин, не похожий на фактор X_a , быстро выводится из циркулирующей крови и проникает в стенки сосудов. Центральное положение фактора X_a при скрещивании внутренних и наружных путей может привести к соответствующей цели для модуляции гемостатического механизма.

Калликреин образуется из прекалликреина воздействием фактора XII, если имеется отрицательно заряженная поверхность. Калликреин, в свою очередь, может превращать фактор XII в фактор XII_a, за счет чего образуется соответствующая активированная система. Фактор XII_a первый фермент внутренней части коагуляционной системы. Значение контактной системы, вероятно, в том, что поверхность служит связующей при защитном механизме, и большой уровень активации системы определенно доказывает наличие столкновений или рассредоточения при внутрисосудистой коагуляции. Роль калликреина в этой ступени в отщеплении кининогена высокой молекулярной массы от активного брадикинина, сосудорасширителя. Брадикинин также вызывает увеличенную сосудистую проницаемость, боль и миграцию нейтрофильных лейкоцитов. Ингибиторы образования кинина показали высокую активность при определенных типах воспалений, включая артриты или панкреатиты, и могут быть пригодны также для лечения астмы. Вещество, имеющее высокую активность в качестве ингибитора калликреина, апротинин (Тразилол). Апротинин полипептид с молекулярной массой 6500, образует устойчивый комплекс с протеазами, имеющий константу устойчивости 10^{-10} - 10^{-13} M.

Фибринолиз процесс, в котором происходит ферментное растворение сгустков фибриногена и фибрина. Плазма содержит протеин, плазминоген, который при воздействии различных активаторов превращается в плазмин, протеолитический фермент, активность которого подобна активности трипсина. Плазмин разрушает фибриноген и фибрин с получением продуктов разложения фибрин/фибриногена.

При нормальных условиях фибринолизная система находится в равновесии с коагуляционной системой. Небольшие тромбы, образующиеся в потоке крови, могут быть ферментно растворены, и циркуляция

через сосуды может быть восстановлена воздействием фибринолитической системы организма. Если фибринолитическая активность также высока, она может вызывать или продлевать кровотечение. Активность может ингибироваться естественными ингибиторами в крови.

Пролилэндопептидаза разрушает пептидные связи в карбоксильном положении пролина, имеющемся в пептидной цепи. Это сериновая протеаза, которая легко разрушает нейрорепептиды, включающие вещество P, нейровозбудители, тиротропин

освобождающий гормон и лютеинизирующий гормон освобождающий гормон, который обеспечивает возможность клетки производить интерлейкин 2 (IL-2). Фермент ингибируется бензилоксикарбонил-пролил-пролином с K_i 14 нМ. Несмотря на то, что почти ничего не известно о физиологической роли пролилэндопептидазы, можно утверждать, что она играет важную роль в регуляции биологической активности различных нейрорепептидов.

IgA протеиназ катализируемое разрушение IgA, преобладающее образование антитела, которое включает первоначальную защиту от инфекции, разделение F_c и антигенсвязанного F_{ab} участков молекулы. Такое разрушение, как можно предположить, уменьшает или устраняет антимикробную активность. Все IgA протеиназы, таким образом, приводят к остатку пролина в пределах стержневой части человеческой IgA. Пептидные пролил-бороновые кислоты ингибируют IgA протеиназы гонококков (*Neisseria gonorrhoea*) и *Haemophilus influenzae*, что свидетельствует о том, что эти ферменты относятся к сериновым протеазам, классу протеолитических ферментов.

Многочисленные последствия, вызываемые тромбином в разнообразии физиологических процессов, связаны с патологическими нарушениями, такими как рак, воспаление и нейронная деятельность, наводят на мысль о потенциальном использовании ингибиторов тромбина в некоторых случаях, не относящихся строго к сердечно-сосудистой системе.

Много опухолевых клеток вызывают прокоагуляционную активность, связанную с образованием тромбина. Последовательно происходят местное фибриновое отложение и коагуляция, которые значительно влияют на рост повреждений. Далее благодаря этим эффектам в эндотелиальных клетках тромбин может содействовать кровоизлиянию в поврежденных клетках из-за метастаз. Поэтому ингибиторы тромбина могут оказываться не только пригодными для лечения отдельных раковых заболеваний, но и для восстановления свертывающих свойств, часто наблюдаемых у пациентов, благодаря терапии с химиотерапевтическими агентами.

Активация тромбином эндотелиальных клеток вызывает много провоспалительных изменений, таких как синтез и выделение интерлейкина-1, простагландинов и пластинчато-активирующего фактора. Кроме того, тромбин вызывает экспозицию GMP-140 и CD 63, двух адгезивных молекул, ответственных за адгезию лейкоцитов на

эндотелиальной поверхности. Тромбин также увеличивает сосудистую проницаемость протеинов, воздействие которых связывает нейтрофилы и освобождает интерлейкин-8 предшествующий протеин, пептид, связанный, как предполагают, с респираторными расстройствами, ревматическими артритом и язвенными колитами.

Участие во всех этих провоспалительных процессах делает тромбин потенциальной мишенью для терапевтического лечения с помощью ингибиторов тромбина при имеющих отношение к воспалительным процессам патологических нарушениях.

Активность протеазы нексина-1, модулятора нервного раздражения и специфического природного антагониста тромбина, как отмечено, особо понижается у пациентов при болезни Альцгеймера. Это, наряду с наблюдениями об увеличении тромбинподобной активности при заболевании мозга Альцгеймера, дает основание полагать, что ингибиторы тромбина могут быть использованы для необратимого или обратимого процесса нейро-патологических изменений, связанных с гиперактивностью тромбина.

В качестве ингибиторов различных сериновых эстераз и протеаз изучались борные кислоты. Первая борная кислота, содержащая аминокислоту, аналогичную используемому ингибитору протеазы, была борная кислота с аналогом N-ацетил-L-фенилаланина, которая была использована как ингибитор химотрипсина и субтилизина. Пептид-бороновые кислоты были применены как ингибиторы химотрипсина, субтилизина и эластаз.

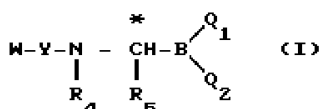
Взаимодействие борных кислот с протеазами в биологических системах известно, при этом различные простые борные кислоты являются практически нетоксичными для человека при их применении. Пептидные борные кислоты, ингибиторы эластаз, были применены на подопытных животных в отношении эмфиземы. В отличие от пептид-хлорметилкетонов они оказались не токсичными при биологически эффективных дозах.

В описании Европейского патента N 293881 приведен способ получения пептидов, содержащих производные C-концевых борных кислот лизина, орнитина и аргинина, и указано на их применение как ингибиторов трипсинподобных сериновых протеаз. Другие аминокислоты в пептидах имеют либо D-, либо L-формы любой из 20 аминокислот природного происхождения.

Было обнаружено, что вещества, имеющие повышенные свойства как ингибиторы трипсинподобных сериновых протеаз, получают, если пептид содержит по меньшей мере одну искусственную α -аминокислоту, имеющую гидрофобную боковую цепь.

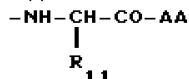
Цель настоящего изобретения поиск в ряду борсодержащих пептидов новых соединений, обладающих высокой активностью ингибирования трипсинподобных сериновых протеаз.

Поставленная цель достигается описываемыми производными борсодержащих пептидов общей формулы

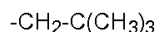
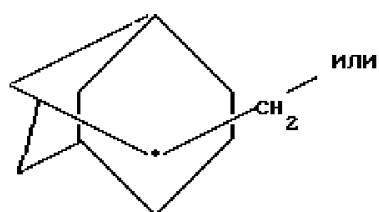
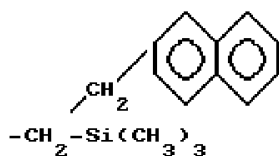


где W является водородом;
N защищающей группой, такой как бензилоксикарбонил; (C₁₋₆)алканойл или (C₁₋₆)алкоксикарбонил;

Y является TMSal-Pro, (p-TBDPS-O-Me)Phal-Pro-P-OH-Me-Phal-Pro, TMSal-Adgly или частичной пептидной последовательностью формулы

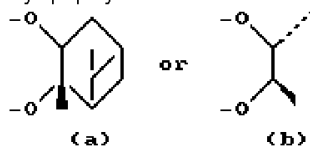


где R₁₁ является группой формулы



AA является Pro, Gly, Ala, Leu, Val, Ileu, Asp или Glu;

Q₁ и Q₂ представляют вместе диольную группу формулы

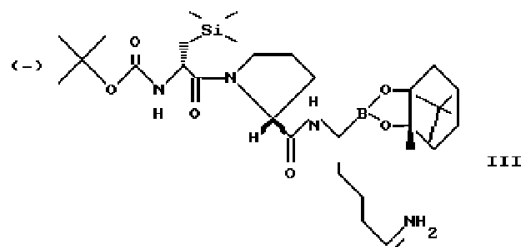
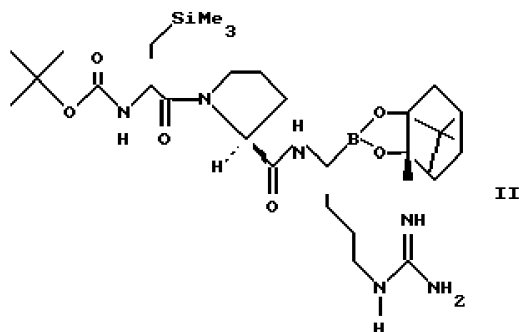


R₄ представляет собой водород;

R₅ является группой формулы -AX и в последней A является группой -(CH₂)_z (в этой формуле значение z 2, 3, 4 и 5) и X представляет -NH₂, -NH-C(NH)-NH₂, -N₃, C₁₋₄ алкокси или -Si(CH₃)₃,

или R₄ и R₅ вместе представляют триметиленовую группу.

Предпочтительными соединениями являются соединения, приведенные ниже:

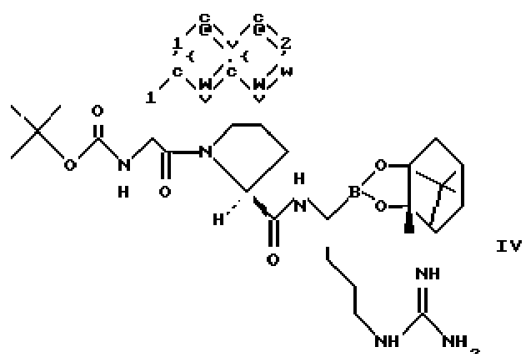


5

10

15

20



25

30

35

40

45

50

55

60

Кроме того, предложена фармацевтическая композиция, обладающая ингибирующей активностью к трипсинподобным сериновым протеазам, включающая производное пептид-борных кислот и фармацевтически приемлемый носитель, отличающаяся тем, что в качестве указанного производного используют соединение общей формулы I в количестве 0,02-15 мг/кг веса тела.

Соединения формулы I пригодны в качестве ингибиторов трипсинподобных протеаз и могут быть использованы in vitro при диагностическом и механическом излучении этих ферментов. Кроме того, из-за их ингибиторной активности они пригодны для применения при профилактике или лечении болезней, вызываемых избытком фермента в регуляторной системе, например для контроля коагуляции фибринолизной системы.

Все соединения изобретения, являющиеся ингибиторами тромбина и фактора X_a, имеют анти-тромбогенные свойства и могут служить при необходимости анти-тромбогенными агентами (см. табл.1). Вообще, соединения могут быть введены орально или внутримышечно в организм с получением анти-тромбогенного эффекта. В случае больших млекопитающих, в том числе людей, соединения могут вводиться один или в смеси с лекарственными носителями или разбавителями в дозе 0,02-15 мг/кг веса, преимущественно 1-10 мг/кг, с получением анти-тромбогенного эффекта и могут быть даны одной дозой или дробной дозой (дозами), или с непрерывным изменением рецептуры. При введении в кровь (1-10 мг на литр) можно предупредить коагуляцию. Лекарственные разбавители хорошо известны и включают сахара, крахмалы и воду, которые могут использоваться для получения таблеток, капсул, инъекционных растворов и др. Соединения изобретения могут быть добавлены в кровь с целью превентивной коагуляции крови в кровь, поступающую в сосуды, трубки или подключенную аппаратуру, находящиеся в контакте с кровью.

Преимущества соединений изобретения заключаются в оральной активности,

быстрые действия и низкой токсичности.

Кроме того, эти соединения особо выгодны при индивидуальном лечении в случае чрезмерной чувствительности к таким веществам, как гепарин.

В приведенных ниже примерах используются символы, обозначающие следующее:

Z бензилоксикарбонил,
 Boc трет-бутилоксикарбонил,
 Ac ацетил,
 MeOH метиловый спирт,
 HONHSu N-гидрокси-имид янтарной кислоты,
 EtOAc этилацетат,
 DCC дициклогексилкарбодиимид,
 OPin пинандиол,
 THF тетрагидрофуран,
 n-Bu n-бутил,
 Np n-нитрофенил,
 TLC тонкослойная хроматография,
 Bzl бензил,
 Baa -NH-CH-(CH₂CH₂CH₂Br)B-,
 TMSal триметилсилилаланин,
 Adal адамантилаланин,
 Naphal 2-нафтилаланин,
 Boro Orn -NH-CH-(CH₂CH₂CH₂NH₂)B-,
 Boro Arg
 -NH-CH-[CH₂CH₂CH₂NHC(NH)NH₂]B-,
 Adg ly 1-адамантилглицин,
 Boro Pro-OPin аналог пролина, в котором -COOH-группа замещена B-OPin-группой,
 Boro Lys -NH-CH-(CH₂CH₂CH₂CH₂NH₂)B-,
 Boro HArg -NH-CH-(CH₂CH₂CH₂CH₂NHC(NH)NH₂)B-,
 Boro Mpg -NH-CH-(CH₂CH₂CH₂-OCH₃)B-,
 p-OH-Me-Phal
 n-гидроксиметил-фенилаланин,
 p.TBDPS-O-Me-Phal
 n-трет.бутил-дифенил-силл
 -оксиметил-фенилаланин.

Кинетические параметры K_i, K_{on} и K_{off} определены ингибированием фермента, катализируемым гидролизом пептид-arg-pNA. Этот гидролиз приводит к получению п-нитроанилина, и по времени его образования (контролируемого по оптической плотности, измеряемой при 405 нм) определяются скорости ингибированной и неингибированной реакций.

Кинетические исследования проведены в 96-микроисслед. чашке в сочетании с одноклеточным кинетическим счетчиком. Активный участок испытуемого человеческого тромбина растворяют в буферном растворе 0,1 м фосфата, pH 7,4, содержащем 0,1 М NaCl и 0,1% бычьего сывороточного альбумина, с получением раствора, содержащего 400 нМ активного фермента. Для хромогенного испытания этот раствор растворяют в таком же буфере до 0,4 нМ. Субстрат, 2AcOH-H-D

циклогексил-ala-arg-pNA, растворяют в буфере до концентрации 0,5. Ингибиторы сначала растворяют в кремофор/этанол (1:1), а затем разбавляют дистиллированной водой с получением 1 мМ раствора. Дальнейшее разбавление ведут фосфатным буферным раствором, описанным выше.

Испытания ускоряют добавлением 100 мкл раствора фермента к смеси, содержащей 100 мкл ингибитора и 50 мкл раствора субстрата. Выделение п-нитроанилина в результате гидролиза субстратов

пептидил-п-нитроанилида протекает от 30 минут до 1 часа, при этом измеряется увеличивающаяся оптическая плотность (при 405 нм). Полученные значения используются для расчета кинетических параметров в присутствии или в отсутствие ингибитора. Хотя не исключены другие механизмы действия, характерным для этого класса ингибиторов тромбина является то, что наблюдаются два главных процесса, а именно быстрое обратное и медленное прочно-связывающее, конкурирующее ингибирование. Кинетические константы всех ингибиторов, действующих по обратимо-связанному механизму, т.е. быстрого действия (начальная скорость v₀ контроля > v₀ с ингибитором) и I_t»E_t (общая концентрация ингибитора/общая концентрация фермента), были рассчитаны методом линейной регрессии при концентрации ингибитора 1/v_s-графически (1). Значение K_i рассчитывается из горизонтального участка K_{i,app} с использованием уравнения (1):

$$K_{i,app} K_i (1+S/K_M).$$

Если скорость взаимодействия с ферментом мала (v₀ не изменяется под воздействием ингибитора) и недостаточна (K_i близка или ниже, чем E_t), т.е. устойчивое ингибированное состояние достигается очень медленно, образование pNA описывается уравнением

$$P = v_s t + \frac{(v_0 - v_s)}{K_{obs}} [1 - \exp(-K_{obs} t)],$$

где P количество pNA, образующееся за время t,

v₀ начальная скорость,

v_s скорость при исследовании,

K_{obs} истинная скорость общей реакции как функция E_t, I_t, K_{i,app}, и наблюдается константа скорости второго порядка (K_{on}') для

взаимодействия ингибитора и фермента. Данные измерений медленного, прочно-связывающего ингибирования, обчисланные по уравнению (2) с использованием нелинейной регрессии, позволяют оценить значения K_{obs}. Значения K_{on}' , K_{off} и K_{i,app} затем получены из

графика K_{obs} v_s [1] Значение K_{off} дается вертикальным участком, а значения K_{on}' и

K_i рассчитаны из наклонного и горизонтального участков с использованием соответственно уравнения (1).

Пример 1.

Boc-D-TMSal-Pro-NH-CH[(CH₂)₃N₃]BOPin.

A.Boc-D-TMSal-OH.

Этиловый эфир D-TMSal (21,5 г, 113,7 мМоль), полученный согласно методике, данной в Angew, Chem 93,793 (1981), растворяют в CH₂Cl₂ и прибавляют раствор избытка Boc₂O в CH₂Cl₂. После выдержки в течение 15 часов при комнатной температуре прибавляют 500 мл охлажденной льдом 0,25 н соляной кислоты. Органический слой промывают 5% NaHCO₃ и рассолом, а затем сушат над Na₂SO₄ и концентрируют в вакууме. Сырой продукт (бесцветное масло) непосредственно используют на стадии омыления. Его растворяют в метаноле,

охлаждают до 0°C, смешивают с 510 мл 1 н NaOH и перемешивают при 0°C в течение 3 ч. После подкисления до pH 1 1 н HCl смесь несколько раз экстрагируют эфиром. Органические слои объединяют, промывают рассолом, сушат над Na₂SO₄ и концентрируют в вакууме.

Boc-D-TMSal-Pro-ONSu.

Boc-D-TMSal-OH (29,7 г, 113,7 мМоль) и п-нитрофенол (19 г, 136,3 мМоль) растворяют в EtOAc. После охлаждения до 0 °C прибавляют DCC (23,4 г, 113,6 мМоль) и смесь перемешивают 1 час при 0°C, а затем 15 часов при комнатной температуре. Отфильтровывают осадок, промывают его EtOAc и фильтрат концентрируют в вакууме. Полученное масло очищают хроматографически (9:1 гексан: EtOAc) с получением требуемой Boc-D-TMSal-ONr в виде белых кристаллов.

Boc-D-TMSal-ONr (51,6 г, 113,7 мМоль) растворяют в THF и добавляют водный раствор эквимольных количеств пролина и Et₃N. После выдержки в течение 20 ч при комнатной температуре THF отгоняют в вакууме и оставшийся водный слой разбавляют водой, а затем экстрагируют несколько раз с помощью EtOAc. С помощью лимонной кислоты (10%-ной) доводят pH водного слоя до 3. Полученный в результате масляный продукт несколько раз экстрагируют с EtOAc. Объединенные органические слои промывают рассолом, сушат над Na₂SO₄ и концентрируют в вакууме. Бесцветное масло перекристаллизируют из эфира/гексана с получением дипептида Boc-D-TMSal-Pro-OH в виде белых кристаллов, т.пл. 176°C.

Полученный дипептид (26 г, 72,5 мМоль) растворяют в EtOAc. После охлаждения до 0 °C прибавляют HONSu (9,8 г, 85,5 мМоль) и DCC (14,9 г, 72,3 мМоль). Смесь перемешивают в течение 3 часов при 0°C и еще 15 ч при комнатной температуре. Затем смесь снова охлаждают до 0°C, отфильтровывают дициклогексимочевину и несколько раз промывают с EtOAc. Фильтрат промывают водным 0,1 М Na₂CO₃, а затем водным 2% KHSO₄.

После высушивания над Na₂SO₄ и концентрирования в вакууме получают в виде белого соединения (пенящегося) Boc-D-TMSal-Pro-ONSu.

C. Boc-D-TMSal-Pro-Baa-OPin.

Эта операция первый этап 3-стадийного процесса, который включает образование in situ хирального α-(бистриметилсилил) амидобороната, гидролиз двух триметилсилильных групп и сочетание полученного таким образом α-аминобороната с активным эфиром (Boc-D-TMSal-Pro-ONSu), полученным на стадии B. Все последовательные реакции проводят в атмосфере аргона. Хиральный α-хлорборонат ((+)-пинандиол-(S)-1-хлор-4-бромбутан-1-боронат) (1,75 г, 5 мМоль) растворяют в 2,5 мл THF и прибавляют к переохлажденному (-78 °C) раствору гексаметилдисилазана лития (5 мл 1 М раствора в гексане, 5 мМоль). После перемешивания в течение 30 минут при -78°C раствор за ночь нагревается до комнатной температуры. Затем, снова охладив смесь до -78°C, прибавляют 3

моль-эквивалента HCl в диоксане. Смесь нагревают до комнатной температуры и при этой температуре перемешивают в течение 2 ч. После охлаждения до -20 °C добавляют раствор активного эфира со стадии B (2,28 г, 5 мМоль) в 6 мл CH₂Cl₂, а затем прибавляют 1,39 мл (10 мМоль) триэтиламина.

Смесь перемешивают 1 ч при -13°C, нагревают до комнатной температуры и перемешивают при этой температуре еще 2 ч. Смесь фильтруют, фильтрат концентрируют в вакууме, остаток разбавляют эфиром и промывают 2 н HCl, 5% NaHCO₃ и рассолом. Органический слой сушат над Na₂SO₄ и концентрируют в вакууме. Остаток кристаллизируют, получая требуемый хиральный пептидборонат в виде белого кристаллического соединения.

D.

Boc-D-TMSal-Pro-NH-CH[(CH₂)₃N₃]BOPin.

Boc-D-TMSal-Pro-Baa-OPin продукт стадии C (804 мг) растворяют в 13 мл DMSO и прибавляют азид натрия (156 мг, 2,4 мМоль). Смесь перемешивают в течение 3 ч при комнатной температуре. Прибавляют эфир/ледяная вода, при этом сразу высаждаются из смеси белые кристаллы. Белый осадок отфильтровывают и промывают эфиром, получая в итоге 0,6 г азид в виде белого кристаллического вещества.

Пример 2. Boc-D-TMSal-Pro-Boro Orn-OPin.

Азид примера 1 (569 мг, 0,9 мМоль) растворяют в 25 мл EtOAc и гидрируют в присутствии 0,5 г 10% Pd/C. Через 2,5 ч катализатор удаляют и раствор концентрируют в вакууме с получением белого пенящегося вещества, которое перекристаллизируют из EtOAc/эфира с получением требуемого продукта в виде белого кристаллического вещества, т.пл. 200-202°C, $[\alpha]_D^{20} = -11,6^\circ$ (с 0,5 в MeOH).

Пример 3. Boc-D-TMSal-Pro-Boro Arg-OPin (бензолсульфонат).

Boc-D-TMSal-Pro-Boro Orn-OPin примера 2 (250 мг, 0,412 мМоль) растворяют в 2 мл этанола. Добавляют бензолсульфокислоту (65,2 мг, 0,412 мМоль). После перемешивания в течение 15 минут при комнатной температуре добавляют цианамид (86,6 мг, 2,06 мМоль) и смесь нагревают с обратным холодильником. Течение реакции контролируют с помощью RP-TLC до исчезновения пятна нингидрина для амина (исходного вещества) и появления полосы Sakaguchi продукта. Через 7 дней, когда амин обнаруживается в незначительных количествах, раствор концентрируют в вакууме. Остаток растворяют в MeOH и очищают хроматографически на колонках 5x55 см с Sephadex LH-20, с MeOH.

Требуемый продукт получают в виде белого вещества $[\alpha]_D^{20} = -45,3^\circ$ (с 1 в CH₂Cl₂).

Пример 4.

Boc-D-TMSal-Pro-NH-CH((CH₂)₄N₃)B-OPin.

A.

(+)-Пинандиол-(S)-1-хлор-5-бром-пентан-1-боронат -4-бром-1-бутен 3 (20,8 мл, 203,3 мМоль) реагирует с катехибороном (24,4 г, 203,3 мМоль) при 100°C в течение 16 ч. Сырой продукт перегоняют в вакууме с получением 4-бром-бутан-1-бороната в виде белого кристаллического вещества.

(+)-Пинандиол (27,7 г, 163 мМоль) растворяют в THF и прибавляют синтезированный выше 4-бром-бутан-1-боронат (41,6 г, 163 мМоль). После выдержки в течение 1 ч при комнатной температуре THF отгоняют в вакууме и остаток очищают хроматографически (90:10 гексан/ EtOAc) с получением в виде бесцветного масла

(+)-пинандиол-4-бром-бутан-1-бороната.

Требуемый

(+)-пинандиол-(S)-1-хлор-5-бром-пентан-1-боронат получают согласно методике, имеющейся в Organometallic 3, 1284 (1984). Для этого охлаждают до -100 °C метилхлорид (9,8 мл) в THF и в течение 20 минут прибавляют н-бутиллитий (71,6 мл 1,6 М раствора, 114,5 мМоль). Через 15 минут при -100 °C прибавляют холодный (-78 °C) раствор

(+)-пинандиол-5-бром-пентан-1-бороната (32,8 г, 104,1 мМоль) в THF. После выдержки реакционной смеси при -100 °C (в течение 1 ч) добавляют безводный $ZnCl_2$ (7,1 г, 52 мМоль) в THF. После дополнительной выдержки в течение 15 минут при -100 °C реакционную смесь нагревают до комнатной температуры и затем перемешивают 2 часа при этой температуре. Растворитель отгоняют в вакууме, остаток разбавляют с гексаном/водой и экстрагируют несколько раз гексаном. После высушивания над Na_2SO_4 и удаления растворителя в вакууме получают (+)-пинандиол-(S)-1-хлор-5-бром-пентан-1-боронат в виде желтого масла, которое без дальнейшей очистки направляют непосредственно на следующую стадию.

В.

Boc-D-TMSal-Pro-NH-CH((CH₂)₄Br)B-OPin.

Раствор $LiN(SiMe_3)_2$ (65,2 мл 1 М раствора, 65,2 мМоль) в THF охлаждают до -78 °C. Прибавляют α -хлорборон со стадии А (23,7 г, 65,2 мМоль). После перемешивания в течение 1 ч при -78 °C смесь перемешивают при комнатной температуре 15 ч. Затем реакционную смесь снова охлаждают до -78 °C, прибавляют HCl (29,8 мл 6,56 н раствора, 196 мМоль) в диоксане, раствор перемешивают 45 минут при -78 °C и затем еще 2 ч при комнатной температуре. Смесь охлаждают до -15 °C, прибавляют Boc-TMSal-Pro-ONSu (29,7 г, 65,2 мМоль) примера 1 в CH_2Cl_2 , а затем прибавляют триэтиламин (18,1 мл, 30,4 мМоль) для того, чтобы началась реакция конденсации. После перемешивания при -15 °C в течение 1 ч смесь перемешивают 2 ч при комнатной температуре. Смесь фильтруют через Hyflo и концентрируют в вакууме. Остаток разбавляют эфиром/водой и несколько раз экстрагируют эфиром. После высушивания над Na_2SO_4 и концентрирования в вакууме с проведением кристаллизации из эфира/гексана получают требуемый Boc-D-TMSal-Pro-NH-CH((CH₂)₄Br)B-OPin в виде белого кристаллического вещества, т.пл. 74 °C.

C. Boc-D-TMSal-Pro-NH-CH((CH₂)₄N₃)B-OPin.

В DMSO растворяют продукт стадии В (33,3 г, 48,6 мМоль) и прибавляют азид натрия (6,3 г, 97,2 мМоль). Смесь

перемешивают 6 ч при комнатной температуре. Прибавляют эфир/ледяная вода и смесь несколько раз экстрагируют с эфиром. После высушивания над Na_2SO_4 и концентрирования получают масло, которое кристаллизуют с получением Boc-D-TMSal-Pro-NH-CH((CH₂)₄N₃)B-OPin в виде белого кристаллического вещества, т.пл. 69-70 °C; $\alpha_D = -74,4^\circ$ (с 1 в MeOH).

Пример 5. Boc-D-TMSal-Pro-Boro Lys-OPin.

В EtOAc растворяют азид примера 4 (22 г, 34 мМоль) и гидрируют в присутствии 4 г 10% Pd/C. Через 9 ч катализатор удаляют и раствор концентрируют в вакууме. Полученную массу растворяют в EtOAc и кристаллизуют с получением требуемого Boc-D-TMSal-Pro-Boro Lys-OPin в виде белых кристаллов, т.пл. 128-129 °C; $\alpha_D = -59,6^\circ$ (с 1 в MeOH).

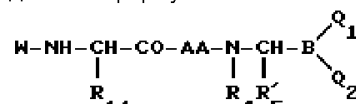
Пример 6. Boc-D-TMSal-Pro-Boro HArg-OPin (бензолсульфонат).

В этаноле растворяют бензолсульфонат Boc-D-TMSal-Pro-Boro Lys-OPin примера 5 (800 мг, 1,03 мМоль). Прибавляют цианамид (210 мг, 5 мМоль) и смесь нагревают с обратным холодильником. Ход реакции контролируют с помощью RP-TLC, причем наблюдают появление полосы Sakaguchi продукта и исчезновение пятна нингидрина (как исходного вещества амина). Через 7 дней, когда амин обнаруживается незначительно, раствор концентрируют в вакууме. Остаток растворяют в MeOH и хроматографически очищают на колонке 5x55 см с Sephadex LH-20, с MeOH.

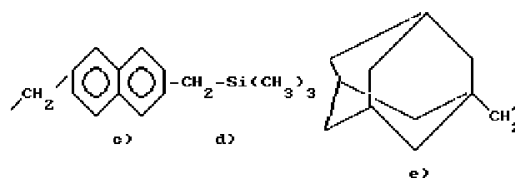
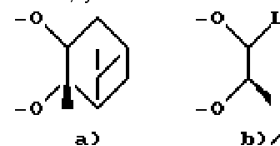
Требуемый продукт получают в виде белого пенящегося вещества, $\alpha_D = -40,8^\circ$ (с 0,5 в CH_2Cl_2).

Примеры 7-29.

Методами, аналогичными указанным в примерах 1-6, могут быть получены соединения формулы



в которой R_4 , R'_5 , R_{11} , $Q_1 + Q_2$ и AA имеют значения, указанные в таблице 2.



-CH₂-C(CH₃)₃ f)

Пример 30. Boc-D-TMSal-Pro-Boro Mpg-OPin.

А.

(+)-Пинандиол-(S)-1-хлор-метокси-бутан-1-боронат -3-метокси-1-пропен (6 г, 83,3 мМоль) реагирует с катехинбораном (10 г, 83,3 мМоль) при 100 °C в течение 24 ч. Сырой продукт перегоняют в вакууме с получением 3-метокон-пропан-1-бороната в виде

бесцветного масла.

(+)-Пинандиол (10,6 г, 62,5 мМоль) растворяют в THF и прибавляют синтезированный выше 3-метокси-пропан-1-боронат (12 г, 62,5 мМоль). После перемешивания при контактной температуре в течение 1 ч в вакууме отгоняют THF и остаток очищают хроматографически (80:20 гексан/EtOAc) с получением

(+)-пинандиол-3-метоксипропан-1-бороната в виде бесцветного масла.

Требуемый

(+)-пинандиол-(S)-1-хлор-4-метокси-бутан-1-боронат получают согласно методике, приведенной в Organometallics 3, 1284 (1984). С этой целью метиленхлорид (2,2 мл) в THF охлаждают до -100°C и в течение 2,0 минут прибавляют н-бутиллитий (13,8 мл 1,6 М раствора, 22 мМоль). Смесь выдерживают при -100°C и прибавляют раствор (+)-пинандиол -3-метокси-пропан-1-бороната (5,04 г, 20 мМоль) в THF, а затем безводный ZnCl₂ (1,42 г, 10 мМоль). Выдержав смесь 15 минут при -100°C, ее нагревают до комнатной температуры и перемешивают при этой температуре 2 ч. Растворитель отгоняют в вакууме, остаток разбавляют эфиром и промывают водой. Органический слой сушат над Na₂SO₄ и концентрируют с получением масла, которое очищают хроматографически (9:1 гексан/EtOAc), выделяя в итоге в виде бесцветного масла требуемый (+)-пинандиол-(S)-1-хлор-4-метокси-бутан-1-боронат.

В. Вос-D-TMSal-Pro-Boro Mpg-OPin.

Раствор LiN(SiMe₃)₂ (5 мл, 1 М раствор, 5 мМоль) в THF охлаждают до -78°C. Прибавляют α-хлор-боронат со стадии А (1,53 г, 5 мМоль) в THF. После перемешивания в течение 1 ч при -78 °C смесь перемешивают еще 15 ч при комнатной температуре. Затем реакционную смесь снова охлаждают до -78°C, прибавляют HCl (2,7 мл 5,65 н раствора, 15 мМоль) в диоксане, раствор перемешивают 30 минут при -78°C, а затем еще 2 ч при комнатной температуре. Смесь охлаждают до -15°C, прибавляют Вос-TMSal-Pro-ONSu (2,28 г, 5 мМоль) примера 1 в CH₂Cl₂ и триэтиламин (1,39 мл, 10 мМоль) для начала реакции конденсации. После перемешивания при -15°C в течение 1 ч смесь перемешивают еще 2 ч при комнатной температуре. Смесь фильтруют через Hyflo и концентрируют в вакууме. Остаток разбавляют EtOAc и промывают 0,2 н HCl 5% NaHCO₃ и, наконец, с рассолом. После отгонки растворителя получают масло, которое очищают хроматографически (EtOAc), выделяя в виде белого пенящегося вещества Вос-D-TMSal-Pro-Boro Mpg-OPin α_D= -48,8° (с 0,25 в CH₂Cl₂).

Пример 31.

Вос-D-(n-TBDPS-O)метил)Phal-Pro-Boro Orm-OPin.

А.

Вос-D-(n-((1,1-диметилэтил)дифенил-силил)окси)метил-фенилаланин.

С целью селективного восстановления азидной группы в субстрате добавляют тиофенол (7,27 г, 66 мМоль) к суспензии SnCl₂ (3,12 г, 16,5 мМоль) в CH₂Cl₂. Добавляют триэтиламин (6,8 мл, 49,5 мМоль),

получая желтый раствор. Вос-ангидрид (4,8 г, 22 мМоль) добавляют к смеси, а затем в виде раствора в CH₂Cl₂ прибавляют приготовленный согласно методике, приведенной в J. Am. Chem. Soc. 1096881 (1987), 3(2S),

4S-3-(2-азидо-3-(n-((1,1-диметил)дифенил)окси-метил)фенил-1-оксо-пропил)-4-(фенилметил)-2-оксазолидинон (%de>95; 6,8 г, 11 мМоль). Смесь перемешивают при комнатной температуре, разбавляют с EtOAc/2HNaOH и отфильтровывают через Hyflo. Органический слой промывают 2% водным раствором NaHSO₄, 5% водным NaHCO₃ и окончательно рассолом. После высушивания над Na₂SO₄ и концентрирования в вакууме получают желтое масло, очищенное хроматографически, с получением в виде белого пенящегося вещества (3(2S), 4S)-3-(2-(((трет. -бутилокси)-карбонил)амино)-3-(n-(((1,1-диметилэтил)дифенил-силил)окси)-метил-фенил-1-оксопропил)-4-(фенилметил)-2-оксазолидинона. Это соединение (2 г, 2,88 мМоль) растворяют в THF/воде и подвергают гидролизу с полученной in situ LiOH (5,76 мМоль) при 0°C. После выдержки при 0°C в течение 1,75 ч добавляют Na₂CO₃ (1,25 г, 9,9 мМоль) в воде. В вакууме отгоняют THF, доводя pH остатка до 1-2, и смесь трижды экстрагируют с EtOAc. Объединенные органические слои промывают водой, сушат над Na₂SO₄ и концентрируют в вакууме.

После кристаллизации из гексан/эфира получают оксазолидинон в виде белых кристаллов. Фильтрат концентрируют в вакууме с получением требуемого соединения в виде белого пенящегося вещества.

В.

Вос-D-(n-(((1,1-диметилэтил)дифенил-силил)окси)-метил)-фенилаланин-Pro-ONSu.

DCC (0,59 г, 2,88 мМоль) прибавляют к смеси заглавного соединения стадии А (1,6 г, 2,88 мМоль) и n-нитрофенола (0,43 г, 3,12 мМоль) в EtOAc, причем температура равна 0°C. Реакционную смесь перемешивают 16 ч при комнатной температуре. После охлаждения до 0 °C отфильтровывают осадок и промывают его холодным EtOAc. Фильтрат концентрируют в вакууме. Полученное масло (Вос-D-(n-TBDPS-O-Me)-Phal-ONP без дополнительной очистки используют на последующей стадии.

Вос-D-(n-TBDPS-O-Me)-Phal-ONP (2,2 г, 2,88 мМоль) растворяют в THF и прибавляют водный раствор L-пролина (365 мг, 3,17 мМоль) и Et₃N (0,88 мл, 6,33 мМоль). После выдержки в течение 15 ч при комнатной температуре в вакууме отгоняют THF. Доводят pH до 3 с помощью 10%-ной лимонной кислоты. Полученный масляный продукт несколько раз экстрагируют с EtOAc. Объединенные органические слои промывают рассолом, сушат над Na₂SO₄ и концентрируют в вакууме. Бесцветное масло очищают хроматографически (9:1 CH₂ Cl₂/EtOH) с получением в виде белого пенящего вещества

Вос-D-(n-TBDPS-O-Me)-Phal-Pro-OH.

Затем дипептид (1,3 г, 2,06 мМоль) растворяют в EtOAc. После охлаждения до 0 °C прибавляют HONS₄ (220 мг, 2,47

мМоль) и DCC (330 мг, 2,06 мМоль). Смесь снова охлаждают до 0 °С, отфильтровывают дициклогексилмочевину и промывают несколько раз холодным EtOAc. Фильтрат промывают водным 0,1 М Na₂CO₃ 8% NaHSO₄, а затем рассолом. После сушки над Na₂SO₄ и концентрирования в вакууме получают целевое соединение Boc-D-(n-TBDPS-O-Me)-Phal-Pro-ONSu в виде белого пенящегося продукта.

С.
Boc-D-(n-TBDPS-O-Me)-Phal-Pro-Baa-OPin.

Названное соединение получают аналогично первому этапу 3-стадийного получения, описанному при синтезе Boc-D-TMSal-Pro-Baa-OPin в примере 1/С. Используют полупродукт α-аминоборонат, который образуется по реакции хирального а-хлор-бороната (+)-пинандиол-(S)-1-хлор-4-бром-бутан-1-бороната (659 мг, 2 мМоль) с LiN(SiMe₃)₂ (2 мМоль) и гидролизом с NCl; этот полупродукт реагирует с активным эфиром стадии В (1,45 г, 2 мМоль) в присутствии Et₃N (4 мМоль) с получением в итоге названного соединения, которое очищают хроматографически (1:1 гексан/EtOAc).

D. Boc-D-(n-TBDPS-O-Me)-Phal-Pro-Boro Orn-OPin.

Продукт стадии С (680 мг, 0,72 мМоль) растворяют в DMSO и прибавляют азид натрия (94 мг, 1,44 мМоль). Смесь перемешивают 4 ч при комнатной температуре. Добавляют эфир/ледяную воду и при этом из смеси выделяются белые кристаллы. Их отфильтровывают и промывают водой с получением белого кристаллического вещества Boc-D-(n-TBDPS-O-Me)-Phal-Pro-NH-CH((CH₂)₃N₃)B-OPin. Этот азид (272 мг, 0,3 мМоль) растворяют в EtOAc и гидрируют в присутствии катализатора Lindlar. Через 8 ч катализатор удаляют и раствор концентрируют в вакууме. Сырой продукт очищают хроматографически (EtOAc, затем EtOH) с получением требуемого соединения в виде белого пенящегося вещества, α_D²⁰ = -32,4 ° (с 0,25 в MeOH).

Пример 32. Boc-D-(n-OH-Me)-Phal-Pro-Boro Orn-OPin.

Бор-орнитин примера 31 (132 мг, 0,75 мМоль) растворяют в THF и проводят реакцию с n-Bu₄NF (0,3 мл 1,1 М раствора, 0,3 мМоль). Через 45 минут при комнатной температуре добавляют ледяную воду и полученную смесь несколько раз экстрагируют с EtOAc. Объединенные органические слои сушат над Na₂SO₄ и концентрируют в вакууме. Полученное масло очищают хроматографически на коротких колонках (EtOAc, а затем EtOH) с получением требуемого заглавного соединения в виде белого пенящегося продукта, α_D²⁰ = -34,0 °С (с 0,1 в MeOH).

Пример 33. Boc-D-TMSal-Adgly-Boro Pro-OPin.

A. L-1-адамантилглицин.

(3(2S)-4S)-3-(2-азидо-2-адамант-1-ил-1-оксэтил)-4-фенилметил -2-оксазолидон (% de >95; 9,86 г, 25 мМоль), полученный согласно методике, приведенной в J. Am. Chem. Soc. 109, 6881 (1987), растворяют в 320 мл смеси THF/H₂O (3:1), охлаждают до

0 °С, смешивают с 4 эквив. пероксида водорода и 2 эквив. LiOH. Полученную смесь перемешивают при 0 °С до полного расходования субстрата (30 минут) и пероксил (перкарбоксилат) разлагают при 0 °С с 10% избытком 1,5 н водн. Na₂SO₃. После смешения с водным NaHCO₃ (pH 9-10) смесь экстрагируют несколько раз EtOAc с целью удаления оксазолидинона (хирального), образующегося побочно. Продукт, карбоновую кислоту, выделяют с помощью экстракции EtOAc из подкисленной (pH 1-2) водной фазы, сушат над Na₂SO₄ и концентрируют в вакууме. Требуемую (S)-азидо-адамант-1-илуксусную кислоту выделяют в виде белых кристаллов (5,29 г) и используют на последующей стадии без дополнительной очистки. 2 (S)-азидо-адамант-1-илуксусную кислоту (5,29 г, 22,5 мМоль) растворяют в 110 мл EtOH и 11,3 мл 2 н HCl, а затем гидрируют в присутствии 0,7 г 10% Pd/c. Через 2,5 ч катализатор удаляют и раствор концентрируют в вакууме с получением требуемой аминокислоты в виде гидрохлоридной соли. Полученный гидрохлорид суспендируют в 40 мл H₂O и обрабатывают с помощью 1,9 г твердого NaHCO₃. Образующуюся аминокислоту отфильтровывают и промывают несколько раз водой. После сушки в вакууме получают белые кристаллы L-1-адамантилглицина, [α]_D²⁰ = +3,0 (с 1 в MeOH).

B. Boc-D-TMSal-Adgly-ONSu.

В THF растворяют Boc-D-TMSal-ONP (7,71 г, 20,2 мМоль) примера 1 и прибавляют водный раствор эквимольных количеств 1-адамантилглицина и Et₃N. Через 20 ч выдержки при комнатной температуре THF отгоняют в вакууме и водный остаток разбавляют 150 мл 0,1 н HCl, а затем несколько раз экстрагируют с EtOAc. Объединенные органические слои промывают рассолом, сушат над Na₂SO₄ и концентрируют в вакууме. Масляный продукт очищают хроматографически на силикагеле (CH₂Cl₂) с получением дипептида Boc-D-TMSal-Adgly-OH в виде масла. Этот дипептид (6,9 г, 15,2 мМоль) растворяют в 80 мл EtOAc. После охлаждения до 0 °С прибавляют HONS₄ (2,1 г, 18 мМоль) и DCC (3,1 г, 15,2 мМоль). Смесь перемешивают при 0 °С 3 ч и затем при комнатной температуре еще 15 ч. Смесь снова охлаждают до 0 °С, отфильтровывают дициклогексилмочевину и промывают с EtOAc. Фильтрат промывают водным 0,1 М NaHCO₃, а затем водным 2% KHSO₄. После сушки над Na₂SO₄ и концентрирования в вакууме получают в виде белого пенящегося вещества Boc-D-TMSal-Adgly-ONSu (7,2 г).

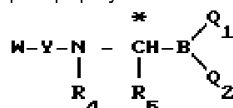
C. Boc-D-TMSal-Adgly-Boro Pro-OPin.

Названное соединение получают, используя методику, аналогичную описанной для первого этапа 3-стадийного получения при синтезе Boc-D-TMSal-Pro-Baa-OPin в примере 1/С. С учетом низкой реакционной активности пространственно стесненного активного эфира стадии В (2,7 г, 5 мМоль) полупродукт α-аминоборонат, который образуется за счет взаимодействия хирального а-хлор-бороната

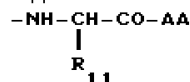
(+)-пинандиол-(S-1-хлор-4-бром-бутан-1-боронат) (1,7 г, 5 ммоль) с гексаметилдисилазаном лития (5 ммоль) и гидролиза с HCl, реагирует с активным эфиром стадии В с получением как главного продукта Вос-D-TMSal-Adgly-Boro Pro-OPin. Сырой продукт очищают хроматографически (2:1 гексан/EtOAc) с получением заглавного продукта (0,48 г) в виде белого пенящегося вещества, которое далее очищается перекристаллизацией из эфира/гексана с получением целевого соединения Вос-D-TMSal-Adgly-Boro Pro-OPin в виде белого кристаллического вещества. Т.пл. 187-188°C, $[\alpha]_D^{20} = +2,8^\circ$ (с 1 в CH₂Cl₂).

Формула изобретения:

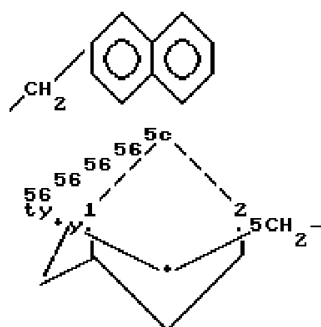
1. Производные борсодержащих пептидов общей формулы I



где W водород или N-защитающая группа, такая, как бензилоксикарбонил, C₁ - C₆-алканоил или C₁ - C₆-алкоксикарбонил; Y TM Sal-Pro-, (P-TBDPS-O-Me)Phal-Pro-, n-OH-Me-Phal-Pro-, TM Sal-Adgly или частичная пептидная последовательность формулы



где R₁₁ -



-CH₂-Si(SH₃)₃

или

CH₂-C(CH₃)₃;

AA Pro, Gly, Ala, Leu, Val, Ile, Asp или Glu; Q₁ и Q₂ вместе диольная группа формулы



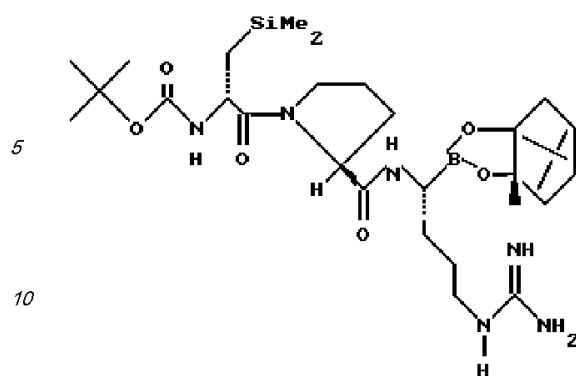
R₄ водород;

R₅ группа формулы AX и в последней A группа -(CH₂)₇, где Z 2,3,4 и 5 и X NH₂, -NH-C(=NH)-NH₂, -N₃, C₁ - C₄- алкокси или -Si(CH₃)₃

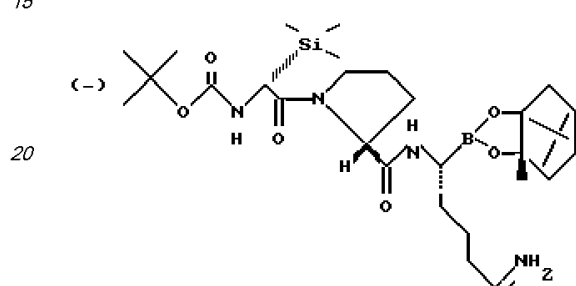
или

R₄ и R₅ вместе триметиленовая группа.

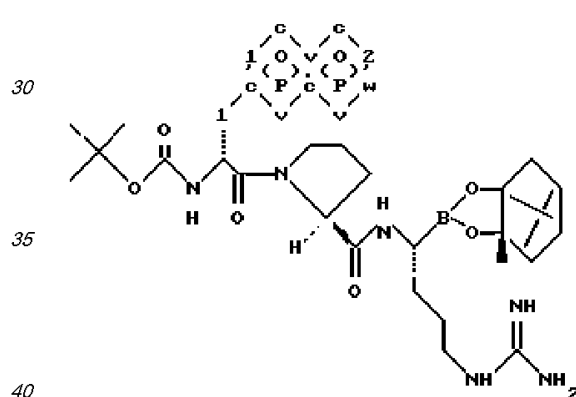
2. Производные по п.1, отличающиеся тем, что соответствуют формуле II



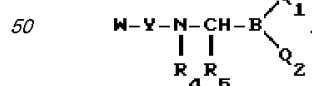
3. Производные по п.1, отличающиеся тем, что соответствуют формуле III



4. Производные по п.1, отличающиеся тем, что соответствуют формуле IV



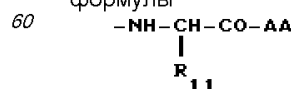
5. Фармацевтическая композиция, обладающая ингибирующей активностью к трипсинподобным сериновым протеазам, включающая производное пептидных борных кислот и фармацевтически приемлемый носитель, отличающаяся тем, что в качестве производного пептидных борных кислот она содержит производное борсодержащего пептида общей формулы I



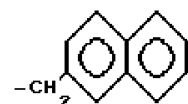
где W водород или

N-защитающая группа, такая, как бензилоксикарбонил, C₁ - C₆-алканоил или C₁ - C₆-алкоксикарбонил;

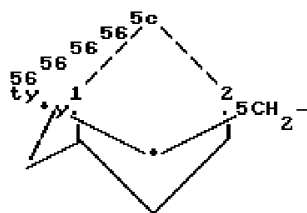
Y TM Sal-Pro-, (P-TBDPS-O-Me) Phal-Pro-, n-OH-Me-Phal-Pro-, TMSal-Adgly или частичная пептидная последовательность формулы



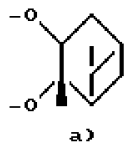
где R₁₁ -CH₂ C(CH₃)₃, -CH₂Si(CH₃)₃



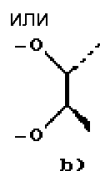
или



AA Pro, Gly, Ala, Leu, Val, Ile, Asp, Gly;
Q₁ и Q₂ вместе диольная группа формулы



a)



б)

R₄ водород;

R₅ группа формулы AX и в последней является группой

-(CH₂)_z,

где Z 2, 3, 4, 5;

X -NH₂, -NHC(= NH)NH₂, N₃, C₁-

C₄-алкокси или -Si(CH₃)₃ или R₄ и R₅ вместе триметиленовая группа,

в количестве 0,02 15 мг/кг массы тела.

Таблица 1.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МАССПЕКТРАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ ПРИМЕРОВ 1-33

Пример №	Ki(THR) [nM]	IC ₅₀ (PA) [nM]	MSI(M+H) ⁺
1	-	-	634.1
2	2500	18	607.5
3	0.041	5.2	649
4	13.5	24	647
5	0.039	5.5	621
6	0.075	4.8	663
7	8.68	-	661
8	0.021	-	703
9	1066	-	709.8
10	>10000	-	712
11	>10000	-	650
12	0.06	-	645.7
13	0.23	-	711
14	0.36	-	717.6
15	50.63	-	725
16	0.035	4.1	683.6
17	0.044	6.4	625
18	3.76	75	669.5
19	0.68	9.2	585
20	189.5	1600	603
21	>10000	>10000	605
22	17.2	20	617
23	2.5	67	591.6
24	0.067	12	633
25	2.9	7.9	623
26	1.9	6.8	581
27	989.4	720	639
28	13.8	26	507
29	15.2	34	-
30	8.4	40	622
31	970.0	85	879
32	4.7	380	641
33	>10000	>10000	684

Ki(THR): Ингибирование тромбина в исследовании хромогенного субстрата.

IC₅₀(PA): in vitro ингибирование тромбин-вызванной агрегации человеческих пластинок.

MS: Масспектр.

Таблица 2.

Пример №	W	R ₁₁	R ₄	R ₅	Q ₁ +Q ₂ AA[α] _D ²⁰	C	Растворит.
7	Boc	c)	H-(CH ₂) ₃ -NH ₂	a)	Pro -27,8°	0,5	EtOH
8	Boc	c)	H-(CH ₂) ₃ NHC(NH)NH ₂	a)	Pro -75,0°	1,0	CH ₂ Cl ₂
9	Boc	e)	H-(CH ₂) ₄ N ₃	a)	Pro -64,7°	0,51	-
10	Boc	c)	H-(CH ₂) ₂ SiMe ₃	a)	Pro -57,0°	0,5	-
11	Boc	c)	H-(CH ₂) ₂ SiMe ₃	a)	Pro -59,3°	1,0	CH ₂ Cl
12	Ac	c)	H-(CH ₂) ₃ NHC(NH)NH ₂	a)	Pro -80,2°	0,5	-
13	Boc	e)	H-(CH ₂) ₃ NHC(NH)NH ₂	a)	Pro -42,3°	0,5	-
14	Boc	c)	H-(CH ₂) ₄ NHC(NH)NH ₂	a)	Pro -18,8°	0,5	EtOH
15	Boc	e)	H-(CH ₂) ₄ NHC(NH)NH ₂	a)	Pro -61,7°	0,41	CH ₂ Cl ₂
16	Boc	e)	H-(CH ₂) ₄ NH ₂	a)	Pro -52,4°	0,54	-
17	Boc	d)	H-(CH ₂) ₃ NHC(NH)NH ₂	b)	Pro -35,8°	1,0	EtOAc
18	Boc	e)	H-(CH ₂) ₃ -NH ₂	a)	Pro -10,6°	0,5	CH ₂ Cl ₂
19	Boc	d)	H-(CH ₂) ₃ NHC(NH)NH ₂	b)	Gly +8,8°	0,5	EtOAc
20	Ac	c)	H-(CH ₂) ₃ -NH ₂	a)	Pro -78,6°	0,75	CH ₂ Cl ₂
21	Boc	i)	H-(CH ₂) ₃ -NH ₂	b)	Gly -4,4°	0,5	-
22	Boc	f)	H-(CH ₂) ₃ -N ₃	a)	Pro -76,0°	0,5	-
23	Boc	f)	H-(CH ₂) ₃ -NH ₂	a)	Pro -25,4°	0,5	-
24	Boc	f)	H-(CH ₂) ₃ NHC(NH)NH ₂	a)	Pro -34,8°	0,5	-
25	Boc	d)	H-(CH ₂) ₄ NHC(NH)NH ₂	a)	Gly -14,7°	1,0	MeOH
26	Boc	d)	H-(CH ₂) ₄ NH ₂	a)	Gly -30,6°	0,5	EtOH
27	Boc	d)	H-(CH ₂) ₄ NH ₂	a)	Asp -18,4°	0,5	MeOH
28	H	d)	H-(CH ₂) ₃ NH	a)	Pro -53,6°	0,32	-
29	Boc	d)	H-(CH ₂) ₄ OC ₂ H ₅	a)	Pro -54,2°	0,5	-