

Винахід, загалом, відноситься до композицій, сполук, що можуть використовуватись для лікування демієлінізуючих захворювань і станів і/або зниження паралічу у пацієнта.

Запалення є відповіддю васкуляризованих тканин на інфекцію або ушкодження, і викликане адгезією лейкоцитів до ендотеліальних клітин і їх інфільтрацією в навколишні тканини. При нормальному запаленні інфільтруючі лейкоцити вивільняють токсичні медіатори для знищення організмів, що вторглись, фагоцитують дебрис і загиблі клітини, і відіграють роль у відновленні тканин та імунній відповіді. Однак, при патологічному запаленні інфільтруючі лейкоцити реагують надлишково і можуть викликати серйозне або фатальне ушкодження. Див., наприклад, Hickey, *Psychoneuroimmunology II* (Academic Press 1990).

Інтегрини являють собою сімейство глікопротеїнів клітинної поверхні, що беруть участь у клітинній адгезії, міграції і активації імунних клітин. Альфа-4-інтегрин експресується всіма циркулюючими лейкоцитами крім нейтрофілів і утворює гетеродимерні рецептори в зв'язку з бета-1 (β_1) або бета-7 (β_7) інтегриновими субодиницями; альфа-4-бета-1 ($\alpha_4\beta_1$) і альфа-4-бета-7 ($\alpha_4\beta_7$) відіграють роль у міграції лейкоцитів по судинному ендотелію (Springer et al., *Cell* 1994, 76: 301-14; Butcher et al., *Science* 1996, 272: 60-6) і вносять вклад в активацію і виживання клітин у паренхимі (Damle et al., *J Immunol.* 1993; 151: 2368-79; Koopman et al., *J. Immunol.* 1994, 152: 3760-7; Leussink et al., *Acta Neuropathol.* 2002, 103:131-136). $\alpha_4\beta_1$ конститутивно експресується на лімфоцитах, моноцитах, макрофагах, гладких клітинах, базофілах і еозинофілах.

Альфа-4-бета-1 (також відомий як дуже пізній антиген-4, VLA-4) зв'язується молекулою адгезії судинних клітин-1 (Lobb et al., *J. Clin. Invest.* 1994, 94: 1722-8), що експресується судинним ендотелієм у багатьох ділянках хронічного запалення (Bevilacqua et al., 1993 *Annu. Rev. Immunol.* 11 : 767-804; Postigo et al. 1993 *Res. Immunol.* 144: 723-35). $\alpha_4\beta_1$ має інші ліганди, включаючи фібронектин та інші компоненти позаклітинного матриксу (ECM).

Димер альфа-4-бета-7 взаємодіє з адресином - молекулою клітинної адгезії слизової (MAdCAM-1), і опосередковує хоумінг лімфоцитів у кишечник (Farstad et al., 1997 *Am. J. Pathol.* 150: 187-99; Issekutz, 1991 *J.Immunol.* 147: 4178-84). Експресія MAdCAM-1 на судинному ендотеліі також підвищена в ділянках запалення в кишковому тракті пацієнтів із запальним захворюванням кишечника (IBD) (Briskin et al., 1997 *Am. J.Pathol.* 151 : 97-110).

Молекули адгезії, такі як альфа-4-інтегрини, є потенційними мішенями для терапевтичних засобів. Наприклад, рецептор VLA-4, субодиницею якого є альфа-4-інтегрин, є важливою мішенню через його взаємодію з лігандом, що знаходиться на ендотеліальних клітинах головного мозку. Захворювання і стани, що є результатом запалення головного мозку, мають особливо важкі наслідки. В іншому прикладі димер інтегрину альфа-4-бета-7 є важливою мішенню внаслідок його залучення в хоумінг лімфоцитів і патологічне запалення шлунково-кишкового тракту.

Альфа-4-бета-1 інтегрин експресований на позаклітинній поверхні активованих лімфоцитів і моноцитів, що були задіяні в патогенез гострих запальних ушкоджень головного мозку і порушення гемато-енцефалічного бар'єра (ГЕБ), пов'язане з розсіяним склерозом (РС) (Coles et al., 1999 *Ann. Neurol.* 46 (3): 296-304). Засоби, спрямовані проти інтегрину альфа-4, тестували на їх протизапальний потенціал *in vitro* та *in vivo*. Див. Yednock et al., *Nature* 1992, 356: 63-66; патент США №5840299, виданий Bendig et al. 24 листопада 1998р., і патент США №6001809, виданий Thorsett et al. 14 грудня 1999 року. Експерименти *in vitro* демонструють, що антитіла проти інтегрину альфа-4 блокують приєднання лімфоцитів до ендотеліальних клітин головного мозку. Експерименти, у яких тестується дія антитіл проти альфа-4 інтегрину на тварин, що мають штучно індукований стан, який імітує розсіяний склероз, експериментальний аутоімунний енцефаломієліт (ЕАЕ), продемонстрували, що введення антитіл проти альфа-4 інтегрину запобігає запаленню головного мозку і наступному паралічу у тварин. В усіх даних експериментах антитіла проти альфа-4 інтегрину виявляються як терапевтичні засоби, що потенційно можуть використовуватись для лікування розсіяного склерозу й інших запальних захворювань і порушень.

До дійсного часу не було відкрито яких-небудь способів лікування, які б інгібували або запобігали демієлінізації, не говорячи про засоби, що сприяли ремієлінізації. Наприклад, вплив розсіяного склерозу на охорону здоров'я і витрати на нього перевищують такі для інших демієлінізуючих захворювань. Для РС не існує ефективного способу лікування. Це захворювання, що вражає переважно молодих дорослих людей (тобто в середньому віці 30 років) з частотою 1 випадок на 1000 суб'єктів. Експериментальний аутоімунний енцефаломієліт є основною моделлю, використовуваною для вивчення РС на тварин. Однак, на відміну від ЕАЕ, РС являє собою аутоімунне захворювання, причина якого невідома. Прогресування захворювання характеризується викиданням імунних клітин у центральну нервову систему, що час від часу приводить до набряку, демієлінізації, ушкодження і втрати аксонів.

Необхідні нові сполуки, композиції і способи застосування даних сполук і композицій для інгібування демієлінізації, для стимуляції ремієлінізації і/або для лікування паралічу, асоційованого з демієлінізацією, і їх продовжують шукати для лікування таких захворювань, як РС, а також інших демієлінізуючих захворювань, пов'язаних із запаленням.

Грунтуючись на зазначеному вище, необхідні нові композиції і способи лікування даних захворювань, що будуть ефективно лікувати або інгібувати дані захворювання, так що пацієнти зможуть досягати більшої тривалості життя і більш високої його якості.

Винахід відноситься до способів стимуляції ремієлінізації нервових клітин ссавця, що охоплює введення ссавцю ремієлінізуючого засобу в ефективній для ремієлінізації кількості. Переважно, ссавець за способами даного винаходу є людиною, і дана людина страждає від стану, що демієлінізує клітини.

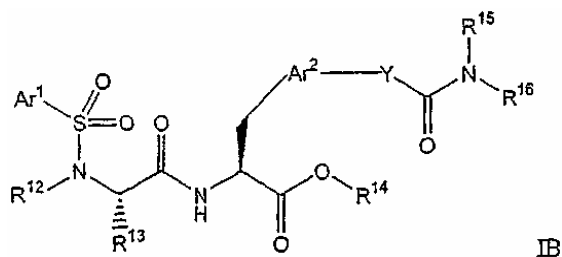
Стани, що демієлінізують клітини, за даним винаходом включають в себе розсіяний склероз, вроджене метаболічне захворювання, невропатію з аномальною мієлінізацією, демієлінізацію, індуковану лікарськими засобами, демієлінізацію, індуковану опроміненням, спадкоємний демієлінізуючий стан, індукований пріонами демієлінізуючий стан, демієлінізацію, індуковану енцефалітом або ушкодження спинного мозку. Переважно, стан являє собою розсіяний склероз.

Винахід далі відноситься до композиції, що містить терапевтично ефективну кількість ремієлінізуючого засобу, що запобігає демієлінізації і/або стимулює ремієлінізацію при введенні потребуючому цього

суб'єкту.

У способах і композиціях за винаходом ремієлінізуючий засіб може являти собою антитіло, імунологічно активний фрагмент антитіла, сполуку або їх комбінації. Антитіло або його імунологічно активний фрагмент переважно являє собою наталізумаб (Antegren®) або його імунологічно активний фрагмент.

У способах і композиціях за винаходом ремієлінізуючий засіб може являти собою низькомолекулярну сполуку формули I, IA, IB, 1C, II, IIA або IIB. Переважно, сполуки являють собою сполуки наступної формули IB



IB

в якій:

Ar¹ вибраний з групи, що складається з арилу, заміщеного арилу, гетероарилу і заміщеного гетероарилу;

Ar² вибраний з групи, що складається з арилу, заміщеного арилу, гетероарилу і заміщеного гетероарилу; R¹² вибраний з групи, що складається з алкілу, заміщеного алкілу, циклоалкілу і заміщеного циклоалкілу, або R¹² і R¹³ разом з атомом азоту, зв'язаним з R¹², і атомом вуглецю, зв'язаним з R¹³, утворюють гетероциклічну або заміщену гетероциклічну групу;

R¹³ вибраний з групи, що складається з водню, алкілу і заміщеного алкілу, або R¹² і R¹³ разом з атомом азоту, зв'язаним з R¹², і атомом вуглецю, зв'язаним з R¹³, утворюють гетероциклічну або заміщену гетероциклічну групу;

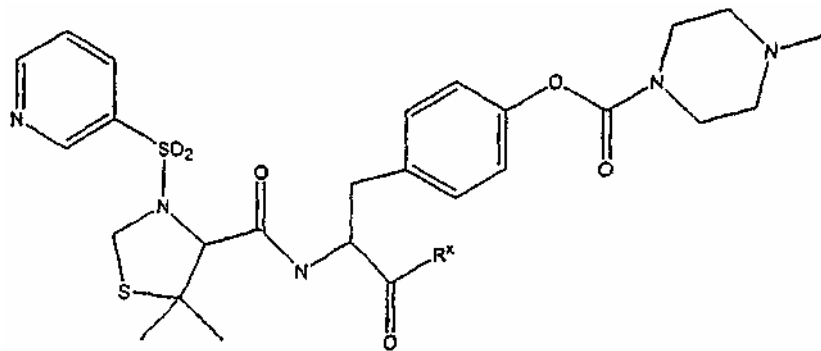
R¹⁴ вибраний з групи, що складається з водню, алкілу, заміщеного алкілу, циклоалкілу, заміщеного циклоалкілу, арилу і заміщеного арилу;

R¹⁵ вибраний з групи, що складається з алкілу і заміщеного алкілу, або R¹⁵ і R¹⁶ разом з атомом азоту, з яким вони пов'язані, утворюють гетероциклічну або заміщену гетероциклічну групу;

R¹⁶ вибраний з групи, що складається з алкілу і заміщеного алкілу, або R¹⁵ і R¹⁶ разом з атомом азоту, з яким вони пов'язані, утворюють гетероциклічну або заміщену гетероциклічну групу; і

Y вибраний з групи, що складається з -O-, -NR¹⁰⁰-, і -CH₂-, в якому R¹⁰⁰ являє собою водень або алкіл; і їх фармацевтично прийнятні солі.

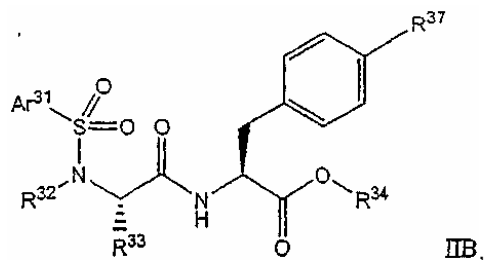
В подальшому здійсненні сполуки переважно являють собою сполуки наступної формули IC



IC

в якій Rˣ являє собою гідрокси або C₁-₅-алкокси, і їх фармацевтично прийнятні солі. Переважно, сполука являє собою ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозину.

В іншому здійсненні сполуки переважно являють собою сполуки наступної формули IIB



IIB,

в якій:

Ar вибраний з групи, що складається з арилу, заміщеного арилу, гетероарилу і заміщеного гетероарилу;

R³² вибраний з групи, що складається з алкілу, заміщеного алкілу, циклоалкілу і заміщеного циклоалкілу, або R³² і R³³ разом з атомом азоту, зв'язаним з R³², і атомом вуглецю, зв'язаним з R³³,

утворюють гетероциклічну або заміщену гетероциклічну групу;

R^{33} вибраний з групи, що складається з водню, алкілу і заміщеного алкілу, або R^{32} і R^{33} разом з атомом азоту, зв'язаним з R^{32} , і атомом вуглецю, зв'язаним з R^{33} , утворюють гетероциклічну або заміщену гетероциклічну групу;

R^{34} вибраний з групи, що складається з водню, алкілу, заміщеного алкілу, циклоалкілу, заміщеного циклоалкілу, арилу і заміщеного арилу; і

R^{37} являє собою арил, гетероарил, заміщений арил, заміщений гетероарил, гетероцикл, заміщений гетероцикл, арилокси, заміщений арилокси, аралкокси, заміщений аралкокси, гетероарилокси, заміщений гетероарилокси;

і їх фармацевтично прийнятні солі.

Ще в одному здійсненні сполука являє собою ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозину.

Винахід також відноситься до фармацевтичної композиції, що включає в себе терапевтично ефективну кількість сполуки формули I, IA, IB, IC, II, IIA або IIB і їх фармацевтично прийнятні солі. Переважно, сполука являє собою сполуку формули IB, IC або IIB. У переважному здійсненні сполука являє собою ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозину.

Ремієлінізуючий засіб за винаходом може вводитись окремо або в комбінації з іншими ремієлінізуючими засобами, засобами проти альфа-4, або протизапальними засобами. Винахід, крім того, відноситься до фармацевтичних композицій, що включають в себе фармацевтично прийнятний носій і терапевтично ефективну кількість описаного тут ремієлінізуючого засобу. Фармацевтична композиція за даним винаходом може додатково включати в себе один або кілька додаткових засобів, включаючи інші ремієлінізуючі засоби, засоби проти альфа-4 або протизапальні засоби.

Композиції за винаходом можуть вводитись різними способами введення, включаючи пероральний, парентеральний (наприклад, підшкірний, субдуральний, внутрішньовенний, внутрішньом'язовий, інтратекальний, внутрішньочеревинний, інтрацеребральний, внутрішньоартеріальний шляхи введення або шлях введення у ділянку ураження), місцевий, локалізований (наприклад, хірургічний компрес або хірургічний супозиторій), ректальний і легеневий (наприклад, аерозолі, інгаляція або порошок).

Інший аспект винаходу відноситься до комбінованої терапії, що включає в себе терапевтично ефективну кількість ремієлінізуючого засобу і терапевтично ефективну кількість протизапального засобу. Протизапальні засоби включають в себе як необмежувальні приклади адренкортикотропний гормон (АКТГ), кортикостероїд (наприклад, преднізон, метилпреднізолон, дексаметазон кортизон, кортизон, флудрокортизон, преднізолон, б α -метилпреднізолон, триамцинолон і бетаметазон), інтерферон (наприклад, інтерферон бета-1b та інтерферон бета-1a), Сорахоне® або нестероїдний протизапальний лікарський засіб (наприклад, аспірин, саліцилат натрію, трисаліцилат холіну-магнію, сальсалат, дифлунізал, сульфасалазин, олсалазин, похідні параамінофенолу, індол, інденоцтова кислота, гетероарилоцтова кислота, антранілова кислота, енолова кислота, алканони, діарилзаміщений фуранон, діарилзаміщені піразоли, індолоцтові кислоти і сульфоналід). Ремієлінізуючий засіб може бути вибраний з будь-яких сполук формули I, IA, IB, IC, II, IIA або IIB. Альтернативно, ремієлінізуючий засіб може являти собою антитіло проти VLA-4 або його імунологічно ефективний фрагмент або поліпептид, що зв'язується з VLA-4, запобігаючи в такий спосіб його зв'язуванню з власним лігандом.

Комбінована терапія може використовуватись для лікування суб'єкта, що страждає від розсіяного склерозу, вродженого метаболічного захворювання, невропатії з аномальною мієлінізацією, демієлінізацією, індукованої лікарськими засобами, демієлінізацією, індукованої опроміненням, спадковим демієлінізуючим станом, індукованого пріонами демієлінізуючого стану, демієлінізацією, індукованої енцефалітом або ушкодження спинного мозку.

Ще один аспект винаходу відноситься до застосування сполуки формули I, IA, IB, IC, II, IIA або IIB для одержання лікарського засобу для лікування демієлінізуючого захворювання у потребуючого цього суб'єкта. Переважна сполука являє собою сполуку формули IB, IC або IIB. У переважному здійсненні сполука являє собою ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозину.

В іншому аспекті надається спосіб інверсії паралічу у суб'єкта з демієлінізуючим захворюванням, що включає в себе введення суб'єкту ремієлінізуючого засобу в кількості, достатній для інгібування лімфоцитарної інфільтрації імунними клітинами спинного мозку для стимуляції ремієлінізації нервових клітин у спинному мозку і лікування, таким чином, паралічу у зазначеному суб'єкті за такої необхідності.

Інший аспект винаходу відноситься до застосування ремієлінізуючого засобу для одержання лікарського засобу для лікування демієлінізуючого захворювання у потребуючого цього суб'єкта або для лікування паралічу у суб'єкта з демієлінізуючим захворюванням.

Ці й інші об'єкти, переваги і характеристики винаходу стануть зрозумілі фахівцям у даній галузі після прочитання подробиць способів і препаратів, більш повно описаних нижче.

Фіг.1А. Тривала інверсія хронічного експериментального аутоімунного енцефаломієліту протягом лікування ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозину. ЕАЕ індукували у самок морських свинок Hartley за допомогою потиличної внутрішньошкірної ін'єкції 0,6мл суміші 1:1 гомогенізованої ізологічної тканини ЦНС і повного ад'юванту Фрейнда (CFA), з 10мг/мл інактивованої M. tuberculosis. Починаючи з 40 доби після імунізації, тварини одержували сольовий розчин (n=20, 0,5мл/добу) або ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозину (n=25, 30мг/кг, 2х/добу) протягом 10, 20, 30 або 40 діб. Після курсу лікування середній клінічний бал тварин, оброблених ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозину, був значно нижче, ніж такий у контрольній групі сольового розчину (p<0,001, тест суми рангів Манна-Уїтні). Більш того, під час тривалого введення ізопропілового ефіру N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозину не спостерігалось несприятливих побічних ефектів, і не було смертей від лікування, як раніше спостерігалось з антитілами.

Фіг.1В. Повернення клінічно активного захворювання після відміни ізопропілового ефіру N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну. Через 30 дів лікування ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну п'ять тварин підтримували протягом додаткових 10 дів без введення малої молекули. Як тільки ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну відміняли, тварини повертались до клінічного прогресування захворювання. Між 70 і 80 добами середній клінічний бал тварин після введення ізопропілового ефіру N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну був значно вище, ніж у тварин, що отримували ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну під час періоду лікування ($p < 0,05$, тест суми рангів Манна-Уїтні).

Фіг.2. Відновлення за даними патології під час тривалого лікування ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну. Панелі А, С, Е, G, I і K являли собою зрізи спинного мозку, забарвлені солохром-R-ціаніном (SCR) (збільшення 40x). На панелях В, D, F, H, J і L показане велике збільшення (250x) забарвлених гематоксиліном-еозином (Н-Е) зрізів, взятих з дорсальної медіальної ділянки відповідного забарвленого SCR фото. Даний зріз (2А), взятий від нормальної морської свинки, не характеризується ні запаленням, ні демієлінізацією, на відміну від панелі (2В), відповідних зрізів Н-Е. На 40 добу після імунізації тварина, що не одержувала лікування, характеризувалась інтенсивним менінгеальним запаленням і великою дорсо-медіальною бляшкою демієлінізації (2С). Щільність інфільтрації клітинами даної ділянки (2D) була набагато вище, ніж на Фіг.2. Навіть пізніше при захворюванні, на 60 добу після імунізації оброблена сольовим розчином тварина характеризувалась великою зоною демієлінізації під м'якою мозковою оболонкою (2Е), з дуже великою щільністю клітинних інфільтратів (2F). Тварина, що протягом 20 дів отримувала лікування ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну, навпаки, характеризувалась набагато меншою ділянкою демієлінізації (2G), і набагато меншою щільністю клітинної інфільтрації в ділянці ушкодження (2H). Тварина, представлена на 2I, одержувала 40 дів обробки сольовим розчином. Фактично весь зріз був інфільтрований і демієлінізований, включаючи вторгнення в деякі ділянки сірої речовини. У той час як клітинна інфільтрація на 2J була знижена у порівнянні з 60 добами після імунізації (див. 2F), вона все-таки була набагато вище, ніж нормальні рівні, що спостерігаються на 2В. Однак, через 40 дів лікування ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну майже не було менінгеального і периваскулярного запалення, і мієлін був очевидно незачепленим (2K). Клітинне запалення (2L) було практично таким же, як і у нормальної тварини (2В).

Фіг.3. Зниження патологічної аномалії при хронічному ЕАЕ під час лікування ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну. Тварини одержували сольовий розчин або ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну ($n=25$) протягом 10, 20, 30 або 40 доби. Крім того, підгрупа тварин одержувала ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну протягом 30 дів, і потім лікування відміняли протягом 10 дів експерименту, що залишились, (група після введення ізопропілового ефіру N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну). Після умертвіння головний і спинний мозок фіксували у формаліні і заливали парафіном. Зрізи товщиною п'ять мкм забарвлювали гематоксиліном-еозином (Н-Е) або солохром-R-ціаніном, і наосліп призначали 4-числовий патологічний бал, ґрунтуючись на оцінці кожної з чотирьох категорій: (3А) менінгеальне запалення, (3В) периваскулярна інфільтрація, (3С) енцефаліт і (3D) демієлінізація. Помітьте, що тварини, які не мають ЕАЕ, мають бал, який дорівнює нулю у всіх категоріях. Після курсу лікування тварини, що одержували ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну, характеризувались значимим зниженням середнього патологічного балу в кожній з чотирьох категорій, у відношенні оброблених сольовим розчином тварин ($p < 0,001$, 2-сторонній ANOVA). При відміні ізопропілового ефіру N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну, і підтриманні тварин протягом додаткових 10 дів без лікування, середній комбінований патологічний бал у всіх чотирьох категоріях повертався до значно більш високого у порівнянні з таким у тварин, що отримували малу молекулу ($p < 0,05$, ANOVA по Крускалу-Уоллісу на рангах з тестом SNK).

Фіг.4. Знижена інфільтрація спинного мозку при лікуванні ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну. Середнє число інфільтруючих клітин підраховували в репрезентативних ділянках із дванадцяти ділянок, що покривають весь спинний мозок у формі пирога (див. способи). Значиме зниження клітинної інфільтрації відбувалось при індукції ЕАЕ у порівнянні з тваринами без ЕАЕ (*, $p < 0,05$; ANOVA по Крускалу-Уоллісу на рангах з тестом SNK). Тварини, оброблені ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну, мали менше клітин у спинному мозку, ніж оброблені сольовим розчином тварини під час 10, 20, 30 або 40 дів лікування (*, $p < 0,001$, двосторонній ANOVA). Більш того, тварини, яких лікували ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну 20, 30 або 40 дів, мали значно більш низьку кількість клітин, ніж контрольні (d4O) тварини з ЕАЕ (#, $p < 0,05$, ANOVA по Крускалу-Уоллісу на рангах з тестом SNK). Після ізопропілового ефіру N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну середня кількість клітин у тварин, підтримуваних протягом додаткових 10 дів без введення малих молекул, було значно підвищено у порівнянні з тваринами, що одержували лікування ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну ($p < 0,05$, ANOVA по Крускалу-Уоллісу на рангах з тестом SNK).

Фіг.5. Знижена експресія запальних цитокінів при лікуванні ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну. Шматок поперекового відділу спинного мозку моментально заморожували в рідкому азоті і рутинно обробляли для

екстракції РНК для кількісного ПЛР-аналізу. Тоді як непомітні рівні РНК цитокінів виявляли у тварин без ЕАЕ, експресія IL-2 (В), IL-10 (С) і MCP-1 (А) підвищувалась у контрольних тварин d40 із запаленням ЦНС. У той час як оброблені сольовим розчином тварини мали підвищені рівні запальних цитокінів протягом експерименту, тварини, що одержували ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-О-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну, характеризувались помітним зниженням їх експресії, відповідно з клінічним і патологічним відновленням. Після відміни ізопропілового ефіру N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-О-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну і повторної інфільтрації ЦНС, експресія IL-2, IL-10 і MCP-1 знову зростала до рівня, порівнянного з таким в оброблених сольовим розчином тваринах.

Фіг.6. Експресія α_4 інтегрину на лімфоцитах. На 80 добу після імунізації гепаринізовані зразки крові збирали від тварин без ЕАЕ, тварин, оброблених сольовим розчином, тварин, яких лікували ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-О-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну, і тварин через 10 діб після відміни ізопропілового ефіру N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-О-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну. Зразки піддавали впливу антитіла проти інтегрину α_4 , потім оцінювали на проточному цитометрі, що розділяє різні клітинні популяції за світлорозсіюванням. Лікування тварин ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-О-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну викликало сильне підвищення в циркуляції кількості лімфоцитів, що несуть β_4 інтегрин, у порівнянні з тваринами, обробленими сольовим розчином. Дані результати вказують на число клітин, експресуючих альфа-4. У присутності сполуки мається більше альфа-4-експресуючих клітин, ніж у тварин, оброблених сольовим контролем. Вісь x представляє експресію альфа-4; вісь y представляє число клітин, оцінюваних шляхом FACS.

Фіг.7. Експресія інтегрину α_4 на лімфоцитах і моноцитах у циркуляції на 80 добу після імунізації. Гепаринізовані зразки крові збирали від усіх груп тварин на 80 добу після імунізації, піддавали впливу антитіла проти інтегрину α_4 , і сортували за допомогою проточної цитометрії. На панелі А показано, що лікування ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-О-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну викликало велике підвищення відсотка несучих інтегрин α_4 лімфоцитів у циркуляції у порівнянні з тваринами без ЕАЕ і обробленими сольовим розчином тваринами, і це вказує на те, що активовані периферичні лімфоцити не здатні входити в ЦНС у присутності інгібітору. Відповідно до даної ідеї, відсоток даних клітин у циркуляції повертався до рівня обробки сольовим розчином, коли ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-О-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну був відмінений, і запалення ЦНС відновлялось, як показано на панелі В. Загальна експресія інтегрину α_4 на циркулюючих моноцитах була підвищена у всіх тварин з ЕАЕ, хоча не малося помітних субпопуляцій. Дане підвищення в моноцитах α_4 інтегрину не підпадало під вплив ізопропілового ефіру N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-О-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну, і це вказувало на те, що інгібітор не впливає на периферичну імунну реакцію.

Фіг.8. У тварин, яких лікували ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-О-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну, спостерігали тінюві бляшки. Зображення 8A-F представляють забарвлені солохром-R-ціаніном зрізи спинного мозку окремих тварин у групах обробки. (8A) Зображення малого збільшення (40x) показує ступінь демієлінізації спинного мозку. (8B) Зображення великого збільшення (100x) демієлінізованої ділянки ушкодження на «добу 0» (добу 0 відміряють, щойнайменше, через 40 діб після індукції захворювання, причому тварина досягає клінічного балу, що дорівнює 2 або вище) у контрольній тварині показує щільну клітинну інфільтрацію і піністі макрофаги, що містять фагоцитований мієліновий дебрис (стрілки). (8C) Ушкодження від тварини, що одержувала 20 днів обробки сольовим розчином, залишається цілком позбавленим мієліну (250x). (8D) Тварини, що одержували 20 діб лікування ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-О-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну, навпаки, представляли ділянки з дифузійним блакитним забарвленням, що покривають бляшку (250x). (8E) Сильна демієлінізація була видна в спинному мозку через 40 діб обробки носієм (100x). (8F) Однак, через 40 діб терапії ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-О-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну більшість ушкоджень характеризувались ясною мієліновою блідістю (100x).

Фіг.9. Напівтонкі і ЕМ зрізи підтверджують ремієлінізацію за рахунок лікування ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-О-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну. Напівтонкі зрізи, забарвлені толудіновим блакитним, показані на панелях 9A, 9B і 9C (усі 400x). Репрезентативні ЕМ зрізи з тих же тварин показані на панелях 9D, 9E і 9F (9D і 9E, 1100x; 9F, 1300x). (Фіг.9A і 9D) Нормальний мієлін. (9B і 9E) 30 діб обробки сольовим розчином. Деякі дрібнорозмірні аксони характеризувались тонкими мієліновими оболонками (t), що сусідять з повною демієлінізацією (d) і нормальним мієліном (n). Деякі аксони відчували уоллеровське переродження (стрілки). У даному випадку аксони, що дегенерують, спостерігали всередині нормально присутнього мієліну (стрілки, 9B). Електронна мікроскопія підтверджувала відсутність мієлінової обгортки навколо великорозмірних аксонів (9E). (9C і 9F) 30 діб обробки ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-О-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну. У тварин, що отримували ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-О-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну, ділянка нормально присутнього мієліну в лівій частині зображення (n) знаходиться поблизу великої ділянки аксонів подібного розміру з тонким шаром мієліну (t). Ділянка аксонів з тонким шаром мієліну була більш протяжною і складалась з аксонів великого розміру (9C). Шляхом ЕМ підтверджували наявність множинних тонких мієлінових обгорток навколо аксонів великого діаметра, що вказувало на ремієлінізацію (9F).

Фіг.10. ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-О-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну підвищував частоту і площу ремієлінізації в спинному мозку (10A). Число осередків, що характеризуються мієліновою блідістю, виражали у відсотках від загального числа осередків в середньому з дванадцяти поперечних зрізів спинного мозку для кожної тварини. Ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-О-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну (чорні смуги) підвищував частоту ремієлінізації по відношенню до оброблених сольовим розчином тварин (білі смуги), і

малось залежне від часу підвищення тінювих пляшок при обробці ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну. (10B)

Представлення методології визначення ступеня ремієлінізації. Обводили контури усіх осередків ушкодження всередині зрізу спинного мозку, і підраховували площу всередині обведення. Осередки ушкодження, на яких показана мієлінова блідість, також обводили для одержання загальної ділянки ремієлінізації для кожної тварини, і ступінь ремієлінізації виражали у відсотках загальної ділянки ушкодження. (10C-F) Кожен графік розсіювання показує загальну площу ушкодження по осі x, і процентну частку осередків ушкодження, що характеризуються мієліновою блідістю, по осі y. Осередки ушкодження у тварин, оброблених сольовим розчином, (білі символи) характеризуються малим ступенем ремієлінізації. Після 20, 30 або 40 дб лікування ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну, навпаки, більшість осередків ушкодження у тварин, яких лікували ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну (чорні символи), характеризувались мінливістю у ступені ремієлінізації (0-100%). Середня площа у відсотках показана на гістограмі праворуч від кожного графіка розсіювання (сольовий розчин, білий стовпчик; ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну, чорний стовпчик). Через 20, 30 або 40 дб лікування тварини, оброблені ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну, характеризувались значно більш високими процентними частками ремієлінізації (50%), ніж такі після 10 дб лікування або всі контролі сольового розчину (<10%).

Фіг.11A і 11B. Послідовності ДНК і амінокислотні послідовності варіабельної ділянки легкого ланцюга мишачого 21.6, відповідно.

Фіг.12A і 12B. Послідовності ДНК і амінокислотні послідовності варіабельної ділянки важкого ланцюга мишачого 21.6, відповідно.

Фіг.13. Порівняння амінокислотних послідовностей мишачої і зміненої людської варіабельних ділянок легкого ланцюга 21.6. Амінокислотні послідовності, що являють собою частину канонічних для петельних структур CDR послідовностей, позначені зірочкою. RE1 позначає FR і CDR з V_L -ділянки легкого ланцюга людського RE1. La і Lb являють собою дві версії зміненої людської V_L -ділянки 21.6. Залишки у FR La, що відрізняються від таких у послідовності RE1, підкреслені. У Lb показані тільки залишки в каркасних ділянках, що відрізняються від таких у RE1.

Фіг.14. Порівняння амінокислотних послідовностей мишачої і зміненої людської варіабельних ділянок важкого ланцюга 21.6. Амінокислотні послідовності, що являють собою частину канонічних для петельних структур CDR послідовностей, позначені зірочкою. 2*CL позначає FR і CDR з V_H -ділянки людського антитіла 21/28*CL. Ha, Hb і Hc являють собою три варіанти зміненої людської V_H -ділянки 21.6. Залишки у FR Ha, що відрізняються від таких у послідовності 21/28*CL, підкреслені. У Hb і Hc показані тільки залишки в каркасних ділянках, що відрізняються від таких у 21/28*CL.

Фіг.15A і 15B. Послідовність кДНК і амінокислотна послідовність першого варіанта («а») зміненої людської варіабельної ділянки легкого ланцюга 21.6.

Фіг.16A і 16B. Послідовність кДНК і амінокислотна послідовність першої версії («а») зміненої людської варіабельної ділянки важкого ланцюга 21.6.

Фіг.17A і 17B. Фіг.17A являє собою послідовність довжиною 109 амінокислот мишачих ділянок каппа V_L з підгрупи 5, використаних для конструювання змінених людських варіабельних ділянок легкого ланцюга 21.6. Фіг.17B являє собою послідовність довжиною 114 амінокислот людських ділянок V_L з підгрупи 1, використаних для конструювання змінених людських варіабельних ділянок легкого ланцюга 21.6. Послідовності далі описані нижче в таблиці 10.

Фіг.18A і 18B. Фіг.18A являє собою консенсусну послідовність довжиною 125 амінокислот мишачих ділянок V_H з підгрупи 2с, використаних для конструювання змінених людських варіабельних ділянок важкого ланцюга 21.6. Фіг.18B являє собою консенсусну послідовність довжиною 129 амінокислот людських ділянок V_H з підгрупи 1, використаних для конструювання змінених людських варіабельних ділянок важкого ланцюга 21.6. Послідовності далі описані нижче в таблиці 11.

Перед описом даних способів і терапевтичних засобів варто розуміти, що даний винахід не обмежений описаними конкретними способами і терапевтичними засобами, що можуть, звичайно, змінюватись. Також варто розуміти, що використовувана тут термінологія призначена тільки для мети опису конкретних варіантів здійснення, і не призначена для обмеження, оскільки обсяг даного винаходу обмежений тільки прикладеною формулою винаходу.

Там, де надається інтервал значення, варто розуміти, що кожне проміжне значення до десятої частки нижньої межі, крім випадків, де контекст ясно вказує на інше, між верхньою і нижньою межею такого інтервалу і будь-яке інше встановлене і проміжне значення в такому встановленому інтервалі відноситься до винаходу. Верхня і нижня межі даних менших інтервалів можуть незалежно включатись в менший, з допущенням будь-якої конкретної межі, що виключена із встановленого інтервалу. Там, де встановлений інтервал включає в себе одну або обидві межі, інтервали, що виключають обидві ці включені межі, також відносяться до винаходу. Також розглядаються будь-які значення, що попадають у зазначені інтервали.

Всі технічні і наукові терміни, крім визначених інакше випадків, мають те значення, що звичайно застосовується звичайним фахівцем в галузі, до якої відноситься винахід. Хоча будь-які способи і матеріали, подібні або еквівалентні описаним тут, можуть використовуватись у втіленні або тестуванні даного винаходу, переважні способи і матеріали описані тут. Усі зазначені тут публікації включені сюди як посилання для розкриття й опису способів і/або матеріалів у зв'язку з тим, які публікації цитуються.

1. Скорочення і визначення

Відповідно до даного докладного опису застосовуються наступні скорочення і визначення. Потрібно помітити, що використовувані тут форми однини включають в себе об'єкти посилання в множині, крім випадків, де контекст ясно вказує на інше. Так, наприклад, посилання на «антитіло» включають в себе множину таких антитіл, і посилання на «дане дозування» включають в себе посилання на одне або кілька дозувань і їх еквівалентів, відомих фахівцям у даній галузі, і так далі.

Обговорювані тут публікації надані винятково для їх опису перед датою подачі даної заявки. Нічого тут не слід витлумачувати як допущення того, що даний винахід не надає право на те, щоб передувати такій публікації на підставі попереднього винаходу. Крім того, надані дати публікації можуть відрізнятись від дійсних дат публікації, що можуть зажадати незалежного підтвердження.

1.1. Скорочення

Тут застосовуються наступні скорочення.

АС кисла церамідаза
АсОН оцтова кислота
АКТГ адренотропний гормон
ADEM гострий дисемінований енцефаломієліт
ALD адренолейкодистрофія
AMN аденомієлонеуропатія
aq або aq. водний
ГЕБ гемато-енцефалічний бар'єр
ш.д. широкий дублет
ш.м. широкий мультиплет
Bn бензил
Boc трет-бутоксикарбоніл
Boc₂O ди-трет-бутидикарбонат
BOP бензотриазол-1-ілокси-трис(диметиламіно)фосфонію гексафторфосфат
ш.с. широкий синглет
C константна ділянка імуноглобуліну
CACH дитяча атаксія з гіпомієлінізацією центральної нервової системи
CADASIL церебральна аутосомно-домінантна артеріопатія з підкірковими інфарктами і лейкоенцефалопатією
Cbz карбобензилокси
кДНК комплементарна дезоксирибонуклінова кислота
CDR визначальна комплементарність ділянка
CDR1 визначальна комплементарність ділянка 1
CDR2 визначальна комплементарність ділянка 2
CDR3 визначальна комплементарність ділянка 3
CFA повний ад'ювант Фрейда
CHCl₃ хлороформ
CH₂Cl₂ дихлорметан
CIDP хронічна імунна демієлінізуюча полі неуропатія
CJD хвороба Крейцфельда-Якоба
ЦНС центральна нервова система
(COCl)₂ оксалілхлорид
COX-2 циклооксигеназа-2
S синдром Кокейна
CSF колонієстимулюючий фактор
CTX сухожильно-мозковий ксантоматоз
д дублет
DBU 1,8-діазабіцикло[5.4.0]ундец-7-ен
DCC 1,3-дициклогексилкарбодіімід
дд дублет дублетів
DMAP 4-N,N-диметиламінопіридин
DME диметиловий ефір етиленгліколю
DMF N,N-диметилформамід
DMSO диметилсульфоксид
ДНК дезоксирибонуклеїнова кислота
дт дублет триплетів
EAE експериментальний аутоімунний енцефаломієліт
EBNA2 ядерний антиген вірусу Епштейна-Барр 2
ECM позаклітинний матрикс
EDC 1-(3-диметиламінопропіл)-3-етилкарбодіімиду гідрохлорид
EDTA етилендіамінотетраацетат
ELAMS ендотеліальні молекули адгезії
ЕМ електронна мікроскопія
Et₃N триетиламін
Et₂O діетиловий ефір
EtOAc етилацетат
EtOH етанол
екв або екв. еквівалент
FACS активований флуоресценцією клітинний сортер
Pmoc N-(9-флуоренілметокси)карбоніл
PmocONs N(9-флуоренілметокси)карбоніл)сукцинімід
FR каркасна ділянка
FR1 каркасна ділянка 1
FR2 каркасна ділянка 2
FR3 каркасна ділянка 3
г грами
GA глатирамер-ацетат

GALOP поліневропатія з порушенням ходи, за участю аутоантитіл, з пізнім початком
 GM-CSF гранулоцитарно-моноцитарний колонієстимулюючий фактор
 GSD хвороба Герстманна-Штраусслера
 год. година
 H важкий ланцюг імуноглобуліну
 HAMA людське антитіло проти мишачих антитіл
 HBr бромоводнева кислота
 HCl соляна кислота
 H-E гематоксилін-еозин
 hex A гексоамінідаза A
 HIC хроматографія гідрофобних взаємодій
 HIG людський імуноглобулін
 HMSN IV спадкоємна моторна і сенсорна невропатія IV (також відома як гередоатаксія, подібна до поліневриту)
 H₂O вода
 HOBТ 1-гідроксибензотриазолу гідрат
 HUVEC людські клітини судинного ендотелію пуповини
 ICAM-1 молекула міжклітинної адгезії 1
 Ig імуноглобулін
 IgG імуноглобулін G
 IgM імуноглобулін M
 IL інтерлейкін
 IL-1 інтерлейкін-1
 IL-2 інтерлейкін-2
 IL-8 інтерлейкін-8
 K₂CO₃ карбонат калію
 L легкий ланцюг імуноглобуліну
 LFA-1 антиген, пов'язаний з функцією лімфоцитів 1 (також відомий як β₂ інтегрин, CD 11a/CD 18 і α_Lβ₂)
 м мультиплет
 MAb моноклональні антитіла
 Mac-1 α_Mβ₂ інтегрин (також відомий як CD11b/CD18)
 MAdCAM-1 молекула клітинної адгезії - адресин слизової оболонки
 MALDI/TOF MS опосередкована матрицею лазерна десорбція-іонізація/часопролітна мас-спектрометрія
 MBP основний білок мієліну
 MCP-1 моноцитарний білок хемотаксису 1
 MeOH метанол
 MES 2-(N-морфолін)етансульфонова кислота
 мг міліграм
 MgSO₄ сульфат магнію
 хв. хвилина
 MIP-1α макрофагальний запальний білок 1 альфа
 MIP-1β макрофагальний запальний білок 1 бета
 мл мілілітр
 MLD метакхроматична лейкодистрофія
 мм міліметр
 мм мілімолярна концентрація
 ммоль мілімоль
 MOG мієліновий глікопротеїн олігодендроцитів
 т.п. точка плавлення
 PC розсіяний склероз
 N нормальний
 NaCl хлорид натрію
 Na₂CO₃ карбонат натрію
 NaHCO₃ бікарбонат натрію
 NaOEt етоксид натрію
 NaOH гідроксид натрію
 NH₄Cl хлорид амонію
 NMM N-метилморфолін
 NSAID нестероїдний протизапальний засіб
 ПЛР полімеразна ланцюгова реакція
 PEG поліетиленгліколь
 Phe L-фенілаланін
 PKU фенілкетонурія
 PLP білок протеоліпиду
 PMSF фенілметилсульфонілфторид
 POEMS поліневропатія-органомегалія-ендокринопатія зі змінами M-білка і шкіри
 Pro L-пролін
 PRP споріднений пріону білок
 psi фунтів на кв.дюйм
 Pt₂ оксид платини
 кв.квартет
 квінт, квінтет

RANTES регульований після активації, експресований у нормальних Т-клітинах і секретований хемокін (також відомий як малий індукований цитокін A5)

РНК рибонуклеїнова кислота

rt кімнатна температура

ОТ-ПЛР полімеразна ланцюгова реакція з оберненою транскрипцією

s синглет

SAM1 селективні інгібітори молекули адгезії

насич. насичений

scFv одноланцюговий Fv-фрагмент

SCR солохром-Я-ціанін

SDS додецилсульфат натрію

SDS-PAGE електрофорез у поліакриламідному гелі з додецилсульфатом натрію

ВП-РС вторинний прогресуючий розсіяний склероз

t триплет

t-BuOH трет-бутанол

TFA трифтороцтова кислота

TGF- α фактор росту пухлини бета

THF тетрагідрофуран

TLC або tic тонкошарова хроматографія

TNF фактор некрозу пухлини

TNF- α фактор некрозу пухлини альфа

TNF- β фактор некрозу пухлини бета

Ts тозил

TsCl тозилхлорид

TsOH тозилат

UV ультрафіолет

VCAM-1 молекула адгезії клітин судин 1

V_H важкий ланцюг варіабельного домену

V_L легкий ланцюг варіабельного домену

VLA-4 дуже пізній антиген 4 (також відомий як альфа-4 бета-1, $\alpha_4\beta_1$)

мкл мікролітр

ϕ феніл

1.2 Визначення

Скорочення для двадцяти амінокислот, що зустрічаються в природі, дотримуються загальноприйнятої практики (IMMUNOLOGY-A SYNTHESIS (2nd ed., E.S. Golub & D.R. Gren, eds., Sinauer Associates, Sunderland, Mass., 1991)). Стереоізомери (наприклад, D-амінокислоти) двадцяти звичайних амінокислот, ненатуральні амінокислоти, такі як α,α -дизаміщені амінокислоти, N-алкіламінокислоти, молочна кислота й інші нетрадиційні амінокислоти також можуть являти собою придатні компоненти для поліпептидів за даним винаходом. Приклади нетрадиційних амінокислот включають в себе: 4-гідроксипролін, γ -карбоксиглутамат, ϵ -N,N,N-триметиллізин, ϵ -N-ацетиллізин, O-фосфосерин, N-ацетилсерин, N-формілметіонін, 3-метилгістидин, 5-гідроксілізин, ω -N-метиларгінін та інші подібні амінокислоти й імінокислоти (наприклад, 4-гідроксипролін). Більш того, амінокислоти можна модифікувати глікозилуванням, фосфорилуванням і тому подібним.

У позначенні поліпептиду, використовуваному тут, ліва ділянка являє собою N-кінцеву ділянку і права ділянка являє собою C-кінцеву ділянку згідно зі стандартною практикою й умовними позначеннями. Подібним чином, якщо не зазначений інший спосіб позначення, лівий кінець одноланцюгових полінуклеотидних послідовностей являє собою 5'-кінець; ліва ділянка дволанцюгових полінуклеотидних послідовностей позначена як 5'-ділянка. Ділянка приєднання транскриптів РНК, що утворюються, від 5' до 3' позначається як ділянка транскрипції; ділянки послідовності ланцюга ДНК, що містять таку ж послідовність, що і РНК, і які є 5'-ділянкою для 5'-кінця транскрипту РНК, позначаються як «висхідні послідовності»; ділянки послідовності ланцюга ДНК, що містять таку ж послідовність, що і РНК, і які є 3'-ділянкою для 3'-кінця транскрипту РНК, позначаються як «низхідні послідовності».

Фраза «полінуклеотидна послідовність» позначає дволанцюговий полімер дезоксирибонуклеотидних або рибонуклеотидних основ, що читаються з 5'- до 3'-кінця. Вона включає в себе плазмідні, що самореplikуються, інфекційні полімери ДНК або РНК і нефункціональну ДНК або РНК.

Наступні терміни використовують для опису подібності послідовностей між двома або більше полінуклеотидами: «послідовність порівняння», «вікно порівняння», «ідентичність послідовності», «відсоток ідентичності послідовності» та «істотна ідентичність». «Послідовність порівняння» являє собою визначену послідовність, використовувану як основа для порівняння послідовності; послідовність порівняння може являти собою частину більшої послідовності як, наприклад, ділянку повнорозмірної ДНК або послідовності гена, наведеного в списку послідовностей, такий як полінуклеотидна послідовність на Фіг.11 або 12, або може включати в себе повну послідовність ДНК або послідовність гена. Як правило, послідовність порівняння являє собою послідовність довжиною, принаймні, 20 нуклеотидів, часто довжиною, принаймні, 25 нуклеотидів і найчастіше довжиною, принаймні, 50 нуклеотидів. Оскільки два полінуклеотиди, кожний з яких може (1) містити послідовність (тобто фрагмент повної полінуклеотидної послідовності), що схожі між двома полінуклеотидами, і (2) може додатково містити послідовність, що відрізняється серед двох полінуклеотидів, порівняння послідовностей між двома (або більше) полінуклеотидами типово проводять всередині «вікна порівняння», для того щоб визначити і порівняти локальні ділянки подібності послідовності. Використовуваний тут термін «вікно порівняння» відноситься до абстрактного сегмента, принаймні, з 20 слідуючих друг за другом положень нуклеотидів, в якому можна порівнювати полінуклеотидну послідовність з послідовністю порівняння, принаймні, з 20 слідуючих друг за другим нуклеотидів і в якому фрагмент полфнуклеотидної послідовності у вікні порівняння може містити вставки і

делеції (тобто вставки) порядку 20 відсотків або менше у порівнянні з послідовністю порівняння (яка не містить вставок або делецій) для оптимального вирівнювання двох послідовностей. Оптимальне вирівнювання послідовностей при вирівнюванні вікна порівняння можна проводити за допомогою алгоритму локальної гомології Smith-Waterman, Adv. Appl. Math. 2: 482 (1981), алгоритму вирівнювання за гомологією Needleman-Wunsch, J.Mol.Biol. 48: 443 (1970), способу пошуку подібності Pearson-Lipman, Proc. Natl. Acad. Set (USA) 85: 2444 (1988) (кожний з яких включений сюди цілком як посилання), за допомогою комп'ютеризованої реалізації даних алгоритмів (GAP, BESTFIT, FASTA і TFASTA у програмному пакеті Wisconsin Genetics Software Package версії 7.0, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.) або за допомогою візуального аналізу і вибирають краще вирівнювання (тобто яке привело до найвищого відсотка подібності послідовності у вікні порівняння), одержане за допомогою різних способів. Термін «ідентичність послідовності» означає, що дві полінуклеотидні послідовності ідентичні (тобто за основним принципом нуклеотид за нуклеотидом) у вікні порівняння. Термін «відсоток ідентичності послідовності» вираховується при порівнянні двох оптимально вирівнаних послідовностей у вікні порівняння, визначаючи кількість положень, у яких в обох послідовностях зустрічаються ідентичні основи нуклеїнових кислот (наприклад, А, Т, С, G, U або I), щоб одержати кількість положень, що збіглись, розділивши кількість положень, що збіглись, на загальну кількість положень у вікні порівняння (тобто розмір вікна), і помноживши результат на 100, щоб одержати відсоток ідентичності послідовності. Використовуваний тут термін «істотна ідентичність» позначає характеристику полінуклеотидної послідовності, де полинуклеотид містить послідовність, що має, принаймні, 85 відсотків ідентичності послідовності, переважно, принаймні, від 90 до 95 відсотків ідентичності послідовності, більш звичайно, принаймні, 99 відсотків ідентичності послідовності у порівнянні з послідовністю порівняння у вікні порівняння розміром, принаймні, 20 нуклеотидних положень, найчастіше у вікні порівняння розміром, принаймні, 25-50 нуклеотидів, де відсоток ідентичності послідовності розраховується при порівнянні послідовності порівняння з полінуклеотидною послідовністю, що може містити делеції або вставки, що складають всього 20 відсотків або менше від послідовності порівняння у вікні порівняння. Послідовність порівняння може являти собою фрагмент більшої послідовності.

У застосуванні до поліпептидів, термін «ідентичність послідовності» означає, що пептиди містять ідентичні амінокислоти у відповідних положеннях. Термін «подібність послідовності» означає, що пептиди мають ідентичні або подібні амінокислоти (тобто консервативні заміни) у відповідних положеннях. Термін "істотна ідентичність" означає, що дві пептидні послідовності, якщо вони оптимально вирівняні, наприклад, за допомогою програм GAP або BESTFIT з використанням ваг по вставках, встановлених за умовчуванням, мають, принаймні, 80 відсотків ідентичності послідовності, переважно, принаймні, 90 відсотків ідентичності послідовності, більш переважно, принаймні, 95 відсотків ідентичності послідовності або більше (наприклад, 99 відсотків ідентичності послідовності). Переважно, положення залишків, що не ідентичні, відрізняються консервативними амінокислотними замінами. Термін «істотна подібність» означає, що дві пептидні послідовності мають відповідну кількість відсотків подібності послідовності.

Використовуваний тут термін «по суті подібний» призначений для позначення будь-якого поліпептиду, що містить у послідовності модифікацію, таку, що функціонально еквівалентна амінокислота змінюється однією або кількома амінокислотами в поліпептиді, одержуючи, таким чином, зміну, що не має ніякого або має відносно невеликий вплив на єднальні властивості поліпептиду. Наприклад, один або більше амінокислотних залишків всередині послідовності можна замінити іншою амінокислотою подібної полярності або подібного розміру.

Термін «по суті чистий» означає, що досліджувана речовина являє собою переважно присутню речовину (тобто на молярній основі вона присутня в набагато більшій кількості, ніж будь-які інші індивідуальні речовини в композиції), і, переважно, по суті очищена фракція являє собою композицію, в якій досліджувана речовина містить, принаймні, приблизно 50 відсотків (на молярній основі) від усіх присутніх макромолекулярних речовин. В основному, по суті чиста композиція буде містити більше ніж приблизно 80-90 відсотків від усіх макромолекулярних речовин, що є присутніми у композиції. Найбільш переважно, досліджувана речовина очищена до значної однорідності (забруднюючі речовини неможливо знайти в композиції звичайними способами визначення), де композиція складається в значній мірі з однієї макромолекулярної речовини.

З метою класифікації амінокислотних замін як консервативних або неконсервативних, амінокислоти групують у такий спосіб: група I (гідрофобні бічні ланцюги): норлейцин, met, ala, val, leu, ile; група II (нейтральні гідрофільні бічні ланцюги): cys, ser, thr; група III (кислі бічні ланцюги): asp, glu; група IV (основні бічні ланцюги): asn, gln, his, lys, arg; група V (залишки, що впливають на орієнтацію ланцюга): gly, pro і група VI (ароматичні бічні ланцюги): trp, tyr, phe. Консервативні заміни передбачають заміни між амінокислотами всередині того самого класу. Неконсервативні заміни являють собою заміну члена одного з цих класів на інший.

Амінокислоти з варіабельних ділянок зрілих важких і легких ланцюгів імуноглобулінів позначаються Hx і Lxx, відповідно, де «х» являє собою число, що позначає положення амінокислот відповідно до схеми Kabat et al., у SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987) і (1991)) (тут і далі в сукупності називані «Kabat», цілком включені сюди як посилання). У Kabat перерахована множина амінокислотних послідовностей антитіл для кожного підкласу, і наведена амінокислота, що найбільш часто зустрічається, для кожного положення залишку в даному підкласі. Kabat використовує спосіб позначення номера залишку для кожної амінокислоти в перерахованій послідовності, і цей спосіб позначення номера залишку став стандартним у даній галузі. Схема Kabat застосовна до інших антитіл, не включених у перелік, при вирівнюванні розглянутого антитіла з однією з консенсусних послідовностей у Kabat. Використання системи нумерації Kabat легко визначає амінокислоти в рівнозначних положеннях у різних антитілах. Наприклад, амінокислота в положенні L50 антитіла людини займає положення, рівнозначне положенню амінокислоти L50 антитіла миші.

Термін «реагент» або «засіб» використовують для позначення біологічно активної молекули, що зв'язується з рецептором ліганду. Наприклад, антитіла або їх фрагменти, що імунологічно взаємодіють з рецептором VLA-4 або VCAM-1, можна використовувати для стимуляції ремієлінізації і/або зниження

паралічу у суб'єктів у статистично значимій кількості. Також розглянуті пептиди, або пептидоміметики, або споріднені сполуки, що можуть взаємодіяти, так щоб зв'язатись з рецептором на поверхні клітини, і їх можна штучно одержати способами, відомими в даній галузі. Також розглянуті інші реагенти, що взаємодіють з рецептором VLA-4, як обговорювалось тут, або, як очевидно фахівцям у даній галузі.

Використовуваний тут термін «рем'єлінізуючий засіб» означає, що будь-який засіб, який активує рем'єлінізацію і/або знижує параліч у суб'єкта в статистично значимій кількості. Переважно такі засоби включають в себе імуноглобуліни (наприклад, антитіла, фрагменти антитіл і рекомбінантно одержувані антитіла або фрагменти), поліпептиди (наприклад, розчинні форми білків-лігандів для інтегринів) і низькомолекулярні молекули, що при введенні ефективної кількості інгібують дем'єлінізацію і/або стимулюють рем'єлінізацію у пацієнтів. Такі засоби можуть також привести до зниження паралічу при введенні в ефективній кількості пацієнту. Дані засоби можна вибрати із засобів проти альфа-4-інтегрину (переважно антагоністи проти альфа-4-бета-1-інтегрину) і засобів проти VCAM-1. Проте, у відношенні даного винаходу, такі засоби проти альфа-4-інтегрину і проти VCAM-1 включають в себе тільки ті засоби, що при введенні в ефективній кількості інгібують дем'єлінізацію і/або стимулюють рем'єлінізацію і/або знижують параліч.

Використовуваний тут термін «засіб проти альфа-4-інтегрину» означає будь-який засіб, що специфічно зв'язується з інтегрином, що містить субодиницю альфа-4, та інгібує активність інтегрину. Термін «антагоністи інтегрину» включає в себе будь-який засіб, що інгібує зв'язування альфа-4 інтегринів, які містять субодиницю, з лігандом і/або рецептором інтегрину. Переважно, антагоністи інтегрину інгібують зв'язування димеру альфа-4-бета-1 з його спорідненим лігандом (лігандами). Такі антагоністи можуть включати в себе антитіла проти інтегрину або білки, що містять гомологи антитіл, а також й інші молекули, такі як розчинні форми білків-лігандів для інтегрину. Розчинні форми білків-лігандів для альфа-4 інтегринів, які містять субодиницю, включають в себе розчинний VCAM-1, білки злиття VCAM-1 або біфункціональні білки злиття VCAM-1/Ig. Наприклад, розчинну форму ліганду інтегрину або його фрагмент можна вводити для зв'язування інтегрину і, переважно, для конкуренції за ділянку зв'язування інтегрину в клітинах, тим самим приводячи до ефектів, подібних ефектам при введенні антагоністів, таких як антитіла проти інтегрину (наприклад, VLA-4). Зокрема, розчинні мутанти інтегрину, що зв'язують ліганд, але не викликають залежну від інтегрину передачу сигналів, включені в об'єм винаходу.

«Наталізумаб» або "Antegren®" означають гуманізоване антитіло проти VLA-4, як звичайно описано в патентах, що знаходяться у власності, США номер 5840299 і 6033665, що цілком включені сюди як посилання. Також тут розглядаються інші специфічні для VLA-4 антитіла. Такі рем'єлінізуючі антитіла й імуноглобуліни включають в себе як необмежувальні приклади імуноглобуліни, описані в таких патентах США номер 6602503 і 6551593, опублікованій заявці на патент США номер 20020197233 (Relton et al.), як тут далі обговорюється.

Використовуваний тут термін «ефективність» у контексті тривалого режиму дозування означає ефективність визначеного режиму лікування. Ефективність можна оцінити на основі зміни ходу захворювання у відповідь на засіб за даним винаходом. Наприклад, при лікуванні РС ефективність можна оцінити за частотою рецидивів рецидивно-рем'єсійного РС, за наявністю або відсутністю нових уражень у центральній нервовій системі, як визначають з використанням способів, таких як MRI.

Використовуваний тут термін «успіх» у контексті тривалого режиму лікування відноситься до ефективності визначеного режиму лікування. Він включає в себе гармонічне співвідношення ефективності, токсичності (наприклад, побічні ефекти і переносимість пацієнтом препарату або одиниці дози), додержання хворим режиму і схеми лікування тощо. Для тривалого режиму введення, що буде розглядатись як «успішне», необхідно урівноважити різні аспекти догляду за пацієнтом і ефективності, для того щоб одержати найбільш сприятливий для пацієнта результат.

Використовуваний тут термін «специфічно зв'язується» або «зв'язується специфічно» відноситься до ситуації, у якій жоден учасник з пари при специфічному зв'язуванні не покаже якого-небудь значного зв'язування з молекулою, за винятком його специфічного партнера при зв'язуванні (наприклад, афінність приблизно 1000х або більше для його партнера при зв'язуванні). В даному винаході низькомолекулярні сполуки, такі як ізопропіловий ефір N-[N-(3-придинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тироzinу, не показують значного зв'язування з яким-небудь поліпептидом, за винятком альфа-4-інтегрину або рецептора, що містить альфа-4-інтегрин. Наприклад, низькомолекулярна сполука, використовувана у способах за винаходом, що зв'язується з альфа-4-інтегрином з афінністю зв'язування більшою, ніж 0,3нм, як говорять, з альфа-4-інтегрином зв'язується специфічно.

Використовуваний тут термін «викликає імунну відповідь» і «викликає імунну відповідь організму-хазяїна» означає формування імунної відповіді на рецептор, що містить альфа-4-інтегрин у суб'єкта при введенні засобу за винаходом суб'єкту. Імунну відповідь у суб'єкта можна охарактеризувати за реакційною здатністю сироватки до рецептора альфа-4-інтегрину, що більше, принаймні, у два рази, ніж у суб'єкта, який не піддавався лікуванню, більш переважно в три рази більше реакційної здатності суб'єкта, який не піддавався лікуванню, і, навіть більш переважно, принаймні, у чотири рази більше реакційної здатності суб'єкта, який не піддавався лікуванню, при вимірі імунореактивності сироватки з використанням розведення сироватки приблизно 1:100.

Термін «фармацевтично прийнятний носій або наповнювач» призначений для позначення будь-якої сполуки, використовуваної при готуванні частини препарату, що призначена для того, щоб служити просто як носій, тобто, що сама по собі не призначена для того, щоб мати біологічну активність. Фармацевтично прийнятний носій або наповнювач, в основному, безпечні, нетоксичні і не є неприйнятними ні біологічно, ні як-небудь інакше. Фармацевтично прийнятний носій або наповнювач, як вони використовуються в специфікації й у формулі винаходу, включають в себе як один, так і більше ніж один такий носій.

Використовувані тут терміни «обробка» і «лікування» і ним подібні в основному означають одержання необхідного фармакологічного і фізіологічного ефекту. Точніше сказати, описані тут реагенти, що використовуються для лікування суб'єктів з дем'єлінізуючими захворюваннями або станом, повинні здійснювати одну або більше дій з наступних: (1) запобігати дем'єлінізації; (2) інгібувати дем'єлінізацію; (3)

стимулювати ремієлінізацію; (4) уповільнювати або припиняти розвиток паралічу і (5) знижувати/цілком обертати параліч. Таким чином, вплив може бути профілактичним у вигляді запобігання або часткового запобігання розвитку захворювання, його симптому або стану і/або може бути терапевтичним у вигляді часткового або повного лікування від захворювання, стану, або симптому побічної дії, що відноситься до захворювання, у залежності від стану або захворювання, що піддають лікуванню. Використовуваний тут термін «лікування» охоплює будь-яке лікування захворювання ссавців, особливо людини, і містить у собі: (а) попередження захворювання, що зустрічається в суб'єкта, що може бути схильний до захворювання, але його наявність ще не була діагностована; (б) інгібування захворювання, тобто гальмування її розвитку або (с) ослаблення захворювання, тобто викликає регресію захворювання і/або її симптомів або станів. Винахід спрямований на лікування страждань пацієнта, викликаних захворюванням, пов'язаних з патологічним запаленням. Даний винахід стосується запобігання, інгібування або ослаблення несприятливих дій, властивих патологічному зашченню і демієлінізації протягом тривалих періодів часу, і/або якщо такі викликаються фізіологічними відповідями на присутність невластивого запалення в біологічній системі протягом тривалих періодів часу.

«Терапевтично ефективною кількістю» позначають кількість засобу, реагенту або комбінації реагентів, описаних тут, що при введенні ссавцю достатня для того, щоб стимулювати ремієлінізацію клітин ссавців і/або знизити параліч у тварини в статистично значимій кількості.

Терміном «кількість, ефективна для ремієлінізації» позначають кількість засобу, реагенту або композиції, ефективну для інгібування демієлінізації і/або стимуляції ремієлінізації у суб'єкта і/або зниження паралічу. «Кількість, ефективна для ремієлінізації» змінюється в залежності від сполуки або композиції, визначеного, потребуючого лікування захворювання і його серйозності і віку, ваги і т.д. ссавця, що будуть лікувати.

«Тривалим введенням» позначають введення засобу, реагенту або комбінаційну терапію за винаходом в кількості і з періодичністю введення, щоб привести до одного або більше пунктів з наступних: (1) знизити параліч у суб'єкта з демієлінізуючим захворюванням і станом, (2) зупинити прогресування паралічу у суб'єкта з демієлінізуючим захворюванням і станом; (3) стимулювати ремієлінізацію у суб'єкта з демієлінізуючим захворюванням і станом; і (4) запобігти демієлінізації у суб'єкта з демієлінізуючим захворюванням і станом. Введення переважно здійснюється два рази на тиждень, щотижня, щомісяця або через місяць, але може бути щоденним. Більш переважно, лікування є щотижневим або щомісячним і застосовується протягом від 6 місяців до декількох років або до кінця життя пацієнта в залежності від захворювання або стану, що піддається лікуванню.

Додаткові визначення, що відносяться до сполук формули I, IA, IB, IC, II, IIA і IIB, описані там же.

2. Основні аспекти винаходу

Даний винахід оснований на дивному результаті, що тривале введення класу нових сполук, що з'являється, відомих як селективні інгібітори молекул адгезії (SAMI), забезпечує відповідний контроль над запальною відповіддю таким способом, що стимулює ремієлінізацію. Існуючі інгібітори не забезпечували такого контролю над запальною відповіддю, і хвороба продовжувала прогресувати. Що показали автори винаходу тут, так це те, що клас низькомолекулярних сполук, переважно ілюстрованих сполуками формули I і II, переважно формули IB, IC і IIB, застосовний при лікуванні такого патологічного запалення. Такі низькомолекулярні сполуки можна вводити, використовуючи тривалий режим дозування або короткочасний режим дозування. Однак, тривалий режим дозування переважний, для того щоб підтримати придушення патологічного запалення. Таким чином, для того щоб реалізувати деякі з найбільш важливих переваг винаходу, рівні ремієлінізуючих засобів необхідно підтримувати протягом великої кількості місяців або навіть років.

У загальному значенні, спосіб за винаходом не стосується ніякого визначеного способу введення, тому що спосіб введення залежить від форми активного засобу і препарату, приготовленого для введення активного засобу. Способи введення включають в себе пероральний, парентеральний (наприклад, підшкірний, субдуральний, внутрішньовенний, внутрішньом'язовий, інтратекальний, внутрішньочеревинний, внутрішньомозковий, внутрішньоартеріальний або у осередок ураження шляху введення), місцевий, локалізований (наприклад, хірургічний компрес або хірургічний супозиторій), ректальний і легеневий (наприклад, аерозолі, інгаляція або порошок). Переважно, шлях введення є парентеральним. Шлях введення обґрунтований композицією, що вводиться, (наприклад, імуноглобулін, що вводиться внутрішньовенно у порівнянні з низькомолекулярною сполукою, що вводиться перорально), націленістю на визначену тканину (наприклад, інтратекальне введення, для націлювання на ділянку ураження спинного мозку) і тому подібним, як відомо звичайним фахівцям у даній галузі.

Додатково, ремієлінізуючі засоби можна поєднувати з іншими сполуками або композиціями, використовуваними для лікування, полегшення або зм'якшення симптомів, пов'язаних з демієлінізуючими станами або захворюваннями. Крім того, описані тут сполуки можна вводити окремо або в комбінації з іншими засобами, такими як інші ремієлінізуючі засоби, що включають в себе антитіла і їх імунологічно активні фрагменти (наприклад, наталізумаб). Низькомолекулярні сполуки при введенні в комбінації можна вводити в тому ж самому препараті, що й інші низькомолекулярні сполуки або композиції, або в окремому препараті. Ремієлінізуючі засоби у вигляді антитіл при введенні в комбінації, в основному, вводять в окремому препараті, на відміну від ремієлінізуючих засобів у вигляді низькомолекулярних сполук, інших сполук і композицій. Ремієлінізуючі засоби при введенні в комбінації можна вводити до, після або одночасно з іншими сполуками і композиціями, використовуваними для лікування, полегшення або зм'якшення симптомів. Основний аспект винаходу відноситься до введення щодо постійних кількостей активного засобу в систему кровообігу пацієнта протягом місяців або років. Таке тривале введення ремієлінізуючого засобу забезпечує відповідний контроль над патологічним запаленням, підтримуваний на постійному рівні протягом тривалого періоду часу. Підтримуючи терапевтичні рівні активного засобу протягом тривалого періоду часу, можна на тривалий термін придушити патологічне запалення у пацієнта.

У дуже визначеному змісті, винахід відноситься до одержання і підтримання у пацієнта-людини рівня насиченості рецептора димеру, що містить альфа-4-інтегрин у діапазоні приблизно від 65% до 100%, більш переважно, від 75% до 100%, і ще більш переважно між 80-100%. Такі рівні насиченості рецептора

довгостроково підтримують на даних рівнях (наприклад, протягом приблизно 6 місяців або близько того), для того щоб забезпечити тривале придушення патологічного запалення.

Взагалі, ремієлінізуючі засоби можна вибрати з засобів, що специфічно зв'язуються з альфа-4-інтегрином, або зв'язують специфічно альфа-4-інтегрин. Наприклад, низькомолекулярні сполуки, використовувані у способах за винаходом, можна вибрати зі сполук, що володіють афінністю зв'язування з альфа-4-інтегрином від 0,3 до 3нм. Крім того, можна також вибрати антитіла, такі як наталізумаб, що володіють афінністю зв'язування з альфа-4-інтегрином приблизно від 0,2 до приблизно 0,4нм.

В іншому аспекті винаходу описані тут сполуки і композиції можна використовувати для того, щоб заблокувати міграцію імунних клітин з кровотоку в центральну нервову систему у випадку, наприклад, розсіяного склерозу, або до ділянок, що приводять до викликаного запаленням руйнування мієліну. Переважно, такі засоби або реагенти блокують міграцію імунних клітин способом, що інгібує демієлінізацію і який додатково може стимулювати ремієлінізацію. Засоби або реагенти можуть також запобігати демієлінізації і стимулювати ремієлінізацію центральної нервової системи при вроджених метаболічних порушеннях, у яких інфільтрація імунних клітин впливає на утворення мієлінової оболонки, головним чином, у ЦНС. Реагенти переважно також знижують параліч при введенні суб'єкту з паралічем, викликаним демієлінізуючим захворюванням або станом.

3. Показання для лікування

Запальні захворювання, що включені сюди для лікування описаними тут композиціями, сполуками і способами, включають в себе, в основному, стани, що відносяться до демієлінізації. Гістологічно, мієлінові порушення являють собою або демієлінізацію, або дисмієлінізацію. Демієлінізація має на увазі руйнування мієліну. Дисмієлінізація відноситься до дефектного утворення або дефектного підтримання стану мієліну, що є наслідком дисфункції олігодендроцитів. Переважно, описані тут композиції і способи призначені для лікування захворювань і станів, що відносяться до демієлінізації, і сприяють ремієлінізації. Додаткові захворювання або стани, розглянуті для лікування, включають в себе менінгіт, енцефаліт і ушкодження спинного мозку і стани, що, в основному, викликають демієлінізацію як результат запальної відповіді. Описані тут сполуки, композиції і способи не спрямовані на захворювання і стани, де має місце бути, наприклад, генетичний дефект, що приводить до неправильного утворення мієліну, наприклад, дисмієлінізації.

Описані тут композиції, сполуки і суміші передбачені для лікування станів і захворювань, пов'язаних з демієлінізацією. Захворювання і стани, що тягнуть за собою демієлінізацію, включають в себе як необмежувальні приклади розсіяний склероз, вроджені метаболічні порушення (наприклад, фенілкетонурія, хвороба Тея-Сакса, хвороба Німанна-Піка, хвороба Гоше, синдром Гурлера, хвороба Краббе й інші лейкодистрофії), невропатії з аномальною мієлінізацією (наприклад, синдром Гійєна-Барре, хронічна імунна демієлінізуюча поліневропатія (CIDP), множинна CIDP, синдром проти MAG, синдром GALOP, синдром антитіл проти сульфатидів, синдром антитіл проти GM2, синдром POEMS, периневрит, синдром антитіла IgM проти GD1b), пов'язану з лікарськими препаратами демієлінізацію (наприклад, викликану введенням хлорохіну, FK506, пергексиліну, прокаїнаміді і зимелдину), інші спадкоємні демієлінізуючі стани (наприклад, синдром глікопротеїнів з дефіцитом, вуглеводу, синдром Коккейну, вроджена гіпомієлінізація, вроджена м'язова дистрофія, хвороба Фарбера, синдром Марінеску-Шегрена, метакхроматична лейкодистрофія, хвороба Пеліцеуса-Мерцбахера, хвороба Рефсума, пов'язані з пріонами стани і хвороба Салла) та інші демієлінізуючі стани (наприклад, менінгіт, енцефаліт і ушкодження спинного мозку) або захворювання.

Існують різні моделі захворювань, які можна використовувати для вивчення даних захворювань in vivo. Наприклад, моделі тварин включають в себе як необмежувальні приклади:

Таблиця 1

Модель захворювання	Вид
ЕАЕ	Миша, щур, морська свинка
ЕАЕ, викликана мієліновим глікопротеїном олігодендроцитів (MOG)	Щур
Трансгенна за TNF- α модель демієлінізації	Миша

3.1. Розсіяний склероз

Найпоширенішим демієлінізуючим захворюванням є розсіяний склероз, але множина інших метаболічних і запальних порушень приводять до недостатньої або неправильної мієлінізації. РС являє собою хронічне неврологічне захворювання, що з'являється в ранній молодості у дорослих людей і прогресує в більшості випадків до значної неідеальності. В одних тільки Сполучених Штатах має місце приблизно 350000 випадків РС. За винятком травми, РС являє собою найчастішу причину неврологічної неідеальності, починаючи з ранньої молодості до середнього періоду дорослішання.

Причину РС усе ще необхідно визначити. РС характеризується хронічним запаленням, демієлінізацією і гліозом (рубцюванням). Демієлінізація може привести або до негативних, або до позитивних ефектів на аксональну провідність. Позитивні аномалії провідності включають в себе уповільнену аксональну провідність, неповну блокаду провідності, що відбувається за наявності високочастотної, а не низькочастотної, послідовності імпульсів, або повну блокаду провідності. Позитивні аномалії провідності включають в себе екотічну генерацію імпульсу, спонтанну або після механічного стресу, і аномальну «взаємну передачу сигналів» між демієлінізованими ексонами.

Т-клітини, реакційно здатні проти білків мієліну, або основного білка мієліну (MBP), або білка протеоліпиду (PLP), як було помічено, опосередковували запалення в ЦНС при експериментальному аутоімунному енцефаломієліті. Також спостерігали, що пацієнти мали підвищені рівні імуноглобулінів (Ig) у

ЦНС. Далі можливо, що деякі з ушкоджень тканини, що спостерігаються при РС, опосередковані цитокіновими продуктами активованих Т-клітин, макрофагів або астроцитів.

На сьогоднішній день 80% пацієнтів з діагнозом РС живуть 20 років після початку захворювання. Способи лікування при лікуванні РС включають в себе (1) лікування, націлене на зміну протікання захворювання, включаючи сюди лікування гострого приступу захворювання, і спрямоване на довгострокове придушення захворювання; (2) лікування симптомів РС; (3) попередження розвитку і лікування медичних ускладнень і (4) надання допомоги при вторинних особистих і соціальних проблемах.

Початок РС може бути драматичним або настільки м'яким, що не змушує пацієнта звертатись за медичною допомогою. Найпоширеніші симптоми включають в себе слабкість в одній або більше кінцівках, неясність зору через оптичний неврит, сенсорні порушення, двоїння в очах і атаксію. Протікання захворювання можна розкласти на три загальні групи: (1) рецидивуючий РС, (2) хронічний прогресуючий РС і (3) пасивний РС. Рецидивуючий РС характеризується повторюваними приступами неврологічної дисфункції. Приступи РС, як правило, розвиваються в період від днів до тижнів і можуть супроводжуватись повним відновленням, частковим відновленням або відсутністю відновлення. Відновлення від приступів, як правило, відбувається в період від тижнів до декількох місяців від максимального прояву симптомів, хоча зрідка деяке відновлення може продовжуватись протягом 2 або більше років.

Хронічний прогресуючий РС приводить до поступово прогресуючого погіршення без періодів заспокоєння або ремісії. Дана форма розвивається у пацієнтів з попереднім в історії хвороби рецидивуючим РС, хоча 20% пацієнтів не можуть згадати ніяких рецидивів. Гострі рецидиви також можуть відбутись під час прогресуючого протікання.

Третя форма являє собою пасивний РС. Пасивний РС характеризується незмінною неврологічною недостатністю з різною інтенсивністю. У більшості пацієнтів з пасивним РС спостерігається більш ранній в історії хвороби рецидивуючий РС.

Протікання захворювання також залежить від віку пацієнта. Наприклад, сприятливі прогностичні фактори включають в себе ранній початок (крім дитинства), рецидивуюче протікання і невелику залишкову недієздатність через 5 років після початку захворювання. На відміну від цього, несприятливий прогноз пов'язаний з початком у пізньому віці (тобто вік 40 років або старше) і прогресуюче протікання. Дані параметри є взаємозалежними, тому що у хронічного прогресуючого РС спостерігають тенденцію початку в більш пізньому віці, ніж у рецидивуючого РС. Недієздатність при хронічному прогресуючому РС звичайно є наслідком прогресуючої параплегії або тетраплегії (паралічу) у пацієнтів. В одному аспекті винаходу, пацієнта будуть переважно лікувати, коли пацієнт знаходиться у фазі ремісії, а не на рецидивуючій стадії захворювання.

Короткочасне використання або адренотропного гормону, або кортикостероїдів для перорального введення (наприклад, преднізон для перорального введення або метилпреднізолон для внутрішньовенного введення) являє собою єдиний специфічний терапевтичний засіб для лікування пацієнтів з гострим приступом РС.

Більш нові способи лікування РС включають в себе лікування пацієнта інтерфероном бета-1b, інтерфероном бета-1a і Сорахоне® (раніше відомим як співполімер 1). Дані три лікарські препарати, як було показано, значно зменшували частоту рецидивів захворювання. Дані лікарські препарати вводять самостійно внутрішньом'язово або підшкірно.

Проте, жоден зі способів лікування, що використовуються, не інгібує демієлінізацію, не говорячи вже про стимуляцію або можливість мимовільної ремієлінізації або зниження паралічу. Один аспект винаходу передбачає лікування РС описаними тут засобами або окремо, або в комбінації з іншими стандартними способами лікування.

3.2. Вроджені метаболічні порушення

Вроджені метаболічні порушення включають в себе фенілкетонурію (PKU) та інші аміноацидурії, хворобу Тея-Сакса, хворобу Німанна-Піка, хворобу Гоше, синдром Гурлера, хворобу Краббе й інші лейкодистрофії, що впливають на утворення оболонки, як описано більш повно нижче.

PKU являє собою спадкоємну помилку в метаболізмі, викликану недостатністю ферменту фенілаланінгідроксилази. Відсутність даного ферменту приводить до затримання розумового розвитку, ушкодження органів, незвичайного положення тіла і може, у випадках PKU по материнській лінії, сильно ставити під загрозу вагітність. Модель для вивчення PKU описана на мишах. Переважно, для дитин, у яких визначена PKU, встановлюють дієту, що не містить фенілаланін або з його зниженим вмістом. Аспект винаходу буде поєднувати такі дієти з описаними тут сполуками і композиціями для того, щоб запобігти демієлінізації і ремієлінізувати клітини, ушкоджені внаслідок PKU.

Класична хвороба Тея-Сакса з'являється у суб'єкта приблизно у віці 6 місяців і в кінцевому рахунку приводить до смерті суб'єкта у віці 5 років. Хвороба є наслідком недостатності ферменту, гексоамінідази (hex A), що необхідний для деградації визначених жирних речовин у головному мозку і нервових клітинах. Дані речовини під час відсутності ферменту накопичуються і приводять до руйнування нервових клітин. Інша форма недостатності ферменту hex A зустрічається пізніше протягом життя і позначається як ювенільна, хронічна і доросла форми початку недостатності hex A. Симптоми схожі на симптоми, що характерні для класичної хвороби Тея-Сакса. Також існує доросла форма початку недостатності ферменту. В даний час не існує жодного способу лікування або обробки даної хвороби/недостатності, а тільки профілактична міра дослідження ембріону in utero на наявність захворювання. Таким чином, описані тут сполуки і композиції можна застосовувати для ослаблення або запобігання руйнування клітин.

Хвороба Німанна-Піка розпадається на три класи: гостра дитяча форма, тип B, що представляє собою менш розповсюджену, хронічну, не неврологічну форму, і тип C, що представляє собою форму захворювання, яка біохімічно і генетично відрізняється. У нормального суб'єкта клітинний холестерин імпортується в лізосоми для процесингу, після чого він вивільняється. Клітини, одержані від суб'єктів із хворобою Німанна-Піка, як було показано, є дефектними у відношенні вивільнення холестерину з лізосом. Це приводить до надмірного відкладення холестерину всередині лізосом, викликаючи помилки процесингу. У NPC1, як було відомо, знайшли чутливі до стерину ділянки, подібні до ділянок в інших білках, що, припускають, відіграють роль у регуляції транспорту холестерину. Жодних успішних способів лікування не

визначили для форм хвороби Німанна-Піка типів А і С. Для типу С пацієнтам рекомендують дотримуватись дієти з низьким вмістом холестерину. Таким чином, описані тут сполуки і композиції можна застосовувати для ослаблення або запобігання руйнування клітин.

Хвороба Гоше є спадковим захворюванням, викликаним генною мутацією. У нормі даний ген відповідальний за фермент, названий глюкоцереброзидазою, що необхідний організму для руйнування ліпідів, глюкоцереброзидів. У пацієнтів із хворобою Гоше організм не здатний належним чином виробляти даний фермент, і ліпіди не можуть руйнуватись. Так само як і хвороба Тея-Сакса, хвороба Гоше значно більш поширена у нащадків єврейської популяції із Західної Європи (Ашкенази), хоча можуть бути уражені суб'єкти з будь-якої етнічної групи. Серед популяції євреїв Ашкенази хвороба Гоше є найпоширенішим генетичним порушенням із зустрічальністю захворювання приблизно 1 на 450 чоловік. У необмеженій популяції хвороба Гоше вражає приблизно 1 на 100000 чоловік.

У 1991 році стала доступна заміщувальна ферментна терапія як перший ефективний спосіб лікування хвороби Гоше. Спосіб лікування складається зі зміненої форми ферменту глюкоцереброзидази, що вводиться внутрішньовенно. Розглядають, що описані тут композиції і сполуки можна використовувати окремо або, більш переважно, у комбінації з введенням глюкоцереброзидази для лікування захворювання в ураженого суб'єкта.

Синдром Гурлера, також відомий як мукополісахаридоз типу І, являє собою клас хвороб накопичення. Дані генетичні захворювання беруть участь у загальному клітинному накопиченні мукополісахаридів у фіброблестах. Захворювання генетично помітні. Пересадження фіброblastів і кісткового мозку, очевидно, не допомагає, таким чином необхідні сполуки і композиції, застосовні для ослаблення серйозності захворювання і його прогресувань. Описані тут сполуки і композиції можна вводити суб'єкту для ослаблення прогресування і/або серйозності захворювання.

Хвороба Краббе (також відома як глободіно-клітинна лейкодистрофія) є аутосомним рецесивним станом, що є наслідком недостатності галактозилцерамідази (або галактоцереброзидази), лізосомального ферменту, що катаболізує основний ліпідний компонент мієліну. Зустрічальність у Франції складає приблизно 1:150000 народжень. Хвороба приводить до демієлінізації центральної і периферичної нервової системи. Початок захворювання, головним чином, стається протягом першого року життя, і стан швидкий прогресує, але також повідомляли про ювенільну, про підліткову або дорослу форми початку захворювання з більш змінливою мірою прогресування. Діагноз встановлюють за аналізом ферменту (недостатність галактозилцерамідази). Існує кілька природних моделей тварин (миша, собака, мавпа). Хвороба Краббе, як і всі лейкодистрофії, не має жодних відомих способів лікування або ефективних обробок. В одному здійсненні даного винаходу необхідно використовувати описані тут композиції і сполуки для лікування або ослаблення хвороби Краббе й інших лейкодистрофій.

Лейкодистрофії являють собою групу генетично визначених порушень, що впливають на головний мозок, спинний мозок і периферичні нерви. Вони включають в себе адренолейкодистрофію (ALD), адреномієлоневропатію (AMN), синдром Айкарді-Гутьєрса, хворобу Олександра, CACH (тобто дитячу атакасію з гіпомієлінізацією центральної нервової системи або хворобу зникнення білої речовини мозку), CADASIL (тобто церебральну аутосомно-домінантну артеріопатію з підкірковими інфарктами і лейкоенцефалопатією), хворобу Канавана (губчасту дегенерацію), сухожильно-мозковий ксантоматоз (CTX), хворобу Краббе (описану вище), метакроматичну лейкодистрофію (MLD), неонатальну адренолейкодистрофію, синдром оваріолейкодистрофії, хворобу Пеліцеуса-Мерцбахера (зчеплену з Х-хромосомою спастичну пареплегію), хворобу Рефсума, синдром Ван-Дер-Кнаапа (вакуолізовану лейкодистрофію з підкірковими кістами) і синдром Цельвегера. Жодне з захворювань не має ефективних способів обробки, не говорячи вже про способи лікування. Отже, необхідні способи лікування або ослаблення симптомів захворювання, таких як при використанні описаних тут композицій і сполук.

3.3. Невропатії з аномальною мієлінізацією

Існує множина хронічних імунних поліневропатій, що приводять до демієлінізації у пацієнта. Вік початку розвитку стану змінюється в залежності від стану. Існують стандартні способи лікування цих захворювань і їх можна комбінувати з описаними тут композиціями і сполуками. Альтернативно, описані тут композиції і сполуки можна використовувати окремо. Існуючі стандартні способи лікування включають в себе наступні способи:

Таблиця 2

Невропатія	Клінічні ознаки	Лікування
Хронічна імунна демієлінізуюча поліневропатія (CIDP)	Початок захворювання в період 1-80 років. Характеризується слабкістю, втратою чутливості і гіпертрофією нервів	Імуносупресія Т-клітин преднізоном, циклоспорином А або метотрексатом, HIG, переливання плазми
Множинна CIDP	Початок захворювання в період від 28 до 58 років, і воно характеризується асиметричною слабкістю, втратою чутливості з протіканням захворювання, що є слабо прогресуючим або рецидивно-ремісійним	Імуносупресія Т-клітин преднізоном, імуноглобуліном людини (HIG)
Множинна рухова невропатія (MMN)	Початок захворювання знаходиться в діапазоні від 25 до 70 років, зустрічається в два рази більше у чоловіків, ніж у жінок. Ознаки включають в себе слабкість, м'язову атрофію, фасцикуляцію і судоми, що	HIG, імуносупресія В-клітин з переливанням плазми, циклофосфамід, ритуксан

	прогресують протягом 1-30 років	
Невропатія з IgM, що зв'язує мієлін-зв'язаний глікопротеїн (MAG)	Початок захворювання звичайно з 50 років і характеризується втратою чутливості (100%), слабкістю, порушенням ходи, тремором, що всі повільно прогресують.	Імуносупресія В-клітин, переливання плазми, циклофосфамід, ритуксан, α -інтерферон, кладрибін або флударабін, преднізон
Синдром GALOP (поліневропатія з порушенням ходи, за участю аутоантитіл, з пізнім початком)	Порушення ходи з поліневропатією	HIG, переливання плазми, циклофосфамід
Синдром POEMS (поліневропатія-органомегалія-ендокринопатія зі змінами М-білка і шкіри), також відомий як синдром Crow-Fukase і хвороба Такацукі	Початок захворювання зустрічається в діапазоні від 27 до 80 років зі слабкістю, втратою чутливості, зі зниженими або з відсутніми сухожильними рефlekсами, шкірними розладами й іншими характерними ознаками	Остеосклеротичні ураження лікують опроміненням. Широкирозповсюджені ураження лікують хіміотерапією (мелфалан і преднізон)

3.4. Демієлінізація, викликана опроміненням і лікарськими препаратами

Деякі лікарські препарати й опромінення можуть викликати демієлінізацію у суб'єктів. Лікарські засоби, що відповідальні за демієлінізацію, включають в себе як необмежувальні приклади хлорохін, FK506, перексилін, прокаїнамід і зимелдин.

Опромінення також може викликати демієлінізацію. Токсичність для центральної нервової системи (ЦНС) внаслідок опромінення, як вважають, викликана (1) ушкодженням структур судин, (2) руйнуванням попередників астроцитів олігодендроцитів-2 і зрілих олігодендроцитів, (3) руйнуванням популяції нервових стовбурних клітин у гіпокампі, мозочку і корі головного мозку і генералізованими змінами експресії цитокінів. Більшість ушкоджень при опроміненні є наслідком радіотерапії, проведеної під час лікування деяких раків. Дивись для ознайомлення Belka et al., 2001 Br. J. Cancer 85: 1233-9. Проте, радіаційний вплив також може являти собою проблему для космонавтів (Hopewell, 1994 Adv. Space Res. 14: 433-42), а також у випадку впливу радіоактивних речовин.

Пацієнти, що одержували лікарські препарати або випадково або навмисно піддавались впливу радіації, можуть знати по досвіду сприятливий вплив при введенні однієї з описаних тут сполук або композицій для попередження розвитку демієлінізації або стимуляції ремієлінізації.

3.5. Спадкові стани, що викликають демієлінізацію

Додаткові спадкоємні синдроми/хвороби, що приводять до демієлінізації, включають в себе синдром Кокейна, вроджену гіпомієлінізацію, хворобу Фарбера, метакроматичну лейкодистрофію, хворобу Пеліцеуса-Мерцбахера, хворобу Рефсума, пов'язані з пріонами стани і хворобу Салла.

Синдром Кокейна (CS) є рідким спадкоємним порушенням, в якому люди стають чутливими до сонячного світла, вони невисокого росту і з ознаками передчасного старіння. У класичній формі синдрому Кокейна (тип I) симптоми прогресують і типово стають очевидні після досягнення віку одного року. Ранній початок або вроджена форма синдрому Кокейна (тип II) очевидні при народженні. Цікаво, що на відміну від інших захворювань, пов'язаних з репарацією ДНК, синдром Кокейна не пов'язаний з раком. CS являє собою мультисистемне порушення, що викликає як сильну недостатність росту тіла і мозку, так і прогресуючу кахексію, дегенерацію сітківки ока, кохлеарну і неврологічну дегенерацію з лейкодистрофією і демієлінізуючою невропатією без переростання в рак. Після впливу УФ (наприклад, сонячного світла), суб'єкти із синдромом Кокейна більше не можуть здійснювати сполучену з транскрипцією репарацію. До теперішнього моменту було ідентифіковано два гени, дефектних при синдромі Кокейна, CSA і C SB. Ген CSA виявлений у 5 хромосомі. Обидва гени кодують білки, що взаємодіють з компонентами транскрипційних апаратів і з білками репарації ДНК.

До теперішнього часу, жодних способів лікування або ефективних обробок для пацієнтів з даним захворюванням не визначили. Таким чином, один аспект винаходу являє собою лікування даного захворювання описаними тут сполуками і композиціями.

Вроджена гіпомієлінізація має кілька назв, що включають у себе вроджену дисмієлінізуючу невропатію, вроджену гіпомієлінізуючу поліневропатію, вроджену поліневропатію з гіпомієлінізацією (цибуліні), вроджену невропатію з гіпомієлінізацією, викликану гіпомієлінізацією вроджену невропатію, невропатію з гіпомієлінізацією і CHN. Спадкоємні периферичні невропатії є комплексною, клінічно і генетично гетерогенною групою порушень серед найпоширеніших генетичних порушень у людей, що приводять до прогресуючої дегенерації периферичних нервів. Вроджена гіпомієлінізація являє собою одну з груп порушень. Дана група містить в собі спадкоємну невропатію зі схильністю до компресійних паралічів, хворобу Шарко-Марі-Тута, синдром Дежеріна-Сотта, і вроджену гіпомієлінізуючу невропатію. Не існує жодних відомих способів лікування або ефективних обробок для якого-небудь з даних порушень.

Хвороба Фарбера має кілька назв, включаючи: ліпогрануломатоз Фарбера, недостатність церамідази, недостатність кислої церамідази, недостатність АС, недостатність N-лаурилсфінгозиндеацетилази і N-ацилсфінгозинамідогідролази. Як показують деякі назви, хвороба є наслідком недостатності кислої церамідази (також відомої як N-ацилсфінгозинамідогідролаза, ASAH). Відсутність ферменту приводить до накопичення несурьфованого кислого мукополісахариду в нейронах і гліальних клітинах. Пацієнти з даним захворюванням звичайно вмирають до 2 років.

Метакроматична лейкодистрофія (MLD) є генетичним порушенням, викликаним недостатністю ферменту арилсульфатази А. Вона є однією з групи генетичних порушень, названих лейкодистрофією, що впливають на ріст мієлінової оболонки. Існує три форми MLD: пізня дитяча, ювенільна і доросла. У пізній

Хвороба Пеліцеуса-Мерцбахера (також відома як перинатальна суданофільна лейкодистрофія) являє собою генетичне порушення, пов'язане з X-хромосомою, що викликає аномальність білка протеоліпіду. Аномальність приводить до смерті дитини типово до віку одного року. Не існує жодних відомих обробок або способів лікування для захворювання.

Стани, обумовлені пріонами, включають в себе хворобу Герстманна-Штрейсслера (GSD), хворобу Крейтцфельда-Якоба (CJD), фатальне сімейне безсоння, і аберантні ізоформи пріонового білка можуть діяти як інфекційні агенти при даних порушеннях, а також при куру і скрепі (захворювання, виявлене у овець). Термін пріон походить від фрази «білковий інфекційний агент» (Prusiner, Science 216: 136-44, 1982). Існує протеолітичне розщеплення спорідненого пріону білка (PRP), що приводить до появи амілоїдогенного пептиду, який полімеризується в нерозчинні волокна.

3.6. Інші демієлінізуючі стани

4. Ремієлінізуючі засоби

4.1. Сполуки

4.1.1. Сполуки формули I і формули II

$$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}^1 - \text{S} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array} - \begin{array}{c} \text{R}^3 \\ | \\ \text{N} \\ | \\ \text{R}^2 \end{array} - \text{CH} - \text{Q} - \text{CH} - \begin{array}{c} \text{R}^5 \\ | \\ \text{C} \\ \parallel \\ \text{O} \\ | \\ \text{OH} \end{array} \quad \text{I}$$

В якій

R^1 вибраний з групи, що складається з алкілу, заміщеного алкілу, арилу, заміщеного арилу,

(С) коли R¹ являє собою піримідин-2-іл, R² і R³ разом з атомом вуглецю, зв'язаним з R², і атомом вуглецю, зв'язаним з R³, утворюють піролідинільне кільце, R⁵ являє собою п-[(CH₃)₂NC(O)O]бензил, і Q

являє собою $-C(O)NH-$, тоді як R^6 не є $-OC(CH_3)_3$; і

(D) коли R^1 являє собою п-метилфеніл, R^2 і R^3 разом з атомом азоту, що прилягає до R^2 , і атомом вуглецю, що прилягає до R^3 , утворюють кільце (2S)-піперазин-2-карбонілу; R^5 являє собою п- $[(CH_3)_2MC(O)O]$ бензил, і Q являє собою $-C(O)NH-$, тоді як R^6 не є $-OC(CH_3)_3$.

Подальший опис сполук зазначених вище формул I і IA, і процедур і умов взаємодії для одержання даних сполук описано в заявці на видачу патенту США №09/126958 (подана 31 липня 1998р., і виданий патент США №6489300), включеної сюди цілком як посилання.

Переважно у сполуках зазначеної вище формули I і IA, R^1 вибраний з групи, що складається з алкілу, заміщеного алкілу, арилу, заміщеного арилу, гетероциклу, заміщеного гетероциклу, гетероарилу і заміщеного гетероарилу. Більш переважно, R^1 вибраний з групи, що складається з арилу, заміщеного арилу, гетероарилу і заміщеного гетероарила.

Переважно R^1 у сполуках зазначеної вище формули I і IA вибраний з групи, що складається з фенілу, 4-метилфенілу, 4-трет-бутилфенілу, 2,4,6-триметилфенілу, 2-фторфенілу, 3-фторфенілу, 4-фторфенілу, 2,4-дифторфенілу, 3,4-дифторфенілу, 3,5-дифторфенілу, 2-хлорфенілу, 3-хлорфенілу, 4-хлорфенілу, 3,4-дихлорфенілу, 3,5-дихлорфенілу, 3-хлор-4-фторфенілу, 4-бромфенілу, 2-метоксифенілу, 3-метоксифенілу, 4-метоксифенілу, 3,4-диметоксифенілу, 4-трет-бутоксифенілу, 4-(3'-диметиламіно-н-пропокси)фенілу, 2-карбоксифенілу, 2-(метоксикарбоніл)фенілу, 4-($H_2NC(O)$)фенілу, 4-($H_2NC(S)$)фенілу, 4-ціанофенілу, 4-трифторметилфенілу, 4-трифторметоксифенілу, 3,5-ди(трифторметил)фенілу, 4-нітрофенілу, 4-амінофенілу, 4-($CH_3C(O)NH$)фенілу, 4-($PhNHC(O)NH$)фенілу, 4-амідинофенілу, 4-метиламідинофенілу, 4-($CH_3SC(=NH)$)фенілу, 4-хлор-3-($H_2NS(O)_2$)фенілу, 1-нафтилу, 2-нафтилу, піридину-2-ілу, піридину-3-ілу, піримідин-2-ілу, хіноліну-8-ілу, 2-(трифторацетил)-1,2,3,4-тетрагідроізохінолін-7-ілу, морфолін-4-ілу, 2-тієнілу, 5-хлор-2-тієнілу, 2,5-дихлор-4-тієнілу, 1-N-метилімідазол-4-ілу, 1-N-метилпіразол-3-ілу, 1-N-метилпіразол-4-ілу, 1-N-бутилпіразол-4-ілу, 1-N-метил-3-метил-5-хлорпіразол-4-ілу, 1-N-метил-5-метил-3-хлорпіразол-4-ілу, 2-тіазолілу і 5-метил-1,3,4-тіадіазол-2-ілу.

Переважно R^2 у сполуках зазначеної вище формули I і IA вибраний з групи, що складається з метилу, бензилу, $-(CH_2)_2$ -2-тієнілу, і $-(CH_2)_2$ -ф.

В одному з переважних варіантів здійснення R^2 і R^3 у сполуках зазначеної вище формули I і IA разом з атомом азоту, зв'язаним із замісником R^2 , і атомом вуглецю, зв'язаним із замісником R^3 , утворюють гетероциклічну або групу заміщену гетероциклічну групу з 4-6 атомів кільця, що містять у кільці 1-2 гетероатоми, вибраних з групи, що складається з азоту, кисню і сірки, причому дане кільце необов'язково заміщено 1-2 замісниками, вибраними з групи, що складається з фтору, метилу, гідрокси, оксо ($=O$), аміно, фенілу, тіофенілу, тіобензилу, (тіоморфолін-4-іл) $C(O)O-$, $CH_3S(O)_2-$ і $CH_3S(O)_2O-$, або може бути конденсоване з іншим кільцем, таким як фенільне або циклоалкільне кільце, із забезпеченням коденсованого гетероциклічного кільця з 10-14 атомів кільця, що містять у кільці 1-2 гетероатоми, вибраних з групи, що складається з азоту, кисню і сірки. Такі гетероциклічні кільця включають в себе азетидиніл (наприклад, L-азетидиніл), тіазолідиніл (наприклад, L-тіазолідиніл), піперидиніл (наприклад, L-піперидиніл), піперазиніл (наприклад, L-піперазиніл), дигідроіндоліл (наприклад, L-2,3-дигідроіндол-2-іл), тетрагідрохінолініл (наприклад, L-1,2,3,4-тетрагідрохінолін-2-іл), тіоморфолініл (наприклад, L-тіоморфолін-3-іл), піролідиніл (наприклад, L-піролідиніл), заміщений піролідиніл, такий як 4-гідроксипіролідиніл (наприклад, 4- α -(або β)-гідрокси-L-піролідиніл), 4-оксопіролідиніл (наприклад, 4-оксо-L-піролідиніл), 4-фторпіролідиніл (наприклад, 4- α -(або β)-фтор-L-піролідиніл), 4,4-дифторпіролідиніл (наприклад, 4,4-дифтор-L-піролідиніл), 4-(тіоморфолін-4-іл- $C(O)O$)-піролідиніл (наприклад, 4- α -(або β)-(тіоморфолін-4-іл- $C(O)O$)-L-піролідиніл), 4-($CH_3S(O)_2O$)-піролідиніл (наприклад, 4- α -(або β)-(CH₃S(O)₂O)-L-піролідиніл), 3-фенілпіролідиніл (наприклад, 3- α -(або β)-феніл-L-піролідиніл), 3-тіофенілпіролідиніл (наприклад, 3- α -(або β)-тіофеніл-L-піролідиніл), 4-амінопіролідиніл (наприклад, 4- α -(або β)-аміно-L-піролідиніл), 3-метоксипіролідиніл (наприклад, 3- α -(або β)-метокси-L-піролідиніл), 4,4-диметилпіролідиніл, заміщений піперазиніл, такий як 4-N-Cbz-піперазиніл і 4-($CH_3S(O)_2$)-піперазиніл, заміщений тіазолідиніл, такий як 5,5-диметилтіазолідин-4-іл, 1,1-діоксотіазолідиніл (наприклад, L-1,1-діоксотіазолідин-2-іл), заміщений 1,1-діоксотіазолідиніл, такий як L-1,1-діоксо-5,5-диметилтіазолідин-2-іл, 1,1-діоксотіоморфолініл (наприклад, L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл) тощо.

Q у сполуках зазначеної вище формули I і IA переважно являє собою $-C(O)NH-$ або $-C(S)NH-$.

У сполуках зазначеної вище формули I і IA Ar переважно являє собою арил або заміщений арил, і, навіть більш переважно, являє собою феніл або заміщений феніл. Переважно, x являє собою 1.

У сполуках зазначеної вище формули I і IA R^5 переважно вибраний з усіх можливих ізомерів, що виникають шляхом заміщення наступними групами:

- 3- $[(CH_3)_2NC(O)O]$ бензил,
- 4- $[(CH_3)_2NC(O)O]$ бензил,
- 4-[(піперидин-1'-іл) $C(O)O$]-бензил,
- 4-[(піперидин-4'-іл) $C(O)O$]-бензил,
- 4-[(1'-метилпіперидин-4'-іл) $C(O)O$]-бензил,
- 4-[(4'-гідроксипіперидин-1'-іл) $C(O)O$]-бензил,
- 4-[(4'-формілоксипіперидин-1'-іл) $C(O)O$]-бензил,
- 4-[(4'-етоксикарбонілпіперидин-1'-іл) $C(O)O$]-бензил,
- 4-[(4'-карбоксилпіперидин-1'-іл) $C(O)O$]-бензил,
- 4-[(3'-гідроксиметилпіперидин-1'-іл) $C(O)O$]-бензил,
- 4-[(4'-гідроксиметилпіперидин-1'-іл) $C(O)O$]-бензил,
- 4-[(4'-феніл-1'-Вос-піперидин-4'-іл) $C(O)O$]-бензил,
- 4-[(4'-піперидон-1'-ілетилкеталь) $C(O)O$]-бензил,
- 4-[(піперазин-4'-іл)- $C(O)O$]-бензил,
- 4-[(1'-Вос-піперазин-4'-іл) $C(O)O$]-бензил,
- 4-[(4'-метилпіперазин-1'-іл) $C(O)O$]-бензил,
- 4-[(4'-метилгомопіперазин-1'-іл) $C(O)O$]-бензил,

4-[(4'-(2-гідроксietил)піперазин-1'-іл)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-фенілпіперазин-1'-іл)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-(піридин-2-іл)піперазин-1'-іл)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-(4-трифторметилпіридин-2-іл)піперазин-1'-іл)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-(піримідин-2-іл)піперазин-1'-іл)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-ацетилпіперазин-1'-іл)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-(феніл-C(O)-)піперазин-1'-іл)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-(піридин-4-іл-C(O)-)піперазин-1'-іл)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-(феніл-NHC(O)-)піперазин-1'-іл)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-(феніл-NHC(S)-)піперазин-1'-іл)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-метансульфонілпіперазин-1'-іл-C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-трифторметансульфонілпіперазин-1'-іл-C(O)O-]бензил,
 4-(морфолін-4'-іл)C(O)O-]бензил,
 3-нітро-4-[(морфолін-4'-іл)-C(O)O-]бензил,
 4-[(тіоморфолін-4'-іл)C(O)O-]бензил,
 4-[(тіоморфолін-4'-ілсульфон)C(O)O-]бензил (альтернативна номенклатура 4-[(1,1-діоксотіоморфолін-4-іл)-C(O)O-]бензил),
 4-[(піролідін-1'-іл)C(O)O-]бензил,
 4-[(2'-метилпіролідін-1'-іл)C(O)O-]бензил,
 4-[(2'-(метоксикарбоніл)піролідін-1'-іл)C(O)O-]бензил,
 4-[(2'-(гідроксиметил)піролідін-1'-іл)C(O)O-]бензил,
 4-[(2'-(N,N-диметиламіно)етил)(CH₃)NC(O)O-]бензил,
 4-[(2'-(N-метил-N-толуол-4-сульфоніламіно)етил)(CH₃)NC(O)O-]бензил,
 4-[(2'-(морфолін-4'-іл)етил)(CH₃)NC(O)O-]бензил,
 4-[(2'-(гідрокси)етил)(CH₃)NC(O)O-]бензил,
 4-[біс-(2'-(гідрокси)етил)NC(O)O-]бензил,
 4-[(2'-(формілокси)етил)(CH₃)NC(O)O-]бензил,
 4-[(CH₃OC(O)CH₂)NHC(O)O-]бензил,
 4-[2'-(феніл-NHC(O)O-)етил]-HNC(O)O-]бензил,
 3-хлор-4-[(CH₃)₂NC(O)O-]бензил,
 3-хлор-4-[(4'-метилпіперазин-1'-іл)C(O)O-]бензил,
 3-хлор-4-[(4'-(піридин-2-іл)піперазин-1'-іл)C(O)O-]бензил,
 3-хлор-4-[(тіоморфолін-4'-іл)C(O)O-]бензил і
 3-фтор-4-[(CH₃)₂NC(O)O-]бензил.

У сполуках формули ІА R⁶ переважно являє собою 2,4-діоксо-тетрагідрофуран-3-іл(3,4-енол), метокси, етокси, н-пропокси, ізопропокси, н-бутокси, трет-бутокси, циклопентокси, циклопропілметокси, неопентокси, 2-α-ізопропіл-4-β-метилциклогексокси, 2-β-ізопропіл-4-β-метилциклогексокси, 2-метоксифенокси, 2-(морфолін-4-іл)етокси, -O(CH₂CH₂O)₂CH₃, 2-(фенокси)етокси, -OCH₂C(CH₃)₂NH-Boc, -NH₂, бензилокси, -NHCH₂COOH, -NHCH₂CH₂COOH, -NH-адамантил, -NHSO₂-n-CH₃-φ, -NHCH₂CH₂COOCH₂CH₃, -NHOY', де Y' являє собою водень, метил, ізопропіл або бензил, O-(N-сукцинімідил), -O-холест-5-ен-3-β-іл, -OS₂-OC(O)C(CH₃)₃, -O(CH₂)₂NHC(O)W, де z дорівнює 1 або 2, і W вибраний з групи, що складається з піридин-3-илу, N-метилпіридилу, і N-метил-1,4-дигідропіридин-3-илу, -NR''(O)-R', де R' являє собою арил, гетероарил або гетероцикл, і R'' являє собою або водень -CH₂C(O)OCH₂CH₃.

Навіть більш переважно, R⁶ у сполуках формули ІА вибраний з групи, що складається з метокси, етокси, н-пропокси, ізопропокси, н-бутокси, трет-бутокси, циклопентокси, циклопропілметокси, неопентокси, 2-α-ізопропіл-4-β-метилциклогексокси, 2-β-ізопропіл-4-β-метилциклогексокси, 2-метоксифенокси, 2-(морфолін-4-іл)етокси, -O(CH₂CH₂O)₂CH₃, 2-(фенокси)етокси, -OCH₂C(CH₃)₂NH-Boc і бензилокси.

Переважні сполуки в обсязі наведеної вище формули І і ІА включають для прикладу:

етиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну		
етиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну		
ізопропіловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну		
н-бутиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну	ефір	N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну
циклопентиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну	ефір	N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну
трет-бутиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну	ефір	N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну
N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)-фенілаланін		
ізопропіловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну		
н-бутиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну		
циклопентиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну		
трет-бутиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну		
N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланін		
етиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(ізоніпекотоїлокси)фенілаланіну		
етиловий ефір N-(α-толуолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(N-метилізоніпекотоїлокси)фенілаланіну		
N-(α-толуолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)-фенілаланін		
етиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-3-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну		
етиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(1-трет-бутилкарбонілокси-4-фенілпіперидин-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну		
ізопропіловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну		

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

ізопропіловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-[N-метил-N-(2-(N'-метил-N'-толуолсульфоніламіно)етил)карбамілокси]фенілаланіну

ізопропіловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-[N-(2-(N'-феніламінокарбонілокси)етил)карбамілокси]]фенілаланіну

ізопропіловий ефір N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-4-(транс-гідрокси)проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

трет-бутиловий ефір N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-4-(транс-гідрокси)проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

N-(4-амідинобензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)-фенілаланін

біс-{4-[(2S)-2-трет-бутоксикарбоніл-2-((4R)-5,5-диметил-3-(толуол-4-сульфоніл)тіазолідин-4-карбоксамідо)етил]феніловий} ефір піперазин-1,4-дикарбонової кислоти

біс-4-[(2S)-2-карбокси-2-((4R)-5,5-диметил-3-(толуол-4-сульфоніл)тіазолідин-4-карбоксамідо)етил]феніловий} ефір піперазин-1,4-дикарбонової кислоти

трет-бутиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(піразин-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

трет-бутиловий ефір N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(2-гідроксиметилпіролідин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(2-гідроксиметилпіролідин-1-ілкарбонілокси)фенілаланін

трет-бутиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(2-метоксикарбонілпіролідин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-3-хлор-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланін

N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(4-(2-піридил)-піперазин-1-ілкарбонілокси)]фенілаланін

трет-бутиловий ефір N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-ілкарбонілокси)]фенілаланіну

біс-{4-[(2S)-2-ізопропоксикарбоніл-2-((2R)-1-(толуол-4-сульфоніл)піролідин-2-карбоксамідо)етил]феніловий} ефір піперазин-1,4-дикарбонової кислоти

трет-бутиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(4-гідрокси)проліл-L-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну

2-(2-метоксіетокси)етилловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

трет-бутиловий ефір N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(4-(2-піримідил)піперазин-1-ілкарбонілокси)]фенілаланіну

ізопропіловий ефір N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-3-фтор-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

трет-бутиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(1-метансульфонілпіразин-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

N[2-(1,1-діоксо-2,3-дигідро-3,3-диметил-1,2-бензизотіазол-2-іл)ацетил]-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланін

трет-бутиловий ефір N-[2-(N-2,10-камфорсультаміл)ацетил]-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

N-[2-(N-2,10-камфорсультаміл)ацетил]-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)-фенілаланін

ізопропіловий ефір N-[2-(N-2,10-камфорсультаміл)ацетил]-L-3-хлор-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

трет-бутиловий ефір N-(4-бромбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

N-(4-бромбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланін

N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(4-гідрокси)проліл-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланін

N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(4-(2-піримідил)піперазин-1-ілкарбонілокси)]фенілаланін

біс-{4-[(2S)-2-трет-бутоксикарбоніл-2-((2R)-1-(толуол-4-сульфоніл)піролідин-2-карбоксамідо)етил]феніловий} ефір піперазин-1,4-дикарбонової кислоти

ізопропіловий ефір N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-ілкарбонілокси)]фенілаланіну

N-(4-фторбензолсульфоніл)тіазолідиніл-2-карбоніл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланін

трет-бутиловий ефір N-(4-фторбегоолсульфоніл)тіазолідиніл-2-карбоніл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(4-оксо)проліл-L-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланін

N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(4-оксо)проліл-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланін

N-(4-фторбензолсульфоніл)тіазолідиніл-2-карбоніл-L-4-(4-(2-піридил)-піперазин-1-ілкарбонілокси)]фенілаланін

трет-бутиловий ефір N-(4-нітробензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-ілкарбонілокси)]фенілаланіну

трет-бутиловий ефір N-(4-фторбензолсульфоніл)тіазолідиніл-2-карбоніл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-ілкарбонілокси)]фенілаланіну

N-(4-бромбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(4-(2-піридил)-піперазин-1-ілкарбонілокси)]фенілаланін

ізопропіловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-(N-фенілтіокарбоніл)піперазин-1-ілкарбонілокси)]фенілаланіну

трет-бутиловий ефір N-(4-фторбензолсульфоніл)тіазолідиніл-2-карбоніл-L-4-(4-метилгомопіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

біс-{4-[(2S)-2-карбоксил-2-((2R)-1-(толуол-4-сульфоніл)піролідин-2-карбоксамідо)етил]феніловий} ефір
піперазин-1,4-дикарбонової кислоти
трет-бутиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(4-метансульфонілокси)пропіл-L-4-(N,N-
диметилкарбамілокси)фенілаланіну
N-(4-амінокарбонілбензолсульфоніл)-L-пропіл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланін
N-(4-амінокарбонілбензолсульфоніл)-L-пропіл-L-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланін
N-(4-амідинобензолсульфоніл)-L-пропіл-L-(4-тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланін
N-(4-нітробензолсульфоніл)-L-пропіл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-ілкарбонілокси)]фенілаланін
етилловий ефір N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапропіл-L-3-хлор-4-(4-(2-
піридил)піперазин-1-ілкарбоніл окси)]фенілаланіну
N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапропіл-L-3-хлор-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-
ілкарбонілокси)фенілаланін
N-(4-фторбензолсульфоніл)тіазолідиніл-2-карбоніл-L-4-(4-метилгомопіперазин-1-
ілкарбонілокси)фенілаланін
ізопропіловий ефір N-(1-метилпіразол-3-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапропіл-L-3-хлор-4-(N,N-
диметилкарбамілокси)фенілаланіну
ізопропіловий ефір N-(1-метилімідазол-4-сульфоніл)-L-пропіл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-
ілкарбонілокси)фенілаланіну
трет-бутиловий ефір N-(1-метилімідазол-4-сульфоніл)-L-пропіл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-ілкарбоніл
окси)фенілаланіну
N-(толуол-4-сульфоніл)-L-пропіл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланін
трет-бутиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-пропіл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-
ілкарбонілокси)фенілаланіну
ізопропіловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-пропіл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-
ілкарбонілокси)фенілаланіну
ізопропіловий ефір N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-пропіл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-
ілкарбонілокси)фенілаланіну
трет-бутиловий ефір N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-пропіл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-
ілкарбонілокси)фенілаланіну
N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(1-метансульфонілпіперазин-3-карбоніл)-L-4-(N,N-
диметилкарбамілокси)фенілаланін
N-(толуол-4-сульфоніл)-L-4-(метансульфонілокси)пропіл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланін
трет-бутиловий ефір N-(метансульфоніл)-N-бензилгліциніл-L-4-(N,N-
диметилкарбамілокси)фенілаланіну
трет-бутиловий ефір N-(4-бромбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапропіл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-
1-ілкарбонілокси)фенілаланіну
N-(4-трифторметоксибензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапропіл-L-4-(N,N-
диметилкарбамілокси)фенілаланін
трет-бутиловий ефір N-(4-трифторметоксибензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапропіл-L-4-(N,N-
диметилкарбамілокси)фенілаланіну
трет-бутиловий ефір N-(4-трифторметоксибензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапропіл-L-4-(4-(2-
піридил)піперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну
N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-пропіл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланін
N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(4-гідрокси)пропіл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-
ілкарбонілокси)фенілаланін
N-(4-трифторметоксибензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапропіл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-
ілкарбонілокси)фенілаланін
N-(1-метилімідазол-4-сульфоніл)-L-пропіл-L-3--хлор-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланін
ізопропіловий ефір N-(1-метилімідазол-4-сульфоніл)-L-пропіл-L-3-хлор-4-(N,N-
диметилкарбамілокси)фенілаланіну
N-(1-метилімідазол-4-сульфоніл)-L-пропіл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланін
N-(1-метилімідазол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапропіл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-
ілкарбонілокси)фенілаланін
N-(1-метилпіразол-3-сульфоніл)-L-пропіл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланін
ізопропіловий ефір N-(1-метилпіразол-3-сульфоніл)-L-пропіл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-
ілкарбонілокси)фенілаланіну
трет-бутиловий ефір N-(1-метилпіразол-3-сульфоніл)-L-пропіл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-
ілкарбонілокси)фенілаланіну
трет-бутиловий ефір N-(1-метилпіразол-3-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапропіл-L-4-(4-(2-
піридил)піперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну
ізопропіловий ефір N-(1-метилімідазол-4-сульфоніл)-L-пропіл-L-3-хлор-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-
ілкарбонілокси)фенілаланіну
2-феноксіетилловий ефір N-(1-метилпіразол-3-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапропіл-L-4-(N,N-
диметилкарбамілокси)фенілаланіну
N-(1-метилпіразол-3-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапропіл-L-3-хлор-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-
ілкарбонілокси)фенілаланін
етилловий ефір N-(1-метилпіразол-3-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапропіл-L-3-хлор-4-(4-(2-
піридил)піперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну
N-(3-хлор-1,5-диметилпіразол-3-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапропіл-L-3-хлор-4-(4-(5-трифторметил-2-
піридил)піперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланін
і їх фармацевтично прийнятні солі, а також будь-які перераховані вище складноефірні сполуки, в яких
один складний ефір замінюється іншим ефіром, вибраним з групи, що складається з метилового ефіру,
етилового ефіру, н-пропілового ефіру, ізопропілового ефіру, н-бутилового ефіру, ізобутилового ефіру, втор-

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

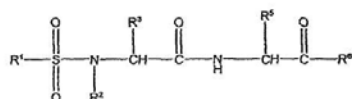
[illegible]

трет-бутиловий ефір
диметилкарбамідокси)феніпаданіну

N-(4-амінокарбонілбензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланін
 N-(4-амінокарбонілбензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланін
 N-(4-амідинобензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)-фенілаланін
 N-(4-нітробензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-ілкарбонілокси)]фенілаланін
 етиловий ефір N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-3-хлор-4-(4-(2-
 піридил)піперазин-1-ілкарбонілокси)]фенілаланіну
 N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-3-хлор-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-
 ілкарбонілокси)фенілаланін
 N-(4-фторбензолсульфоніл)тіазолідиніл-2-карбоніл-L-4-(4-метилгомопіперазин-1-
 ілкарбонілокси)фенілаланін
 ізопропіловий ефір N-(1-метилпіразол-3-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-3-хлор-4-(N,N-
 диметилкарбамінокси)фенілаланіну
 ізопропіловий ефір N-(1-метилімідазол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-
 ілкарбонілокси)фенілаланіну
 трет-бутиловий ефір N-(1-метилімідазол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-
 ілкарбонілокси)фенілаланіну
 N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланін
 трет-бутиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-(2-піридил)-піперазин-1-
 ілкарбонілокси)фенілаланіну
 ізопропіловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-(2-піридил)-піперазин-1-
 ілкарбонілокси)фенілаланіну
 ізопропіловий ефір N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-
 ілкарбонілокси)фенілаланіну
 трет-бутиловий ефір N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-
 ілкарбонілокси)фенілаланіну
 N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(1-метансульфонілпіразин-3-карбоніл)-L-4-(N,N-
 диметилкарбамілокси)фенілаланін
 N-(толуол-4-сульфоніл)-L-4-(метансульфонілокси)проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланін
 трет-бутиловий ефір N-(4-бромбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-
 1-ілкарбонілокси)фенілаланіну
 N-(4-трифторметоксибензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-
 диметилкарбамілокси)фенілаланін
 трет-бутиловий ефір N-(4-трифторметоксибензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-
 диметилкарбамілокси)фенілаланіну
 трет-бутиловий ефір N-(4-трифторметоксибензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(4-(2-
 піридил)піперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну
 N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланін
 N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(4-гідрокси)проліл-L-4-(4-(2-піридил)-піперазин-1-
 ілкарбонілокси)фенілаланін
 N-(4-трифторметоксибензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-
 ілкарбонілокси)фенілаланін
 N-(1-метилімідазол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-3-хлор-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланін
 ізопропіловий ефір N-(1-метилімідазол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-3-хлор-4-(N,N-
 диметилкарбамілокси)фенілаланіну
 N-(1-метилімідазол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланін
 N-(1-метилімідазол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-
 ілкарбонілокси)фенілаланін
 N-(1-метилпіразол-3-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланін
 ізопропіловий ефір N-(1-метилпіразол-3-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-
 ілкарбонілокси)фенілаланіну
 трет-бутиловий ефір N-(1-метилпіразол-3-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-
 ілкарбонілокси)фенілаланіну
 трет-бутиловий ефір N-(1-метилпіразол-3-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(4-(2-
 піридил)піперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну
 ізопропіловий ефір N-(1-метилімідазол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-3-хлор-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-
 ілкарбонілокси)фенілаланіну
 2-феноксіетилловий ефір N-(1-метилпіразол-3-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-
 диметилкарбамілокси)фенілаланіну
 N-(1-метилпіразол-3-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-3-хлор-4-(4-(2-піридил)піперазин-1-
 ілкарбонілокси)фенілаланін
 етиловий ефір N-(1-метилпіразол-3-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-3-хлор-4-(4-(2-
 піридил)піперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну
 N-(3-хлор-1,5-диметилпіразол-3-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-3-хлор-4-(4-(5-трифторметил-2-
 піридил)піперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланін
 і їх фармацевтично прийнятні солі.

Переважні сполуки зазначеної вище формули I і ІА включають ті, які наведені нижче в таблиці 3.

Таблиця 3



R ¹	R ²	R ³	R ⁵	R ⁶
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-метилпіперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-метилпіперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-метилпіперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-O- <i>n</i> -бутил
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-метилпіперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-O-циклопентил
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-метилпіперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-метилпіперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-O- <i>n</i> -бутил
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-O-циклопентил
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(піперидин-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
φ-CH ₂ -	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(1-метилпіперидин-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
φ-CH ₂ -	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-метилпіперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(1-Вос-4-фенілпіперидин-4-іл)-C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃

<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(4-метилпіперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(4-метилпіперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	CH ₃ -	H	<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	CH ₃ -	H	<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	CH ₃ -	H	<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
1-метилімідазол-4-іл	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -NH ₂ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	CH ₃ -	H	<i>n</i> -[(морфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(морфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
φ-CH ₂ -	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -NH-CH ₂ - (L-піперазинил)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
φ-CH ₂ -	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -NH-CH ₂ - (L-піперазинил)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -NH-CH ₂ - (L-піперазинил)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -(Cbz)NHCH ₂ - [L-4-N-(Cbz)-піперазинил]		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	CH ₃ -	H	<i>n</i> -[(піперидин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(морфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(морфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OH
1-метилпіразол-4-іл	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	-CH ₃	H	<i>n</i> -[(4-метилпіперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -SO ₂ -C(CH ₃) ₂ - (L-1,1-діоксо-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
1-метилпіразол-4-іл	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -SO ₂ -C(CH ₃) ₂ - (L-1,1-діоксо-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
3-піридил	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH

<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (D-піролідині)		<i>n</i> -[(4-метилпіперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	-CH ₃	-CH ₃	<i>n</i> -[(4-метилпіперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -нітро-ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідині)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	-CH ₃	H	<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	-CH ₃	-CH ₃	<i>n</i> -[(4-метилпіперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідині)		<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-ілсульфон)-C(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідині)		<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідині)		<i>n</i> -[(піперидин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідині)		<i>n</i> -[(піролідин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідині)		<i>n</i> -[(морфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідині)		<i>n</i> -[(4-метилпіперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ C(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідині)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ C(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідині)		<i>n</i> -[(1-Вос-піперазин-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідині)		<i>n</i> -[(морфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	-CH ₃	H	<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-ілсульфон)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	-CH ₃	H	<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	-CH ₃	-CH ₃	<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S-CH ₂ - (L-тіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	-CH ₃	H	<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-ілсульфон)-C(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(морфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	-CH ₃	-CH ₃	<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S-CH ₂ - (L-тіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
піридин-3-іл	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідині)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -нітро-ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідині)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -N=C-ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідині)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃

<i>n</i> -F ₃ C-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
1-метилпіразол-4-іл	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-CH ₂ - (L-тіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	2,4-діоксо- тетрагідро-фуран-3- іл(3,4-енол)
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(піперазин-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(1-Вос-піперазин-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(піперазин-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-ацетилпіперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-метансульфонілпіперазин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		3-нітро-4-[(морфолін-4-іл)-C(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(1-Вос-піперазин-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	-CH ₃	-C(CH ₃) ₃	<i>n</i> -[(4-метилпіперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₃ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(1,1-діоксотіоморфолін-4-іл)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(1,1-діоксотіоморфолін-4-іл)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(1,1-діоксотіоморфолін-4-іл)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(морфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₃ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(морфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -F ₃ CO-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -SO ₂ -C(CH ₃) ₃ - (L-1,1-діоксо-5,5- диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃

<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -SO ₂ -C(CH ₃) ₂ - (L-1,1-діоксо-5,5- диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O]-бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(морфолін-4-іл)C(O)O]-бензил-	-OH
<i>n</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -SO ₂ -C(CH ₃) ₂ - (L-1,1-діоксо-5,5- диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O]-бензил-	-OH
піримідин-2-іл	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O]-бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(4-метилпіперазин-1-іл)C(O)O]-бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O]-бензил-	-OC(CH ₃) ₃
2,5-дихлортієн-3-іл	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O]-бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ C(O)NH-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O]-бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -C(CH ₃) ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O]-бензил-	-OC(CH ₃) ₃
піридин-2-іл	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O]-бензил-	-OH
<i>o</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3- іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O]-бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O]-бензил-	-OC(CH ₃) ₃
2,4-дифтор-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O]-бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ C(O)NH-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O]-бензил-	-OH
<i>n</i> -C(F) ₃ O-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O]-бензил-	-OH
<i>n</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O]-бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -N≡C-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O]-бензил-	-OH
морфолін-4-іл	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O]-бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -C(CH ₃) ₂ - (L-4,4-диметилпіролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O]-бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -C(CH ₃) ₂ - (L-4,4-диметилпіролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O]-бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
1-метилпіразол-4-іл	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O]-бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O]-бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-іл)C(O)O]-бензил-	-OC(CH ₃) ₃

1-метилімідазол-4-іл	R^2/R^3 =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OH
$n-CH_3$ -ф-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OC(CH ₃) ₃
1-метилпіразол-4-іл	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OC(CH ₃) ₃
$n-CH_3C(O)NH$ -ф-	R^2/R^3 =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OC(CH ₃) ₃
$n-(CH_3)_3C$ -ф-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OC(CH ₃) ₃
1-метилпіразол-4-іл	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OH
піридин-3-іл-	R^2/R^3 =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		$n-[(CH_3)_2HC(O)O-]$ бензил-	-OH
$n-N\equiv C$ -ф-	R^2/R^3 =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OH
$n-F$ -ф-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
$l-CH_3$ -ф-	R^2/R^3 =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		$n-[(1,4-діокса-8-азаспіро[4.5]декан-8-іл)-C(O)O-]$ бензил-	-OCH ₂ CH ₃
$n-CH_3$ -ф-	R^2/R^3 =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		$n-[(1,4-діокса-8-азаспіро[4.5]декан-8-іл)-C(O)O-]$ бензил-	-OH
$n-CH_3$ -ф-	R^2/R^3 =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		$n-[(4-ацетилпіперазин-1-іл)C(O)O-]$ бензил-	-OH
$n-CH_3$ -ф-	R^2/R^3 =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		$n-[(4-метансульфоніпіперазин-1-іл)-C(O)O-]$ бензил-	-OH
$n-CH_3$ -ф-	R^2/R^3 =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		$n-[(4-ф-піперазин-1-іл)C(O)O-]$ бензил-	-OH
$n-CH_3$ -ф-	R^2/R^3 =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		$n-[(піперазин-1-іл)C(O)O-]$ бензил-	-OC(CH ₃) ₃
$n-CH_3$ -ф-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ CH ₂ -NH-CH ₂ - (L-піперазиніл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OC(CH ₃) ₃
$n-F_3CO$ -ф-	R^2/R^3 =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OH
$n-CH_3$ -ф-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -C(CH ₃) ₂ - (4,4-диметилпіролідиніл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OC(CH ₃) ₃
$n-CH_3$ -ф-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -C(CH ₃) ₂ - (4,4-диметил піролідиніл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
$n-CH_3C(O)NH$ -ф-	R^2/R^3 =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		$n-[(CH_3)_2HC(O)O-]$ бензил-	-OH
$o-F$ -ф-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OC(CH ₃) ₃
морфолін-4-іл-	R^2/R^3 =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OC(CH ₃) ₃
$m-F$ -ф-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OC(CH ₃) ₃
2,4-дифтор-ф-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OC(CH ₃) ₃

морфолін-4-іл-	R^2/R^3 =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OH
1-метилпіразол-4-іл-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OC(CH ₃) ₃
o-F-ф-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OH
2,4-дифтор-ф-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OH
n-CH ₃ -ф-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S-CH ₂ - (L-тіоморфолін-3-іл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OH
піридин-3-іл-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
m-F-ф-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OH
піридин-2-іл-	R^2/R^3 =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
1-метилпіразол-4-іл-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OH
n-CH ₃ -ф-	R^2/R^3 =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		$n-[(4-метансульфонілпіперазин-1-іл)-C(O)O-]$ бензил-	-OC(CH ₃) ₃
n-CH ₃ -ф-	R^2/R^3 =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		$n-[(4-ф-піперазин-1-іл)C(O)O-]$ бензил-	-OC(CH ₃) ₃
n-CH ₃ -ф-	R^2/R^3 =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-O-CH ₂ C(CH ₃) ₂ - NHC(O)OC(CH ₃) ₃
n-CH ₃ -ф-	R^2/R^3 =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-O-CH ₂ CH ₂ - (морфолін-4-іл)
n-CH ₃ -ф-	R^2/R^3 =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		$n-[(4-ацетилпіперазин-1-іл)C(O)O-]$ бензил-	-OC(CH ₃) ₃
n-CH ₃ -ф-	R^2/R^3 =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		$n-[(CH_3)_2NCH_2CH_2N(CH_3)C(O)O-]$ бензил-	-OC(CH ₃) ₃
n-CH ₃ -ф-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		$n-[(CH_3)_2NCH_2CH_2N(CH_3)C(O)O-]$ бензил-	-OC(CH ₃) ₃
n-CH ₃ -ф-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		$n-[(CH_3)_2NCH_2CH_2N(CH_3)C(O)O-]$ бензил-	-OH
n-CH ₃ -ф-	R^2/R^3 =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		$n-[(CH_3)_2NCH_2CH_2N(CH_3)C(O)O-]$ бензил-	-OH
n-CH ₃ -ф-	R^2/R^3 =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		$n-[(4-гідроксипіридин-1-іл)C(O)O-]$ бензил-	-OC(CH ₃) ₃
n-(CH ₃) ₃ C-ф-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OH
n-CH ₃ -ф-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		$n-[(тіоморфолін-4-іл)C(O)O-]$ бензил-	-OC(CH ₃) ₃
2,5-дихлортієн-3-іл-	R^2/R^3 =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OH
n-CH ₃ O-ф-	R^2/R^3 =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
n-CH ₃ -ф-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -C(CH ₃) ₂ - (4,4-диметилпіролідиніл)		$n-[(CH_3)_2NC(O)O-]$ бензил-	-OH

<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		3-хлор-4-[(4-метилпіперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		3-хлор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		3-хлор-4-[(тіоморфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(морфолін-4-іл)-CH ₂ CH ₂ NHC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(1,4-діокса-8-азаспіро[4.5]декан-8-іл)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		3-хлор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-ОН
піридин-2-іл-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -(O)-CH ₂ - (L-1-оксотіоморфолін-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
4-Cl-3-(NH ₂ -SO ₂)- ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		3-хлор-4-[(тіоморфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		3-хлор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[HOCH ₂ CH ₂ N(CH ₃)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(2-(гідроксиметил)піролідин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(2-(гідроксиметил)піролідин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-ОН
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(2-(CH ₃ OC(O)B)-)піролідин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(HC(O)O)-)піперидин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-ОН
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(гідроксипіперидин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		3-хлор-4-[(тіоморфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-ОН
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(CH ₃ CH ₂ OC(O)-)піперидин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(HOCH ₂ CH ₂ -)піперазин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-ОН
<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)- C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃

<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніи)		<i>n</i> -[HC(O)OCH ₂ CH ₂ N(CH ₃)C(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніи)		<i>n</i> -[HOCH ₂ CH ₂ N(CH ₃)C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніи)		<i>n</i> -[CH ₃ OC(O)CH ₂ NHC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
хінолін-8-іл-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніи)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
3,4-дифтор-ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніи)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніи)		<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-іл)-C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -CH ₃ O-ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніи)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -(O)-CH ₂ - (L-1-оксотіоморфолін-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
3,4-дифтор-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -H ₂ N-ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніи)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
3,4-дифтор-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
3,4-дифтор-ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніи)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
хінолін-8-іл-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніи)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
1-метилпіразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -(O)-CH ₂ - (L-1-оксотіоморфолін-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
1-н-бутилпіразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
1-метилпіразол-3-іл	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
2-(CF ₃ C(O)-)- 1,2,3,4-тетрагідро- ізохінолін-7-іл	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніи)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніи)		<i>n</i> -[(4-(фNHC(OB)-)-піперазин-1-іл)- C(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніи)		<i>n</i> -[(4-метоксипіперидин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніи)		<i>n</i> -[(4-(піридин-4-ілC(O))піперазин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -C(O)-CH ₂ - (L-4-оксопіролідиніи)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH(OH)CH ₂ - (L-4-гідроксопіролідиніи)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>m</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніи)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃

<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-метоксипіперидин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(фNHC(O)-)піперазин-1-іл)- C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -(фNHC(O)NH)ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		3-хлор-4-[(4-метилпіперидин-1-іл)- C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		3-хлор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(CH ₃ SO ₂ -)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(морфолін-4-іл)CH ₂ CH ₂ NHC(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(HO(O)-)піперидин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(HOCH ₂ CH ₂) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -O ₂ N-ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(HOCH ₂ -)піперидин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		3-хлор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S-CH ₂ - (L-тіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
1-метилпіразол-3- іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
<i>m</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>o</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
3,4-дифтор-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
3,5-дифтор-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
2,4-дифтор-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -NH ₂ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -N≡C-ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH(OH)CH ₂ - (L-4-гідроксипіролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ C(O)CH ₂ - (L-4-оксипіролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
піридин-2-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂

<i>n</i> -Cl-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>m</i> -Cl-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>o</i> -Cl-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
3,4-дихлор-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
3,5-дихлор-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
1-метилпіразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
піридин-3-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
1-метилпіразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-іл)-C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
хінолін-8-іл	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>m</i> -Cl-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
піридин-2-іл	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
3,4-дихлор-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
2,5-дихлортієн-3-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -CH ₃ O-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>m</i> -CH ₃ O-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>o</i> -CH ₃ O-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
3,4-диметокси-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
2,4-дифтор-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S-CH ₂ - (L-тіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
3,4-дихлор-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
<i>m</i> -Cl-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
2,4-дифтор-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S(O)-CH ₂ - (L-1-оксотіоморфолін-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -C(O)-CH ₂ - (L-4-оксопіролідині)		<i>n</i> -[(4-метилпіперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH(OH)CH ₂ - (L-4-гідроксипіролідині)		<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-іл)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідині)		<i>n</i> -[(3-(HOCH ₂ -)піперидин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OH

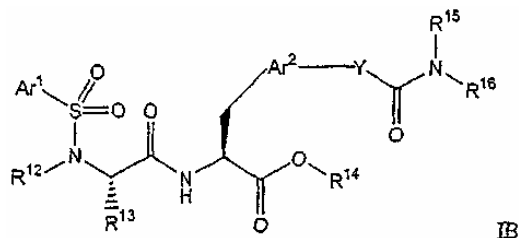
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CF ₂ -CH ₂ - (L-4,4-дифторпіролідині)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідині)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-O(CH ₂ CH ₂ O) ₂ CH ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH(-O-C(O)тіоморфолін- 4-ін)-CH ₂ - (L-4-(тіоморфолін-4-ін)C(O)O- піролідині)		<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-ін)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CF ₂ -CH ₂ - (L-4,4-дифтор-піролідині)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-ін)		<i>n</i> -[(4-(піримідин-2-ін)піперазин-1-ін)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідині)		<i>n</i> -[(4-(φC(O)-)піперазин-1-ін)-C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-ін)		3-фтор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-ін)		3-хлор-4-[(4-(піридин-2-ін)піперазин-1-ін)C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-ін)		3-хлор-4-[(4-(піридин-2-ін)піперазин-1-ін)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ N(-SO ₂ CH ₃)-CH ₂ - (L-4-метансульфоні- піперазині)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
1-метилімідазол-4- ін-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідині)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -Br-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-ін)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -Br-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-ін)		H(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -NH ₂ C(=N)-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідині)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₃
<i>n</i> -N=C-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідині)		<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-ін)-C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH(-O-C(O)тіоморфолін- 4-ін)-CH ₂ - (L-4-(тіоморфолін-4-ін)C(O)O- піролідині)		<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-ін)-C(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -C(O)-CH ₂ - (L-4-оксопіролідині)		<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-ін)-3(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -C(O)-CH ₂ - (L-4-оксопіролідині)		<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-ін)-C(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -C(O)-CH ₂ - (L-4-оксопіролідині)		<i>n</i> -[(4-метилпіперазин-1-ін)-C(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-ін)		<i>n</i> -[(4-(піримідин-2-ін)піперазин-1-ін)-C(O)O-]бензил-	-OH
хінолін-8-ін-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-ін)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
піридин-4-ін-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-ін)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂

<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилпіразолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>m</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S- (тіазолідин-2-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S- (тіазолідин-2-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -C(O)-CH ₂ - (L-4-оксопіролідиніл)		<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-ОН
<i>n</i> -NH ₂ -C(=N)-ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH ₃
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -C(O)-CH ₂ - (L-4-оксопіролідиніл)		<i>n</i> -[(4-метилпіперазин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-ОН
<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S- (тіазолідин-2-іл)		<i>n</i> -[(4-піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-ОН
<i>n</i> -NO ₂ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S- (тіазолідин-2-іл)		<i>n</i> -[(4-піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -Br-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилпіразолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(4-піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-ОН
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(ф3(ОБ)-)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-ОН
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(фNHC(S)-)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S- (тіазолідин-2-іл)		<i>n</i> -[(4-CH ₃ гомопіперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[<i>n</i> -CH ₃ -ф-SO ₂ N(CH ₃)CH ₂ CH ₂ N(CH ₃)C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[фNHC(O)O-CH ₂ CH ₂ NHC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
3-Cl-4-F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
1-метилпіразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -S-CH ₂ - (L-тіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH(-OSO ₂ CH ₃)-CH ₂ - (L-4-метансульфокси-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>n</i> -H ₂ NC(O)-ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
<i>n</i> -H ₂ N-C(=N)-ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
<i>n</i> -H ₂ NC(O)-ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-ОН
<i>n</i> -H ₂ N-C(=N)-ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-ОН

<i>m</i> -NO ₂ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)- C(O)O-]бензил-	-ОН
<i>m</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		3-хлор-4-[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
<i>m</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		3-хлор-4-[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-ОН
<i>m</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S- (тіазолідин-2-іл)		<i>n</i> -[(4-CH ₃ -гомопіперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-ОН
l-метилпіразол-4- іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		3-хлор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
l-метилімідазол-4- іл-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)- C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
l-метилімідазол-4- іл-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)- C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>m</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)- C(O)O-]бензил-	-ОН
<i>m</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)- C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>m</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)- C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>m</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)- C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>m</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)- C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>m</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ N(-SO ₂ -CH ₃)CH ₂ - 4-метансульфоніл-піперазин- 2-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
<i>m</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH(-OSO ₂ -CH ₃)CH ₂ - (L-4-метансульфокси- піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
3,4-дифтор-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S-CH ₂ - (L-тіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
піридин-3-іл	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
3,4-дифтор-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S-CH ₂ - (L-тіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
<i>m</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH(OH)CH ₂ - (L-4-гідроксипіро-лідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>m</i> -Br-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)- C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>m</i> -CF ₃ O-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
<i>m</i> -CF ₃ O-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₃ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>m</i> -CF ₃ O-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)- C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>m</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)- C(O)O-]бензил-	-ОН

<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH(OH)CH ₂ - (L-4-гідроксипіро-лідині)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)- C(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -CF ₃ O-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)- C(O)O-]бензил-	-OH
1-метилімідазол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідині)		3-хлор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
1-метилімідазол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідині)		3-хлор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
1-метилімідазол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідині)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)- C(O)O-]бензил-	-OH
1-метилімідазол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)- C(O)O-]бензил-	-OH
1-метилпіразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідині)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)- C(O)O-]бензил-	-OH
1-метилпіразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідині)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)- C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
1-метилпіразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідині)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)- C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
1-метилпіразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)- C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
1-метилімідазол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідині)		3-хлор-4-[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
1-метилпіразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₂ Oф
1-метилпіразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		3-хлор-4-[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OH
1-метилпіразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		3-хлор-4-[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
1,5-диметил-3-хлорпіразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[4-[5-CF ₃ -піридин-2-іл)піперазин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-OH
<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH(OH)CH ₂ - (L-4-гідроксипіро-лідині)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
піридин-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
1-метилпіразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ C(CH ₃) ₃
1-метилпіразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ O- C(O)C(C(CH ₃) ₃)
піридин-3-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ C(CH ₃) ₃
1-метилпіразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	2-CH ₃ O-ф-O-
1-метилпіразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ -циклопропіл
1-метилпіразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₂ CH ₃
1-метилпіразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃
1-метилпіразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-O-CH ₃
піридин-3-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
піридин-3-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
піридин-3-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ -циклопропіл

У переважному здійсненні сполук формули I і IA дані сполуки визначаються наведеною нижче формулою IB:



якій:

Ar¹ вибраний з групи, що складається з арилу, заміщеного арилу, гетероарилу і заміщеного гетероарилу;

Ar² вибраний з групи, що складається з арилу, заміщеного арилу, гетероарилу і заміщеного гетероарилу;

R¹² вибраний з групи, що складається з алкілу, заміщеного алкілу, циклоалкілу і заміщеного циклоалкілу;

або R¹² і R¹³ разом з атомом азоту, зв'язаним з R¹², і атомом вуглецю, зв'язаним з R¹³, утворюють гетероциклічну або заміщену гетероциклічну групу;

R¹³ вибраний з групи, що складається з водню, алкілу і заміщеного алкілу, або R¹² і R¹³ разом з атомом азоту, зв'язаним з R¹², і атомом вуглецю, зв'язаним з R¹³, утворюють гетероциклічну або заміщену гетероциклічну групу;

R¹⁴ вибраний з групи, що складається з водню, алкілу, заміщеного алкілу, циклоалкілу, заміщеного циклоалкілу, арилу і заміщеного арилу;

R¹⁵ вибраний з групи, що складається з алкілу, і заміщеного алкілу, або R¹⁵ і R¹⁶ разом з атомом азоту, з яким вони зв'язані, утворюють гетероциклічну або заміщену гетероциклічну групу;

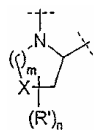
R¹⁶ вибраний з групи, що складається з алкілу і заміщеного алкілу, або R¹⁵ і R¹⁶ разом з атомом азоту, з яким вони зв'язані, утворюють гетероциклічну або заміщену гетероциклічну групу; і

Y вибраний з групи, що складається з -O-, -NR¹⁰⁰-, і -CH₂-, в якому R¹⁰⁰ являє собою водень або алкіл; і їх фармацевтично прийнятними солями.

Переважно у сполуках наведеної вище формули IB R¹² являє собою алкіл, заміщений алкіл, або R¹² і R¹³ разом з атомом азоту, зв'язаним з R¹², і атомом вуглецю, зв'язаним з R¹³, утворюють гетероциклічну або заміщену гетероциклічну групу. Переважно у сполуках наведеної вище формули IB R¹⁴ являє собою водень або алкіл.

Переважно у сполуках наведеної вище формули IB Ar¹ вибраний з групи, що складається з фенілу, 4-метилфенілу, 4-трет-бутилфенілу, 2,4,6-триметилфенілу, 2-фторфенілу, 3-фторфенілу, 4-фторфенілу, 2,4-дифторфенілу, 3,4-дифторфенілу, 3,5-дифторфенілу, 2-хлорфенілу, 3-хлорфенілу, 4-хлорфенілу, 3,4-дихлорфенілу, 3,5-дихлорфенілу, 3-хлор-4-фторфенілу, 4-бромфенілу, 2-метоксифенілу, 3-метоксифенілу, 4-метоксифенілу, 3,4-диметоксифенілу, 4-трет-бутоксифенілу, 4-(3'-диметиламіно-н-пропокси)фенілу, 2-карбоксифенілу, 2-(метоксикарбоніл)фенілу, 4-(H₂NC(O)-)фенілу, 4-(H₂NC(S)-)фенілу, 4-ціанофенілу, 4-трифторметилфенілу, 4-трифторметоксифенілу, 3,5-ди(трифторметил)фенілу, 4-нітрофенілу, 4-амінофенілу, 4-(CH₃C(O)NH-)фенілу, 4-(PhNHC(O)NH-)фенілу, 4-амідинофенілу, 4-метиламідинофенілу, 4-[CH₃SC(=NH)-]фенілу, 4-хлор-3-[H₂NS(O)₂-] фенілу, 1-нафтилу, 2-нафтилу, піридину-2-ілу, піридину-3-ілу, піридину-4-ілу, піримідин-2-ілу, хіноліну-8-ілу, 2-(трифторацетил)-1,2,3,4-тетрагідроізохінолін-7-ілу, 2-тієнілу, 5-хлор-2-тієнілу, 2,5-дихлор-4-тієнілу, 1-N-метилімідазол-4-ілу, 1-N-метилпіразол-3-ілу, 1-N-метилпіразол-4-ілу, 1-N-бутилпіразол-4-ілу, 1-N-метил-3-метил-5-хлорпіразол-4-ілу, 1-N-метил-5-метил-3-хлорпіразол-4-ілу, 2-тіазолілу і 5-метил-1,3,4-тіадіазол-2-ілу.

Переважно у сполуках наведеної вище формули IB R¹² і R¹³, разом з атомом азоту, зв'язаним з R¹², і атомом вуглецю, зв'язаним з R¹³, утворюють гетероциклічну або заміщену гетероциклічну групу формули:



де X вибраний з групи, що складається з -S-, -SO-, -SO₂ і необов'язково заміщеного -CH₂-;

m являє собою ціле число від 0 до 12;

n являє собою ціле число від 0 до 2; і

R¹ вибраний з групи, що складається з алкілу, заміщеного алкілу і аміногрупи.

Переважно, m являє собою 1, X являє собою -S- або -CH₂-, R' являє собою алкіл або заміщений алкіл.

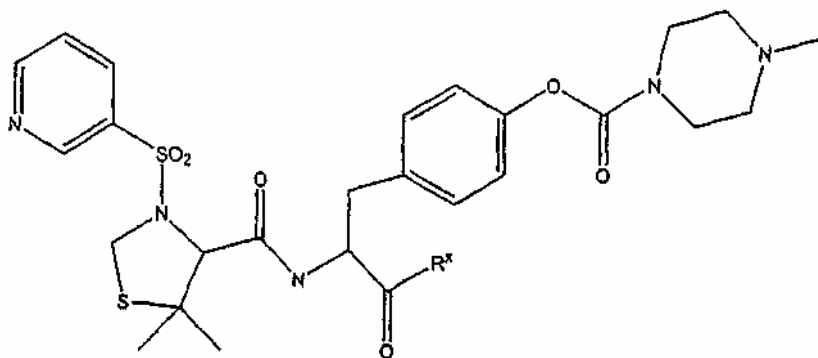
Навіть більш переважно R¹² і R¹³, разом з атомом азоту, зв'язаним з R¹², і атомом вуглецю, зв'язаним з R¹³, утворюють гетероциклічну або заміщену гетероциклічну групу вибрану з групи, що складається з азетидинілу, тіазолідинілу, піперидинілу, піперазинілу, тіоморфолінілу, піролідинілу, 4-гідроксипіролідинілу, 4-оксипіролідинілу, 4-фторпіролідинілу, 4,4-дифторпіролідинілу, 4-(тіоморфолін-4-іл-C(O)O-)піролідинілу, 4-[CH₃S(O)₂O-]піролідинілу, 3-фенілпіролідинілу, 3-тіофенілпіролідинілу, 4-амінопіролідинілу, 3-метоксипіролідинілу, 4,4-диметилпіролідинілу, 4-N-Cbz-піперазинілу, 4-[CH₃S(O)₂-]піперазинілу, тіазолідин-3-ілу, 5,5-диметилтіазолідин-3-ілу, 5,5-диметилтіазолідин-4-ілу, 1,1-діоксотіоморфолінілу, 1,1-діоксо-5,5-диметилтіазолідин-2-ілу і 1,1-діоксотіоморфолінілу.

Переважно у сполуках формули IB Ar² вибраний з групи, що складається з фенілу, 2-піридилу, 3-піридилу, 4-піридилу, і 4-пірид-2-онілу.

Переважно у формулі IB Y являє собою -O-, і коли Y являє собою -O-, радикал OC(O)NR¹⁵R¹⁶ переважно вибраний з групи, що складається з (CH₃)₂NC(O)O-, (піперидин-1-іл)C(O)O-, (4-

гідроксипіперидин-1-іл)C(O)O-, (4-формілоксипіперидин-1-іл)C(O)O-, (4-етоксикарбонілпіперидин-1-іл)C(O)O-, (4-карбоксилпіперидин-1-іл)C(O)O-, (3-гідроксиметилпіперидин-1-іл)C(O)O-, (4-гідроксиметилпіперидин-1-іл)C(O)O-, (4-піперидон-1-ілетилкеталь)C(O)O-, (піперазин-1-іл)-C(O)O-, (1-Вос-піперазин-4-іл)-C(O)O-, (4-метилпіперазин-1-іл)-C(O)O-, (4-метилгомоліперазин-1-іл)C(O)O-, (4-(2-гідроксietил)піперазин-1-іл)C(O)O-, (4-фенілпіперазин-1-іл)-C(O)O-, (4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-, (4-(4-трифторметилпіридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-, (4-(піримідин-2-іл)піперазин-1-іл)-C(O)O-, (4-ацетилпіперазин-1-іл)-C(O)O-, (4-(феніл-С(О)піперазин-1-іл)C(O)O-, (4-(піридин-4'-іл-С(О)-)піперазин-1-іл)-C(O)O-, (4-(феніл-NHC(O)-)піперазин-1-іл)C(O)O-, (4-(феніл-NHC(S)-)піперазин-1-іл)-C(O)O-, (4-метансульфонілпіперазин-1-іл-С(О)O-, (4-трифторметансульфонілпіперазин-1-іл-С(О)O-, (морфолін-4-іл)C(O)O-, (тіоморфолін-4-іл)C(O)O-, (тіоморфолін-4'-ілсульфон)-C(O)O-, (піролідін-1-іл)C(O)O-, (2-метилпіролідін-1-іл)C(O)O-, (2-(метоксикарбоніл)піролідін-1-іл)C(O)O-, (2-(гідроксиметил)піролідін-1-іл)C(O)O-, (2-(N,N-диметиламіно)етил)(CH₃)NC(O)O-, (2-(N-метил-N-толуол-4-сульфоніламіно)етил)(CH₃)NC(O)O-, (2-(морфолін-4-іл)етил)(CH₃)NC(O)O-, (2-(гідрокси)етил)(CH₃)NC(O)O-, біс-(2-(гідрокси)етил)NC(O)O-, (2-(формілокси)етил)(CH₃)NC(O)O-, (CH₃OC(O)CH₂)HNC(O)O-, і 2-[(феніл-NHC(O)O-етил-]HNC(O)O-.

У переважному здійсненні сполуки визначені наведеною нижче формулою IC

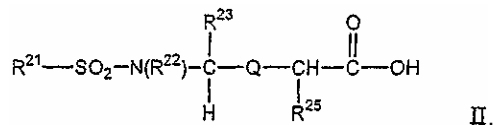


IC,

де R^x являє собою гідрокси або C₁₋₅-алкокси, і їх фармацевтично прийнятними солями.

Переважно, сполука являє собою ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапролін]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тироzinу.

В іншому аспекті сполуки, що можуть використовуватись як ремієлінізуючі засоби, являють собою сполуки, визначені наведеною нижче формулою II. Дані сполуки характеризуються спорідненістю зв'язування з VLA-4, що виражається у вигляді IC₅₀, що приблизно дорівнює 15мкМ або менше (вимірюється як описано нижче у прикладі А) і діють як ремієлінізуючі засоби:



II,

де: R²¹ вибраний з групи, що складається з алкілу, заміщеного алкілу, арилу, заміщеного арилу, циклоалкілу, заміщеного циклоалкілу, гетероциклу, заміщеного гетероциклу, гетероарилу і заміщеного гетероарилу;

R²² вибраний з групи, що складається з водню, алкілу, заміщеного алкілу, циклоалкілу, заміщеного циклоалкілу, циклоалкенілу, заміщеного циклоалкенілу, гетероциклу, заміщеного гетероциклу, арилу, заміщеного арилу, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, і R²¹ і R²², разом з атомом азоту, зв'язаним з R²², і SO₂-групою, зв'язаною з R²¹, можуть утворювати гетероциклічну або заміщену гетероциклічну групу;

R²³ вибраний з групи, що складається з водню, алкілу, заміщеного алкілу, циклоалкілу, заміщеного циклоалкілу, арилу, заміщеного арилу, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, гетероциклу, заміщеного гетероциклу, і де R²² і R²³, разом з атомом азоту, зв'язаним з R²², і атомом вуглецю, зв'язаним з R²³, можуть утворювати насичену гетероциклічну групу або насичену заміщену гетероциклічну групу за тієї умови, що коли зазначена насичена гетероциклічна група є монозаміщеною, її замісник не являє собою карбоксил;

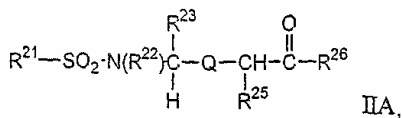
Q являє собою -C(X)NR⁷-, де R⁷ вибраний з групи, що складається з водню і алкілу;

X вибраний з групи, що складається з кисню і сірки; і

R²⁵ являє собою -CH₂Ar²²-R²⁵, де Ar²² являє собою арил або гетероарил, і R²⁵ вибраний з групи, що складається з арилу, гетероарилу, заміщеного арилу, заміщеного гетероарилу, гетероциклу, заміщеного гетероциклу, арилокси, заміщеного арилокси, аралкокси, заміщеного аралкокси, гетероарилокси, заміщеного гетероарилокси, гетероцикл-О-, заміщеного гетероцикл-О-, гетероаралкокси і заміщеного гетероаралкокси;

і їх фармацевтично прийнятні солі.

В іншому здійсненні сполуки за винаходом також можуть надаватись у вигляді пролікарських засобів, що перетворюються (наприклад, гідролізуються, метаболізуються, і т.д.) in vivo у сполуку наведеної вище формули II. У переважному прикладі такого здійснення група карбонової кислоти сполуки формули II модифікується в групу, що in vivo перетворюється в групу карбонової кислоти (включаючи її солі). У конкретному переважному здійсненні такі пролікарські засоби представлені формулою IIA:



в якій:

R^{21} вибраний з групи, що складається з алкілу, заміщеного алкілу, арилу, заміщеного арилу, циклоалкілу, заміщеного циклоалкілу, гетероциклу, заміщеного гетероциклу, гетероарилу і заміщеного гетероарилу;

R^{22} вибраний з групи, що складається з водню, алкілу, заміщеного алкілу, циклоалкілу, заміщеного циклоалкілу, заміщеного циклоалкенілу, гетероциклу, заміщеного гетероциклу, арилу, заміщеного арилу, гетероарилу і заміщеного гетероарилу, і R^{21} і R^{22} разом з атомом азоту, зв'язаним з R^{22} , і з групою SO_2 , зв'язаною з R^{21} , можуть утворювати гетероциклічну або заміщену гетероциклічну групу;

R^{23} вибраний з групи, що складається з водню, алкілу, заміщеного алкілу, циклоалкілу, заміщеного циклоалкілу, арилу, заміщеного арилу, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, гетероциклу і заміщеного гетероциклу, і R^{22} і R^{23} разом з атомом азоту, зв'язаним з R^{22} , і атомом вуглецю, зв'язаним з R^{23} , можуть утворювати гетероциклічну або заміщену гетероциклічну групу за тієї умови, що коли зазначена насичена гетероциклічна група є монозаміщеною, її замісник не являє собою карбоксил;

R^{25} являє собою $-\text{CH}_2\text{Ar}^{22}-\text{R}^{25}$, де Ar^{22} являє собою арил або гетероарил, і R^{25} вибраний з групи, що складається з арилу, гетероарилу, заміщеного арилу, заміщеного гетероарилу, гетероциклу, заміщеного гетероциклу, арилокси, заміщеного арилокси, аралкокси, заміщеного аралкокси, гетероарилокси, заміщеного гетероарилокси, гетероцикл-О-, заміщеного гетероцикл-О-, гетероаралкокси, і заміщеного гетероаралкокси;

R^{26} вибраний з групи, що складається з 2,4-діоксотетрагідрофуран-3-іл-(3,4-енолу), аміно, алкокси, заміщеного алкокси, циклоалкокси, заміщеного циклоалкокси, -О-(N-сукцинімідилу), -NH-адамантил, -О-холест-5-ен-3-β-ілу, -NHOY, де Y являє собою водень, алкіл, заміщений алкіл, арил, і заміщений арил, -NH(CH₂)_pCOOY, де p являє собою ціле число від 1 до 8, і Y відповідає визначеному вище, -OCH₂NR²⁹R³⁰, де R^{29} вибраний з групи, що складається з -C(O)-арилу і -C(O)-заміщеного арилу, і R^{30} вибраний з групи, що складається з водню і -CH₂COOR³¹, де R^{31} являє собою алкіл, і -NHSO₂Z', де Z' являє собою алкіл, заміщений алкіл, циклоалкіл, заміщений циклоалкіл, арил, заміщений арил, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероцикл або заміщений гетероцикл;

Q являє собою -C(X)NR-, де R' вибраний з групи, що складається з водню і алкілу;

X вибраний з групи, що складається з кисню і сірки;

і їх фармацевтично прийнятними солями.

Додатковий опис сполук зазначених вище формул II і IIA, і опис процедур і умов взаємодії для одержання даних сполук знаходиться в заявці на видачу патенту США 09/127346 (подана 31 липня 1998р.), 09/688820 (Продовжена, подана 17 жовтня 200, і видана у вигляді патенту США №6583139) і 10/382988 (Продовжена, подана 7 березня 2003р.), причому всі вони включені сюди цілком як посилання.

Переважно, у сполуках наведеної вище формули II і IIA R^{21} вибраний з групи, що складається з алкілу, заміщеного алкілу, арилу, заміщеного арилу, гетероциклу, заміщеного гетероциклу, гетероарилу і заміщеного гетероарилу. Більш переважно, R^{21} вибраний з групи, що складається з арилу, заміщеного арилу, гетероарилу і заміщеного гетероарилу.

Навіть більш переважно, у сполуках наведеної вище формули II і IIA R^{21} вибраний з групи, що складається з 4-метилфенілу, 4-хлорфенілу, 1-нафтилу, 2-нафтилу, 4-метоксифенілу, фенілу, 2,4,6-триметилфенілу, 2-(метоксикарбоніл)фенілу, 2-карбоксифенілу, 3,5-дихлорфенілу, 4-трифторметилфенілу, 3,4-дихлорфенілу, 3,4-диметоксифенілу, 4-(CH₃C(O)NH-)феніл, 4-трифторметоксифенілу, 4-ціанофенілу, 3,5-ди(трифторметил)фенілу, 4-трет-бутилфенілу, 4-трет-бутоксифенілу, 4-нітрофенілу, 2-тієнілу, 1-N-метил-3-метил-5-хлорпіразол-4-ілу, 1-N-метилімідазол-4-ілу, 4-бромфенілу, 4-амідинофенілу, 4-метиламідинофенілу, 4-[CH₃SC(=NH)]фенілу, 5-хлор-2-тієнілу, 2,5-дихлор-4-тієнілу, 1-N-метил-4-піразолілу, 2-тіазолілу, 5-метил-1,3,4-тіадіазол-2-ілу, 4-[H₂NC(S)]фенілу, 4-амінофенілу, 4-фторфенілу, 2-фторфенілу, 3-фторфенілу, 3,5-дифторфенілу, піридину-3-ілу, піримідин-2-ілу, 4-(3'-диметиламіно-н-пропокси)фенілу і 1-метилпіразол-4-ілу.

Переважно, R^{22} у сполуках наведеної вище формули II і IIA являє собою водень, метил, феніл, бензил, -(CH₂)₂-2-тієніл і -(CH₂)₂-ф.

В іншому переважному здійсненні R^{22} і R^{23} у сполуках наведеної вище формули II і IIA, і R^{32} і R^{33} , у сполуках формули IIB, разом з атомом азоту, зв'язаним з R^{22} або R^{32} , і атомом вуглецю, зв'язаним з R^{23} або R^{33} , утворюють насичену гетероциклічну групу або насичену заміщену гетероциклічну групу за тієї умови, що коли зазначена насичена гетероциклічна група є монозаміщеною, її замісник не являє собою карбоксил.

Q у сполуках наведеної вище формули II і IIA переважно являє собою -C(O)NH- або -C(S)NH-.

У сполуках наведеної вище формули II і IIA R^{25} переважно вибраний з групи, що складається з усіх можливих ізомерів, що виникають шляхом заміщення наступними групами: 4-(2-карбоксифенокс)бензил, 4-(бензилокси)бензил, 4-[(1-метилпіридин-4-іл)-О]бензил, 4-(імідазолід-2-он-1-іл)бензил і 4-(3-формілімідазолід-2-он-1-іл)бензил.

У сполуках формули IIA R^{26} переважно являє собою 2,4-діоксотетрагідрофуран-3-іл-(3,4-енон), метокси, етокси, ізопропокси, н-бутокси, трет-бутокси, циклопентокси, нео-пентокси, 2-α-ізопропіл-4-β-метилциклогексокси, 2-β-ізопропіл-4-β-метилциклогексокси, -NH², бензилокси, -NHCH₂COOH, -NHCH₂CH₂COOH, -NH-адамантил, -NHCH₂CH₂COOCH₂CH₃, -NHSO₂-p-CH₃-ф, -NHO⁸, де R^8 являє собою водень, метил, ізопропіл або бензил, О-(N-сукцинімідил), -О-холест-5-ен-3-β-іл, -OCH₂-OC(O)C(CH₃)₃, O(CH₂)₂NHC(O)W, де z являє собою 1 або 2, і W вибраний з групи, що складається з пірид-3-илу, N-метилпіридилу і N-метил-1,4-дигідропірид-3-илу, -NR²C(O)-R', де R' являє собою арил, гетероарил або гетероцикл, і R" являє собою водень або -CH₂C(O)OCH₂CH₃.

Переважні сполуки в межах обсягу наведених вище формул II і IIA включають, наприклад, наступні:

N-(Толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-4-(а-метилбензилокси)-L-фенілаланін

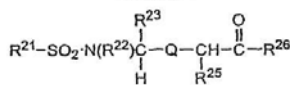
N-(Толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-4-(2-карбоксифенокси)-L-фенілаланін

N-(Толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-O-(бензил)-L-тирозин

і їх фармацевтично прийнятні солі.

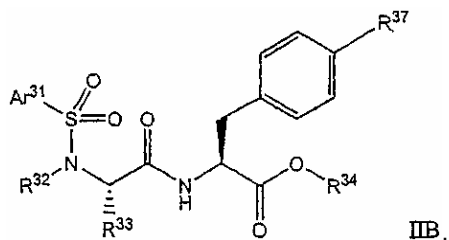
Переважні сполуки наведеної вище формули II і IIA включають в себе сполуки, що зазначені нижче в таблиці 4.

Таблиця 4



R ²¹	R ²²	R ²³	R ²⁵	R ²⁶	Q=C(O)NR ⁷ , де R ⁷ являє собою
p-CH ₃ -ф	R ²² /R ²³ =цикл, 3 вуглецевих атоми (L-піролідиніл)		p-[O-(о-карбоксифеніл)]бензил-	-ОН	Н
p-CH ₃ -ф	R ²² /R ²³ =цикл, 3 вуглецевих атоми (L-піролідиніл)		p-бензилоксибензил-	-ОН	Н
p-CH ₃ -ф	R ²² /R ²³ =цикл, 3 вуглецевих атоми (L-піролідиніл)		p-[(1-метилпіперидиніл-4-іл)-О]-	-OCH ₂ CH ₃	Н
p-CH ₃ -ф	R ²² /R ²³ =цикл, 3 вуглецевих атоми (L-піролідиніл)		p-(імідазолід-2-он-1-іл)бензил-	-OC(CH ₃) ₃	Н
p-CH ₃ -ф	R ²² /R ²³ =цикл, 3 вуглецевих атоми (L-піролідиніл)		p-(3-формілімідазолід-2-он-1-іл)бензил-	-ОН	Н
p-CH ₃ -ф	R ²² /R ²³ =цикл, 3 вуглецевих атоми (L-піролідиніл)		p-(імідазолід-2-он-1-іл)бензил-	-ОН	Н
p-CH ₃ -ф	R ²² /R ²³ =цикл, 3 вуглецевих атоми (L-піролідиніл)		p-[1-н-2-оксо-3-метилтетрагідропіримідин-1-іл]бензил-	-Ot-Bu	Н
p-CH ₃ -ф	R ²² /R ²³ =цикл, 3 вуглецевих атоми (L-піролідиніл)		p-[1-н-2-оксо-3-метилтетрагідропіримідин-1-іл]бензил-	-ОН	Н
p-CH ₃ -ф	R ²² /R ²³ =цикл, 3 вуглецевих атоми (L-піролідиніл)		4-[2-метоксифеніл]бензил-	-Ot-Bu	Н
p-CH ₃ -ф	R ²² /R ²³ =цикл, 3 вуглецевих атоми (L-піролідиніл)		4-[2-метоксифеніл]бензил-	-ОН	Н
p-CH ₃ -ф	R ²² /R ²³ =цикл, 3 вуглецевих атоми (L-піролідиніл)		p-[2,4,5-триоксо-3-(3-хлорфеніл)тетрагідроімідазол-1-іл]бензил-	-OBz	Н

У переважному здійсненні сполук формули II і IIA сполуки визначені приведеною нижче формулою IIB:



в якій:

Ar³¹ вибраний з групи, що складається з арилу, заміщеного арилу, гетероарилу і заміщеного гетероарилу;

R³² вибраний з групи, що складається з алкілу, заміщеного алкілу, циклоалкілу і заміщеного циклоалкілу, або R³² і R³³ разом з атомом азоту, зв'язаним з R³², і атомом вуглецю, зв'язаним з R³³, утворюють гетероциклічну або заміщену гетероциклічну групу;

R³³ вибраний з групи, що складається з водню, алкілу і заміщеного алкілу, або R³² і R³³ разом з атомом азоту, зв'язаним з R³², і атомом вуглецю, зв'язаним з R³³, утворюють гетероциклічну або заміщену гетероциклічну групу;

R³⁴ вибраний з групи, що складається з водню, алкілу, заміщеного алкілу, циклоалкілу, заміщеного циклоалкілу, арилу і заміщеного арилу; і

R³⁷ являє собою арил, гетероарил, заміщений арил, заміщений гетероарил, гетероцикл, заміщений гетероцикл, арилокси, заміщений арилокси, аралкокси, заміщений аралкокси, гетероарилокси, заміщений гетероарилокси;

і їх фармацевтично прийнятними солями.

Переважно у сполуках наведеної вище формули IIB R³² являє собою алкіл, заміщений алкіл, або R³² і R³³ разом з атомом азоту, зв'язаним з R³², і атомом вуглецю, зв'язаним з R³³, утворюють гетероциклічну або заміщену гетероциклічну групу, і R³⁴ являє собою водень або алкіл.

Переважно у сполуках наведеної вище формули IIB R³⁷ являє собою арил, заміщений арил, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероцикл або заміщений гетероцикл. У переважному здійсненні R³⁷ являє собою заміщений арил, де даний арил заміщений замісниками в кількості від одного до трьох, які незалежно вибрані з групи, що складається з алкілу і алкокси. У переважному здійсненні R³⁷ являє собою

заміщений гетероарил, де даний гетероарил заміщений замісниками в кількості від одного до трьох, які незалежно вибрані з групи, що складається з алкілу, алкокси і оксогрупи. В іншому переважному здійсненні R^{37} являє собою заміщений арил або гетероарил, де арил або гетероарил є 2,6-дизаміщеним. Ще в одному переважному здійсненні R^{37} являє собою 2,6-дизаміщений арил, в якому замісники незалежно вибрані з групи, що складається з алкілу і алкокси. Ще в одному переважному здійсненні R^{37} являє собою 2,6-дизаміщений гетероарил, в якому замісники незалежно вибрані з групи, що складається з алкілу, оксо- і алкоксигруп. В іншому переважному здійсненні R^{37} вибраний з групи, що складається з 2,6-діалкоксіарилу, 2,6-діалкоксигетероарилу, 2-алкіл-6-алкоксіарилу, 2-алкіл-6-алкоксигетероарилу, 2-оксо-6-алкоксигетероарилу, 2-оксо-6-алкілгетероарилу і необов'язково заміщеного імідазолідин-2,4-діон-3-ілу.

Переважно у сполуках наведеної вище формули IIB Ar^{31} вибраний з групи, що складається з 4-метилфенілу, 4-хлорфенілу, 1-нафтилу, 2-нафтилу, 4-метоксифенілу, фенілу, 2,4,6-триметилфенілу, 2-(метоксикарбоніл)фенілу, 2-карбоксифенілу, 3,5-дихлорфенілу, 4-трифторметилфенілу, 3,4-дихлорфенілу, 3,4-диметоксифенілу, 4-($CH_3C(O)NH$ -)фенілу, 4-трифторметоксифенілу, 4-ціанофенілу, 3,5-ди(трифторметил)фенілу, 4-трет-бутилфенілу, 4-трет-бутоксифенілу, 4-нітрофенілу, 2-тієнілу, 1-N-метил-3-метил-5-хлорпіразол-4-ілу, 1-N-метилімідазол-4-ілу, 4-бромфенілу, 4-амідинофенілу, 4-метиламідинофенілу, 4-[$CH_3SC(=NH)$]фенілу, 5-хлор-2-тієнілу, 2,5-дихлор-4-тієнілу, 1-N-метил-4-піразолілу, 2-тіазолілу, 5-метил-1,3,4-тіадіазол-2-ілу, 4-[$H_2NC(S)$]фенілу, 4-амінофенілу, 4-фторфенілу, 2-фторфенілу, 3-фторфенілу, 3,5-дифторфенілу, піридину-3-ілу, піримідин-2-ілу, 4-(3'-диметиламіно-н-пропокси)фенілу і 1-метилпіразол-4-ілу.

При описі сполук, композицій і способів за винаходом наступні терміни мають наступне значення, крім зазначених інакше випадків.

Визначення

Використовуваний тут термін «ацил» відноситься до груп $H-C(O)-$, алкіл- $C(O)-$, заміщеної алкіл- $C(O)-$, алкеніл- $C(O)-$, заміщеної алкеніл- $C(O)-$, алкініл- $C(O)-$, заміщеної алкініл- $C(O)-$, циклоалкіл- $C(O)-$, заміщеної циклоалкіл- $C(O)-$, арил- $C(O)-$, заміщеної арил- $C(O)-$, гетероарил- $C(O)-$, заміщеної гетероарил- $C(O)$, гетероцикл- $C(O)-$ і заміщеної гетероцикл- $C(O)-$, де алкіл, заміщений алкіл, алкеніл, заміщений алкеніл, алкініл, заміщений алкініл, циклоалкіл, заміщений циклоалкіл, арил, заміщений арил, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероцикл і заміщений гетероцикл відповідають даному тут визначенню.

«Ациламіно» відноситься до групи $-C(O)NRR$, де кожен R незалежно вибраний з групи, що складається з водню, алкілу, заміщеного алкілу, алкенілу, заміщеного алкенілу, алкінілу, заміщеного алкінілу, арилу, заміщеного арилу, циклоалкілу, заміщеного циклоалкілу, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, гетероциклу, заміщеного гетероциклу, і де кожен R об'єднаний з утворенням разом з атомом азоту гетероциклічного або заміщеного гетероциклічного кільця, де алкіл, заміщений алкіл, алкеніл, заміщений алкеніл, алкініл, заміщений алкініл, циклоалкіл, заміщений циклоалкіл, арил, заміщений арил, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероцикл і заміщений гетероцикл відповідають даному тут визначенню.

«Ацилокси» відноситься до груп алкіл- $C(O)O-$, заміщеної алкіл- $C(O)O-$, алкеніл- $C(O)O-$, заміщеної алкеніл- $C(O)O-$, алкініл- $C(O)O-$, заміщеної алкініл- $C(O)O-$, арил- $C(O)O-$, заміщеної арил- $C(O)O-$, циклоалкіл- $C(O)O-$, заміщеної циклоалкіл- $C(O)O-$, гетероарил- $C(O)O-$, заміщеної гетероарил- $C(O)O-$, гетероцикл- $C(O)O-$ і заміщеної гетероцикл- $C(O)O-$, де алкіл, заміщений алкіл, алкеніл, заміщений алкеніл, алкініл, заміщений алкініл, циклоалкіл, заміщений циклоалкіл, арил, заміщений арил, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероцикл і заміщений гетероцикл відповідають даному тут визначенню.

«Алкенокси» відноситься до групи «алкеніл- $O-$ ».

«Заміщений алкенокси» відноситься до групи «заміщений алкеніл- $O-$ ».

«Алкеніл» відноситься до алкенільної групи, переважно, що має від 2 до 10 вуглецевих атомів і, більш переважно, від 2 до 6 вуглецевих атомів, і що має, щонайменше, 1 і, переважно, від 1-2 ділянок алкенільної ненасиченості.

«Заміщений алкеніл» відноситься до алкенільної групи, що має від 1 до 5 замісників, незалежно вибраних з групи, що складається з алкокси, заміщеного алкокси, ацилу, ациламіно, тіокарбоніламіно, ацилокси, аміно, амідино, алкіламідино, тіоамідино, аміноацилу, амінокарбоніламіно, амінотіокарбоніламіно, амінокарбонілокси, арилу, заміщеного арилу, арилокси, заміщеного арилокси, арилоксіарилу, заміщеного арилоксіарилу, галогену, гідроксилу, ціано, нітро, карбоксилу, карбоксилалкілу, карбоксил-заміщеного алкілу, карбоксил-циклоалкілу, карбоксил-заміщеного циклоалкілу, карбоксиларилу, карбоксил-заміщеного арилу, карбоксилгетероарилу, карбоксил-заміщеного гетероарилу, карбоксилгетероциклу, карбоксил-заміщеного гетероциклу, циклоалкілу, заміщеного циклоалкілу, гуанідино, гуанідиносультону, тіолу, тіоалкілу, заміщеного тіоалкілу, тіоарилу, заміщеного тіоарилу, тіоциклоалкілу, заміщеного тіоциклоалкілу, тіогетероарилу, заміщеного тіогетероарилу, тіогетероциклу, заміщеного тіогетероциклу, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, гетероциклу, заміщеного гетероциклу, циклоалкокси, заміщеного циклоалкокси, гетероарилокси, заміщеного гетероарилокси, гетероциклілокси, заміщеного гетероциклілокси, оксикарбоніламіно, окситіокарбоніламіно, циклоалкілокси, заміщеного циклоалкілокси, гетероарилокси, заміщеного гетероарилокси, $-OS(O)_2$ -алкілу, $-OS(O)_2$ -заміщеного алкілу, $-OS(O)_2$ -арилу, $-OS(O)_2$ -заміщеного арилу, $-OS(O)_2$ -гетероарилу, $-OS(O)_2$ -заміщеного гетероарилу, $-OS(O)_2$ -гетероциклу, $-OS(O)_2$ -заміщеного гетероциклу, $-OSO_2-NRR$, де R являє собою водень або алкіл, $-NRS(O)_2$ -алкілу, $-NRS(O)_2$ -заміщеного алкілу, $-NRS(O)_2$ -арилу, $-NRS(O)_2$ -заміщеного арилу, $-NRS(O)_2$ -гетероарилу, $-NRS(O)_2$ -гетероциклу, $-NRS(O)_2$ -заміщеного гетероциклу, $-NRS(O)_2$ -NR-алкілу, $-NRS(O)_2$ -NR-заміщеного алкілу, $-NRS(O)_2$ -NR-арилу, $-NRS(O)_2$ -NR-заміщеного арилу, $-NRS(O)_2$ -NR-гетероарилу, $-NRS(O)_2$ -NR-заміщеного гетероарилу, $-NRS(O)_2$ -NR-гетероциклу, $-NRS(O)_2$ -NR-заміщеного гетероциклу, де R являє собою водень або алкіл, моно- і діалкіламіно, моно- і ді(заміщений алкіл)аміно, моно- і діариламіно, моно- і ді(заміщений арил)аміно, моно- і дигетероариламіно, моно- і ді(заміщений гетероарил)аміно, моно- і дигетероцикламіно, моно- і ді(заміщений гетероцикл)аміно, несиметричних дизаміщених амінів, що мають різні замісники, незалежно вибрані з групи, що складається з алкілу, заміщеного алкілу, арилу, заміщеного арилу, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, гетероциклічної, заміщеної гетероциклічної і заміщеної алкенільної груп, що мають аміногрупи, блокувані загальноприйнятими блокуючими групами, такими як Boc, Cbz, форміл і тому подібними, або

Переважно, замісники незалежно вибрані з групи, що складається з алкокси, заміщеного алкокси, ацилу, ациламіно, ацилокси, аміно, заміщеного аміно, аміноацилу, амінокарбоніламіно, амінокарбонілокси, арилу, заміщеного арилу, арилокси, заміщеного арилокси, карбоксилу, складних ефірів карбоксилу, ціано, циклоалкілу, заміщеного циклоалкілу, циклоалкілокси, заміщеного циклоалкілокси, галогену, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, гетероарилокси, заміщеного гетероарилокси, гетероциклу, заміщеного гетероциклу, гідроксилу, нітро і оксикарбоніламіно.

«Заміщений алкокси» відноситься до групи «заміщений алкіл-О-».

«Заміщений алкіл» відноситься до алкільної групи з 1-10 вуглецевих атомів, що має 1-5 замісників.

Переважно, замісники незалежно вибрані з групи, що складається з алкокси, заміщеного алкокси, ацилу, ациламіно, ацилокси, аміно, заміщеного аміно, аміноацилу, амінокарбоніламіно, амінокарбонілокси, арилу, заміщеного арилу, арилокси, заміщеного арилокси, карбоксилу, складних ефірів карбоксилу, ціано, циклоалкілу, заміщеного циклоалкілу, циклоалкілокси, заміщеного циклоалкілокси, галогену, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, гетероарилокси, заміщеного гетероарилокси, гетероциклу, заміщеного гетероциклу, гідроксилу, нітро і оксикарбоніламіно.

«Заміщений алкілен» відноситься до груп, що мають від 1 до 5 замісників, незалежно вибраних з групи, що складається з алкокси, заміщеного алкокси, ацилу, ациламіно, тіокарбоніламіно, ацилокси, аміно, амідино, алкіламідино, тіоамідино, аміноацилу, амінокарбоніламіно, амінотіокарбоніламіно, амінокарбонілокси, арилу, заміщеного арилу, арилокси, заміщеного арилокси, арил оксіарилу, заміщеного арил оксіарилу, галогену, гідроксилу, ціано, нітро, карбоксилу, карбоксилалкілу, карбоксил-заміщеного алкілу, карбоксил-ціклоалкілу, карбоксил-заміщеного циклоалкілу, карбоксиларилу, карбоксил-заміщеного арилу, карбоксилгетероарилу, карбоксил-заміщеного гетероарилу, карбоксилгетероциклу, карбоксил-заміщеного гетероциклу, циклоалкілу, заміщеного циклоалкілу, гуанідину, гуанідиносолфону, тіолу, тіоалкілу, заміщеного тіоалкілу, тіоарилу, заміщеного тіоарилу, тіоциклоалкілу, заміщеного тіоциклоалкілу, тіогетероарилу, заміщеного тіогетероарилу, тіогетероциклу, заміщеного тіогетероциклу, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, гетероциклу, заміщеного гетероциклу, циклоалкокси, заміщеного циклоалкокси, гетероарилокси, заміщеного гетероарилокси, гетероциклілокси, заміщеного гетероциклілокси, оксикарбоніламіно, окситіокарбоніламіно, -OS(O)₂-алкілі, -OS(O)₂-заміщеного алкілу, -OS(O)₂-арилу, -OS(O)₂-заміщеного арилу, -OS(O)₂-гетероарилу, -OS(O)₂-заміщеного гетероарилу, -OS(O)₂-гетероциклу, -OS(O)₂-заміщеного гетероциклу, -OSO₂-NRR, де R являє собою водень або алкіл, -NSR(O)₂-алкілі,

NRS(O)₂-заміщеного алкілу, -NRS(O)₂-арилу, -NSR(O)₂-заміщеного арилу, -NRS(O)₂-гетероарилу, -NSR(O)₂-заміщеного гетероарилу, -NSR(O)₂-гетероциклу, -NRS(O)₂-NR-алкілу, -NRS(O)₂-NR-заміщеного алкілу, -NRS(O)₂-NR-арилу, -NRS(O)₂-NR-заміщеного арилу, -NRS(O)₂-NR-гетероарилу, -NRS(O)₂-NR-заміщеного гетероарилу, -NRS(O)₂-NR-гетероциклу, -NRS(O)₂-NR-заміщеного гетероциклу, де R являє собою водень або алкіл, моно- і діалкіламіно, моно- і ді(заміщений алкіл)аміно, моно- і діариламіно, моно- і ді(заміщений арил)аміно, моно- і дигетероариламіно, моно- і ді(заміщений гетероарил)аміно, моно- і дигетероцикламіно, моно- і ді(заміщений гетероцикл)аміно, несиметричних дизамічених амінів, що мають різні замісники, незалежно вибрані з групи, що складається з алкілу, заміщеного алкілу, арилу, заміщеного арилу, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, гетероциклічної, заміщеної гетероциклічної і заміщеної алкенільної груп, що мають аміногрупи, блокувані загальноприйнятими блокуючими групами, такими як Boc, Cbz, форміл і тому подібними, або алкенільних/заміщених алкенільних груп, заміщених -SO₂-алкілом, -SO₂-заміщеним алкілом, -SO₂-алкенілом, -SO₂-заміщеним алкенілом, -SO₂-циклоалкілом, -SO₂-заміщеним циклоалкілом, -SO₂-арилом, -SO₂-заміщеним арилом, -SO₂-гетероарилом, -SO₂-заміщеним гетероарилом, -SO₂-гетероциклом, -SO₂-заміщеним гетероциклом і -SO₂NRR, де R являє собою водень або алкіл.

«Алкініл» відноситься до алкінільної групи, що переважно має від 2 до 10 вуглецевих атомів, і, більш переважно, від 3 до 6 вуглецевих атомів, і що має, щонайменше, 1 і, переважно, від 1 до 2 ділянок алкінільного насичення.

«Заміщений алкініл» відноситься до алкінільних груп, що мають від 1 до 5 замісників, незалежно вибраних з групи, що складається з алкокси, заміщеного алкокси, ацилу, ациламіно, тіокарбоніламіно, ацилокси, аміно, амідино, алкіламідино, тіоамідино, аміноацилу, амінокарбоніламіно, амінотіокарбоніламіно, амінокарбонілокси, арилу, заміщеного арилу, арилокси, заміщеного арилокси, арилоксіарилу, заміщеного арилоксіарилу, галогену, гідроксилу, ціано, нітро, карбоксилу, карбоксилалкілу, карбоксил-заміщеного алкілу, карбоксил-циклоалкілу, карбоксил-заміщеного циклоалкілу, карбоксиларилу, карбоксил-заміщеного арилу, карбоксилгетероарилу, карбоксил-заміщеного гетероарилу, карбоксилгетероциклу, карбоксил-заміщеного гетероциклу, циклоалкілу, заміщеного циклоалкілу, гуанідино, гуанідиносультону, тіолу, тіоалкілу, заміщеного тіоалкілу, тіоарилу, заміщеного тіоарилу, тіоциклоалкілу, заміщеного тіоциклоалкілу, тіогетероарилу, заміщеного тіогетероарилу, тіогетероциклу, заміщеного тіогетероциклу, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, гетероциклу, заміщеного гетероциклу, циклоалкокси, заміщеного циклоалкокси, гетероарилокси, заміщеного гетероарилокси, гетероциклокси, заміщеного гетероциклокси, оксикарбоніламіно, окситіокарбоніламіно, -OS(O)₂-алкілу, -OS(O)₂-заміщеного алкілу, -OS(O)₂-арилу, -OS(O)₂-заміщеного арилу, -OS(O)₂-гетероарилу, -OS(O)₂-заміщеного гетероарилу, -OS(O)₂-гетероциклу, -OS(O)₂-заміщеного гетероциклу, -OSO₂-NRR, де R являє собою водень або алкіл, -NRS(O)₂-алкілу, -NRS(O)₂-заміщеного алкілу, -NRS(O)₂-арилу, -NRS(O)₂-заміщеного арилу, -NRS(O)₂-гетероарилу, -NRS(O)₂-заміщеного гетероарилу, -NRS(O)₂-гетероциклу, -NRS(O)₂-заміщеного гетероциклу, -NRS(O)₂-NR-алкілу, -NRS(O)₂-NR-заміщеного алкілу, -NRS(O)₂-NR-арилу, -NRS(O)₂-NR-заміщеного арилу, -NRS(O)₂-NR-гетероарилу, -NRS(O)₂-NR-заміщеного гетероарилу, -NRS(O)₂-NR-гетероциклу, -NRS(O)₂-NR-заміщеного гетероциклу, де R являє собою водень або алкіл, моно- і діалкіламіно, моно- і ді(заміщений алкіл)аміно, моно- і діариламіно, моно- і ді(заміщений арил)аміно, моно- і дигетероариламіно, моно- і ді(заміщений гетероарил)аміно, моно- і дигетероцикламіно, моно- і ді(заміщений гетероцикл)аміно, несиметричних дизамічених амінів, що мають різні замісники, незалежно вибрані з групи, що складається з алкілу, заміщеного алкілу, арилу, заміщеного арилу, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, гетероциклічної, заміщеної гетероциклічної і заміщеної алкінільної груп, що мають аміногрупи, блокувані загальноприйнятими блокуючими групами, такими як Boc, Cbz, форміл і тому подібними, або алкінільних/заміщених алкінільних груп, заміщених -SO₂-алкілом, -SO₂-заміщеним алкілом, -SO₂-алкенілом, -SO₂-заміщеним алкенілом, -SO₂-циклоалкілом, -SO₂-заміщеним циклоалкілом, -SO₂-арилом, -SO₂-заміщеним арилом, -SO₂-гетероарилом, -SO₂-заміщеним гетероарилом, -SO₂-гетероциклом, -SO₂-заміщеним гетероциклом і -SO₂NRR, де R являє собою водень або алкіл.

«Амідино» відноситься до групи H₂NC(=NH)-, і термін «алкіламідино» відноситься до сполук, що мають від 1 до 3 алкільних груп (наприклад, алкіл-HNC(=NH)-).

«Аміно» відноситься до групи -NH₂.

«Заміщена аміногрупа» відноситься до групи -NRR, у якій кожна група R незалежно вибрана з групи, що складається з водню, алкілу, заміщеного алкілу, алкенілу, заміщеного алкенілу, циклоалкілу, заміщеного циклоалкілу, арилу, заміщеного арилу, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, гетероциклу і заміщеного гетероциклу, за умови того, що обидві групи R не являють собою водень; або де R можуть бути об'єднані з атомом азоту з утворенням гетероциклічного або заміщеного гетероциклічного кільця.

«Аміноацил» відноситься до груп -NRC(O)-алкіл, -NRC(O)заміщений алкіл, -NRC(O)циклоалкіл, -NRC(O)заміщений циклоалкіл, -NRC(O)алкеніл, -NRC(O)заміщений алкеніл, -NRC(O)алкініл, -NRC(O)заміщений алкініл, -NRC(O)арил, -NRC(O)заміщений арил, -NRC(O)гетероарил, -NRC(O)заміщений гетероарил, -NRC(O)гетероцикл і -NRC(O)заміщений гетероцикл, де R являє собою водень або алкіл, і де алкіл, заміщений алкіл, алкеніл, заміщений алкеніл, алкініл, заміщений алкініл, циклоалкіл, заміщений циклоалкіл, арил, заміщений арил, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероцикл і заміщений гетероцикл відповідають наведеним вище визначенням.

«Амінокарбоніламіно» відноситься до груп -NRC(O)NRR, -NRC(O)NR-алкіл, -NRC(O)NR-заміщений алкіл, -NRC(O)NR-алкеніл, -NRC(O)NR-заміщений алкеніл, -NRC(O)NR-алкініл, -NRC(O)NR-заміщений алкініл, -NRC(O)NR-арил, -NRC(O)NR-заміщений арил, -NRCC(O)NR-циклоалкіл, -NRC(O)NR-заміщений циклоалкіл, -NRC(O)NR-гетероарил і -NRC(O)NR-заміщений гетероарил, -NRC(O)NR-гетероцикл і -NRC(O)NR-заміщений гетероцикл, де кожен R незалежно являє собою водень, алкіл, або де кожен R об'єднаний з атомом азоту з утворенням гетероциклічного або заміщеного гетероциклічного кільця, а також де одна з аміногруп блокувана загальноприйнятими блокуючими групами, такими як Boc, Cbz, форміл і тому подібними, і де алкіл, заміщений алкіл, алкеніл, заміщений алкеніл, алкініл, заміщений алкініл, циклоалкіл, заміщений циклоалкіл, арил, заміщений арил, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероцикл і заміщений гетероцикл відповідають наведеним вище визначенням.

«Амінокарбонілокси» відноситься до груп -NRC(O)O-алкіл, -NRC(O)O-заміщений алкіл, -NRC(O)O-алкеніл, -NRC(O)O-заміщений алкеніл, -NRC(O)O-алкініл, -NRC(O)O-заміщений алкініл, -NRC(O)O-циклоалкіл, -NRC(O)O-заміщений циклоалкіл, -NRC(O)O-арил, -NRC(O)O-заміщений арил, -NRC(O)O-гетероарил, -NRC(O)O-заміщений гетероарил, -NRC(O)O-гетероцикл і -NRC(O)O-заміщений гетероцикл, де R являє собою водень або алкіл, і де алкіл, заміщений алкіл, алкеніл, заміщений алкеніл, алкініл, заміщений алкініл, циклоалкіл, заміщений циклоалкіл, арил, заміщений арил, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероцикл і заміщений гетероцикл відповідають наведеним вище визначенням.

«Амінотіокарбоніламіно» відноситься до груп -NRC(S)NRR, -NRC(S)NR-алкіл, -NRC(S)NR-заміщений алкіл, -NRC(S)NR-алкеніл, -NRC(S)NR-заміщений алкеніл, -NRC(S)NR-алкініл, -NRC(S)NR-заміщений алкініл, -NRC(S)NR-арил, -NRC(S)NR-заміщений арил, -NRC(S)NR-циклоалкіл, -NRC(S)NR-заміщений циклоалкіл, -NRC(S)NR-гетероарил і -NRC(S)NR-заміщений гетероарил, -NRC(S)NR-гетероцикл і -NRC(S)NR-заміщений гетероцикл, де кожен R незалежно являє собою водень, алкіл, або де кожен R об'єднаний з атомом азоту з утворенням гетероциклічного або заміненого гетероциклічного кільця, а також де одна з аміногруп блокувана загальноприйнятими блокуючими групами, такими як Boc, Cbz, форміл і тому подібними, і де алкіл, заміщений алкіл, алкеніл, заміщений алкеніл, алкініл, заміщений алкініл, циклоалкіл, заміщений циклоалкіл, арил, заміщений арил, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероцикл і заміщений гетероцикл відповідають наведеним вище визначенням.

«Арил» відноситься до ненасиченої ароматичної карбоциклічної групи з 6-14 вуглецевих атомів, що має єдине кільце (наприклад, феніл) або множинні конденсовані кільця (наприклад, нафтил або антріл), причому дані конденсовані кільця можуть бути ароматичними або можуть не бути такими (наприклад, 2-бензоксазолінон, 2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-он-7-іл тощо), при забезпеченні того, що точка прикріплення являє собою атом ароматичного кільця. Переважні арили включають в себе феніл, нафтил і 5,6,7,8-тетрагідронафт-2-іл.

«Заміщений арил» відноситься до арильних груп, що замінені 1-3 замісниками, вибраними з групи, що складається з гідрокси, ацилу, ациламіно, тіокарбоніламіно, ацилокси, алкілу, заміненого алкілу, алкокси, заміненого алкокси, алкенілу, заміненого алкенілу, алкінілу, заміненого алкілу, амідіно, алкіламідіно, тіоамідіно, аміно, аміноацилу, амінокарбонілокси, амінокарбоніламіно, амінотіокарбоніламіно, арилу, заміненого арилу, арилокси, заміненого арилокси, циклоалкокси, заміненого циклоалкокси, гетероарилокси, заміненого гетероарилокси, гетероциклілокси, заміненого гетероциклілокси, карбоксилу, карбоксилалкілу, карбоксил-заміненого алкілу, карбоксил-циклоалкілу, карбоксил-заміненого циклоалкілу, карбоксиларилу, карбоксил-заміненого арилу, карбоксилгетероарилу, карбоксил-заміненого гетероарилу, карбоксилгетероциклу, карбоксил-заміненого гетероциклу, карбоксиламідо, ціано, тіолу, тіоалкілу, заміненого тіоалкілу, тіоарилу, заміненого тіоарилу, тіогетероарилу, заміненого тіогетероарилу, тіоциклоалкілу, заміненого тіоциклоалкілу, тіогетероциклу, заміненого тіогетероциклу, циклоалкілу, заміненого циклоалкілу, гуанідіно, гуанідіносольфону, галогену, нітро, гетероарилу, заміненого гетероарилу, гетероциклу, заміненого гетероциклу, циклоалкокси, заміненого циклоалкокси, гетероарилокси, заміненого гетероарилокси, гетероциклілокси, заміненого гетероциклілокси, оксикарбоніламіно, окситіокарбоніламіно, -S(O)₂-алкілу, -S(O)₂-заміненого алкілу, -S(O)₂-циклоалкілу, -S(O)₂-заміненого циклоалкілу, -S(O)₂-алкенілу, -S(O)₂-заміненого алкенілу, -S(O)₂-арилу, -S(O)₂-заміненого арилу, -S(O)₂-гетероарилу, -S(O)₂-заміненого гетероарилу, -S(O)₂-гетероциклу, -S(O)₂-заміненого гетероциклу, -OS(O)₂-алкілу, -OS(O)₂-заміненого алкілу, -OS(O)₂-арилу, -OS(O)₂-заміненого арилу, -OS(O)₂-гетероарилу, -OS(O)₂-заміненого гетероарилу, -OS(O)₂-гетероциклу, -OS(O)₂-заміненого гетероциклу, -OSO₂-NRR, де R являє собою водень або алкіл, -NRS(O)₂-алкілу, -NRS(O)₂-заміненого алкілу, -NRS(O)₂-арилу, -NRS(O)₂-заміненого арилу, -NRS(O)₂-гетероарилу, -NRS(O)₂-заміненого гетероарилу, -NRS(O)₂-гетероциклу, -NRS(O)₂-заміненого гетероциклу, -NRS(O)₂-NR-алкілу, -NRS(O)₂-NR-заміненого алкілу, -NRS(O)₂-NR-арилу, -NRS(O)₂-NR-заміненого арилу, -NRS(O)₂-NR-гетероарилу, -NRS(O)₂-NR-заміненого гетероарилу, -NRS(O)₂-NR-гетероциклу, -NRS(O)₂-NR-заміненого гетероциклу, де R являє собою водень або алкіл, моно- і діалкіламіно, моно- і ді(заміщений алкіл)аміно, моно- і діариламіно, моно- і ді(заміщений арил)аміно, моно- і дигетероариламіно, моно- і ді(заміщений гетероарил)аміно, моно- і дигетероцикламіно, моно- і ді(заміщений гетероцикл)аміно, несиметричних дизамінених амінів, що мають різні замісники, незалежно вибрані з групи, що складається з алкілу, заміненого алкілу, арилу, заміненого арилу, гетероарилу, заміненого гетероарилу, гетероциклічної, заміненої гетероциклічної груп, що мають аміногрупи на заміненому арилі, блокувані загальноприйнятими блокуючими групами, такими як Boc, Cbz, форміл і тому подібними, або замінених -SO₂NRR, де R являє собою водень або алкіл.

Переважні замісники вибрані з групи, що складається з гідрокси, ацилу, ациламіно, ацилокси, алкілу, заміненого алкілу, алкокси, заміненого алкокси, алкенілу, заміненого алкенілу, аміно, заміненого аміно, аміноацилу, амінокарбонілокси, амінокарбоніламіно, арилу, заміненого арилу, арилокси, заміненого арилокси, циклоалкокси, заміненого циклоалкокси, гетероарилокси, заміненого гетероарилокси, гетероциклілокси, заміненого гетероциклілокси, карбоксилу, складних ефірів карбоксилу, ціано, циклоалкілу, заміненого циклоалкілу, галогену, нітро, гетероарилу, заміненого гетероарилу, гетероциклу, заміненого гетероциклу і оксикарбоніламіно.

«Арилокси» відноситься до групи арил-О-, що включає в себе, наприклад, фенокси, нафтокси, тощо.

«Заміщений арилокси» відноситься до замінених арил-О-груп.

«Арилоксиарил» відноситься до групи -арил-О-арил.

«Заміщений арилоксиарил» відноситься до арилоксиарильних груп, замінених 1-3 замісниками на одному або обох арильних кільцях, вибраними з групи, що складається з гідроксигрупи, ацилу, ациламіно, тіокарбоніламіно, ацилокси, алкілу, заміненого алкілу, алкокси, заміненого алкокси, алкенілу, заміненого алкенілу, алкінілу, заміненого алкінілу, амідіно, алкіламідіно, тіоамідіно, аміно, аміноацилу, амінокарбонілокси, амінокарбоніламіно, амінотіокарбоніламіно, арилу, заміненого арилу, арилокси, заміненого арилокси, циклоалкокси, заміненого циклоалкокси, гетероарилокси, заміненого гетероарилокси, гетероциклілокси, заміненого гетероциклілокси, карбоксилу, карбоксилалкілу, карбоксил-заміненого алкілу, карбоксил-циклоалкілу, карбоксил-заміненого циклоалкілу, карбоксиларилу, карбоксил-заміненого арилу, карбоксилгетероарилу, карбоксил-заміненого гетероарилу, карбоксилгетероциклу,

карбоксил-заміщеного гетероциклу, карбоксиламідо, ціано, тіолу, тіоалкілу, заміщеного тіоалкілу, тіоарилу, заміщеного тіоарилу, тіогетероарилу, заміщеного тіогетероарилу, тіоциклоалкілу, заміщеного тіоциклоалкілу, тіогетероциклу, заміщеного тіогетероциклу, циклоалкілу, заміщеного циклоалкілу, гуанідино, гуанідиносильфону, галогену, нітро, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, гетероциклу, заміщеного гетероциклу, циклоалкокси, заміщеного циклоалкокси, гетероарилокси, заміщеного гетероарилокси, гетероциклілокси, заміщеного гетероциклілокси, оксикарбоніламіно, окситіокарбоніламіно, $-S(O)_2$ -алкілу, $-S(O)_2$ -заміщеного алкілу, $-S(O)_2$ -циклоалкілу, $-S(O)_2$ -заміщеного циклоалкілу, $-S(O)_2$ -алкенілу, $-S(O)_2$ -заміщеного алкенілу, $-S(O)_2$ -арилу, $-S(O)_2$ -заміщеного арилу, $-S(O)_2$ -гетероарилу, $-S(O)_2$ -заміщеного гетероарилу, $-S(O)_2$ -гетероциклу, $-S(O)_2$ -заміщеного гетероциклу, $-OSO_2$ -NRR, де R являє собою водень або алкіл, $-NRS(O)_2$ -алкілу, $-NRS(O)_2$ -заміщеного алкілу, $-NRS(O)_2$ -арилу, $-NRS(O)_2$ -заміщеного арилу, $-NRS(O)_2$ -гетероарилу, $-NRS(O)_2$ -заміщеного гетероарилу, $-NRS(O)_2$ -гетероциклу, $-NRS(O)_2$ -заміщеного гетероциклу, $-NRS(O)_2$ -NR-алкілу, $-NRS(O)_2$ -NR-заміщеного алкілу, $-NRS(O)_2$ -NR-арилу, $-NRS(O)_2$ -NR-заміщеного арилу, $-NRS(O)_2$ -NR-гетероарилу, $-NRS(O)_2$ -NR-заміщеного гетероарилу, $-NRS(O)_2$ -NR-гетероциклу, $-NRS(O)_2$ -NR-заміщеного гетероциклу, де R являє собою водень або алкіл, моно- і діалкіламіно, моно- і ді(заміщений алкіл)аміно, моно- і ді(заміщений арил)аміно, моно- і дигетероариламіно, моно- і ді(заміщений гетероарил)аміно, моно- і дигетероцикламіно, моно- і ді(заміщений гетероцикл)аміно, несиметричних дизамічених амінів, що мають різні замісники, незалежно вибрані з групи, що складається з алкілу, заміщеного алкілу, арилу, заміщеного арилу, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, гетероциклічної, заміщеної гетероциклічної груп, що мають аміногрупи на заміщеному арилі, блоковані загальноприйнятими блокуючими групами, такими як Boc, Cbz, форміл, і тому подібними, або заміщених $-SO_2$ NRR, де R являє собою водень або алкіл.

«Аралкокси» відноситься до арилалкілен-о-груп. «Заміщений аралкокси» відноситься до заміщених арилалкілен-о-груп.

«Карбоксил» відноситься до групи $-COOH$ і її фармацевтично прийнятих солей.

Термін «складні ефіри карбоксилу» відноситься до $-C(O)O$ -алкілу, $C(O)O$ -(заміщеному алкілу), $-C(O)O$ -алкенілу, $-C(O)O$ -(заміщеному алкенілу), $-C(O)O$ -арилу, $-C(O)O$ -(заміщеному арил), $-C(O)O$ -циклоалкілу, $-C(O)O$ -(заміщеному циклоалкілу), $-C(O)O$ -гетероарилу, $-C(O)O$ -(заміщеному гетероарилу), $-C(O)O$ -гетероциклу і $-C(O)O$ -(заміщеному гетероциклу).

«Циклоалкеніл» відноситься до циклічних алкенільних груп з 3-8 вуглецевих атомів, що мають єдине циклічне кільце.

«Циклоалкокси» відноситься до $-O$ -циклоалкільних груп.

«Заміщений циклоалкокси» відноситься до $-O$ -заміщених циклоалкільних груп.

«Циклоалкіл» відноситься до циклічних алкільних груп з 3-12 вуглецевих атомів, що мають єдине або множинні конденсовані кільця, що включають в себе, наприклад, адамантил, циклопропіл, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклооктил тощо. Переважно, «циклоалкіл» відноситься до циклічних алкільних груп від 3 до 8 вуглецевих атомів, що мають єдине циклічне кільце.

«Заміщений циклоалкіл» і «заміщений циклоалкеніл» відноситься до циклоалкільної або циклоалкенільної групи, переважно, з 3-8 вуглецевих атомів, що має від 1 до 5 замісників, незалежно вибраних з групи, що складається з оксо ($=O$), тіоксо ($=S$), алкокси, заміщеного алкокси, ацилу, ациламіно, тіокарбоніламіно, ацилокси, аміно, амідино, алкіламідино, тіоамідино, аміноацилу, амінокарбоніламіно, амінотіокарбоніламіно, амінокарбонілокси, арилу, заміщеного арилу, арилокси, заміщеного арилокси, арилоксиарилу, заміщеного арилоксиарилу, галогену, гідроксилу, ціано, нітро, карбоксилу, карбоксилакілу, карбоксил-заміщеного алкілу, карбоксил-циклоалкілу, карбоксил-заміщеного циклоалкілу, карбоксиларилу, карбоксил-заміщеного арилу, карбоксилгетероарилу, карбоксил-заміщеного гетероарилу, карбоксилгетероциклу, карбоксил-заміщеного гетероциклу, циклоалкілу, заміщеного циклоалкілу, гуанідино, гуанідиносильфону, тіолу, тіоалкілу, заміщеного тіоалкілу, тіоарилу, заміщеного тіоарилу, тіоциклоалкілу, заміщеного тіоциклоалкілу, тіогетероарилу, заміщеного тіогетероарилу, тіогетероциклу, заміщеного тіогетероциклу, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, гетероциклу, заміщеного гетероциклу, циклоалкокси, заміщеного циклоалкокси, гетероарилокси, заміщеного гетероарилокси, гетероциклілокси, заміщеного гетероциклілокси, оксикарбоніламіно, окситіокарбоніламіно, $-OS(O)_2$ -алкілу, $-OS(O)_2$ -заміщеного алкілу, $-OS(O)_2$ -арилу, $-OS(O)_2$ -заміщеного арилу, $-OS(O)_2$ -гетероарилу, $-OS(O)_2$ -заміщеного гетероарилу, $-OS(O)_2$ -гетероциклу, $-OS(O)_2$ -заміщеного гетероциклу, $-OSO_2$ -NRR, де R являє собою водень або алкіл, $-NRS(O)_2$ -алкілу, $-NRS(O)_2$ -заміщеного алкілу, $-NRS(O)_2$ -арилу, $-NRS(O)_2$ -заміщеного арилу, $-NRS(O)_2$ -гетероарилу, $-NRS(O)_2$ -заміщеного гетероарилу, $-NRS(O)_2$ -гетероциклу, $-NRS(O)_2$ -заміщеного гетероциклу, $-NRS(O)_2$ -NR-алкілу, $-NRS(O)_2$ -NR-заміщеного алкілу, $-NRS(O)_2$ -NR-арилу, $-NRS(O)_2$ -NR-заміщеного арилу, $-NRS(O)_2$ -NR-гетероарилу, $-NRS(O)_2$ -NR-заміщеного гетероарилу, $-NRS(O)_2$ -NR-гетероциклу, $-NRS(O)_2$ -NR-заміщеного гетероциклу, де R являє собою водень або алкіл, моно- і діалкіламіно, моно- і ді(заміщений алкіл)аміно, моно- і ді(заміщений арил)аміно, моно- і дигетероариламіно, моно- і ді(заміщений гетероарил)аміно, моно- і дигетероцикламіно, моно- і ді(заміщений гетероцикл)аміно, несиметричних дизамічених амінів, що мають різні замісники, незалежно вибрані з групи, що складається з алкілу, заміщеного алкілу, арилу, заміщеного арилу, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, гетероциклічної, заміщеної гетероциклічної і заміщеної алкінійної груп, що мають аміногрупи, блоковані загальноприйнятими блокуючими групами, такими як Boc, Cbz, форміл і тому подібними, або алкілійних/заміщених алкілійних груп, заміщених $-SO_2$ -алкілом, $-SO_2$ -заміщеним алкілом, $-SO_2$ -алкенілом, $-SO_2$ -заміщеним алкенілом, $-SO_2$ -циклоалкілом, $-SO_2$ -заміщеним циклоалкілом, $-SO_2$ -арилом, $-SO_2$ -заміщеним арилом, $-SO_2$ -гетероарилом, $-SO_2$ -заміщеним гетероарилом, $-SO_2$ -гетероциклом, $-SO_2$ -заміщеним гетероциклом і $-SO_2$ NRR, де R являє собою водень або алкіл.

Переважні замісники вибрані з групи, що складається з оксо ($=O$), тіоксо ($=S$), алкокси, заміщеного алкокси, ацилу, ациламіно, ацилокси, аміно, заміщеного аміно, аміноацилу, амінокарбоніламіно, амінокарбонілокси, арилу, заміщеного арилу, арилокси, заміщеного арилокси, карбоксилу, складних ефірів карбоксилу, ціано, циклоалкілу, заміщеного циклоалкілу, циклоалкілокси, заміщеного циклоалкілокси,

галогену, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, гетероарилокси, заміщеного гетероарилокси, гетероциклу, заміщеного гетероциклу, гідроксилу, нітро й оксикарбоніламіно.

«Гуанідино» відноситься до груп $-NRC(=NR)NRR$, $-NRC(=NR)NR$ -алкілу, $-NRC(=NR)NR$ -заміщеного алкілу, $-NRC(=NR)NR$ -алкенілу, $-NRC(=NR)NR$ -заміщеного алкенілу, $-NRC(=NR)NR$ -алкінілу, $-NRC(=NR)NR$ -заміщеного алкінілу, $-NRC(=NR)NR$ -арилу, $-NRC(=NR)NR$ -заміщеного арилу, $-NRC(=NR)NR$ -циклоалкілу, $-NRC(=NR)NR$ -гетероарилу, $-NRC(=NR)NR$ -заміщеного гетероарилу, $-NRC(=NR)NR$ -гетероциклу і $-NRC(=NR)NR$ -заміщеного гетероциклу, де кожен R незалежно являє собою водень або алкіл, а також де одна з аміногруп блокована загальноприйнятими блокуючими групами, такими як Boc, Cbz, форміл і тому подібними, і де алкіл, заміщений алкіл, алкеніл, заміщений алкеніл, алкініл, заміщений алкініл, циклоалкіл, заміщений циклоалкіл, арил, заміщений арил, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероцикл і заміщений гетероцикл відповідають наведеним вище визначенням.

«Гуанідиносультон» відноситься до груп $-NRC(=NR)NRSO_2$ -алкіл, $-NRC(=NR)NRSO_2$ -заміщений алкіл, $-NRC(=NR)NRSO_2$ -алкеніл, $-NRC(=NR)NRSO_2$ -заміщений алкеніл, $-NRC(=NR)NRSO_2$ -алкініл, $-NRC(=NR)NRSO_2$ -заміщений алкініл, $-NRC(=NR)NRSO_2$ -арил, $-NRC(=NR)NRSO_2$ -заміщений арил, $-NRC(=NR)NRSO_2$ -циклоалкіл, $-NRC(=NR)NRSO_2$ -заміщений циклоалкіл, $-NRC(=NR)NRSO_2$ -гетероарил, і $-NRC(=NR)NRSO_2$ -заміщений гетероарил, $-NRC(=NR)NRSO_2$ -гетероцикл, і $-NRC(=NR)NRSO_2$ -заміщений гетероцикл, де кожен R незалежно являє собою водень і алкіл, і де алкіл, заміщений алкіл, алкеніл, заміщений алкеніл, алкініл, заміщений алкініл, циклоалкіл, заміщений циклоалкіл, арил, заміщений арил, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероцикл і заміщений гетероцикл відповідають наведеним вище визначенням.

«Галоген» відноситься до фтору, хлору, броду і йоду, і переважно являє собою фтор, або хлор брод.

«Гетероарил» відноситься до ароматичної карбоциклічної групи з 2-10 вуглецевих атомів і 1-4 гетероатомів, вибраних з групи, що складається з кисню, азоту і сірки всередині кільця або їх оксидів. Такі гетероарильні групи можуть мати одне кільце (наприклад, піридил або фурил) або множинні конденсовані кільця (наприклад, індолініл або бензотієніл), у яких одне або кілька конденсованих кілець можуть бути ароматичними або не бути такими при забезпеченні того, що точка прикріплення являє собою атом ароматичного кільця. Крім того, гетероатоми гетероарильної групи можуть бути окиснені, тобто утворювати піридин-N-оксиди або 1,1-діоксо-1,2,5-тіадіазолі тощо. Крім того, вуглецеві атоми кільця можуть бути заміщені оксогрупою (=O). Переважні гетероарили включають в себе піридил, піроліл, індоліл, фурил, піридазиніл, піримідиніл, піразиніл, 1-оксо-1,2,5-тіадіазоліл і 1,1-діоксо-1,2,5-тіадіазоліл.

«Заміщений гетероарил» відноситься до гетероарильних груп, що заміщені 1-3 замісниками, вибраними з групи, що складається з гідрокси, ацилу, ациламіно, тіокарбоніламіно, ацилокси, алкілу, заміщеного алкілу, алкокси, заміщеного алкокси, алкенілу, заміщеного алкенілу, алкінілу, заміщеного алкілу, амідино, алкіламідино, тіоамідино, аміно, аміноацилу, амінокарбонілокси, амінокарбоніламіно, амінотіокарбоніламіно, арилу, заміщеного арилу, арилокси, заміщеного арилокси, циклоалкокси, заміщеного циклоалкокси, гетероарилокси, заміщеного гетероарилокси, гетероциклілокси, заміщеного гетероциклілокси, карбоксилу, карбоксилалкілу, карбоксил-заміщеного алкілу, карбоксил-циклоалкілу, карбоксил-заміщеного циклоалкілу, карбоксиларилу, карбоксил-заміщеного арилу, карбоксилгетероарилу, карбоксил-заміщеного гетероарилу, карбоксилгетероциклу, карбоксил-заміщеного гетероциклу, карбоксиламідо, ціано, тіолу, тіоалкілу, заміщеного тіоалкілу, тіоарилу, заміщеного тіоарилу, тіогетероарилу, заміщеного тіогетероарилу, тіоциклоалкілу, заміщеного тіоциклоалкілу, тіогетероциклу, заміщеного тіогетероциклу, циклоалкілу, заміщеного циклоалкілу, гуанідино, гуанідиносультону, галогену, нітро, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, гетероциклу, заміщеного гетероциклу, циклоалкокси, заміщеного циклоалкокси, гетероарилокси, заміщеного гетероарилокси, гетероциклілокси, заміщеного гетероциклілокси, оксикарбоніламіно, окситіокарбоніламіно, $-S(O)_2$ -алкілу, $-S(O)_2$ -заміщеного алкілу, $-S(O)_2$ -циклоалкілу, $-S(O)_2$ -заміщеного циклоалкілу, $-S(O)_2$ -алкенілу, $-S(O)_2$ -заміщеного алкенілу, $-S(O)_2$ -арилу, $-S(O)_2$ -заміщеного арилу, $-S(O)_2$ -гетероарилу, $-S(O)_2$ -заміщеного гетероарилу, $-S(O)_2$ -гетероциклу, $-S(O)_2$ -заміщеного гетероциклу, $-OS(O)_2$ -алкілу, $-OS(O)_2$ -заміщеного алкіл, $-OS(O)_2$ -арилу, $-OS(O)_2$ -заміщеного арилу, $-OS(O)_2$ -гетероарилу, $-OS(O)_2$ -заміщеного гетероарилу, $-OS(O)_2$ -гетероциклу, $-OS(O)_2$ -заміщеного гетероциклу, $-OSO_2$ -NRR, де R являє собою водень або алкіл, $-NRS(O)_2$ -алкілу, $-NRS(O)_2$ -заміщеного алкілу, $-NRS(O)_2$ -арилу, $-NRS(O)_2$ -заміщеного арилу, $-NRS(O)_2$ -гетероарилу, $-NRS(O)_2$ -заміщеного гетероарилу, $-NRS(O)_2$ -гетероциклу, $-NRS(O)_2$ -заміщеного гетероциклу, $-NRS(O)_2$ -NR-алкілу, $-NRS(O)_2$ -NR-заміщеного алкілу, $-NRS(O)_2$ -NR-арилу, $-NRS(O)_2$ -NR-заміщеного арилу, $-NRS(O)_2$ -NR-гетероарилу, $-NRS(O)_2$ -NR-заміщеного гетероарилу, $-NRS(O)_2$ -NR-гетероциклу, $-NRS(O)_2$ -NR-заміщеного гетероциклу, де R являє собою водень або алкіл, моно- і діалкіламіно, моно- і ді(заміщений алкіл)аміно, моно- і діариламіно, моно- і ді(заміщений арил)аміно, моно- і дигетероариламіно, моно- і ді(заміщений гетероарил)аміно, моно- і дигетероцикламіно, моно- і ді(заміщений гетероцикл)аміно, несиметричних дизаміщених амінів, що мають різні замісники, незалежно вибрані з групи, що складається з алкілу, заміщеного алкілу, арилу, заміщеного арилу, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, гетероциклічної, заміщеної гетероциклічної груп, що мають аміногрупи на заміщеному арилі, блоковані загальноприйнятими блокуючими групами, такими як Boc, Cbz, форміл і тому подібними, або заміщених $-SO_2$ NRR, де R являє собою водень або алкіл.

Переважні замісники вибрані з групи, що складається з замісників, визначених вище як переважні для заміщеного арилу.

«Гетероарилокси» відноситься до групи $-O$ -гетероарил, і «заміщений гетероарилокси» відноситься до групи $-O$ -(заміщений гетероарил).

«Гетероаралкокси» відноситься до групи гетероарил-алкілен-о-.

«Заміщений гетероаралкокси» відноситься до групи заміщений гетероарил-алкілен-О-.

«Гетероцикл» або «гетероциклічний» відноситься до насиченої або ненасиченої групи, що має єдине кільце або множинні конденсовані кільця, що складаються з 1-10 вуглецевих атомів і 1-4 гетероатомів, вибраних з групи, що складається з азоту, сірки або кисню в складі кільця, де в системі конденсованих кілець одне або кілька кілець можуть являти собою арил або гетероарил.

«Заміщений гетероцикл» відноситься до гетероциклічних груп, що заміщені 1-3 замісниками, вибраними з групи, що складається з оксо (=O), тіоксо (=S), алкокси, заміщеного алкокси, ацилу, ациламіно,

тіокарбоніламіно, ацилокси, аміно, амідіно, алкіламідино, тіоамідіно, аміноацилу, амінокарбоніламіно, амінотіокарбоніламіно, амінокарбонілокси, арилу, заміщеного арилу, арилокси, заміщеного арилокси, арилоксиарилу, заміщеного арилоксиарилу, галогену, гідроксилу, ціано, нітро, карбоксилу, карбоксилалкілу, карбоксил-заміщеного алкілу, карбоксилциклоалкілу, карбоксил-заміщеного циклоалкілу, карбоксиларилу, карбоксил-заміщеного арилу, карбоксилгетероарилу, карбоксил-заміщеного гетероарилу, карбоксилгетероциклу, карбоксил-заміщеного гетероциклу, циклоалкілу, заміщеного циклоалкілу, гуанідіно, гуанідіносульфону, тіолу, тіоалкілу, заміщеного тіоалкілу, тіоарилу, заміщеного тіоарилу, тіоциклоалкілу, заміщеного тіоциклоалкілу, тіогетероарилу, заміщеного тіогетероарилу, тіогетероциклу, заміщеного тіогетероциклу, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, гетероциклу, заміщеного гетероциклу, циклоалкокси, заміщеного циклоалкокси, гетероарилокси, заміщеного гетероарилокси, $-C(O)O$ -арилу, $-C(O)O$ -заміщеного арилу, гетероциклілокси, заміщеного гетероциклілокси, оксикарбоніламіно, окситіокарбоніламіно, $-O_8(O)_2$ -алкілу, $-OS(O)_2$ -заміщеного алкіл, $-OS(O)_2$ -арилу, $-OS(O)_2$ -заміщеного арилу, $-OS(O)_2$ -гетероарилу, $-OS(O)_2$ -заміщеного гетероарилу, $-OS(O)_2$ -гетероциклу, $-OS(O)_2$ -заміщеного гетероциклу, $-OSO_2$ -NRR, де R являє собою водень або алкіл, $-NRS(O)_2$ -алкілу, $-NRS(O)_2$ -заміщеного алкілу, $-NRS(O)_2$ -арилу, $-NRS(O)_2$ -заміщеного арилу, $-NRS(O)_2$ -гетероарилу, $-NRS(O)_2$ -заміщеного гетероарилу, $-NRS(O)_2$ -гетероциклу, $-NRS(O)_2$ -заміщеного гетероциклу, $-NRS(O)_2$ -NR-алкілу, $-NRS(O)_2$ -NR-заміщеного алкілу, $-NRS(O)_2$ -NR-арилу, $-NRS(O)_2$ -NR-заміщеного арилу, $-NRS(O)_2$ -NR-гетероарилу, $-NRS(O)_2$ -NR-гетероциклу, $-NRS(O)_2$ -NR-заміщеного гетероциклу, де R являє собою водень або алкіл, моно- і діалкіламіно, моно- і ді(заміщений алкіл)аміно, моно- і діариламіно, моно- і ді(заміщений арил)аміно, моно- і дигетероариламіно, моно- і ді(заміщений гетероарил)аміно, моно- і дигетероцикламіно, моно- і ді(заміщений гетероцикл)аміно, несиметричних дизаміщених амінів, що мають різні замісники, незалежно вибрані з групи, що складається з алкілу, заміщеного алкілу, арилу, заміщеного арилу, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, гетероциклічної, заміщеної гетероциклічної і заміщеної алкінільної груп, що мають аміногрупи, блокувані загальноприйнятими блокуючими групами, такими як Boc, Cbz, форміл і тому подібними, або алкінільних/заміщених алкінільних груп, заміщених $-SO_2$ -алкілом, $-SO_2$ -заміщеним алкілом, $-SO_2$ -алкенілом, $-SO_2$ -заміщеним алкенілом, $-SO_2$ -циклоалкілом, $-SO_2$ -заміщеним циклоалкілом, $-SO_2$ -арилом, $-SO_2$ -заміщеним арилом, $-SO_2$ -гетероарилом, $-SO_2$ -заміщеним гетероарилом, $-SO_2$ -гетероциклом, $-SO_2$ -заміщеним гетероциклом і $-SO_2$ -NRR, де R являє собою водень або алкіл.

Переважні замісники вибрані з групи, що складається з переважних замісників, визначених для заміщеного циклоалкілу.

Приклади гетероциклів і гетероарилів включають як необмежувальні приклади азетидин, пірол, імідазол, піразол, піридин, піразин, піримідин, піридазин, індолізін, ізоіндол, індол, дигідроіндол, індазол, пурин, хінолізин, ізохінолін, хінолін, фталазин, нафтилпіридин, хіноксалін, хіназолін, цинолін, птеридин, карбазол, карболін, фенантридин, акридин, фенантролін, ізотіазол, феназин, ізоксазол, феноксазин, фенотіазін, імідазолідин, імідазолін, піперидин, піперазин, індолін, фталілід, 1,2,3,4-тетрагідроізохінолін, 4,5,6,7-тетрагідробензо[b]тіофен, тіазол, тіазолідин, тіофен, бензо[b]тіофен, морфоліно, морфолініл, тіоморфоліно, тіоморфолініл (позначений також як тіаморфолініл), піперидиніл, піролідін, тетрагідрофураніл тощо.

«Гетероциклілокси» відноситься до групи -O-гетероцикл, і «заміщений гетероциклілокси» відноситься до групи -O-(заміщений гетероцикл).

«N,N-Диметилкарбамілокси» відноситься до групи $-OC(O)N(CH_3)_2$.

«Охо» відноситься до (-O).

«Оксіалкілен» відноситься до $-OCH_2CHR^d$, де R^d являє собою алкіл.

«Оксикарбоніламіно» відноситься до груп $-OC(O)NH_2$, $-OC(O)NRR$, $-OC(O)NR$ -алкіл, $-OC(O)NR$ -заміщений алкіл, $-OC(O)NR$ -алкеніл, $-OC(O)NR$ -заміщений алкеніл, $-OC(O)NR$ -алкініл, $-OC(O)NR$ -заміщений алкініл, $-OC(O)NR$ -циклоалкіл, $-OC(O)NR$ -заміщений циклоалкіл, $-OC(O)NR$ -арил, $-OC(O)NR$ -заміщений арил, $-OC(O)NR$ -гетероарил, $-OC(O)NR$ -заміщений гетероарил, $-OC(O)NR$ -гетероцикл і $-OC(O)NR$ -заміщений гетероцикл, де R являє собою водень, алкіл, або де кожен R об'єднаний з атомом азоту з утворенням гетероциклічного або заміщеного гетероциклічного кільця, і де алкіл, заміщений алкіл, алкеніл, заміщений алкеніл, алкініл, заміщений алкініл, циклоалкіл, заміщений циклоалкіл, арил, заміщений арил, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероцикл і заміщений гетероцикл відповідають наведеним вище визначенням.

«Окситіокарбоніламіно» відноситься до груп $-OC(S)NH_2$, $-OC(S)NRR$, $-OC(S)NR$ -алкіл, $-OC(S)NR$ -заміщений алкіл, $-OC(S)NR$ -алкеніл, $-OC(S)NR$ -заміщений алкеніл, $-OC(S)NR$ -алкініл, $-OC(S)NR$ -заміщений алкініл, $-OC(S)NR$ -циклоалкіл, $-OC(S)NR$ -заміщений циклоалкіл, $-OC(S)NR$ -арил, $-OC(S)NR$ -заміщений арил, $-OC(S)NR$ -гетероарил, $-OC(S)NR$ -заміщений гетероарил, $-OC(S)NR$ -гетероцикл, і $-OC(S)NR$ -заміщений гетероцикл, де R являє собою водень, алкіл, або де кожен R об'єднаний з атомом азоту з утворенням гетероциклічного або заміщеного гетероциклічного кільця, і де алкіл, заміщений алкіл, алкеніл, заміщений алкеніл, алкініл, заміщений алкініл, циклоалкіл, заміщений циклоалкіл, арил, заміщений арил, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероцикл і заміщений гетероцикл відповідають наведеним вище визначенням.

«Тіоалкіл» відноситься до груп -S-алкіл.

«Заміщений тіоалкіл» до групи -S-(заміщений алкіл).

«Тіоамідіно» відноситься до групи $RSC(=NH)-$, де R являє собою водень або алкіл.

«Тіоарил» відноситься до групи -S-арил, і «заміщений тіоарил» відноситься до групи -S-(заміщений арил).

«Тіокарбоніламіно» відноситься до групи $-C(S)NRR$, де кожен R вибраний з групи, що складається з водню, алкілу, заміщеного алкілу, алкенілу, заміщеного алкенілу, алкінілу, заміщеного алкінілу, арилу, заміщеного арилу, циклоалкілу, заміщеного циклоалкілу, гетероарилу, заміщеного гетероарилу, гетероциклу, заміщеного гетероциклу, або де кожен R об'єднаний з утворенням разом з атомом азоту гетероциклічного або заміщеного гетероциклічного кільця, де алкіл, заміщений алкіл, алкеніл, заміщений алкеніл, алкініл, заміщений алкініл, циклоалкіл, заміщений циклоалкіл, арил, заміщений арил, гетероарил, заміщений гетероарил, гетероцикл і заміщений гетероцикл відповідають наведеним вище визначенням.

«Тіоциклоалкіл» відноситься до груп -S-циклоалкіл.

«Заміщений тіоциклоалкіл» відноситься до групи -S-(заміщений циклоалкіл).

«Тіогетероарил» відноситься до групи -S-гетероарил, і «заміщений тіогетероарил» відноситься до групи -S-(заміщений гетероарил).

«Тіогетероцикл» відноситься до групи -S-гетероцикл, і «заміщений тіогетероцикл» відноситься до групи -S-(заміщений гетероцикл).

«Тіол» відноситься до групи -SH.

«Необов'язково заміщений» означає, що зазначена група може бути незаміщеною, або зазначена група може бути заміщеною.

«Фармацевтично прийнятна сіль» відноситься до солей, що зберігають біологічну ефективність і властивості сполук за винаходом, і які не є неприйнятними з погляду біології або з іншого погляду. У багатьох випадках сполуки за винаходом здатні утворювати кислотні і/або основні солі за рахунок наявності аміно- і/або карбоксильних груп або подібних ним груп.

Фармацевтично прийнятні основно-адитивні солі можуть бути одержані з неорганічних і органічних основ. Солі, що походять з неорганічних основ, включають, винятково для прикладу, солі натрію, калію, літію, амонію, кальцію і магнію. Солі, що походять з органічних основ, включають в себе як необмежувальні приклади солі первинних, вторинних і третинних амінів, таких як алкіламіни, діалкіламіни, триалкіламіни, заміщені алкіламіни, ді(заміщений алкіл)аміни, три(заміщений алкіл)аміни, алкеніламіни, діалкеніламіни, триалкеніламіни, заміщені алкеніламіни, ді(заміщений алкеніл)аміни, три(заміщений алкеніл)аміни, циклоалкіламіни, ди(циклоалкіл)аміни, три(циклоалкіл)аміни, заміщені циклоалкіламіни, ді(заміщений циклоалкіл)аміни, три(заміщений циклоалкіл)аміни, циклоалкеніламіни, ді(циклоалкеніл)аміни, три(циклоалкеніл)аміни, заміщені циклоалкеніламіни, ді(заміщений циклоалкеніл)аміни, три(заміщений циклоалкеніл)аміни, ариламіни, діариламіни, триариламіни, гетероариламіни, дигетероариламіни, тригетероариламіни, гетероцикламіни, дигетероцикламіни, тригетероцикламіни, змішані ді- і триаміни, у яких, щонайменше, два замісники на аміні різні і вибрані з групи, що складається з алкілу, заміщеного алкілу, алкенілу, заміщеного алкенілу, циклоалкілу, заміщеного циклоалкілу, циклоалкенілу, заміщеного циклоалкенілу, арилу, гетероарилу, гетероциклу і тому подібного. Також включені аміни, у яких два або три замісники, разом з азотом аміну, утворюють гетероциклічну або гетероарильну групу.

Приклади придатних амінів включають в себе, винятково для прикладу, ізопропіламін, триметиламін, діетиламін, три(ізопропіл)аміни, три(н-пропіл)аміни, етаноламін, 2-диметиламіноетанол, трометамін, лізин, аргінін, гістидин, кофеїн, прокаїн, гідрабамін, холін, бетаїн, етилендіамін, глюкозамін, N-алкілглюкоаміни, теобромін, пурини, піперазин, піперидин, морфолін, N-етилпіперидин тощо. Також варто розуміти, що інші похідні карбонової кислоти можуть використовуватись при втіленні даного винаходу, наприклад, амідни карбонової кислоти, включаючи карбоксаміди, нижчі алкілкарбоксаміди, діалкілкарбоксаміди тощо.

Фармацевтично прийнятні кислотно-адитивні солі можуть бути одержані з неорганічних і органічних кислот. Солі, що походять з неорганічних кислот, включають в себе солі соляної кислоти, бромоводневої кислоти, сірчаної кислоти, азотної кислоти, фосфорної кислоти і подібні ним. Солі, що походять від органічних кислот, включають в себе солі оцтової кислоти, пропіонової кислоти, гліколевої кислоти, піровиноградної кислоти, щавлевої кислоти, яблучної кислоти, маленової кислоти, янтарної кислоти, малеїнової кислоти, фумарової кислоти, винної кислоти, лимонної кислоти, бензойної кислоти, коричної кислоти, мигдальної кислоти, метансульфонової кислоти, етансульфонової кислоти, п-толуолсульфонової кислоти, саліцилової кислоти тощо.

Термін «фармацевтично прийнятний катіон» відноситься катіону фармацевтично прийнятної солі.

Одержання сполук

Сполуки за винаходом можуть бути одержані з легко доступних вихідних матеріалів з використанням наступних звичайних способів і процедур. Варто розуміти, що там, де дано типові або переважні умови процесу (тобто температури взаємодії, періоди часу, молярні відношення, реагенти, розчинники, величини тиску і т.д.), можуть також використовуватись інші умови процесу, крім спеціально зазначених випадків. Оптимальні умови взаємодії можуть змінюватись з конкретними використовуваними реагентами або розчинником, але такі умови можуть визначатись фахівцем у даній галузі шляхом рутинних процедур оптимізації.

Крім того, як буде ясно фахівцям у даній галузі, загальноприйняті захисні групи можуть виявитись необхідними для запобігання небажаних взаємодій деяких функціональних груп. Придатні захисні групи для різних функціональних груп, а також придатні умови для захисту і зняття захисту конкретних функціональних груп, добре відомі в даній галузі. Наприклад, множинні захисні групи описані T. W. Greene і G. M. Wilts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, Second Edition, Wiley, New York, 1991, і в цитованих там посиланнях.

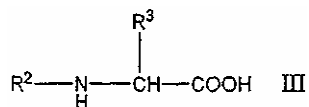
Більш того, сполуки за винаходом звичайно містять один або декілька хіральних центрів. Відповідно до цього, якщо потрібно, такі сполуки можуть бути одержані або виділені у вигляді чистих стереоізомерів, тобто у вигляді окремих енантіомерів або діастереоізомерів, або у вигляді збагачених стереоізомером сумішей. Всі такі стереоізомери (і збагачені суміші) включені в об'єм винаходу, крім зазначених інакше випадків. Чисті стереоізомери (або збагачені суміші) можуть бути одержані, наприклад, з використанням, наприклад, оптично активних вихідних матеріалів або стереоселективних реагентів, добре відомих у даній галузі. Альтернативно, рацемічні суміші таких сполук можуть бути розділені, наприклад, з використанням хіральної колонкової хроматографії, розділяючи хіральність агентів і тому подібного.

При наступному одержанні сполук R^1 , R^2 , R^3 , R^5 , R^6 і R^7 відповідають наведеним вище визначенням для формул I, IA, II, і IIA. Крім того, при наступному одержанні сполук R^1 являє собою еквівалент:

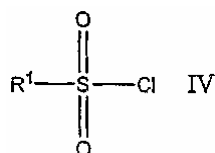
Ar^1 , як даний радикал визначений для формули IB,
 R^{21} , як даний радикал визначений для формул II і IIA, і
 Ar^{21} , як даний радикал визначений для формули IIB;
 R^2 являє собою еквівалент:
 R^{12} , як даний радикал визначений для формули IB,
 R^{22} , як даний радикал визначений для формул II і IIA, і
 R^{32} , як даний радикал визначений для формули IIB;

R^3 являє собою еквівалент:
 R^{13} , як даний радикал визначений для формули IB,
 R^{23} , як даний радикал визначений для формули II і IIA, і
 R^{33} , як даний радикал визначений для формули IIB;
 R^5 являє собою еквівалент:
 R^{25} , як даний радикал визначений для формул II і IIA; і
 R^6 являє собою еквівалент:
 OH для формул I і II,
 OR^{14} , як даний радикал визначений для формули IB,
 R^{26} , як даний радикал визначений для формули IIA, і
 OR^{34} , як даний радикал визначений для формули IIB.

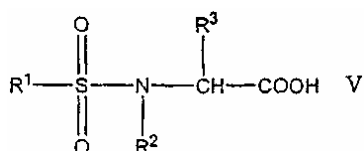
У переважному способі синтезу сполуки формул I, IA, II і IIA, в яких Q являє собою $-C(O)NR^7-$, і сполуки формул IB, IC і IIB одержують шляхом початкового приєднання амінокислоти формули III:



до сульфонілхлориду формули IV:



з одержанням N-сульфоніламінокислоти формули V:



Дану реакцію звичайно проводять шляхом взаємодії амінокислоти формули III, щонайменше, з одним еквівалентом, переважно, приблизно з 1,1-2 еквівалентами сульфонілхлориду IV в інертному розчиннику, такому як дихлорметан тощо. Загалом, взаємодію проводять при температурі, що змінюється від -70°C приблизно до 40°C протягом приблизно 1-24 годин. Переважно, дану взаємодію проводили у присутності придатної основи для нейтралізації кислоти, що утворюється під час взаємодії. Придатні основи включають в себе, наприклад, третинні аміни, такі як триетиламін, діізопропілетиламін, N-метилморфолін тощо. Альтернативно, взаємодія може проводитись в умовах типу Шоттена-Бауманна з використанням водних лугів, таких як гідроксид натрію тощо, як основу. По закінченні взаємодії одержану в результаті N-сульфоніламінокислоту V одержують загальноприйнятими способами, включаючи нейтралізацію, екстракцію, осадження, хроматографію, фільтрацію тощо.

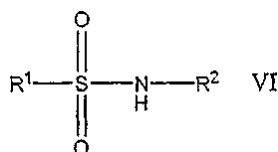
Амінокислоти формули III, використані в описаних вище взаємодіях, являють собою відомі сполуки або сполуки, що можуть бути одержані з відомих сполук у загальноприйнятих синтетичних процедурах. Приклади придатних амінокислот для застосування в даній взаємодії включають в себе як необмежувальні приклади L-пролін, транс-4-гідроксил-L-пролін, цис-4-гідроксил-L-пролін, транс-3-феніл-L-пролін, цис-3-феніл-L-пролін, L-(2-метил)пролін, L-піпекोलінову кислоту, L-азетидин-2-карбонову кислоту, L-індолин-2-карбонову кислоту, L-1,2,3,4-тетрагідроізохінолін-3-карбонову кислоту, L-тіазолідин-4-карбонову кислоту, L-(5,5-диметил)тіазолідин-4-карбонову кислоту, L-тіаморфолін-3-карбонову кислоту, гліцин, 2-трет-бутилгліцин, D,L-фенілгліцин, L-аланін, α -метилаланін, N-метил-L-фенілаланін, L-дифенілаланін, саркозин, D,L-фенілсаркозин, β -трет-бутиловий ефір L-аспарагінової кислоти, γ -трет-бутиловий ефір L-глутамінової кислоти, L-(O-бензил)серин, 1-аміноциклопропанкарбонову кислоту, 1-аміноциклобутанкарбонову кислоту, 1-аміноциклопентанкарбонову кислоту (циклолейцин), 1-аміноциклогексанкарбонову кислоту, L-серин тощо. Якщо потрібно, відповідні складні ефіри амінокислот формули III, такі як метилові складні ефіри, етилові складні ефіри і подібні ним, можуть використовуватись у зазначених вище взаємодіях із сульфонілхлоридом IV. Наступний гідроліз складноефірної групи до карбонової кислоти з використанням загальноприйнятих реагентів і умов, тобто обробки гідроксидом лужних металів в інертному розріджувачі, наприклад, суміші метанол/вода, потім надає N-сульфоніламінокислоту V.

Подібним чином, сульфонілхлориди формули IV, використані у зазначених вище взаємодіях, являють собою відомі сполуки або сполуки, що можуть бути одержані з відомих сполук у загальноприйнятих синтетичних процедурах. Такі сполуки звичайно одержують з відповідної сульфоновної кислоти, тобто зі сполук формули R^1-SO_3H , з використанням трихлориду фосфору і пентахлориду фосфорної кислоти. Дану взаємодію, загалом, проводять шляхом контактування сульфоновної кислоти приблизно з 2-5 молярними еквівалентами трихлориду фосфору і пентахлориду фосфору, у чистому вигляді або в інертному розчиннику, такому як дихлорметан, при температурі в інтервалі приблизно від 0°C до 80°C приблизно протягом 1-48 годин з одержанням сульфонілхлориду. Альтернативно, сульфонілхлорид формули IV може бути одержаний з відповідної тіолової сполуки, тобто зі сполук формули R^1-SH , шляхом обробки тіолу хлорином (Cl_2) і водою у загальноприйнятих умовах взаємодії.

Приклади сульфонілхлоридів, придатних для застосування за винаходом, включають в себе як

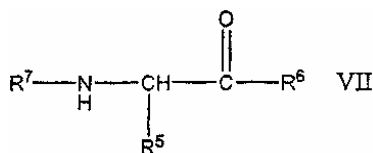
необмежувальні приклади метансульфонілхлорид, 2-пропансульфонілхлорид, 1-бутансульфонілхлорид, бензолсульфонілхлорид, 1-нафталінсульфонілхлорид, 2-нафталінсульфонілхлорид, п-толуолсульфонілхлорид, α -толуолсульфонілхлорид, 4-ацетамідобензолсульфонілхлорид, 4-амідобензолсульфонілхлорид, 4-трет-бутилбензолсульфонілхлорид, 4-бромбензолсульфонілхлорид, 2-карбоксибензолсульфонілхлорид, 4-ціанобензолсульфонілхлорид, 3,4-дихлорбензолсульфонілхлорид, 3,5-дихлорбензолсульфонілхлорид, 3,4-диметоксибензолсульфонілхлорид, 3,5-дитрифторметилбензолсульфонілхлорид, 4-фторбензолсульфонілхлорид, 4-метоксибензолсульфонілхлорид, 2-метоксикарбонилбензолсульфонілхлорид, 4-метиламідобензолсульфонілхлорид, 4-нітробензолсульфонілхлорид, 4-тіоамідобензолсульфонілхлорид, 4-трифторметилбензолсульфонілхлорид, 4-трифторметоксибензолсульфонілхлорид, 2,4,6-триметилбензолсульфонілхлорид, 2-фенілетансульфонілхлорид, 2-тіофенсульфонілхлорид, 5-хлор-2-тіофенсульфонілхлорид, 2,5-дихлор-4-тіофенсульфонілхлорид, 2-тіазолсульфонілхлорид, 2-метил-4-тіазолсульфонілхлорид, 1-метил-4-імідазолсульфонілхлорид, 1-метил-4-піразолсульфонілхлорид, 5-хлор-1,3-диметил-4-піразолсульфонілхлорид, 3-піридинсульфонілхлорид, 2-піримідинсульфонілхлорид тощо. Якщо потрібно, сульфонілфторид, сульфонілбромід або ангідрид сульфонової кислоти може використовуватись замість сульфонілхлориду в описаній вище взаємодії з утворенням N-сульфоніламінокислот формули V.

Проміжні N-сульфоніламінокислоти формули V можуть також бути одержані шляхом взаємодії сульфонаміду формули VI:



з похідним карбонової кислоти формули $\text{L}(\text{R}^3)\text{CHCOOR}^y$, в якій L являє собою відхідну групу, таку як хлор, бром, йод, мезилат, тозилат і подібні ним, і водень або алкільну групу. Дану взаємодію звичайно проводять шляхом контакту сульфонаміду VI, щонайменше, з одним еквівалентом, переважно, з 1,1-2 еквівалентами похідного карбонової кислоти у присутності придатної основи, такої як триетиламін, в інертному розчиннику, такому як DMF, при температурі, що змінюється приблизно від 24°C до 37°C, приблизно протягом 0,5-4 годин. Дана взаємодія далі описана в Zuckermann et al., J. Am. Chem. Soc, 1992, 114, 10646-10647. Переважні похідні карбонової кислоти для застосування в даній взаємодії являють собою ефіри α -хлор- і α -бромкарбонової кислоти, такі як трет-бутилбромацетат тощо. Коли ефір карбонової кислоти використовується в даній взаємодії, складноєфірну групу згодом гідролізують з використанням загальноприйнятих процедур з одержанням N-сульфоніламінокислоти формули V.

Сполуки за даним винаходом одержують потім шляхом приєднання проміжної N-сульфоніламінокислоти формули V до похідного амінокислоти формули VII:



Реакцію приєднання звичайно проводять з використанням добре відомих реагентів приєднання, таких як карбодііміди, реагенти BOP (гексафторфосфонат бензотриазол-1-ілокси-трис(диметиламіно)фосфонію) тощо. Придатні карбодііміди включають в себе, наприклад, дициклогексилкарбодіімід (DCC), 1-(3-диметиламінопропіл)-3-етилкарбодіімід (EDC) тощо. Якщо потрібно, можуть також використовуватись види карбодіімідових реагентів приєднання на полімерній основі, наприклад, описані в Tetrahedron Letters, 34 (48) 7685 (1993). Крім того, добре відомі речовини, що сприяють приєднанню, такі як N-гідроксисукцинімід, 1-гідроксибензотриазол і подібні ним, можуть використовуватись для полегшення реакції приєднання.

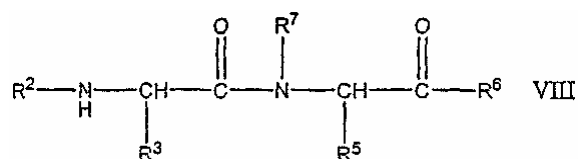
Дана реакція приєднання звичайно проводиться шляхом контакту N-сульфоніламінокислоти V приблизно з 1-2 еквівалентами реагенту приєднання і, щонайменше, з одним еквівалентом, переважно, приблизно 1-1,2 еквівалента похідного амінокислоти VII в інертному розчиннику, такому як дихлорметан, хлороформ, ацетонітрил, тетрагідрофур, N,N-диметилформамід тощо. Загалом, дану взаємодію проводять при температурі, що змінюється приблизно від 0°C до 37°C, приблизно протягом 12-24 годин. По закінченні взаємодії сполуку за даним винаходом одержують загальноприйнятими способами, включаючи нейтралізацію, екстракцію, осадження, хроматографію, фільтрацію тощо.

Альтернативно, N-сульфоніламінокислота V може перетворюватись в галогенід кислоти, і галогенід кислоти може приєднуватись до похідного амінокислоти VII для надання сполук за даним винаходом. Галогенід кислоти V може бути одержаний шляхом контакту V з галогенідом неорганічної кислоти, таким як тіонілхлорид, трихлорид фосфору, трибромід фосфору або пентахлорид фосфору, або, переважно, з оксалілхлоридом у звичайних умовах. Загалом, дану взаємодію проводили з використанням приблизно від 1 до 5 молярних еквівалентів галогеніду неорганічної або кислоти оксалілхлориду, у чистому вигляді або в інертному розчиннику, такому як дихлорметан або чотирихлористий вуглець, при температурі, що змінюється приблизно від 0°C до 80°C, приблизно протягом 1-48 годин. У даній взаємодії також може застосовуватись каталізатор, такий як DMF.

Галогенід N-сульфоніламінокислоти V потім приводять у контакт, щонайменше, з одним еквівалентом, переважно, приблизно 1,1-1,5 еквівалента похідного амінокислоти VII в інертному розчиннику, такому як дихлорметан, при температурі, що змінюється приблизно від -70°C до 40°C, приблизно протягом 1-24 годин. Переважно, дану взаємодію проводять у присутності придатної основи для нейтралізації кислоти,

утвореної під час взаємодії. Придатні основи включають в себе, наприклад, третинні аміни, такі як триетиламін, діізопропілетиламін, N-метилморфолін і подібні ним. Альтернативно, взаємодія може проводитись в умовах типу Шоттена-Бауманна, з використанням водних лугів, таких як гідроксид натрію тощо. По закінченні даної взаємодії сполуку за даним винаходом одержують загальноприйнятими способами, включаючи нейтралізацію, екстракцію, осадження, хроматографію, фільтрацію тощо.

Альтернативно, сполуки за даним винаходом можуть бути одержані шляхом утворення спочатку похідного діамінокислоти формули VIII:



Похідні діамінокислоти формули VIII можна легко одержати шляхом приєднання амінокислоти формули III до похідного амінокислоти формули VII з використанням загальноприйнятих способів і реагентів для приєднання амінокислот, таких як карбодіміди, реагент BOP тощо, як описано вище. Діамінокислота VIII потім може сульфонуватись з використанням сульфонілхлориду формули IV і з використанням процедур синтезу, описаних вище, з наданням сполуки за даним винаходом.

Похідні амінокислоти формули VII, використані в зазначених вище взаємодіях, являють собою відомі сполуки або сполуки, що можуть бути одержані з відомих сполук шляхом загальноприйнятих процедур синтезу. Наприклад, похідні амінокислоти формули VII можуть бути одержані шляхом С-алкілювання комерційно доступного діетил-2-ацетамідомалонату (Aldrich, Мілуоки, Вісконсин, США) галогенідом алкілу або заміщеного алкілу. Дану взаємодію звичайно проводять шляхом обробки діетил-2-ацетамідомалонату, щонайменше, одним еквівалентом етоксиду натрію і, щонайменше, одним еквівалентом галогеніду алкілу або заміщеного алкілу в етанолі, що кипить зі зворотним холодильником, приблизно протягом 6-12 годин. Одержаний у результаті С-алкілований малонат потім дезацетилують, гідролізують і декарбоксилують шляхом нагрівання у водній соляній кислоті зі зворотним холодильником протягом приблизно 6-12 годин з наданням амінокислоти, звичайно у вигляді солі соляної кислоти.

Приклади похідних соляної кислоти формули VII, придатних для застосування у зазначених вище взаємодіях, включають як необмежувальні приклади метиловий ефір L-тироzinу, метиловий ефір L-3,5-дйодтироzinу, метиловий ефір L-3-йодтироzinу, метиловий ефір β-(4-гідроксинафт-1-іл)-L-аланіну, метиловий ефір β-(6-гідроксинафт-2-іл)-L-аланіну, тощо. Якщо потрібно, також, звичайно, можуть використовуватись інші складні ефіри або аміді описаних вище сполук.

Для простоти синтезу сполуки за даним винаходом звичайно одержують у вигляді складного ефіру, тобто де R⁶ являє собою алкокси- або заміщену алкоксигрупу тощо. Якщо потрібно, складноефірна група може гідролізуватись з використанням загальноприйнятих умов і реагентів з наданням відповідної карбонової кислоти. Звичайно дану реакцію проводять шляхом обробки складного ефіру, щонайменше, одним еквівалентом гідроксиду лужного металу, такого як гідроксид літію, натрію або калію, в інертному розчиннику, такому як метанол або суміші метанолу і води, при температурі, що змінюється приблизно від 0°C до 24°C, приблизно протягом 1-10 годин. Альтернативно, складні ефіри бензилу можуть видалятись шляхом гідрування з використанням паладієвого каталізатора, такого як паладій на вуглі. Одержані в результаті карбонові кислоти можуть приєднуватись, якщо потрібно, до амінів, таких як етиловий ефір β-аланіну, до гідроксіамінів, таких як гідроксіамін і N-гідроксисукцинімід, до алкоксіамінів і заміщених алкоксіамінів, таких як О-метилгідроксиамін і О-бензилгідроксиамін, тощо, з використанням загальноприйнятих реагентів і умов для приєднання, описаних вище.

Як зрозуміло фахівцям у даній галузі, інші функціональні групи, що є присутніми на якому-небудь із замісників сполук за даним винаходом, можуть легко модифікуватись або дериватизуватись до або після зазначених вище реакцій приєднання з використанням добре відомих синтетичних процедур. Наприклад, нітрогрупа, що є присутною на заміснику сполуки за даним винаходом, або її проміжна сполука може бути легко відновлена шляхом гідрування у присутності паладієвого каталізатора, такого як паладій на вуглі, з наданням відповідної аміногрупи. Дану взаємодію звичайно проводять при температурі від 20°C до 50°C, приблизно протягом 6-24 годин в інертному розчиннику, такому як метанол. Сполуки, що мають нітрогрупу, наприклад, на заміснику R³, можуть бути одержані, наприклад, шляхом використання похідного 4-нітрофенілаланіну і тому подібного в описаних вище реакціях приєднання.

Подібним чином, піридинна група може гідруватись у присутності платинового каталізатора, такого як оксид платини, у кислому розчиннику із забезпеченням відповідного піперидинільного аналога. Загалом, дану взаємодію проводять шляхом обробки піридинової сполуки воднем при тиску, що змінює приблизно від 20 фунтів на кв.дюйм до 60 фунтів на кв.дюйм, переважно, приблизно 40 фунтів на кв.дюйм, у присутності каталізатора при температурі, що приблизно дорівнює від 20°C до 50°C, приблизно протягом 2-24 годин у кислому розчиннику, наприклад, у суміші метанолу і водної соляної кислоти. Сполуки, що мають піридинну групу, можуть бути легко одержані шляхом використання, наприклад, похідних β-(2-піридил)-, β-(3-піридил)- або β-(4-піридил)-L-аланіну в описаних вище реакціях приєднання.

Крім того, коли замісник сполуки за даним винаходом або його проміжна сполука містить первинну або вторинну аміногрупу, такі аміногрупи можуть бути далі дериватизовані до або після описаних вище реакцій приєднання для забезпечення, наприклад, амідів, сульфонамідів, сечовин, тіосечовин, карбаматів, вторинних або третинних амінів і тому подібного. Сполуки, що мають первинну аміногрупу на такому заміснику, можуть бути одержані, наприклад, шляхом відновлення відповідної нітросполуки, як описано вище. Альтернативно, такі сполуки можуть бути одержані шляхом використання похідних амінокислоти формули VII, що походять від лізину, 4-амінофенілаланіну і тому подібного у зазначених вище реакціях приєднання.

Для ілюстрації, сполука за даним винаходом або її проміжна сполука, що має замісник, який містить

первинну або вторинну аміногрупу, може бути легко N-ацильована з використанням загальноприйнятих ацилюючих реагентів і умов із забезпеченням відповідного аміду. Дана реакція ацилювання звичайно проводиться шляхом обробки аміно-сполуки, щонайменше, одним еквівалентом, переважно, приблизно 1,1-1,2 еквіваленти карбонової кислоти у присутності реагенту для приєднання, такого як карбодіїмід, реагент BOP (гексафторфосфонат бензотриазол-1-ілокси-трис(диметиламіно)фосфонію) тощо, в інертному розчиннику, такому як дихлорметан, хлороформ, ацетонітрил, тетрагідрофуран, N,N-диметилформамід тощо, при температурі, що змінюється приблизно від 0°C до 37°C, приблизно протягом 4-24 годин. Переважно, сполука, що сприяє, така як N-гідроксисукцинімід, 1-гідроксibenзотриазол тощо, використовують для полегшення реакції ацилювання. Приклади карбонових кислот, придатних для застосування в даній взаємодії, включають в себе як необмежувальні приклади N-трет-бутилоксикарбонілгліцин, N-трет-бутилоксикарбоніл-L-фенілаланін, бензиловий ефір N-трет-бутилоксикарбоніл-L-аспарагінової кислоти, бензойну кислоту, N-трет-бутилоксикарбонілізоніпекотинову кислоту, N-метилізоніпекотинову кислоту, N-трет-бутилоксикарбонілніпекотинову кислоту, N-третбутилоксикарбоніл-L-тетрагідроізохінолін-3-карбонову кислоту, N-(толуол-4-сульфоніл)-L-пролін тощо.

Альтернативно, сполука за даним винаходом або її проміжна сполука, що має замісник, який містить первинну або вторинну аміногрупу, може бути N-ацильована з використанням ацилгалогеніду або ангідриду карбонової кислоти з утворенням відповідного аміду. Дану реакцію звичайно проводять шляхом контакту аміно-сполуки, щонайменше, з одним еквівалентом, переважно, приблизно 1,1-1,2 еквіваленти ацилгалогеніду або ангідриду карбонової кислоти в інертному розчиннику, такому як дихлорметан, при температурі від -70°C до 40°C, приблизно протягом 1-24 годин. Якщо потрібно, каталізатор ацилювання, такий як 4-(N,N-диметиламіно)піридин, може використовуватись для реакції ацилювання. Реакцію ацилювання переважно проводять у присутності придатної основи для нейтралізації кислоти, утвореної під час взаємодії. Придатні основи включають в себе, наприклад, третинні аміни, такі як триетиламін, діізопропілетиламін, N-метилморфолін тощо. Альтернативно, взаємодія може проводитись в умовах типу Шоттена-Бауманна з використанням водного лугу, такий як гідроксид натрію тощо.

Приклади ацилгалогенідів і ангідридів карбонової кислоти, придатних для застосування в даній взаємодії, включають в себе як необмежувальні приклади 2-метилпропіонілхлорид, триметилацетилхлорид, фенілацетилхлорид, бензоїлхлорид, 2-бромбензоїлхлорид, 2-метилбензоїлхлорид, 2-трифторметилбензоїлхлорид, ізонікотиніолхлорид, нікотиніолхлорид, піколіноілхлорид, оцтовий ангідрид, янтарний ангідрид тощо. Карбамілхлориди, такі як N,N-диметилкарбамілхлорид, N,N-діетилкарбамілхлорид тощо, також можуть використовуватись в даній взаємодії для надання сечовин. Подібним чином, дикарбонати, такі як ди-трет-бутилдикарбонат, можуть використовуватись для надання карбаматів.

Подібним чином, сполука за даним винаходом або її проміжна сполука, що містить первинну або вторинну аміногрупу, може бути N-сульфонована з утворенням сульфонаміду з використанням сульфонілгалогеніду або ангідриду сульфенової кислоти. Сульфонілгалогеніди й ангідриди сульфенової кислоти, придатних для застосування в даній взаємодії, включають в себе як необмежувальні приклади метансульфонілхлорид, хлорметансульфонілхлорид, п-толуолсульфонілхлорид, трифторметансульфаміновий ангідрид тощо. Подібним чином, сульфаміолхлориди, наприклад, диметилсульфаміолхлорид, можуть використовуватись для надання сульфамідів (наприклад, >N-SO₂-N<).

Крім того, первинна і вторинна аміногрупа, що є присутніми на заміснику сполуки за даним винаходом або її проміжній сполуці, може підлягати взаємодії з ізоціанатом або тіоізоціанатом з одержанням сечовини або тіосечовини, відповідно. Дану взаємодію звичайно проводять шляхом контакту аміно-сполуки, щонайменше, з одним еквівалентом, переважно, приблизно 1,1-1,2 еквіваленти ізоціанату або тіоізоціанату в інертному розчиннику, такому як толуол тощо, при температурі від 24°C до 37°C, приблизно протягом 12-24 годин. Ізоціанати і тіоізоціанати, використовувані в даній взаємодії, комерційно доступні або можуть бути одержані з комерційно доступних сполук з використанням добре відомих процедур синтезу. Наприклад, ізоціанати і тіоізоціанати легко одержати шляхом взаємодії придатного аміну з фосгеном або тіофосгеном. Приклади ізоціанатів і тіоізоціанатів, придатних для застосування в даній взаємодії, включають в себе як необмежувальні приклади етилізоціанат, n-пропілізоціанат, 4-ціанофенілізоціанат, 3-метоксифенілізоціанат, 2-фенілетилізоціанат, метилтіоізоціанат, етилтіоізоціанат, 2-фенілетилтіоізоціанат, 3-фенілпропілтіоізоціанат, 3-(N,N-діетиламіно)пропілтіоізоціанат, фенілтіоізоціанат, бензилтіоізоціанат, 3-піридилтіоізоціанат, флуоресцеїн-ізоціанат (ізомер L) тощо.

Більш того, коли сполука за даним винаходом або її проміжна сполука містить первинну або вторинну аміногрупу, дана аміногрупа може піддаватись відновному алкілюванню з використанням альдегідів або кетонів з утворенням вторинної або третинної аміногрупи. Дану взаємодію звичайно проводять шляхом контакту аміно-сполуки, щонайменше, з одним еквівалентом, переважно, приблизно з 1,1-1,5 еквіваленти альдегіду або кетону, і, щонайменше, одного еквівалента, стосовно аміно-сполуки, відновлювального агента гідриду металу, такого як ціаноборогідрид натрію, в інертному розчиннику, такому як метанол, тетрагідрофуран, їх суміші тощо, при температурі, що змінюється від 0°C до 50°C, приблизно протягом 1-72 годин. Альдегіди і кетони, придатні для застосування в даній взаємодії, включають в себе, наприклад, бензальдегід, 4-хлорбензальдегід, валеральдегід тощо.

Подібним чином, коли сполука за даним винаходом або її проміжна сполука має замісник, що містить гідроксильну групу, гідроксильна група може далі модифікуватись або дериватизуватись до або після зазначених вище реакцій приєднання для надання, наприклад, простих ефірів, карбаматів тощо. Сполуки формул I і II, що мають гідроксильну групу на заміснику R⁵, наприклад, можуть одержуватись з використанням похідного амінокислоти формули VII, що походить від тирозину і тому подібного, в описаних вище взаємодіях.

Наприклад, коли сполука за даним винаходом або її проміжна сполука має замісник, що містить гідроксильну групу, гідроксильна група може легко O-алкілюватись з утворенням простих ефірів. Дану реакцію O-алкілювання звичайно проводять шляхом контакту гідроксисполуки з придатною основою лужного або лужноземельного металу, такого як карбонат калію, в інертному розчиннику, такому як ацетон, 2-бутанон тощо, з утворенням солі лужного або лужноземельного металу гідроксильною групою. Дану сіль, в основному, не виділяють, але проводять взаємодію *in situ*, щонайменше, з одним еквівалентом галогеніду

або сульфонату алкілу або заміщеного алкілу, такого як хлорид, бромід, йодид, мезилат або тозилат алкілу, з одержанням простого ефіру. Загалом, дану взаємодію проводять при температурі, що змінюється від 60°C до 150°C, приблизно протягом 24-72 годин. Переважно, каталітична кількість йодиду або натрію калію додають до реакційної суміші, коли при взаємодії використовують хлорид або бромід алкілу.

Необмежувальні приклади галогенідів і сульфонатів алкілу або заміщеного алкілу, придатних для застосування в даній взаємодії, включають в себе трет-бутилбромацетат, N-трет-бутилхлорацетамід, 1-брометилбензол, етил- α -бромфенілацетат, 2-(N-етил-N-феніламіно)етилхлорид, 2-(N,N-етиламіно)етилхлорид, 2-(N,N-діізопропіламіно)етилхлорид, 2-(N,N-добензиламіно)етилхлорид, 3-(N,N-етиламіно)пропілхлорид, 3-(N-бензил-N-метиламіно)пропілхлорид, N-(2-хлоретил)морфолін, 2-(гексаметиленіміно)-етилхлорид, 3-(N-метилпіперазин)пропілхлорид, 1-(3-хлорфеніл)-4-(3-хлорпропіл)піперазин, 2-(4-гідрокси-4-фенілпіперидин)етилхлорид, N-трет-бутилоксикарбоніл-3-піперидинметилтозилат тощо.

Альтернативно, гідроксильна група, що є присутньою на заміснику сполуки за даним винаходом або її проміжної сполуки, може підлягати О-алкілюванню з використанням реакції Міцунобу. У даній взаємодії спирт, такий як 3-(N,N-диметиламіно)-1-пропанол тощо, взаємодіє приблизно з 1,0-1,3 еквіваленти трифенілфосфіну і приблизно 1,0-1,3 еквіваленти діетилазидикарбоксилату в інертному розчиннику, такому як тетрагідрофуран, при температурі, що змінюється від -10°C до 5°C, приблизно протягом 0,25-1 години. Приблизно 1,0-1,3 еквіваленти гідрокси-сполуки, такої як метиловий ефір N-трет-бутилтирозину, потім додають, і реакційну суміш перемішують при температурі приблизно від 0°C до 30°C приблизно протягом 2-48 годин із забезпеченням О-алкілюваного продукту.

Подібним чином, сполука за даним винаходом або її проміжна речовина, що містить арилгідроксигрупу, може піддаватись взаємодії з арильйодидом для надання простого ефіру діарилу. Загалом, дану взаємодію проводять шляхом утворення солі лужного металу гідроксильною групою, з використанням придатної основи, такої як гідрід натрію, в інертному розчиннику, такому як ксилени, при температурі приблизно від -25°C до 10°C. Сіль потім обробляють приблизно 1,1-1,5 еквіваленти комплексу броміду одновалентної міді і диметилсульфіду при температурі, що змінюється від 10°C до 30°C, приблизно протягом 0,5-2,0 годин, з наступним введенням приблизно 1,1-1,5 еквіваленти арильйодиду, такого як 2-йодбензоат натрію, і тому подібного. Реакційну суміш потім нагрівають приблизно до 70°C-150°C приблизно протягом 2-24 годин для надання простого ефіру діарилу.

Крім того, сполука, що містить гідроксигрупу, може також легко дериватизуватись з утворенням карбамату. В одному з способів одержання таких карбаматів гідрокси-сполука за даним винаходом або її проміжна речовина контактує приблизно з 1,0-1,2 еквіваленти 4-нітрофенілхлорформіату в інертному розчиннику, такому як дихлорметан, при температурі, що змінюється приблизно від -25°C до 0°C, приблизно протягом 0,5-2,0 години. Обробка одержаного в результаті карбонату надлишком, переважно, приблизно 2-5 еквівалентами триалкіламіну, такого як триетиламін, приблизно протягом 0,5-2 годин, з наступною обробкою приблизно 1,0-1,5 еквіваленти первинного або вторинного аміну, надає карбамат. Приклади амінів, придатних для застосування в даній взаємодії, включають в себе як необмежувальні приклади піперазин, 1-метилпіперазин, 1-ацетилпіперазин, морфолін, тіоморфолін, піролідін, піперидин тощо.

Альтернативно, в іншому способі одержання карбаматів сполука, що містить гідроксигрупу, контактує приблизно з 1,0-1,5 еквіваленти карбамілхлориду в інертному розчиннику, наприклад, дихлорметані, при температурі, що змінюється приблизно від 25°C до 70°C, приблизно протягом 2-72 годин. Звичайно дану взаємодію проводять у присутності придатної основи для нейтралізації кислоти, утвореної під час взаємодії. Придатні основи включають в себе, наприклад, третинні аміни, такі як триетиламін, діізопропілетиламін, N-метилморфолін тощо. Крім того, щонайменше, один еквівалент (по відношенню до гідрокси-сполуки) 4-(N,N-диметиламіно)піридину переважно додають до реакційної суміші для полегшення взаємодії. Приклади карбамілхлоридів, придатних для застосування в даній взаємодії, включають в себе, наприклад, диметилкарбамілхлорид, діетилкарбамілхлорид і подібні ним.

Також, коли сполука за даним винаходом або її проміжна сполука містить первинну або вторинну гідроксильну групу, такі гідроксильні групи можуть легко перетворюватись у відхідну групу і заміщатись з утворенням, наприклад, амінів, сульфідів і фторидів. Наприклад, похідні 4-гідрокси-L-проліну можуть перетворюватись у відповідні похідні 4-аміно-, 4-тіо- або 4-фтор-L-проліну шляхом нуклеофільного заміщення дериватизованої гідроксильної групи. Загалом, коли в даних взаємодіях використовується хіральна сполука, стереохімія атома вуглецю, приєднаного до дериватизованої гідроксильної групи, звичайно змінюється на протилежну.

Дані взаємодії звичайно проводяться шляхом вихідного перетворення гідроксильної групи у відхідну групу, таку як тозилат, шляхом обробки гідрокси-сполуки, щонайменше, одним еквівалентом сульфонілгалогеніду, такого як п-толуолсульфонілхлорид тощо, у піридині. Дану взаємодію, в основному, проводять при температурі, яка приблизно дорівнює від 0°C до 70°C, приблизно протягом 1-48 годин. Одержаний в результаті тозилат може потім легко заміщатись азидом натрію, наприклад, шляхом контакту тозилату, щонайменше, з одним еквівалентом азиду натрію в інертному розчиннику, такому як суміш N,N-диметилформаміду і води, при температурі, що змінюється приблизно від 0°C до 37°C, приблизно протягом 1-12 годин з наданням відповідного азидо-сполуки. Азидна група може потім відновлюватись, наприклад, шляхом гідрогенування з використанням каталізатора паладію на вуглєці з наданням аміно(-NH₂)-сполуки.

Подібним чином, група тозилату може бути легко заміщена тіолом з утворенням сульфідів. Дану взаємодію звичайно проводять шляхом контакту тозилату, щонайменше, з одним еквівалентом тіолу, такого як тіофенол, у присутності придатної основи, такої як 1,8-діазабіцикло[5.4.0]ундец-7-ен (DBU), в інертному розчиннику, такому як N,N-диметилформамід, при температурі приблизно від 0°C до 37°C приблизно протягом 1-12 годин з наданням сульфідів. Крім того, обробка тозилату трифторидом морфоліносірки в інертному розчиннику, такому як дихлорметан, при температурі, що змінюється приблизно від 0°C до 37°C, приблизно протягом 12-24 годин, дає відповідну сполуку фтору.

Більш того, сполука за даним винаходом або її проміжна сполука, що має замісник, який містить йодоарильну групу, наприклад, коли R⁵ формул I або II являє собою (4-йодфеніл)метильну групу, може

легко перетворюються до або після реакцій приєднання в біарильну сполуку. Звичайно дану взаємодію проводять шляхом обробки йодоарильної сполуки приблизно 1,1-2 еквівалентами йодиду арилцинку, такого як йодид 2-(метоксикарбоніл)фенілцинку, у присутності паладієвого каталізатора, такого як тетра(трифенілфосфін)паладію, в інертному розчиннику, такому як тетрагідрофуран, при температурі, що змінюється приблизно від 24°C до 30°C до закінчення взаємодії. Дана взаємодія далі описана, наприклад, у Rieke, J. Org. Chem. 1991, 56, 1445.

У деяких випадках сполуки за даним винаходом або їх проміжні сполуки можуть містити замісники, що мають один або кілька атомів сірки. Такі атоми сірки присутні, наприклад, коли амінокислота формули III, використовувана в описаних вище взаємодіях, походить від L-тіазолідин-4-карбонової кислоти, L-(5,5-диметил)тіазолідин-4-карбонової кислоти, L-тіаморфолін-3-карбонової кислоти і тому подібного. Коли вони присутні, такі атоми сірки можуть окислятися до або після описаних вище реакцій приєднання для надання сполуки сульфоксиду або сульфону з використанням загальноприйнятих реагентів і умов взаємодії. Придатні реагенти для окислювання сульфідної сполуки до сульфоксиду включають в себе, наприклад, пероксид водню, 3-хлорпероксибензойну кислоту (MCPBA), періодат натрію тощо. Реакцію окислювання звичайно проводять шляхом контакту сульфідної сполуки приблизно з 0,95-1,1 еквівалента окислювального реагенту, в інертному розчиннику, такому як дихлорметан, при температурі, що змінюється приблизно від -50°C до 75°C, приблизно протягом 1-24 годин. Одержаний в результаті сульфоксид може далі окислятися до відповідного сульфону шляхом контакту сульфоксиду, щонайменше, з одним додатковим еквівалентом окислювального реагенту, такого як пероксид водню, MCPBA, перманганат калію тощо. Альтернативно, сульфен може бути одержаний безпосередньо шляхом контакту сульфідів, щонайменше, із двома еквівалентами і, переважно, з надлишком окислювального реагенту. Такі взаємодії описані далі в March, "Advanced Organic Chemistry", 4th Ed., pp. 1202-1202, Wiley Publishers, (1992).

Як описано вище, сполуки за даним винаходом, що мають замісник R², який відрізняється від водню, можуть бути одержані з використанням N-заміщеної амінокислоти формули III, такої як саркозин, N-метил-L-феніланілін і тому подібні, в описаних вище реакціях приєднання. Альтернативно, такі сполуки можуть бути одержані шляхом N-алкілювання сульфонамідів формули I або V (де R² являє собою водень) з використанням загальноприйнятих процедур синтезу. Звичайно, дана реакція N-алкілювання проводиться шляхом контакту сульфонамідів, щонайменше, з одним еквівалентом, переважно, 1,1-2 еквівалентами галогеніду алкілу або заміщеного алкілу у присутності придатної основи, такої як карбонат калію, в інертному розчиннику, такому як ацетон, 2-бутанон тощо, при температурі, що змінюється приблизно від 35°C до 70°C, приблизно протягом 2-48 годин. Приклади галогенідів алкілу або заміщеного алкілу, придатних для застосування в даній взаємодії, включають в себе як необмежувальні приклади метилйодид тощо.

Крім того, сульфонаміди формули I або V, де R² являє собою водень, і R¹ являє собою 2-алкоксикарбоніларильну групу, можуть піддаватися внутрішньомолекулярній циклізації з утворенням похідних 1,2-бензізотіазол-3-ону і їх аналогів. Дану взаємодію звичайно проводять шляхом обробки сульфонамідів, такого як бензиловий ефір N-(2-метоксикарбонілфенілсульфоніл)гліцин-L-феніланіліну, приблизно 1,0-1,5 еквіваленти придатної основи, такої як гідррид лужного металу, в інертному розчиннику, такому як тетрагідрофуран, при температурі, що змінюється приблизно від 0°C до 30°C, приблизно протягом 2-48 годин з одержанням циклізованого похідного 1,2-бензізотіазол-3-ону.

Нарешті, сполуки формули I або II, де Q являє собою -C(S)NR⁷-, одержують шляхом використання похідного амінотіонокислоти замість амінокислоти III в описаних вище процедурах синтезу. Такі похідні амінотіонокислоти можуть бути одержані шляхом процедур, описаних у Shalaky et al. J.Org.Chem., 61: 9045-9048 (1996) і Brain et al., J.Org.Chem., 62: 3808-3809 (1997), і в цитованих у даних джерелах посиланнях.

4.1.2. Фармацевтичні препарати сполук

Загалом, сполуки за даним винаходом вводять у терапевтично ефективній кількості кожним із прийнятих для даних сполук способів введення. Сполуки можна вводити різними шляхами, включаючи, як необмежувальні приклади, пероральний, парентеральний (наприклад, підшкірний, субдуральний, внутрішньовенний, внутрішньом'язовий, інтратекальний, внутрішньочеревинний, інтрацеребральний, внутрішньоартеріальний шляхи введення або шлях введення в осередок ушкодження), місцевий, інтраназальний, локалізований (наприклад, хірургічний компрес або хірургічний супозиторій), ректальний і легеневий (наприклад, аерозолі, інгаляція або порошок). Відповідно, дані сполуки ефективні у вигляді композицій для ін'єкції і перорального застосування. Сполуки можуть вводитись шляхом інфузії або шляхом болюсної ін'єкції. Переважно, сполуки вводять парентеральними шляхами. Більш переважно, сполуки вводять внутрішньовенними шляхами. Такі композиції одержують способом, добре відомим в галузі фармації.

Діюча кількість сполуки за даним винаходом, тобто активного інгредієнту, залежить від деякої кількості факторів, таких як тяжкість захворювання, тобто, або стан захворювання, асоційований з демієлінізацією, або параліч, асоційований з демієлінізацією, що підлягає лікуванню, вік і відносний стан здоров'я суб'єкта, сильності використовуваної сполуки, шлях і форма введення та інших факторів.

Токсичність і терапевтична ефективність таких сполук може визначатись шляхом стандартних фармацевтичних процедур у клітинних культурах або на експериментальних тваринах, наприклад, для визначення LD₅₀ (دوز, летальної для 50% популяції) і ED₅₀ (دوز, терапевтично ефективної для 50% популяції). Відношення дози між токсичними і терапевтичними ефектами являє собою терапевтичний індекс, і він може виражатись як відношення LD₅₀/ED₅₀. Сполуки, що характеризуються високим терапевтичним індексом, є переважними.

Дані, одержані з аналізів на клітинних культурах і досліджень на тваринах, можуть використовуватись для складання інтервалу дозування для застосування на людях. Дозування таких сполук переважно знаходиться в інтервалі циркулюючих концентрацій, що включають в себе ED₅₀ з малою або відсутньою токсичністю. Дане дозування може змінюватись в межах даного інтервалу в залежності від використаної дозованої форми і задіяного шляху введення. Для будь-якої сполуки, використаної за способом винаходу, терапевтично ефективну дозу можна оцінити першопочатково за аналізами клітинної культури. Доза може визначатись на експериментальних тваринах для досягнення інтервалу циркулюючих у плазмі

концентрацій, що включає в себе IC_{50} (тобто концентрація тестованої сполуки, при якій досягається половина від максимального інгібування симптомів), визначену на клітинних культурах. Таку інформацію можна використовувати при більш акуратному визначенні доз, що можуть використовуватись на людях. Рівень у плазмі може вимірюватись, наприклад, шляхом високоефективної рідинної хроматографії. Ефективний рівень у крові сполук за даним винаходом переважно перевищує значення 10нг/мл або дорівнює йому.

Кількість фармацевтичної композиції, що вводиться пацієнту, змінюється в залежності від того, що вводиться, від мети введення, профілактичної або терапевтичної, стану пацієнта, способу введення і тому подібного. У терапевтичних застосуваннях композиції вводять пацієнту, що вже страждає від захворювання, у кількості, достатній для лікування або, щонайменше, часткового запобігання симптомів захворювання і його ускладнень. Кількість, що відповідає здійсненню цього, визначається як «терапевтично ефективна доза». Кількості, ефективні для даного застосування, залежать від патологічного стану, що підлягає лікуванню, а також від судження клініциста, який спостерігає, що залежить від таких факторів, як тяжкість запалення, вік, маса тіла і загальний стан пацієнта, тощо.

Композиції, що вводяться пацієнту, знаходяться у вигляді описаних вище фармацевтичних композицій. Дані композиції можуть стерилізуватись загальноприйнятими способами стерилізації, або можуть стерильно фільтруватись. Одержані в результаті водні розчини можуть упаковуватись для застосування в тому вигляді, як вони є, або ліофілізуватись, причому ліофілізовані препарати комбінуються зі стерильним водним носієм перед введенням. рН препаратів сполуки звичайно складає від 3 до 11, більш переважно, від 5 до 9 і, найбільш переважно, від 7 до 8. Варто розуміти, що застосування деяких зі слідуючих далі наповнювачів, носіїв або стабілізаторів приводить до утворення фармацевтичних солей.

Активна сполука ефективна в широкому інтервалі дозувань і, в основному, вводиться у фармацевтично або терапевтично ефективній кількості. Терапевтичне дозування сполук за даним винаходом змінюється, наприклад, відповідно до конкретного застосування, при якому проводиться лікування, способу введення сполуки, здоров'я і стану пацієнта, і судження лікаря, що призначає. Наприклад, для внутрішньовенного введення доза звичайно знаходиться в інтервалі приблизно від 20мкг до 500мкг на кілограм маси тіла, переважно, приблизно від 100мкг до 300мкг на кілограм маси тіла. Придатні інтервали дозування для інтраназального введення, загалом, складають приблизно від 0,1мг до 1мг на кілограм маси тіла. Ефективні дози можуть екстраполюватись з кривих доза-відповідь, що походять з тест-систем *in vitro* або тест-систем, оснований на експериментальних тваринах. Звичайно клініцист вводить сполуку, доки дозування не досягає необхідного ефекту.

При використанні як фармацевтичного засобу сполуки за даним винаходом звичайно вводять у вигляді фармацевтичних композицій. Винахід також відноситься до фармацевтичних композицій, що містять як активний інгредієнт одну або декілька описаних вище сполук за даним винаходом, що асоційовані з одним або декількома фармацевтично прийнятими носіями або наповнювачами. Використовуваний наповнювач звичайно підходить для введення людям або іншим ссавцям. При одержанні композицій за винаходом, активний інгредієнт звичайно змішують з наповнювачем, розбавляють наповнювачем або вкладають у носій, що може бути у вигляді капсули, пакетика, паперу або іншого контейнера. Коли наповнювач слугує як розчинник, він може бути твердою, напівтвердою або рідкою речовиною, що діє як несучий засіб, носій або середовище для активного інгредієнту. Таким чином, композиції можуть знаходитись у вигляді таблеток, пігулок, порошків, коржів, пакетиків, облаток, еліксирів, суспензій, емульсій, розчинів, сиропів, аерозолів (у твердому або рідкому середовищі), мазей, що містять, наприклад, до 10% по масі активної сполуки, м'яких і твердих желатинових капсул, супозиторіїв, стерильних розчинів для ін'єкцій і стерильних упакованих порошків.

При одержанні препарату може бути необхідним перемелювання активної сполуки для забезпечення придатного розміру частинок перед комбінацією з іншими інгредієнтами. Якщо активна сполука по суті нерозчинна, її звичайно перемелюють до розміру частинок менше 200 меш. Якщо активна сполука по суті водорозчинна, розмір частинок звичайно доводять шляхом помелу для забезпечення по суті однорідного розподілу в препараті, наприклад, приблизно, 40меш.

Деякі приклади придатних наповнювачів включають в себе лактозу, декстрозу, сахарозу, сорбіт, маніт, крохмалі, аравійську камедь, фосфат кальцію, альгінати, трагакант, желатин, силікат кальцію, мікрокристалічну целюлозу, полівінілпіролідон, целюлозу, стерильну воду, сироп і метилцелюлозу. Препарати можуть, крім того, включати в себе: лубриканти, такі як тальк, стеарат магнію і мінеральна олія; зволожуючі засоби; емульгуючі і суспендууючі засоби; консерванти, такі як метил- і пропілгідроксибензоати; підсолоджувачі; і смакові домішки. Композиції за винаходом можуть бути складені так, що забезпечується швидке, уповільнене або затримане вивільнення активного інгредієнту після введення пацієнту шляхом призначених для цього процедур, відомих в даній галузі.

Кількість активної сполуки у фармацевтичній композиції і її одиничній дозованій формі може змінюватись або приймати різні значення в широкому інтервалі в залежності від конкретного застосування, способу введення, сильності конкретної сполуки, і необхідної концентрації. Термін «одиничні дозовані форми» відноситься до фізично дискретних одиниць для суб'єктів-людей та інших ссавців, причому кожна одиниця містить попередньо визначену кількість активної речовини, розраховану так, що вона продукує необхідну терапевтичну дію, в асоціації з придатним фармацевтичним наповнювачем. Концентрація терапевтично активної сполуки може змінюватись приблизно від 1мг/мл до 1г/мл.

Переважно, сполука може входити до складу препарату для парентерального введення в придатному інертному носії, такому як стерильний фізіологічний сольовий розчин. Наприклад, концентрація сполуки в розчині-носії звичайно складає приблизно 1-100мг/мл. Доза, що вводиться, визначається шляхом введення. Переважні шляхи введення включають в себе парентеральне або внутрішньовенне введення. Терапевтично ефективна доза являє собою дозу, ефективну для продукції значимого зниження демієлінізації і помітного підвищення ремієлінізації. Переважно, даної кількості достатньо для продукції статистично значимої кількості ремієлінізації у суб'єкта.

Наприклад, для одержання твердих композицій, таких як таблетки, принциповий активний інгредієнт змішується з фармацевтичним наповнювачем з утворенням твердої попередньої композиції, що містить

гомогенну суміш сполуки за даним винаходом. При вказівці на дані попередні композиції як на гомогенні, мається на увазі, що активний інгредієнт рівномірно розподіляється по композиції, так що композиція може легко підрозділятися на рівно ефективні одиничні дозовані форми, такі як таблетки, пігулки і капсули. Даний твердий попередній препарат потім підрозділяють на одиничні дозовані форми типу, описаного вище, що містять, наприклад, приблизно 0,1-500мг активного інгредієнту за даним винаходом.

Таблетки або пігулки за даним винаходом можуть бути покриті або інакше комбіновані з наданням дозованої форми, що забезпечує перевагу пролонгованої дії. Наприклад, таблетка або пігулка може містити внутрішній дозований і зовнішній дозований компонент, причому останній знаходиться у вигляді оболонки навколо першого. Два компоненти можуть бути розділені внутрішнім шаром, що служить для перешкоди дезинтеграції в шлунку і дозволяє внутрішньому компоненту проходити інтактним у дванадцятипалу кишку або затримуватись за вивільненням. Різні матеріали можуть використовуватись для таких внутрішніх шарів або покриттів, причому такі матеріали включають в себе деяку кількість полімерних кислот і сумішей полімерних кислот з такими матеріалами, як шелак, цетиловий спирт і ацетат целюлози.

Рідкі форми, до складу яких можуть включатись нові композиції за даним винаходом для перорального введення або шляхом ін'єкції, включають в себе водні розчини, придатні сиропи зі смаком, водні або масляні суспензії, і емульсії зі смаком з харчовими оліями, такими як кукурудзяна олія, бавовняна олія, кунжутна олія, кокосова олія або арахісова олія, а також еліксири і подібні фармацевтичні носії.

Композиції для інгаляції або нагнітання включають в себе розчини і суспензії у фармацевтично прийнятних, водних або органічних розчинниках або їх сумішах, і порошки. Рідкі або тверді композиції можуть містити придатні фармацевтично прийнятні наповнювачі, як описані вище. Композиції можуть вводитись пероральним або назальним респіраторним шляхом для місцевого або системного ефекту. Композиції в переважних фармацевтично прийнятних розчинниках можуть розпорошуватись шляхом використання інертних газів. Розчини, що розпорошуються, можуть інгалюватись безпосередньо з пристроєм розпилення, або пристрої розпилення можуть прикріплюватись до покриття маски для обличчя, або до машини для дихання з перемінним позитивним тиском. Розчин, суспензію або композиції у вигляді порошку можна вводити, переважно, перорально або назально з пристроїв, що доставляють препарат придатним чином.

Сполуки за даним винаходом можуть вводитись у формі для уповільненого вивільнення. Придатні приклади препаратів з уповільненим вивільненням включають в себе напівпроникні матрикси твердих гідрофобних полімерів, що містять білок, причому дані матрикси знаходяться у вигляді оформлених предметів, наприклад, плівок або мікрокапсул. Приклади матриксів з уповільненим вивільненням включають в себе поліефіри, гідрогелі (наприклад, полі(2-гідроксіетилметакрилат), як описано Langer et al., J. Biomed. Mater. Res. 15: 167-277 (1981) і Langer, Chem. Tech. 12: 98-105 (1982) або полівініловий спирт), поліактиди (патент США №3773919), співполімери L-глутамінової кислоти і гамма-етил-L-глутамат (Sidman et al., Biopolymers 22: 547-556, 1983), недеградований етиленвінілацетат (Langer et al., вище), деградовані співполімери молочної кислоти і гліколевої кислоти, такі як LUPRON DEPOT™ (тобто ін'єктовані мікросфери, складені з співполімеру молочної кислоти і гліколевої кислоти і лейпролидацетату), і полі-D-(-)-3-гідроксимасляну кислоту (EP 133988).

Сполуки за винаходом можуть вводитись у формі для уповільненого вивільнення, наприклад, у вигляді ін'єкції депо, препарату для імплантації, або осмотичного насоса, що можуть бути одержані таким способом, що буде забезпечуватись уповільнене вивільнення активного інгредієнту. Імпланти для препаратів уповільненого вивільнення добре відомі в даній галузі. Імпланти можуть бути одержані, як необмежувальні приклади, у вигляді мікросфер, пластин, з підлягаючими або не підлягаючими біодеградації полімерами. Наприклад, полімери молочної кислоти і/або гліколевої кислоти утворюють полімер, що легко руйнується, що добре переноситься організмом-хазяїном. Імплантат поміщають поблизу ділянки відкладень білка (наприклад, ділянки утворення амілоїдних відкладень, асоційованої з нейродегенеративними порушеннями), так що місцева концентрація активного засобу підвищується в даній ділянці щодо іншого організму.

Наступні приклади одержання препаратів ілюструють фармацевтичні композиції за даним винаходом.

Приклад одержання препарату 1

Підготовлюють тверді желатинові капсули, що містять наступні інгредієнти.

Інгредієнт	Кількість (мг/капсулу)
Активний інгредієнт	30,0
Крохмаль	305,0
Стеарат магнію	5,0

Зазначені вище інгредієнти змішують, і заповнюють ними желатинові капсули в кількості 340мг.

Приклад одержання препарату 2

Формулу таблетки одержують з використанням наведених нижче інгредієнтів.

Інгредієнт	Кількість (мг/капсулу)
Активний інгредієнт	25,0
Целюлоза, мікрокристалічна	200,0
Колоїдний діоксид кремнію	10,0
Стеаринова кислота	5,0

Компоненти перемішують і пресують з утворенням таблеток, кожна з яких важить 240мг.

Приклад одержання препарату 3

Одержують препарат сухого порошку для інгаляцій, що містить наступні компоненти:

Інгредієнт	Маса, %
Активний інгредієнт	5,0
Лактоза	95

Активну суміш змішують з лактозою, і суміш додають у пристрій для інгаляції сухого порошку.

Приклад одержання препарату 4

Таблетки, кожна з яких містить 30мг активного інгредієнту, одержують наступним чином.

Інгредієнт	Кількість (мг/капсулу)
Активний інгредієнт	30,0мг
Крохмаль	45,0мг
Мікрокристалічна целюлоза	35,0мг
Полівінілпіролідон (у виді 10%-ного розчину у воді)	4,0мг
Карбоксиметилкрахмал натрію	4,5мг
Стеарат магнію	0,5мг
Тальк	1,0мг
Всього	120мг

Активний інгредієнт, крохмаль і целюлозу пропускають через сито з комірками 20меш США і ретельно перемішують. Розчин полівінілпіролідону змішують з одержаними в результаті порошками, що потім пропускають через сито з комірками 16меш США. Одержані таким чином гранули сушать при 50-60°C і пропускають через сито з комірками 16меш США. Карбоксиметилкрахмал натрію, стеарат магнію і тальк, раніше пропущені через сито з комірками 30меш США, потім додають у гранули, що після змішування пресують на пристрої для одержання таблеток з одержанням таблеток, кожна з яких важить 150мг.

Приклад одержання препарату 5

Капсули, кожна з яких містить 40мг лікарського засобу, одержують у такий спосіб.

Інгредієнт	Кількість (мг/капсулу)
Активний інгредієнт	40,0мг
Крохмаль	109,0мг
Стеарат магнію	1,0мг
Всього	150,0мг

Активний інгредієнт, целюлозу, крохмаль, стеарат магнію перемішують, пропускають через сито з комірками 20меш США, і сумішшю заповнюють тверді желатинові капсули в кількості 150мг.

Приклад одержання препарату 5

Супозиторії, кожна з яких містить 25мг активного інгредієнту, одержують наступним чином.

Інгредієнт	Кількість
Активний інгредієнт	25мг
Гліцериди насичених жирних кислот до 2000мг	

Активний інгредієнт пропускають через сито з комірками 60меш США і суспендують у гліцериди насичених жирних кислот, раніше розплавлених з використанням мінімально необхідної температури. Потім суміш наливають у форму для супозиторіїв з номінальною ємністю 2,0м, і дають їй охолонути.

Приклад одержання препарату 7

Суспензії, кожна з яких містить 50мг лікарського засобу на дозу в 5,0мл, одержували наступним чином.

Інгредієнт	Кількість
Активний інгредієнт	50,0мг
Ксантанова камедь	4,0мг
Карбоксиметилцеллюлоза натрію	(11%)
Мікрокристалічна целюлоза (89%)	50,0мг
Сахароза	1,75м
Бензоат натрію	10,0мг
Смакова домішка і барвник	q.v.
Очищена вода	до 5,0мл

Лікарський засіб, сахарозу і ксантанову камедь перемішували, пропускали через сито з комірками 10меш США, і потім змішували з раніше одержаним розчином мікрокристалічної целюлози і карбоксиметилцелюлози натрію у воді. Бензоат натрію, смакову домішку і барвник розчиняли в деякій кількості води і додавали при перемішуванні. Потім додавали достатню для одержання необхідного обсягу кількість води.

Приклад одержання препарату 8

Таблетки з твердого желатину, кожна з яких містить 15мг активного інгредієнту, одержували наступним чином.

Інгредієнт	Кількість (мг/капсулу)
Активний інгредієнт	15,0мг
Крохмаль	407,0мг
Стеарат магнію	3,0мг
Всього	425,0мг

Активний інгредієнт, целюлозу, крохмаль і стеарат магнію перемішували, пропускали через сито з комірками 20меш США, і сумішшю заповнювали тверді желатинові капсули в кількості 560мг.

Приклад одержання препарату 9

Препарат для внутрішньовенного введення одержували наступним чином.

Інгредієнт	Кількість
Активний інгредієнт	250,0мг
Ізотонічний сольовий розчин	1000мл

Терапевтичні композиції сполуки, загалом, вмішували в контейнер, що має порт стерильного доступу, наприклад, у сумку для внутрішньовенного розчину або пляшечку, що має пробку, яка може прокалюватись голкою для підшкірної ін'єкції або подібним гострим інструментом.

Приклад одержання препарату 10

Препарат для місцевого введення може бути одержаний наступним чином.

Інгредієнт	Кількість
------------	-----------

Активний інгредієнт	1-10м
Емульгуючий віск	30м
Рідкий парафін	20м
Білий м'який парафін	до 100м

Білий м'який парафін нагрівають до розплавлювання. У нього вводять рідкий парафін і емульгуючий віск, і перемішують до розчинення. Додають активний інгредієнт, і продовжують перемішування до його розподілу. Суміш потім прохолоджують до затвердіння.

Інший переважний препарат, використовуваний у способах за даним винаходом, використовує пристрої черезшкірної доставки («пластири»). Такі черезшкірні пластири можуть використовуватись для надання безупинного або переривчастого вливання сполук за даним винаходом в контрольованих кількостях. Конструкція і застосування черезшкірних пластрів для доставки фармацевтичних засобів добре відомі в даній галузі. Див., наприклад, патент США №5023252, виданий 11 червня 1991р., включений сюди як посилання. Такі пластири можуть конструюватись для безупинної, дискретної доставки фармацевтичних засобів або їх доставки за вимогою.

Способи прямого або непрямого вміщування можуть використовуватись, коли бажано або необхідно вводити фармацевтичну композицію в головний мозок. Прямі способи звичайно використовують вміщування катетера для доставки лікарських засобів у систему шлуночків організму-хазяїна для подолання гематоенцефалічного бар'єра. Одна з таких імплантованих систем доставки, використовувана для транспорту біологічних факторів у конкретні анатомічні ділянки організму, описана в патенті США №5011472, що включений сюди як посилання.

Непрямі способи, що, загалом, переважні, звичайно використовують одержання композицій для надання латентних лікарських засобів, що здатні перетворюватись з гідрофільних лікарських засобів у жиророзчинні. Одержання латентних засобів, загалом, досягається шляхом блокування гідроксильної, карбонільної, сульфатної групи і первинної аміногрупи на лікарському засобі для його приведення в більш жиророзчинний стан і надання здатності транспортуватись через гематоенцефалічний бар'єр. Альтернативно, доставка гідрофільних лікарських засобів може підсилюватись шляхом інтраартеріальної інфузії гіпертонічних розчинів, що можуть на час відкривати гемато-енцефалічний бар'єр.

За одним з аспектів винаходу, сполука може вводитись сама по собі, у вигляді комбінації речовин, у комбінації з ремієлінізуючими антитілами і/або антитілами проти альфа-4, або в комбінації з протизапальним засобом, що звичайно використовується для лікування станів і захворювань, асоційованих з демієлінізацією. При введенні в комбінації низькомолекулярні сполуки можуть вводитись в одному препараті з іншими сполуками або композиціями, або в окремому препараті. При введенні в комбінації ремієлінізуючі засоби можуть вводитись перед, після або одночасно з введенням інших сполук і композицій.

Фармацевтичні композиції за винаходом придатні для застосування в різних системах доставки лікарських засобів. Придатні для застосування за даним винаходом препарати знаходяться в ReMington's Pharmaceutical Sciences, Mace Publishing Company, Philadelphia, PA, 17th ed. (1985).

Для збільшення часу напівжиття в сироватці сполуки можуть інкапсулюватись, вводиться в просвіт ліпосом, можуть бути одержані у вигляді колоїду, або можуть використовуватись інші загальноприйнятні способи, що забезпечують продовжений час напівжиття в сироватці даних сполук. Доступні різні способи для одержання ліпосом, як описано, наприклад, Szoka et al., патенти США № 4235871, 4501728 і 4837028, кожний з яких введений сюди цілком як посилання.

Полімерні кон'югати

Сполуки за даним винаходом можуть бути одержані і можуть вводитись у вигляді полімерних кон'югатів. Полімерні кон'югати можуть характеризуватись перевагами над некон'югованими полімерами, такими як підвищена розчинність і стабільність.

Як такі, одиничні полімерні молекули можуть використовуватись для кон'югації зі сполуками за даним винаходом, хоча також розглядається, що також може бути прив'язано більше однієї полімерної молекули. Кон'юговані сполуки за даною сполукою можуть знайти використання *in vivo*, а також у застосуваннях не *in vivo*. Крім того, очевидно, що кон'югуючі полімери можуть використовувати будь-які інші групи, радикали або інші кон'юговані молекули, як придатні для кінцевого застосування. Наприклад, у деяких застосуваннях може використовуватись ковалентне зв'язування полімеру з функціональною групою, що додає стійкість до УФ або антиоксидантні властивості, або інші властивості або характеристики полімеру. Подальшим прикладом переваги може служити функціоналізація полімеру, що може зробити його реакційноздатним і гарантувати його перехресне зв'язування з молекулою лікарського засобу, а також підсилити різні властивості або характеристики всього кон'югованого матеріалу. Відповідно до цього, полімер може містити функціональність, групи, що повторюються, зв'язки або інші складові структури, що не перешкоджають ефективності композиції кон'югованих сполук за даним винаходом в плані призначеної для них мети.

Ілюстративні полімери, що можуть використовуватись для досягнення даних необхідних характеристик, описані вище, а також у PCT WO 01/54690 (виданому Zheng et al.), включеному сюди цілком як посилання. Полімер може бути приєднаний до сполук за даним винаходом (переважно через лінкерну групу) з утворенням стабільних зв'язків, що значимо не відщеплюються ферментами людини. Загалом, щоб зв'язок був «значимо» не відщеплюваним, потрібно, щоб не більше 20% зв'язків, що зв'язують полімер і сполуки за даним винаходом, до яких приєднаний полімер, розщеплювалось протягом 24 годин, що вимірюється стандартними способами, відомими в даній галузі, які включають у себе як необмежувальні приклади високоефективну рідинну хроматографію (ВЕРХ).

Сполуки за даним винаходом кон'югують найбільш переважно через термінальну реакційноздатну групу полімеру, хоча кон'югати можна також розгалужувати від нетермінальних реакційноздатних груп. Полімер з реакційноздатною (-ими) групою(-ами) позначається тут як «активований полімер». Реакційноздатна група селективно взаємодіє з реакційноздатними групами на сполуках за даним винаходом. Активованій(-і) полімер(-и) взаємодіють так, що може відбутись приєднання в будь-якій доступній функціональній групі на сполуках за даним винаходом. Аміногрупи, вуглецеві, вільні гідроксильні групи, що придатним чином активовані карбонільні групи, гідроксил, гуанідин, окислені вуглеводні групи, аміногрупи, вуглецеві і меркаптогрупи сполук за даним винаходом (якщо вони доступні) можуть використовуватись як ділянки

приєднання.

Загалом, використовується приблизно від 1,0 до 10 моль активованого полімеру на моль сполук за даним винаходом, в залежності від концентрації. Кінцева кількість являє собою баланс між максимізацією ступеня взаємодії і мінімізацією неспецифічних модифікацій продукту, і, у той же час, визначення хімічних способів, що збережуть оптимальну активність, при оптимізації, у той же час, напівжиття сполук за даним винаходом. Переважно, щонайменше, приблизно 50% біологічної активності сполук за даним винаходом зберігається, і, найбільш переважно, зберігається 100%.

Взаємодії можуть здійснюватись будь-яким відомим в даній галузі способом, використаним для взаємодії біологічно активних матеріалів з інертними полімерами. Загалом, даний процес задіє одержання активованого полімеру і наступну взаємодію сполук за даним винаходом з активованим полімером для продукції розчинної сполуки, придатного для одержання препарату. Дана реакція модифікації може здійснюватись різними способами, що можуть задіяти одну або декілька стадій. Включені сюди полімерні речовини переважно розчинні у воді при кімнатній температурі. Необмежувальний список таких полімерів включає в себе поліалкіленоксидгомополімери, такі як поліетиленгліколь (ПЕГ) або поліпропіленгліколи, поліоксіетиленовані поліолі, їх співполімери і блокспівполімери, при забезпеченні того, що зберігається розчинність блокспівполімерів у воді.

У переважному втіленні даного винаходу поліалкіленгліколеві залишки $\text{C}_1\text{-C}_4$ -алкілполіалкіленгліколей, переважно, поліетиленгліколю (ПЕГ), або полі(оксі)алкіленгліколеві залишки таких гліколей переважно вводяться до складу цікавлячих полімерних систем. Так, полімер, до якого приєднуються сполуки за даним винаходом, може являти собою гомополімер поліетиленгліколю (ПЕГ) або поліоксіетиленованого поліолу, при забезпеченні того, що в будь-якому випадку полімер розчинний у воді при кімнатній температурі. Необмежувальні приклади таких полімерів включають в себе поліалкіленоксидгомополімери, такі як ПЕГ або поліпропіленгліколи, поліоксіетиленовані гліколи, їх співполімери і їх блокспівполімери, при забезпеченні того, що зберігається розчинність блокспівполімерів у воді.

Приклади поліоксіетильованих поліолів включають в себе як необмежувальні приклади поліоксіетильований гліцерин, поліоксіетильований сорбіт, поліоксіетильовану глюкозу або подібні ним. Гліцериновий кістяк поліоксіетильованого гліцерину є тим же кістяком, що зустрічається в природі, наприклад, у тварин і людей у моно-, ди- і тригліцеридах. Тому дане розгалуження необов'язково буде розглядатись в організмі як чужорідний агент.

Звичайним фахівцям у даній галузі зрозуміло, що попередній список є суцільно ілюстративним, і що тут розглядаються всі полімерні матеріали, які мають описані тут якості. Полімер не обов'язково має яку-небудь конкретну молекулярну масу, але переважно, щоб молекулярна маса складала від 300 до 100000, більш переважно, від 10000 до 40000. Зокрема, розміри від 20000 і більш найбільш ефективні в плані запобігання втрати продукту внаслідок фільтрації в нирках.

Поліетиленгліколь (ПЕГ) і споріднені поліаоксидоксиди (РАО) відомі в даній галузі як придатні допоміжні речовини для одержання лікарських засобів. Див., наприклад, РСТ WO 93/24476. ПЕГ також кон'югували з білками, пептидами і ферментами для підвищення розчинності у воді і часі життя в циркуляції *in vivo*, а також для зниження антигенності. Див., наприклад, патенти США № 5298643 і 5321095, причому обоє видані Greenwald et al. У РСТ WO 93/24476 описане застосування складноефірного зв'язку для ковалентного зв'язування органічної молекули з водорозчинними поліетиленгліколями. Таким чином, сполуку за винаходом переважно вводять як похідні поліетиленгліколю (ПЕГ).

Як такі, сполуки або кон'югати за даним винаходом можуть містити один або декілька замісників поліетиленгліколю (ПЕГ), ковалентно приєднаних до них. Такі кон'югати демонструють збільшений час напівжиття в сироватці, у порівнянні зі сполуками, що не мають поліетиленгліколевих замісників. Без обмеження якої-небудь теорії думають, що поліпшений час напівжиття в сироватці асоційований з ковалентною кон'югацією, щонайменше, однієї поліетиленгліколевої групи зі структурою сполуки.

Термін «ПЕГ» відноситься до полімерів, що включають у себе множинні оксіалкіленові одиниці. Такі полімери необов'язково пов'язані з одним замісником, переважно вибраним з групи, вибраної з алкілу, арилу, заміщеного алкілу і заміщеного арилу. До складу даних полімерів входять ті пов'язані з двома аміногрупами поліоксіалкіленовими полімерами, що відомі в даній галузі як Jeffamines®. Крім того, такі полімери можуть необов'язково містити одну або декілька неоксіалкіленових одиниць, таких як комерційно доступні полі[ді(етиленгліколь)адипат, полі[ді(етиленгліколь)фталатдіолі, тощо.

Під похідним ПЕГ мається на увазі поліетиленгліколевий полімер, в якому одна або обидві термінальних гідроксильних групи, що знаходяться в поліетиленгліколі, модифіковані. Приклади придатних модифікацій включають в себе заміщення однієї або обох гідроксильних груп альтернативними функціональними групами, що можуть бути захищеними або незахищеними низькомолекулярними лігандами, або іншою макромолекулою або полімером. Модифікація термінальних гідроксильних груп у поліетиленгліколі може досягатись шляхом взаємодії поліетиленгліколю зі сполуками, що включають в себе комплементарні реакційноздатні функціональні групи, що включають функціональні групи, які можуть відчувати взаємодію з гідроксильними групами поліетиленгліколю. ПЕГ-похідні сполук за даним винаходом можуть містити один або декілька поліетиленгліколевих (ПЕГ) замісників, ковалентно приєднаних до них шляхом єднальної групи.

«Єднальна група» або «лінкер» відноситься до групи або груп, що ковалентно зв'язують не заміщену ПЕГ сполуку за даним винаходом з однією або декількома групами ПЕГ. Кожен лінкер може бути хіральним або ахіральним, лінійним, розгалуженим або циклічним і може бути гомогенним або гетерогенним за їх атомарним вмістом (наприклад, лінкери, що містять тільки атоми вуглецю, або лінкери, що містять вуглецеві атоми, а також один або декілька гетероатомів, що є присутніми на лінкері).

Група або групи ПЕГ ковалентно пов'язані з лінкером з використанням загальноприйнятих хімічних способів, що надають ковалентний зв'язок ПЕГ-групи з лінкером. Лінкер, у свою чергу, може ковалентно зв'язуватись з іншими, не заміщеними ПЕГ сполуками за даним винаходом. Хімічні способи взаємодії, результатом яких є такі зв'язки, добре відомі в даній галузі. Такі хімічні способи взаємодії охоплюють застосування функціональних груп на лінкері, не заміщену ПЕГ сполуку і групи ПЕГ. Переважно, комплементарні функціональні групи на лінкері вибрані щодо функціональних груп, доступних на групі ПЕГ

для зв'язування, або тих, які можуть бути введені на групи ПЕГ для зв'язування. Такі комплементарні функціональні групи також добре відомі в даній галузі.

Такі полімери мають середню молекулярну масу приблизно від 100 до 100000; переважно, приблизно від 1000 до 50000; більш переважно, приблизно від 10000 до 40000.

5. Імуноглобуліни

В одному з конкретних здійснень засобу за винаходом являють собою імуноглобуліни, що при введенні пацієнту інгібують демієлінізацію, і/або сприяють демієлінізації і/або знижують параліч. Дані імуноглобуліни можуть бути вибрані з імуноглобулінів, що селективно зв'язуються з альфа-4-інтегрином або димером, що включає в себе альфа-4-інтегрин, таким як альфа-4-бета-1, або зв'язуються з VCAM-1. Переважно, імуноглобуліни зв'язуються з альфа-4-бета-1 та інгібують активність альфа-4-бета-1. Імуноглобуліни переважно являють собою антитіла або їх фрагменти.

Під «антитілами» маються на увазі повнорозмірні імуноглобуліни, такі як IgG1 (або будь-який субклас IgG) або IgM, або інгібітори, що походять від антитіл, такі як наталізумаб (Antegren®).

Під «гомологом антитіла» маються на увазі інтактні антитіла, що складаються з легких і важких ланцюгів імуноглобулінів, пов'язаних дисульфідними зв'язками. Термін «гомолог антитіла» також, як мається на увазі, охоплює білок, що включає в себе один або кілька поліпептидів, вибраних з легких ланцюгів імуноглобулінів, важких ланцюгів імуноглобулінів, і їх антигензв'язувальних фрагментів, що здатні зв'язуватись з одним або декількома антигенами (тобто інтегрином або інтегринам ланцюгом). Поліпептиди-компоненти гомолога антитіла, що складається з більше ніж одного поліпептиду, можуть необов'язково бути пов'язані дисульфідними місточками або, інакше, ковалентно перехресно пов'язані. Відповідно, тому «гомологи антитіла» включають в себе інтактні імуноглобуліни типів IgA, IgG, IgE, IgD, IgM (а також їх субтипів, наприклад, IgG1), де легкі ланцюги імуноглобулінів можуть відноситись до типів каппа або лямбда. «Гомологи антитіла» також включають в себе частини інтактних антитіл, що зберігають антигензв'язувальну специфічність, наприклад, Fab-фрагменти, Fab'-фрагменти, Fab'(a)2-фрагменти, Fv-фрагменти, scFv-фрагменти, мономери важких і легких ланцюгів, або їх димери або суміші.

Коли засіб за винаходом являє собою антитіло, переважним антитілом є моноклональне антитіло. На відміну від препаратів поліклонального антитіла, що звичайно містять різні антитіла, спрямовані проти різних епітопів, кожне моноклональне антитіло спрямоване проти одиничного епітопу антигену. Друга перевага моноклональних антитіл полягає в тому, що вони синтезуються засобами, що забезпечують відсутність контамінації іншими імуноглобулінами, наприклад, за допомогою фагового дисплея або виділення гібридоми. Хоча даний винахід, як мається на увазі, відноситься і до поліклональних, і до моноклональних антитіл як засобів за винаходом, моноклональні антитіла є переважними, оскільки вони високо специфічні, і винахід, таким чином, переважно обговорюється в плані моноклональних антитіл.

«Нативні антитіла й імуноглобуліни» звичайно являють собою гетеротетрамерні глікопротеїни масою приблизно 150000 дальтон, що складаються з двох ідентичних легких (L) ланцюгів і двох ідентичних важких (H) ланцюгів. Кожен легкий ланцюг пов'язаний з важким ланцюгом одним ковалентним дисульфідним зв'язком, у той час як число дисульфідних зв'язків змінюється у важких ланцюгах різних ізотипів імуноглобулінів. Кожен важкий і легкий ланцюг також містить регулярно розташовані дисульфідні місточки між ланцюгів. Кожен важкий ланцюг на одному кінці має варіабельний домен (V_H), за яким випливає деяка кількість константних доменів. Кожен легкий ланцюг має варіабельний домен з одного кінця (V_L) і константний домен з іншого кінця; константний домен легкого ланцюга вирівняний з першим константним доменом важкого ланцюга, а варіабельний домен легкого ланцюга вирівняний з варіабельним доменом важкого ланцюга. Конкретні амінокислотні залишки, як вважають, утворюють поверхню розділу між варіабельними доменами легкого і важкого ланцюга (Clothia et al., 1985, J. Mol. Biol. 186: 651-63; Novotny et al., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 4592-6).

Крім того, інші антитіла можуть бути ідентифіковані з використанням способів, доступних в даній галузі. Наприклад, моноклональні антитіла за даним винаходом можуть продукуватись з використанням технології фагового дисплея. Потім виділяють фрагменти антитіл, що селективно зв'язуються з альфа-4-інтегрином або димером, що включає в себе альфа-4-інтегрин. Типові переважні способи продукції таких антитіл за допомогою фагового дисплея описані в патентах США № 6225447; 6180336; 6172197; 6140471; 5969108; 5885793; 5872215; 5871907; 5858657; 5837242; 5733743 і 5565332.

«Варіант» антитіла відноситься тут до молекули імуноглобуліну, що відрізняється за амінокислотною послідовністю від амінокислотної послідовності «батьківського» антитіла за допомогою додавання, делеції і/або заміни одного або декількох амінокислотних залишків у послідовності батьківського антитіла. Батьківське антитіло або імуноглобулін може являти собою поліклональне антитіло, моноклональне антитіло, гуманізоване антитіло, приматизоване® антитіло або інший фрагмент антитіла. У переважному здійсненні варіант включає в себе одну або кілька амінокислотних заміни в одній або декількох гіперваріабельних ділянках батьківського антитіла. Наприклад, варіант може включати в себе, щонайменше, одну, наприклад, приблизно від однієї до десяти, і, переважно, приблизно від двох до п'яти заміни в одній або декількох гіперваріабельних ділянках батьківського антитіла. Звичайно варіант має амінокислотну послідовність, що характеризується, щонайменше, 75%-ною амінокислотною ідентичністю у відношенні послідовностей варіабельного домену важкого або легкого ланцюга батьківського антитіла, більш переважно, щонайменше, 80%-ною, більш переважно, щонайменше, 85%-ною, більш переважно, щонайменше, 90%-ною, і, найбільше переважно, щонайменше, 95%-ною ідентичністю. Ідентичність або гомологія у відношенні даної послідовності визначається тут як відсоток амінокислотних залишків у послідовності-кандидаті, що ідентичні у відношенні залишків батьківського антитіла, після вирівнювання послідовностей і введення вставок для досягнення максимальної процентної ідентичності послідовності, якщо це необхідно. Не слід розглядати які-небудь N-кінцеві, C-кінцеві або внутрішні продовження, делеції або вставки в послідовність антитіла як зміни, що впливають на ідентичність або гомологію послідовності. Варіант зберігає здатність зв'язувати рецептор і переважно характеризується властивостями, що перевершують такі батьківського антитіла. Наприклад, варіант може характеризуватись більш високою спорідненістю зв'язування, посиленою здатністю активувати рецептор, і т.д. Для аналізу даних

властивостей варто порівнювати Fab-форму варіанта з Fab-формою батьківського антитіла або повнорозмірну форму варіанта з повнорозмірною формою батьківського антитіла. Варіант антитіла, що представляє тут особливий інтерес, є тим, що демонструє, щонайменше, приблизно 10-кратне, переважно, щонайменше, приблизно 20-кратне, і, найбільше переважно, щонайменше, приблизно 50-кратне посилення біологічної активності у порівнянні з батьківським антитілом. «Батьківське антитіло» тут являє собою антитіло, що кодується амінокислотною послідовністю, використаною для одержання варіанту. Переважно, батьківське антитіло має людську каркасну ділянку і має константну(-і) ділянку(-и) людського антитіла. Наприклад, батьківське антитіло може бути гуманізованим або людським антитілом. «Виділене» антитіло є тим, яке ідентифіковане і відділене, і/або виділене з компонента його природного оточення. Компоненти-домішки його природного оточення є речовинами, що перешкоджають з діагностичними і терапевтичними застосуваннями антитіла, і можуть включати в себе ферменти, гормони й інші білкові або небілкові розчинені речовини. У переважних варіантах здійснення антитіло очищене (1) до чистоти, що складає більше 95% по масі антитіла, що визначається способом Лоурі, і, найбільш переважно, більш 99% по масі, (2) до міри, достатньої для одержання, щонайменше, 15 залишків N-кінцевої або внутрішньої амінокислотної послідовності шляхом використання секвенатора з кюветою, що обертається, або (3) до гомогенності, обумовленої SDS-PAGE у відновлювальних або невідновлювальних умовах з використанням Кумасі блакитного, або, переважно, забарвлення сріблом. Виділене антитіло включає в себе антитіло *in situ* з рекомбінантними клітинами, якщо, щонайменше, один компонент природного оточення антитіла відсутній. Однак, звичайно виділені антитіла одержують, щонайменше, за допомогою однієї стадії очищення.

5.1. Моноклональні антитіла

Моноклональні антитіла також можуть продукуватись з використанням загальноприйнятих способів з гібридомою або шляхом генної інженерії. Дані способи широко застосовуються для продукції гібридних клітинних ліній, що секретують великі концентрації моноклональних антитіл проти багатьох конкретних антигенів, і також можуть використовуватись для продукції моноклональних антитіл за даним винаходом. Наприклад, миші (наприклад, миші Balb/c) можуть імунізуватись антигенним епітопом альфа-4 шляхом внутрішньочеревинної ін'єкції. По проходженні достатнього для забезпечення імунної відповіді часу мишей умертвляють, і одержують клітини селезінки і зливають їх з мієломними клітинами з використанням способів, добре відомих у даній галузі. Одержані в результаті клітини злиття, гібридами, потім вирощують на селективному середовищі, і клітини, що виживають, вирощують на такому середовищі з використанням умов обмежувач розведення. Після клонування і повторного клонування можуть виділятися гібридами, що секретують антитіла (наприклад, класів IgG або IgM, або підкласу IgG1), що селективно зв'язуються з мішенню, альфа-4 або димером, що містить інтегрин альфа-4. Для продукції засобів, спеціалізованих для використання людиною, виділені моноклональні антитіла можуть потім використовуватись для продукції химерних і гуманізованих антитіл. Також можуть бути одержані антитіла, що є антипептидними. Такі антипептидні антитіла одержують проти пептидів альфа-4-інтегрину.

Термін «химерний», коли він відноситься до засобу за винаходом, означає, що даний засіб включає в себе зв'язок (хімічний перехресний зв'язок ковалентного або іншого типу) двох або більшого числа білків, що мають роздільні структури і/або мають роздільні джерела походження. Таким чином, химерний антагоніст інтегрину альфа-4 може включати в себе один радикал, що являє собою антагоніст інтегрину альфа-4 або його фрагмент, та інший радикал, що не являє собою антагоніст інтегрину альфа-4.

Видом «химерного білка» є «злиття» або «білок злиття», що відноситься до колінеарного ковалентного зв'язку двох або більшого числа білків або їх фрагментів за допомогою їх окремих пептидних кістяків, найбільш переважно, шляхом генної експресії полінуклеотидної молекули, що кодує дані білки. Таким чином, переважні білки злиття являють собою химерні білки, що включають в себе ремієлінізуюче антитіло або його фрагмент, ковалентно пов'язаний з другим радикалом, що не має походження, подібного з ремієлінізуючим антитілом (тобто який походить від іншого імуноглобуліну або поліпептиду). Переважні білки злиття за винаходом включають в себе частини інтактних антитіл, що зберігають антигензв'язувальну специфічність, наприклад, Fab-фрагменти, Fab'-фрагменти, F(ab')₂-фрагменти, Fv-фрагменти, scFv-фрагменти, мономерні або димерні важких ланцюгів, мономерні або димерні легких ланцюгів, димерні, що складаються з одного важкого й одного легкого ланцюга, тощо.

Найбільш переважні білки злиття є химерними і містять ремієлінізуючий радикал, злитий або інакше пов'язаний з усіма або частковими шарнірною і константною ділянками імуноглобулінового легкого ланцюга, важкого ланцюга або обох. Так, даний винахід відноситься до молекули, що включає в себе: (1) ремієлінізуючий радикал, (2) другий пептид, наприклад, що підвищує розчинність або час життя *in vivo* ремієлінізуючого радикалу, наприклад, представник імуноглобулінового суперсімейства, або його фрагмент або його частина, наприклад, частина або фрагмент IgG, наприклад, константна ділянка важкого ланцюга людського IgG1, наприклад, CH₂, CH₃, і шарнірні ділянки. Конкретно, «злиття ремієлінізуючого радикала/Ig» являє собою білок, що містить біологічно активний ремієлініруючий радикал за винаходом. Видом ремієлінізуючого засобу є «злиття інтегрину/Fc», що являє собою білок, який містить ремієлінізуючий імуноглобулін за винаходом, пов'язаний, щонайменше, з частиною константного домену імуноглобуліну. Переважний білок злиття з Fc включає в себе імуноглобулін за винаходом, пов'язаний із фрагментом антитіла, що містить C-кінцевий домен важких ланцюгів імуноглобуліну.

Термін «білок злиття» також означає ремієлінізуючий радикал, що хімічно пов'язаний через моно- або гетерофункціональну молекулу з другим радикалом, що не є ремієлінізуючим радикалом (результатом чого є «химерна» молекула) і одержаний *de novo* з очищеного білка, як описано нижче. Так, одним із прикладів хімічно пов'язаної, на відміну від рекомбінантно пов'язаної, химерної молекули, є білок злиття, що може включати в себе: (1) радикал, мішенню якого є інтегрина субодиниця альфа-4, наприклад, радикал VCAM-1, здатний зв'язуватись з VLA-4 на поверхні несучих VLA-4 клітин; (2) другу молекулу, що збільшує розчинність або час життя *in vivo* спрямованої молекули, наприклад, поліалкіленгліколевого полімеру, такого як поліетиленгліколь (ПЕГ). Молекула, мішенню якої є альфа-4, може являти собою будь-який ліганд альфа-4, який зустрічається в природі, або його фрагмент, наприклад, пептид VCAM-1 або подібну консервативно заміщену амінокислотну послідовність.

Химерні, приматизовані® і гуманізовані антитіла можуть продукуватись з антитіл, що не відносяться до людини, і можуть мати ту ж або подібна спорідненість зв'язування, як антитіло, з якого вони продукуються. Можуть використовуватись способи, розроблені для продукції химерних антитіл (Morrison et al., 1984 Proc. Natl. Acad. Sci. 81: 6851; Neuberger et al., 1984 Nature 312: 604; Takeda et al., 1985 Nature 314: 452) шляхом сплайсингу генів з молекули мишачого антитіла з придатною специфічністю проти антигену, з генами, наприклад, з молекули людського антитіла з придатною біологічною активністю; такі антитіла входять в об'єм винаходу. Наприклад, нуклеїнова кислота, що кодує варіабельну (V) ділянку мишачого моноклонального антитіла, може приєднуватись до нуклеїнової кислоти, що кодує людську константну (C) ділянку, наприклад, IgG1 або IgG4. Одержане в результаті антитіло, таким чином, являє собою гібрид видів, загалом, з антигензв'язувальним доменом з антитіла, що не відноситься до людини, і C- або ефекторним доменом з людського антитіла.

Гуманізовані антитіла являють собою антитіла з варіабельними ділянками, що переважно походять з людського антитіла (акцепторне антитіло), але які мають визначальні комплементарність ділянки, що походять по суті з антитіла, що не відноситься до людини (донорне антитіло). Див., наприклад, Queen et al., 1989 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 10029-33; WO 90/07861; і патенти США № 6054297; 5693761; 5585089; 5530101 і 5224539. Константна ділянка або ділянки даних антитіл, в основному, також походять з людського антитіла. Людські варіабельні домени звичайно вибрані з людських антитіл, що мають послідовності, які характеризуються високим ступенем гомології у відношенні необхідних єднальних варіабельних доменів, що не відносяться до людини. Залишки варіабельних ділянок важкого і легкого ланцюга можуть походити з того самого антитіла, або з іншого людського антитіла. Крім того, послідовності можуть бути вибрані як консенсус декількох людських антитіл, такий як описано в WO 92/22653.

Конкретні амінокислоти у варіабельній ділянці людини вибирають для заміни, ґрунтуючись на передвіщеній конформації й антигензв'язувальних властивостях. Це можна визначити з використанням способів, таких як комп'ютерне моделювання, пророкування поведінки і єднальних властивостей амінокислот у визначенні ділянках у межах варіабельної ділянки, і спостереження ефектів заміни. Наприклад, коли амінокислота відрізняється у варіабельній ділянці, що не відноситься до людини, у порівнянні з людською варіабельною ділянкою, людська варіабельна ділянка може змінюватись так, щоб вона відбивала амінокислотну сполуку варіабельної ділянки, що не відноситься до людини. Тут описані деякі приклади гуманізації антитіл проти альфа-4.

Під «гомологом гуманізованого антитіла» мається на увазі гомолог антитіла, продукований шляхом технології рекомбінантної ДНК, в якому деякі або всі амінокислоти людського імуноглобулінового легкого або важкого ланцюга, що не вимагаються для зв'язування антигену, заміщені на відповідні амінокислоти імуноглобулінового легкого або важкого ланцюга, що не відноситься до людини. «Гомолог людського антитіла» являє собою гомолог антитіла, в якому всі амінокислоти легкого або важкого ланцюга імуноглобуліну (незалежно від того, чи вимагаються вони для зв'язування антигену) походять з людського джерела.

У конкретному здійсненні антитіла, використовувані в постійному режимі дозування за даним винаходом, являють собою гуманізовані антитіла, описані в патенті США №5840299, що включений сюди як посилання.

В іншому здійсненні трансгенні миші, що містять гени людського антитіла, можуть імунізуватись антигенною альфа-4-структурою, і гібридомна технологія може використовуватись для одержання людських антитіл, що селективно зв'язуються з альфа-4.

Химерні, людські і/або гуманізовані антитіла можуть продукуватись за допомогою рекомбінантної експресії, наприклад, експресії в людських гібридомих [Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985)], у мієломних клітинах або у клітинах яєчника китайського хом'ячка (СНО). Альтернативно, послідовності, що кодують антитіла, можуть включатись до складу векторів, придатних для введення в геном тварин, із продукцією таким чином трансгенної тварини. Одним із прикладів є продукція таких антитіл у молоко трансгенної тварини, такої як велика рогата худоба. Див., наприклад, патент США № 5849992 і 5304489. Придатні трансгени включають в себе трансгени, що мають промотор і/або енхансер зі специфічного гена молочної залози, наприклад, казеїну або β-лактоглобуліну.

5.1.1. Гуманізовані і приматизовані® антитіла

В одному з варіантів здійснення винаходу надаються гуманізовані (і приматизовані®) імуноглобуліни (або антитіла), специфічні у відношенні альфа-4-субодиниці VLA-4, що при введенні в ефективній кількості інгібують демієлінізацію і/або сприяють ремієлінізації і/або знижують параліч. Гуманізовані і приматизовані антитіла являють собою антитіла тваринного походження (звичайно зі ссавців), що модифіковані з використанням способів генної інженерії. Дані способи використовуються для заміни константної ділянки і/або каркасних послідовностей варіабельної ділянки людськими послідовностями, при збереженні вихідної специфічності антитіла у відношенні антигену. Гуманізовані і приматизовані® антитіла звичайно походять від антитіл гризуна (наприклад, миші і хом'яка) зі специфічністю у відношенні людських антигенів (наприклад, людського VCAM-1 або людського VLA-4). Шляхом видозміни донорного антитіла (антитіла тварини, якому вводиться антиген), так щоб воно мало послідовності з тварини, якій буде вводиться дане антитіло для терапевтичних цілей, у цієї тварини буде знижена відповідь хазяїна після введення даного антитіла. Тільки Fc-ділянки або вся послідовність, крім визначальних комплементарність ділянок (CDR), можуть заміщуватись акцепторними доменами, де акцептором є тварина, якій слід ввести видозмінене антитіло (наприклад, ссавці, такі як люди, одомашнені тварини, сільськогосподарські тварини тощо).

Переважаючими є антитіла, що зв'язуються з субодиницею альфа-4 VLA-4, що при введенні пацієнту в ефективній кількості інгібують демієлінізацію. Більш переважними є ті антитіла, що при введенні в ефективній кількості індукують ремієлінізацію і/або знижують параліч у суб'єкта, коли даний суб'єкт страждає від демієлінізуючого захворювання або стану.

Звичайно CDR мишачого антитіла трансплантують у відповідні ділянки в людському антитілі, оскільки саме CDR (тобто три ділянки у важкому ланцюзі антитіла, три в легкому ланцюзі), що являють собою ділянки мишачого антитіла (або будь-якого іншого антитіла тварини) зв'язуються зі специфічним антигеном.

Трансплантація CDR досягається за допомогою генної інженерії, за допомогою чого ДНК-послідовності CDR визначають шляхом клонування генних сегментів варіабельних (V) ділянок мишачих важких і легких ланцюгів, і їх потім переносять на відповідні людські V-ділянки шляхом сайт-специфічного мутагенезу. На кінцевій стадії процесу додають сегменти гена константної ділянки людини необхідного ізотипу (звичайно гама I для C_H і каппа для C_L), і гуманізовані гени легких і важких ланцюгів спільно експресують у клітинах ссавців для продукції розчинних гуманізованих антитіл.

Перенесення даних CDR на людське антитіло надає даному антитілу антигензв'язувальні властивості вихідного мишачого антитіла. Шість CDR у мишачому антитілі структурно монтують у каркасну ділянку V-ділянки. Причина успішності пересадження CDR полягає в тому, що каркасні ділянки між мишачими і людськими антитілами можуть мати дуже подібні 3-D структури з подібними точками прикріплення CDR, так що CDR можуть бути обмінені. Такі гомологи гуманізованих антитіл можуть бути одержані, як описано, наприклад, у Jones et al., 1986, Nature 321: 522-5; Riechmann et al., 1988, Nature 332: 323-7; Queen et al., 1989, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 86: 10029; і Orlandi et al., 1989, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 86: 3833.

Проте, деякі амінокислоти в межах каркасних ділянок, як вважають, взаємодіють з CDR і впливають на загальну єднальну активність у відношенні антигену. Пряме перенесення CDR з мишачого антитіла для продукції рекомбінантного гуманізованого антитіла без яких-небудь модифікацій каркасів людської V-ділянки часто приводить до часткової або повної втрати спорідненості зв'язування. У деяких випадках виявляється критичною зміна залишків у каркасних ділянках акцепторного антитіла (наприклад, людського антитіла) для досягнення єднальної активності.

Queen et al., 1989 (вище) і WO 90/07861 (Protein Design Labs) описали одержання гуманізованого антитіла, що містить модифіковані залишки в каркасних ділянках акцепторного антитіла шляхом комбінації CDR мишачого MAб (анти-Тас) з каркасними і константними ділянками людського імуноглобуліну. Одне з рішень проблеми втрати спорідненості зв'язування без якої-небудь модифікації каркасних ділянок людської V-ділянки охоплює два ключових етапи. По-перше, шляхом комп'ютерного аналізу вибирають людські каркасні V-ділянки на предмет оптимальної гомології білкової послідовності у відношенні каркасу V-ділянки вихідного мишачого антитіла. На другій стадії моделюють на комп'ютері третинну структуру мишачої V-ділянки для візуалізації каркасних амінокислотних залишків, що, імовірно, взаємодіють з мишачими CDR. Дані мишачі амінокислотні залишки потім накладають на гомологічний людський каркас. Для додаткових подробиць, див. патенти США № 5693762; 5693761; 5585089; і 5530101 (Protein Design Labs).

Деякі інтегринові антагоністи, які містять альфа-4-субодиницю, що можуть використовуватись за даним винаходом, включають в себе гомологи химерних і гуманізованих рекомбінантних антитіл (тобто інтактні імуноглобуліни і їх частини) зі специфічністю у відношенні В-епітопів, що були одержані й описані в патенті США №5932214 (MAbHP1/2). Вихідний матеріал для одержання гомологів химерних (мишача варіабельна частина - людська константна) і гуманізованих антитіл проти інтегринів може являти собою мишаче моноклональне антитіло проти інтегрину, описане раніше, комерційно доступне моноклональне антитіло проти інтегрину (наприклад, HP2/1, Amac International, Inc., Westbrook, Мен). Інші переважні гуманізовані гомологи антитіл проти VLA-4 описані Athena Neurosciences, Inc. у PCT/US95/01219 (27 липня 1995р.), патенті США № 5840299 і 6033665. Зміст патентів 5932214, 5840299 і 6033665 включено сюди цілком як посилання.

Дані гуманізовані антитіла проти VLA-4 включають в себе гуманізований легкий ланцюг і гуманізований важкий ланцюг. Гуманізований легкий ланцюг включає в себе три ділянки, які визначають комплементарність, (CDR1, CDR2 і CDR3), що мають амінокислотні послідовності з відповідних визначальних комплементарних ділянок легкого ланцюга мишачого імуноглобуліну 21.6, і каркас варіабельної ділянки з каркасної послідовності варіабельної ділянки людського легкого каппа ланцюга, крім того, що, щонайменше, в одному положенні амінокислотне положення зайняте тією же амінокислотою, що є присутньою в еквівалентному положенні варіабельної ділянки легкого ланцюга мишачого імуноглобуліну 21.6. Гуманізований важкий ланцюг включає в себе три ділянки, які визначають комплементарність, (CDR1, CDR2 і CDR3), що мають амінокислотні послідовності з відповідних ділянок, що визначають комплементарність, важкого ланцюга ланцюга мишачого імуноглобуліну 21.6, і каркас варіабельної ділянки з каркасної послідовності варіабельної ділянки людського важкого ланцюга, крім того, що, щонайменше, в одному положенні амінокислотне положення зайняте тією же амінокислотою, що є присутня в еквівалентному положенні варіабельної ділянки важкого ланцюга мишачого імуноглобуліну 21.6. Див. патенти США № 5840299 і 6033665.

Фрагменти виділеного антагоніста проти альфа-4-інтегрину (наприклад, фрагменти описаних тут гомологів антитіл) також можуть ефективно продукуватись рекомбінантними способами, шляхом протеолітичного розщеплення, або шляхом хімічного синтезу з використанням способів, відомих фахівцям у даній галузі. За рекомбінантними способами, внутрішні або кінцеві фрагменти поліпептиду можуть генеруватись за допомогою видалення одного або декількох нуклеотидів з одного кінця (для кінцевого фрагмента) або обох кінців (із внутрішнього фрагмента) послідовності ДНК, що кодує виділений каркасний поліпептид. Експресія мутованої ДНК приводить до продукції поліпептидних фрагментів. Розщеплення деякими ендонуклеазами може також генерувати ДНК, що кодують набір фрагментів. ДНК, що кодують фрагменти білка, можуть також генеруватись шляхом випадкової нарізки, рестрикційного розщеплення або їх комбінації. Білкові фрагменти можуть генеруватись безпосередньо з інтактних білків. Пептиди можуть специфічно розщеплюватись протеолітичними ферментами, що включають в себе як необмежувальні приклади плазмін, тромбін, трипсин, хімотрипсин або пепсин. Кожний з даних ферментів специфічний у плані типу пептидного зв'язку, що він атакує. Трипсин каталізує гідроліз пептидних зв'язків, в яких карбонільна група відноситься до основної амінокислоти, звичайно, аргініну або лізину. Пепсин і хімотрипсин каталізують гідроліз пептидних зв'язків від ароматичних амінокислот, наприклад, триптофану, тирозину і фенілаланіну. Альтернативні набори розщеплених білкових фрагментів утворюються шляхом запобігання розщепленню в ділянці, чутливій до протеолітичного ферменту. Наприклад, взаємодія ϵ -аміногрупи амінокислоти лізину з етилтрифторіоацетатом у слабо основному розчині приводить до блокування даних амінокислотних залишків, прилягаючий до яких пептидний зв'язок більше не чутливий до гідролізу трипсином. Білки можуть модифікуватись для створення пептидних зв'язків, що чутливі до

протеолітичних ферментів. Наприклад, алкілування цистеїнових залишків β -галогенетиламинами дає пептидні зв'язки, що гідролізуються трипсином (Lindley, 1956, Nature 178: 647). Крім того, можуть використовуватись хімічні реагенти, що розщеплюють пептидні ланцюги в конкретних залишках. Наприклад, бромціан розщеплює пептиди у залишків метіоніну (Gross et al., 1961, J. Am. Chem. Soc. 83: 1510). Таким чином, шляхом обробки білків різними комбінаціями модифікаторів, протеолітичних ферментів і/або хімічних реагентів, білки можуть розділятися на фрагменти необхідної довжини без перекривання з іншими фрагментами, або можуть підрозділятися на фрагменти необхідної довжини, що перекриваються.

5.1.1.1. Наталізумаб і споріднені гуманізовані антитіла

Винахід відноситься до способу застосування гуманізованих імуноглобулінів, що специфічно зв'язуються з лігандом VLA-4, окремо або в комбінації для стимуляції ремієлінізації. Одне з переважних антитіл для застосування за такими способами лікування і у лікарських засобах включає в себе антитіло, описане у патенті США №5840299, передорученому Elan Pharmaceuticals, що включений сюди цілком як посилання. В іншому аспекті розглядається застосування фрагментів даних антитіл з ремієлінізуючою активністю, при її оцінці *in vivo*.

Гуманізовані антитіла включають в себе гуманізований легкий ланцюг і гуманізований важкий ланцюг. В одному з аспектів гуманізований легкий ланцюг може включати в себе три ділянки, які визначають комплементарність, (тобто CDR1, CDR2 і CDR3), що має амінокислотні послідовності від відповідних ділянок, які визначають комплементарність, легкого ланцюга мишачого імуноглобуліну 21-6, і каркас варіабельної ділянки з каркасної послідовності варіабельної ділянки людського легкого ланцюга каппа, крім того, що, щонайменше, в одному положенні, вибраному з першої групи, що складається з положень L45, L49, L58 і L69, амінокислотне положення зайняте тією же амінокислотою, що є присутньою в еквівалентному положенні каркасу варіабельної ділянки легкого ланцюга мишачого імуноглобуліну 21.6.

Гуманізований важкий ланцюг включає в себе три ділянки, які визначають комплементарність, (тобто CDR1, CDR2 і CDR3), що має амінокислотні послідовності від відповідних ділянок, які визначають комплементарність, важкого ланцюга мишачого імуноглобуліну 21-6, і каркас варіабельної ділянки з каркасної послідовності варіабельної ділянки людського важкого ланцюга, крім того, що, щонайменше, в одному положенні, вибраному з групи, що складається з положень H27, H28, H29, H30, H44, H71, амінокислотне положення зайняте тією же амінокислотою, що є присутньою в еквівалентному положенні каркасу варіабельної ділянки важкого ланцюга мишачого імуноглобуліну 21.6. Дані імуноглобуліни специфічно зв'язуються з VLA-4 зі спорідненістю, що має нижню межу, яка приблизно дорівнює $10^7 M^{-1}$, і верхню межу, що дорівнює приблизно п'ятикратній спорідненості мишачого імуноглобуліну 21-6.

Звичайно каркаси варіабельних ділянок гуманізованих легких і важких ланцюгів походять з каркасних послідовностей варіабельних ділянок RE1 і 21/28'CL, відповідно. Коли каркас варіабельної ділянки гуманізованого легкого ланцюга походить з RE1, щонайменше, дві амінокислоти каркасу заміщені. Одна з амінокислот відноситься до першої групи положень, описаних вище. Інші амінокислоти відносяться до третьої групи, що складається з положень L104, L105 і L107. Дане положення зайняте тією же амінокислотою, що є присутньою в еквівалентному положенні легкого ланцюга каппа з людського імуноглобуліну, відмінного від RE1.

Деякі гуманізовані імуноглобуліни мають послідовність варіабельної ділянки зрілого легкого ланцюга, позначену La або Lb, або послідовність варіабельної ділянки зрілого важкого ланцюга, позначену Ha, Hb або Hc (Фіг.13). Переважні гуманізовані імуноглобуліни включають в себе імуноглобуліни, що мають легкий ланцюг La і важкий ланцюг Ha, Hb або Hc (Фіг.14).

Гуманізовані імуноглобуліни мають варіабельні каркасні ділянки, що походять, по суті, з людського імуноглобуліну (позначеного як акцепторний імуноглобулін) і ділянки, які визначають комплементарність, що походять, власне кажучи, з мишачого імуноглобуліну, названого ти MAb 21.6 (позначеного як донорний імуноглобулін). Константна(-і) ділянка(-и), якщо вони присутні, походять(-ять), по суті, з людського імуноглобуліну. Гуманізовані антитіла характеризуються специфічною спорідненістю зв'язування з VLA-4, що дорівнює, щонайменше, 10^7 , 10^8 , 10^9 або $10^{10} M^{-1}$. Звичайно верхня межа спорідненості зв'язування гуманізованих антитіл у відношенні VLA-4 у три-пять разів більше спорідненості ти MAb 21.6 (приблизно $10^9 M^{-1}$). Часто нижня межа спорідненості зв'язування також у три-пять разів менше спорідненості ти MAb 21.6.

Гуманізовані антитіла можуть продукуватись, наприклад, як це було виконано з мишачим моноклональним антитілом MAb 21.6. Вихідним матеріалом для продукції гуманізованих антитіл є ти MAb 21.6. Виділення і властивості даного антитіла описані в патенті США №6033655 (передорученому Elan Pharmaceuticals, Inc.), що включений сюди цілком як посилання. У короткому викладі, ти MAb 21.6 специфічно у відношенні альфа-4-субодиниці VLA-4 і, як було показано, інгібує зв'язування людських лімфоцитів з культурами тканини клітин головного мозку щура, стимульованої фактором некрозу пухлин. Від N-кінця до C-кінця легкі і важкі ланцюги містять домени FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 і FR4. Оцінка амінокислот у кожному домені здійснюється відповідно до правила нумерації Kabat.

У наступній стадії для постачання каркасних залишків використовуються людські антитіла. Переміщення мишачих CDR у каркас людського варіабельного* домену, найбільш імовірно, приводить до збереження їх вірної просторової орієнтації, якщо каркас людського варіабельного домену приймає ту ж або подібну конформацію у порівнянні з мишачим варіабельним каркасом, з якого походять CDR. Це досягається шляхом одержання людських варіабельних доменів з людських антитіл, каркасні послідовності яких характеризуються високим ступенем ідентичності у відношенні мишачих варіабельних каркасних доменів, з яких походять CDR. Варіабельні каркасні ділянки важких і легких ланцюгів можуть походити з тих самих або різних послідовностей людських антитіл. Послідовності людських антитіл можуть являти собою послідовності людських антитіл, що зустрічаються в природі, або можуть являти собою консенсусні послідовності різних людських антитіл. Див. Kettleborough et al., Protein Engineering 4: 773 (1991); Kolbinger et al., Protein Engineering 6: 971 (1993).

Придатні послідовності людського антитіла ідентифікують порівняннями на комп'ютері з амінокислотними послідовностями мишачих варіабельних ділянок з послідовностями відомих людських антитіл. Порівняння проводять окремо для важких і легких ланцюгів, але принципи є подібними для обох

типів. Дане порівняння виявляє, що легкий ланцюг ти 21.6 характеризується найбільшою гомологією за послідовністю у відношенні людських легких ланцюгів субтипу каппа 1; важкий ланцюг ти 21.6 характеризується найбільшою гомологією за послідовністю у відношенні людських важких ланцюгів субтипу один, за визначенням Kabat, див. вище. Таким чином, каркасні ділянки людських легких і важких ланцюгів звичайно походять з людських антитіл даних субтипів, або з консенсусних послідовностей таких субтипів. Переважні варіабельні ділянки людських легких і важких ланцюгів, що характеризуються найбільшою ідентичністю послідовностей у відношенні відповідних ділянок з ти MAb 21.6, походять з антитіл RE1 і 21/28'CL, відповідно.

Комп'ютерне моделювання потім може використовуватись для подальшого посилення здатності гуманізованого антитіла зв'язуватись з розпізнаваним ним лігандом. Неприродне сусідство мишачих ділянок CDR з людською варіабельною каркасною ділянкою може приводити до неприродних конформаційних обмежень, що, якщо не коректуються заміною деяких амінокислотних залишків, приводять до втрати спорідненості зв'язування. Вибір амінокислотних залишків для заміни частково визначається комп'ютерним моделюванням. Широко доступне комп'ютерне устаткування і програми для одержання тривимірних зображень імуноглобулінових молекул. Загалом, молекулярні моделі продукують, починаючи з дозволених структур імуноглобулінових ланцюгів і їх доменів. Підлягаючі моделюванню ланцюги порівнюють на предмет подібності амінокислотної послідовності з ланцюгами або доменами дозволених тривимірних структур, і ланцюги і домени, що характеризуються максимальною подібністю за послідовністю, вибирають як вихідні точки для конструювання молекулярної моделі. Наприклад, для легкого ланцюга ти MAb 21.6 вихідна точка для моделювання рамкових ділянок, ділянок CDR1 і CDR2, являла собою людський легкий ланцюг RE1. Для ділянки CDR3 вихідною точкою була ділянка CDR3 з легкого ланцюга іншого людського антитіла HyHEL-5. Дозволені вихідні структури модифікували для забезпечення відмінностей між дійсними амінокислотами імуноглобулінових ланцюгів або доменів, що підлягають моделюванню, і амінокислотами у вихідній структурі. Модифіковані структури потім поєднували в складений імуноглобулін. Нарешті, модель вивіряли шляхом мінімізації енергії і шляхом підтвердження того, що всі атоми знаходяться на придатних відстанях друг від друга і що довжини і кути зв'язків знаходяться в прийнятних з погляду хімії межах.

Як відзначено вище, гуманізовані антитіла за винаходом містять варіабельні каркасні ділянки, що походять, по суті, з людського імуноглобуліну, і ділянок, які визначають комплементарність, що походять, по суті, з мишачого імуноглобуліну ти MAb 21.6. Після ідентифікації ділянок, які визначають комплементарність, (CDR) ти MAb 21.6 і придатних людських акцепторних імуноглобулінів наступною стадією є визначення того, які залишки з даних компонентів варто замінити для оптимізації властивостей одержаного в результаті гуманізованого антитіла, якщо це взагалі потрібно. Загалом, заміна людських амінокислотних залишків мишачими варто мінімізувати, оскільки введення мишачих залишків підвищує ризик того, що антитіло викликає у людей відповідь НАМА. Амінокислоти вибирають для заміни, ґрунтуючись на їх можливому впливі на конформацію CDR і/або зв'язування ними антигену. Дослідження таких можливих впливів здійснюється шляхом моделювання, оцінки характеристик амінокислот у конкретних місцях розташування, або шляхом емпіричного спостереження впливу або заміни мутагенезу конкретних амінокислот.

Коли амінокислота варіабельної каркасної ділянки ти MAb 21.6 відрізняється від еквівалентної амінокислоти людської варіабельної каркасної ділянки, амінокислоту людського каркасу звичайно варто замінити еквівалентною мишачою амінокислотою, якщо обґрунтовано очікується, що дана амінокислота: (1) нековалентно зв'язує антиген безпосередньо (наприклад, амінокислоти в положеннях L49, L69 ти MAb 21.6), (2) прилягає до ділянки CDR, є частиною ділянки CDR в альтернативному визначенні, запропонованому Clothia et al. вище, або інакше взаємодіє з ділянкою CDR (наприклад, знаходиться приблизно в 3Å від ділянки CDR) (наприклад, амінокислоти в положеннях L45, L58, H27, H28, H29, H30 і H71 ти MAb 21.6), або (3) бере участь у поверхні розділу V_L-V_H (наприклад, амінокислоти в положенні H44 ти MAb 21.6).

Інші кандидати на заміну являють собою амінокислоти людського каркасу, що є незвичайними для людського імуноглобуліну в даному положенні (наприклад, амінокислоти в положеннях L104, L105 і L107 ти MAb 21.6). Дані амінокислоти можна замінити амінокислотами з еквівалентного положення більш типових людських імуноглобулінів. Альтернативно, амінокислоти з еквівалентних положень мишачого MAb 21.6 можуть вводиться в людські каркасні ділянки, коли такі амінокислоти типові для людського імуноглобуліну в еквівалентному положенні.

Взагалі, потрібна заміна всіх або більшої частини амінокислот, що відповідають зазначеним вище критеріям. Втім, час від часу мається невизначеність у плані того, чи відповідає конкретна амінокислота зазначеним вище критеріям, і продукують альтернативні варіанти імуноглобуліну, причому один з них має цю конкретну заміну, а інший - немає. Гуманізовані антитіла звичайно містять заміну залишку каркасу людського легкого ланцюга відповідним залишком ти MAb 21.6, щонайменше, у 1, 2 або 3 або, частіше, у 4 наступних положеннях: L45, L49, L58 і L69. Гуманізовані антитіла також звичайно містять заміну залишку каркасу людського важкого ланцюга, щонайменше, у 1, 2, 3, 4 або 5, та іноді в 6 з наступних положень: H27, H28, H29, H30, H44 і H71. Необов'язково, H36 може також замінюватись. У переважних варіантах здійснення, в яких акцепторним імуноглобуліном людського легкого ланцюга є RE1, легкий ланцюг також містить заміни, щонайменше, у 1 або 2, і, частіше, 3 з наступних положень: L104, L105 і L107. Дані положення заміщені амінокислотою з еквівалентного положення людського імуноглобуліну, що має більш типові амінокислотні залишки. Придатні амінокислоти для заміни показані у Фіг.13 і 14.

Звичайно ділянки CDR у гуманізованих антитілах, по суті, ідентичні або, частіше, ідентичні відповідним ділянкам CDR в антитілі ти MAb 21.6. Іноді, втім, бажано змінювати один із залишків в ділянці CDR. Наприклад, у прикладі 4 ідентифікована амінокислотна подібність між CDR3 ти MAb 21.6 і лігандом VCAM-1. Дане спостереження вказує на те, що спорідненість зв'язування гуманізованих антитіл повинно поліпшувати перебудову ділянок CDR3 важких ланцюгів для того, щоб вони нагадували VCAM-1 навіть більш близько. Відповідно до цього, одна або кілька амінокислот з домену CDR3 може замінюватись амінокислотами з єдиного домену VCAM-1. Хоча це звичайно небажано, іноді можливо здійснення однієї або декількох консервативних амінокислотних заміни залишків CDR без істотного впливу на спорідненість

зв'язування одержаного в результаті гуманізованого імуноглобуліну.

На відміну від специфічних амінокислотних замінів, обговорюваних вище, каркасні ділянки гуманізованих імуноглобулінів звичайно по суті ідентичні і, частіше, ідентичні каркасним ділянкам людських антитіл, з яких вони походять. Звичайно, багато амінокислот у каркасній ділянці вносять малий вклад у специфічність або спорідненість антитіла або взагалі не впливають на них. Таким чином, багато індивідуальних консервативних замінів каркасних залишків можуть переноситись без істотної зміни специфічності або спорідненості одержаного гуманізованого імуноглобуліну. Однак, в цілому, такі заміни небажані.

Продукція варіабельних ділянок. Після концептуального вибору CDR і каркасних компонентів гуманізованих імуноглобулінів доступні різні способи для продукції таких імуноглобулінів. Через виродженість коду кожен амінокислотну послідовність імуноглобуліну будуть кодувати різні послідовності нуклеїнової кислоти. Необхідні послідовності нуклеїнової кислоти можуть продукуватись шляхом твердофазного синтезу ДНК *de novo* або шляхом ПЛР-мутагенезу раніше одержаного варіанта необхідного полінуклеотиду. Опосередкований олігонуклеотидами мутагенез є переважним способом для одержання варіантів замінів, делецій і вставки в ДНК поліпептиду-мішені. Див. Adelman et al., DNA 2: 183 (1983). У короткому викладі, ДНК поліпептиду-мішені змінюється шляхом гібридизації олігонуклеотиду, що кодує необхідну мутацію, з одноланцюговою ДНК-матрицею. Після гібридизації ДНК-полімераза використовується для синтезу цілого другого комплементарного ланцюга матриці, що включає в себе олігонуклеотидний праймер, і кодує вибрану зміну ДНК поліпептиду-мішені.

Вибір константної ділянки. Варіабельні сегменти гуманізованих антитіл, продукованих, як описано вище, звичайно пов'язані, щонайменше, з частиною константної ділянки імуноглобуліну (Fc), звичайно, що походить з людського імуноглобуліну. Послідовності ДНК людської константної ділянки можуть бути виділені відповідно до добре відомих процедур з різноманітних людських клітин, але переважно з іморталізованих В-клітин (див. Kabat et al., вище, і WO 87/02671) (кожен з даних посилань включене сюди цілком як посилання). Звичайно антитіло містить обидві константні ділянки легкого і важкого ланцюгів. Константна ділянка важкого ланцюга звичайно включає в себе ділянки CH1, шарнір, CH2, CH3 і CH4.

Гуманізовані антитіла включають в себе антитіла, що мають константні ділянки будь-яких типів, включаючи IgM, IgG, IgD, IgA і IgE, і будь-якого ізотипу, включаючи IgG1, IgG2, IgG3 і IgG4. Коли потрібно, щоб гуманізоване антитіло характеризувалося цитоксичною активністю, константний домен звичайно являє собою фіксує комплемент константний домен, і клас звичайно являє собою IgG1. Коли така цитотоксична активність небажана, константний домен може відноситись до класу IgG2. Гуманізоване антитіло може включати в себе послідовності більше одного або класу ізотипу.

5.1.1.2. Інші антитіла проти VLA-4

Інші антитіла проти VLA-4 включають в себе як необмежувальні приклади HP1/2, HP-2/1, HP2/4, L25, і P4C2. Дані антитіла також можуть вводитись в кількості, ефективні для інгібування демієлінізації і/або запобігання ремієлінізації, і/або зниження паралічу у пацієнта, що легко зрозуміти фахівцю в даній галузі, як обговорюється тут і як добре відомо в даній галузі.

Часто моноклональні антитіла, одержані у мишей, пізніше гуманізують для запобігання імунній відповіді людини проти мишачих антитіл (HAMA) у суб'єкта-людини, імунізованого мишачим антитілом. Це відбувається за рахунок пересадження і видозміни CDR. Таким чином, антитіла звичайно спочатку являють собою мишачі моноклональні антитіла, що стають гуманізованим шляхом пересадження і видозміни CDR, як обговорюється для антитіла 21.6.

Конкретно, гуманізовані антитіла мають специфічність у відношенні VLA-4 і здатні стимулювати ремієлінізацію, запобігати демієлінізації і/або знижувати параліч. Дані антитіла походять із джерел (наприклад, звичайно з миші), у яких, щонайменше, одна або декілька ділянок, які визначають комплементарність, (CDR) варіабельних доменів походять з донорного антитіла проти VLA-4, що не відносяться до людини, і в якій можуть мати місце або бути відсутніми мінімальні зміни варіабельної каркасної ділянки важкого і/або легкого ланцюга акцепторного антитіла для збереження специфічності зв'язування донорного антитіла. Переважно, антигензв'язувальні ділянки варіабельного домену важкого ланцюга з пересадженими CDR містять CDR, що відповідають положенням 31-35 (CDR1), 50-65 (CDR2) і 95-102 (CDR3). У переважному здійсненні, важкий ланцюг далі включає в себе залишки, що не відносяться до людини, в положеннях каркасу 27-30 (нумерація Kabat). Важкий ланцюг може далі включати в себе залишки, що не відносяться, до людини в положенні каркасу 75 (нумерація Kabat). Важкий ланцюг може далі включати в себе залишки, що не відносяться до людини, в положенні(-ях) каркасу 77-79 або 66-67 і 69-71 або 84-85 або 38 і 40 або 24 (нумерація Kabat). Переважно, антигензв'язувальні ділянки варіабельного домену легкого ланцюга з пересадженими CDR включають в себе CDR, що відповідають положенням 24-34 (CDR1), 50-56 (CDR2) і 89-97 (CDR3). У переважному здійсненні легкий ланцюг далі включає в себе залишки, що не відносяться до людини, в положеннях каркасу 60 і 67 (нумерація Kabat). Дані позначення залишків пронумеровані відповідно до нумерації Kabat (Kabat et al., 5th ed. 4 vol. SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, U. S. Department of Health Human Services, NIH, USA (1991)).

Синтез і гуманізація мишачого антитіла HP 1/2. HP 1/2 являє собою інше антитіло, спрямоване проти VLA-4. Спосіб одержання гуманізованої версії даного антитіла для застосування в суб'єктів-людей описаний тут і далі описаний у патенті США №6602503, передорученому Biogen, Inc., і включений сюди цілком як посилання. Послідовності гуманізованих антитіл представлені таким чином. Послідовність ДНК V_H HP1/2 і її транскрибована амінокислотна послідовність являють собою:

```

5'-gtc aaa ctg cag cag tct ggg gca gag ctt gtg aag cca ggg gcc tca
48 N-Val Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser
   1           5           10          15
   gtc aag ttg ttc tgc aca gct tct ggc ttc aac att aaa gac acc tat
96 Val Lys Leu Phe Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr
   20          25          30
   atg cac tgg gtg aag cag agg cct caa cag ggc ctg gag tgg att gga
144 Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gln Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
   35          40          45
   agg att gat cct gcg agt ggc gat act aaa tat gac ccg aag ttc cag
192 Arg Ile Asp Pro Ala Ser Gly Asp Thr Lys Tyr Asp Pro Lys Phe Gln
   50          55          60
   gtc aag gcc act att aca gcg gac acg tcc tcc aac aca gcc tgg ctg
240 Val Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Trp Leu
   65          70          75          80
   cag ctc agc agc ctg aca tct gag gac act gcc gtc tac tac tgt gca
288 Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
   85          90          95
   gac gga atg tgg gta tca acg gga tat gct ctg gac ttc tgg ggc caa
336 Asp Gly Met Trp Val Ser Thr Gly Tyr Ala Leu Asp Phe Trp Gly Gln
   100         105         110
   ggg acc acg gtc acc gtc tcc tca-3'
360 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser-C
   115         120

```

Порівняння між двома послідовностями V_H HP1/2 і консенсусною послідовністю сімейства ПС виявило, що незвичайні залишки знаходяться тільки в амінокислотних положеннях 80, 98 і 121 (тобто 79, 94 і 121 по нумерації Kabat). Хоча Тур-80 є інваріантним у підгрупі IIC, інші секвеновані мишачі V_H-ділянки мають інші ароматичні амінокислоти в даному положенні, але жодна не містить TRp. Більша частина людських і мишачих V_H мають залишок аргініну в положенні 94 за Kabat. Присутність Asp-94 у V_H HP1/2 є винятково рідкою; повідомляється тільки про один приклад негативно зарядженого залишку в даному положенні. Пролін по положенню 113 за Kabat також є незвичайним, але маєть мала імовірність того, що він є значимим у конформації CDR через його відстань від них. Амінокислоти, що складають CDR1, виявлені в трьох інших секвенованих мишачих V_H-ділянках. Однак, CDR2 і CDR3 є унікальними для HP1/2 і не виявлені в яких-небудь інших описаних мишачих V_H.

Послідовність ДНК V_K HP1/2 і її трансьована амінокислотна послідовність являють собою наступне:

```

5'-agt att gtg atg acc cag act ccc aaa ttc ctg ctt gtt tca gca gga
48
N-Ser Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Lys Phe Leu Leu Val Ser Ala Gly
1 5 10 15
gac agg gtt acc ata acc tgc aag gcc agt cag agt gtg act aat gat
96
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Thr Asn Asp
20 25 30
gta gct tgg tac caa cag aag cca ggg cag tct cct aaa ctg ctg ata
144
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
tat tat gca tcc aat cgc tac act gga gtc cct gat cgc ttc act ggc
192
Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60
agt gga tat ggg acg gat ttc act ttc acc atc agc act gtg cag gct
240
Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Thr Val Gln Ala
65 70 75 80
gaa gac ctg gca gtt tat ttc tgt cag cag gat tat agc tct ccg tac
288
Glu Asp Leu Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Tyr
85 90 95
acg ttc gga ggg ggg acc aag ctg gag atc-3'
318
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile-C
100 105

```

V_K HP1/2 є представником сімейства V за Kabat (Kabat et al., 5th ed., 4 vol., SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, U. S. Department of Health Human Services (1991)) і не містить незвичайних залишків. Амінокислоти CDR1 і CDR3 є унікальними. Амінокислоти, що складають CDR2 повідомлялись для однієї з інших мишачих V_K.

Конструювання антитіла проти VLA-4 з пересадженими CDR. Для конструювання антитіла проти VLA-4 з пересадженими CDR було необхідно визначити, які залишки мишачого HP1/2 складають CDR легкого і важкого ланцюгів. Три ділянки гіперваріабельності серед менш варіабельних каркасних послідовностей виявлені на легкому і важкому ланцюгах (Wu and Kabat, J. Exp. Med. 132 : 211-250 (1970); Kabat et al., (1991)). У більшості випадків дані гіперваріабельні ділянки відповідають CDR, але можуть простиратись за них. CDR мишачих HP1/2 виявляли відповідно до Kabat et al., (1991) шляхом вирівнювання з іншими послідовностями V_H і V_K. CDR мишачого V_H HP1/2 ідентифікували і ставили у відповідність залишкам, ідентифікованим у гуманізованих послідовностях V_H наступним чином:

```

CDR1      AA31-AA35
CDR2      AA50-AA66
CDR3      AA99-AA110

```

Вони відповідали AA₃₁-AA₃₅, AA₅₀-AA₆₆, і AA₉₅-AA₁₀₂, відповідно, за нумерацією Kabat. CDR мишачих V_K HP1/2 ідентифікували і ставили у відповідність залишкам, ідентифікованим у гуманізованих послідовностях V_K наступним чином:

```

CDR1      AA24-AA34
CDR2      AA50-AA56
CDR3      AA89-AA97

```

Вони відповідали тим же номерам амінокислот за нумерацією Kabat. Таким чином, тільки в межах V_K, але не V_H, CDR відповідали залишкам CDR за Kabat. Людські каркаси, вибрані як акцептор для (донорних) CDR HP1/2, являли собою NEWM і RE1 для важких і легких ланцюгів, відповідно. Послідовності NEWM і RE1 опубліковані в Kabat et al., (1991).

ДНК і відповідна амінокислотна послідовність варіабельної ділянки гуманізованого важкого ланцюга гуманізованого антитіла HP1/2 являють собою:

```

5'-atg gac tgg acc tgg agg gtc ttc tgc ttg ctg gct gta gca cca ggt
48
N-Met Asp Trp Thr Trp Arg Val Phe Cys Leu Leu Ala Val Ala Pro Gly
1 5 10 15
gcc cac tcc cag gtc caa ctg cag gag tcc ggt gct gaa gtt gtt aaa
96
Ala His Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Ala Glu Val Val Lys
20 25 30
ccg ggt tcc tcc gtt aaa ctg tcc tgc aaa gct tcc ggt ttc aac atc
144
Pro Gly Ser Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile
35 40 45

```

```

192   aaa gac acc tac atg cac tgg gtt aaa cag cgt ccg ggt cag ggt ctg
    Lys Asp Thr Tyr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
      50          55          60

240   gaa tgg atc ggt cgt atc gac ccg gct tcc ggt gac acc aaa tac gac
    Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Ala Ser Gly Asp Thr Lys Tyr Asp
      65          70          75          80

288   ccg aaa ttc cag gtt aaa gct acc atc acc gct gac gaa tcc acc tcc
    Pro Lys Phe Gln Val Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser
          85          90          95

336   acc gct tac ctg gaa ctg tcc tcc ctg cgt tcc gaa gac acc gct gtt
    Thr Ala Tyr Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
          100          105          110

384   tac tac tgc gct gac ggt atg tgg gtt tcc acc ggt tac gct ctg gac
    Tyr Tyr Cys Ala Asp Gly Met Trp Val Ser Thr Gly Tyr Ala Leu Asp
          115          120          125

    ttc tgg ggt cag ggt acc acg gtc acc gtc tcc tca ggt gag tcc-3'
    Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Glu Ser-C
          130          135          140

```

ДНК і відповідна амінокислотна послідовність варіабельної ділянки гуманізованого легкого ланцюга гуманізованого антитіла HP1/2 являють собою:

```

48   5'-atg ggt tgg tcc tgc atc atc ctg ttc ctg gtt gct acc gct acc ggt
    N-Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
      1          5          10          15

96   gtt cac tcc atc gtt atg acc cag tcc ccg gac tcc ctg gct gtt tcc
    Val His Ser Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser
          20          25          30

144   ctg ggt gaa cgt gtt acc atc aac tgc aaa gct tcc cag tcc gtt acc
    Leu Gly Glu Arg Val Thr Ile Asn Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Thr
          35          40          45

192   aac gac gtt gct tgg tac cag cag aaa ccg ggt cag tcc ccg aaa ctg
    Asn Asp Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu
          50          55          60

240   ctg atc tac tac gct tcc aac cgt tac acc ggt gtt ccg gac cgt ttc
    Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe
          65          70          75          80

288   tcc ggt tcc ggt tac ggt acc gac ttc acc ttc acc atc tcc tcc gtt
    Ser Gly Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val
          85          90          95

336   cag gct gaa gac gtt gct gtt tac tac tgc cag cag gac tac tcc tcc
    Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Ser Ser
          100          105          110

383   ccg tac acc ttc ggt ggt ggt acc aaa ctg gag atc taa ggatcctc-3'
    Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile-C
          115          120

```

На додаток до легких і важких ланцюгів зазначеного вище гуманізованого антитіла HP1/2 інші акцепторні ділянки легких і важких ланцюгів можуть також використовуватись для вставки в донорні ділянки HP1/2. Всі наступні конструкції містять Ser-75 (нумерація Kabat). Конструкція STAW далі містить заміну Gln на Thr у положенні 77, Phe на Ala у положенні 78, і Ser на Trp у положенні 79 (нумерація Kabat). Послідовність ДНК V_H і її трансльована амінокислотна послідовність наведені нижче:


```

5'-atg gac tgg acc tgg agg gtc ttc tgc ttg ctg gct gta gca cca ggt
48
N-Met Asp Trp Thr Trp Arg Val Phe Cys Leu Leu Ala Val Ala Pro Gly
1 5 10 15
gcc cac tcc cag gtc caa ctg cag gag agc ggt cca ggt ctt gtg aga
96
Ala His Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg
20 25 30
cct agc cag acc ctg agc ctg acc tgc acc gtg tct ggc ttc aac att
144
Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Asn Ile
35 40 45
aaa gac acc tat atg cac tgg gtg aga cag cca cct gga cga ggt ctt
192
Lys Asp Thr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu
50 55 60
gag tgg att gga agg att gat cct gcg agt ggc gat act aaa tat gac
240
Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Ala Ser Gly Asp Thr Lys Tyr Asp
65 70 75 80
ccg aag ttc cag gtc aga gtg aca atg ctg gta gac acc agc agc aac
288
Pro Lys Phe Gln Val Arg Val Thr Met Leu Val Asp Thr Ser Ser Asn
85 90 95
aca gcc tgg ctg aga ctc agc agc gtg aca gcc gcc gac acc gcg gtc
336
Thr Ala Trp Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val
100 105 110
tat tat tgt gca gac gga atg tgg gta tca acg gga tat gct ctg gac
384
Tyr Tyr Cys Ala Asp Gly Met Trp Val Ser Thr Gly Tyr Ala Leu Asp
115 120 125
ttc tgg ggc caa ggg acc acg gtc acc gtc tcc tca ggt gag tcc-3'
429
Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Glu Ser-C
130 135 140

```

Конструкція KAITAS містить додаткові зміни Arg на Lys (положення 66), Val на Ala (положення 67), Met на Ile (положення 69), Leu на Thr (положення 70) і Val на Ala (положення 71) (нумерація Kabat). Послідовність ДНК V_H KAITAS і її трансльована амінокислотна послідовність наведені нижче:

5' -atg gac tgg acc tgg agg gtc ttc tgc ttg ctg gct gta gca cca ggt
 48 N-Met Asp Trp Thr Trp Arg Val Phe Cys Leu Leu Ala Val Ala Pro Gly
 1 5 10 15
 gcc cac tcc cag gtc caa ctg cag gag agc ggt cca ggt ctt gtg aga
 96 Ala His Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg
 20 25 30
 cct agc cag acc ctg agc ctg acc tgc acc gtg tct ggc ttc aac att
 144 Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Asn Ile
 35 40 45
 aaa gac acc tat atg cac tgg gtg aga cag cca cct gga cga ggt ctt
 192 Lys Asp Thr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu
 50 55 60
 gag tgg att gga agg att gat cct gcg agt ggc gat act aaa tat gac
 240 Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Ala Ser Gly Asp Thr Lys Tyr Asp
 65 70 75 80
 ccg aag ttc cag gtc aaa gcg aca att acg gca gac acc agc agc aac
 288 Pro Lys Phe Gln Val Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn
 85 90 95
 cag ttc agc ctg aga ctc agc agc gtg aca gcc gcc gac acc gcg gtc
 336 Gln Phe Ser Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val
 100 105 110
 tat tat tgt gca gac gga atg tgg gta tca acg gga tat gct ctg gac
 384 Tyr Tyr Cys Ala Asp Gly Met Trp Val Ser Thr Gly Tyr Ala Leu Asp
 115 120 125
 ttc tgg ggc caa ggg acc acg gtc acc gtc tcc tca ggt gag tcc-3'
 429
 Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Glu Ser-C
 130 135 140

Конструкція SSE містить додаткові зміни Ala на Ser (положення 84) і Ala на Glu (положення 85) (нумерація Kabat). Послідовність ДНК V_H SSE і її трансльована амінокислотна послідовність наведені нижче:

5'-cag gtc caa ctg cag gag agc ggt cca ggt ctt gtg aga cct agc cag
48 N-Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

acc ctg agc ctg acc tgc acc gtg tct ggc ttc aac att aaa gac acc
96 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

tat atg cac tgg gtg aga cag cca cct gga cga ggt ctt gag tgg att
144 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

gga agg att gat cct gcg agt ggc gat act aaa tat gac ccg aag ttc
192 Gly Arg Ile Asp Pro Ala Ser Gly Asp Thr Lys Tyr Asp Pro Lys Phe
50 55 60

cag gtc aga gtg aca atg ctg gta gac acc agc agc aac cag ttc agc
240 Gln Val Arg Val Thr Met Leu Val Asp Thr Ser Ser Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

ctg aga ctc agc agc gtg aca tct gag gac acc gcg gtc tat tat tgt
288 Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

gca gac gga atg tgg gta tca acg gga tat gct ctg gac ttc tgg ggc
336 Ala Asp Gly Met Trp Val Ser Thr Gly Tyr Ala Leu Asp Phe Trp Gly
100 105 110

caa ggg acc acg gtc acc gtc tcc tca ggt gag tcc-3'
372 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Glu Ser-C
115 120

Конструкція KRS містить додаткові зміни Arg на Lys (положення 38) і Pro на Arg (положення 40) (нумерація Kabat). Послідовність ДНК V_H KRS і її трансльована амінокислотна послідовність наведені нижче:

5'-atg gac tgg acc tgg agg gtc ttc tgc ttg ctg gct gta gca cca ggt
48 N-Met Asp Trp Thr Trp Arg Val Phe, Cys Leu Leu Ala Val Ala Pro Gly
1 5 10 15

gcc cac tcc cag gtc caa ctg cag gag agc ggt cca ggt ctt gtg aga
 96 Ala His Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg
 20 25 30
 cct agc cag acc ctg agc ctg acc tgc acc gtg tct ggc ttc aac att
 144 Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Asn Ile
 35 40 45
 aaa gac acc tat atg cac tgg gtg aaa cag cga cct gga cga ggt ctt
 192 Lys Asp Thr Tyr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Arg Gly Leu
 50 55 60
 gag tgg att gga agg att gat cct gcg agt ggc gat act aaa tat gac
 240 Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Ala Ser Gly Asp Thr Lys Tyr Asp
 65 70 75 80
 ccg aag ttc cag gtc aga gtg aca atg ctg gta gac acc agc agc aac
 288 Pro Lys Phe Gln Val Arg Val Thr Met Leu Val Asp Thr Ser Ser Asn
 85 90 95
 cag ttc agc ctg aga ctc agc agc gtg aca gcc gcc gac acc gcg gtc
 336 Gln Phe Ser Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val
 100 105 110
 tat tat tgt gca gac gga atg tgg gta tca acg gga tat gct ctg gac
 384 Tyr Tyr Cys Ala Asp Gly Met Trp Val Ser Thr Gly Tyr Ala Leu Asp
 115 120 125
 ttc tgg ggc caa ggg acc acg gtc acc gtc tcc tca ggt gag tcc-3'
 429 Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Glu Ser-C
 130 135 140

Конструкція AS містить зміну Val на Ala у положенні 24 (нумерація Kabat). Послідовність ДНК V_H AS і її трансльована амінокислотна послідовність наведені нижче:

5'-atg gac tgg acc tgg agg gtc ttc tgc ttg ctg gct gta gca cca ggt
 48 N-Met Asp Trp Thr Trp Arg Val Phe Cys Leu Leu Ala Val Ala Pro Gly
 1 5 10 15
 gcc cac tcc cag gtc caa ctg cag gag agc ggt cca ggt ctt gtg aga
 96 Ala His Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg
 20 25 30
 cct agc cag acc ctg agc ctg acc tgc acc gcg tct ggc ttc aac att
 144 Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile
 35 40 45
 aaa gac acc tat atg cac tgg gtg aga cag cca cct gga cga ggt ctt
 192 Lys Asp Thr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu
 50 55 60
 gag tgg att gga agg att gat cct gcg agt ggc gat act aaa tat gac
 240 Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Ala Ser Gly Asp Thr Lys Tyr Asp
 65 70 75 80
 ccg aag ttc cag gtc aga gtg aca atg ctg gta gac acc agc agc aac
 288 Pro Lys Phe Gln Val Arg Val Thr Met Leu Val Asp Thr Ser Ser Asn
 85 90 95
 cag ttc agc ctg aga ctc agc agc gtg aca gcc gcc gac acc gcg gtc
 336 Gln Phe Ser Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val
 100 105 110
 tat tat tgt gca gac gga atg tgg gta tca acg gga tat gct ctg gac
 384 Tyr Tyr Cys Ala Asp Gly Met Trp Val Ser Thr Gly Tyr Ala Leu Asp
 115 120 125
 ttc tgg ggc caa ggg acc acg gtc acc gtc tcc tca ggt gag tcc-3'
 429 Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Glu Ser-C
 130 135 140

Гуманізований легкий ланцюг, в основному, вимагає малого числа модифікацій, якщо це взагалі потрібно. Однак, при одержанні гуманізованих антитіл проти антитіл VLA-4, різні емпіричні зміни поліпшували імунологічну активність антитіла проти його ліганду. Наприклад, гуманізований важкий ланцюг з мутацією Ser з мишачим легким ланцюгом мав ефективність, приблизно в 2,5 рази меншу, ніж мишаче HP1/2. Той же гуманізований важкий ланцюг з гуманізованим легким ланцюгом мав ефективність, меншу приблизно в 4 рази.

Гуманізована конструкція V_K (VK1) включає в себе заміну Ser на Asp у положенні 60, і заміну Ser на Tyr у положенні 67. Послідовність ДНК і її транскрибована амінокислотна послідовність наведена нижче:

```

5'-atg ggt tgg tcc tgc atc atc ctg ttc ctg gtt gct acc gct acc ggt
48
N-Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15
gtt cac tcc gac atc cag ctg acc cag agc cca agc agc ctg agc gcc
96
Val His Ser Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala
20 25 30
agc gtg ggt gac aga gtg acc atc acc tgt aag gcc agt cag agt gtg
144
Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val
35 40 45
act aat gat gta gct tgg tac cag cag aag cca ggt aag gct cca aag
192
Thr Asn Asp Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys
50 55 60
ctg ctg atc tac tat gca tcc aat cgc tac act ggt gtg cca agc aga
240
Leu Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg
65 70 75 80
ttc agc ggt agc ggt agc ggt acc gac ttc acc ttc acc atc agc agc
288
Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser
85 90 95
ctc cag cca gag gac atc gcc acc tac tac tgc cag cag gat tat agc
336
Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Ser
100 105 110
tct ccg tac acg ttc ggc caa ggg acc aag gtg gaa atc aaa cgt aag
tg-3' 386
Ser Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Lys-
C
115 120 125

```

Інша конструкція V_K (тобто VK2) має послідовності DQMDY збереженого вихідного каркасу RE1. ДНК і відповідна амінокислотна послідовність наведена нижче:

```

5'-atg ggt tgg tcc tgc atc atc ctg ttc ctg gtt gct acc gct acc ggt
48
N-Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15
gtc cac tcc agc atc gtg atg acc cag agc cca agc agc ctg agc gcc
96
Val His Ser Ser Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala
20 25 30
agc gtg ggt gac aga gtg acc atc acc tgt aag gcc agt cag agt gtg
144
Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val
35 40 45
act aat gat gta gct tgg tac cag cag aag cca ggt aag gct cca aag
192
Thr Asn Asp Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys
50 55 60
ctg ctg atc tac tat gca tcc aat cgc tac act ggt gtg cca gat aga
240
Leu Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg
65 70 75 80

```

```

    ttc agc ggt agc ggt tat ggt acc gac ttc acc ttc acc atc agc agc
288  Phe Ser Gly Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser
      85                      90                      95

    ctc cag cca gag gac atc gcc acc tac tac tgc cag cag gat tat agc
336  Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Ser
      100                    105                    110

    tct ccg tac acg ttc ggc caa ggg acc aag gtg gaa atc aaa cgt aag
tg-3' 386
    Ser Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Lys-
C
      115                    120                    125

```

Третя конструкція V_K являє собою VK3, що має SVM замість DQM на N-кінці і зміни двох інших змін. ДНК і відповідна амінокислотна послідовність являють собою:

```

    5'-atg ggt tgg tcc tgc atc atc ctg ttc ctg gtt gct acc gct acc ggt
48  N-Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
      1           5           10           15

    gtc cac tcc gac atc cag atg acc cag agc cca agc agc ctg agc gcc
96  Val His Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala
      20           25           30

    agc gtg ggt gac aga gtg acc atc acc tgt aag gcc agt cag agt gtg
144 Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val
      35           40           45

    act aat gat gta gct tgg tac cag cag aag cca ggt aag gct cca aag
192 Thr Asn Asp Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys
      50           55           60

    ctg ctg atc tac tat gca tcc aat cgc tac act ggt gtg cca gat aga
240 Leu Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg
      65           70           75           80

    ttc agc ggt agc ggt tat ggt acc gac ttc acc ttc acc atc agc agc
288 Phe Ser Gly Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser
      85                      90                      95

    ctc cag cca gag gac atc gcc acc tac tac tgc cag cag gat tat agc
336 Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Ser
      100                    105                    110

    tct ccg tac acg ttc ggc caa ggg acc aag gtg gaa atc aaa cgt aag
tg-3' 386
    Ser Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Lys
C
      115                    120                    125

```

Подробиці, що стосуються того, як одержували кожний з цих легких і важких ланцюгів, надані в патенті США №6602503, що включений сюди цілком як посилання для всіх цілей. Різні комбінації зазначених вище легких і важких ланцюгів можуть бути одержані на основі комп'ютерного моделювання, відомого в даній галузі.

Додаткові антитіла, що розпізнають і зв'язують альфа-4-інтегрин, відомі в даній галузі. Вони включають в себе як необмежувальні приклади GG5/3 (Keszthelyi et al., Neurology 47 (4): 1053-1059 (1996)), FW3-218-1 (ATCC No.: HB-261; антитіло IgG2b проти овечого альфа-4-інтегрину), і R1-2 (ATCC No.: HB-227; антитіло IgG2b, одержане від *Rattus norvegicus*). Незалежно від того, чи одержані антитіла від миші або інших тварин, кожна з послідовностей може бути піддана генній інженерії, так що вони стануть гуманізованими, на основі того, що відомо в даній галузі і за допомогою комп'ютерного моделювання. Гуманізовані антитіла проти альфа-4-інтегрину можуть оцінюватись на їх здатність стимулювати ремієлінізацію, і/або інгібувати демієлінізацію, і/або знижувати параліч, ґрунтуючись на описаних тут аналізах *in vitro* і *in vivo*.

5.2. Фрагменти антитіла

Також для застосування при лікуванні порушень і станів за участю демієлінізації розглядаються фрагменти антитіл, що зв'язуються з альфа-4 або VCAM-1, так що вони інгібують взаємодію VLA-4 і VCAM-1. Фрагменти антитіл включають в себе фрагменти Fab, F(ab')₂, scFv і Fv, що можуть використовуватись в описаних тут композиціях.

Використовуваний тут термін «Fab-фрагмент» відноситься до частини молекули антитіла, що містить одиничну антигензв'язувальну ділянку, що складається з частини важких і легких ланцюгів молекули.

Використовуваний тут термін «F(ab')₂-фрагмент» відноситься до частини молекули антитіла, що містить обидві антигензв'язувальні ділянки, і вона складається з легких ланцюгів і частини важких ланцюгів молекули.

Використовуваний тут термін «Fv-фрагмент» відноситься до частини молекули антитіла, що беруть участь у розпізнаванні і зв'язуванні антигену.

Використовуваний тут термін «scFv» відноситься до одноланцюгових Fv-фрагментів (scFv). Дані scFv-фрагменти являють собою рекомбінантні похідні антитіл, що складаються тільки з варіабельних доменів легких і важких ланцюгів антитіл, пов'язаних гнучким лінкером. scFv-фрагменти антитіла включають в себе V_H - і V_L -домени антитіла, де дані домени присутні в одиничному поліпептидному ланцюзі. В основному, Fv-поліпептид далі включає в себе поліпептидний лінкер між V_H - і V_L -доменами, що дозволяє scFv утворювати необхідну структуру для зв'язування антигену. Для огляду scFv див. Pluckthun in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, 269-315 (Rosenburg and Moore eds., Springer-Verlag, New York 1994).

Також до фрагментів антитіл відносяться діатіла. Термін «діатіла» відноситься до малих фрагментів антитіл із двома антигензв'язувальними ділянками, причому дані фрагменти включають в себе варіабельний домен важкого ланцюга (V_H), з'єднаний з варіабельним доменом легкого ланцюга (V_L) в одному поліпептидному ланцюзі (V_H - V_L). Шляхом використання лінкера, що є занадто коротким для того, щоб забезпечити утворення пари між двома доменами на одному ланцюзі, домени примушуються до утворення пари з комплементарними доменами іншого ланцюга і до створення двох антигензв'язувальних ділянок. Діатіла більш повно описані, наприклад, у EP 404097; WO93/11161; і Hollinger et al., 1993 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-8.

Фрагменти антитіл також включають в себе лінійні антитіла. Вираз «лінійні антитіла», коли він використовується в даній заявці, відноситься до антитіл, що описані, наприклад, у Zapata et al., 1995 *Protein Eng.* 8 (10): 1057-62. В короткому викладі, дані антитіла являють собою пару тандемних Fd-сегментів (V_H - C_{H1} - V_H - C_{H1}), що утворюють пари антигензв'язувальних ділянок. Лінійні антитіла можуть бути біспецифічними або моноспецифічними.

Розщеплення папаїном антитіл приводить до продукції двох ідентичних антигензв'язувальних фрагментів, названих «Fab»-фрагментами, кожний з однією антигензв'язувальною ділянкою, і «Fc»-фрагмента, що залишився, назва якого відбиває його здатність легко кристалізуватись. Обробка пепсином дає $F(ab')_2$ -фрагмент, що має два комбінуючих антигени ділянки і ще здатний до перехресного зв'язування антигену.

Деякі мишачі моноклональні антитіла проти VLA-4 були описані раніше. Див., наприклад, патенти США № 6602503, 6033665, і 5840299, що обговорюються тут далі, і які включені сюди цілком як посилання; Sanchez-Madrid et al., 1986, *Eur. J. Immunol.* 16: 1343-9; Hemler et al., 1987, *J. Biol. Chem.* 262: 11478-85; Pulido et al., 1991, *J. Biol. Chem.*, 266: 10241-45; Issekutz et al., 1991, *J. Immunol.*, 147: 109 (TA-2MAb)). Дані моноклональні антитіла проти VLA-4 та інші антитіла проти VLA-4 (наприклад, патент США №5888507 - Biogen, Inc., і цитовані в ньому посилання), здатні розпізнавати альфа- і/або бета-ланцюг VLA-4, можуть використовуватись у способах лікування за даним винаходом. Антитіла проти VLA-4, що розпізнають епітопи альфа-4-ланцюга VLA-4, що залучений у зв'язування з лігандами VCAM-1 і фібронектином (тобто антитіла, що можуть зв'язуватись з VLA-4 у ділянці, залученій у розпізнавання ліганду, і блокувати зв'язування VCAM-1 і фібронектину), є переважними. Такі антитіла визначені як B-епітоп-специфічні антитіла (B1 або B2) (Pulido et al., 1991, вище) і також являють собою антитіла проти VLA-4 за даним винаходом.

Повністю людські гомологи моноклональних антитіл проти VLA-4 являють собою інший переважний зв'язувальний засіб, що може блокувати або покривати ліганди VLA-4 за способом винаходу. В їх інтактній формі вони можуть бути одержані з використанням примованих *in vitro* людських спленоцитів, як описано Boerner et al., 1991, *J. Immunol.*, 147:86-95. Альтернативно, вони можуть бути одержані за допомогою клонування репертуару, як описано Persson et al., 1991, *Proc.Nat.Acad. Sci. USA*, 88: 2432-36, або в Huang et al., 1991, *J. Immunol. Meth.*, 141: 227-236. У патенті США №5798230 (25 серпня 1998р., «Спосіб одержання людських моноклональних антитіл і їх застосування») описане одержання людських моноклональних антитіл з людських В-клітин. За даним способом людські антитіло-продукуючі В-клітини імуорталізують шляхом інфекції вірусом Епштейна-Барр або його похідного, яке експресує ядерний антиген вірусу Епштейна-Барр 2 (EBNA2). Функція EBNA2, що потрібна для імуорталізації, згодом виключається, що приводить до підвищення продукції антитіл. В даній галузі відомі додаткові способи.

Для іншого способу одержання повністю людських антитіл, див., наприклад, патент США №5789650, в якому описані трансгенні тварини, що не є людиною, здатні продукувати гетерологічні антитіла, і трансгенні тварини, що не є людиною, які мають інактивовані ендегенні гени імуноглобулінів. Ендегенні гени імуноглобулінів супресовані антисмисловими полінуклеотидами і/або антисироваткою, спрямованою проти ендегенних імуноглобулінів. Гетерологічні антитіла кодуються генами імуноглобулінів, у нормі не виявленими в геномі даних видів тварин, які не відносяться до людини. Один або декілька трансгенів, що містять послідовності не аранжованих важких ланцюгів гетерологічних людських імуноглобулінів, вводять тваринам, що не відносяться до людини, з утворенням таким чином трансгенної тварини, здатної функціонально аранжувати трансгенні імуноглобулінові послідовності і продукувати репертуар антитіл різних ізотипів, кодованих людськими імуноглобуліновими генами. Такі гетерологічні людські антитіла продукують у В-клітинах, що потім імуорталізують, наприклад, шляхом злиття з імуорталізуючою клітинною лінією, такою як міелома, або шляхом маніпуляції з такими В-клітинами іншими способами, для збереження здатності клітинної лінії до продукції гомолога моноклонального, гетерологічного, повністю людського антитіла. Великі неімунізовані людські бібліотеки фагового дисплея також можуть використовуватись для виділення високо афінних антитіл, що можуть далі розроблятись як терапевтичні засоби для людини з використанням стандартної фагової технології.

Після ранніх способів одержання справжніх «химерних антитіл» (тобто в яких цілі константні і цілі варіабельні ділянки походять з різних джерел) був описаний новий підхід у EP 0239400 (Winter et al.), в якому антитіла змінені шляхом заміни (у межах варіабельної ділянки) їх ділянок, які визначають комплементарність, (CDR) одного виду на такі з іншого виду. Даний спосіб може використовуватись, наприклад, для заміни CDR з доменів варіабельної ділянки важких і легких ланцюгів людських Ig альтернативними CDR з доменів мишачої варіабельної ділянки. Дані змінені варіабельні ділянки Ig можуть згодом комбінуватись з людськими константними ділянками Ig з одержанням антитіл, що є за складом

повністю людськими, за винятком заміщених мишачих CDR. Такі заміщені CDR антитіла, як передбачається, з меншою імовірністю викликають імунну відповідь у людей у порівнянні зі справжніми химерними антитілами, оскільки антитіла із заміщеними CDR містять значно менше компонентів, які не відносяться до людини. Спосіб гуманізації моноклональних антитіл шляхом «пересадження» CDR названий «видозміною» (Riechmann et al., 1988, Nature 332: 323-7; i Verhoeyen et al., 1988, Science 239: 1534-6).

5.3. Очищення антитіл

При використанні рекомбінантних способів антитіло може продукуватись внутрішньоклітинно, у периплазматичному просторі, або безпосередньо секретуються в середовище. Якщо антитіло продукується внутрішньоклітинно, на першій стадії видаляють дебрис частинок, а також клітини хазяїна або лізовані фрагменти, наприклад, шляхом центрифугування або ультрафільтрації. Carter et al., Bio/Technology 10: 163-7 (1992) описують процедуру виділення антитіл, що секретуються в периплазматичний простір *E. coli*. У короткому викладі клітинну масу відтають у присутності ацетату натрію (р 3,5), EDTA, фенілметилсульфонілфториду (PMSF) приблизно протягом 30хв. Клітинний дебрис видаляють центрифугуванням. У випадках, коли антитіло секретується в середовище, надосадову рідину від кожної експресуючої системи, в основному, спочатку концентрують з використанням комерційно доступного фільтра для концентрування білків, наприклад, пристрій ультрафільтрації Amicon або Millipore Pellicon. Інгібітор протеаз, такий як PMSF, може бути включений на кожній з попередніх стадій для інгібування протеолізу, і антибіотики можуть вводитись для запобігання росту випадкових контамінантів.

Композиція антитіл, одержана з клітин, переважно піддається, щонайменше, одній стадії очищення перед LPHIC. Приклади придатних стадій очищення включають в себе хроматографію на гідроксіпатитах, гель-електрофорез, діаліз і афінну хроматографію, при тому, що афінна хроматографія є переважним способом очищення. Придатність білка А як афінного ліганду залежить від виду та ізотипу якого-небудь імуноглобулінового Fc, що присутні в антитілі. Білок А може використовуватись для очищення антитіл, що основою на людських важких ланцюгах $\gamma 1$, $\gamma 2$ або $\gamma 4$ (Lindmark et al., 1983 J. Immunol. Meth. 62: 1-13). Білок G рекомендується для всіх мишачих ізотипів і для людського $\gamma 3$ (Guss et al., 1986 EMBO J. 5: 1567-75). Матрикс, до якого прив'язаний афінний ліганд, найчастіше являє собою агарозу, але доступні й інші матрикси. Механічно стабільні матрикси, такі як скло з контрольованими порами, або полі(стиролдивініл)бензол, забезпечують більшу швидкість потоку і менший час процесингу, ніж ті, які досягаються при використанні агарози. Коли антитіло включає в себе C_H3-домен, для очищення може використовуватись смола Bakerbond ABX™ (J. T. Baker, Phillipsburg, Нью-Джерсі). Інші способи очищення білків, такі як фракціонування на іонообмінній колонці, осадження етанолом, обернено-фазова ВЕРХ, хроматографія на силікагелі, хроматографія на гепарин-SEPHAROSE™, хроматографія на аніоно- або катіонообмінній смолі (наприклад, поліаспаратна колонка), хроматофокусування, SDS-PAGE і осадження сульфатом амонію, також доступні в залежності від того, яке антитіло одержують.

Після якої(-их)-небудь стадії(-й) попереднього очищення суміш, що включає в себе цікавляче антитіло і домішку(-и) піддають LPHIC. Часто композиція антитіл, яка підлягає очищенню, присутня в буфері від попередньої стадії очищення. Однак, може бути необхідно додавати буфер до композиції антитіла перед стадією LPHIC. Багато які буфери доступні і можуть бути вибрані шляхом рутинного експериментування. рН суміші, що включає в себе антитіло, яке підлягає очищенню, і, щонайменше, одну домішку в буфері для завантаження, доводять до рН, що приблизно дорівнює 2,5-4,5, з використанням кислоти або основи, в залежності від вихідного рН. Переважно, буфер для завантаження має низьку концентрацію солі (тобто менше 0,25М солі).

Суміш завантажують на колонку HIC. Колонки HIC звичайно містять основний матрикс (наприклад, перехресно-зв'язану агарозу або синтетичний співполімерний матеріал), до якого приєднані гідрофобні ліганди (наприклад, алкільні або арильні групи). Переважна колонка HIC містить агарозну смолу, заміщену фенільними групами (наприклад, колонка феніл-SEPHAROSE™). Багато які HIC колонки доступні комерційно. Необмежувальні приклади включають в себе колонку феніл-SEPHAROSE 6 FAST FLOW™ з низькою або високої заміщеністю (Pharmacia LKB Biotechnology, AB, Швеція); високопродуктивна колонка з феніл-SEPHAROSE™ (Pharmacia LKB Biotechnology, AB, Швеція); високопродуктивна колонка з октил-SEPHAROSE™ (Pharmacia LKB Biotechnology, AB, Швеція); колонки FRACTOGEL™ EMD-пропіл або FRACTOGEL™ EMD-феніл (E. Merck, Німеччина); основи MACRO-PREP™-метил або MACRO-PREP™-трет-бутил (Bio-Rad, Каліфорнія); колонки WP HI-пропіл (C₃)™ (J. T. Baker, Нью-Джерсі); і колонки TOYOPEARX™-ефір, -феніл, або -бутил (TosoHaas, Пенсільванія).

Антитіло елюють з колонки з використанням буфера для елюції, що звичайно збігається з буфером для завантаження. Буфер для елюції може бути вибраний шляхом рутинного експериментування. рН буфера для елюції складає приблизно 2,5-4,5, і він має низьку концентрацію солі (тобто менше ніж приблизно 0,25М солі). Було виявлено, що немає необхідності застосування сольового градієнта для елюції цікавлячого антитіла; необхідний продукт одержують у потоці шляхом збирання фракції, що значимо не зв'язується з колоною.

Стадія LPHIC надає шлях для відділення антитіла з правильним фолдом і дисульфідними місточками від небажаних домішок (наприклад, неправильно асоційованих легких і важких фрагментів). Зокрема, даний спосіб надає засіб для істотного видалення домішок, що характеризуються тут як фрагменти антитіл із правильним фолдом (правильним укладанням), легкі і важкі ланцюги яких не асоційовані дисульфідними зв'язками.

Діагностичні або терапевтичні препарати очищеного білка можуть бути одержані шляхом надання композиції антитіл у вигляді фізіологічно прийнятного носія, приклади яких представлені нижче.

Для видалення домішок (наприклад, антитіла без фолду і некоректно асоційованих легких і важких фрагментів) з колонки HIC, так що її можна буде повторно використовувати, композиція, що включає в себе сечовину (наприклад, 6,0М сечовина, 1% буфер MES, р 6,0, 4мМ сульфат амонію), може пропускатись через колонку. Інші способи відомі в даній галузі.

5.4. Імуноглобулінові препарати

Антитіла й імуноглобуліни, що надають необхідну терапевтичну дію, можуть вводитись суб'єкту у

фізіологічно прийнятному носії. Антитіла можуть уводитись різними способами, що включають як необмежувальні приклади парентеральне введення, включаючи підшкірний, субдуральний, внутрішньовенний, внутрішньом'язовий, інтратекальний, внутрішньочеревинний, інтрацеребральний, внутрішньоартеріальний шляхи введення або шлях введення в осередок ушкодження, локалізоване введення (наприклад, хірургічний компрес або хірургічний супозиторій), і легеневе введення (наприклад, аерозолі, інгаляція або порошок), а також те, що описано нижче.

В залежності від способу введення імуноглобуліни можуть утворювати препарат різними шляхами. Концентрація терапевтично активного імуноглобуліну в препараті (тобто препарат, достатній для інгібування демієлінізації і/або стимуляції ремієлінізації) може варіювати приблизно від 1мг/мл до 1г/мл. Переважно, композиція імуноглобулінів при введенні потребує цього суб'єкту, досягає концентрації імуноглобуліну в крові суб'єкта, яка приблизно дорівнює 10нг/мл або більше.

Переважно, з імуноглобуліну одержують препарат для парентерального введення в придатному інертному носії, такому як стерильний фізіологічний сольовий розчин. Наприклад, концентрація імуноглобуліну в розчині носія звичайно складає приблизно 1-100мг/мл. Доза, що вводиться, визначається шляхом введення. Переважні шляхи введення включають в себе парентеральне або внутрішньовенне введення.

При парентеральному введенні антитіла за винаходом можуть вводитись у вигляді дозувань для ін'єкцій розчину або суспензії речовини у фізіологічно прийнятному розчиннику з фармацевтичним носієм, що може являти собою стерильну рідину, таку як вода і олії, з додаванням поверхнево-активної або речовини без неї, та інші фармацевтичні препарати, такі як препарати нафтового, тваринного, рослинного або синтетичного походження, наприклад, арахісова олія, соєва олія і мінеральна олія. Загалом, переважними рідкими носіями, особливо в розчинах для ін'єкцій, є гліколи, такі як пропіленгліколь або поліетиленгліколь. Антитіла за даним винаходом можуть вводитись у вигляді ін'єкції депо або препарату для імплантації, що можуть бути одержані таким способом, що буде забезпечуватись уповільнене вивільнення активного інгредієнту. Переважна композиція включає в себе моноклональне антитіло в концентрації 5мг/мл, одержане у водному буфері, що складається з 50мм L-гістидину, 150мм NaCl, із рН, доведеним до 6,0 з використанням HCl.

Терапевтично ефективна доза являє собою дозу, ефективну для продукції значимого зниження демієлінізації і помітного підвищення ремієлінізації. Переважно, даної кількості достатньо для продукції статистично значимої кількості ремієлінізації у суб'єкта.

Відповідно до значимої характеристики винаходу, імуноглобулін, що розпізнає і зв'язує VLA-4, може вводитись окремо, або в комбінації з протизапальним засобом, що звичайно використовують для лікування станів і захворювань, асоційованих з демієлінізацією. Введення протизапальних засобів може відбуватись перед, одночасно або після введення імуноглобуліну.

Терапевтично ефективна кількість ремієлінізуючого антитіла або імуноглобуліну, наприклад, наталізумабу, може оцінюватись шляхом порівняння з встановленими ефективними дозами для відомих антитіл, разом з даними, одержаними для наталізумабу в моделях *in vivo* і *in vitro*. Переважно, дані походять з досліджень інгібування демієлінізації. Як відомо в даній галузі, виправлення для дози можуть бути необхідні внаслідок дегенерації або метаболізму імуноглобуліну, системної доставки у порівнянні з локалізованою, а також через вік, масу тіла, загальне здоров'я, стать, дієту, час введення, взаємодію лікарських засобів і тяжкість стану суб'єкта, якому вводився імуноглобулін. Такі виправлення можуть бути зроблені, і придатні дози можуть бути визначені фахівцем у даній галузі шляхом рутинного експериментування.

Терапевтичні препарати імуноглобуліну підготовляють для збереження шляхом змішування імуноглобуліну, що має необхідну міру чистоти, з не обов'язковими фізіологічно прийнятними носіями, наповнювачами або стабілізаторами (ReMington's Pharmaceutical Sciences, 16th ed., A. Osol, Ed., 1980, і більш сучасні видання), у вигляді ліофілізованої грудки або водних розчинів. Придатні для імуноглобулінів носії, наповнювачі або стабілізатори є нетоксичними, не терапевтичними і/або неімуногенні для реципієнтів у використовуваних дозуваннях і концентраціях, і включають в себе такі буфери, як фосфат, цитрат, та інші органічні кислоти; антиоксиданти, що включають у себе аскорбінову кислоту; поліпептиди низької молекулярної маси (менше ніж приблизно 10 залишків); білки, такі як сироватковий альбумін, желатин або імуноглобуліни; гідрофільні полімери, такі як полівінілпіролідон; амінокислоти, такі як гліцин, glutамін, аспарагін, аргінін або лізін; моносахариди, дисахариди, та інші вуглеводи, включаючи глюкозу, манозу або декстрини; хелатуючі засоби, такі як EDTA; цукрові спирти, такі як маніт і сорбіт; солеутворювальні протиіони, такі як натрій; і/або неіонні поверхнево-активні речовини, такі як Tween, Pluronic або поліетиленгліколь (ПЕГ). Конкретні необмежувальні приклади молекул носія включають в себе глікозаміноглікани (наприклад, гепарин-сульфат), гіалуронову кислоту, кератан-сульфат, хондроїтин-4-сульфат, хондроїтин-6-сульфат, гепаран-сульфат, і дерматин-сульфат, перлекан і пентополісульфат.

Фармацевтичні композиції, що включають в себе імуноглобуліни, можуть також включати в себе, якщо потрібно, фармацевтично прийнятні, нетоксичні носії або розчинники, які являють собою несучі засоби, звичайно використовувані для складених фармацевтичних композицій для введення тваринам і людям. Розчинник вибраний так, що не впливає на біологічну активність комбінації. Необмежувальні приклади включають дистильовану воду, фізіологічний фосфатно-сольовий буфер, розчин Рінгера, розчин декстрази і розчин Хенкса.

Засоби за винаходом можуть складатись в препарати для ін'єкцій шляхом розчинення, суспендування або емульгування їх у водному або неводному розчиннику, такому як рослинна або інші подібні олії, синтетичні гліцериди аліфатичних кислот, складні ефіри вищих аліфатичних або кислот пропіленгліколю. Препарати можуть також містити загальноприйнятні домішки, такі як сольобілізатори, ізотонічні засоби, суспендуєчі засоби, емульгуючі засоби, стабілізатори і консерванти.

Імуноглобуліни також можуть використовуватись в аерозольному препараті, що підлягає введенню через інгаляцію або легеневу доставку. Засоби за даним винаходом можуть входити до складу прийнятної рідини, що представляє собою стиснутий під тиском газ, такий як дихлордифторметан, пропан, азот тощо.

Імуноглобулін також може захоплюватись в мікрокапсули, одержані, наприклад, способами коацервації

або шляхом міжфазної полімеризації (наприклад, мікрокапсули з поліметилцелюлози або желатину і мікрокапсули з поліметакрилату), у колоїдних системах доставки лікарських засобів (наприклад, ліпосоми, альбумінові мікросфери, мікроемульсії, наночастинки і нанокапсули), або в макроемульсіях. Такі способи описані в ReMington's Pharmaceutical Sciences, див. вище.

Імуноглобулін, що підлягає використанню для введення *in vivo*, повинен бути стерильним. Це звичайно виконують шляхом фільтрації через стерильні мембрани для фільтрації, перед або після ліофілізації і відновлення. Імуноглобулін звичайно зберігають у ліофілізованому вигляді або в розчині.

Терапевтичні імуноглобулінові композиції, в основному, вміщують у контейнер, що має стерильний порт доступу, наприклад, сумку для внутрішньовенного розчину або баночку, що має пробку, яку можна протикати голкою для підшкірних ін'єкцій або подібним гострим інструментом.

Придатні приклади препаратів з уповільненим вивільненням включають в себе напівпроникні матрикси твердих гідрофобних полімерів, що містять білок, причому дані матрикси знаходяться у вигляді оформлених предметів, наприклад, плівок або мікрокапсул. Приклади матриксів з уповільненим вивільненням включають в себе поліефіри, гідрогелі (наприклад, полі(2-гідроксietилметакрилат), як описано Langer et al., J. Biomed. Mater. Res. 15: 167-277 (1981) і Langer, Chem. Tech. 12: 98-105 (1982) або полі(вініловий спирт)), поліактиди (патент США №3773919), співполімери L-глутамінової кислоти і гамма-етил-L-глутамат (Sidman et al., Biopolymers 22: 547-556, 1983), етиленвінілацетат, що не деградує, (Langer et al., вище), деградовані співполімери молочної кислоти і гліколевої кислоти, такі як LUPRON DEPOT™ (тобто ін'єктовані мікросфери, складені зі співполімеру молочної кислоти і гліколевої кислоти лейпролідацетат), і полі-D-(-)-3-гідроксимасляну кислоту (EP 133988).

При тому, що полімери, такі як етиленвінілацетат і молочна кислота-гліколева кислота забезпечують вивільнення молекул протягом 100 діб, деякі гідрогелі вивільняють протягом більш коротких періодів часу. Коли інкапсульовані антитіла залишаються в організмі протягом тривалого часу, вони можуть денатурувати або агрегувати в результаті впливу зволоження при 37°C, що приводить до втрати біологічної активності і, можливо, змінює імуногенність. Раціональні стратегії можуть бути запропоновані для стабілізації імуноглобулінів в залежності від використовуваних механізмів. Наприклад, якщо виявлено, що механізм агрегації здійснюється за допомогою утворення внутрішньомолекулярних S-S-зв'язків за допомогою обміну тіо-дисульфідів, стабілізація може бути досягнута шляхом модифікації сульфгідрильних залишків, ліофілізації з кислих розчинів, контролю вмісту вологи, використання придатних домішок, розробки конкретних полімерних матриксних композицій, і тому подібного.

Композиції імуноглобулінів з уповільненим вивільненням також включають в себе захоплені ліпосомами імуноглобуліни. Ліпосоми, що містять імуноглобуліни, одержують, по суті, відомими способами. Див., наприклад, Epstein et al., Proc. Natl.Acad. Sci. USA 82: 3688-92 (1985); Hwang et al., Proc. Natl.Acad. Sci. USA 77: 4030-4 (1980); патент США № 4485045; 4544545; 6139869; і 6027726. Звичайно ліпосоми мають малий розмір (приблизно від 200 до 800 Ангстрем), одношарового типу, в яких вміст ліпідів складає вище 30 молекулярних відсотків (мл. %) холестерину; вибране відношення підбирають для оптимального лікування імуноглобулінів.

Імуноглобуліни за даним винаходом можуть вводиться у формі уповільненого вивільнення, наприклад, у вигляді ін'єкції депо, препарату для імплантації, або осмотичного насоса, що можуть бути одержані таким способом, що буде забезпечуватись уповільнене вивільнення активного інгредієнту. Імпланти для препаратів уповільненого вивільнення добре відомі в даній галузі. Імпланти можуть бути одержані, як необмежувальні приклади, у вигляді мікросфер, пластин, з біодеградованими або небіодеградованими полімерами. Наприклад, полімери молочної кислоти і/або гліколевої кислоти утворюють полімер, який легко руйнується, що добре переноситься організмом-хазяїном. Імплантат вміщують поблизу ділянки відкладень білка (наприклад, ділянки утворення амілоїдних відкладень, асоційованої з нейродегенеративними порушеннями), так що місцева концентрація активного засобу підвищується в даній ділянці відносно іншого організму.

Крім того, імуноглобуліни, що запобігають демієлінізації і/або індують ремієлінізацію, можуть надаватись введенням суб'єкту полінуклеотиду, що кодує все антитіло або його частину (наприклад, однокланцовий Fv). Полінуклеотид вводять суб'єкту у придатному носії для забезпечення експресії імуноглобуліну суб'єкту в терапевтично ефективній кількості.

Типове щодобове дозування може змінюватись для діапазонів імуноглобулінів приблизно від 1мкг/кг до 10мг/кг або більше, в залежності від зазначених тут факторів. Звичайно лікар вводить імуноглобуліни до досягнення того дозування, що забезпечує необхідний ефект. Прогрес даного лікування легко моніторується шляхом загальноприйнятих аналізів.

У препараті «стабільного» антитіла або фрагмента антитіла білок по суті зберігає його фізичну стабільність, і/або хімічну стабільність, і/або біологічну активність після збереження. Різні аналітичні способи для одержання стабільності білка доступні в даній галузі, і їх огляд даний, наприклад, у Peptide and Protein Drug Delivery, 247-301, (Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N. Y., Pubs.1991) і A. Jones, Adv.Drug Delivery Rev. 10: 29-90 (1993). Стабільність можна вимірювати при вибраній температурі протягом вибраного періоду часу. Переважно, препарат стабільний при кімнатній температурі (приблизно 30°C) або при 40°C, щонайменше, протягом 1 місяця, і/або стабільний приблизно при 2-8°C, щонайменше, протягом 1-2 років. Більш того, препарат, переважно, стабільний після його заморожування (наприклад, до -70°C) і відтавання.

Білок «зберігає свою фізичну стабільність» у фармацевтичному препараті, якщо він не показує ознак агрегації, осадження і/або денатурації після фізичної оцінки кольору і/або чистоти, або за вимірюваннями розсіювання УФ світла, або шляхом гель-фільтрації.

Білок «зберігає свою хімічну стабільність» у фармацевтичному препараті, якщо хімічна стабільність тепер така, що білок вважається таким, що зберіг свою біологічну активність, як визначено вище. Хімічна стабільність може оцінюватись шляхом детекції і кількісного аналізу хімічно змінених форм білка. Хімічна зміна може включати в себе зміну розміру (наприклад, появу уламків), що може оцінюватись, наприклад, шляхом гель-фільтрації, SDS-PAGE і/або часпролітної мас-спектрометрії з десорбцією-іонізацією за допомогою матриці (MALDI/TOF MS). Інші типи хімічної зміни включають в себе зміну заряду (наприклад,

що відбувається в результаті дезамідування), що може оцінюватись, наприклад, шляхом іонообмінної хроматографії.

Імуноглобулін «зберігає свою біологічну активність» у фармацевтичному препараті, якщо біологічна активність імуноглобуліну тепер знаходиться приблизно в межах 10% (в межах помилок аналізу) від біологічної активності, що виявляється під час одержання фармацевтичного препарату, визначеної, наприклад, шляхом аналізу зв'язування антигену.

5.5. Шляхи введення імуноглобулінових композицій

Як коротко обговорюється вище, фармацевтичні композиції, обговорювані вище, можуть вводитись для профілактики і/або лікування розсіяного склерозу або інших пов'язаних з демієлінізацією порушень. У терапевтичних застосуваннях композиції вводять пацієнту, у якого підозрюють таке захворювання, як розсіяний склероз, або вже страждаючого від цього захворювання, у кількості, достатній для стимуляції ремієлінізації. Кількість, що відповідає для здійснення цього, визначається як терапевтично або фармацевтично ефективна кількість.

Фармацевтичні композиції вводять шляхом парентерального, місцевого, внутрішньовенного, перорального або підшкірного, внутрішньом'язового, місцевого введення, такого як з використанням аерозолу, або трансдермально, для профілактики і/або лікування. Хоча білкові речовини за винаходом можуть переносити проходження через кишечник після перорального введення (п.о.), підшкірне (п.ш.), внутрішньовенне (в.в.), внутрішньом'язове (в.м.), внутрішньочеревинне введення шляхом ін'єкції депо або шляхом препарату-імплантату є переважними.

Фармацевтичні композиції можуть вводитись в різноманітних одиничних дозованих формах в залежності від способу введення. Наприклад, одиничні дозовані форми для перорального введення включають в себе порошок, таблетки, пігулки, капсули й облатки.

Ефективні дози композицій за даним винаходом для лікування зазначених вище станів варіюють в залежності від багатьох різних факторів, включаючи засоби введення, ділянку-мішень, фізіологічний стан пацієнта, та інші лікарські засоби, що вводяться. Таким чином, дозування для лікування варто титрувати для оптимізації безпеки й ефективності. Дані композиції можуть вводитись ссавцям для ветеринарного використання у людей способом, подібним зі способом введення інших терапевтичних засобів, тобто, у фізіологічно прийнятному носії. Загалом, дозування введення варіює приблизно від 0,0001 до 100мг/кг і, частіше, від 0,01 до 0,5мг/кг маси тіла хазяїна.

У переважному режимі лікування антитіло введене шляхом внутрішньовенної інфузії або підшкірної ін'єкції в дозі від 1 до 5мг антитіла на кілограм маси тіла пацієнта. Дозу повторювали з інтервалом від 2 до 8 тижнів. У межах даного інтервалу переважний режим лікування складає 3мг антитіла на кілограм маси тіла, що повторюється з 4-тижневим інтервалом.

6. Комбінації лікарських засобів

Як констатувалось раніше, жоден з описаних раніше лікарських засобів або комбінацій лікарських засобів не був ідентифікований, як такий, що зупиняє прогресуючу втрату неврологічної функції для демієлінізуючих захворювань. Існували деякі лікарські засоби, що придушували опосередковане імунною системою запалення, і могли також знижувати частоту рецидиву розсіяного склерозу. Ці та інші лікарські засоби, використані для лікування симптомів, асоційованих з розсіяним склерозом і асоційованими з демієлінізацією станами, також розглядаються для застосування в комбінації з описаними тут сполуками і композиціями. Вибір одного або декількох засобів, що підлягають використанню в суміші і/або комбінації зі сполуками і композиціями, описаними тут, залежить від ведення захворювання. Наприклад, при РС ведення захворювання може підрозділятися на дві групи: (1) лікування, побудоване для переривання процесу захворювання, і (2) симптоматичне лікування. Різні комбінації лікарських засобів можуть використовуватись в категорії (D). Наприклад, описані тут сполуки і композиції можуть вводитись з імуносупресуючими засобами для подальшого інгібування припливу імунних клітин і здійснюваної за рахунок цього демієлінізуючої активності. Наприклад, можуть використовуватись імуносупресори, такі як кортикостероїди.

Ремієлінізуючі засоби (наприклад, антитіла проти анти-альфа-4-інтегрину, низькомолекулярні антагоністи альфа-4-інтегрину тощо) можуть комбінуватись з іншими сполуками або композиціями, використовуваними для лікування, або ослаблення зм'якшення симптомів, асоційованих з демієлінізуючими станами або захворюваннями.

Інші засоби, використовувані для лікування, ослаблення або зм'якшення симптомів, асоційованих з демієлінізуючими станами або захворюваннями, включаючи розсіяний склероз, включають в себе як необмежувальні приклади: міорелаксанти (наприклад, діазепам, циклобензаприн, клоназепам, клонідин, примідон тощо), антихолінергічні сполуки (наприклад, пропантелін, дицикломін тощо), стимулятори центральної нервової системи (наприклад, пемолін), нестероїдні протизапальні засоби (NSAID, такі як ібупрофен, напроксен і кетопрофен), інтерферони, імуноглобуліни, глатирамер (Coraхone®), мітоксантрон (Novantrone®), мізопростол, інгібітори фактора некрозу пухлини-альфа (наприклад, пірфенідон, шфлуксимаб тощо) і кортикостероїди (наприклад, глюкокортикоїди і мінералокортикоїди).

Звичайні засоби для лікування розсіяного склерозу включають в себе інтерферон бета-1b (Betaseron®), інтерферон-бета-1a (Avonex®), інтерферон бета-1a у великому дозуванні (Rebif®), глатирамер (Coraхone®), імуноглобулін, мітоксантрон (Novantrone®), кортикостероїди (наприклад, преднізон, метилпреднізолон, дексаметазон тощо). Також можуть використовуватись інші кортикостероїди, і включають в себе як необмежувальні приклади кортизол, кортизон, флудрокортизон, преднізолон, 6α-метилпреднізолон, триамцинолон і бетаметазон.

Дозовані форми засобів для застосування в комбінації з описаними тут сполуками і композиціями варіюють в залежності від суб'єкта і використовуваної комбінації лікарських засобів. Наприклад, інтерферони звичайно вводять таким чином: інтерферон бета-1a (Avonex®) вводять по 30мг один раз на тиждень; інтерферон бета-1a вводять приблизно в кількості 22мг або 44мг три рази на тиждень; та інтерферон бета-1b (Betaseron®) вводять по 250мг через день (Durelli et al., Lancet 359: 1453-60, 2002). Звичайно інтерферони вводять при рецидиві або переможованому розсіяному склерозі. Так, у комбінації з описаними тут ремієлінізуючими засобами переважні інтервали інтерферонів можуть включати в себе

приблизно від 0,1мкг до 250мкг, і більш переважно приблизно від 0,5мкг до 50мкг, в залежності від способу, яким вводиться засіб у поєднанні з іншими описаними тут ремієлінізуючими сполуками і композиціями.

Нестероїдні протизапальні засоби (NSAID), розглянуті для застосування за винаходом, включають як необмежувальні приклади селективні інгібітори COX і селективні інгібітори COX-2. Неселективні інгібітори COX включають в себе як необмежувальні приклади похідні саліцилової кислоти (наприклад, аспірин, саліцилати натрію, трисалцилат холіну-магнію, сальсалат, дифлунізал, сульфасалазин, і олсалазин), похідні пара-амінофенолу (наприклад, ацетамінофен), індол та інденоцтові кислоти (наприклад, толметин, диклофенак і кеторолак), гетероарилоцтові кислоти (наприклад, абупрофен, напроксен, флурбіпрофен, кетопрофен, фенпрофен і оксапрозин), антранілові кислоти або фенамати (наприклад, мефенамова кислота і меклофенамова кислота), енолові кислоти (наприклад, оксиками, такі як пероксикам і мелоксикам), і алканони (наприклад, набуметон). Селективні інгібітори COX-2 включають в себе діарилзаміщені фурани (наприклад, рофекоксиб), діарилзаміщені піразоли (наприклад, целекоксиб), індоцтові кислоти (наприклад, етодолак), і сульфонаніліди (наприклад, німезулід). NS часто вводять у комбінації з інтерфероном для зменшення грипоподібних симптомів, які відчувають пацієнти, що одержують, наприклад, Avonex®. Звичайні NS включають в себе напроксен, ібупрофен і кетопрофен. Парацетамол також часто вводять пацієнтам. Див., Reess et al., 2002 Mult. Scler. 8: 15-8.

Глатирамер-ацетат (GA, Сорахоне®) являє собою синтетичну молекулу, що інгібує активацію реакційноздатних у відношенні основного білка мієліну Т-клітин та індукує Т-клітинний репертуар, що характеризується протизапальними ефектами. Більш того, глатирамер може досягати центральної нервової системи (ЦНС), тоді як інтерферон-бета цього не може (Dhib-Jalbut, 2002 Neurology 58: 53-9; Weinstock-Guttman et al., 2000 Drugs 59: 401-10).

Мітоксантрон являє собою синтетичний засіб на основі антрацендіону, що, як було показано, ефективний в плані лікування вторинного прогресуючого розсіяного склерозу (ВП-РС). Однак, застосування даного лікарського засобу знову ж обмежено його кумулятивною кардіотоксичністю (Weinstock-Guttman et al., 2000).

Фактор некрозу пухлин-альфа (TNF- α) може бути ключовим цитокіном демієлінізації (Walker et al., 2001 Mult.Scler. 7: 305-12). Таким чином, застосування засобів-антагоністів функції TNF- α або інгібіторів його синтезу може використовуватись в комбінації з описаними тут засобами і сполуками. Вони можуть включати в себе антитіла проти TNF- α (наприклад, інфліксимаб), а також такі засоби, як пірфенідон. Пірфенідон являє собою непептидний лікарський засіб, що, як було показано, знижує синтез TNF- α і блокує рецептори TNF- α . Id.

Довгий час основою лікування при більшості демієлінізуючих станів і захворюваннях було застосування АКТГ, глюкокортикоїдів і кортикоїдних стероїдів. Дані засоби застосовують через їх протинабрякову і протизапальну дію. АКТГ звичайно вводять суб'єкту в кількості 80од., що вводяться внутрішньовенно в 500мл 5% декстрази і води протягом 6-8 годин протягом 3 діб. Також його можна вводити в кількості 40од./мл внутрішньом'язово в дозі 40од. кожні 12 годин протягом 7 діб, з дозою, що потім знижується кожні 3 доби. Див., S. Hauser, "Multiple sclerosis and other demyelinating diseases," in Garrison's Principles of Internal Medicine 2287-95 (13th ed., Isselbacher et al., ed. 1994). Метилпреднізолон звичайно вводять повільно в 500мл D5W протягом 6 годин, переважно, вранці. Звичайні дозування включають в себе 1000мг щодоби протягом 3 діб, 500мг щодоби протягом 3 діб, і 250мг щодоби протягом 3 діб. Id. Також звичайно вводять комбінацію метилпреднізолон-преднізон. Звичайно вводять внутрішньовенно 1000мг метилпреднізолону протягом трьох діб, після чого вводять перорально преднізон у дозі 1мг/кг на добу протягом 14 діб. Таким чином, для застосування в комбінації з описаними тут сполуками і композиціями, стероїди можуть вводиться в кількостях, що змінюються приблизно від 1 до 1000мг/кг приблизно протягом 1-14 доби, за необхідності.

Побічними ефектами демієлінізуючих станів, таких як РС, є в тому і зниження когнітивної функції. Засоби, такі як амантадину гідрохлорид і пемолін часто використовують для лікування втоми, асоційованої з РС (Geisler et al., 1996 Arch. Neurol. 53: 185-8).

Перевага таких комбінованих способів лікування в тому, що воно може зменшувати специфічні для класу і для засобу побічні ефекти, що в даний час пов'язуються з деякими лікарськими засобами. Специфічні для класу побічні ефекти від інтерферон-бета включають лихоманку, озноб, міалгії, артралгії й інші грипоподібні симптоми, що починаються через 2-6 годин після ін'єкції і звичайно припиняються після 24 години після ін'єкції. Час від часу інтерферон-бета також індукує минуле погіршення раніше існуючих симптомів РС. Специфічні побічні ефекти для засобу включають в себе реакції в ділянці ін'єкції, характерні для інтерферону бета-1b. Ведення таких ефектів може здійснюватись шляхом підбору дози і часу введення, призначення придатних комбінацій ацетамінофену, нестероїдних протизапальних лікарських засобів (NSAID) і стероїдів. Див. Munschauer et al., 1997 Clin. Ther. 19: 883-93.

Таким чином, комбінації лікарських засобів, в яких може зменшуватись кількість конкретного лікарського засобу, можуть знижувати несприятливі побічні ефекти, які відчуваються пацієнтом.

При введенні в комбінації низькомолекулярні ремієлінізуючі засоби можуть вводиться в тому ж препараті, що й інші сполуки або композиції, або в окремому препараті. При введенні в комбінації ремієлінізуючі імуноглобуліни, в основному, вводять у препаратах, окремих від інших сполук і композицій. При введенні в комбінації ремієлінізуючі засоби можуть вводиться перед, після або одночасно з іншими сполуками і композиціями, використовуваними для лікування, ослаблення або пом'якшення симптомів.

7. Режими дозування для постійного введення

Режим постійного лікування за даним винаходом забезпечує введення засобу проти альфа-4-інтегрину (наприклад, малої молекули або імуноглобуліну) на рівні, що підтримує насичення рецепторів, достатнє для придушення патологічного запалення у потребуючого цього пацієнта. Способи за винаходом визначають введення один раз на кожні два тижні, або один раз на місяць, або один раз кожні два місяці, з повторюваними дозуваннями, що проходять протягом періоду, рівного, щонайменше, шістьом місяцям, і, більш переважно, одного року або більше. Способи за винаходом включають в себе досягнення і підтримання у пацієнта-людини рівня насичення рецептора димеру, що містить альфа-4-інтегрин

(наприклад, VLA-4), в інтервалі приблизно від 65% до 100%, більш переважно, від 75% до 100%, і, навіть більш переважно, від 80 до 100%. Рівні насичення даних рецепторів підтримуються на таких рівнях постійно (наприклад, протягом періоду 6 місяців або близько того) для забезпечення тривалого придушення патологічного запалення.

У конкретному здійсненні ремієлінізуючий засіб являє собою антитіло, переважно, гуманізоване і людське антитіло, і дозування здійснюють на щомісячній основі. В іншому конкретному здійсненні ремієлінізуючий засіб являє собою сполуку формули I, IA, IB, IC, II, IIA або IIB, як визначено вище. Рівні насичення рецептора можуть підлягати моніторингу для визначення ефективності режиму дозування, і фізіологічні маркери вимірюють для підтвердження успіху режиму дозування. Як підтвердження, можна проводити моніторинг сироваткових рівнів антитіла для ідентифікації кліренсу антитіла і для визначення потенційного впливу півжиття на ефективність лікування.

Для лікування засобом за винаходом рівень дозування змінюється приблизно від 0,0001 до 100мг/кг, і, частіше, від 0,01 до 5мг/кг маси тіла хазяїна. Наприклад, дозування можуть складати 1мг/кг маси тіла або 10мг/кг маси тіла. Дозування і частота змінюється в залежності півжиття засобу в організмі пацієнта. Дозування і частота введення може змінюватись в залежності від того, чи проводиться профілактика або лікування. Для імунологічного введення кожна дозована ін'єкція складає, в основному, від 2,0 до 8,0мг/кг дозування. Для введення сполуки кожна дозована ін'єкція складає, в основному, від 1,0 до 50,0мг/кг дозування. Відповідно до наданого тут вчення можна проводити моніторинг ефективних дозувань шляхом одержання від пацієнта зразків рідини. Для цього, в основному, одержують зразок сироватки крові або цереброспінальної рідини, і визначають насичення інтегрінових рецепторів з використанням способів, добре відомих в даній галузі. В ідеалі, зразок відбирають перед першим введенням дози; наступні зразки відбирають і вимірюють перед і/або після кожного лікування.

Як альтернативу постійному введенню, що включає в себе повторювані окремі дози, ремієлінізуючий засіб може вводиться у вигляді препарату для уповільненого вивільнення, що забезпечує таке дозування, що рівень насичення рецепторів залишається достатнім для придушення запалення. Наприклад, системи контрольованого вивільнення можуть використовуватись для постійного введення ремієлінізуючого засобу в об'ємі винаходу. Обговорення придатних дозованих форм із контрольованим вивільненням можна знайти в Lesczek Krowczynski, EXTENDED-RELEASED DOSAGE FORMS, 1987 (CRC Press, Inc.).

Різні технології контрольованого вивільнення покривають дуже широкий спектр лікарських дозованих форм. Технології контрольованого вивільнення включають в себе, як необмежувальні приклади, фізичні системи і хімічні системи. Фізичні системи включають в себе як необмежувальні приклади резервуарні системи з контролюючими швидкість мембранами, такі як системи мікроінкапсуляції, макроінкапсуляції і мембранні системи; резервуарні системи без контролюючих швидкість мембран, такі як порожні волокна, ультрамікропористий триацетат целюлози, і пористі полімерні субстрати і піни; монолітні системи, що включають в себе системи, фізично розчинені в непористих, полімерних або еластомерних матриксах (наприклад, таких, що не руйнуються, що руйнуються, з доступом для агентів навколишнього середовища, і що підлягають деградації), і матеріали, фізично розчинені в непористих, полімерних або еластомерних матриксах (наприклад, таких, що не руйнуються, що руйнуються, з доступом для агентів навколишнього середовища, і що підлягають деградації); ламіновані структури, що включають у себе резервуарні шари, хімічно подібні або не подібні до зовнішніх контрольних шарів; та інші фізичні способи, такі як осмотичні насоси, або адсорбцію на іонообмінні смоли.

Хімічні системи включають в себе як необмежувальні приклади хімічну ерозію полімерних матриксів (наприклад, гетерогенну або гомогенну ерозію), або біологічну ерозію полімерного матриксу (наприклад, гетерогенну або гомогенну). Додаткове обговорення категорій систем для контрольованого вивільнення можна знайти в Agis F. Kydonieus, CONTROLLED RELEASE TECHNOLOGIES: METHODS, THEORY, AND APPLICATIONS, 1980 (CRC Press, Inc.).

Способи за винаходом можуть використовуватись для лікування пацієнта, що страждає від захворювання, в якому бере участь хронічне запалення, або воно є причиною захворювання, або для профілактики пацієнта при ризику конкретного захворювання. Режим дозування, необхідний для профілактики або лікування може варіювати, і його потрібно розробляти для конкретного застосування і захворювання, що підлягає лікуванню.

У деяких способах два або більше число засобів (наприклад, моноклональні антитіла з іншою специфічністю зв'язування, описане тут моноклональне антитіло і сполуку) вводять одночасно, і в даному випадку дозування кожного засобу, що вводиться, знижується в зазначених інтервалах. Комбіновані способи лікування можуть також проводитись у випадку, коли засоби вводять пацієнту послідовно з необхідними часовими інтервалами між періодами введення. Інтервали можуть також бути нерегулярними і керуватись вимірюванням рівня насичення рецепторів або іншими ознаками патологічного процесу.

Фахівцям у даній галузі легко зрозуміти, що рівні дози можуть змінюватись як функція конкретного засобу, тяжкості симптомів і чутливості суб'єктів до побічних ефектів. Деякі з конкретних засобів є більш сильнодіючими, ніж інші. Переважні дозування для даного засобу легко визначаються фахівцями в даній галузі різними способами. Переважним способом є вимірювання фізіологічної сильності даного засобу.

У профілактичних застосуваннях фармацевтичні композиції вводять постійно суб'єкту, підданому конкретному захворюванню, або, інакше кажучи, при ризику даного захворювання, у кількості, достатній для усунення або зниження ризику або затримання початку захворювання. Така кількість визначається як профілактично ефективна доза. У пацієнтів з розсіяним склерозом у ремісії ризик може оцінюватись шляхом ЯМР-зображень або, у деяких випадках, шляхом предсимптомних ознак у пацієнтів, що спостерігаються.

Ефективні режими дозування композицій за даним винаходом для лікування описаних вище станів змінюються в залежності від різних факторів, що включають в себе засіб введення, ділянку-мішень, фізіологічний стан пацієнта й інші лікарські засоби, що вводяться. Таким чином, дозування для лікування варто титрувати для оптимізації безпеки й ефективності. Загалом, дозування введення варіює приблизно від 0,0001 до 100мг/кг, частіше, від 0,01 до 50мг/кг, і, ще частіше, від 0,1 до 30мг/кг маси тіла хазяїна.

Ремієлінізуючі засоби за винаходом можуть використовуватись з ефективними кількостями інших

терапевтичних засобів проти гострого і хронічного запалення. Такі засоби включають в себе інші антагоністи молекул адгезії (наприклад, інші інтегрини, селектини, і члени імуноглобулінового сімейства (Ig) (див. Springer, Nature (1990) 346: 425-433; Osborn (1990) Cell 62:3; i Hynes (1992) Cell 9:11)). Інтегрини являють собою гетеродимерні трансмембранні глікопротеїни, що складаються з α -ланцюга (120-180кДа) і β -ланцюга (90-110кДа), загалом, що мають більш короткі цитоплазматичні домени. Наприклад, три важливих інтегрини LFA-1, Mac-1 і P 150,95 мають різні альфа-субодиниці, позначені CD11a, CD11b і CD11c, і спільну бета-субодиницю, позначену CD18. LFA-1 ($\alpha_L\beta_2$) експресується на лімфоцитах, гранулоцитах і моноцитах, і зв'язується переважно з протилежним рецептором сімейства Ig, названим ICAM-1, і з спорідненими лігандами. ICAM-1 експресується на багатьох клітинах, включаючи лейкоцити і ендотеліальні клітини, і позитивно регулюється на судинному ендотелії цитокінами, такими як TNF і IL-1. Mac-1 ($\alpha_M\beta_2$) розповсюджений на нейтрофілах і моноцитах, і також зв'язується з ICAM-1. Третій β_2 -інтегрин, P 150,95 ($\alpha_X\beta_2$) також виявлений на нейтрофілах і моноцитах. Селектини складаються з L-селектину, E-селектину і P-селектину.

Інші протизапальні засоби, що можуть використовуватись в комбінації з ремієлінізуючими засобами, включають в себе антитіла й інші антагоністи або цитокіни, такі як інтерлейкіни від IL-1 до IL-13, фактори некрозу пухлини α і β (TNF- α і TNF- β), інтерферони α , β і γ , фактор росту пухлини бета (TGF- β), колонієстимулюючий фактор (CSF) і гранулоцитарно-моноцитарний стимулюючий фактор (GM-CSF). Інші протизапальні засоби включають в себе антитіла й інші антагоністи хемокинів, таких як MCP-1, MIP-1a, MIP-1 β , RANTES, екзотаксин і IL-8. Інші протизапальні засоби включають в себе NS, стероїди й інші низькомолекулярні інгібітори запалення. Розрахунок часу і послідовність введення, препарати, шляхи введення й ефективні концентрації засобів для комбінованого лікування відповідають описаним вище для гуманізованих антитіл проти альфа-4-інтегрину, низькомолекулярних сполук проти альфа-4-інтегрину і комбінацій лікарських засобів.

8. Реагенти для тестування

Реагенти можуть тестуватись *in vitro* і *in vivo*. Як відомо в даній галузі, існують багато моделей *in vitro* для тестування того, чи зв'язується реагент з альфа-4-субодиницею. Тестування того, чи характеризується даний реагент активністю *in vivo* за стимуляцією ремієлінізації та інгібуванням демієлінізації, можуть проводитись з використанням моделі експериментального аутоімунного енцефаломієліту (EAE) на тваринах. EAE являє собою запальний стан центральної нервової системи з подібністю з розсіяним склерозом (Paterson, IN TEXTBOOK OF IMMUNOPATHOLOGY, eds. Miescher and Mueller-Eberhard, 179-213, Grime and Stratton, N. Y. 1976).

EAE може індукуватись у щурів шляхом єдиної внутрішньочеревинної ін'єкції CO4-позитивного клону T-клітин, специфічного у відношенні основного білка мієліну. Запалення ініціюється в межах 4-12 годин; ендогенні моноцити і лімфоцити інфільтрують збуджені судини в стовбурі головного мозку і кістковому мозку, що веде до паралічу хвоста і задніх кінцівок на 4 або 5 добу.

Зрізи головного мозку з EAE можна тестувати на їх здатність підтримувати прикріплення лімфоцитів з використанням, наприклад, аналізу зв'язування *in vitro*, описаного в Stamper and Woodruff, J. Exp. Med. 144: 828-833 (1976). Реагенти проти рецепторів адгезії лейкоцитів можуть оцінюватись на інгібіторну активність в аналізі зрізів *in vitro*, описаному у прикладі 4. Як показано нижче в таблицях 12 і 13, прикріплення клітин U937 (клітинна лінія моноцитів людини) була цілком блокована антитілами проти людського інтегрину VLA-4. Ремієлінізуючі антитіла продукували значно більший блокуючий ефект у порівнянні з антитілами проти інших молекул адгезії.

Несподіваним виявилось те, що антитіла, які селективно інгібували активність зв'язування фібронектину α_4 -інтегрином (P4G9 і HP 1/7), підсилювали прикріплення U937 до судин EAE. Дані результати вказують на те, що активність зі зв'язування фібронектину α_4 -інтегрином не прямо задіяна в адгезію U937 до судин EAE *in vitro*. Таблиці 12 і 13 також показують, що антитіла проти багатьох інших рецепторів адгезії лімфоцитів не мали ефекту на зв'язування U937 або лімфоцитів із судинами EAE.

Завдяки результатам *in vitro*, в яких використовуються описані вище реагенти $\alpha_4\beta_1$, дія даних антитіл на прогресування EAE також може тестуватись *in vivo* шляхом вимірювання затримання початку паралічу або зниження ваги паралічу. Протективний ефект одного з антитіл, використаних за даним винаходом HP2/1, наданий у прикладі 4.

Додаткові реагенти, ефективні у відношенні інгібування зв'язування лейкоцитів з ендотеліальними клітинами головного мозку і тому потенційно інгібуючі демієлінізацію і стимулюючи ремієлінізацію, можуть ідентифікуватись з використанням аналізів адгезії. З використанням HP2/1 або ізопропілового ефіру N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозину як контролю, можна, наприклад, проводити скринінг інших антитіл або реагентів на їх здатність інгібувати зв'язування лімфоцитів з відомим лігандом $\alpha_4\beta_1$ -інтегрину. Можуть ідентифікуватись деякі додаткові реагенти, що інгібують адгезію шляхом спрямованої дії на субодиницю α_4 рецептора клітинної поверхні лейкоцитів VLA-4.

Моноклональні антитіла, що можуть використовуватись у способах і композиціях за даним винаходом, включають в себе, наприклад, HP2/1, TY21.6, TY21.12, і L25, обговорювані в патенті США №6033665, що включений сюди цілком як посилання. Дані антитіла взаємодіють з ланцюгом VLA-4 і блокують зв'язування з VCAM-1, фібронектином і запальними ендотеліальними клітинами головного мозку, але не впливають на активність інших представників сімейства інтегринів β_1 .

Інші реагенти, що вибірково взаємодіють з мішенню VLA-4/VCAM-1, також можуть використовуватись. Наприклад, антитіло, яке взаємодіє з доменом VLA-4, що зв'язує VCAM-1 (α_4), у зчепленні з ланцюгом β_1 , який блокує тільки міграцію лімфоцитів у ділянки запалення, такі, як ті, що існують у головному мозку під час розсіяного склерозу, можуть використовуватись для стимуляції ремієлінізації. Даний реагент, крім того, не буде впливати на взаємодії матриксу (опосередковані всіма представниками інтегринів β_1), і не буде впливати на нормальний кишковий імунітет (опосередкований $\alpha_4\beta_7$). Продукція даного та інших таких реагентів також доступна для фахівців в даній галузі.

9. Приклади

Наступні приклади наведені для надання фахівцям в даній галузі повного розкриття й опису того, як

здійснювати і застосовувати даний винахід, і вони не призначені для обмеження об'єму того, що автори винаходу вважають своїм винаходом, і не мається на увазі, що описані нижче експерименти являють собою всі або єдині проведені експерименти. Розпочаті зусилля із забезпечення точності використовуваних чисел (наприклад, кількостей, температури і т.д.), але варто взяти до уваги деякі експериментальні помилки і відхилення. Крім зазначених інакше випадків, частини являють собою масові частини, молекулярна маса являє собою середньоважову молекулярну масу, температура виражена в градусах Цельсія, і тиск є атмосферним або близько того.

9.1. Синтез сполук

У наведених нижче прикладах, якщо скорочення не визначене вище, воно має загальноприйняте значення. Крім того, усі температури виражені в градусах Цельсія (крім позначених інакше випадків). Наступні способи використовували для одержання сполук, наведених нижче, як зазначено.

Спосіб 1

Процедура N-тозилювання

N-Тозилювання придатної амінокислоти проводили відповідно до способу Cupps, Boutin and Rapoport J. Org Chem. 1985, 50, 3972.

Спосіб 2

Процедура одержання метилового складного ефіру

Метиліві ефіри амінокислот одержували з використанням способу Brenner and Huber Helv. Chim. Acta 1953, 36, 1109.

Спосіб 3

Спосіб приєднання BOP

Необхідний складний ефір дипептиду одержували взаємодією придатної N-захищеної амінокислоти (1 еквівалент) з відповідним ефіром амінокислоти або гідрохлоридом ефіру амінокислоти (1 еквівалент), бензотриазол-1-ілокси-трис(диметиламіно)фосфонію гексафторфосфатом [BOP] (2,0 еквіваленти), триетиламіном (1,1 еквівалента) і DMF. Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Неочищений продукт очищали шляхом хроматографії на випарній колонці з одержанням складного ефіру дипептиду.

Спосіб 4

Процедура гідрування I

Гідрування проводили з використанням 10% паладію на вуглеці (10% за масою) у метанолі при тиску 30 фунтів на кв.дюйм протягом ночі. Суміш фільтрували через прокладку целіту, і фільтрат концентрували з одержанням необхідної аміносполуки.

Спосіб 5

Процедура гідролізу I

До охолодженого (0°C) розчину придатного складного ефіру в THF/H₂O (2:1, 5-10мл) додавали LiOH (або NaOH) (0,95 еквівалента). Температуру підтримували на 0°C, і взаємодію завершували протягом 1-3 годин. Реакційну суміш екстрагували етилацетатом, і водну фазу ліофілізували з одержанням необхідної солі карбоксилату.

Спосіб 6

Процедура гідролізу складного ефіру II

До охолодженого (0°C) розчину придатного складного ефіру в THF/H₂O (2:1, 5-10мл) додавали LiOH (1,1 еквівалента). Температуру підтримували на 0°C, і взаємодію завершували протягом 1-3 годин. Реакційну суміш концентрували, і залишок переносили в H₂O, і pH доводили до 2-3 водною HCl. Продукт екстрагували етилацетатом, і об'єднану органічну фазу промивали сольовим розчином, сушили над MgSO₄, фільтрували і концентрували з одержанням необхідної кислоти.

Спосіб 7

Процедура гідролізу складного ефіру III

Придатний складний ефір розчиняли в діоксані/H₂O (1:1), і додавали 0,9 еквівалента 0,5н NaOH. Реакційну суміш перемішували протягом 3-16 годин, і потім концентрували. Одержаний залишок розчиняли в H₂O і екстрагували етилацетатом. Водну фазу ліофілізували з одержанням необхідної натрієвої солі карбоксилату.

Спосіб 8

Процедура сульфонування I

До захищеного відповідним чином аналогу амінофенілаланіну (11,2ммоль), розчиненого в метиленхлориді (25мл) і охолодженого до -78°C, додавали необхідний сульфонілхлорид (12ммоль) з наступним додаванням краплями піридину (2мл). Розчину дозволяли нагрітись до кімнатної температури, і перемішували його протягом 48год. Реакційний розчин переносили в ділільну лійку обсягом 250мл з метиленхлоридом (100мл), і екстрагували 1н HCl (50мл×3), сольовим розчином (50мл), і водою (100мл). Органічну фазу сушили (MgSO₄), і розчинник концентрували з одержанням необхідного продукту.

Спосіб 9

Процедура відновного амінування

Відновне амінування Tos-Pro-n-NH₂-Phe придатним альдегідом проводили з використанням оцтової кислоти, триацетоксиборгідриду натрію, метиленхлориду, і об'єднану суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Неочищений продукт очищали шляхом хроматографії на випарній колонці.

Спосіб 10

Процедура видалення BOC

Безводний газ хлороводень (HCl) барботували через розчин придатного ефіру Вос-амінокислоти в метанолі при 0°C протягом 15 хвилин, і реакційну суміш перемішували протягом трьох годин. Розчин концентрували до консистенції сиропу, і розчиняли в Et₂O і знову концентрували. Дану процедуру повторювали, і одержану в результаті тверду речовину вміщували в глибокий вакуум на період ночі.

Спосіб 11

Процедура гідролізу трет-бутилового складного ефіру I

Трет-бутиловий складний ефір розчиняли в CH₂Cl₂ і обробляли TFA. Взаємодію завершували через 1-

Згод., після чого реакційну суміш концентрували, і залишок розчиняли в H_2O і ліофілізували з виходом необхідної кислоти.

Спосіб 12

Процедура приєднання EDCI

З розчином N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліну (1 еквівалент) у CH_2Cl_2 (5-20мл) змішували придатний гідрохлорид ефіру амінокислоти (1 еквівалент), N-метилморфолін (1,1-2,2 еквіваленти) і 1-гідроксибензотриазол (2 еквіваленти), вміщували суміш на крижану баню і додавали 1-(3-диметиламінопропіл)-3-етилкарбодіімід (1,1 еквівалента). Реакційній суміші дозволяли досягти кімнатної температури, і перемішували її протягом ночі. Реакційну суміш виливали в H_2O , і органічну фазу промивали насиченим розчином NaHCO_3 , сольовим розчином, сушили (MgSO_4 або Na_2SO_4), фільтрували і концентрували. Неочищений продукт очищали шляхом колонкової хроматографії.

Спосіб 13

Процедура приєднання EDC II

З розчином придатної N-захищеної амінокислоти (1 еквівалент) у DMF (5-20мл) змішували придатний гідрохлорид ефіру амінокислоти (1 еквівалент), Et_3N - (1,1 еквівалента) і 1-гідроксибензотриазол (2 еквіваленти), вміщували суміш на крижану баню і додавали 1-(3-диметиламінопропіл)-3-етилкарбодіімід (1,1 еквівалента). Реакційній суміші дозволяли досягти кімнатної температури, і перемішували її протягом ночі. Реакційну суміш розподіляли між EtOAc і H_2O , і органічну фазу промивали 0,2н лимонною кислотою, H_2O , насиченим розчином NaHCO_3 , сольовим розчином, сушили (MgSO_4 або Na_2SO_4), фільтрували і концентрували. Неочищений продукт очищали шляхом колонкової хроматографії або препаративної TLC.

Спосіб 14

Процедура сульфонування II

Придатний сульфонілхлорид розчиняли в CH_2Cl_2 і вміщували на крижану баню. Додавали L-Pro-L-Phe-OMe-HCl (1 еквівалент) і Et_3N - (1,1 еквівалента), і реакційній суміші дозволяли нагрітись до кімнатної температури, і перемішували її протягом ночі в атмосфері азоту. Реакційну суміш концентрували, і залишок розподіляли між EtOAc і H_2O , і органічну фазу промивали насиченим NaHCO_3 , сольовим розчином, сушили (MgSO_4 або Na_2SO_4), фільтрували і концентрували. Неочищений продукт очищали шляхом колонкової хроматографії або препаративної TLC.

Спосіб 15

Процедура сульфонування III

До розчину L-Pro-L-4-(3-диметиламінопропілокси)-Phe-OMe [одержаного з використанням процедури, описаної у способі 10] (1 еквівалент) у CH_2Cl_2 додавали Et_3N - (5 еквівалентів) з наступним додаванням придатного сульфонілхлориду (1,1 еквівалента). Реакційній суміші дозволяли нагрітись до кімнатної температури, і перемішували її протягом ночі в атмосфері азоту. Реакційну суміш концентрували, розчиняли в EtOAc , промивали насиченим розчином NaHCO_3 і 0,2н лимонною кислотою. Водну фазу підлогували твердим NaHCO_3 , і продукт екстрагували EtOAc . Органічну фазу промивали сольовим розчином, сушили (MgSO_4 або Na_2SO_4), фільтрували і концентрували. Неочищений метиловий складний ефір очищали шляхом препаративної TLC. Відповідну кислоту одержували з використанням процедури, описаної у способі 7.

Спосіб 16

Процедура гідрування II

До розчину азлактону в метанолі (10-15мл) додавали NaOAc (1 еквівалент) і 10%-ний Pd/C. Дану суміш вміщували в гідрогенізатор при тиску 40 фунтів на кв.дюйм H_2 . Через 8-16 годин реакційну суміш фільтрували через прокладку целіту, і фільтрат концентрували з виходом метилового складного ефіру дегідропептиду. Даний ефір розчиняли в діоксані/ H_2O (5-10мл), і до нього додавали 0,5н NaOH (1,05 еквівалента). Після перемішування протягом 1-3 годин реакційну суміш концентрували, і залишок перерозчиняли в H_2O і промивали EtOAc . Водну фазу підкисляли 0,2н HCl , і продукт екстрагували EtOAc . Об'єднану органічну фазу промивали сольовим розчином (1×5мл), сушили (MgSO_4 або Na_2SO_4), фільтрували і концентрували з виходом кислоти, що являє собою суміш діастереоізомерів приблизно 1:1.

Спосіб 17

Процедура гідролізу трет-бутилового складного ефіру II

Трет-бутиловий складний ефір розчиняли в CH_2Cl_2 (5мл) і обробляли TFA (5мл). Взаємодію завершували через 1-3год., після чого реакційну суміш концентрували, і залишок розчиняли в H_2O і концентрували. Залишок перерозчиняли в H_2O і ліофілізували з виходом необхідного продукту.

Приклад 1

Синтез етилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурою, загалом описаною для одержання у прикладі 4, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CD_3) $_2\text{SO}$: δ = 8,33 (д, 1H), 7,70 (д, 2H), 7,41 (д, 2H), 7,24 (д, 2H), 7,00 (д, 2H), 4,52-4,44 (м, 1H), 4,09-4,00 (м, 3H), 3,53 (ушир.с, 2H), 3,38-3,31 (м, 3H), 3,11-3,01 (м, 3H), 2,39 (с, 3H), 2,32 (ушир.с, 4H), 2,19 (с, 3H), 1,61-1,50 (м, 3H), 1,43-1,38 (м, 1H), 1,13 (т, 3H).

^{13}C ЯМР (CD_3) $_2\text{SO}$: δ = 171,1, 171,1, 153,9, 149,8, 143,6, 134,1, 133,9, 130,0, 129,8, 127,4, 121,5, 61,2, 60,7, 54,2, 54,1, 53,3, 49,0, 45,7, 44,0, 43,4, 35,8, 30,5, 23,8, 21,0, 14,0.

Приклад 2

Синтез етилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

У баночці для проведення взаємодії об'єднували 7,00м (15,2ммоль, 1,0екв.) Ts-Pro-Tyr(H)-OEt і 1,86м (15,2ммоль, 1,0екв.) DMAP. Потім додавали метиленхлорид (50мл), триетиламін (2,12мл-1,54м, 15,2ммоль, 1,0екв.), і диметилкарбамілхлорид (1,68мл-1,96м, 18,2ммоль, 1,2екв.). Баночку щільно закупорювали, і реакційний розчин перемішували при обертанні з одержанням гомогенного розчину. Реакційний розчин потім нагрівали до 40°C. Через 48год. TLC одержаного в результаті безбарвного розчину вказувала на

повне перетворення. Пропис реакційного розчину був наступною: додати в реакційну суміш 50мл EtOAc і 50мл гексану, і промити реакційну суміш 3×50мл 0,5мл гексану, і промити 3×50мл 0,5М лимонної кислоти, 2×50мл води, 2×50мл 10% K₂CO₃, і 1×50мл насиченого розчину NaCl. Сушити з використанням MgSO₄. Фільтрувати. Упарити до одержання 8,00м (99%) зазначеної в заголовку сполуки у вигляді чистої олії, що затвердіває при стоянні. Перекристалізувати з 5:3:2 гептан/EtOAc/CH₂Cl₂.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CD₃)₂SO: δ = 8,32 (д, 1H), 7,70 (д, 2H), 7,41 (д, 2H), 7,23 (д, 2H), 7,00 (д, 2H), 4,52-4,44 (м, 1H), 4,09-4,02 (м, 3H), 3,37-3,31 (м, 1H), 3,11-2,96 (м, 3H), 3,00 (с, 3H), 2,87 (с, 3H), 2,39 (с, 3H), 1,61-1,50 (м, 3H), 1,43-1,38 (м, 1H), 1,13 (т, 3H).

¹³C ЯМР (CD₃)₂SO: δ = 171,1, 171,1, 154,0, 150,0, 143,6, 133,9, 133,9, 130,0, 129,8, 127,4, 121,5, 61,2, 60,6, 53,3, 49,0, 36,3, 36,1, 35,8, 30,5, 23,8, 21,0, 14,0.

Приклад 3

Синтез ізопропілового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурою, загалом описаною для одержання у прикладі 4, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,72 (д, 2H), 7,36 (д, 1H), 7,33 (д, 2H), 7,16 (д, 2H), 7,03 (д, 2H), 5,07 (септ., 1H), 4,78 (дт, 1H), 4,08-4,05 (м, 1H), 3,67 (ушир.с, 2H), 3,57 (ушир.с, 2H), 3,41-3,35 (м, 1H), 3,24 (дд, 1H), 3,15-3,07 (м, 1H), 3,04 (дд, 1H), 3,46-2,43 (м, 7H), 2,34 (с, 3H), 2,05-2,02 (м, 1H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 170,9, 170,4, 153,6, 150,5, 144,3, 133,2, 133,1, 130,2, 130,0, 127,9, 121,7, 69,5, 62,2, 54,7, 53,4, 49,6, 46,1, 44,3, 43,7, 37,2, 29,7, 24,1, 21,6, 21,6, 21,4.

Приклад 4

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Об'єднати 41,2м (84,34ммоль, 1,0екв.) Ts-Pro-Tyr(H)-OtBu і 17,0м (84,34ммоль, 1,0екв.) 4-нітрофенілхлорформіату. Додати 700мл CH₂Cl₂. Запечатати плівкою. Приєднати лінію подачі N₂. Занурити колбу в суміш 4:1 вода/EtOH+завись сухого льоду, і перемішувати до охолодження -15°C. Додати 29,38мл (21,33м, 210,81ммоль, 2,5екв.) Et₃N через п'ять хвилин при перемішуванні. Перемішувати при температурі від -10 до -15°C протягом 1год. Додати 9,35мл (8,45м, 84,34ммоль, 1,0екв.) N-метилпіперазину через 3 хвилини при перемішуванні. Перемішувати протягом ночі після нагрівання до кімнатної температури. Розбавити 700мл гексану. Промити повторно 10%-ним K₂CO₃ до зникнення у водному шарі жовтого кольору (4-нітрофеніл). Промивати насиченим розчином NaCl. Сушити над безводним MgSO₄. Фільтрувати. Упарити. Розчинити в 500мл EtOH, і упарити для видалення Et₃N. Повторити один раз. Розчинити в 400мл EtOH, і додати 600мл води при перемішуванні для осадження твердої речовини або олії. У випадку олії, енергійно перемішувати до затвердіння. Відокремити тверду речовину шляхом фільтрації. Повторити розчинення, осадження і фільтрацію один раз. Промити водою для видалення слідів жовтого кольору. Помістити в глибокий вакуум для констатації виходів по масі зазначеної в заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,72 (д, 2H), 7,33 (д, 3H), 7,17 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 4,71 (кв., 1H), 4,09-4,06 (м, 1H), 3,67 (ушир.с, 2H), 3,57 (ушир.с, 2H), 3,41-3,34 (м, 1H), 3,22 (дд, 1H), 3,16-3,09 (м, 1H), 3,03 (дд, 1H), 2,46-2,43 (м, 7H), 2,34 (с, 3H), 2,05-2,02 (м, 1H), 1,57-1,43 (м, 3H), 1,47 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 171,8, 169,9, 153,6, 150,4, 144,3, 133,4, 133,1, 130,3, 130,0, 127,9, 121,6, 82,6, 62,3, 54,5, 53,8, 49,6, 46,1, 44,3, 43,7, 37,3, 29,7, 27,8, 24,1, 21,4.

Приклад 5

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 1 з використанням процедури, описаної у способі 7.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CD₃OD): δ = 7,74 (д, 2H), 7,42 (д, 2H), 7,26 (д, 2H), 7,04 (д, 2H), 4,58-4,54 (м, 1H), 4,16-4,12 (м, 1H), 3,70 (ушир.с, 2H), 3,53 (ушир.с, 2H), 3,43-3,31 (м, 1H), 3,26-3,13 (м, 7H), 2,82 (с, 3H), 2,43 (с, 3H), 1,98-1,94 (м, 1H), 1,76-1,51 (м, 3H).

¹³C ЯМР (CD₃OD): δ = 175,7, 173,6, 154,8, 151,6, 146,1, 136,3, 134,8, 131,9, 131,3, 129,1, 122,7, 63,6, 55,9, 53,9, 50,7, 43,5, 37,6, 31,3, 25,5, 21,5.

Приклад 6

Синтез н-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурою, загалом описаною для одержання у прикладі 2, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CD₃)₂SO: δ = 8,31 (д, 1H), 7,70 (д, 2H), 7,41 (д, 2H), 7,23 (д, 2H), 6,99 (д, 2H), 4,53-4,46 (м, 1H), 4,10-4,01 (м, 1H), 3,63-3,30 (м, 1H), 3,10-2,96 (м, 3H), 3,00 (с, 3H), 2,88 (с, 3H), 2,39 (с, 3H), 1,59-1,30 (м, 6H), 1,33-1,20 (м, 2H), 0,85 (т, 3H).

¹³C ЯМР (CD₃)₂SO: δ = 171,4, 171,3, 154,2, 150,2, 143,7, 134,0, 130,1, 130,0, 127,6, 121,7, 64,3, 61,2, 59,2, 53,4, 49,0, 36,2, 36,0, 35,8, 30,0, 23,8, 21,0, 18,5, 13,5.

Приклад 7

Синтез циклопентилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурою, загалом описаною для одержання у прикладі 2, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CD₃)₂SO: δ = 8,27 (д, 1H), 7,70 (д, 2H), 7,41 (д, 2H), 7,22 (д, 2H), 6,99 (д, 2H), 5,04 (ушир.с, 1H), 4,48-4,40 (м, 1H), 4,08-4,05 (м, 1H), 3,34-3,30 (м, 1H), 3,09-2,95 (м, 3H), 3,00 (с, 3H), 2,88 (с, 3H), 2,39 (с, 3H), 1,76-1,74 (м, 2H), 1,57-1,40 (м, 10H).

¹³C ЯМР (CD₃)₂SO: δ = 171,3, 171,0, 154,2, 150,2, 432,7, 134,1, 130,1, 130,0, 127,6, 121,6, 77,4, 61,2, 53,4, 49,0, 36,2, 36,1, 35,7, 32,0, 30,5, 23,8, 23,2, 21,0.

Приклад 8

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-пролін-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурою, загалом описаною для одержання у прикладі 2, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CD₃)₂SO: δ = 8,18 (д, 1H), 7,71 (д, 2H), 7,41 (д, 2H), 7,23 (д, 2H), 6,99 (д, 2H), 4,42-4,38 (м, 1H), 4,10-4,07 (м, 1H), 3,37-3,30 (м, 1H), 3,09-2,95 (м, 3H), 3,00 (с, 3H), 2,88 (с, 3H), 2,39 (с, 3H), 1,58-1,50 (м, 3H), 1,40-1,30 (м, 1H), 1,36 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CD₃)₂SO: δ = 171,1, 170,3, 154,2, 150,2, 143,8, 134,2, 134,1, 130,2, 130,0, 127,6, 121,6, 81,0, 61,3, 53,8, 49,0, 36,3, 36,0, 35,9, 30,5, 27,5, 23,8, 21,0.

Приклад 9

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-пролін-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)-фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 2 з використанням процедури, описаної у способі 7.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CD₃)₂SO: δ = 8,13 (д, 1H), 7,70 (д, 2H), 7,41 (д, 2H), 7,23 (д, 2H), 6,99 (д, 2H), 4,51-4,44 (м, 1H), 4,11-4,09 (м, 1H), 3,40-3,34 (м, 2H), 3,11-2,94 (м, 3H), 3,00 (с, 3H), 2,87 (с, 3H), 2,39 (с, 3H), 1,59-1,36 (м, 4H).

¹³C ЯМР (CD₃)₂SO: δ = 172,7, 171,2, 153,6, 150,2, 143,8, 134,3, 134,0, 130,2, 130,0, 127,6, 121,6, 61,3, 53,2, 49,0, 36,3, 36,1, 35,9, 30,4, 23,8, 21,0.

Приклад 10

Синтез етилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-пролін-L-3-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурою, загалом описаною для одержання у прикладі 2, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,74 (м, 2H), 7,70-7,36 (м, 4H), 7,24-7,14 (м, 3H), 6,93-4,90 (м, 1H), 4,78-4,27 (м, 3H), 4,05-3,55 (м, 5H), 3,48-3,43 (м, 0,5H), 3,37-3,30 (м, 3H), 3,02-3,08 (ушир.с, 3H), 2,99 (ушир.с, 3H), 2,45 (с, 1,5H), 2,43 (с, 1,5H), 2,12 (м, 1H), 1,98, 1,80 (м, 0,5M), 1,62-1,44 (м, 2,5H), 1,29 (т, 1,5H), 1,24 (т, 1,5H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 171,1, 171,0, 170,9, 154,9, 154,8, 151,8, 151,6, 144,4, 144,3, 137,6, 137,1, 133,1, 132,9, 130,0, 129,9, 129,5, 129,2, 127,9, 127,9, 126,5, 126,1, 122,9, 122,7, 120,7, 120,5.

Приклад 11

Синтез ізопропілового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапролін-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурою, загалом описаною для одержання у прикладі 2, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,76 (д, 2H), 7,35 (д, 2H), 7,22 (д, 2H), 7,01 (м, 3H), 5,05 (м, 1H), 4,85 (м, 1H), 4,57 (д, 1H), 4,38 (д, 1H), 3,86 (с, 1H), 3,19-3,00 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,01 (с, 3H), 2,45 (с, 3H), 1,24 (т, 6H), 1,16 (с, 3H), 1,09 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 170,3, 168,4, 154,9, 150,6, 144,8, 132,9, 132,8, 130,3, 130,0, 128,2, 121,7, 73,4, 69,5, 54,5, 53,2, 50,4, 37,7, 36,5, 36,3, 29,0, 23,8, 21,5, 21,4.

Приклад 12

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапролін-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурою, загалом описаною для одержання у прикладі 2, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,75 (д, 2H), 7,34 (д, 2H), 7,23 (д, 2H), 7,05-6,98 (м, 3H), 4,76 (м, 1H), 4,56 (д, 1H), 4,40 (д, 1H), 3,85 (с, 1H), 3,09-3,00 (м, 8H), 2,44 (с, 3H), 1,43 (с, 3H), 1,16 (с, 3H), 1,09 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 169,8, 168,3, 154,9, 150,6, 144,8, 133,2, 132,9, 130,4, 130,0, 128,2, 121,6, 82,6, 73,4, 54,6, 53,8, 50,4, 37,8, 36,5, 36,3, 29,0, 27,7, 23,8, 21,5.

Приклад 13

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапролін-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 11 з використанням процедури, описаної у способі 7.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,76 (д, 2H), 7,35 (д, 2H), 7,25 (д, 2H), 7,14 (д, 1H), 7,02 (д, 2H), 5,17 (ушир.с, 1H), 4,89 (м, 1H), 4,56 (д, 1H), 4,40 (д, 1H), 3,90 (с, 1H), 3,30-3,00 (м, 8H), 2,43 (с, 3H), 1,09 (с, 6H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 172,7, 169,3, 155,2, 150,6, 144,9, 133,1, 132,7, 130,5, 130,1, 128,1, 121,9, 73,3, 54,5, 53,3, 50,5, 36,9, 36,6, 36,4, 29,0, 23,7, 21,5.

Приклад 14

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-[(1,1-діоксо)тіаморфолін-3-карбоніл]-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

L-тіаморфолін-5-карбонову кислоту одержували способом Larsson and Carlson (Acta Chemica Scan. 1994, 48, 517-525). N-(толуол-4-сульфоніл)-L-тіаморфолін-5-карбонову кислоту одержували з використанням процедури, описаної у способі 1, і потім її приєднували до трет-бутилтирозину в DMF у присутності BOP і NMM, з одержанням після водної обробки і хроматографії на випарній колонці трет-

бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-[тіаморфолін-3-карбоніл]-L-4-фенлаланіну.

Утворення 4-(N,N-диметилкарбамілокси)групи здійснювали за наведеним вище прикладом 2, і окислювання тіаморфоліно-групи до 1,1-діоксотіаморфоліно-групи здійснювали за Larsson and Carlson (Acta Chemica Scan. 1994, 48, 522).

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7,68 (д, 2H), 7,37 (д, 2H), 7,08 (м, 4H), 6,73 (д, 1H), 5,11 (м, 1H), 4,62 (м, 1H), 4,23 (м, 1H), 4,00 (м, 1H), 3,82 (м, 1H), 3,14 (с, 3H), 3,03 (с, 3H), 2,80 (м, 5H), 2,44 (с, 3H), 1,48 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 171,3, 169,9, 164,4, 145,6, 135,4, 132,6, 130,8, 130,4, 127,3, 121,9, 83,0, 56,1, 53,8, 49,4, 48,7, 44,5, 42,0, 36,9, 36,6, 36,4, 27,8, 21,5.

Приклад 15

Синтез

N-(толуол-4-сульфоніл)-L-[(1,1-діоксо)тіаморфолін-3-карбоніл]-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенлаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 14 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ = 7,77 (д, 2H), 7,40 (д, 2H), 7,22 (д, 2H), 7,00 (д, 2H), 5,19 (м, 1H), 4,65 (м, 1H), 4,30 (м, 1H), 3,95 (м, 1H), 3,61 (м, 1H), 3,20 (м, 5H), 3,09 (с, 3H), 2,97 (с, 3H), 2,43 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ = 174,1, 168,0, 157,0, 152,0, 146,4, 137,7, 135,3, 131,7, 131,6, 128,8, 123,0, 57,1, 54,8, 51,1, 50,9, 48,0, 47,7, 43,2, 37,4, 36,8, 36,7, 21,5.

Приклад 16

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурою, загалом описаною для одержання у прикладі 4, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7,74 (д, 2H), 7,33 (д, 2H), 7,25 (д, 2H), 7,20-7,00 (м, 3H), 4,74 (м, 1H), 4,55 (д, 1H), 4,38 (д, 1H), 3,83 (с, 1H), 3,66 (ушир.м, 2H), 3,57 (ушир.м, 2H), 3,08-3,05 (м, 2H), 2,45-2,42 (м, 7H), 2,33 (с, 3H), 1,42 (с, 9H), 1,15 (с, 3H), 1,08 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 169,7, 168,2, 153,6, 150,3, 144,7, 133,3, 132,7, 130,4, 129,9, 128,1, 121,5, 82,6, 73,4, 54,5, 53,7, 50,4, 46,0, 44,2, 43,6, 37,7, 28,9, 27,7, 23,8, 21,4.

Приклад 17

Синтез

N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 16 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 8,31 (д, 1H), 7,72 (д, 2H), 7,42-7,35 (м, 4H), 7,08 (д, 2H), 4,90-4,68 (м, 1H), 4,64-4,61 (м, 1H), 4,47-4,44 (м, 1H), 4,01 (с, 1H), 3,36-3,32 (ушир.м, 4H), 3,27-3,25 (м, 1H), 3,22-3,10 (м, 1H), 2,94 (с, 3H), 2,43 (с, 3H), 1,14 (с, 3H), 1,07 (с, 3H).

Приклад 18

Синтез

ізопропілового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)саркозил-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенлаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурою, загалом описаною для одержання у прикладі 2, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7,66 (д, 2H), 7,34 (д, 2H), 7,18 (д, 2H), 7,07 (д, 2H), 6,98 (д, 1H), 5,03 (м, 1H), 4,81 (м, 1H), 3,69 (д, 1H), 3,49 (д, 1H), 3,08 (м, 2H), 3,04 (с, 3H), 2,99 (с, 3H), 2,63 (с, 3H), 2,43 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 167,4, 154,9, 150,8, 144,4, 132,6, 130,2, 130,1, 127,7, 122,0, 110,9, 69,5, 57,3, 53,9, 53,0, 37,1, 36,6, 21,6, 21,4.

Приклад 19

Синтез

трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)саркозил-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурою, загалом описаною для одержання у прикладі 2, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7,67 (д, 2H), 7,34 (д, 2H), 7,19 (д, 2H), 7,03 (д, 2H), 6,98 (д, 1H), 4,76 (м, 1H), 3,67 (кв., 1H), 3,06 (м, 2H), 3,16 (с, 3H), 2,99 (с, 3H), 2,64 (с, 3H), 2,43 (с, 3H), 1,42 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 170,0, 137,2, 154,9, 150,7, 144,3, 133,2, 132,9, 130,3, 130,0, 127,7, 121,9, 82,6, 83,9, 53,3, 37,2, 36,6, 36,4, 27,9, 21,4.

Приклад 20

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)саркозил-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)-фенлаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 18 з використанням процедури, описаної у способі 7.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7,41 (д, 2H), 7,10 (д, 2H), 6,98 (д, 2H), 6,75 (д, 2H), 4,42 (м, 1H), 3,43 (м, 2H), 3,04 (м, 2H), 2,80 (с, 3H), 2,69 (с, 3H), 2,33 (с, 3H), 2,14 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 174,2, 170,2, 156,9, 151,9, 145,6, 135,5, 135,2, 131,4, 131,1, 128,9, 123,0, 54,6, 54,0, 37,4, 36,8, 36,7, 21,4.

Приклад 21

Синтез

трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметиламіносальфонілокси)фенлаланіну

Заміна диметилсульфамойлхлориду на диметилкарбамілхлорид і дії за способом одержання у прикладі

2 приводили до одержання зазначеної в заголовку сполуки.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7,72 (д, 2H), 7,34 (д, 2H), 7,21 (с, 4H), 4,69 (м, 1H), 4,04 (м, 1H), 3,4 (м, 1H), 3,24 (м, 3H), 2,96 (с, 6H), 2,42 (с, 3H), 2,02 (м, 1H), 1,45 (м, 13H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 166,3, 165,3, 144,8, 140,0, 130,9, 126,4, 125,6, 123,5, 117,3, 95,5, 78,3, 57,8, 49,2, 45,2, 34,2, 32,9, 25,0, 23,4, 19,7, 17,1.

Приклад 22

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-пролін-L-4-(N,N-диметиламіносульфонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 21 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ = 7,73 (д, 2H), 7,41 (д, 2H), 7,38 (д, 2H), 7,22 (д, 2H), 4,69 (м, 1H), 4,11 (м, 1H), 3,41 (м, 2H), 3,19 (м, 2H), 2,94 (с, 6H), 2,41 (с, 3H), 1,78 (м, 1H), 1,61 (м, 3H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ = 174,3, 174,0, 150,8, 145,9, 137,3, 135,1, 132,1, 131,2, 129,1, 123,1, 63,3, 54,6, 50,6, 39,1, 37,5, 31,6, 25,3, 21,5.

Приклад 23

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-саркозил-L-(4-морфолінкарбамілокси)фенілаланіну

Заміна саркозилу на L-пролін в одержанні Ts-Pro-Tyr(H)-O-трет-бутилового ефіру, і заміна 4-морфолінкарбонілхлориду на диметилкарбамілхлорид, і дії за способом одержання у прикладі 2 приводили до одержання зазначеної в заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,61 (д, 2H), 7,28 (д, 2H), 7,16 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 4,69 (м, 1H), 3,67 (м, 1H), 3,58 (м, 1H), 3,48 (м, 1H), 3,06 (м, 2H), 2,59 (с, 3H), 2,36 (с, 3H), 1,26 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 169,7, 167,1, 153,5, 150,1, 144,1, 133,1, 133,0, 133,0, 130,1, 129,8, 127,4, 121,6, 82,6, 66,3, 53,6, 53,1, 44,5, 43,7, 36,9, 36,4, 27,6, 21,2.

Приклад 24

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)саркозил-L-4-(ізоніпекотоїлокси)-фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 23 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ = 7,30 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 6,88 (д, 2H), 6,67 (д, 2H), 4,33 (м, 1H), 3,32 (м, 3H), 3,25 (м, 2H), 3,12 (м, 3H), 2,89 (м, 1H), 2,70 (м, 3H), 2,22 (с, 3H), 2,03 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ = 174,2, 170,3, 155,6, 151,7, 145,6, 135,8, 135,2, 131,5, 131,1, 128,9, 123,0, 67,5, 54,6, 54,0, 37,4, 36,8, 21,5.

Приклад 25

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-[(1,1-діоксо)тіаморфолін-3-карбоніл]-L-4-(морфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Заміна 4-морфолінкарбонілхлориду на диметилкарбамілхлорид і дії за способами одержання у прикладі 2 і 14 приводять до одержання зазначеної в заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7,76 (д, 1H), 7,68 (д, 1H), 7,37 (м, 2H), 7,14 (м, 2H), 7,05 (м, 1H), 6,97 (д, 1H), 6,80 (д, 0,5H), 6,57 (д, 0,5H), 5,09 (м, 0,5H), 4,91 (м, 0,5H), 4,75 (м, 0,5H), 4,62 (м, 0,5H), 4,25 (м, 0,5H), 4,09 (м, 2H), 3,79 (м, 4H), 3,65 (м, 4H), 2,91 (с, 3H), 2,44 (с, 3H), 1,69 (с, 4H), 1,44 (с, 5H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 170,0, 169,8, 164,8, 164,4, 153,7, 150,4, 145,6, 145,4, 135,4, 135,3, 132,9, 130,8, 130,7, 130,5, 130,4, 127,5, 127,2, 122,1, 121,8, 83,01, 82,8, 66,4, 56,1, 56,1, 53,7, 53,6, 49,5, 49,3, 48,6, 44,7, 43,9, 42,0, 41,6, 36,9, 36,3, 27,8, 21,5.

Приклад 26

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-[(1,1-діоксо)тіаморфолін-3-карбоніл]-L-4-(морфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 25 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ = 7,67 (м, 2H), 7,32 (м, 2H), 7,08 (м, 2H), 6,93 (м, 2H), 5,09 (м, 1H), 4,54 (м, 1H), 4,19 (м, 0,5H), 4,02 (м, 0,5H), 3,81 (м, 0,5H), 3,66 (м, 8H), 2,99 (м, 7H), 2,32 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ = 174,0, 168,0, 155,7, 151,9, 151,8, 146,6, 146,4, 137,5, 135,5, 135,3, 131,7, 131,6, 131,6, 128,8, 123,3, 122,9, 67,6, 57,3, 57,1, 54,8, 51,1, 50,9, 50,6, 46,0, 45,3, 45,2, 43,0, 37,4, 37,0, 21,5.

Приклад 27

Синтез трет-бутилового ефіру N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-пролін-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурою, загалом описаною для одержання у прикладі 2, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 7,87-7,83 (м, 2H), 7,26-7,13 (м, 5H), 4,74-4,69 (м, 1H), 4,05 (м, 1H), 3,36 (м, 1H), 3,24-3,17 (м, 1H), 3,11-3,01 (м, 4H), 2,97 (с, 3H), 2,05-2,02 (м, 1H), 1,60-1,47 (м, 3H), 1,46 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 170,6, 170,0, 165,7, 154,9, 150,6, 133,2, 132,4, 130,7, 130,2, 121,7, 116,7, 82,7, 62,3, 53,7, 49,6, 37,2, 36,6, 36,4, 29,9, 27,9, 24,2.

Приклад 28

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)саркозил-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурою, загалом описаною для одержання у прикладі 4, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 8,17 (д, 1H), 7,59 (д, 2H), 7,26 (д, 2H), 7,13 (д, 2H), 7,00 (д, 2H), 4,66 (м, 1H), 3,60 (м, 6H), 3,04 (м, 2H), 2,56 (с, 3H), 2,40 (м, 7H), 2,34 (с, 3H), 1,41 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 169,7, 167,0, 153,4, 150,2, 144,0, 133,0, 132,9, 130,1, 129,8, 127,4, 121,6, 82,2, 54,3, 53,5, 53,1, 45,8, 44,2, 43,5, 36,9, 27,6, 21,2.

Приклад 29

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(1,1-діоксо-5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(1,1-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Продукт за прикладом 12 окислювали способом Larsson and Carlson (Acta Chemica Scan. 1994, 48, 517-525), з виходом зазначеної в заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7,73 (д, 2H), 7,36 (д, 2H), 7,21 (д, 2H), 7,06-6,95 (м, 3H), 4,79 (м, 1H), 4,38 (дд, 2H), 4,10 (с, 1H), 3,18-2,95 (м, 8H), 2,43 (с, 3H), 1,45 (с, 9H), 1,33 (с, 3H), 1,08 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 169,8, 166,2, 154,9, 120,7, 145,8, 133,0, 131,9, 130,2, 128,5, 121,9, 82,9, 68,0, 60,9, 59,3, 53,9, 37,5, 36,6, 36,3, 27,7, 21,6, 19,3, 18,5.

Приклад 30

Синтез N-(1-метилімідазоліл-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 106 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 8,07 (д, 1H), 7,75 (с, 1H), 7,71 (с, 1H), 7,25 (д, 2H), 7,01 (д, 2H), 4,71-4,66 (м, 1H), 4,28-4,24 (м, 1H), 3,77 (с, 3H), 3,42-3,05 (м, 3H), 3,09 (с, 3H), 2,96 (с, 3H), 1,84-1,69 (м, 2H), 1,61-1,54 (м, 2H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 174,4, 174,1, 156,9, 151,9, 141,8, 137,7, 135,6, 131,6, 127,6, 122,9, 63,7, 54,7, 50,8, 37,4, 36,8, 36,7, 34,3, 31,6, 25,4.

Препаративний приклад А

Синтез трет-бутилового ефіру 2-(сахарин-2-іл)пропіоноіл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Трет-бутиловий ефір N-(бензизотіазолон)-L-аланіл-L-тирози́ну одержували шляхом вихідного з'єднання гідриду натрію (промитого від мінеральної олії) у THF, охолоджену до 0°C, і розчину трет-бутилового ефіру N-(2-метоксикарбоніл)сульфоніл-L-аланін-L-тирози́ну в THF, що додавали краплями. Реакційну суміш перемішували при 0°C протягом однієї години і потім при кімнатній температурі протягом двох годин. Реакційну суміш екстрагували EtOAc і 0,2н HCl, об'єднані шари EtOAc послідовно промивали 0,2н HCl, насиченим розчином NaHCO_3 і насиченим розчином NaCl. Органічний шар сушили над MgSO_4 , фільтрували і концентрували. Залишок фільтрували за допомогою хроматографії на силікагелі з одержанням трет-бутилового ефіру N-(бензизотіазолон)-L-аланіл-L-тирози́ну.

Потім одержували зазначену в заголовку сполуку, слідуючи процедурі, описаній у прикладі 2.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (DMCO-d_6 , 400МГц) (1:1 суміш діастереоізомерів) δ = 8,15 (м, 2H); 8,5 (м, 3H); 7,20 (м, 2H); 6,95 (м, 2H); 4,75 (м, 1H); 4,30 (м, 1H); 3,05 (с, 3H); 2,95 (м, 2H); 2,90 (с, 3H); 1,75 і 1,65 (два д, 3H); 1,30 і 1,35 (два с, 9H).

Приклад 31

Синтез

N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(1,1-діоксо-5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-

диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 29 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7,75 (м, 3H), 7,29 (м, 4H), 7,08 (д, 2H), 4,95 (м, 1H), 4,46-4,20 (м, 3H), 3,17 (с, 3H), 3,30-3,10 (м, 2H), 3,02 (с, 3H), 2,43 (с, 3H), 1,15 (с, 3H), 0,88 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 127,2, 167,5, 155,8, 150,3, 145,4, 133,6, 132,6, 130,8, 130,2, 128,3, 121,9, 67,9, 65,8, 60,8, 53,9, 36,8, 36,6, 35,8, 21,6, 18,8, 15,0.

Приклад 32

Синтез N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 27 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 7,88-7,84 (м, 2H), 7,54 (д, 1H), 7,26-7,18 (м, 4H), 7,01 (д, 2H), 6,92 (с, 3H), 4,88-4,83 (м, 1H), 4,14-4,11 (м, 1H), 3,39-3,29 (м, 2H), 3,13 (м, 2H), 3,00 (с, 3H), 2,99 (с, 3H), 1,92-1,89 (м, 1H), 1,59-1,43 (м, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 173,1, 172,4, 165,6, 155,5, 150,4, 133,2, 131,9, 130,6, 130,3, 121,8, 116,6, 61,9, 53,1, 49,6, 36,6, 36,3, 30,2, 23,9.

Приклад 33

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-D-проліл-L-4-(4-метилпіперазин-1-іл)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурою, загалом описаною для одержання у прикладі 4, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 7,72 (д, 2H), 7,33 (д, 3H), 7,17 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 4,71 (кв., 1H), 4,09-4,06 (м, 1H), 3,67 (ушир.с, 2H), 3,57 (ушир.с, 2H), 3,41-3,34 (м, 1H), 3,22 (дд, 1H), 3,16-3,09 (м, 1H), 3,03 (дд, 1H), 2,46-2,43 (м, 7H), 2,05-2,02 (м, 1H), 1,57-1,43 (м, 3H), 1,47 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 170,8, 169,9, 153,6, 150,4, 144,3, 133,4, 133,1, 130,3, 130,0, 127,9, 121,6, 82,6, 62,3, 54,5, 53,8, 49,6, 46,1, 44,3, 43,7, 37,3, 29,7, 27,8, 24,1, 21,4.

Приклад 34

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-N-метил-L-аланіл-L-4-(4-метилпіперазин-1-

ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурою, загалом описаною для одержання у прикладі 4, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7,68 (д, 2H), 7,31 (д, 2H), 7,17 (д, 2H), 7,04 (д, 2H), 6,86 (д, 1H), 4,65 (м, 1H), 4,47 (кв., 1H), 3,71-3,53 (м, 4H), 3,24-2,92 (м, 2H), 2,50-2,40 (м, 10H), 2,35 (с, 3H), 1,45 (с, 9H), 0,92 (д, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 170,1, 169,9, 153,6, 150,4, 143,9, 135,6, 133,3, 130,2, 129,9, 127,2, 121,8, 82,4, 55,4, 54,6, 53,6, 46,0, 44,2, 43,7, 37,2, 29,6, 27,8, 21,4, 11,5.

Приклад 35

Синтез трет-бутилового ефіру N-(4-нітробензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурою, загалом описаною для одержання у прикладі 2, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 8,38-8,34 (м, 2H), 8,05-8,00 (м, 2H), 7,16-2,12 (м, 2H), 7,03-6,94 (м, 3H), 4,74-4,68 (м, 1H), 4,15-4,14 (м, 1H), 3,41-3,32 (м, 1H), 3,23-3,14 (м, 2H), 3,08 (с, 3H), 3,03 (м, 1H), 2,98 (с, 3H), 2,05 (м, 1H), 1,66-1,48 (м, 3H), 1,47 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 170,0, 169,9, 154,8, 150,6, 150,4, 142,4, 132,9, 130,2, 129,0, 124,5, 121,6, 82,7, 62,2, 53,4, 49,4, 37,0, 36,5, 36,2, 30,1, 27,7, 24,1.

Приклад 36

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-[(1,1-діоксо)тіаморфолін-3-карбоніл]-L-4-(1,1-диметиламіносульфонілокси)-фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурою, загалом описаною для одержання у прикладі 21, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7,73 (д, 1H), 7,67 (д, 1H), 7,35 (м, 2H), 7,27 (м, 2H), 6,88 (д, 1H), 6,66 (д, 1H), 5,08 (м, 0,5H), 4,97 (м, 0,5H), 4,71 (м, 0,5H), 4,61 (м, 0,5H), 4,25 (м, 0,5H), 4,03 (м, 1H), 3,21-3,04 (м, 4H), 2,89 (с, 3H), 2,83 (с, 3H), 2,78 (м, 3H), 2,42 (с, 3H), 1,44 (с, 4,5H), 1,38 (с, 4,5H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 169,8, 169,6, 164,9, 164,5, 149,3, 149,1, 145,6, 145,4, 135,4, 135,0, 134,6, 130,9, 130,6, 130,5, 127,4, 127,2, 122,0, 121,8, 83,0, 83,0, 56,0, 53,7, 49,2, 49,1, 48,5, 41,9, 41,4, 38,6, 36,8, 36,2, 27,7, 21,5.

Приклад 37

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфонілсаркозил)-L-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Заміна тіоморфоліну на N-метилпіперазин і дії за способом одержання у прикладі 4 приводили до одержання зазначеної в заголовку сполуки.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7,65 (д, 2H), 7,33 (д, 2H), 7,20 (д, 2H), 7,04 (д, 2H), 4,76 (м, 1H), 3,89 (м, 4H), 3,68 (д, 1H), 3,48 (д, 1H), 3,10 (м, 2H), 2,66 (м, 7H), 2,41 (с, 3H), 1,43 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 169,9, 167,2, 153,5, 150,3, 144,3, 133,1, 130,3, 130,0, 127,6, 121,8, 82,5, 53,8, 53,3, 47,0, 36,4, 37,2, 36,6, 27,8, 27,3, 27,0, 21,4.

Приклад 38

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-N-метилаланіл-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 34 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7,65 (д, 2H), 7,34 (д, 2H), 7,27 (д, 2H), 7,09 (д, 2H), 4,64-4,50 (м, 2H), 4,48-4,23 (м, 2H), 3,60-2,96 (м, 5H), 2,92 (с, 3H), 2,55 (с, 3H), 2,40 (с, 3H), 0,93 (д, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 174,3, 173,1, 154,9, 151,6, 145,5, 137,0, 136,1, 131,6, 131,2, 128,5, 123,1, 56,4, 54,8, 54,0, 43,8, 37,3, 30,2, 21,5, 13,2.

Приклад 39

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(1,1-діоксотіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 81 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ = 8,03 (м, 1H), 7,73 (д, 2H), 7,41 (д, 2H), 7,28 (д, 2H), 7,08 (д, 2H), 4,70-4,65 (м, 1H), 4,12-4,00 (м, 5H), 3,38-3,36 (м, 1H), 3,31-3,06 (м, 7H), 2,43 (с, 3H), 1,77-1,48 (м, 5H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ = 168,4, 159,1, 130,0, 129,1, 125,6, 125,1, 123,0, 116,9, 57,2, 48,8, 46,3, 44,5, 31,5, 25,6, 19,3, 15,4.

Приклад 40

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 81 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ = 7,73 (д, 2H), 7,41 (д, 2H), 7,27 (д, 2H), 7,04 (д, 2H), 4,68-4,65 (м, 1H), 4,10-4,07 (м, 1H), 3,90 (т, 2H), 3,77 (т, 2H), 3,38-3,11 (м, 4H), 2,66 (м, 4H), 2,43 (с, 3H), 1,80-1,48 (м, 5H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ = 168,4, 168,2, 149,4, 145,7, 139,8, 129,7, 129,0, 125,6, 125,1, 123,1, 116,9, 57,2, 48,8, 44,6, 42,1, 36,0, 31,4, 25,7, 22,1, 21,8, 19,3, 15,4.

Приклад 41

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(ізоніпекотоїлокси)-фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 80 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CD₃OD): δ = 8,08 (м, 1H), 7,73 (д, 2H), 7,41 (д, 2H), 7,27 (д, 2H), 7,03 (д, 2H), 4,71 (м, 1H), 4,11-4,08 (м, 1H), 3,61 (т, 2H), 3,47-3,38 (м, 3H), 3,31-3,11 (м, 4H), 2,43 (с, 3H), 1,77-1,47 (м, 10H).

¹³C ЯМР (CD₃OD): δ = 168,3, 168,1, 158,8, 149,6, 145,9, 139,8, 129,5, 129,0, 125,6, 125,1, 123,1, 116,9, 57,2, 48,6, 44,6, 40,6, 40,1, 36,0, 31,4, 25,7, 20,9, 20,6, 19,3.

Приклад 42

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(піролідин-1-ілкарбоніл-окси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 83 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CD₃OD): δ = 8,08 (м, 1H), 7,73 (д, 2H), 7,41 (д, 2H), 7,04 (д, 2H), 7,27 (д, 2H), 4,72-4,68 (м, 1H), 4,11-4,08 (м, 1H), 3,57-3,53 (т, 2H), 3,43-3,28 (м, 3H), 3,25-3,06 (м, 4H), 2,43 (с, 3H), 1,99-1,80 (м, 4H), 1,78-1,49 (м, 5H).

¹³C ЯМР (CD₃OD): δ = 168,2, 158,3, 149,2, 145,8, 139,8, 129,4, 129,1, 125,6, 125,1, 123,1, 116,9, 57,2, 48,7, 44,5, 41,5, 31,4, 25,7, 20,6, 19,8, 19,3, 15,4.

Приклад 43

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(морфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 108 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CD₃OD): δ = 7,73 (д, 2H), 7,41 (д, 2H), 7,27 (д, 2H), 7,04 (д, 2H), 4,95-4,93 (м, 1H), 4,10-4,07 (м, 1H), 3,71-3,65 (м, 6H), 3,50 (т, 2H), 3,40-3,10 (м, 4H), 2,43 (с, 3H), 1,78-1,48 (м, 4H).

¹³C ЯМР (CD₃OD): δ = 168,4, 168,2, 149,6, 145,7, 139,8, 129,1, 125,6, 125,1, 123,1, 116,8, 61,5, 57,2, 44,5, 36,0, 31,4, 25,6, 19,3, 15,4.

Приклад 44

Синтез неопентилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Ізопропоксид титану (0,3 еквіваленти) додавали до Tos-Pro-Tyr-етилового ефіру (1 еквівалент) і до надлишку неопентилового спирту. Суміш нагрівали до кипіння зі зворотним холодильником в атмосфері аргону протягом ночі. Надлишок неопентилового спирту видаляли при зниженому тиску, і залишок очищали шляхом хроматографії на випарній колонці (сілікагель, гексан:EtOAc 2:1) з одержанням неопентилового складного ефіру у вигляді білої твердої речовини (0,9м, 85%). Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурою, описаною у прикладі 4.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400МГц) δ = 8,29 (д, 1H, J=7,91Гц); 7,68 (д, 2H, J=8,45Гц); 7,40 (д, 2H, J=8,34Гц); 7,24 (д, 2H, J=8,57Гц); 7,00 (д, 2H, J=8,57Гц); 4,56 (м, 1H); 4,07 (м, 1H); 3,73 (с, 2H); 3,55 (ушир.с, 2H); 3,40 (м, 3H); 3,10 (м, 3H); 2,40 (с, 3H); 2,35 (ушир.с, 4H); 2,20 (с, 3H); 1,55 (м, 3H); 1,37 (м, 1H); 0,85 (с, 9H).

Приклад 45

Синтез неопентилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Ізопропоксид титану (0,3 еквіваленти) додавали до Tos-Pro-Tyr-етилового ефіру (1 еквівалент) і до надлишку неопентилового спирту. Суміш нагрівали до кипіння зі зворотним холодильником в атмосфері аргону протягом ночі. Надлишок неопентилового спирту видаляли при зниженому тиску, і залишок очищали шляхом хроматографії на випарній колонці (сілікагель, гексан:EtOAc 2:1) з одержанням неопентилового складного ефіру у вигляді білої твердої речовини (0,9м, 85%). Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурою, описаною у прикладі 2.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400МГц) δ = 8,28 (д, 1H, J=8,13Гц); 7,68 (д, 2H, J=8,4Гц); 7,40 (д, 2H, J=7,9Гц); 7,23 (д, 2H, J=8,56Гц); 6,99 (д, 2H, J=8,35Гц); 4,57 (м, 3H); 2,40 (с, 3H); 1,55 (м, 3H); 1,38 (м, 1H); 0,85 (с, 9H).

Приклад 46

Синтез трет-бутилового ефіру 2-(сахарин-2-іл)пропіоніл-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній в препаративному прикладі А і прикладі 4.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400МГц) (1:1 суміш діастереоізомерів) δ = 8,31 (м, 1H); 8,26 (м, 1H); 8,03 (м, 3H); 7,20 (м, 2H); 7,00 (м, 2H); 4,73 (м, 1H); 4,30 (м, 1H); 3,58 (ушир.с, 2H); 3,40 (ушир.с, 2H); 3,02 (м, 1H); 2,95 (м, 1H); 2,35 (ушир.с, 4H); 2,20 (с, 3H); 2,75 і 2,65 (два д, 3H); 1,35 і 1,32 (два с, 9H).

Приклад 47

Синтез 2-(сахарин-2-іл)пропіоніол-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)-фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту препаративного прикладу А з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400МГц) (1:1 суміш діастереоізомерів) δ = 12,75 (ушир.с, 1H); 8,28 (м, 2H); 8,05 (м, 3H); 7,20 (м, 2H); 7,00 і 9,95 (два д, 2H); 4,75 (м, 1H); 4,40 (м, 1H); 3,10 (м, 1H); 3,05 (с, 3H); 2,95 (м, 1H); 2,90 (с, 3H); 2,75 і 2,60 (два д, 3H).

Приклад 48

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-N-метилаланіл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурою для синтезу у прикладі 2 із заміною додатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7,68 (д, 2H), 7,31 (д, 2H), 7,17 (д, 2H), 7,04 (д, 2H), 6,87 (д, 2H), 4,67 (м, 1H), 4,48 (кв., 1H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 3,14-2,92 (м, 2H), 2,46 (с, 3H), 2,43 (с, 3H), 1,45 (с, 9H), 0,92 (д, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 170,2, 169,9, 154,9, 150,6, 143,9, 135,6, 133,2, 130,2, 130,0, 127,3, 121,9, 82,5, 55,5, 53,7, 37,2, 36,6, 36,4, 29,7, 27,8, 21,4, 11,5.

Приклад 49

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(тіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

L-тіаморфолін-3-карбонову кислоту одержували способом Larsson and Carlson (Acta Chemica Scan. 1994, 48, 517-525). N-(толуол-4-сульфоніл)-L-тіаморфолін-3-карбонову кислоту одержували з використанням процедури, описаної у способі 1. Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі для синтезу у прикладі 2 із заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7,69 (д, 2H), 7,31 (д, 2H), 7,16 (д, 2H), 6,98 (д, 2H), 6,86 (д, 1H), 4,71 (м, 1H), 4,62 (м, 1H), 3,94 (м, 1H), 3,31 (м, 1H), 3,09 (м, 4H), 2,98 (с, 3H), 2,67 (м, 1H), 2,50 (м, 1H), 2,40 (с, 3H), 2,31 (м, 1H), 2,10 (м, 1H), 1,49 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 169,9, 167,4, 154,8, 150,6, 144,2, 136,8, 132,8, 130,4, 130,2, 127,3, 121,8, 82,6, 55,2, 54,0, 43,3, 36,5, 36,3, 27,8, 25,2, 24,6, 21,4.

Приклад 50

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)саркозил-L-4-(1,1-діоксотіаморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 121 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ = 7,67 (д, 2H), 7,40 (д, 2H), 7,27 (д, 2H), 7,09 (д, 2H), 4,61 (м, 1H), 4,12 (м, 2H), 3,99 (м, 2H), 3,60 (м, 2H), 3,23 (м, 8H), 2,58 (с, 3H), 2,42 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ = 174,2, 170,3, 155,0, 151,6, 145,6, 136,1, 135,2, 131,5, 131,1, 128,9, 123,0, 54,6, 54,0, 52,4, 52,2, 44,4, 44,0, 37,4, 36,8, 21,4.

Приклад 51

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(1,1-діоксотіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 49, слідуючи процедурі, описаній Larsson and Carlson (Acta Chemica Scan. 1994, 48, 522).

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7,76 (д, 2H), 7,37 (д, 2H), 7,08 (д, 2H), 6,98 (д, 2H), 6,56 (д, 1H), 4,95 (м, 1H), 4,62 (м, 1H), 3,99 (м, 2H), 3,25 (м, 1H), 3,07 (с, 3H), 2,97 (м, 8H), 2,44 (с, 3H), 1,48 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 170,0, 164,8, 154,9, 150,7, 145,4, 135,3, 132,6, 130,7, 130,3, 127,5, 122,3, 82,8, 56,1, 53,6, 49,5, 48,6, 41,6, 36,6, 36,4, 27,9, 21,6.

Приклад 52

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(1,1-діоксотіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(морфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 71.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7,75 (д, 2H), 7,36 (д, 2H), 7,12 (д, 2H), 6,98 (д, 2H), 6,58 (д, 1H), 4,93 (м, 1H), 4,63 (м, 1H), 4,09 (м, 2H), 3,72 (м, 4H), 3,63 (м, 2H), 3,51 (м, 2H), 3,24 (м, 1H), 2,96 (м, 4H), 2,43 (с, 3H), 1,46 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 170,0, 164,8, 153,7, 150,4, 145,4, 135,2, 132,9, 130,7, 130,4, 127,5, 122,1, 82,9, 66,4, 56,1, 53,6, 49,4, 48,5, 44,7, 43,9, 41,6, 36,3, 27,8, 21,6.

Приклад 53

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-N-метилаланіл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 48 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7,68 (д, 2H), 7,31 (д, 2H), 7,20 (д, 2H), 7,11-7,04 (м, 3H), 6,35 (ушир.с, 1H), 4,81 (м, 1H), 4,52 (кв., 1H), 3,35-2,98 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 2,45 (с, 3H), 2,43 (с, 3H), 0,91 (д, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 173,7, 170,8, 155,2, 150,6, 144,0, 135,4, 133,2, 130,2, 130,0, 127,3, 122,1, 55,5, 53,2, 36,6, 36,5, 36,4, 29,8, 21,4, 11,6.

Приклад 54

Синтез трет-бутилового ефіру N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(тіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

L-тіаморфолін-3-карбонову кислоту одержували за способом Larsson and Carlson (Acta Chemica Scan. 1994, 48, 517-525). N-(толуол-4-сульфоніл)-L-тіаморфолін-3-карбонову кислоту одержували з використанням процедури, описаної у способі 1.

Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурою для синтезу у прикладі 2.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7,87-7,82 (м, 2H), 7,20 (т, 2H), 7,16 (д, 2H), 7,00 (д, 2H), 6,76 (д, 1H), 4,74 (т, 1H), 4,65 (кв., 1H), 3,92 (д, 1H), 3,32 (дд, 1H), 3,17-3,00 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 2,99 (с, 3H), 2,76-2,66 (м, 1H), 2,62 (дд, 1H), 2,46 (дт, 1H), 2,22 (д, 1H), 1,49 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 170,0, 167,2, 165,5, 154,8, 150,7, 135,8, 132,7, 130,5, 130,1, 121,9, 116,9, 82,8, 55,3, 53,9, 43,4, 36,6, 36,4, 36,3, 27,9, 25,8, 25,0.

Приклад 55

Синтез трет-бутилового ефіру N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(1,1-діоксотіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 54, слідуючи процедурі, описаній Larsson and Carlson (Acta Chemica Scan. 1994, 48, 522).

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,92-7,88 (м, 2H), 7,24 (т, 2H), 7,09 (д, 2H), 6,97 (д, 2H), 6,41 (д, 1H), 4,96 (д, 1H), 4,62 (д, 1H), 4,03 (д, 1H), 3,26 (дд, 1H), 3,13-2,92 (м, 6H), 3,09 (с, 3H), 2,97 (с, 3H), 1,49 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 170,1, 165,9, 164,5, 154,9, 150,7, 134,0, 132,4, 130,5, 130,4, 122,2, 117,3, 83,0, 56,1, 53,4, 50,0, 49,1, 41,7, 36,6, 36,3, 36,1, 27,9.

Приклад 56

Синтез трет-бутилового ефіру N-(піридин-3-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

N-Бензил-L-пролін приєднували до трет-бутилового ефіру L-тирозины з використанням процедури, описаної у способі 12. Трет-бутиловий ефір N-бензил-L-проліл-L-(N,N-диметилкарбамілокси) фенілаланіну одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2. Трет-бутиловий ефір L-проліл-L-(4-N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну одержували з продукту попередньої взаємодії з використанням процедури, описаної у способі 4. Зазначену в заголовку сполуку одержували з використанням процедури, описаної для одержання 3-піридинсульфонілхлориду (див. Crowell et al., J. Med. Chem., 1989, 32, 2436-2442) і продукту останньої взаємодії.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 9,95 (д, 1H), 8,83 (дд, 1H), 8,14-8,10 (м, 1H), 7,51-7,47 (м, 1H), 7,16-7,13 (м, 3H), 7,02-6,99 (м, 2H), 4,72-4,69 (м, 1H), 4,09-4,06 (м, 1H), 3,41-3,39 (м, 1H), 3,23-3,17 (м, 1H), 3,13-2,98 (м, 1H), 3,07 (с, 3H), 2,97 (с, 3H), 2,04 (м, 1H), 1,59-1,47 (м, 3H), 1,45 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 170,1, 169,9, 154,8, 153,9, 150,5, 148,4, 135,5, 133,0, 130,1, 123,9, 121,6, 82,6, 52,2, 53,6, 49,5, 37,1, 36,5, 36,3, 29,9, 27,8, 24,0.

Препаративний приклад В

Синтез трет-бутилового ефіру N-(піримідин-2-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували шляхом заміни 2-піримідинсульфонілхлориду (див. Skulnick et al., J. Med. Chem., 1997, 40, 1149-1164) і слідуючи способу для одержання у прикладі 56.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 8,28 (д, 2H), 7,39 (д, 1H), 7,02 (д, 2H), 6,88 (д, 2H), 6,54 (м, 1H), 4,76-4,69 (м, 1H), 4,57-4,55 (м, 1H), 3,64 (м, 1H), 3,55-3,52 (м, 1H), 3,09-3,03 (м, 1H), 3,08 (с, 3H), 2,99-2,95 (м, 1H), 2,98 (с, 3H), 2,32 (м, 1H), 2,01-1,97 (м, 3H), 1,37 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 172,1, 170,4, 160,6, 157,7, 154,8, 150,3, 133,0, 130,1, 121,3, 110,5, 82,0, 60,7, 53,3, 47,5, 37,1, 36,5, 36,3, 28,9, 27,7, 24,1.

Приклад 57

Синтез N-(4-нітробензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 35 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 8,36 (д, 2H), 8,02 (д, 2H), 7,42 (д, 1H), 7,20 (д, 2H), 7,01 (д, 2H), 4,86 (м, 1H), 4,18-4,15 (м, 1H), 3,46-3,43 (м, 1H), 3,32-3,26 (м, 1H), 3,19-3,11 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,01 (с, 3H), 1,91 (м, 1H), 1,65-1,54 (м, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 172,9, 171,7, 155,5, 150,4, 150,4, 142,1, 133,2, 130,5, 129,1, 124,6, 121,8, 61,9, 52,9, 49,6, 36,6, 36,3, 36,3, 30,6, 24,1.

Приклад 58

Синтез трет-бутилового ефіру N-(4-ціанобензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурою, описаною для одержання у прикладі 2, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,94 (д, 2H), 7,82 (д, 2H), 7,13 (д, 2H), 7,05-6,99 (м, 3H), 4,71-4,66 (м, 1H), 4,12-4,09 (м, 1H), 3,36-3,35 (м, 1H), 3,22-3,11 (м, 2H), 3,07 (с, 3H), 3,06-3,01 (м, 1H), 2,97 (с, 3H), 2,05 (м, 1H), 1,63-1,37 (м, 3H), 1,46 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 170,1, 169,9, 154,8, 150,6, 140,8, 133,1, 132,9, 130,2, 128,4, 121,7, 117,1, 116,9, 82,7, 62,2, 53,4, 49,4, 37,0, 36,5, 36,3, 30,1, 27,8, 24,1.

Приклад 59

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(1,1-діоксотіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметиламіносульфонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 36 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CD₃OD): δ = 7,79 (м, 2H), 7,44 (м, 2H), 7,27 (м, 2H), 7,17 (м, 2H), 5,21 (м, 1H), 4,64 (м, 1H), 4,14 (м, 1H), 3,61 (м, 2H), 3,24 (м, 2H), 3,08 (м, 2H), 2,89 (с, 6H), 2,80 (м, 2H), 2,43 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 173,9, 168,1, 168,0, 150,8, 150,8, 146,7, 146,5, 137,6, 137,5, 137,1, 136,9, 132,2, 132,1, 131,7, 131,6, 128,8, 123,3, 123,1, 57,3, 54,8, 51,0, 50,8, 50,5, 47,9, 47,8, 43,2, 43,0, 39,0, 39,0, 37,4, 37,0, 21,5.

Приклад 60

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(1,1-діоксотіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 51 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,79 (д, 2H), 7,43 (д, 2H), 7,20 (д, 2H), 7,00 (д, 2H), 5,21 (м, 1H), 4,65 (м, 1H), 4,12 (м, 1H), 3,75 (м, 1H), 3,29 (м, 3H), 3,08 (с, 3H), 3,00 (м, 1H), 3,00 (м, 1H), 2,97 (с, 3H), 2,80 (м, 3H), 2,44 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 165,1, 159,0, 147,9, 143,1, 137,6, 128,6, 126,1, 122,7, 122,6, 119,8, 114,3, 48,3, 45,8, 41,6, 34,0, 28,0, 27,8, 27,7, 12,5.

Приклад 61

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-li-(1,1-діоксо)тіапроліл-L-4-(1,1-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну, одержаного за наведеними тут прикладами, слідує процедури, описаній за Larsson and Carlson (Acta Chemica Scan. 1994, 48, 522).

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,77 (д, 2H), 7,38 (д, 2H), 7,18 (м, 3H), 7,09 (д, 2H), 4,83-4,57 (м, 3H), 3,77-3,60 (м, 2H), 3,36-3,23 (м, 1H), 3,15-3,00 (м, 7H), 2,85-2,73 (м, 1H), 2,46 (с, 3H), 1,50 (с, 9H).

Приклад 62

Синтез трет-бутилового ефіру N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурою, загалом описаною для одержання у прикладі 2, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,96 (д, 2H), 7,80 (д, 2H), 7,26-7,13 (м, 3H), 7,01 (д, 2H), 4,72-4,70 (м, 1H), 4,11-4,08 (м, 1H), 3,40-3,37 (м, 1H), 3,25-3,10 (м, 2H), 3,07 (с, 3H), 3,04-3,02 (м, 1H), 2,98 (с, 3H), 2,06 (м, 1H), 2,06-2,04 (м, 1H), 1,61-1,52 (м, 3H), 1,46 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 170,3, 169,9, 154,9, 150,6, 139,9, 134,9, 133,1, 130,2, 128,4, 126,5, 121,7, 82,7, 62,3, 5,35, 49,6, 37,2, 36,6, 36,3, 30,0, 27,8 24,1.

Приклад 63

Синтез N-(1-метилпіразоліл-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 117 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 8,84 (ушир.с, 1H), 7,93 (с, 1H), 7,79 (с, 1H), 7,68-7,65 (м, 1H), 7,18 (д, 2H), 6,99 (д, 2H), 4,88-4,81 (м, 1H), 4,08-4,06 (м, 1H), 3,92 (с, 3H), 3,45-3,40 (м, 1H), 3,34-3,27 (м, 1H), 3,11-3,01 (м, 5H), 2,97 (с, 3H), 1,82 (м, 1H), 1,66-1,57 (м, 2H), 1,45 (м, 1H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 173,1, 172,9, 159,1, 158,6, 150,4, 138,8, 133,4, 133,2, 130,3, 121,9, 117,3, 62,0, 53,1, 49,7, 39,4, 36,6, 36,5, 36,4, 30,4, 23,9.

Приклад 64

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(1,1-діоксо)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту у прикладі 61 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 8,34 (д, 1H), 7,70 (д, 2H), 7,33 (д, 2H), 7,14 (д, 2H), 7,01 (д, 2H), 5,07 (м, 1H), 4,93 (м, 1H), 4,43 (д, 1H), 4,01 (д, 1H), 3,68 (м, 1H), 3,37 (м, 1H), 3,17 (с, 3H), 3,14 (м, 1H), 3,09 (с, 3H), 2,54 (м, 1H), 2,43 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 171,5, 166,4, 156,4, 150,5, 145,5, 134,2, 134,1, 131,4, 130,3, 128,1, 121,8, 64,3, 59,2, 53,7, 50,5, 36,9, 36,5, 35,8, 21,6.

Приклад 65

Синтез N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 84 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,83 (м, 2H), 7,73 (д, 1H), 7,16 (м, 4H), 6,99 (д, 2H), 5,57 (ушир.с, 1H), 4,87 (м, 1H), 4,76 (м, 1H), 4,53 (д, 1H), 4,10 (д, 1H), 3,34 (м, 1H), 3,22 (д, 2H), 3,12 (с, 3H), 3,04 (с, 3H), 2,43 (м, 1H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 172,1, 168,7, 155,7, 150,5, 133,6, 133,1, 130,8, 130,7, 121,7, 116,9, 116,6, 65,3, 53,3, 51,3, 36,8, 36,4, 36,1, 33,4.

Приклад 66

Синтез трет-бутилового ефіру N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурою, загалом описаною для одержання у прикладі 2, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,91 (м, 2H), 7,26 (м, 4H), 7,02 (д, 2H), 6,96 (д, 1H), 4,75 (м, 1H), 4,55 (д, 1H), 4,42 (д, 1H), 3,86 (с, 1H), 3,08 (с, 3H), 3,05 (м, 2H), 3,00 (с, 3H), 1,43 (с, 9H), 1,17 (с, 3H), 1,16 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 169,9, 168,1, 167,6, 164,2, 154,9, 150,6, 133,1, 132,2, 131,0, 130,9, 130,4, 121,7, 116,9, 116,6, 82,7, 73,5, 54,7, 53,7, 50,5, 37,8, 36,6, 36,4, 29,1, 27,8, 23,8.

Приклад 67

Синтез трет-бутилового ефіру N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(1,1-діоксотіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(1,1-діоксотіаморфолін-4-ілкарбонілокси)-фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідує процедури, описаній для одержання у прикладі 68.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,91-7,87 (м, 2H), 7,27-7,25 (м, 2H), 7,15 (д, 2H), 6,51 (д, 1H), 4,93-4,90 (м, 1H), 4,64-4,58 (м, 1H), 4,14-3,99 (м, 7H), 3,28-2,90 (м, 10H), 1,47 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 170,1, 167,6, 164,5, 153,1, 149,8, 133,9, 133,4, 130,7, 130,5, 121,7, 117,4, 117,1, 83,1, 56,1, 53,4, 51,6, 49,9, 48,9, 43,1, 41,6, 36,2, 27,8.

Приклад 68

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(1,1-діоксотіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(1,1-

діоксотіоморфолін-4-ілкарбонілокси)-фенілаланіну

Заміна тіоморфоліну на N-метилпіперазин і дія за способом одержання у прикладі 4, і окислювання сульфідної групи в тіоморфоліновому кільці за Larsson and Carlson (Acta Chemica Scand. 1994, 48, 522) приводили до одержання зазначеної в заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,75 (д, 2H), 7,35 (д, 2H), 7,17 (д, 2H), 6,99 (д, 2H), 6,65 (д, 1H), 4,92-4,90 (м, 1H), 4,63-4,60 (м, 1H), 4,15-3,95 (м, 7H), 3,30-3,23 (м, 1H), 3,14 (т, 4H), 3,07-2,80 (м, 6H), 2,45 (с, 3H), 1,48 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 169,9, 164,8, 153,1, 149,8, 145,5, 135,1, 133,6, 130,7, 127,5, 121,8, 82,9, 60,3, 56,1, 53,7, 51,8, 49,3, 48,4, 43,1, 42,7, 41,5, 36,3, 27,8, 21,5.

Приклад 69

Синтез трет-бутилового ефіру N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній у прикладі 37, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,88-7,83 (м, 2H), 7,26-7,15 (м, 5H), 7,01 (д, 2H), 4,74-4,67 (м, 1H), 4,08-4,05 (м, 1H), 3,91-3,80 (м, 4H), 3,41-3,35 (м, 1H), 3,24-3,00 (м, 3H), 2,70-2,65 (т, 4H), 2,06-2,04 (м, 1H), 1,60-1,46 (м, 12H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 170,5, 169,8, 153,4, 150,2, 133,5, 130,7, 130,5, 130,3, 121,6, 116,8, 116,5, 82,6, 62,2, 53,6, 49,6, 47,0, 46,4, 37,2, 29,8, 27,8, 27,3, 27,0, 24,1.

Приклад 70

Синтез N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 66 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,90 (м, 2H), 7,30-7,14 (м, 5H), 7,02 (д, 2H), 5,83 (ушир.с, 1H), 4,90 (м, 1H), 4,57 (д, 1H), 4,40 (д, 1H), 3,96 (с, 1H), 3,09 (с, 3H), 3,28-3,02 (м, 2H), 3,00 (с, 3H), 1,13 (с, 6H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 173,2, 169,2, 164,2, 163,9, 155,3, 150,6, 133,1, 132,0, 131,0, 130,9, 130,6, 122,0, 117,0, 116,7, 73,3, 54,6, 53,3, 50,5, 37,0, 36,7, 36,4, 29,0, 23,7.

Приклад 71

Синтез трет-бутилового ефіру N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(1,1-діоксотіоморфолін-3-карбоніл)-L-4-(морфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Заміна 4-морфолінкарбамілхлориду на диметилкарбамілхлорид і дії за способом одержання, описаним у прикладі 2, приводили до одержання зазначеної в заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,91-7,87 (м, 2H), 7,26-7,20 (м, 2H), 7,11 (д, 2H), 6,98 (д, 2H), 6,43 (д, 1H), 4,95-4,92 (м, 1H), 4,62-4,60 (м, 1H), 4,05-4,00 (м, 2H), 3,74 (т, 4H), 3,66-3,52 (м, 4H), 3,30-2,92 (м, 6H), 1,48 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 170,1, 164,5, 150,4, 134,6, 132,7, 130,5, 122,0, 117,4, 117,1, 83,1, 66,5, 56,1, 53,4, 49,9, 49,0, 44,7, 44,0, 41,6, 36,2, 27,8.

Приклад 72

Синтез трет-бутилового ефіру N-(4-трифторметоксибензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурою, описаною для одержання у прикладі 2, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,89 (д, 2H), 7,35 (д, 2H), 7,25-7,13 (м, 3H), 7,01 (д, 2H), 4,70 (м, 1H), 4,09-4,06 (м, 1H), 3,39-3,36 (м, 1H), 3,24-3,01 (м, 5H), 2,98 (с, 3H), 2,05 (м, 1H), 1,62-1,47 (м, 3H), 1,46 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 170,4, 169,9, 154,9, 152,7, 150,6, 134,6, 113,2, 130,2, 130,1, 121,7, 120,2, 82,7, 62,2, 53,6, 49,6, 37,2, 36,6, 36,3, 29,9, 27,8, 24,1.

Приклад 73

Синтез ізопропілового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(1,1-діоксотіоморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Дії за способом одержання, описаним у прикладі 2, і окислювання сульфідної групи в тіоморфоліновому кільці за Larsson and Carlson (Acta Chemica Scand. 1994, 48, 522) приводили до одержання зазначеної в заголовку сполуки.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,70 (д, 2H), 7,31 (д, 2H), 7,04 (д, 2H), 6,93 (д, 2H), 6,59 (д, 1H), 5,01 (м, 2H), 4,65 (м, 1H), 4,01 (д, 1H), 3,90 (д, 1H), 3,25 (м, 1H), 3,00 (с, 3H), 2,82 (м, 8H), 2,37 (с, 3H), 1,22 (с, 3H), 1,20 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 170,3, 165,0, 154,6, 150,5, 145,1, 135,2, 132,3, 130,4, 130,0, 127,2, 122,1, 69,5, 55,9, 53,1, 49,1, 48,5, 41,4, 36,3, 36,1, 35,9, 21,4.

Приклад 74

Синтез трет-бутилового ефіру N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(1,1-діоксо-5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 66, слідуючи процедурі, описаній Larsson and Carlson (Acta Chemica Scand. 1994, 48, 522).

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,88 (м, 2H), 7,24 (м, 4H), 7,05 (д, 2H), 6,95 (д, 1H), 4,80 (м, 1H), 4,40 (м, 2H), 4,10 (с, 1H), 3,17-3,03 (м, 2H), 3,10 (с, 3H), 3,01 (с, 3H), 1,47 (с, 9H), 1,36 (с, 3H), 1,11 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 169,8, 168,6, 166,0, 154,5, 150,8, 139,7, 133,0, 131,5, 131,4, 130,3, 122,0, 117,1, 116,8, 83,0, 68,0, 60,9, 59,3, 53,8, 37,4, 36,6, 36,4, 27,8, 18,9, 18,8.

Приклад 75

Синтез ізопропілового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(1,1-діоксо-5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-

диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 11, слідуючи процедурі, описаній Larsson and Carlson (Acta Chemica Scand. 1994,48, 522).

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7,75 (д, 2H), 7,38 (д, 2H), 7,21 (д, 2H), 7,03 (м, 3H), 5,08 (м, 1H), 4,89 (м, 1H), 4,38 (м, 2H), 4,10 (с, 1H), 3,22-3,04 (м, 2H), 3,10 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 2,43 (с, 3H), 1,26 (м, 9H), 1,09 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 170,3, 166,3, 150,8, 145,9, 132,8, 131,9, 130,3, 128,6, 122,0, 69,8, 68,0, 60,9, 59,4, 53,4, 37,4, 36,6, 36,4, 21,6, 21,5, 19,2, 18,6.

Приклад 76

Синтез N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 74 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 171,7, 167,9, 137,3, 164,5, 155,9, 150,4, 133,6, 131,8, 131,3, 131,2, 130,8, 121,9, 117,1, 116,8, 67,8, 60,9, 59,9, 53,8, 36,8, 36,6, 36,0, 19,1, 19,0.

Приклад 77

Синтез N-(піримідин-2-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту препаративного прикладу В з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 8,45 (ушир.м, 2H), 8,22 (ушир.с, 1H), 7,55 (д, 1H), 7,11 (д, 2H), 6,95 (д, 2H), 6,81 (м, 1H), 4,80-4,74 (м, 2H), 3,70 (м, 1H), 3,55 (м, 1H), 3,20-3,08 (м, 4H), 2,98 (с, 3H), 2,89-2,76 (м, 1H), 2,13-1,96 (м, 3H), 1,60 (м, 1H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 190,0, 173,6, 171,0, 155,2, 153,9, 150,6, 133,2, 130,1, 121,9, 110,3, 62,0, 55,1, 48,2, 36,6, 36,6, 36,3, 30,2, 23,4.

Приклад 78

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(1,1-діоксотіапроліл-3-карбоніл)-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)-фенілаланіну

Дії за способом одержання, описаним у прикладі 4, і окислювання сульфідної групи в тіоморфоліновому кільці за Larsson and Carlson (Acta Chemica Scand. 1994, 48, 522) приводили до одержання зазначеної в заголовку сполуки.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7,76 (д, 2H), 7,37 (д, 2H), 7,12 (д, 2H), 6,96 (д, 2H), 6,57 (д, 1H), 4,95 (м, 1H), 4,62 (м, 1H), 4,03 (м, 2H), 3,67 (м, 4H), 3,25 (м, 1H), 2,89 (м, 4H), 2,45 (м, 6H), 2,35 (с, 3H), 1,48 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 170,0, 164,8, 153,7, 150,5, 145,4, 135,3, 132,8, 130,7, 130,4, 127,5, 122,2, 82,9, 56,2, 54,6, 54,5, 53,6, 49,5, 48,6, 46,0, 44,2, 43,7, 41,6, 36,3, 27,9, 21,6.

Приклад 79

Синтез N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(1,1-діоксо)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 85 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 4,98 (м, 1H), 4,90 (м, 1H), 4,44 (д, 1H), 4,03 (д, 1H), 3,67 (м, 1H), 3,37 (м, 1H), 3,25-3,02 (м, 1H), 3,20 (с, 3H), 3,11 (с, 3H), 2,68 (м, 1H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 171,7, 167,9, 166,3, 164,4, 157,0, 156,4, 150,5, 139,6, 134,0, 133,1, 131,3, 131,1, 130,9, 121,9, 117,2, 116,9, 64,1, 58,8, 53,7, 50,6, 36,9, 36,5, 35,6.

Приклад 80

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(ізоншекотілокси)фенілаланіну

Заміна піперазину на N-метилпіперазин і дії за способами одержання, описаними у прикладі 4, приводили до одержання зазначеної в заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини.

Дані ЯМР були наступними:

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 7,70 (д, 2H), 7,32-7,26 (м, 2H), 7,14 (д, 2H), 7,01 (д, 2H), 4,72-4,68 (м, 1H), 4,07-4,05 (м, 1H), 3,60-3,49 (м, 4H), 3,37-3,31 (м, 1H), 3,22-2,98 (м, 3H), 2,42 (с, 3H), 2,02 (м, 2H), 1,61-1,55 (м, 6H), 1,50-1,45 (м, 13H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 177,3, 170,7, 169,8, 150,6, 144,3, 133,1, 130,1, 129,9, 127,9, 121,6, 110,8, 82,5, 62,2, 57,2, 53,7, 49,5, 44,9, 37,2, 29,7, 27,8, 25,7, 24,1, 21,4.

Приклад 81

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(1,1-діоксотіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Продукт прикладу 82 окислювали способом Larsson and Carlson (Acta Chemica Scand. 1994, 48, 517-525), з виходом зазначеної в заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7,69 (д, 2H), 7,33-7,29 (м, 3H), 7,20 (д, 2H), 7,00 (д, 2H), 4,71-4,66 (м, 1H), 4,13-4,04 (м, 5H), 3,37-3,32 (м, 1H), 3,21-3,00 (м, 7H), 2,41 (с, 3H), 2,05-2,01 (м, 1H), 1,52-1,44 (м, 12H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 170,7, 169,7, 149,8, 144,3, 134,4, 133,3, 130,6, 130,0, 127,9, 121,4, 82,7, 62,4, 54,0, 52,1, 49,7, 43,2, 37,6, 29,7, 28,1, 24,4, 21,7.

Приклад 82

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Заміна тіоморфоліну на N-метилпіперазин і дії за способами одержання, описаними у прикладі 4, приводили до одержання зазначеної в заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини.

Дані ЯМР були наступними:

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 7,70 (д, 2H), 7,31-7,26 (м, 2H), 7,16 (д, 2H), 7,00 (д, 2H), 4,72-4,66 (м, 1H), 4,07-4,04 (м, 1H), 3,89-3,79 (м, 4H), 3,37-3,32 (м, 1H), 3,22-2,99 (м, 3H), 2,67 (т, 4H), 2,42 (с, 3H), 2,02 (м, 2H), 1,50-1,45 (м, 12H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 177,2, 170,7, 169,8, 153,5, 150,2, 144,3, 133,6, 132,9, 130,3, 129,9, 127,9, 121,5, 82,5, 62,4, 53,7, 49,5, 47,0, 46,4, 37,2, 29,6, 27,8, 27,3, 24,1, 21,4.

Приклад 83

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(піролідин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Заміна піролідинкарбонілхлориду на диметилкарбамілхлорид і дії за способами одержання, описаними у прикладі 2, приводили до одержання зазначеної в заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,71 (д, 2H), 7,32 (д, 2H), 7,15 (д, 2H), 7,04 (д, 2H), 4,73-4,67 (м, 1H), 4,07-4,04 (м, 1H), 3,53 (т, 2H), 3,45 (т, 2H), 3,36-3,32 (м, 1H), 3,24-2,98 (м, 3H), 2,42 (с, 3H), 2,03-1,88 (м, 5H), 1,75 (с, 1H), 1,52 (1,24 (м, 12H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 170,7, 169,8, 153,1, 150,4, 144,3, 133,1, 130,1, 129,9, 127,9, 121,6, 110,8, 99,8, 82,5, 62,2, 53,7, 49,5, 46,3, 37,2, 29,7, 27,8, 25,6, 24,8, 24,0, 21,4.

Приклад 84

Синтез трет-бутилового ефіру N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурам, описаним для одержання у прикладі 2, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,87 (м, 2H), 7,28-7,13 (м, 5H), 7,02 (д, 2H), 4,70-4,60 (м, 2H), 4,58 (д, 1H), 4,06 (д, 1H), 3,38-3,01 (м, 3H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 2,58 (м, 1H), 1,47 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 169,7, 167,8, 154,9, 150,7, 132,7, 130,9, 130,7, 130,4, 121,8, 117,1, 116,8, 82,9, 65,1, 53,9, 51,4, 36,8, 36,6, 33,1, 27,9.

Приклад 85

Синтез трет-бутилового ефіру N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(1,1-діоксо)-тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 84, слідуючи процедурі окислювання за Larsson and Carlson (Acta Chemica Scan. 1994, 48, 517-525).

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,90 (м, 2H), 7,30-7,04 (м, 7H), 4,83-4,58 (м, 3H), 3,66 (м, 2H), 3,32-3,24 (м, 1H), 3,09-2,85 (м, 2H), 3,10 (с, 3H), 3,01 (с, 3H), 1,50 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 173,1, 169,8, 168,0, 165,6, 154,9, 150,9, 132,6, 131,1, 131,0, 130,3, 122,3, 117,3, 117,0, 83,2, 62,8, 57,8, 53,9, 49,0, 36,8, 36,6, 36,4, 27,9.

Приклад 86

Синтез трет-бутилового ефіру N-(2,5-дихлортіофен-3-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,14 (д, 2H), 7,09 (с, 1H), 7,07 (д, 1H), 7,01 (д, 2H), 4,73-4,66 (м, 1H), 4,32-4,28 (м, 1H), 3,42-3,17 (м, 3H), 3,08 (с, 3H), 3,06-3,01 (м, 1H), 2,98 (с, 3H), 2,17-2,04 (м, 1H), 1,84-1,60 (м, 2H), 1,60-1,46 (м, 1H), 1,45 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 170,2, 169,9, 154,9, 150,6, 133,4, 133,1, 131,2, 130,2, 127,9, 127,0, 121,7, 82,7, 62,2, 53,6, 49,3, 37,2, 36,6, 36,4, 30,1, 27,8, 24,2.

Приклад 87

Синтез трет-бутилового ефіру N-(4-ацетамідобензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 8,58 (с, 1H), 7,70-7,67 (м, 4H), 7,32 (д, 1H), 7,14 (д, 2H), 7,01 (д, 2H), 4,68 (м, 1H), 3,99 (м, 1H), 3,37-3,34 (м, 1H), 3,23-3,16 (м, 1H), 3,11-3,01 (м, 1H), 3,08 (с, 3H), 2,98 (с, 3H), 2,13 (с, 3H), 1,97-1,94 (м, 1H), 1,55-1,47 (м, 3H), 1,44 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 171,1, 169,9, 169,4, 155,0, 150,6, 143,3, 133,3, 130,2, 130,0, 128,9, 121,7, 119,4, 82,7, 62,2, 53,8, 49,6, 37,2, 36,6, 36,4, 29,9, 27,8, 24,4, 24,1.

Приклад 88

Синтез трет-бутилового ефіру N-(4-трет-бутилбензолсульфоніл)-L-(1,1-діоксотіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, загалом описаній для одержання у прикладі 73, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,81 (д, 2H), 7,59 (д, 2H), 7,07 (д, 2H), 6,97 (д, 2H), 6,46 (д, 1H), 4,95 (м, 1H), 4,62 (м, 1H), 4,06 (м, 2H), 3,23 (м, 1H), 3,07 (м, 4H), 2,97 (м, 4H), 2,81 (м, 4H), 1,55 (с, 9H), 1,37 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 170,0, 164,9, 158,2, 154,8, 150,6, 135,0, 132,6, 130,2, 127,4, 126,9, 122,2, 82,7, 56,1, 53,5, 49,7, 48,8, 41,5, 36,5, 36,3, 36,1, 35,2, 30,8, 27,8.

Приклад 89

Синтез N-(піридин-3-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбаміл-окси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 56 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ = 8,95 (с, 1H), 8,83 (д, 1H), 8,28-8,24 (м, 1H), 7,73-7,69 (м, 1H), 7,30 (д, 2H), 7,05 (д, 2H), 4,68-4,63 (м, 1H), 4,29-4,25 (м, 1H), 3,47-3,41 (м, 1H), 3,38-3,22 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,06-3,02 (м, 1H), 2,96 (с, 3H), 1,92-1,66 (м, 4H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ = 174,2, 173,9, 160,6, 160,0, 156,9, 152,9, 152,0, 147,9, 139,1, 136,9, 135,7, 131,6, 126,5, 123,1, 63,1, 54,8, 50,4, 37,5, 36,8, 36,7, 32,2, 25,5.

Приклад 90

Синтез трет-бутилового ефіру N-(2-фторбензолсульфоніл)-L-(1,1-діоксотіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

L-тіаморфолін-3-карбонову кислоту одержували за способом Larsson and Carlson (Acta Chemica Scan. 1994, 48, 517-525). N-(2-фторбензол-4-сульфоніл)-L-тіаморфолін-3-карбонову кислоту одержували з використанням процедури, описаної у способі 1. Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурами, наведеними вище, з використанням придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7,92 (м, 1H), 7,69 (м, 1H), 7,34 (м, 2H), 7,16 (м, 2H), 6,99 (м, 2H), 6,60 (д, 1H), 5,01 (м, 1H), 4,64 (м, 1H), 4,03 (м, 2H), 3,29 (м, 1H), 3,06 (м, 6H), 2,90 (м, 7H), 1,49 (д, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 169,9, 164,8, 160,3, 156,9, 154,9, 150,7, 136,6, 136,4, 132,7, 131,0, 130,3, 128,8, 126,4, 126,2, 125,1, 122,2, 118,1, 117,8, 82,7, 56,3, 56,7, 50,2, 49,5, 41,8, 36,5, 36,3, 27,8.

Приклад 91

Синтез трет-бутилового ефіру N-(3-фторбензолсульфоніл)-L-(1,1-діоксотіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

L-тіаморфолін-5-карбонову кислоту одержували за способом Larsson and Carlson (Acta Chemica Scan. 1994, 48, 517-525). N-(3-фторбензол-4-сульфоніл)-L-тіаморфолін-5-карбонову кислоту одержували з використанням процедури, описаної у способі 1. Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурами, наведеними вище, з використанням придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7,66 (м, 1H), 7,58 (м, 2H), 7,34 (м, 1H), 7,07 (д, 1H), 6,92 (д, 1H), 6,42 (д, 1H), 5,00 (м, 1H), 4,58 (м, 1H), 4,02 (м, 2H), 3,22 (м, 1H), 3,05 (с, 3H), 2,98 (м, 6H), 1,45 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 170,0, 164,5, 164,4, 161,0, 154,9, 150,6, 140,3, 140,2, 132,5, 131,9, 131,8, 130,2, 123,2, 123,1, 122,2, 121,4, 121,2, 115,0, 114,7, 82,9, 56,1, 53,4, 49,9, 49,1, 41,7, 36,5, 36,3, 36,0, 27,8.

Приклад 92

Синтез трет-бутилового ефіру N-(2,4-дифторбензолсульфоніл)-L-(1,1-діоксотіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

L-тіаморфолін-5-карбонову кислоту одержували за способом Larsson and Carlson (Acta Chemica Scand. 1994, 48, 517-525). N-(2,4-дифторбензол-4-сульфоніл)-L-тіаморфолін-5-карбонову кислоту одержували з використанням процедури, описаної у способі 1. Зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурами, наведеними вище, з використанням придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7,93 (м, 1H), 7,15 (м, 2H), 7,04 (м, 4H), 6,53 (д, 1H), 4,97 (м, 1H), 4,64 (м, 1H), 4,05 (м, 2H), 3,21 (м, 3H), 3,17 (с, 3H), 2,97 (м, 5H), 1,43 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 170,0, 164,6, 154,9, 150,7, 132,6, 132,6, 130,3, 122,6, 122,1, 112,6, 112,3, 107,0, 106,7, 106,3, 82,8, 56,3, 53,5, 50,5, 49,8, 42,0, 36,5, 36,3, 27,8.

Приклад 93

Синтез N-(4-ацетамідобензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 87 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ = 8,05 (д, 1H), 7,78 (м, 4H), 7,26 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 4,94 (м, 1H), 4,72-4,67 (м, 1H), 4,13-4,09 (м, 1H), 3,40-3,36 (м, 1H), 3,30-3,05 (м, 3H), 3,08 (с, 3H), 2,97 (с, 3H), 2,15 (с, 3H), 1,81-1,51 (м, 4H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ = 174,3, 174,2, 172,3, 156,9, 152,0, 144,9, 135,5, 132,4, 131,6, 130,2, 122,9, 120,7, 63,2, 54,7, 50,6, 37,5, 36,8, 36,7, 31,7, 25,4, 24,0.

Приклад 94

Синтез N-(4-трифторметоксибензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 72 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ = 7,93 (д, 2H), 7,48 (д, 2H), 7,28 (д, 2H), 7,03 (д, 2H), 4,72-4,68 (м, 1H), 4,17-4,13 (м, 1H), 3,45-3,42 (м, 1H), 3,28-3,11 (м, 2H), 3,14-3,07 (м, 1H), 3,09 (с, 3H), 2,97 (с, 3H), 1,85-1,69 (м, 3H), 1,59 (м, 1H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ = 174,2, 174,1, 157,0, 153,9, 152,0, 137,3, 135,6, 131,7, 131,5, 123,0, 122,5, 121,8, 63,1, 54,7, 50,6, 37,4, 36,8, 36,6, 31,9, 25,4.

Приклад 95

Синтез трет-бутилового ефіру N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з використанням процедури, описаної у прикладі 2, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ = 7,90 (м, 2H), 7,22 (м, 4H), 7,00 (м, 3H), 5,08 (м, 1H), 4,84 (м, 1H), 4,56 (д, 1H), 4,42 (д, 1H), 3,88 (с, 1H), 3,15-2,99 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,26-1,16 (м, 12H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ = 170,4, 168,2, 167,5, 164,1, 154,9, 150,7, 132,8, 132,2, 132,1, 131,0, 130,8, 130,3, 121,8, 116,9, 116,6, 73,5, 69,6, 54,6, 53,2, 50,5, 37,6, 36,6, 36,3, 29,1, 23,8, 21,6, 21,5.

Приклад 96

Синтез N-(4-ціанобензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенлаланіну
Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 58 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CD_3OD): $\delta = 8,14$ (д, 1H), 7,94-7,89 (м, 4H), 7,29 (д, 2H), 7,03 (д, 2H), 4,70-4,66 (м, 1H), 4,21-4,17 (м, 1H), 3,47-3,40 (м, 1H), 3,31-3,21 (м, 2H), 3,11-3,04 (м, 1H), 3,09 (с, 3H), 2,97 (с, 3H), 1,87-1,72 (м, 3H), 1,70-1,61 (м, 1H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): $\delta = 174,2, 173,9, 157,0, 152,0, 142,9, 135,7, 134,5, 131,7, 129,7, 123,0, 118,6, 111,8, 63,0, 54,7, 50,5, 37,4, 36,8, 36,7, 32,0, 25,4$.

Приклад 97

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(3,3-диметил)проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенлаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з використанням процедури, описаної для одержання у прикладі 98.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,76$ (д, 1H), 7,75 (д, 1H), 7,35 (д, 1H), 7,34 (д, 1H), 7,33 (д, 1H), 7,20 (д, 1H), 7,10 (д, 1H), 7,03 (д, 1H), 6,91 (д, 0,5H), 6,08 (д, 0,5H), 4,86 (дд, 0,5H), 4,77 (кв., 0,5H), 3,61-3,47 (м, 2H), 3,27-3,02 (м, 3H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 2,45 (с, 1,5H), 2,43 (с, 1,5H), 1,75-1,68 (м, 0,5H), 1,61-1,51 (м, 0,5H), 1,45 (с, 4,5H), 1,40 (с, 4,5H), 1,48-1,25 (м, 3H), 0,95 (с, 1,5H), 0,80 (с, 1,5H), 0,61 (с, 1,5H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 170,4, 170,1, 170,0, 169,6, 155,0, 154,9, 150,7, 150,6, 144,3, 144,2, 133,4, 133,1, 132,8, 132,6, 130,7, 130,2, 129,9, 129,8, 128,0, 121,8, 121,7, 82,6, 82,2, 71,5, 71,2, 53,6, 52,7, 47,3, 47,2, 42,7, 42,5, 38,2, 38,1, 37,7, 37,5, 36,6, 36,3, 27,8, 27,8, 27,2, 23,4, 23,2, 21,5$.

Приклад 98

Синтез ізопропілового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(3,3-диметил)проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

3,3-диметилпролін (див. Sharma і Lubell, J. Org. Chem. 1996, 61, 202-209) піддавали N-тозилуванню з використанням процедури, описаної у способі 1. Зазначену в заголовку сполуку потім одержували з використанням процедури, описаної для одержання у прикладі 2.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,76$ (д, 1H), 7,74 (д, 1H), 7,36 (д, 1H), 7,33 (д, 2H), 7,19 (д, 1H), 7,10 (д, 1H), 7,03 (д, 1H), 6,91 (д, 0,5H), 6,89 (д, 0,5H), 5,06 (септ., 0,5H), 4,96 (септ., 0,5H), 4,98-4,83 (м, 1H), 3,59-3,48 (м, 2H), 3,31-3,03 (м, 3H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 2,45 (с, 1,5H), 2,43 (с, 1,5H), 1,75-1,66 (м, 0,5), 1,62-1,52 (м, 0,5H), 1,34-1,22 (т, 3H), 1,27 (с, 1,5H), 1,25 (с, 1,5H), 1,22 (с, 1,5H), 1,20 (с, 1,5H), 0,95 (с, 1,5H), 0,78 (с, 1,5H), 0,60 (с, 1,5H), 0,57 (с, 1,5H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 170,8, 170,6, 170,0, 169,7, 154,9, 150,8, 150,6, 144,4, 144,2, 133,2, 132,5, 132,5, 130,7, 130,2, 129,9, 129,8, 128,0, 122,0, 121,8, 71,5, 17,2, 69,5, 69,3, 53,0, 52,2, 47,3, 47,2, 42,8, 42,5, 38,2, 38,1, 37,6, 37,2, 36,6, 36,3, 27,1, 23,4, 23,2, 21,6, 21,6, 21,5, 21,5$.

Інші сполуки одержували способами, описаними вище, включали ті, які були наведені нижче в прикладах 99-137 у таблиці II. Крім того, приклади 101, 109, 111, 117, 132 і 137, що знаходяться в таблиці II, проілюстровані наступним чином:

Приклад 101

Синтез ізопропілового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-4-(N,N-диметилкарбамілокси)-L-фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, загалом описаній для одержання у прикладі 2.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CD_3) $_2\text{SO}$: $\delta = 8,28$ (д, 1H), 7,70 (д, 2H), 7,41 (д, 2H), 7,23 (д, 2H), 6,99 (д, 2H), 4,86 (септ., 1H), 4,47 (м, 1H), 4,40 (м, 1H), 4,10 (м, 1H), 4,07 (м, 1H), 3,38 (м, 1H), 3,30 (м, 1H), 3,09 (м, 3H), 2,95 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 2,88 (с, 3H), 2,39 (с, 3H), 1,63 (м, 3H), 1,51 (м, 3H), 1,44 (м, 1H), 1,39 (м, 1H), 1,16 (д, 3H), 1,11 (д, 3H).

^{13}C ЯМР (CD_3) $_2\text{SO}$: $\delta = 171,3, 170,8, 154,2, 150,2, 143,7, 134,1, 130,2, 130, 127,6, 121,6, 68,2, 61,2, 53,5, 49, 36,3, 36,1, 35,7, 30,5, 23,8, 21,4, 21,4, 21$.

Приклад 109

Синтез N-(бензилсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-(4-N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну
Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 111 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Фізичні дані були наступними:

$\text{MS}(\text{FAB})(\text{M}+\text{H})^+ 550$.

Розраховано для: $\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_7\text{S}_2$; C, 54,62; H, 5,68; N 7,64.

Виявлено: C 54,51; H 5,60; N 7,63.

Приклад 111

Синтез трет-бутилового ефіру N-(бензилсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-(4-N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, загалом описаній для одержання у прикладі 2 і шляхом заміни придатних вихідних матеріалів.

Фізичні дані були наступними:

$\text{MS}[\text{M}+\text{H}]^+ 550$.

Розраховано для: $\text{C}_{29}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_7\text{S}_2$; C, 57,52; H, 6,45; N, 6,94.

Знайдено: C, 57,32; H, 6,52; N, 6,81.

Приклад 117

Синтез трет-бутилового ефіру N-(метилпіразол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-(4-N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Заміна N-метилпіразолсульфонілхлориду (див. Dickson, патент США 3665009 (23 травня 1972р.) і дії за

способом одержання, описаним у прикладі 56, приводили до одержання зазначеної в заголовку сполуки.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,83$ (с, 1H), 7,76 (с, 1H), 7,26 (м, 1H), 7,15 (м, 2H), 7,00 (м, 2H), 4,69 (м, 1H), 3,95 (м, 1H), 3,93 (с, 3H), 3,38 (м, 1H), 3,23-3,11 (м, 1H), 3,10-2,99 (м, 4H), 2,99 (с, 3H), 2,05 (м, 1H), 1,66-1,46 (м, 3H), 1,44 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 170,7$, 169,9, 154,9, 150,6, 138,9, 133,2, 132,5, 130,2, 121,7, 117,9, 82,6, 62,4, 53,7, 49,7, 39,6, 37,7, 36,6, 36,4, 29,9, 27,9, 24,2.

Приклад 132

Синтез трет-бутилового ефіру N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-пролін-L-4-(1,1-діоксотіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Заміна тіаморфоліну на N-метилпіперазин і дії за способом одержання, описаним у прикладі 4 і 14, приводили до одержання зазначеної в заголовку сполуки.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,87$ -7,82 (м, 2H), 7,28-7,17 (м, 5H), 7,01 (д, 2H), 4,71-4,69 (м, 1H), 4,14-4,05 (м, 5H), 3,39-3,36 (м, 1H), 3,23-3,01 (м, 7H), 2,05-2,03 (м, 1H), 1,58-1,44 (м, 12H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 170,4$, 169,8, 153,0, 149,7, 134,2, 130,6, 130,5, 121,3, 116,8, 116,5, 82,6, 62,1, 53,6, 51,8, 49,5, 43,1, 42,7, 37,2, 29,7, 27,8, 24,2.

Приклад 137

Синтез ізопропілового ефіру N-(метилпіразол-4-сульфоніл)-L-пролін-L-(4-N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

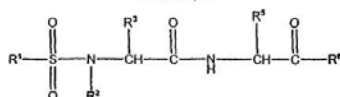
Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 117.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,83 (с, 1H), 7,76 (с, 1H), 7,27 (д, 1H), 7,13 (д, 2H), 7,01 (д, 2H), 5,06-5,02 (м, 1H), 4,80-4,73 (м, 1H), 3,97-3,94 (м, 1H), 3,93 (с, 3H), 3,44-3,37 (м, 1H), 3,25-3,19 (м, 1H), 3,09-3,00 (м, 5H), 2,97 (с, 3H), 2,06-2,02 (м, 1H), 1,66-1,48 (м, 3H), 1,23 (д, 6H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,8, 170,5, 154,9, 150,6, 138,9, 132,9, 32,5, 130,2, 121,7, 117,8, 69,5, 62,3, 53,2, 49,7, 39,6, 37,1, 36,6, 36,3, 29,9, 24,1, 21,6, 21,5.

Таблиця 4



R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	№ експ.
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)			<i>n</i> -[(4-метилпіперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-О- <i>n</i> -бутил	99
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)			<i>n</i> -[(4-метилпіперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-О=циклопентил	100
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)			<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂	101
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)			<i>n</i> -[(піперидин-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃	102
ф-CH ₂ -	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)			<i>n</i> -[(1-метилпіперидин-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃	103
ф-CH ₂ -	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)			<i>n</i> -[(4-метилпіперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-ОН	104
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)			<i>n</i> -[(1-Вос-4-фенілпіперидин-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃	105
1-метилімідазол-4-іл	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)			<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	106
<i>n</i> -NH ₂ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)			<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	107

<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(морфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	108
ф-CH ₂ -	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH	109
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -NH-CH ₂ - (L-піперазинил)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH	110
ф-CH ₂ -	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	111
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-NH-адамантил	112
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-NHCH ₂ C(O)OH	113
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NS(O) ₂ O-]бензил-	-OCH ₃	114
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -NH-CH ₂ - (L-піперазинил)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	115
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -(Cbz)NHCH ₂ - [L-4-N-(Cbz)-піперазинил]		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	116
1-метилпіразол-4-іл	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	117
3-піридил	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH	118
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(1-Вос-піперазин-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃	119
<i>n</i> -CH ₃ -ф	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(морфолін-4-іл)-C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃	120
<i>n</i> -CH ₃ -ф	-CH ₃	H	<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-іл сульфон)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	121
<i>n</i> -CH ₃ -ф	-CH ₃	H	<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OH	122
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	2,4-діоксо-тетрагідрофуран-3-іл (3,4-енол)	123
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(піперазин-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OH	124
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(1-Вос-піперазин-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	125
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(піперазин-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃	126
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-ацетилпіперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃	127
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-метансульфонілпіперазин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃	128
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		3-нітро-4-[(морфолін-4-іл)-C(O)O-]бензил-	-OH	129
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(1-Вос-піперазин-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OH	130
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	-CH ₃	-C(CH ₃) ₃	<i>n</i> -[(4-метилпіперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	131
<i>n</i> -F-ф	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(1,1-діоксотіоморфолін-4-іл)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	132
<i>n</i> -F-ф	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(морфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	133
<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-діоксотіоморфолін-3-іл)		<i>n</i> -[(морфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-OH	134
1-метилпіразол-4-іл	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-метилпіперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	135
морфолін-4-іл	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	136
1-метилпіразол-4-іл	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂	137

Додаткові сполуки, одержані способами, описаними вище, включають в себе наступне.

Приклад 138

Синтез трет-бутилового ефіру N-(1-метилпіразол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-

диметилкарбамілокси)фенілаланіну

N-Метилпіразолсульфонілхлорид одержували додаванням N-метилпіразолу до охолодженої (0°C) хлорсульфонової кислоти. Реакційній суміші дозволяли нагрітись до кімнатної температури, і потім нагрівали до 100°C, і залишали протягом ночі під струменем N₂. Потім реакційну суміш прохолоджували до кімнатної температури і прохолоджували до 0°C. До даного розчину додавали тіонілхлорид (2,5екв.), і реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 30хв, потім нагрівали її до 70°C протягом двох годин. Реакційну суміш прохолоджували до кімнатної температури, і потім прохолоджували на крижаній бані. Воду з льодом повільно додавали в реакційну суміш для осадження білої твердої речовини, що збирали шляхом фільтрації. Необхідний сульфонілхлорид промивали холодною водою і гексаном.

Потім зазначену в заголовку сполуку одержували за процедурою, загальною описаною для одержання у прикладі 2, із заміною придатних вихідних матеріалів, т.пл. 169-170°C.

Приклад 139

Синтез N-(1-метилпіразол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 138 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,94 (с, 1H); 7,79 (с, 1H); 7,25 (д, 2H, J=8,8Гц); 7,0 (д, 2H, J=8,8Гц); 5,15 (ушир.с, 1H); 4,80 (м, 1H); 4,54 (д, 1, J=9, Гц); 4,39 (д, 1H, J=9,3Гц); 3,93 (с, 3H); 3,88 (с, 1H); 3,23-3,02 (м, 2H); 3,07 (с, 3H); 2,98 (с, 3H); 1,27 (с, 3H); 1,14 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 173,86, 169,05, 155,23, 150,47, 139,21, 133,59, 133,15, 130,53, 121,84, 117,57, 73,58, 54,71, 53,75, 50,42, 39,60, 37,18, 36,60, 36,36, 35,11, 28,97, 23,95.

Приклад 140

Синтез етилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N-(1,4-діокса-8-аза-спіро[4.5]декан-8-іл)карбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, загальною описаною для прикладу 4, із заміною придатних вихідних матеріалів.

Фізичні дані були наступними:

MS(+ESI): 630 [M+H]⁺.

Аналіз для C₃₁H₃₉N₃O₉S·0,2CH₂Cl₂: Розраховано: C, 57,94; H, 6,14; N, 6,50.

Знайдено: C, 57,73; H, 5,90; N, 6,47.

Приклад 141

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N-(1,4-діокса-8-аза-спіро[4.5]декан-8-іл)карбонілокси)фенілаланіну

Продукт прикладу 140 гідролізували з використанням процедури, описаної у способі 5, але з використанням метанолу як розчинника і проведенням взаємодії при 25°C протягом 24год. Потім розчинник упарювали, залишок вміщували в H₂O, промивали метиленхлоридом і ліофілізували з одержанням зазначеної в заголовку сполуки.

Фізичні дані були наступними:

MS(+ESI): 619[M+H]⁺.

Аналіз для C₂₉H₃₅N₃O₉SLi·1,5H₂O: Розраховано: C, 53,37; H, 6,02; N, 6,44.

Знайдено: C, 53,40; H, 5,58; N, 6,48.

Приклад 142

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4'-ацетилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Продукт прикладу 127 гідролізували з використанням процедури, описаної у способі 5, але із застосуванням метанолу як розчинника і запуском взаємодії при 25°C на 24год. Потім розчинник упарювали, залишок вміщували в H₂O, промивали метиленхлоридом і ліофілізували з одержанням зазначеної в заголовку сполуки.

Фізичні дані були наступними:

MS (+ESI): 587 [M+H]⁺.

Аналіз для C₂₈H₃₃N₄O₈SLi·3H₂O: Розраховано: C, 52,01; H, 6,08; N, 8,66.

Знайдено: C, 52,03; H, 5,36; N, 8,04.

Приклад 143

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4'-метансульфоніл-піперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Продукт прикладу 128 гідролізували з використанням процедури, описаної у прикладі 142.

Фізичні дані були наступними:

MS (+ESI): 623 [M+H]⁺.

Аналіз для C₂₇H₃₃N₄O₉S₂Li·2H₂O: Розраховано: C, 48,79; H, 5,61; N, 8,43.

Знайдено: C, 48,66; H, 5,14; N, 8,04.

Приклад 144

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4'-фенілпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Етиловий ефір зазначеної в заголовку сполуки одержували, слідуючи процедурі, загальною описаною для прикладу 4, із заміною придатних вихідних матеріалів. Потім етиловий ефір гідролізували з використанням процедури, описаної у прикладі 142.

Фізичні дані були наступними:

MS(-ESI): 619 [M-H]⁻.

Аналіз для C₃₂H₃₆N₄O₇SLi·2H₂O: Розраховано: C, 58,00; H, 5,93; N, 8,45.

Знайдено: C, 57,65; H, 5,49; N, 8,13.

Приклад 145

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(піперазин-1-

ілкарбонілокси)фенілаланіну

Продукт прикладу 125 (0,7м, 1ммоль) розчиняли в метиленхлориді (9мл). Розчин прохолоджували до 0°C, і додавали трифтороцтову кислоту (1,0мл), і одержаний в результаті прозорий розчин перемішували протягом 4год. Реакційний розчин потім розбавляли додатковою кількістю метиленхлориду (50мл), промивали насиченим розчином бікарбонату натрію (3×50мл), сушили (K_2CO_3), і видаляли розчин з одержанням білої твердої речовини (0,465г). Хроматографія на випарній колонці (9:1 CH_2Cl_2 :EtOH) даного матеріалу приводила до одержання прозорої олії, що промивали кілька разів гексаном з одержанням білої твердої речовини (0,289м, 48%).

Фізичні дані були наступними:

MS (+ESI): 601,7 $[M+1]^+$.

Аналіз для $C_{30}H_{40}N_4O_7S \cdot 0,25CH_2Cl_2$: Розраховано: C, 58,42; H, 6,56; N, 9,01.

Знайдено: C, 58,79; H, 6,51; N, 8,74.

Приклад 146

Синтез 2-(сахарин-2-іл)пропіоніл-L-4-(4'-метилпіперазин-1-ілкарбоніл-окси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 46 з використанням процедури, описаної у способі 11, т.пл.=117-122°C (зі спінюванням).

Фізичні дані були наступними:

Аналіз для $C_{25}H_{28}N_4O_8S \cdot 1,5H_2O$: Розраховано: C, 52,53; H, 5,47; N, 9,80.

Знайдено: C, 52,26; H, 5,36; N, 9,23.

Приклад 147

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4'-метансульфонілпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, загалом описаній у прикладі 128, із заміною придатних вихідних матеріалів.

Фізичні дані були наступними:

MS (+ESI): 696 $[M+NH_4]^+$.

Аналіз для $C_{31}H_{42}N_4O_9S_2 \cdot 0,5CH_2Cl_2$: Розраховано: C, 51,62; H, 6,00; N, 7,76.

Знайдено: C, 51,55; H, 6,21; N, 7,60.

Приклад 148

Синтез N'-трет-бутоксикарбоніл-2-аміно-2-метилпропілового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

(BOC)₂O (96мг, 0,44ммоль) додавали до розчину продукту прикладу 9 (200мг, 0,4ммоль), N-Вос-2-аміно-2-метил-1-пропанолу (965мг, 0,5ммоль) і каталітичної кількості DMAP у THF (92мл), що містить піридин (50мкл). Суміш перемішували при кімнатній температурі в атмосфері аргону протягом 48год. Суміш виливали в 1н HCl і екстрагували етилацетатом. Органічну фазу промивали (1н HCl), сушили ($MgSO_4$), і розчинник видаляли при зниженому тиску. Залишок очищали за допомогою хроматографії на випарній колонці (EtOAc:гексан 2:1) з одержанням необхідної сполуки у вигляді аморфної білої піни (150мг, 55%).

Фізичні дані були наступними:

MS: $[M+H]^+$ 675.

MS(+ESI): $[M+NH_4]^+$ 692 (100%).

Приклад 149

Синтез 2-(морфолін-4-іл)етилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, загалом описаній у прикладі 148, із заміною 2-морфоліноетанолу на N-Вос-2-аміно-2-метил-1-пропанолу.

Фізичні дані були наступними:

Аналіз для $C_{30}H_{40}N_4O_8S \cdot 0,5H_2O$: Розраховано: C, 57,58; H, 6,60; N, 8,95.

Знайдено: C, 57,26; H, 6,29; N, 8,82.

Приклад 150

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4'-ацетилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, загалом описаній у прикладі 127, із заміною придатних вихідних матеріалів.

Фізичні дані були наступними:

MS (+ESI): 660,4 $[M+NH_4]^+$.

Аналіз для $C_{32}N_4N_4O_8S \cdot 0,15CH_2Cl_2$: Розраховано: C, 58,91; H, 6,50; N, 8,55.

Знайдено: C, 58,64; H, 6,36; N, 8,40.

Приклад 151

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4'-гідроксипіперидин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, загалом описаній у прикладі 4, із заміною 4-піперидинолу на N-метилпіперазин.

Фізичні дані були наступними:

Аналіз для $C_{31}H_{41}N_3O_8S \cdot 0,6H_2O \cdot 0,22EtOAc$: Розраховано: C, 59,28; H, 6,86; N, 6,51.

Знайдено: C, 58,92; H, 6,37; N, 6,47.

Приклад 152

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N-(2'-(морфолін-4'-іл)етил)карбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, загалом описаній у прикладі 4, із заміною 4-(2-аміноетил)морфоліну на N-метилпіперазин.

Фізичні дані були наступними:

Аналіз для $C_{32}H_{44}N_4O_8S \cdot 0,25H_2O$: Розраховано: C, 59,20; H, 6,91; N, 8,63.

Знайдено: C, 59,01; H, 6,54; N, 8,38.

Приклад 153

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N-(1,4-діокса-8-аза-спіро[4.5]декан-8-іл)карбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, загалом описаній у прикладі 4 із заміною придатних вихідних матеріалів.

Фізичні дані були наступними

MS(-ESI): 656 [M-H]⁻.

Аналіз для C₃₃H₄₃N₃O₉S·0,1CH₂Cl₂: Розраховано: C, 59,67; H, 6,54; N, 6,31.

Знайдено: C, 59,83; H, 6,63; N, 6,66.

Приклад 154

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N-(2'-гідроксіетил)-N-метилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, загалом описаній у прикладі 4, із заміною 2-(метиламіно)етанолу на N-метилпіперазин.

Фізичні дані були наступними:

Аналіз для C₂₉H₃₉N₃O₈S·0,5H₂O: Розраховано: C, 58,18; H, 6,73; N, 7,02.

Знайдено: C, 57,95; H, 6,5; N, 6,9.

Приклад 155

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4'-формілоксипіперидин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували шляхом обробки продукту прикладу 151 мурашиною кислотою протягом ночі при перемішуванні. Зазначену в заголовку сполуку одержували у вигляді білої піни (130мг, 94%), з наступним видаленням надлишку мурашиної кислоти.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400МГц) δ 12,8 (с, 1H); 8,23 (с, 1H); 8,09 (д, 1H); 7,69 (д, 2H), 7,4 (д, 2H); 7,23 (д, 2H), 7,02 (д, 2H); 5,00 (м, 1H); 4,45 (м, 1H); 4,10 (м, 1H); 3,6-3,8 (ушир., 2H); 3,4 (ушир.с, 1H); 3,25 (м, 2H); 3,10 (м, 2H); 2,95 (м, 1H); 2,35 (с, 3H); 1,95 (м, 2H); 1,56-1,75 (м, 5H); 1,4 (м, 1H).

ІЧ (KBr, см⁻¹) 3400, 2950, 1720, 1680, 1510, 1430, 1325, 1250, 1150, 1010, 650, 75, 540.

MS((+)ESI, m/z(%)) 605 (100 [M+NH₄]⁺).

Аналіз для C₂₈H₃₃N₃O₉S·0,66H₂O: Розраховано: C, 56,09; H, 5,77; N, 7,01.

Знайдено: C, 56,14; H, 5,83; N, 6,78.

Приклад 156

Синтез ізопропілового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4'-гідроксипіперидин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, загалом описаній у прикладі 4 із заміною придатних вихідних матеріалів, т.пл. 64-67°C (при спінуванні).

Фізичні дані були наступними:

Аналіз для C₃₀H₃₉N₃O₈S·0,75H₂O·0,1EtOAc: Розраховано: C, 58,51; H, 6,67; N, 6,73.

Знайдено: C, 58,55; H, 6,09; N, 6,78.

Приклад 157

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4'-(2-гідроксіетил)піперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Карбонат одержували шляхом обробки Tos-Pro-Туг-трет-бутилового ефіру 4-нітрофенілхлорформіатом, з наступним додаванням N-(2-гідроксипіперидин-1-іл)піперазину (триетиламін, метиленхлорид, охолодження до 0°C, при наступному помішуванні протягом ночі при кімнатній температурі). Неочищений продукт очищали шляхом хроматографії на випарній колонці (силікагель, 95:5 EtOAc:EtOH) з одержанням білої твердої речовини, т.пл. 158-160°C (0,387м, 58%).

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400МГц) δ 8,15 (д, 1H, J=7,90Гц); 7,70 (д, 2H, J=6,59Гц); 7,40 (д, 2H, J=7,90Гц); 7,23 (д, 2H, J=8,56Гц); 7,00 (д, 2H, J=8,56Гц); 4,42 (м, 1H); 4,38 (м, 1H); 4,08 (м, 1H); 3,51 (м, 4H); 3,34 (м, 3H); 3,09 (м, 1H); 2,99 (м, 2H); 2,43 (м, 6H); 2,39 (с, 3H); 1,59 (м, 3H); 1,39 (м, 1H); 1,35 (с, 9H).

ІЧ (KBr, см⁻¹) 3505, 3400, 2990, 2930, 2890, 1730, 1700, 1670, 1510, 1430, 1350, 1220, 1200, 1160, 670, 590, 545.

MS((-)ESI, m/z (%)) 643 (98 [M-NH₄]⁻).

Аналіз для C₃₂H₄₄N₄O₈S: Розраховано: C, 59,61; H, 6,88; N, 8,69.

Знайдено: C, 59,06; H, 6,95; N, 8,43.

Приклад 158

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N-(2'-формілоксіетил)-N-метилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували шляхом обробки продукту прикладу 154 мурашиною кислотою протягом ночі при перемішуванні. Зазначену в заголовку сполуку одержували у вигляді білої піни (110мг, 77%), з наступним видаленням надлишку мурашиної кислоти.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400МГц) δ 12,8 (с, 1H); 8,25 (д, 1H); 8,08 (д, 1H); 7,69 (д, 2H), 7,40 (д, 2H); 7,22 (д, 2H), 6,98 (д, 2H); 4,47 (м, 1H); 4,35 (м, 1H); 4,27 (м, 1H); 4,10 (м, 1H); 3,65 (м, 1H); 3,55 (м, 1H); 2,85-3,15 (м, що перекривається, 7H); 2,40 (с, 3H); 1,55 (м, 3H); 1,40 (м, 1H).

ІЧ (KBr, см⁻¹) 3420, 2910, 1725, 1510, 1400, 1340, 1270, 1150, 675, 590, 550.

MS((+)ESI, m/z(%)) 579 (100 [M+NH₄]⁺).

Аналіз для C₂₆H₃₁N₃O₉S·0,66H₂O: Розраховано: C, 54,45; H, 5,68; N, 7,33

Знайдено: C, 54,41; H, 5,60; N, 7,24.

Приклад 159

Синтез ізопропілового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N-(2'-гідроксіетил)-N-метилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, загалом описаній у прикладі 4 із

заміною придатних вихідних матеріалів, т.пл. 49-52°C.

Фізичні дані були наступними:

Аналіз для $C_{28}H_{37}N_3O_8S \cdot 0,5H_2O$: Розраховано: C, 57,52; H, 6,55; N, 7,19.

Знайдено: C, 57,56; H, 6,38; N, 7,14.

Приклад 160

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-4-(N-(метоксикарбонілметил)карбамілокси)фенілаланіну

Карбонат одержували шляхом обробки Tos-Pro-Туг-трет-бутилового ефіру 4-нітрофенілхлорформіатом, з наступним додаванням метилового ефіру гліцину (триетиламін, метиленхлорид, охолодження до 0°C, з наступним перемішуванням при кімнатній температурі протягом ночі). Неочищений продукт очищали шляхом хроматографії на випарній колонці (силікагель, 3:2 EtOAc:гексан) з одержанням білої піни (0,640м, 35%).

Дані ЯМР були наступними:

1H ЯМР (DMCO- d_6 , 400МГц) δ 8,15 (д, 1H, J=8,12Гц); 8,12 (д, 2H, J=6,15Гц); 7,73 (д, 2H, J=8,34Гц); 7,40 (д, 2H, J=7,90Гц); 7,24 (д, 2H, J=8,56Гц); 6,98 (д, 2H, J=8,34Гц); 4,25 (м, 1H); 4,07 (м, 1H); 3,83 (д, 2H, J=6,15Гц); 3,64 (с, 3H); 3,32 (м, 1H); 3,02 (м, 3H); 2,39 (с, 3H); 1,56 (м, 3H); 1,41 (м, 1H); 1,35 (с, 9H).

ІЧ (KBr, cm^{-1}) 3400, 2990, 1745, 1680, 1500, 1370, 1350, 1200, 1160, 670, 600.

MS((+) ESI, m/z(%)) 621 (100[M+NH $_4$] $^+$).

Аналіз для $C_{29}H_{37}N_3O_9S$: Розраховано: C, 57,70; H, 6,18; N, 6,96.

Знайдено: C, 57,63; H, 6,11; N, 6,74.

Приклад 161

Синтез ізопропілового ефіру N-(1-метилпіразол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, загалом описаній у прикладі 138, із заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

1H ЯМР (CDCl $_3$): δ 7,91 (с, 1H), 7,81 (с, 1H), 7,21 (д, 2H, J=8,2Гц), 7,03 (м, 3H); 5,03 (м, 1H), 4,84 (м, 1H), 4,55 (д, 1H), 4,42 (д, 1H), 3,96 (с, 3H), 3,83 (с, 1H), 3,18-3,01 (м, 2H), 3,10 (с, 3H), 3,01 (с, 3H), 1,28 (с, 3H), 1,24 (м, 6H), 1,17 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl $_3$): δ 170,43, 166,31, 154,92, 150,68, 132,91, 132,88, 130,34, 121,78, 117,69, 73,76, 69,61, 54,79, 53,2, 50,52, 39,61, 37,62, 36,58, 36,35, 28,96, 24,02, 21,57, 21,49.

Приклад 162

Синтез ізопропілового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4'-метоксипіперидин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, загалом описаній у прикладі 156, із заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

1H ЯМР (DMCO- d_6 , 400МГц) δ 8,10 (д, 1H); 7,72 (д, 2H); 7,41 (д, 2H); 7,24 (д, 2H); 7,02 (д, 2H); 4,92 (м, 1H); 4,45 (м, 1H); 4,10 (м, 1H); 3,8 (ушир.с, 1H); 3,65 (ушир.с, 1H); 3,40 (м, 2H); 3,25 (с, 3H); 2,95-3,15 (м, що перекривається, 5H); 2,40 (с, 3H); 1,85 (ушир., 2H); 1,4-1,6 (м, 6H); 1,18 (д, 3H); 1,12 (д, 3H).

ІЧ (KBr, cm^{-1}) 3400, 2950, 1720, 1520, 1425, 1340, 1210, 1160, 1100, 625, 590, 540.

MS((+) ESI, m/z(%)) 633 [M+NH $_4$] $^+$).

Приклад 163

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4'-метоксипіперидин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 162 з використанням процедури, описаної у способі 5.

Дані ЯМР були наступними:

1H ЯМР (DMCO- d_6 , 400МГц) δ 12,8 (с, 1H); 8,10 (д, 1H); 7,72 (д, 2H); 7,41 (д, 2H); 7,24 (д, 2H); 7,02 (д, 2H); 4,45 (м, 1H); 4,10 (м, 1H); 3,8 (ушир.с, 1H); 3,65 (ушир.с, 1H); 3,40 (м, 2H); 3,25 (с, 3H); 2,95-3,15 (м, що перекривається, 5H); 2,40 (с, 3H); 1,85(ушир., 2H); 1,4-1,6 (м, 6H).

ІЧ (KBr, cm^{-1}) 3400, 2950, 1720, 1520, 1425, 1340, 1210, 1160, 1100, 625, 590, 540.

MS ((-)ESI, m/z(%)) 572 (100[M-H] $^-$).

Аналіз для $C_{28}H_{35}N_3O_8S \cdot 0,33EtOAc \cdot 1H_2O$: Розраховано: C, 56,73; H, 6,44; N, 6,77.

Знайдено: C, 56,96; H, 6,01; N, 6,76.

Приклад 164

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-4-оксипроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Дихлорметан (7мл) прохолоджували до -60°C (баня хлороформ/сухий лід). Додавали оксалілхлорид (0,15мл). Продукт з прикладу 165 (870мг) і сухий ДМСО (0,26мл) розчиняли в дихлорметані (8мл), і повільно додавали до зазначеного вище розчину. Реакційну суміш перемішували при -60°C протягом 30 хвилин у сухих умовах. Додавали триетиламін (1,05мл). Через 5 хвилин видаляли баню сухого льоду. Реакційну суміш перемішували протягом 1 години при кімнатній температурі. Розчинник упарювали у вакуумі. Етилацетат (30мл) додавали до залишку. Суміш промивали розчином лимонної кислоти (5%, 2×30мл) і насиченим розчином NaHCO $_3$ (2×30мл); і, нарешті, сольовим розчином. Розчин сушили над MgSO $_4$. Розчинник упарювали у вакуумі, і залишок наносили на силікагелеву колонку з одержанням 440мг необхідного продукту, т.пл.: 78-80°C.

Приклад 165

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-транс-4-гідроксипроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Трет-бутиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-транс-4-гідроксипроліл-L-4-(гідрокси)фенілаланіну (1,60г) і диметилкарбамілхлорид (0,30мл) розчиняли в DMF при 0°C на крижаній бані. До розчину додавали порошок карбонату калію (2,03г). Через 5 хвилин крижану баню видаляли. Реакційну суміш перемішували

при кімнатній температурі протягом 6 годин. Тверду речовину фільтрували. До розчину додавали етилацетат (40мл). Розчин 2 рази промивали розчином лимонної кислоти (5%, 40мл) і 1 раз - насиченим розчином NaHCO_3 (40мл). Потім розчин промивали сольовим розчином і сушили з використанням MgSO_4 . Розчинник упарювали у вакуумі з одержанням 1,07м зазначеної в заголовку сполуки, т.пл.: 170-172°C.

Приклад 166

Синтез трет-бутилового ефіру N-(3-фторбензолсульфоніл)-L-пролін-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Трет-бутиловий ефір N-(3-фторбензолсульфоніл)-L-пролін-L-4-(гідрокси)фенілаланіну (700мг) і диметилкарбамілхлорид (0,2мл) розчиняли в DMF (15мл) при 0°C на крижаній бані. До розчину додавали порошок карбонату калію (1,375г). Через 5 хвилин крижану баню видаляли. Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 6 годин. Тверду речовину фільтрували. До розчину додавали етилацетат (20мл). Розчин промивали розчином лимонної кислоти (5%, 30мл, 2х) і насиченим розчином NaHCO_3 . Потім розчин промивали сольовим розчином і сушили з використанням MgSO_4 . Розчинник упарювали у вакуумі з одержанням 890мг зазначеної в заголовку сполуки, т.пл.: 107-109°C.

Приклад 167

Синтез трет-бутилового ефіру N-(морфоліносульфоніл)-L-пролін-L-(4-N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

N-(Морфоліносульфоніл)-L-пролін одержували з використанням процедури, описаної Cheeseright et al., J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1 1994, 12, 1595-1600. Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,13 (д, 2H), 7,03 (д, 2H), 6,92 (д, 1H), 4,71 (кв., 1H), 4,25 (т, 1H), 3,67 (т, 4H), 3,39 (дт, 1H), 3,28-3,19 (м, 1H), 3,23 (т, 4H), 3,18 (дд, 1H), 3,08 (дд, 1H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 2,16-2,08 (м, 2H), 1,98-1,86 (м, 1H), 1,78-1,66 (м, 1H), 1,45 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 171,2, 170,4, 154,8, 150,7, 132,9, 130,3, 121,7, 82,7, 66,3, 62,6, 53,3, 49,6, 46,2, 37,0, 36,6, 36,3, 30,5, 27,8, 24,7.

Приклад 168

Синтез N-(морфоліносульфоніл)-L-пролін-L-(4-N,N-диметилкарбаміл-окси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 167 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ 8,04 (д, 1H), 7,25 (д, 2H), 7,01 (д, 2H), 4,71-4,64 (м, 1H), 4,22 (дд, 1H), 3,62-3,50 (м, 4H), 3,43-3,31 (м, 2H), 3,24 (дд, 1H), 3,11 (т, 4H), 3,09 (с, 3H), 3,03 (дд, 1H), 2,97 (с, 3H), 2,22-2,11 (м, 1H), 1,98-1,80 (м, 3H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ 174,65, 174,58, 174,00, 156,60, 151,70, 135,30, 131,20, 122,70, 67,10, 63,10, 54,59, 54,50, 50,6, 47,10, 37,10, 36,50, 36,40, 32,0, 25,60.

Приклад 169

Синтез трет-бутилового ефіру N-(1-метилпіразол-4-сульфоніл)-L-(1,1-діоксотіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурам, описаним для одержання в прикладах 14 і 117.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,93 (с, 1H), 7,80 (с, 1H), 7,12 (д, 2H), 6,98 (д, 2H), 6,44 (д, 1HONH), 4,95 (м, 1H), 4,66 (м, 1H), 4,04 (м, 2H), 3,98 (с, 3H), 3,19 (м, 2H), 3,06 (м, 6H), 2,98 (м, 4H), 1,42 (м, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,58, 164,75, 154,91, 150,75, 139,33, 132,73, 132,43, 130,43, 122,18, 119,66, 83,07, 56,02, 53,23, 50,03, 49,03, 41,49, 39,63, 36,56, 36,31, 36,16, 27,87.

Приклад 170

Синтез N-(2-фторбензолсульфоніл)-L-(1,1-діоксотіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 90 з використанням процедури, описаної у способі 11.

^1H ЯМР (CD_3OD): δ 7,90 (м, 1H), 7,72 (м, 1H), 7,56 (д, 1H), 7,37 (м, 2H), 7,20 (д, 2H), 7,07 (д, 2H), 5,18 (м, 1H), 4,59 (м, 1H), 4,26 (м, 1H), 3,76 (м, 2H), 3,36 (м, 1H), 3,21 (м, 2H), 3,08 (м, 6H), 2,96 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ 173,85, 168,04, 162,06, 158,69, 156,92, 152,06, 137,69, 135,05, 131,83, 131,59, 129,77, 128,44, 128,26, 126,21, 123,17, 119,04, 118,75, 57,04, 54,99, 52,08, 51,66, 43,36, 37,24, 36,83, 36,66.

Приклад 171

Синтез N-(2,4-дифторбензолсульфоніл)-L-(1,1-діоксотіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 92 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ 8,88 (м, 1/2H), 8,14 (м, 1/2H), 7,90 (м, 1H), 7,64 (м, 1H), 7,20 (м, 2H), 7,10 (м, 1H), 7,03 (м, 2H), 5,16 (м, 1H), 4,63 (м, 1H), 4,28 (м, 1H), 3,75 (м, 2H), 3,41 (м, 1H), 3,15 (м, 5H), 3,02 (м, 4H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ 173,91, 168,04, 156,93, 152,05, 135,15, 133,81, 133,67, 131,60, 123,13, 113,48, 113,18, 107,38, 107,02, 57,02, 55,02, 52,29, 51,84, 43,45, 37,34, 36,83, 36,66.

Приклад 172

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(тіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 49 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,67 (д, 2H), 7,32 (д, 2H), 7,21 (д, 2H), 7,10 (д, 1H), 7,00 (д, 2H), 5,40 (ушир.с, >1H), 4,85 (м, 2H), 3,95 (м, 1H), 3,41 (м, 1H), 3,07 (м, 6H), 2,98 (м, 4H), 2,62 (м, 1H), 2,41 (м, 5H), 2,13 (м, 1H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 173,40, 168,49, 155,26, 144,44, 136,88, 132,95, 130,51, 130,30, 127,28, 122,08, 55,34, 53,45,43,43, 36,62, 36,38, 35,85, 25,25, 24,54, 21,43.

Приклад 173

Синтез ізопропілового ефіру N-(піридин-3-сульфоніл)-L-(5,5-диметилтіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, загалом описаній для одержання у прикладі 56 із заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 9,13 (м, 1H), 8,90 (м, 1H), 8,19 (м, 1H), 7,56 (м, 1H), 7,23 (д, 2H), 7,04 (д, 2H), 6,93 (д, 1H), 5,07 (м, 1H), 4,85 (м, 1H), 4,62 (д, 1H), 4,48 (д, 1H), 3,92 (с, 1H), 3,20-3,05 (м, 2H), 3,12 (с, 3H), 3,03 (с, 3H), 1,32-1,16 (м, 12H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,30, 167,75, 154,19, 150,67, 148,59, 135,72, 132,94, 132,72, 130,27, 123,91, 121,78, 73,62, 69,64, 54,69, 53,12, 50,48, 37,50, 36,53, 36,29, 29,05, 23,73, 21,54, 21,46.

Приклад 174

Синтез N-(3-фторбензолсульфоніл)-L-(1,1-діоксотіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 91 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CD₃OD): δ 7,68 (м, 3H), 7,44 (м, 1H), 7,20 (м, 2H), 7,01 (м, 2H), 5,21 (м, 1H), 4,60 (м, 1H), 4,20 (м, 1H), 3,75 (м, 1H), 3,43 (м, 1H), 3,21 (м, 3H), 3,02 (м, 4H), 2,96 (м, 4H).

¹³C ЯМР (CD₃OD): δ 173,98, 167,98, 165,89, 162,56, 156,94, 152,06, 142,70, 142,61, 135,11, 133,30, 133,19, 131,57, 124,71, 123,25, 122,21, 121,93, 116,05, 115,71, 57,27, 54,87, 54,79, 51,29, 51,06, 43,24, 37,11, 36,83.

Приклад 175

Синтез N-(1-метилпіразол-4-сульфоніл)-L-(1,1-діоксотіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 169 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CD₃OD): δ 8,11 (с, 1H), 7,83 (с, 1H), 7,36 (д, 1H), 7,24 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 5,16 (м, 1H), 4,69 (м, 1H), 4,19 (м, 1H), 3,90 (с, 3H), 3,81 (м, 2H), 3,33 (м, 3H), 3,10 (с, 3H), 3,02 (м, 4H).

¹³C ЯМР (CD₃OD): δ 174,07, 168,11, 156,93, 152,08, 140,12, 135,05, 134,90, 131,67, 123,28, 121,82, 57,33, 54,77, 50,83, 50,64, 42,94, 39,80, 37,02, 36,84, 36,76.

Приклад 176

Синтез N-(4-трет-бутилбензолсульфоніл)-L-(1,1-діоксотіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 88 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CD₃OD): δ 7,70 (д, 2H), 7,53 (д, 2H), 7,04 (д, 2H), 6,87 (д, 2H), 5,09 (м, 1H), 4,48 (м, 1H), 3,99 (м, 1H), 3,60 (м, 1H), 2,90 (м, 5H), 2,80 (м, 5H), 1,15 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CD₃OD): δ 173,95, 168,09, 159,33, 156,88, 152,09, 137,52, 135,03, 131,54, 128,68, 128,15, 123,32, 57,27, 54,81, 50,75, 43,04, 36,97, 36,82, 36,65, 36,16, 31,35.

Приклад 177

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-(3,3-диметил)проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 97 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,77 (д, 1H), 7,75 (д, 1H), 7,42-7,33 (м, 3,5H), 7,27 (д, 1H), 7,19 (д, 0,5H), 7,10 (д, 1H), 7,03 (д, 1H), 5,07-5,00 (м, 0,5H), 4,94-4,87 (м, 0,5), 3,67 (д, 1H), 3,58-3,52 (м, 1H), 3,35-3,25 (м, 1H), 3,19-3,08 (м, 2H), 3,11 (с, 3H), 3,02 (с, 3H), 2,45 (с, 1,5 H), 2,43 (с, 1,5H), 1,70-1,57 (м, 1H), 1,34-1,27 (м, 1H), 0,94 (с, 1,5H), 0,75 (с, 1,5H), 0,54 (с, 6H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 174,6, 174,4, 171,8, 171,4, 155,7, 150,5, 150,4, 144,5, 144,4, 133,5, 132,6, 130,9, 130,6, 130,0, 129,9, 128,0, 127,9, 122,2, 122,0, 71,2, 70,9, 53,3, 52,2, 47,3, 47,1, 43,0, 42,7, 38,1, 37,9, 36,6, 36,4, 27,0, 26,8, 23,3, 23,0.

Приклад 178

Синтез N-(2,5-дихлортіофен-3-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 86 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CD₃OD): δ 8,10 (д, 1H), 7,25 (д, 2H), 7,20 (с, 1H), 7,0 (д, 2H), 4,65 (м, 1H), 4,35 (м, 1H), 3,55-3,35 (м, 2H), 3,30-3,20 (м, 2H), 3,15-3,00 (м, 4H), 2,95 (с, 3H), 2,05-1,80 (м, 2H), 1,80-1,65 (м, 2H).

¹³C ЯМР (CD₃OD): δ 174,2, 173,9, 156,9, 151,9, 135,9, 135,5, 132,3, 131,6, 128,9, 128,6, 122,9, 63,1, 54,8, 54,7, 50,3, 37,4, 36,8, 36,7, 32,1, 25,5.

Приклад 179

Синтез N-(4-метоксибензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 180 з використанням процедури, описаної у способі 7.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CD₃OD): δ 7,78 (д, 2H), 7,27 (д, 2H), 7,09 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 4,71-4,67 (м, 1H), 4,10-4,06 (м, 1H), 3,88 (с, 3H), 3,41-3,31 (м, 1H), 3,28-3,07 (м, 6H), 2,97 (с, 3H), 1,81-1,50 (м, 4H).

¹³СЯМР (CD₃OD): δ 168,3, 168,2, 159,2, 150,9, 145,9, 129,5, 125,6, 125,3, 123,5, 116,9, 109,6, 57,2, 50,2, 48,7, 44,6, 31,4, 30,8, 30,6, 25,7, 19,3.

Приклад 180

Синтез ізопропілового ефіру N-(4-метоксибензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з використанням процедури, описаної у прикладі 2, із заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,76 (д, 2H), 7,34 (д, 1H), 7,14 (д, 2H), 7,03-6,97 (м, 4H), 5,08-5,04 (м, 1H), 4,77 (м, 1H), 4,05-4,03 (м, 1H), 3,86 (с, 3H), 3,37-3,34 (м, 1H), 3,26-3,19 (м, 1H), 3,10-3,01 (м, 4H), 2,98 (с, 3H), 2,02 (м, 1H), 1,56-1,46 (м, 3H), 1,25 (д, 6H).

¹³СЯМР (CDCl₃): δ 170,8, 170,3, 163,4, 154,8, 150,5, 132,9, 130,1, 129,9, 127,6, 121,6, 114,3, 69,4, 62,1, 55,4, 53,2, 49,5, 37,1, 36,5, 36,2, 29,7, 24,0, 21,5, 21,4.

Приклад 181

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(1-оксотіоморфолін-3-карбоніл)-тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 182 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CD₃OD): δ 7,90 (м, 1H), 7,78 (м, 2H), 7,40 (м, 2H), 7,26 (м, 2H), 7,03 (м, 2H), 5,14 (м, 1H), 4,64 (м, 2H), 3,81 (м, 1H), 3,71 (м, 2H), 3,19 (м, 1H), 3,14 (м, 3H), 3,02 (м, 4H), 2,84 (м, 1H), 2,60 (м, 1H), 2,42 (м, 4H), 2,21 (м, 1H).

¹³С ЯМР (CD₃OD): δ 174,22, 173,93, 169,59, 156,88, 152,08, 152,05, 146,44, 146,26, 137,75, 137,63, 135,61, 134,96, 131,79, 131,64, 131,55, 131,39, 128,75, 128,66, 123,35, 123,06, 57,03, 54,88, 54,66, 51,64, 42,69, 42,51, 40,34, 37,12, 36,83, 36,66, 32,76, 21,51.

Приклад 182

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(1-оксотіоморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 49. Окислювання групи тіоморфоліну до групи 1-оксотіоморфолін проводили за Larsson and Carlson (Acta Chemica Scan. 1994, 48, 517-525).

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,72 (м, 2H), 7,69 (м, 2H), 7,31 (м, 2H), 7,11 (м, 2H), 7,07 (м, 2H), 6,96 (м, 2H), 4,79 (м, 1H), 4,54 (м, 1H), 3,80 (м, 4H), 3,04 (4H), 2,92 (м, 3H), 2,64 (м, 1H), 2,43 (м, 4H), 1,44 (с, 3H), 1,36 (с, 6H).

¹³СЯМР (CDCl₃): δ 169,8, 166,5, 166,3, 154,6, 150,5, 150,4, 144,9, 144,4, 135,7, 135,3, 132,8, 130,5, 130,1, 29,9, 127,4, 126,9, 122,1, 121,4, 82,6, 82,2, 55,6, 53,9, 53,1, 50,6, 48,1, 47,8, 41,7, 40,5, 38,3, 36,4, 36,1, 31,1, 27,5, 21,2.

Приклад 183

Синтез ізопропілового ефіру N-(3,4-дифторбензолсульфоніл)-L-проліл-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2 із заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,72-7,60 (м, 2H), 7,87-7,37 (м, 1H), 7,13-7,11 (м, 3H), 7,01 (д, 2H), 5,08-5,04 (м, 1H), 4,81-4,74 (м, 1H), 4,09-4,06 (м, 1H), 3,39-3,35 (м, 1H), 3,26-3,19 (м, 1H), 3,12-2,97 (м, 8H), 2,06-2,03 (м, 1H), 1,66-1,57 (м, 3H), 1,26 (д, 6H).

¹³С ЯМР (CDCl₃): δ 170,50, 170,40, 154,90, 153,60, 150,70, 150,30, 133,30, 132,90, 130,10, 125,00, 121,80, 121,80, 118,50, 112,80, 69,60, 62,20, 53,20, 49,60, 37,10, 36,60, 36,30, 30,10, 24,20, 21,59, 21,56.

Приклад 184

Синтез N-(3,4-дифторбензолсульфоніл)-L-проліл-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 183 з використанням процедури, описаної у способі 7.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CD₃OD): δ 8,10 (д, 1H), 7,84-7,77 (м, 1H), 7,69-7,65 (м, 1H), 7,53-7,45 (м, 1H), 7,28 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 4,72-4,68 (м, 1H), 4,19-4,16 (м, 1H), 3,43-3,39 (м, 1H), 3,31-3,21 (м, 2H), 3,13-3,05 (м, 4H), 2,97 (с, 3H), 1,86-1,61 (м, 4H).

¹³С ЯМР (CD₃OD): δ 174,2, 174,1, 164,7, 156,9, 154,9, 152,0, 151,6, 135,8, 135,6, 131,6, 129,7, 122,9, 119,7, 118,8, 63,1, 54,7, 50,5, 37,4, 36,8, 36,6, 31,9, 25,5.

Приклад 185

Синтез трет-бутилового ефіру N-(3,4-дифторбензолсульфоніл)-L-(1,1-діоксотіоморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з використанням процедури, описаної у прикладі 92, із заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,71 (м, 2H), 7,33 (м, 1H), 7,07 (д, 2H), 6,91 (д, 2H), 6,36 (д, 1H), 4,95 (м, 1H), 4,61 (м, 1H), 4,03 (м, 2H), 3,16 (м, 2H), 3,13 (м, 4H), 3,07 (м, 1H), 2,93 (с, 9H), 1,43 (с, 9H).

¹³С ЯМР (CDCl₃): δ 170,07, 169,45, 164,42, 155,06, 155,44, 154,81, 152,21, 152,17, 150,58, 148,81, 148,64, 134,90, 134,85, 132,41, 130,29, 124,82, 124,71, 124,66, 121,97, 119,07, 118,76, 117,52, 117,23, 82,92, 55,98, 53,20, 50,10, 49,40, 41,76, 36,41, 36,16, 35,99, 27,64.

Приклад 186

Синтез N-(3,4-дифторбензолсульфоніл)-L-(1,1-діоксотіоморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 185 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ 6,22 (м, 1H), 6,03 (м, 1H), 5,84 (м, 1H), 5,58 (м, 2H), 5,38 (м, 2H), 3,33 (м, 1H), 3,01 (м, 1H), 2,57 (м, 1H), 2,14 (м, 1H), 1,91 (м, 1H), 1,66 (м, 3H), 1,44 (с, 3H), 1,35 (м, 3H), 1,32 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ 173,97, 167,89, 156,94, 153,53, 152,07, 150,00, 137,48, 135,17, 131,63, 126,54, 126,43, 123,20, 120,21, 119,96, 118,84, 118,57, 57,25, 54,82, 51,29, 49,86, 43,29, 37,21, 36,85, 36,67.

Приклад 187

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфотл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з використанням процедури, описаної у прикладі 82, із заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,64 (д, 2H), 7,33 (д, 2H), 7,25 (д, 2H), 7,08-6,97 (м, 3H), 4,76 (м, 1H), 4,57 (д, 1H), 4,38 (д, 1H), 3,83 (с, 1H), 3,95-3,78 (м, 4H), 3,09 (м, 2H), 2,69 (м, 4H), 2,43 (с, 3H), 1,44 (с, 9H), 1,16 (с, 3H), 1,08 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 169,78, 168,36, 153,53, 150,28, 144,84, 133,53, 132,76, 130,51, 130,03, 128,19, 121,58, 82,69, 73,42, 54,56, 53,78, 50,46, 47,05, 46,40, 37,80, 29,06, 27,76, 27,37, 27,04, 23,86, 21,52.

Приклад 188

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 187 з використанням процедур, описаних у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,77 (д, 2H), 7,37 (д, 2H), 7,28 (д, 2H), 7,22 (д, 1H), 7,03 (д, 2H), 5,35 (ушир.с, 1H), 4,91 (м, 1H), 4,60 (д, 1H), 4,39 (д, 1H), 3,91 (с, 1H), 3,96-3,28 (м, 4H), 3,30-3,07 (м, 2H), 2,67 (м, 4H), 2,45 (с, 3H), 1,10 (с, 3H), 1,08 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 173,09, 169,45, 153,81, 150,28, 145,02, 133,42, 132,61, 130,60, 130,12, 128,13, 121,86, 73,28, 54,51, 53,31, 50,48, 47,08, 46,47, 36,97, 28,97, 27,35, 27,03, 23,70, 21,52.

Приклад 189

Синтез етилового ефіру N-(1-метилпіразол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 117, із заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,89 (с, 1H), 7,81 (с, 1H), 7,19 (д, 2H), 7,00 (м, 3H), 4,87 (м, 1H), 4,54 (д, 1H), 4,42 (д, 1H), 4,18 (кв., 2H), 3,95 (с, 3H), 3,81 (с, 1H), 3,11 (м, 2H), 3,08 (с, 3H), 2,99 (с, 3H), 1,30 (с, 3H), 1,25 (т, 3H), 1,16 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,98, 168,34, 154,91, 150,71, 139,62, 132,88, 130,28, 121,85, 117,71, 73,77, 61,66, 54,80, 53,16, 50,53, 39,64, 37,63, 36,60, 36,36, 28,98, 24,00, 13,92.

Приклад 190

Синтез N-(піридин-3-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 191 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 9,09 (с, 1H), 8,82 (м, 1H), 8,20 (м, 1H), 7,56 (м, 1H), 7,23 (д, 2H), 7,07 (д, 1H), 5,58 (ушир.с, 1H), 4,83 (м, 1H), 4,56 (м, 2H), 4,07 (с, 1H), 3,14 (м, 2H), 3,07 (с, 3H), 2,99 (с, 3H), 1,26 (с, 3H), 1,18 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 173,04, 168,29, 155,16, 153,39, 150,60, 147,96, 136,43, 133,91, 133,06, 130,66, 130,50, 124,65, 122,14, 121,91, 73,43, 54,58, 53,21, 50,38, 37,18, 36,64, 36,38, 29,25, 23,64.

Приклад 191

Синтез трет-бутилового ефіру N-(піридин-3-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 56, із заміною придатних вихідних матеріалів.

Фізичні дані були наступними:

MS: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 593.

Аналіз для $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_7\text{S}_2 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$: Розраховано: C, 53,88; H, 6,07; N, 9,27.

Знайдено: C, 53,98; H, 6,07; N, 9,27.

Приклад 192

Синтез ізопропілового ефіру N-(піридин-2-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Заміна 2-піридинсульфонілхлориду (див. Corey et al., J. Org. Chem. 1989, 54, 389-393) і дії за способом одержання, описаним у прикладі 56, приводили до одержання зазначеної в заголовку сполуки.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 8,59 (д, 1H), 8,00-7,89 (м, 2H), 7,78 (д, 1H), 7,53-7,49 (м, 1H), 7,16 (д, 2H), 7,01 (д, 2H), 5,05-4,99 (м, 1H), 4,85-4,78 (м, 1H), 4,60-4,57 (м, 1H), 3,44-3,35 (м, 2H), 3,25-3,19 (м, 1H), 3,07 (с, 3H), 3,06-3,01 (м, 1H), 2,97 (с, 3H), 2,19-2,13 (м, 1H), 1,88-1,71 (м, 2H), 1,55 (м, 1H), 1,22-1,19 (м, 6H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,90, 170,30, 156,20, 154,80, 150,50, 150,00, 138,00, 133,10, 130,10, 127,00, 123,40, 121,60, 69,20, 62,80, 53,30, 49,60, 37,20, 36,40, 36,20, 29,80, 24,30, 21,42, 21,40.

Приклад 193

Синтез N-(піридин-2-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 192 з використанням процедури,

описаної у способі 7.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CD₃OD): δ 8,67 (д, 1H), 8,27 (д, 1H), 8,07-8,02 (м, 1H), 7,96-7,91 (м, 1H), 7,65-7,61 (м, 1H), 7,27 (д, 2H), 7,01 (д, 2H), 4,72-4,69 (м, 1H), 4,58-4,54 (м, 1H), 3,44-3,37 (м, 2H), 3,28-3,24 (м, 1H), 3,13-3,05 (м, 4H), 2,96 (с, 3H), 1,94-1,89 (м, 2H), 1,70-1,63 (м, 2H).

¹³C ЯМР (CD₃OD): δ 174,5, 174,4, 174,2, 157,7, 156,9, 151,9, 139,9, 135,6, 131,6, 128,8, 124,7, 122,9, 64,1, 54,8, 54,7, 50,9, 37,5, 36,8, 36,7, 31,9, 25,6.

Приклад 194

Синтез ізопропілового ефіру N-(піридин-2-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)феніл аланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 192, із заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 8,64-8,62 (м, 1H), 7,98-7,92 (м, 2H), 7,56-7,51 (м, 1H), 7,28-7,21 (м, 3H), 7,01 (д, 2H), 5,01-4,97 (м, 1H), 4,88-4,85 (м, 2H), 4,80 (д, 1H), 4,63 (д, 1H), 4,19 (с, 1H), 3,11-3,07 (м, 5H), 2,98 (с, 3H), 1,28 (с, 3H), 1,26-1,18 (м, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 168,4, 155,5, 154,9, 150,7, 150,4, 138,2, 133,0, 130,4, 127,5, 123,5, 121,8, 73,5, 69,5, 54,7, 53,3, 51,0, 37,6, 36,6, 36,4, 29,3, 23,9, 21,52, 21,50.

Приклад 195

Синтез N-(піридин-2-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну
Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 194 з використанням процедури, описаної у способі 7.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CD₃OD): δ 8,70-8,69 (м, 1H), 8,07-8,01 (м, 1H), 7,92-7,89 (м, 1H), 7,67-7,63 (м, 1H), 4,77-4,67 (м, 3H), 4,30 (с, 1H), 3,23-3,06 (м, 5H), 2,97 (с, 3H), 1,27-1,18 (м, 6H).

¹³C ЯМР (CD₃OD): δ 174,1, 171,2, 157,0, 151,9, 151,6, 139,9, 135,7, 131,8, 131,7, 129,0, 124,6, 122,9, 74,3, 61,6, 55,7, 54,9, 51,9, 37,6, 36,8, 36,7, 30,1, 24,9.

Приклад 196

Синтез ізопропілового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(тіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 49 із заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,67 (д, 2H), 7,30 (д, 2H), 7,12 (д, 2H), 6,97 (д, 2H), 6,86 (д, 1H), 5,05 (м, 1H), 4,70 (м, 2H), 3,90 (м, 1H), 3,31 (м, 1H), 3,06 (м, 4H), 2,97 (с, 3H), 2,68 (м, 1H), 2,50 (м, 1H), 2,44 (с, 3H), 2,29 (м, 1H), 2,13 (м, 1H), 1,24 (с, 3H), 1,22 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,35, 167,55, 155,00, 150,61, 144,20, 136,80, 132,51, 130,24, 130,14, 127,20, 121,82, 69,48, 55,14, 53,55, 43,26, 36,43, 36,16, 25,21, 24,56, 21,48, 21,31.

Приклад 197

Синтез ізопропілового ефіру N-(3-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2, із заміною придатного вихідного матеріалу.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,68 (д, 1H), 7,61-7,52 (м, 2H), 7,36 (дт, 1H), 7,21 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 6,94 (д, 1H), 5,05 (септ., 1H), 4,85 (кв., 1H), 4,59 (д, 1H), 4,41 (д, 1H), 3,88 (с, 1H), 3,17-3,03 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,25 (д, 3H), 1,23 (д, 3H), 1,16 (с, 3H), 1,12 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 168,1, 162,6, 154,9, 150,7, 137,9, 132,8, 131,3, 130,4, 123,9, 121,8, 121,0, 115,4, 73,5, 69,6, 54,5, 53,2, 50,5, 37,6, 36,6, 36,3, 29,0, 23,7, 21,6, 21,5.

Приклад 198

Синтез ізопропілового ефіру N-(2-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2, із заміною придатного вихідного матеріалу.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,92-7,87 (м, 1H), 7,67-7,59 (м, 1H), 7,33-7,24 (м, 2H), 7,21 (д, 2H), 7,03 (д, 2H), 6,93 (д, 1H), 5,03 (септ., 1H), 4,83 (кв., 1H), 4,67 (д, 1H), 4,63 (д, 1H), 4,03 (с, 1H), 3,16-3,03 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,31 (с, 3H), 1,24 (д, 3H), 1,22 (д, 3H), 1,19 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 168,1, 159,2, 154,9, 150,7, 136,0, 132,9, 132,0, 130,3, 124,6, 121,8, 117,6, 73,3, 69,6, 54,8, 53,2, 50,3, 37,6, 36,6, 36,3, 29,1, 23,9, 21,6, 21,5.

Приклад 199

Синтез ізопропілового ефіру N-(3,4-дифторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2, із заміною придатного вихідного матеріалу.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,77-7,71 (м, 1H), 7,70-7,65 (м, 1H), 7,40-7,31 (м, 1H), 7,20 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 6,87 (д, 1H), 5,05 (септ., 1H), 4,88-4,82 (м, 1H), 4,55 (д, 1H), 4,44 (д, 1H), 3,91 (с, 1H), 3,17-3,03 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,25 (д, 3H), 1,23 (д, 3H), 1,23 (с, 3H), 1,18 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,4, 167,9, 154,9, 150,7, 133,1, 132,7, 130,4, 124,4, 121,8, 118,5, 118,0, 73,6, 69,7, 54,6, 53,1, 50,5, 37,6, 36,6, 36,3, 29,2, 23,7, 21,6, 21,5.

Приклад 200

Синтез ізопропілового ефіру N-(3,5-дифторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2, із заміною придатного вихідного матеріалу.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 1,11-1,11 (м, 1H), 7,70-7,65 (м, 1H), 7,40-7,31 (м, 1H), 7,20 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 6,87 (д, 1H), 5,05 (септ., 1H), 4,88-4,82 (м, 1H), 4,55 (д, 1H), 4,44 (д, 1H), 3,91 (с, 1H), 3,17-3,03 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,25 (д, 3H), 1,23 (д, 3H), 1,23 (с, 3H), 1,18 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,4, 167,9, 154,9, 150,7, 133,1, 132,7, 130,4, 124,4, 121,8, 118,5, 118,0, 73,6, 69,7, 54,6, 53,1, 50,5, 37,6, 36,6, 36,3, 29,2, 23,7, 21,6, 21,5.

Приклад 201

Синтез ізопропілового ефіру N-(2,4-дифторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2, із заміною придатного вихідного матеріалу.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,94-7,86 (м, 1H), 7,20 (д, 2H), 7,03 (д, 2H), 7,02-6,95 (м, 2H), 6,88 (д, 1H), 5,03 (септ., 1H), 4,82 (кв., 1H), 4,67 (д, 1H), 4,61 (д, 1H), 4,01 (с, 1H), 3,16-3,03 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,36 (с, 3H), 1,23 (д, 3H), 1,21 (д, 3H), 1,20 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 167,9, 154,9, 150,7, 133,7, 132,8, 130,3, 121,8, 112,1, 106,1, 73,4, 69,6, 54,9, 53,2, 50,4, 37,6, 36,6, 36,3, 29,1, 23,9, 21,6, 21,5.

Приклад 202

Синтез ізопропілового ефіру N-(4-хлорбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2, із заміною придатного вихідного матеріалу.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,82 (д, 2H), 7,53 (д, 2H), 7,21 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 6,93 (д, 1H), 5,05 (септ., 1H), 4,89-4,82 (м, 1H), 4,55 (д, 1H), 4,41 (д, 1H), 3,87 (с, 1H), 3,17-3,03 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,25 (д, 3H), 1,23 (д, 3H), 1,16 (с, 6H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 168,1, 154,9, 150,7, 140,4, 134,5, 132,8, 130,4, 129,7, 129,5, 121,8, 73,5, 69,6, 54,6, 53,1, 50,5, 37,6, 36,6, 36,3, 29,1, 23,8, 21,6, 21,0.

Приклад 203

Синтез ізопропілового ефіру N-(3-хлорбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2, із заміною придатного вихідного матеріалу.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,88 (т, 1H), 7,78-7,75 (м, 1H), 7,64-7,61 (м, 1H), 7,51 (т, 1H), 7,21 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 6,92 (д, 1H), 5,05 (септ., 1H), 4,89-4,82 (м, 1H), 4,58 (д, 1H), 4,40 (д, 1H), 3,88 (с, 1H), 3,18-3,03 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,25 (д, 3H), 1,23 (д, 3H), 1,16 (с, 3H), 1,14 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 168,0, 154,9, 150,7, 137,7, 135,7, 133,9, 132,8, 130,7, 130,3, 127,9, 126,2, 121,8, 73,6, 69,96, 54,5, 53,2, 50,5, 37,6, 36,6, 36,3, 29,1, 23,7, 21,6, 21,5.

Приклад 204

Синтез ізопропілового ефіру N-(2-хлорбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2, із заміною придатного вихідного матеріалу.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 8,08 (дд, 1H), 7,54-7,52 (м, 2H), 7,45-7,39 (м, 1H), 7,19 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 6,79 (д, 1H), 5,00 (септ., 1H), 4,78 (д, 1H), 4,75-4,68 (м, 1H), 4,69 (д, 1H), 4,19 (с, 1H), 3,09 (с, 3H), 3,06 (д, 2H), 3,00 (с, 3H), 1,38 (с, 3H), 1,23 (с, 3H), 1,23 (д, 3H), 1,19 (д, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 168,1, 154,9, 150,7, 135,6, 134,4, 132,8, 132,7, 132,4, 130,3, 127,3, 121,8, 73,3, 69,5, 54,7, 53,3, 50,4, 37,6, 36,6, 36,3, 29,6, 23,7, 21,6, 21,5.

Приклад 205

Синтез ізопропілового ефіру N-(3,4-дихлорбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2, із заміною придатного вихідного матеріалу.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,97 (д, 1H), 7,70 (дд, 1H), 7,63 (д, 1H), 7,20 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 6,86 (д, 1H), 5,05 (септ., 1H), 4,89-4,82 (м, 1H), 4,55 (д, 1H), 4,43 (д, 1H), 3,92 (с, 1H), 3,17-3,03 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,26 (д, 3H), 1,22 (д, 3H), 1,23 (с, 3H), 1,18 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 167,9, 154,9, 150,7, 138,7, 136,1, 134,2, 132,7, 131,4, 130,3, 129,8, 127,1, 121,8, 73,6, 69,7, 54,6, 53,1, 50,5, 37,5, 36,6, 36,3, 29,2, 23,7, 21,6, 21,5.

Приклад 206

Синтез ізопропілового ефіру N-(3,5-дихлорбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2, із заміною придатного вихідного матеріалу.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,76 (д, 2H), 7,62 (т, 1H), 7,20 (д, 2H), 7,03 (д, 2H), 6,85 (д, 1H), 5,05 (септ., 1H), 4,89-

4,82 (м, 1H), 4,57 (д, 1H), 4,42 (д, 1H), 3,92 (с, 1H), 3,18-3,04 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,25 (д, 3H), 1,23 (д, 3H), 1,27 (с, 3H), 1,18 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 167,8, 154,9, 150,7, 139,1, 136,5, 133,7, 132,7, 130,3, 126,2, 121,8, 73,7, 69,7, 54,6, 53,1, 50,5, 37,5, 36,6, 36,3, 29,2, 23,7, 21,6, 21,5.

Приклад 207

Синтез трет-бутилового ефіру N-(3-хлорбензолсульфоніл)-L-(1,1-діоксотіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з використанням процедури, описаної у прикладі 92, із заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,85 (м, 1H), 7,76 (м, 1H), 7,63 (м, 1H), 7,53 (м, 1H), 7,06 (д, 2H), 6,96 (д, 2H), 6,37 (м, 1H), 5,01 (м, 1H), 4,62 (м, 1H), 4,01 (м, 2H), 3,26 (м, 1H), 3,06 (с, 3H), 2,96 (м, 7H), 1,49 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,0, 164,5, 154,9, 150,6, 140,0, 136,1, 134,2, 132,5, 131,3, 130,2, 127,4, 125,5, 122,2, 82,8, 56,0, 53,3, 49,9, 49,2, 41,7, 36,5, 36,3, 36,0, 27,8.

Приклад 208

Синтез трет-бутилового ефіру N-(3,4-дихлорбензолсульфоніл)-L-(1,1-діоксотіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з використанням процедури, описаної у прикладі 92, із заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,91 (м, 1H), 7,66 (м, 2H), 7,06 (д, 2H), 6,94 (д, 2H), 6,33 (м, 1H), 4,98 (м, 1H), 4,60 (м, 1H), 3,49 (м, 3H), 3,12 (м, 2H), 3,04 (с, 3H), 3,00 (м, 2H), 2,94 (с, 3H), 1,44 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,0, 164,3, 154,8, 150,6, 138,8, 137,9, 134,3, 132,4, 132,0, 130,3, 129,2, 126,4, 122,1, 83,0, 55,5, 53,1, 50,2, 49,5, 41,8, 36,5, 36,2, 36,0, 27,7.

Приклад 209

Синтез ізопропілового ефіру N-(4-метоксибензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2, із заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,81 (д, 2H), 7,22 (д, 2H), 7,06-6,99 (м, 5H), 5,04 (септ, 1H), 4,89-4,82 (м, 1H), 4,56 (д, 1H), 4,39 (д), 3,88 (с, 3H), 3,83 (с, 1H), 3,17-3,03 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,25 (д, 3H), 1,22 (д, 3H), 1,15 (с, 3H), 1,12 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 168,5, 163,8, 154,9, 150,7, 132,9, 130,4, 130,3, 127,4, 121,7, 114,5, 73,5, 69,5, 55,6, 54,6, 53,2, 50,5, 37,7, 36,6, 36,3, 29,1, 23,9, 21,6, 21,5.

Приклад 210

Синтез ізопропілового ефіру N-(3-метоксибензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2, із заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,47-7,45 (м, 2H), 7,37-7,36 (м, 1H), 7,21 (д, 2H), 7,19-7,15 (м, 1H), 7,04-6,98 (м, 3H), 5,04 (септ., 1H), 4,88-4,82 (м, 1H), 4,58 (д, 1H), 4,40 (д, 1H), 3,89 (с, 1H), 3,87 (с, 3H), 3,17-3,03 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,25 (д, 3H), 1,23 (д, 3H), 1,15 (с, 3H), 1,08 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 168,3, 160,2, 154,9, 150,7, 136,9, 132,9, 130,5, 130,4, 121,7, 120,2, 120,0, 112,6, 73,4, 69,6, 55,7, 54,5, 53,2, 50,4, 37,7, 36,6, 36,3, 29,1, 23,7, 21,6, 21,5.

Приклад 211

Синтез ізопропілового ефіру N-(2-метоксибензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2, із заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,92 (дд, 1H), 7,54 (дд, 1H), 7,21 (д, 2H), 7,07-7,00 (м, 4H), 6,96 (д, 1H), 5,01 (септ., 1H), 4,83-4,76 (м, 1H), 4,73 (д, 1H), 4,61 (д, 1H), 4,17 (с, 1H), 3,93 (с, 3H), 3,14-3,03 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,36 (с, 3H), 1,22 (д, 3H), 1,21 (с, 3H), 1,19 (д, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 168,7, 157,7, 154,9, 150,6, 135,4, 133,0, 132,5, 130,3, 125,2, 121,7, 120,5, 112,6, 73,3, 69,5, 56,0, 54,8, 53,3, 50,4, 37,7, 36,6, 36,3, 29,2, 24,1, 21,6, 21,5.

Приклад 212

Синтез ізопропілового ефіру N-(3,4-диметоксибензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2, із заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,50 (дд, 1H), 7,31 (д, 1H), 7,21 (д, 2H), 7,05-7,01 (м, 3H), 6,97 (д, 1H), 5,04 (септ., 1H), 4,89-4,82 (м, 1H), 4,56 (д, 1H), 4,40 (д, 1H), 3,95 (с, 3H), 3,94 (с, 3H), 3,89 (с, 1H), 3,17-3,03 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,25 (д, 3H), 1,22 (д, 3H), 1,16 (с, 3H), 1,14 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 168,5, 154,9, 153,5, 150,7, 149,4, 132,9, 130,4, 127,6, 122,3, 121,7, 110,6, 110,3, 73,5, 69,6, 56,3, 56,1, 54,6, 53,2, 50,5, 37,7, 36,6, 36,3, 29,2, 23,8, 21,6, 21,5.

Приклад 213

Синтез ізопропілового ефіру N-(2,4-дифторбензолсульфоніл)-L-(тіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 49,

із заміною придатного вихідного матеріалу.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,89 (м, 1H), 7,16 (м, 2H), 6,97 (м, 4H), 6,77 (д, 1H), 4,72 (м, 1H), 4,60 (м, 1H), 3,92 (м, 1H), 3,29 (м, 1H), 3,09 (м, 5H), 2,93 (с, 3H), 2,70 (м, 2H), 2,55 (м, 1H), 2,10 (м, 1H), 1,42 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,0, 168,0, 167,7, 137,1, 164,4, 164,3, 161,1, 160,9, 157,7, 157,5, 154,8, 150,5, 132,7, 132,6, 132,4, 130,4, 124,0, 123,8, 121,7, 112,2, 111,9, 106,5, 106,1, 105,8, 82,6, 55,4, 53,9, 43,5, 36,4, 36,2, 27,7, 26,8, 25,5.

Приклад 214

Синтез

N-(3,4-дихлорбензолсульфоніл)-L-(1,1-діоксотіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 208 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CD₃OD): δ 8,04 (м, 1H), 7,68 (м, 2H), 7,52 (м, 1H), 7,21 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 5,22 (м, 1H), 4,63 (м, 1H), 4,22 (м, 1H), 3,71 (м, 1H), 3,57 (м, 1H), 3,30 (м, 3H), 3,08 (с, 3H), 3,02 (м, 3H), 2,97 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CD₃OD): δ 174,0, 168,0, 156,9, 152,1, 140,7, 139,3, 135,2, 133,2, 131,6, 130,7, 128,3, 123,2, 57,2, 54,9, 54,6, 51,7, 51,4, 43,3, 37,3, 36,9, 36,7.

Приклад 215

Синтез

N-(3-хлорбензолсульфоніл)-L-(1,1-діоксотіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 207 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CD₃OD): δ 7,94 (м, 1H), 7,77 (м, 2H), 7,58 (м, 1H), 7,46 (д, 1H), 7,19 (д, 2H), 7,07 (д, 2H), 5,23 (м, 1H), 4,63 (м, 1H), 4,20 (м, 1H), 3,71 (м, 1H), 3,43 (м, 1H), 3,26 (м, 4H), 3,17 (с, 3H), 2,95 (м, 5H).

¹³C ЯМР (CD₃OD): δ 168,0, 152,1, 142,5, 136,8, 135,0, 132,7, 131,6, 128,6, 127,1, 123,3, 57,2, 54,9, 51,4, 51,2, 43,2, 37,2, 36,8, 36,7.

Приклад 216

Синтез трет-бутилового ефіру N-(3-хлор-4-фторбензолсульфоніл)-L-(1,1-діоксотіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з використанням процедури, описаної у прикладі 92 із заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CD₃OD): δ 7,93 (д), 7,90 (м), 7,29 (с), 7,27 (д), 7,04 (д), 4,60 (м), 4,46 (д), 3,90-3,40 (м), 3,10 (с), 2,98 (с), 1,43 (с).

¹³C ЯМР (CD₃OD): δ 171,5, 166,5, 156,9, 151,9, 135,2, 131,3, 129,9, 127,9, 127,8, 123,1, 117,8, 117,5, 101,4, 83,7, 57,9, 56,0, 42,9, 37,3, 36,9, 36,7, 28,1.

Приклад 217

Синтез трет-бутилового ефіру N-(1-метилпіразол-4-сульфоніл)-L-(тіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, впливаючи процедурам, описаним для одержання в прикладах 49 і 117.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,77 (с), 7,63 (с), 7,08 (д), 6,93 (д), 6,76 (д), 6,71 (д), 5,50 (д), 5,22 (с), 4,82 (т), 4,61 (кв.), 3,83 (с), 3,25 (дт), 3,04 (м), 2,90 (с), 2,05 (дд), 1,34 (с).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 169,3, 166,8, 154,7, 150,4, 138,4, 132,4, 132,2, 130,2, 121,4, 118,3, 105,4, 82,5, 55,2, 53,6, 53,3, 39,5, 38,3, 36,6, 36,3, 36,1, 27,6, 23,5.

Приклад 218

Синтез трет-бутилового ефіру N-(3,4-дифторбензолсульфоніл)-L-(тіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 49 із заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CD₃OD): δ 7,88 (м, 1H), 7,70 (м, 1H), 7,57 (м, 1H), 7,23 (д, 2H), 7,03 (д, 2H), 6,83 (д, 1H), 5,63 (дд, 1H), 5,07 (т, 1H), 4,58 (м, 1H), 3,22-3,00 (м, 3H), 3,09 (с, 3H), 2,98 (с, 3H), 2,07 (дд, 1H), 1,44 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CD₃OD): δ 171,3, 169,3, 156,9, 152,0, 135,0, 131,6, 126,5, 122,9, 120,2, 119,9, 119,4, 118,7, 118,4, 106,4, 83,6, 56,5, 55,6, 37,1, 36,8, 36,6, 28,1, 25,2.

Приклад 219

Синтез ізопропілового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметилтіопроліл-L-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з використанням процедури, описаної у прикладі 82, із заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 9,09 (с, 1H), 8,88 (м, 1H), 8,16 (м, 1H), 7,50 (м, 1H), 7,22 (д, 2H), 7,01 (д, 2H), 6,91 (д, 1H), 5,05 (м, 1H), 4,85 (м, 1H), 4,60 (д, 1H), 4,46 (д, 1H), 3,89 (с, 1H), 3,93-3,83 (м, 4H), 3,11 (м, 2H), 2,69 (м, 4H), 1,29-1,16 (м, 12H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 167,8, 154,3, 153,5, 150,4, 148,7, 135,8, 133,1, 132,9, 130,4, 124,0, 121,8, 73,7, 69,7, 54,7, 53,2, 50,5, 47,1, 46,4, 37,6, 29,1, 27,4, 27,0, 23,8, 21,6, 21,5.

Приклад 220

Синтез

N-(3,4-дифторбензолсульфоніл)-L-(тіаморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 218 з використанням процедури,

описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,89 (с, 1H), 7,57-7,46 (м, 2H), 7,35 (д, 1H), 7,32-7,22 (м, 1H), 7,09 (д, 2H), 6,91 (д, 2H), 6,64 (д, 1H), 5,50 (д, 1H), 4,89 (с, 1H), 4,88-4,79 (м, 1H), 3,17-3,02 (м, 3H), 3,02 (с, 3H), 2,93 (с, 3H), 1,75 (дд, 1H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 173,6, 167,7, 155,5, 152,0, 151,8, 150,1, 148,4, 132,8, 130,4, 124,6, 121,5, 118,7, 118,5, 117,5, 117,3, 117,1, 106,9, 54,9, 53,0, 36,4, 36,2, 36,0, 23,4.

Приклад 221

Синтез ізопропілового ефіру N-(2,5-дихлортіофен-3-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2 із заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,18 (д, 2H), 7,11 (с, 1H), 7,00 (д, 2H), 6,87 (д, 1H), 5,03-4,99 (м, 1H), 4,84-4,81 (м, 1H), 4,65-4,56 (м, 2H), 4,07 (с, 1H), 3,10-3,01 (м, 5H), 2,98 (с, 3H), 1,37 (с, 3H), 1,22 (с, 3H), 1,21 (с, 3H), 1,18 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,3, 167,7, 154,9, 150,7, 132,9, 132,8, 131,9, 130,3, 128,0, 127,0, 121,8, 73,4, 69,6, 54,8, 53,2, 50,5, 37,5, 36,6, 36,3, 29,1, 23,8, 21,6, 21,5.

Приклад 222

Синтез ізопропілового ефіру N-(1-метилпіразол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з використанням процедури, описаної у прикладі 82, із заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,89 (с, 1H), 7,80 (с, 1H), 7,21 (д, 2H), 7,01 (м, 3H), 5,03 (м, 1H), 4,83 (м, 1H), 4,54 (д, 1H), 4,40 (д, 1H), 3,95 (с, 3H), 3,86 (м, 4H), 3,80 (с, 1H), 3,09 (м, 2H), 2,68 (м, 4H), 1,28 (с, 3H), 1,22 (м, 6H), 1,16 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,4, 168,3, 153,5, 150,4, 139,3, 133,3, 132,9, 130,4, 121,7, 117,6, 73,8, 69,7, 54,8, 53,2, 50,5, 47,1, 46,4, 39,6, 37,6, 29,0, 27,4, 27,1, 24,0, 21,6, 21,5.

Приклад 223

Синтез ізопропілового ефіру N-(8-хінолінсульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2, із заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 9,01-8,99 (м, 1H), 8,56-8,53 (м, 1H), 8,27-8,23 (м, 1H), 8,07-8,04 (м, 1H), 7,66-7,61 (м, 2H), 7,55-7,51 (м, 1H), 7,17 (д, 2H), 7,01 (д, 2H), 5,27-5,23 (м, 1H), 5,07-4,98 (м, 1H), 4,84-4,76 (м, 1H), 3,34-3,20 (м, 3H), 3,06-2,98 (м, 4H), 2,97 (с, 3H), 2,15-2,09 (м, 1H), 1,64-1,51 (м, 3H), 1,23 (д, 6H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 172,0, 170,5, 154,9, 151,5, 150,6, 143,9, 136,8, 135,6, 134,9, 134,1, 133,3, 130,2, 129,2, 125,6, 122,3, 121,7, 69,3, 62,8, 53,5, 48,7, 37,3, 36,5, 36,3, 29,7, 24,3, 21,6, 21,6.

Приклад 224

Синтез N-(8-хінолінсульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 223 з використанням процедури, описаної у способі 7.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ 9,03-9,01 (м, 1H), 8,49-8,42 (м, 2H), 8,23-8,20 (м, 1H), 8,09-8,07 (м, 1H), 7,73-7,61 (м, 2H), 7,25 (д, 2H), 7,00 (д, 2H), 5,30-5,27 (м, 1H), 4,73-4,69 (м, 1H), 3,38-3,21 (м, 3H), 3,09-3,02 (м, 4H), 2,95 (с, 3H), 1,86 (м, 1H), 1,78-1,73 (м, 1H), 1,58-1,50 (м, 2H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ 175,3, 174,2, 164,7, 156,9, 152,9, 145,2, 138,5, 136,9, 135,8, 135,6, 131,6, 130,9, 126,9, 123,8, 122,9, 63,9, 54,7, 50,0, 37,5, 36,8, 36,7, 31,6, 25,5.

Приклад 225

Синтез ізопропілового ефіру N-(8-хінолінсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2, із заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 9,05-9,03 (м, 1H), 8,53-8,49 (м, 1H), 8,26-8,22 (м, 1H), 8,08-8,05 (м, 1H), 7,65-7,60 (м, 1H), 7,56-7,52 (м, 1H), 7,19 (д, 2H), 7,06 (д, 1H), 7,00 (д, 2H), 5,17 (д, 1H), 4,94 (м, 1H), 7,74-4,78 (м, 2H), 4,66 (с, 1H), 3,08-2,99 (м, 8H), 1,20-1,16 (м, 12H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,2, 168,9, 154,9, 151,5, 150,6, 144,2, 136,7, 134,4, 134,4, 133,1, 130,3, 129,2, 125,5, 122,3, 121,7, 73,2, 69,3, 54,8, 53,3, 50,6, 37,6, 36,6, 36,3, 29,2, 24,1, 21,5, 21,4.

Приклад 226

Синтез N-(8-хінолінсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 225 з використанням процедури, описаної у способі 7.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ 9,06-9,04 (м, 1H), 8,45-8,39 (м, 2H), 8,23-8,14 (м, 1H), 7,72-7,61 (м, 2H), 7,32 (д, 2H), 7,03 (д, 2H), 5,12 (д, 1H), 4,87 (д, 1H), 4,69-4,64 (м, 2H), 3,28-3,02 (м, 5H), 2,98 (с, 2H), 1,18 (с, 3H), 1,08 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ 174,1, 171,8, 157,1, 152,9, 152,0, 145,5, 138,4, 137,3, 135,8, 135,6, 135,1, 131,8, 130,9, 126,8, 123,8, 122,9, 73,7, 55,9, 54,8, 51,7, 37,6, 36,8, 36,7, 30,2, 25,0.

Приклад 227

Синтез ізопропілового ефіру N-(3-сульфонамідо-4-хлор-бензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 8,45 (д, 1H), 7,91 (д, 1H), 7,67 (д, 1H), 7,13 (д, 2H), 7,06 (д, 1H), 7,01 (д, 2H), 5,90 (ушир.с, 2H), 5,06-5,02 (м, 1H), 4,79-4,72 (м, 1H), 4,14-4,10 (м, 1H), 3,42-3,39 (м, 1H), 3,25-3,14 (м, 2H), 3,07 (с, 3H), 3,04-2,97 (м, 1H), 2,96 (с, 3H), 1,98-1,96 (м, 1H), 1,72-1,62 (м, 3H), 1,28-1,25 (м, 6H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,8, 170,7, 155,1, 150,6, 141,4, 136,9, 136,1, 132,9, 132,8, 131,9, 130,3, 128,7, 121,9, 69,8, 62,1, 53,3, 49,6, 36,9, 36,6, 36,4, 30,4, 24,3, 21,6, 21,6.

Приклад 228

Синтез ізопропілового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(1-оксотіоморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 182, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,77 (д, 2H), 7,72 (д, 2H), 7,33 (м, 2H), 7,20 (м, 2H), 7,12 (д, 2H), 7,01 (м, 2H), 5,10 (м, 1H), 5,01 (м, 1H), 4,84 (м, 1H), 4,75 (м, 1H), 3,80 (м, 3H), 3,05 (м, 4H), 2,96 (м, 3H), 2,74 (м, 1H), 2,42 (м, 4H), 1,30-1,20 (м, 6H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,6, 170,4, 166,8, 166,7, 154,9, 150,7, 150,6, 145,1, 144,8, 135,8, 135,5, 132,7, 130,6, 130,4, 130,3, 130,0, 127,7, 127,1, 122,4, 121,8, 69,8, 69,4, 55,8, 53,7, 52,9, 50,8, 48,2, 47,9, 42,0, 41,2, 38,4, 36,6, 36,5, 36,3, 31,2, 21,5, 21,5.

Приклад 229

Синтез трет-бутилового ефіру N-(2,4-дифторбензолсульфоніл)-L-(1-оксотіоморфолін-3-карбоніл)-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 182, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,91 (м, 1H), 7,30 (м, 2H), 6,97 (м, 4H), 4,71 (м, 1H), 4,55 (м, 1H), 3,90 (м, 2H), 3,77 (м, 1H), 3,11 (м, 4H), 2,85 (м, 3H), 2,80 (м, 1H), 2,60 (м, 2H), 1,46 (с, 9H), 1,39 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,0, 168,0, 167,9, 166,4, 166,2, 164,6, 164,4, 162,7, 161,4, 161,2, 157,9, 157,8, 154,8, 150,6, 150,4, 132,8, 132,5, 132,4, 130,9, 130,4, 130,1, 123,3, 123,1, 122,2, 121,6, 121,1, 122,6, 122,2, 111,9, 106,6, 106,3, 105,9, 82,8, 82,3, 55,8, 54,1, 53,2, 51,6, 49,2, 48,7, 43,1, 42,3, 38,7, 36,5, 36,2, 31,8, 27,7.

Приклад 230

Синтез 2,2-диметилпропілового ефіру N-(1-метилпіразол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Продукт з прикладу 161 (1м, 0,72ммоль) розчиняли в неопентиловому спирті (5мл). Додавали ізопропоксид титану (IV) (260мг, 0,9ммоль), і суміш нагрівали при 100°C в атмосфері інертного газу протягом 48год. Надлишок неопентилового спирту видаляли при зниженому тиску, і залишок очищали шляхом хроматографії на випарній колонці (силікагель, 1% MeOH у CHCl_3) з одержанням зазначеної в заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини (1,02м, 97%).

Фізичні дані були наступними:

MS(+) ESI[M+H]⁺ 610; [M+NH₄]⁺ 627 (100%).

Аналіз для C₂₉H₃₉N₅O₇S: Розраховано: C, 53,18; H, 6,45; N, 11,49.

Знайдено: C, 53,46; H, 6,38; N, 11,06.

Приклад 231

Синтез 2,2-диметилпропілового ефіру N-(піридин-3-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Продукт прикладу 173 піддавали процедурі трансестерифікації, описаної для одержання у прикладі 230. Сполуку очищали шляхом хроматографії на випарній колонці (силікагель, 1% MeOH у CHCl_3) з наступною перекристалізацією з етилацетату з одержанням зазначеної в заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини (720мг, 47%).

Фізичні дані були наступними:

Аналіз для C₂₈H₃₈N₄O₇S₂: Розраховано: C, 55,43; H, 6,31; N, 9,23.

Знайдено: C, 55,37; H, 6,32; N, 9,22.

Приклад 232

Синтез циклопропілметилового ефіру N-(1-метилпіразол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Продукт прикладу 161 піддавали процедурі трансестерифікації, описаної для одержання у прикладі 230. Зазначену в заголовку сполуку одержували у вигляді білої твердої речовини після хроматографії на випарній колонці (силікагель, 1% MeOH у CHCl_3) (860мг, 70%). Фізичні дані були наступними:

Аналіз для C₂₆H₃₅N₅O₇S₂: Розраховано: C, 52,6; H, 5,94; N, 11,8.

Знайдено: C, 52,49; H, 5,93; N, 11,62.

Приклад 233

Синтез метилового ефіру N-(1-метилпіразол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 161, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Фізичні дані були наступними:

MS (+) ESI[M+H]⁺ 554; [M+NH₄]⁺ 571 (100%).

Аналіз для C₂₃H₃₁N₅O₇S₂·0,2EtOAc: Розраховано: C, 50,04; H, 5,75; N, 12,26.

Знайдено: C, 50,12; H, 5,69; N, 12,19.

Приклад 234

Синтез етилового ефіру N-(піридин-3-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)-тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Продукт прикладу 173 піддавали процедурі трансестерифікації, описаної для одержання у прикладі 230. Сполуку очищали шляхом хроматографії на випарній колонці (силікагель, 2% MeOH у CHCl_3), з наступною перекристалізацією з етилацетату з одержанням зазначеної в заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини (1,2м, 61%).

Фізичні дані були наступними:

Аналіз для $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_7\text{S}_2$: Розраховано: C, 53,18; H, 5,71; N, 9,92.

Знайдено: C, 53,14; H, 5,72; N, 9,57.

Приклад 235

Синтез циклопропілметилового ефіру N-(піридин-3-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Продукт прикладу 173 піддавали процедурі трансестерифікації, описаної для одержання у прикладі 230. Сполуку виділяли у вигляді білої твердої речовини після хроматографії на випарній колонці (силікагель, 2% MeOH у CHCl_3) і перекристалізації з EtOAc/гексан (1м, 65%).

Фізичні дані були наступними:

Аналіз для $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}_2$: Розраховано: C, 54,9; H, 5,8; N, 9,48.

Знайдено: C, 54,77; H, 5,65; N, 9,46.

Приклад 236

Синтез 2-метоксифенілового ефіру N-(1-метилпіразол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

До розчину сполуки прикладу 139 (1,79м, 3,31ммоль), 2-метоксифенолу (0,45м, 3,64ммоль) і BOP (1,61м, 3,64ммоль) у метиленхлориді (25мл) при 0°C додавали триетиламін (0,7мл, 4,97ммоль). Потім реакційну суміш повільно нагрівали до 25°C, після чого її перемішували в атмосфері азоту протягом 24год. Взаємодію зупиняли додаванням 100мл насиченого сольового розчину й екстрагували EtOAc. Органічний екстракт послідовно промивали 2н HCl (3 рази), насиченим розчином бікарбонату натрію (3х) і насиченим сольовим розчином (2х), сушили над MgSO_4 , і упарювали до 2,1м неочищеного продукту. Після хроматографії на випарній колонці (елюант: 96:4 метиленхлорид:EtOAc) одержували 1,85м білої речовини, що після розтирання з гексаном давало 1,68м (79%) білих кристалів, т.п. 72-75°C.

Фізичні дані були наступними:

Аналіз для $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_8\text{S}_2$: Розраховано: C, 59,94; H, 5,46; N, 10,85.

Знайдено: C, 53,45; H, 5,62; N, 10,31.

Приклад 237

Синтез н-бутилового ефіру N-(1-метилпіразол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Розчин сполуки прикладу 139 (2г) у н-бутанолі (50мл) насичували при охолодженні на льоді газоподібним HCl. Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 36год., упарювали у вакуумі майже до сухості, потім розподіляли між 5% NaHCO_3 і хлороформом. Органічний шар сушили й упарювали у вакуумі з наданням 900мг зазначеної в заголовку сполуки.

Фізичні дані були наступними:

MS: [(+)ESI], $[\text{M}+\text{H}]^+$ 596.

Приклад 238

Синтез н-пропілового ефіру N-(1-метилпіразол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Розчин N-(1-метилпіразол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну (2г) у 2-пропанолі (50мл) насичували при охолодженні на льоді газоподібним HCl. Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 36 годин, упарювали у вакуумі майже до сухості, потім розподіляли між 5% NaHCO_3 і хлороформом. Органічний шар сушили й упарювали у вакуумі з наданням 1500мг зазначеної в заголовку сполуки.

Фізичні дані були наступними:

MS: [(+)ESI], $[\text{M}+\text{H}]^+$ 582.

Приклад 239

Синтез 2,2-диметилпропіонілоксиметилового ефіру N-(1-метилпіразол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)-фенілаланіну

Йодид калію (324мг) однократно додавали до суміші сполуки прикладу 139 (1,08г), хлорметилпівалату (294мг) і порошкоподібного K_2CO_3 (222мг) у DMF (5мл). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі, розподіляли між водою (12мл) і етилацетатом (60мл). Відділений органічний шар промивали крижаним 0,1н тіосульфатом натрію, водою і сольовим розчином, потім сушили над MgSO_4 , фільтрували й упарювали у вакуумі з виходом 750мг зазначеної в заголовку сполуки.

Фізичні дані були наступними:

MS: [(+)ESI], $[\text{M}+\text{H}]^+$ 654.

Приклад 240

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-фенілпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, загалом описаній у прикладі 4, із заміною придатних вихідних матеріалів. Одержували білу тверду речовину, т.п. 60-65°C.

Фізичні дані були наступними:

MS(+ESI) 694,3 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$.

Аналіз для $\text{C}_{36}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_7\text{S}$: 0,5 $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$: Розраховано: C, 63,31; H, 6,71; N, 7,77.

Знайдено: C, 63,12; H, 6,58; N, 7,69.

Приклад 241

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4'-(етоксикарбоніл)піперидин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Карбамат одержували шляхом обробки Tos-Pro-Tyr-трет-бутилового ефіру 4-нітрофенілхлорформіатом, з наступним додаванням етилзоніпекотинату (триетиламін, метиленхлорид, охолодження до 0°C, наступне перемішування при кімнатній температурі протягом ночі). Неочищений продукт очищали шляхом хроматографії на випарній колонці (силікагель, 95:5 EtoAc:Et₃N) з утворенням білої твердої речовини (0,78м, 39%).

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400МГц) δ 8,15 (д, 1H, J=7,68Гц); 7,70 (д, 2H, J=8,34Гц); 7,40 (д, 2H, J=7,90Гц); 7,22 (д, 2H, J=8,56Гц); 7,00 (д, 2H, J=8,56Гц); 4,37 (м, 1H), 4,07 (кв., 2H, J=7,14, 14,08Гц); 4,03 (м, 2H); 3,90 (м, 1H); 3,34 (м, 1H); 3,09 (м, 2H); 3,00 (м, 3H); 2,59 (м, 1H); 2,39 (с, 3H); 1,87 (м, 2H); 1,58 (м, 5H); 1,41 (м, 1H); 1,35 (с, 9H); 1,18 (т, 3H, 7,14Гц).

ІЧ (KBr, см⁻¹): 3410, 2990, 2950, 1725, 1680, 1510, 1430, 1355, 1220, 1200, 1170, 1000, 675, 595.

MS((+)ESI, m/z(%)) 689 (100[M+NH₄]⁺); 691 (37 [M+NH₄]⁺).

Аналіз для C₃₄H₄₅N₃O₉S: Розраховано: C, 60,79; H, 6,75; N, 6,25.

Знайдено: C, 60,59; H, 6,67; N, 6,22.

Приклад 242

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N-(4'-(2'-аміноетил)-морфоліно)карбамілокси)фенілаланіну
Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 152 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400МГц) δ 12,75 (с, 1H); 8,08 (д, 1H); 7,68 (д, 2H); 7,60 (т, 1H); 7,39 (д, 2H); 7,21 (д, 2H); 6,97 (д, 2H); 4,46 (м, 1H); 4,08 (м, 1H); 3,56 (м, 4H); 3,26 (м, 3H); 3,09 (м, 2H); 2,94 (м, 1H); 2,49 (с, 6H); 2,48 (с, 3H); 1,5(м, 3H); 1,38 (м, 1H).

ІЧ (KBr, см⁻¹) 3400, 2975, 1725, 1650, 1500, 1350, 1150, 650, 575, 550.

MS((-)ESI, m/z(%)) 587 (100 [M-H]⁺).

Аналіз C₂₈H₃₆N₄O₈S·HCOOH·0,5H₂O: Розраховано: C, 54,11; H, 6,11; N, 8,70.

Знайдено: C, 53,96; H, 6,02; N, 8,68.

Приклад 243

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-[4-(карбоксі)піперидин-1-ілкарбонілокси]фенілаланіну
Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 241 з використанням процедур, описаних у способах 6 і 11.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400МГц) δ 12,50 (ушир.с, 2H); 8,08 (д, 1H, J=7,90Гц); 7,69 (д, 2H, J=8,34Гц); 7,39 (д, 2H, J=7,90Гц); 7,22 (д, 2H, J=8,56Гц); 6,99 (д, 2H, J=8,56Гц); 4,46 (м, 1H); 4,09 (м, 1H); 4,00 (м, 1H); 3,90 (м, 1H); 3,30 (м, 1H); 3,09 (м, 3H); 2,95 (м, 2H); 2,49 (м, 1H); 2,38 (с, 3H); 1,86 (м, 2H); 1,36-1,61 (м, 6H).

ІЧ (KBr, см⁻¹) 3400, 2960, 1720, 1535, 1430, 1350, 1200, 1160, 670, 590, 550.

MS((+)ESI, m/z(%)) 605 (100[M+NH₄]⁺).

Аналіз для C₂₈H₃₃N₃O₉S·H₂O: Розраховано: C, 55,53; H, 5,65; N, 6,94.

Знайдено: C, 55,23; H, 5,82; N, 6,59.

Приклад 244

Синтез ізопропілового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-біс-(2-гідроксіетил)карбамілокси)фенілаланіну

Карбамат одержували шляхом обробки Tos-Pro-Tyr-iPr ефіру 4-нітрофенілхлорформіатом, з наступним додаванням діетаноламіну (триетиламін, метиленхлорид, охолодження до 0°C, наступне перемішування при кімнатній температурі протягом ночі). Неочищений продукт очищали шляхом хроматографії на випарній колонці (силікагель, 98:2 EtoAc:EtOH) з утворенням білої піни (0,180м, 28%).

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400МГц) δ 8,26 (д, 1H, J=7,90Гц); 7,69 (д, 2H, J=8,12Гц); 7,40 (д, 2H, J=8,12Гц); 7,23 (д, 2H, J=8,56Гц); 6,99 (д, 2H, J=8,56Гц); 4,87 (м, 1H); 4,83 (т, 1H, J=5,49Гц); 4,76 (т, 1H, J=5,49Гц); 4,42 (м, 1H); 4,08 (м, 1H); 3,58 (м, 2H); 3,51 (м, 2H); 3,44 (м, 2H); 3,34 (м, 3H); 2,99-3,09 (м, 3H); 2,39 (с, 3H); 1,59 (м, 3H); 1,41 (м, 1H); 1,16 (д, 3H, J=6,15Гц); 1,12 (д, 3H, J=6,15Гц).

ІЧ (KBr, см⁻¹) 3420, 2940, 1725, 1535, 1670, 1520, 1460, 1410, 1350, 1220, 1160, 1110, 670, 600, 550.

MS((+)ESI, m/z(%)) 606 (15 [M+H]⁺); 623 (100[M+NH₂]⁺).

Аналіз C₂₉H₃₉N₃O₉S·H₂O: Розраховано: C, 56,66; H, 6,56; N, 6,84.

Знайдено: C, 56,66; H, 6,41; N, 6,72.

Приклад 245

Синтез ізопропілового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-[3-(гідроксиметил)піперидин-1-ілкарбонілокси]фенілаланіну

Карбамат одержували шляхом обробки Tos-Pro-Tyr-iPr ефіру 4-нітрофенілхлорформіатом, з наступним додаванням 3-пеперидинметанолу (триетиламін, метиленхлорид, охолодження до 0°C, наступне перемішування при кімнатній температурі протягом ночі). Неочищений продукт очищали шляхом хроматографії на випарній колонці (силікагель, 3:2 EtoAc:EtOH) з утворенням білої піни (0,519м, 67%).

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400МГц) δ 8,26 (д, 1H, J=7,90Гц); 7,69 (д, 2H, J=8,12Гц); 7,40 (д, 2H, J=8,12Гц); 7,22 (д, 2H, J=8,56Гц); 6,98 (д, 2H, J=8,34Гц); 4,85 (м, 1H); 4,57 (ушир.с, 1H); 4,42 (м, 1H); 3,99-4,09 (м, 3H); 3,85 (м, 1H); 3,31 (м, 1H); 3,22 (м, 1H); 2,91-3,10 (м, 4H); 2,80 (м, 1H); 2,55 (м, 1H); 2,39 (с, 3H); 1,51-1,72 (м, 6H); 1,42 (м, 2H); 1,16 (д, 3H, J=6,15Гц); 1,11 (д, 3H, J=6,15Гц).

ІЧ (KBr, см⁻¹) 3400, 2990, 2940, 2880, 1725, 1520, 1430, 1350, 1220, 1165, 1100, 660, 600, 550.

MS((-)ESI, m/z(%)) 614 (30 [M-H]).

Аналіз C₃₁H₄₁N₃O₈S: Розраховано: C, 60,47; H, 6,71; N, 6,82.

Знайдено: C, 59,83; H, 6,61; N, 6,59.

Приклад 246

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-трифторметансульфонілпиперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, загалом описаній у прикладі 128, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Фізичні дані були наступними:

MS (+ESI): 733 [M+H]⁺.

Аналіз C₃₁H₃₉F₃N₄O₉S₂·0,10C₄H₈O₂: Розраховано: C, 50,20; H, 5,40; N, 7,55.

Знайдено: C, 50,25; H, 5,46; N, 7,07.

Приклад 247

Синтез трет-бутилового ефіру N-(4-(N-фенілсечовина)бензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Суміш за прикладом 107 (250мг, 0,51ммоль), фенілізоціанат (62мг, 0,56ммоль) і триетиламін (76мкл, 0,56ммоль) нагрівали зі зворотним холодильником в атмосфері аргону. Кип'ятіння зі зворотним холодильником продовжували протягом ночі. Розчинник видаляли при зниженому тиску, і залишок очищали шляхом хроматографії на випарній колонці (силікагель, гексан:EtOAc 1:1, потім EtOAc) з одержанням зазначеної в заголовку сполуки як білуватої піни (160мг, 46%), т.пл. 112-115°C.

Фізичні дані були наступними:

MS (+ESI) [M+NH₄]⁺ 697 (100%).

Приклад 248

Синтез ізопропілового ефіру N-(2-трифторацетил-1,2,3,4-тетрагідроізохінолін-7-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)-фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,70-7,66 (м, 2H), 7,35-7,30 (м, 1H), 7,27-7,21 (м, 1H), 7,14-7,10 (м, 2H), 7,01 (д, 2H), 5,09-4,95 (м, 1H), 4,89-4,75 (м, 2H), 4,14-4,07 (м, 1H), 3,93-3,85 (м, 2H), 3,35-3,20 (м, 2H), 3,13-2,97 (м, 9H), 2,05-2,01 (м, 1H), 1,63 (1,50 (м, 3H), 1,20 (д, 6H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,7, 170,6, 170,5, 156,3, 155,8, 154,9, 150,6, 140,1, 139,2, 135,1, 135,1, 13,2, 133,0, 133,0, 132,9, 130,2, 130,1, 129,9, 126,9, 126,4, 126,3, 125,8, 121,7, 118,3, 114,5, 69,6, 62,1, 62,0, 53,2, 49,6, 46,6, 46,5, 45,1, 42,7, 40,9, 37,1, 36,6, 36,3, 30,1, 30,0, 29,2, 27,8, 24,2, 24,2, 21,6, 21,6.

Приклад 249

Синтез ізопропілового ефіру N-(1-метилпіразол-3-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Заміна N-метилпіразол-3-сульфонілхлориду (див. заявку на видачу Європейського патенту, 095925) і дії за способом одержання, описаним у прикладі 56, приводили до одержання зазначеної в заголовку сполуки.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,45 (д, 1H), 7,21 (д, 2H), 7,09 (д, 1H), 7,01 (д, 2H), 6,71 (д, 1H), 5,03-4,98 (м, 1H), 4,87-4,84 (м, 1H), 4,60-4,59 (м, 2H), 4,05 (с, 1H), 3,97 (с, 3H), 3,12-3,01 (м, 5H), 2,98 (с, 3H), 1,22-1,15 (м, 12H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 168,3, 154,9, 150,7, 146,7, 133,0, 131,9, 130,3, 121,7, 108,9, 73,5, 69,5, 54,7, 53,3, 50,7, 39,9, 37,7, 36,6, 36,3, 28,8, 24,1, 21,5, 21,5.

Приклад 250

Синтез N-(1-метилпіразол-3-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 249 з використанням процедури, описаної у способі 7.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CD₃OD): δ 8,25 (д, 1H), 7,76 (д, 1H), 7,32 (д, 2H), 7,01 (д, 2H), 6,70 (д, 1H), 4,74-4,71 (м, 1H), 4,68 (д, 1H), 4,56 (д, 1H), 4,12 (с, 1H), 3,97 (с, 3H), 3,24-3,07 (м, 5H), 2,97 (с, 3H), 1,14 (с, 3H), 1,13 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CD₃OD): δ 174,1, 171,4, 157,0, 151,9, 148,2, 135,7, 134,2, 131,8, 122,9, 109,6, 74,4, 55,6, 55,0, 51,5, 40,0, 37,6, 36,8, 36,7, 29,6, 24,8.

Приклад 251

Синтез ізопропілового ефіру N-(піридин-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, загалом описаній для одержання у прикладі 56, у якій N-оксид 4-піридинсульфонілхлориду використовували замість 3-піридинсульфонілхлориду (див. Marsais і співавтори, J.Org.Chem. 1987, 52, 1133-1136). Дезоксигенацію N-оксиду проводили з використанням процедури Aoyagi і співробітників, Synthesis 1997, 891.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 8,89-8,87 (м, 2H), 7,72-7,70 (м, 2H), 7,19 (д, 2H), 7,01 (д, 2H), 6,79 (д, 1H), 5,05-5,01 (м, 1H), 4,85-4,82 (м, 1H), 4,58 (д, 1H), 4,45 (д, 1H), 3,91 (с, 1H), 3,11-3,02 (м, 5H), 2,99 (с, 3H), 1,28-1,16 (м, 12H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 167,7, 154,9, 151,5, 150,7, 144,2, 132,7, 130,3, 121,8, 120,9, 73,6, 69,7, 54,6, 53,1, 50,4, 37,5, 36,6, 36,3, 29,1, 23,6, 21,6, 21,5.

Приклад 252

Синтез N-(піридин-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 251 з використанням процедури, описаної у способі 7.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CD₃OD): δ 8,78 (д, 2H), 7,42 (д, 1H), 7,69 (д, 2H), 7,35 (д, 2H), 7,06 (д, 2H), 4,69-4,61 (м, 3H), 4,16 (с, 1H), 3,25-3,19 (м, 1H), 3,13-3,05 (м, 4H), 2,97 (с, 3H), 1,25 (с, 6H).

¹³C ЯМР (CD₃OD): δ 174,1, 170,5, 157,0, 152,2, 152,0, 147,2, 135,8, 131,8, 123,1, 122,7, 73,9, 55,6, 54,9, 54,4, 37,5, 36,8, 36,7, 30,1, 24,8.

Приклад 253

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапропіл-L-4-(N-метил-N-(2-диметиламіноетил)карбамілокси)-фенілаланіну

Розчин вихідної кислоти (500мг), трет-бутилового ефіру (2S)-2-аміно-3-{4-[(2-диметиламіноетил)метилкарбамілокси]феніл}пропіонової кислоти (730мг), HOBt (235мг) і 4-метилморфоліну (0,87мл) у DMF (10мл) перемішували на крижаній бані при 0°C. Гідрохлорид 1-[3-(диметиламіно)пропіл]-3-етилкарбодііміду (360мг) додавали до розчину. Крижану баню видаляли через 10 хвилин. Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 3 годин. Додавали етилацетат (20мг). Розчин промивали 2 рази насиченим розчином NaHCO₃ (30мл), потім промивали сольовим розчином. Розчин сушили за допомогою MgSO₄. Розчинник упарювали у вакуумі, і залишок піддавали хроматографії на випарній колонції із силікагелем з одержанням 385 мг зазначеної в заголовку сполуки.

Фізичні дані були наступними:

MS: [(+)ESI], [M+H]⁺ 663.

Приклад 254

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-пропіл-L-4-(N-метил-N-2-диметиламіноетил)карбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 253, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Фізичні дані були наступними:

MS: [(+)ESI], [M+H]⁺ 617.

Приклад 255

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапропіл-L-4-(N-метил-N-(2-диметиламіноетил)карбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 253 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Фізичні дані були наступними:

MS: [(+)ESI], [M+H]⁺ 607.

Приклад 256

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-пропіл-L-4-(N-метил-N-(2-диметиламіноетил)карбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 254 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Фізичні дані були наступними:

MS: [(+)ESI], [M+H]⁺ 561.

Приклад 257

Синтез трет-бутилового ефіру N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапропіл-L-3-хлор-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)-фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 4, і з заміною придатних вихідних матеріалів, т.пл.: 64-67°C.

Фізичні дані були наступними:

MS: [M+H]⁺ 699.

Аналіз для C₃₁H₄₀ClFN₄O₇S₂·H₂O: Розраховано: C, 51,90; H, 5,9; N, 7,8.

Знайдено: C, 51,53; H, 5,50; N, 7,62.

Приклад 259

Синтез N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапропіл-L-3-хлор-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 258 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Фізичні дані були наступними:

MS: [M+1] 603.

Аналіз для C₂₄H₂₇FN₃O₇S₂: Розраховано: C, 49,02; H, 4,63; N, 7,15.

Знайдено: C, 49,25; H, 4,89; N, 6,73.

Приклад 260

Синтез трет-бутилового ефіру N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапропіл-L-3-хлор-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 82, і з заміною придатних вихідних матеріалів, т.пл. 111-114°C.

Фізичні дані були наступними:

MS: +ESI [M+NH₄]⁺ 719.

Аналіз для C₃₀H₃₇ClFN₃O₇S: Розраховано: C, 50,02; H, 5,46; N, 5,8.

Знайдено: C, 50,23; H, 5,10; N, 5,50.

Приклад 261

Синтез ізопропілового ефіру N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапропіл-L-3-хлор-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 82, і з заміною придатних вихідних матеріалів, т.пл. 77-8 ГС.

Фізичні дані були наступними:

MS: [M+NH₄]⁺ 705.

Аналіз для C₂₉H₃₅ClFN₃O₇S₃: Розраховано: C, 50,61; H, 5,13; N, 6,1.

Знайдено: C, 50,33; H, 5,07; N, 5,94.

Приклад 262

Синтез ізопропілового ефіру N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапропіл-L-3-хлор-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2, і з заміною придатних вихідних матеріалів, т.пл. 65-69°C.

Фізичні дані були наступними:

MS: $[M+NH_4]^+$ 647.

Аналіз для $C_{27}H_{33}ClFN_3O_7S_2$: Розраховано: C, 51,46; H, 5,28; N, 6,4.

Знайдено: C, 51,29; H, 5,19; N, 6,50.

Приклад 263

Синтез ізопропілового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-3-хлор-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2, і з заміною придатних вихідних матеріалів, т.пл. 68-72°C.

Фізичні дані були наступними:

MS: $[M+H]^+$ 626.

Аналіз для $C_{28}H_{36}Cl_3O_7S_2$: Розраховано: C, 53,77; H, 5,80; N, 6,71.

Знайдено: C, 53,26; H, 5,8; N, 6,63.

Приклад 264

Синтез ізопропілового ефіру N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-3-хлор-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)-фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 4, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Фізичні дані були наступними:

MS: $[M+H]^+$ 685.

Аналіз для $C_{30}H_{38}Cl_4O_7$: Розраховано: C, 52,59; H, 5,59; N, 8,18.

Знайдено: C, 52,09; H, 5,48; N, 7,77.

Приклад 265

Синтез ізопропілового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-3-хлор-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Фізичні дані були наступними:

MS: $[M+H]^+$ 580.

Аналіз для $C_{27}H_{34}Cl_3O_7S \cdot 0,5H_2O$: Розраховано: C, 55,04; H, 6,00; N, 7,13.

Знайдено: C, 55,06; H, 5,71; N, 6,93.

Приклад 266

Синтез ізопропілового ефіру N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-3-хлор-4-(4-(2'-піридил)піперазин-1-ілкарбонілокси)-фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 4, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Фізичні дані були наступними:

MS: $[M+H]^+$ 748.

Аналіз для $C_{34}H_{39}ClFN_5O_7S_2$: Розраховано: C, 54,57; H, 5,25; N, 9,3.

Знайдено: C, 54,26; H, 5,10; N, 9,07.

Приклад 267

Синтез трет-бутилового ефіру N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-3-хлор-4-(4-(2'-піридил)піперазин-1-ілкарбонілокси)-фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 4 і з заміною придатних вихідних матеріалів, т.пл. 80-86°C.

Фізичні дані були наступними:

MS: $[M+H]^+$ 762.

Аналіз для $C_{35}H_{41}ClFN_5O_7S_2$: Розраховано: C, 55,14; H, 5,42; N, 9,19.

Знайдено: C, 54,67; H, 5,40; N, 8,69.

Приклад 268

Синтез ізопропілового ефіру N-(4-нітробензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Фізичні дані були наступними:

Аналіз для $C_{26}H_{32}N_4O_9S$: Розраховано: C, 54,16; H, 5,59; N, 9,72.

Знайдено: C, 53,69; H, 5,24; N, 9,52.

Приклад 269

Синтез ізопропілового ефіру N-(4-амінобензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 268 з використанням процедури, описаної у способі 4.

Фізичні дані були наступними:

Аналіз для $C_{26}H_{34}N_4O_7S$: Розраховано: C, 57,13; H, 6,27; N, 10,25.

Знайдено: C, 56,30; H, 6,12; N, 10,05.

Приклад 270

Синтез ізопропілового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 82, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Фізичні дані були наступними:

Аналіз для $C_{29}H_{37}N_3O_7S_2$: Розраховано: С, 57,69; Н, 6,18; N, 6,96.

Знайдено: С, 57,36; Н, 5,99; N, 6,76.

Приклад 271

Синтез ізопропілового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-фенілкарбамілпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 4, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400МГц) δ 8,62 (с, 1H); 8,11 (д, 1H); 7,73 (д, 2H); 7,45 (м, 4H); 7,26 (м, 3H); 7,04 (м, 2H); 6,95 (м, 1H); 6,25 (д, 1H); 4,90 (м, 1H); 4,50 (м, 1H); 4,11 (м, 1H); 3,6 (ушир., 4H); 3,4 (ушир., 4H); 3,10 (м, 2H); 3,00 (м, 1H); 2,40 (с, 3H); 1,60 (м, 3H); 1,40 (м, 1H); 1,18 (д, 3H); 1,12 (д, 3H).

ІЧ (KBr, cm^{-1}) 3400-3500 (ушир.), 2950, 2900, 1725, 1650, 1540, 1450, 1240, 1210, 1000, 760, 675, 580, 540.

MS ((+) ESI, m/z(%)) 706 (100 [M+H] $^+$).

Аналіз для $C_{36}H_{43}N_5O_8S \cdot 0,35EtOAc$: Розраховано: С, 60,98; Н, 6,27; N, 9,51.

Знайдено: С, 50,31; Н, 6,16; N, 9,33.

Приклад 272

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(4-фенілкарбамілпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 271 з використанням процедури, описаної у способі 7.

Дані ЯМР були наступними:

1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400МГц) δ 12,8 (с, 1H); 8,62 (с, 1H); 8,11 (д, 1H); 7,73 (д, 2H); 7,45 (м, 4H); 7,26 (м, 3H); 7,04 (м, 2H); 6,95 (м, 1H); 6,25 (д, 1H); 4,50 (м, 1H); 4,11 (м, 1H); 3,6 (ушир., 4H); 3,4 (ушир., 4H); 3,10 (м, 2H); 3,00 (м, 1H); 2,40 (с, 3H); 1,60 (м, 3H); 1,40 (м, 1H).

ІЧ (KBr, cm^{-1}) 3400, 1725, 1650, 1540, 1450, 1240, 1210, 1000, 760, 675, 580, 540.

MS ((-) ESI, m/z(%)) 662 (100[M-H] $^+$).

Приклад 273

Синтез ізопропілового ефіру N-(1-н-бутилпіразол-4-сульфоніл)-L-(5,5-диметил)тіапроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 137, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

1H ЯМР ($CDCl_3$): δ 7,89 (с, 1H), 7,83 (с, 1H), 7,21 (д, 2H), 7,06 (д, 1H), 7,02 (д, 2H), 5,04 (септ., 1H), 4,89-4,82 (м, 1H), 4,57 (д, 1H), 4,41 (д, 1H), 4,16 (т, 2H), 3,78 (с, 1H), 3,14 (дд, 1H), 3,06 (дд, 1H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,85 (пент., 2H), 1,36-1,23 (м, 2H), 1,27 (с, 3H), 1,24 (д, 3H), 1,21 (д, 3H), 1,16 (с, 3H).

^{13}C ЯМР ($CDCl_3$): δ 170,4, 168,3, 154,9, 150,7, 139,2, 131,8, 130,3, 121,8, 117,0, 73,8, 69,6, 54,8, 53,2, 52,7, 50,6, 37,7, 36,6, 36,3, 31,8, 28,9, 24,0, 21,6, 21,5, 19,4, 13,3.

Приклад 274

Синтез ізопропілового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-(піридин-4-ілкарбоніл)піперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 4, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400МГц) δ 8,69 (дд, 2H), 8,28 (д, 1H); 7,71 (д, 2H); 7,43 (м, 4H); 7,26 (д, 2H); 7,04 (д, 2H); 4,86 (м, 1H); 4,42 (м, 1H); 4,05 (м, 1H); 3,4-3,8 (ушир.м, 9H); 3,05 (м, 3H); 2,40 (с, 3H); 1,60 (м, 3H); 1,40 (м, 1H); 1,18 (д, 3H); 1,15 (д, 3H).

ІЧ (KBr, cm^{-1}) 3400, 1725, 1650, 1510, 1200, 1160, 1100, 1010, 650, 600, 550.

MS ((+)ESI, m/z(%)) 692 (100[M+H] $^+$).

Аналіз для $C_{35}H_{41}N_5O_8S \cdot 0,75H_2O$: Розраховано: С, 59,60; Н, 6,07; N, 9,93.

Знайдено: С, 59,45; Н, 5,86; N, 9,88.

Приклад 275

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-4-оксопроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 164, з використанням процедури, описаної у способі 11.

Фізичні дані були наступними:

MS ((-)ESI) [M-H] 516.

Приклад 276

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-транс-4-гідроксипроліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 165 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Фізичні дані були наступними:

MS ((-)ESI) [M-H] 518.

Приклад 277

Синтез ізопропілового ефіру N-(4-ціанобензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2, і з заміною придатних вихідних матеріалів, т.пл. 166-167°C.

Приклад 278

Синтез N-(4-амінобензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 107 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Фізичні дані були наступними:

Аналіз для $C_{23}H_{28}N_4O_7S$: Розраховано: С, 47,34; Н, 4,84; N, 9,60.

Знайдено: C, 47,57; H, 5,20; N, 8,75.

Приклад 279

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-4-оксопропіл-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Ацетонітрил (3мл) прохолоджували до -40°C (CH₃CN/сухий лід). Додавали оксалілхлорид (0,10мл). Трет-бутиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-4-гідроксипропіл-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну (300мг) і сухий ДМСО (0,008мл) розчиняли в ацетонітрилі (4мл) і додавали до зазначеного вище розчину. Реакційну суміш перемішували при -40°C протягом півгодини при сухих умовах. Триетиламін (0,33мл) додавали до розчину. Баню із сухим льодом видаляли через 5 хвилин. Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 1 години. Розчинник упарювали у вакуумі і додавали етилацетат (15мл). Суміш промивали водою (3х), потім промивали сольовим розчином. Розчин сушили протягом ночі над MgSO₄. Розчинник упарювали у вакуумі, і залишок наносили на стовпчик із силікагелем з одержанням 150мг зазначеної в заголовку сполуки, т.пл.84-85°C.

Приклад 280

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-пропіл-L-4-[3-(гідроксиметил)-піперидин-1-ілкарбонілокси]фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 4, і з заміною придатних вихідних матеріалів, т.пл.84-85°C.

Приклад 281

Синтез ізопропілового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(4,4-дифтор)пропіл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 2, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Фізичні дані були наступними:

MS: [(+) ESI], [M+NH₄]⁺ 599.

Приклад 282

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(4,4-дифтор)пропіл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 281 з використанням процедури, описаної у способі 7.

Фізичні дані були наступними:

MS: [(+) ESI], [M+NH₄] 557.

Приклад 283

Синтез ізопропілового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-пропіл-L-(4-бензоїлпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 4, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400МГц) δ 8,27 (д, 1H); 7,69 (д, 2H); 7,45 (м, 7H); 7,24 (д, 2H); 7,02 (д, 2H); 4,86 (м, 1H); 4,42 (м, 1H); 4,07 (м, 1H); 3,65 (ушир.с, 4H); 3,45 (ушир.с, 4H); 3,35 (м, 1H); 3,05 (м, 3H); 2,38 (с, 3H); 1,60 (м, 3H); 1,40 (м, 1H); 1,18 (д, 3H); 1,11 (д, 3H).

ІЧ (KBr, см⁻¹) 3400, 1725, 1675, 1625, 1510, 1425, 1350, 1250, 1175, 1110, 1010, 700, 660, 590, 550.

MS ((+) ESI, m/z (%)) 708 (100 [M+NH₂]⁺).

Аналіз для C₃₆H₄₂N₄O₈S·0,5H₂O: Розраховано: C, 61,79; H, 6,19; N, 8,01.

Знайдено: C, 61,64; H, 6Д0; N, 7,72.

Приклад 284

Синтез ізопропілового ефіру N-(1-метил-1H-імідазол-4-сульфоніл)-L-пропіл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Карбамат одержували шляхом обробки 1-метилімідазол-4-сульфоніл-Pro-Try-iPr ефіру 4-нітрофенілхлорформіатом, з наступним додаванням диметиламіну (триетиламін, метиленхлорид, 0°C, перемішування при кімнатній температурі протягом ночі). Неочищений продукт очищали шляхом хроматографії на випарній колонці (силікагель, 95:3:2 EtOAc:EtOH:Et₃N), з наступною перекристалізацією з EtOAc. Одержували білу тверду речовину, т.пл. 162-164°C (8,7м, 66%).

Фізичні дані були наступними:

Аналіз для C₂₄H₃₃N₅O₇S: Розраховано: C, 53,82; H, 6,21; N, 13,08.

Знайдено: C, 53,47; H, 6,13; N, 12,96.

Приклад 286

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)-пропіл-L-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 285 з використанням процедури, описаної у способі 11, т.пл. 116-118°C.

Приклад 287

Синтез ізопропілового ефіру N-(4-ціанобензолсульфоніл)-L-пропіл-L-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержують із заміною придатних вихідних матеріалів, т.пл. 70-71°C.

Приклад 288

Синтез метилового ефіру N-(4-амідинобензолсульфоніл)-L-пропіл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Метанол (сухий) прохолоджували до 0°C. HCl барботували в розчин протягом 15 хвилин з одержанням насиченого розчину. Додавали сполуку прикладу 277, і реакційну суміш перемішували при 0°C протягом 30 хвилин, потім при кімнатній температурі протягом 24 годин. Розчинник упарювали. Додавали NH₃ у метанолі (2М, 5мл). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 24 годин. Розчинник упарювали. Залишок очищали шляхом обернено-фазової ВЕРХ у CH₃CN:H₂O (20:80). З часом затримки, рівним 12,45 хвилин, продукт виділяли і сушили виморожуванів з наданням зазначеної в заголовку сполуки.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (у ДМСО): мультиплет на 1,47-1,55 м.ч.(1H), 1,63-1,72 м.ч.(3H), синглет на 2,87 м.ч.(3H), синглет на 3,02 м.ч.(3H), мультиплет на 3,05-3,10 м.ч.(2H), мультиплет на 3,17-3,22 м.ч.(1H), мультиплет на 3,37-3,42 м.ч.(1H), синглет на 3,62 м.ч.(3H), мультиплет на 4,21-4,23 м.ч.(1H), кватет на 4,48-4,56 м.ч.(1H), дублет на 7,00-7,03 м.ч.(2H), дублет на 7,23-7,26 м.ч.(2H), розширений пік на 7,20-7,50 м.ч., дублет на 8,02-8,03 м.ч.(4H), дублет на 8,48-8,52 м.ч.(1H).

Приклад 289

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-4-гідроксипроліл-L-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 4, і з заміною придатних вихідних матеріалів, т.пл. 80-82°C.

Приклад 290

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-4-гідроксипроліл-L-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну
Трет-бутиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-4-гідроксипроліл-L-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну (160мг) розчиняли в мурашиній кислоті (7мл). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі 6 годин. Розчинник упарювали, і залишок очищали з використанням обернено-фазової ВЕРХ у суміші 20:80 CH_3CN /вода. З часом затримки, рівним 5,85 хвилин, одержували 50мг зазначеної в заголовку сполуки, т.пл. 170-172°C.

Приклад 291

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-(4-бензоїлпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну
Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 283 з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400МГц) δ 12,8 (с, 1H); 8,27 (д, 1H); 7,69 (д, 2H); 7,45 (м, 7H); 7,24 (д, 2H); 7,02 (д, 2H); 4,42 (м, 1H); 4,07 (м, 1H); 3,65 (ушир.с, 4H); 3,45 (ушир.с, 4H); 3,35 (м, 1H); 3,05 (м, 3H); 2,38 (с, 3H); 1,60 (м, 3H); 1,40 (м, 1H).

ІЧ (KBr, cm^{-1}) 3400, 1725, 1675, 1625, 1510, 1425, 1350, 1260, 1175, 1110, 1010, 700, 660, 590, 550.

MS ((+)ESI, m/z(%)) 666 (100[M+NH $_4$] $^+$).

Аналіз для $\text{C}_{33}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_8\text{S} \cdot 0,66\text{H}_2\text{O}$: Розраховано: С, 60,00; Н, 5,69; N, 8,48.

Знайдено: С, 60,36; Н, 5,70; N, 7,81.

Приклад 292

Синтез метилового ефіру N-(4-амідинобензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладах 287 і 288.

Фізичні дані були наступними:

MS: [(+)ESI] [M+H] 604.

Приклад 293

Синтез N-(3-фторбензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбонілокси)фенілаланіну
Зазначену в заголовку сполуку одержували з продукту прикладу 166 з використанням процедури, описаної у способі 11, т.пл. 82-83°C.

Приклад 294

Синтез ізопропілового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-[N-метил-N-(2-(N'-метил-N'-толуолсульфоніламіно)етил)карбамілокси]-фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 4, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400МГц) δ 8,27 (д, 1H); 7,71 (д, 2H); 7,69 (д, 2H); 7,40 (м, 4H); 7,24 (д, 2H); 6,99 (д, 2H); 4,86 (м, 1H); 4,43 (м, 1H); 4,06 (м, 1H); 3,51 (м, 1H); 3,2-3,35 (м, 3H); 2,9-3,2 (м, що перекривається, 7H); 2,67 (д, 3H); 2,38 (с, 6H); 1,60 (м, 3H); 1,40 (м, 1H); 1,20 (д, 3H); 1,15 (д, 3H).

ІЧ (KBr, cm^{-1}) 3400, 2975, 2950, 1725, 1680, 1510, 1450, 1400, 1280, 1225, 1150, 1110, 800, 730, 675, 575, 550.

MS ((+) ESI, m/z(%)) 760 (100 [M+NH $_4$] $^+$).

Аналіз для $\text{C}_{36}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_9\text{S}_2$: Розраховано: С, 58,20; Н, 6,24; N, 7,54.

Знайдено: С, 57,90; Н, 6,30; N, 7,34.

Приклад 295

Синтез ізопропілового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-4-[N-(2-(N'-феніламінокарбонілокси)етил)карбамілокси]]фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній для одержання у прикладі 4, і з заміною придатних вихідних матеріалів.

Дані ЯМР були наступними:

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400МГц) δ 9,67 (с, 1H); 8,27 (д, 1H); 7,72 (д, 2H); 7,47 (д, 2H); 7,42 (д, 2H); 7,24 (м, 4H); 6,98 (м, 3H); 4,87 (м, 1H); 4,45 (м, 1H); 4,18 (м, 2H); 4,05 (м, 1H); 3,4 (м, 3H); 3,05 (м, 3H); 2,40 (с, 3H); 1,6 (м, 3H); 1,40 (м, 1H); 1,2 (д, 3H); 1,15 (д, 3H).

ІЧ (KBr, cm^{-1}) 3350, 2950, 1725, 1675, 1600, 1550, 1500, 1325, 1200, 1150, 1100, 650, 575, 525.

MS ((+)ESI, m/z(%)) 698 (100 [M+NH $_4$] $^+$).

Аналіз для $\text{C}_{34}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_9\text{S} \cdot 0,21\text{EtOAc} \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$: Розраховано: С, 59,08; Н, 6,07; N, 7,91.

Знайдено: С, 59,08; Н, 6,02; N, 7,80.

Приклад 296

Синтез ізопропілового ефіру N-(4-фторбензолсульфоніл)-L-4-(транс-гідрокси)проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурі, описаній у прикладі 2, і з заміною

№ експ.	R ¹	R ²	R ³	R ⁵	R ⁶
301	<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -NH-CH ₂ - (L-піперазиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
302	<i>n</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(2-(гідроксиметил)піролідин-1-іл-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
303	<i>n</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(2-(гідроксиметил)піролідин-1-іл-C(O)O-]бензил-	-ОН
304	<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(2-(CH ₃ OC(O)-)піролідин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
305	<i>n</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		3-хлор-4-[(тіоморфолін-4-іл)-C(O)O-]бензил-	-ОН
306	<i>n</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-ОН
307	<i>n</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
308	<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH(OH)CH ₂ - (L-4-гідроксипіролідиніл)		<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-іл)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
309	<i>n</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-O(CH ₂ CH ₂ O) ₂ CH ₃

310	<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
311	<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		3-фтор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
312	<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ N-SO ₂ CH ₃ -CH ₂ - (L-4-метансульфоніл-піперазинил)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
313	R ¹ /R ² =1,1- діоксо-2,3- дигідро-3,3- диметил-1,2- бензизо- тіазол-2-іл-		Н	<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
314	R ¹ /R ² =N-2,10- камфор- сультаміл-		П	<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
315	R ¹ /R ² = N-2,10- камфор- сультаміл-		Н	<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
316	R ¹ /R ² = N-2,10- камфор- сультаміл-		Н	3-хлор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
317	<i>n</i> -Br-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
318	<i>n</i> -Br-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
319	<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH(OH)-CH ₂ - (L-4-гідроксипіролідиніл)		<i>n</i> -[(4-метилпіперазин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-ОН
320	<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(4-піримідин-2-іл)піперазин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-ОН
321	<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
322	<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S- (тіазолідин-2-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
323	<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S- (тіазолідин-2-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
324	<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -C(O)-CH ₂ - (L-4-оксипіролідиніл)		<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-іл)-C(O)O-]бензил-	-ОН
325	<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -C(O)-CH ₂ - (L-4-оксипіролідиніл)		<i>n</i> -[(4-метилпіперазин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-ОН
326	<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S- (тіазолідин-2-іл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-ОН
327	<i>n</i> -NO ₂ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
328	<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S- (тіазолідин-2-іл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
329	<i>n</i> -Br-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-ОН
330	<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(φNHC(S)-)піперазин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
331	<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S- (тіазолідин-2-іл)		<i>n</i> -[(4-CH ₃ -гомопіпера-н-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃

332	<i>n</i> -C ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH(-OSO ₂ CH ₃)-CH ₂ - (L-4-метансульфоксипіролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
333	<i>n</i> -H ₂ NC(O)-ф-	R ² /R ³ =цикл 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
334	<i>n</i> -H ₂ NC(O)-ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-іл)C(O)O-]бензил-	-ОН
335	<i>n</i> -H ₂ NC(=N)- ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(тіоморфолін-4-іл)C(O)-]бензил-	-ОН
336	<i>n</i> -NO ₂ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-ОН
337	<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		3-хлор-4-[(4-піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]- бензил-	-OCH ₂ CH ₃
338	<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		3-хлор-4-[(4-піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]- бензил-	-ОН
339	<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S- (тіазолідин-2-іл)		<i>n</i> -[(4-CH ₃ -гомопіперазин-1-іл)-C(O)O-]бензил-	-ОН
340	1- метилпіразол- 4-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		3-хлор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
341	1-метил- імідазол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
342	1-метил- імідазол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
343	<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-ОН
344	<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
345	<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
346	<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
347	<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
348	<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл -CH ₂ CH ₂ N(-SO ₂ -CH ₃)CH ₂ - (4-метансульфонілпіперазин-2-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
349	<i>n</i> -CH ₃ -ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH(-OSO ₂ -CH ₃)CH ₂ - (L-4-метансульфокси-піролідиніл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
350	CH ₃ -	-CH ₂ -ф	Н	<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
351	<i>n</i> -Br-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
352	<i>n</i> -CF ₃ O-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
353	<i>n</i> -CF ₃ O-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
354	<i>n</i> -CF ₃ O-ф-	R ² /R ³ =цикл, CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
355	<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)		<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-ОН

356	<i>n</i> -F-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH(OH)CH ₂ - (L-4-гідроксипіролідиніл)	<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-ОН
357	<i>n</i> -CF ₃ O-ф-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)	<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-ОН
358	1-метил- імідазол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)	3-хлор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
359	1-метил- імідазол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)	3-хлор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
360	1-метил- імідазол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)	<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-ОН
361	1-метил- імідазол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)	<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-ОН
362	1-метил- піразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)	<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-ОН
363	1-метил- піразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)	<i>II</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
364	1-метил- піразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)	<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
365	1-метил- піразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)	<i>n</i> -[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
366	1-метил- піразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, 3 атоми вуглецю (L-піролідиніл)	3-хлор-4-[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
367	1-метил- піразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)	<i>n</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₂ Оф
368	1-метил- піразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)	3-хлор-4-[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-ОН
369	1-метил- піразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)	3-хлор-4-[(4-(піридин-2-іл)піперазин-1-іл)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
370	1,5-диметил- 3-хлор- піразол-4-іл-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтіазолідин-4-іл)	<i>n</i> -[4-[5-CF ₃ -піридин-2-іл)піперазин-1-іл)- C(O)O-]бензил-	-ОН

Крім того, приклади 319, 324, 325, 332, 333, 334, 335 і 349 з таблиці 5 ілюструються в такий спосіб.

Приклад 319

Синтез

N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(4-гідрокси)проліл-L-4-(4-метилпіперазин-1-

ілкарбонілокси)фенілаланіну

Вихідний трет-бутиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(4-гідрокси)проліл-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну (300мг) розчиняли в мурашиній кислоті (15мл). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 72 годин. Розчинник упарювали, і залишок очищали з використанням обернено-фазової ВЕРХ, 20-80% CH₃CN/вода. З часом затримки, рівним 10,75 хвилин, одержували 82мг зазначеної в заголовку сполуки, т.пл. 128-130°C.

Приклад 324

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(4-оксо)проліл-L-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Вихідний трет-бутиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(4-оксо)проліл-L-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну (130мг) розчиняли в мурашиній кислоті (7мл). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 6 годин. Розчинник упарювали у вакуумі з утворенням 150мг необхідного продукту, т.пл. 111-112°C.

Приклад 325

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(4-оксо)проліл-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну

Вихідний трет-бутиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(4-оксо)проліл-L-4-(4-метилпіперазин-1-ілкарбонілокси)фенілаланіну (150мг) розчиняли в мурашиній кислоті (7мл). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 6 годин. Розчинник упарювали у вакуумі, і залишок очищали з використанням обернено-фазової ВЕРХ, 20-80% CH₃CN/вода. Час затримки складав 10,34 хвилини. Продукт сушили виморожуванням з одержанням 82мг зазначеної в заголовку сполуки, т.пл. 99-101°C.

Приклад 332

Синтез трет-бутилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(4-метансульфонілокси)проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Вихідний трет-бутиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(4-гідрокси)проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну (300мг) і метилсульфонілхлорид розчиняли в THF (7мл) при 0°C на крижаній бані. Додавали триетиламін (0,21мл). Крижану баню видаляли через 10 хвилин. Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 24 годин. Додавали етилацетат (20мл). Суміш промивали лимонною кислотою (5%, 20мл, 2х), і промивали насиченим розчином NaHCO₃ (20мл), потім сольовим розчином. Розчин сушили над MgSO₄. Розчинник упарювали, і залишок наносили на стовпчик із силікагелем. Розчинник упарювали у вакуумі з одержанням 300мг необхідного продукту, т.пл. 73-74°C.

Приклад 333

Синтез N-(4-амінобензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбаміл-окси)фенілаланіну

Вихідний метиловий ефір N-(4-амінобензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну (300мг) і розчин LiOH (2М, 0,6мл) додавали в метанол (6мл). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 7 годин. Розчинник упарювали у вакуумі, і залишок

очищали з використанням обернено-фазової ВЕРХ, 20-80% CH₃CN/вода. З часом затримки, рівним 12,11 хвилин, одержували 27мг необхідного продукту, т.пл. 130-132°C.

Приклад 334

Синтез N-(4-амінокарбонілбензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну
Вихідний метиловий ефір N-(4-амінокарбонілбензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну (300мг) і розчин LiOH (2М, 0,5мл) додавали в метанол (6мл). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 8 годин. Розчинник упарювали у вакуумі, і залишок очищали з використанням обернено-фазової ВЕРХ, 20-80% CH₃CN/вода. З часом затримки, рівним 12,69 хвилин, одержували 20мг необхідного продукту, т.пл. 123-125°C.

Приклад 335

Синтез N-(4-амідинобензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну
Вихідний метиловий ефір N-(4-амідинобензолсульфоніл)-L-проліл-L-4-(тіоморфолін-4-ілкарбонілокси)фенілаланіну (300мг) і розчин LiOH (2М, 0,5мл) додавали в метанол (6мл). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 8 годин. Розчинник упарювали у вакуумі, і залишок очищали з використанням обернено-фазової ВЕРХ, 20-80% CH₃CN/вода. З часом затримки, рівним 11,78 хвилин, одержували 25мг необхідного продукту, т.пл. 123-125°C.

Приклад 349

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(4-метансульфонілокси)проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну

Вихідний трет-бутиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-(4-метансульфонілокси)проліл-L-4-(N,N-диметилкарбамілокси)фенілаланіну (200мг) розчиняли в мурашиній кислоті (5мл). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 6 годин. Розчинник упарювали у вакуумі з наданням необхідного продукту (195мг), т.пл. 83-84°C.

Приклад 371

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-4-(а-метилбензилокси)-L-фенілаланіну

Метиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-тирози́ну (785мг, 1,89ммоль) розчиняли в DMF (20мл) при кімнатній температурі. До цього розчину додавали K₂CO₃ (1,1екв., 281мг) і 1-брометилбензол (1,1екв., 284мкл). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 12 годин. Додавали етилацетат (100мл), і органічний шар кілька разів промивали сольовим розчином (5×50мл). Органічний шар сушили над MgSO₄. Після фільтрації і розпарювання розчинників при зниженому тиску виділяли олію. Неочищений матеріал очищали шляхом елюції на силікагелі (EtOAc/гексан (1:4)). Необхідний матеріал виділяли з 32%-ним виходом (330мг, 0,6ммоль). Потім метиловий ефір (330мг, 0,6ммоль) перетворювали у відповідну кислоту обробкою NaOH (1,1екв., 27мг), у MeOH:H₂O (1:1) (15мл), протягом 4 годин при кімнатній температурі. Додавали EtOAc, а також воду. Водний шар збирали і підкисляли 1н HCl до р 2,5, і повторно екстрагували EtOAc. Органічний шар сушили над MgSO₄. Після фільтрації і розпарювання розчинників при зниженому тиску виділяли піну з кількісним виходом.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (300МГц, CDCl₃): δ = 7,71 (ушир.д, 2H), 7,34 (м, 7H), 7,20 (м, 1H), 7,01 (м, 2H), 6,80 (д, 2H, J=8,37Гц), 5,27 (м, 1H), 4,75 (м, 1H), 4,04 (м, 1H), 3,23-2,93 (м, 4H), 2,42 (с, 3H), 1,85 (м, 1H), 1,60 (д, 3H, J=6,09Гц), 1,36-1,26 (м, 3H).

¹³C ЯМР (75МГц, CDCl₃): δ = 174,74, 172,22, 157,53, 145,00, 143,77, 133,42, 130,76, 130,58, 129,14, 128,60, 128,48, 127,94, 126,15, 116,57, 76,39, 62,73, 53,90, 50,09, 37,09, 25,07, 24,52, 22,17.

Мас-спектроскопія: (FAB) 537 (M+H).

Приклад 372

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-4-(2-карбоксифенокси)-L-феніл-аланіну

Метиловий ефір N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-L-тирози́ну (2,14м, 5,16ммоль) додавали до суспензії гідриду натрію, 60% в олії (1,1екв., 228мг) у ксилолі (50мл) при 0°C. Реакційну суміш перемішували протягом 5 минут і додавали комплекс бромід-диметилсульфід одновалентної міді (1,4екв., 1,48г). Реакційну суміш перемішували при 23°C протягом 0,5год. До неї додавали 2-йодбензоат натрію (1,5екв., 8,06ммоль), і реакційну суміш кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 12 годин. Додавали EtOAc (100мл), і органічний шар промивали NH₄Cl, 10% HCl, і сольовим розчином, потім сушили над MgSO₄. Неочищений матеріал елювали шляхом колонкової хроматографії (силікагель) з використанням CHCl₃:MeOH (9:1), і виділяли у вигляді олії. Кислоту одержували шляхом обробки NaOH (1,1екв.), у MeOH:H₂O (1:1), протягом 4 годин при кімнатній температурі. Двокислоту виділяли у вигляді піни.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (300МГц, CDCl₃): δ = 7,71 (м, 2H), 7,29 (м, 4H), 7,19 (м, 4H), 6,72 (м, 1H), 4,84 (м, 1H), 4,13 (м, 1H), 3,39 (м, 1H), 3,11 (м, 3H), 2,43 (с, 3H), 1,89 (м, 1H), 1,48 (м, 3H).

¹³C ЯМР (75МГц, CDCl₃): δ = 172,67, 157,84, 155,89, 155,04, 145,17, 133,61, 133,19, 133,08, 131,69, 131,02, 130,64, 128,42, 127,87, 124,24, 120,04, 119,61, 116,12, 62,81, 50,31, 37,28, 30,69, 24,81, 22,15.

Мас-спектроскопія: (FAB) 553 (M+H).

Приклад 373

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-O-(бензил)-L-тирози́ну

N-(толуол-4-сульфоніл)-L-Pro-OH обробляли (COCl)₂ і DMF у CH₂Cl₂ з утворенням після розпарювання N-(толуол-4-сульфоніл)-L-Pro-Cl. Даний продукт обробляли L-Tyr(Bn)-OH і NaOH у THF і H₂O, з одержанням після підкислення, екстракції, сушіння за допомогою MgSO₄ і розпарювання зазначеної в заголовку сполуки у вигляді прозорої олії.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 300МГц) δ = 8,04 (д, J=8,2, 1H), 7,70 (д, J=8,1, 2H), 7,42-7,21 (м, 6H), 7,15 (д, J=8,5, 2H), 6,90 (д, J=8,5, 2H), 5,04 (с, 2H), 4,49-4,42 (м, 1H), 4,13-4,09 (м, 1H), 3,33-3,27 (м, 2H), 3,10-2,89 (м, 3H), 2,38 (с, 3H), 1,60-1,35 (м, 4H).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 75МГц): δ = 172,63, 170,8, 157,0, 143,6, 137,2, 133,8, 130,3, 129,8, 129,4, 128,9, 128,4, 127,6, 125,3, 114,4, 69,1, 61,3, 53,4, 49,0, 35,8, 30,4, 23,8, 21,0.

Мас-спектроскопія: (+FAB, 3-нітробензиловий спирт) 523 (M+H).

Приклад 374

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-4-(1-Н,2-оксо-3-метилтетрагідро-піримідин-1-іл)-L-фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з відповідного трет-бутилового ефіру з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,73 (д, 2H), 7,58 (д, 1H), 7,34 (д, 2H), 7,21 (д, 2H), 7,17 (д, 2H), 4,79 (кв., 1H), 4,15-4,11 (м, 1H), 3,68-3,63 (м, 2H), 3,48-3,39 (м, 3H), 3,27 (дд, 1H), 3,17 (дд, 1H), 3,15-3,07 (м, 1H), 2,99 (с, 3H), 2,43 (с, 3H), 2,16-2,08 (м, 2H), 2,00-1,98 (м, 1H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 173,4, 172,2, 164,2, 156,4, 144,4, 142,5, 134,1, 133,0, 130,2, 130,0, 127,9, 126,2, 62,1, 53,4, 49,5, 48,9, 47,9, 36,5, 35,9, 30,2, 24,2, 22,0, 21,4.

Приклад 375

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-4-(2-метоксифеніл)-L-фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з відповідного трет-бутилового ефіру з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CD₃OD): δ = 7,70 (м, 2H), 7,36 (м, 4H), 7,22 (м, 4H), 6,98 (м, 2H), 4,75 (м, 1H), 4,10 (м, 1H), 3,71 (с, 3H), 3,29 (м, 2H), 3,11 (м, 2H), 2,39 (с, 3H), 1,75 (м, 1H), 1,53 (м, 3H).

¹³C ЯМР (CD₃OD): δ = 174,4, 174,2, 158,1, 145,9, 138,9, 136,7, 135,1, 131,2, 130,9, 130,8, 130,2, 129,9, 129,1, 122,0, 112,6, 63,3, 55,9, 54,6, 50,5, 37,9, 31,5, 25,2, 21,4.

Приклад 376

Синтез N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-4-(2-метоксифеніл)-L-фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували з відповідного трет-бутилового ефіру з використанням процедури, описаної у способі 11.

Дані ЯМР були наступними:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 8,41 (д, 1H), 8,21 (с, 1H), 8,03 (д, 1H), 7,98 (с, 1H), 7,74 (д, 2H), 7,39 (д, 1H), 7,33 (д, 2H), 4,72-4,68 (м, 1H), 4,17-4,13 (м, 1H), 3,54-3,34 (м, 3H), 3,20-3,12 (м, 1H), 2,82 (с, 6H), 2,43 (с, 3H), 2,09-2,04 (м, 1H), 1,79-1,59 (м, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 173,7, 171,8, 154,5, 147,2, 144,4, 137,8, 135,5, 133,2, 130,1, 127,9, 126,4, 62,2, 53,0, 49,5, 38,5, 36,0, 30,3, 24,4, 21,4.

Приклад 377

Синтез бензилового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-4-(2,4,5-триоксо-3-(3-хлорфеніл)тетрагідрімідазол-1-іл)-L-фенілаланіну

Сполуку одержували шляхом обробки ізопропілового ефіру N-(толуол-4-сульфоніл)-L-проліл-4-[(3-хлорфенілуреїдо)-тетрагідрімідазол-1-іл]-L-фенілаланіну оксалілхлоридом у метиленхлориді. Неочищений продукт очищали шляхом хроматографії на випарній колонці (силікагель, 3:2 гексан:EtOAc) з одержанням білої твердої речовини (0,410м, 50%).

MS((+) ESI, m/z (%) 746 (100 [M+H]⁺) (746/748 1Cl)

Приклад 378

Синтез N-(фенілсульфоніл)-D-проліл-L-4-(2,6-диметоксифеніл)-фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували шляхом приєднання 2,6-диметоксифенілборонової кислоти до похідних 4'-йодфенілаланіну з наданням диметоксибіфенілаланінів, таких як зазначена в заголовку сполука, слідуючи процедурам, загалом описаним у Hagmann et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2001; 11 (20): 2709-2713; Kamenecka et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2002; 12 (16): 2205-2208; i Doherty et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2003; 13 (11): 1891-1895.

Приклад 379

Синтез N-(3,5-дихлорфеніл-сульфоніл)-D-проліл-L-4-[4-(метилкарбоніл-амінобутил)-2,5-діоксоімідазолідин-1-іл]фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували, слідуючи процедурам, загалом описаним у WO 01/54690.

Приклад 380

Синтез N-(2,6-дихлорфенілкарбоніл)-L-4-(2,6-диметоксифеніл)-фенілаланіну

Зазначену в заголовку сполуку одержували шляхом приєднання 2,6-диметоксифенілборонової кислоти до похідних 4'-йодфенілаланіну з наданням диметоксибіфенілаланінів, таких як зазначена в заголовку сполука, слідуючи процедурам, загалом описаним у WO 99/36393 i Sircar et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2002; 10 (6):2051-2066.

Приклад 381

Синтез ізопропілового ефіру N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозину

3-Піридинсульфонілхлорид

Вільну основу зазначеної в заголовку сполуки можна одержати з 3-піридинсульфонової кислоти (Aldrich) за опублікованою процедурою: Corey et al., J. Org. Chem. 1989, 54(2): 389. Альтернативно, гідрохлорид зазначеної в заголовку сполуки можна одержати з 3-піридинсульфонової кислоти (Aldrich) за опублікованими процедурами: Crowell et al., J. Med. Chem. 1989, 32 (11): 2436; Karaman et al., J. Am. Chem. Soc. 1992, 114 (12): 4889.

L-3,3-диметил-4-тіапролін

Зазначену в заголовку сполуку можна одержати з L-пеніциламіну (Aldrich) за опублікованими процедурами: Samanen et al., J. Med. Chem. 1989, 32(2): 466; Nagasawa et al., J. Med. Chem. 1984, 27(5): 591.

N-(3-Піридинсульфоніл)L-3,3-диметил-4-тіапролін

Буфер з рН, рівним 7,4, одержували розчиненням двозаміщеного фосфату натрію (43,2м, 0,304моль) i однозаміщеного фосфату калію (11,8м, 0,0870 моль) у H₂O, з одержанням обсягу 1,0л. До розчину L-3,3-

диметил-4-тіапроліну (25,4м, 0,157 моль) у 700мл буфера з pH=7,4, охолодженого до 0°C, додавали при перемішуванні розчин 3-піридинсульфонілхлориду (28,0м, 0,157моль) у 300мл CH₂Cl₂. Суміш перемішували протягом 24год. при нагріванні до кімнатної температури і підкисляли до pH, рівного 2, додаванням 3М H₂SO₄, з осадженням жовтої твердої речовини. Жовту тверду речовину виділяли фільтрацією обох фаз, і шар CH₂Cl₂ відокремлювали й упарювали з одержанням додаткової жовтої твердої речовини. Об'єднану жовту тверду речовину перемішували протягом 1год. у 700мл H₂O для розчинення асоційованих неорганічних солей, і знову виділяли фільтрацією. Два водних шари поєднували й екстрагували EtOAc (3×500мл). Шари EtOAc промивали сольовим розчином, обробляли сульфатом натрію, фільтрували й упарювали з одержанням додаткової жовтої твердої речовини. Всі аліквоти жовтої твердої речовини поєднували з одержанням 36,1м (76%) N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліну].

Ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-L-тирози́ну

Гідрохлорид 1-(3-диметиламінопропіл)-3-етилкарбодііміду (4,83м, 0,0253моль) додавали до охолодженого до 0°C розчину N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліну (6,37м, 0,0211моль), гідрохлориду ізопропілового ефіру L-тирози́ну (5,48м, 0,0211моль), 1-гідроксибензотриазолу (5,69м, 0,0421моль) і 4-метилморфоліну (2,32мл, 2,13м, 0,0211моль), що був одержаний у 125мл DMF. Суміш перемішували протягом 16год. при нагріванні до кімнатної температури, і додавали 200мл EtOAc і 200мл H₂O. Суміш струшували, і відокремлювали водний шар, і органічний шар промивали 0,2М оцтовою кислотою (2×100мл), H₂O (2×100мл), насиченим розчином NaHCO₃ (2×100мл), H₂O (2×100мл) і сольовим розчином (2×100мл). Органічний шар обробляли сульфатом натрію, фільтрували й упарювали з одержанням 9,40м (86%) ізопропілового ефіру N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-L-тирози́ну у вигляді жовтої піни.

¹H ЯМР (CDCl₃, 300МГц): δ 9,08 (ушир.с, 1H), 8,86 (ушир.с, 1H), 8,16 (дт, J_d=8,1Гц, J_t=2,0Гц, 1H), 7,51 (дд, J=8,0Гц, J=4,6), 7,07 (д, J=8,1Гц, 2H), 6,87 (д, J=3,1Гц, 1H), 6,74 (д, J=8,1Гц, 2H), 5,96 (ушир.с, 1H), 5,06 (септ., J=6,3, 1H), 4,83 (дт, J_d=6,0 Гц, J_t=7,8Гц, 1H), 4,57 (д, J=9,3Гц, 1H), 4,46 (д, J=9,3Гц, 1H), 3,91 (с, 1H), 3,09 (дд, J=14,1Гц, J=5,4Гц, 1H), 2,98 (дд, J=14,1Гц, J=7,5Гц, 1H), 1,25 (т, J=6,6Гц, 6H), 1,18 (с, 3H), 1,13 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃, 75МГц): δ 170,5, 168,0, 155,2, 154,2, 148,6, 135,9, 130,7, 127,6, 124,1, 115,5, 105,5, 73,7, 69,7, 54,7, 53,4, 50,5, 37,5, 29,2, 23,7, 21,62, 21,55.

Ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну

Ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-L-тирози́ну (1,51м, 2,89ммоль) і 4-нітрофенілхлорформіат (0,58м, 2,89ммоль) розчиняли в 40мл CH₂Cl₂, і розчин перемішували протягом 15хв. при охолодженні в суспензії сухого льоду в 4:1 H₂O/EtOH при температурі -15°C. До розчину додавали Et₃N (1,00мл, 0,73м, 7,23ммоль) при перемішуванні протягом 2хв, і розчин перемішували протягом 1год. при -15°C. До одержаного в результаті суспензії додавали 1-метилпіперазин (0,32мл, 0,289м, 2,89ммоль) при перемішуванні протягом 1хв., і суміш перемішували протягом 16год. при нагріванні до кімнатної температури. Суміш розбавляли 40мл гексану, і промивали 10% (мас/об.) K₂CO₃ (4×50мл) до зникнення у водному шарі жовтого забарвлення (4-нітрофеніл). Органічний шар промивали сольовим розчином (75мл), обробляли сульфатом натрію, фільтрували й упарювали з одержанням світло-жовтого залишку. Залишок очищали хроматографією на силікагелі з використанням 70:25:5 CH₂Cl₂/EtOAc/EtOH з одержанням 1,53м (84%) ізопропілового ефіру N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну у вигляді безбарвної піни.

¹H ЯМР (CDCl₃, 300МГц): δ 9,09 (д, J=2,1Гц, 1H), 8,87 (дд, J=4,9 Гц, J=1,6Гц, 1H), 8,16 (дт, J_d=8,4Гц, J_t=2,0Гц, 1H), 7,51 (дд, J=8,2Гц, J=4,9Гц, 1H), 7,21 (д, J=8,4Гц, 2H), 7,02 (д, J=8,4Гц, 2H), 6,89 (д, J=7,8Гц, 1H), 5,05 (септ., J=6,4Гц, 1H), 4,84 (кв., J=7,0Гц, 1H), 6,59 (д, J=9,9Гц, 1H), 4,47 (д, J=9,9Гц, 1H), 3,90 (с, 1H), 3,67 (ушир.с, 2H), 3,58 (ушир.с, 2H), 3,18-3,03 (м, 2H), 2,45 (т, J=10,2Гц, 4H), 2,34 (с, 3H), 1,26 (д, J=6,0Гц, 3H), 1,23 (д, J=6,6Гц, 3H), 1,20 (с, 3H), 1,17 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃, 75МГц): δ 170,4, 167,8, 154,3, 153,7, 150,6, 148,7, 135,8, 133,1, 133,0, 130,4, 133,0, 121,8, 73,7, 69,7, 54,8, 54,6, 54,5, 50,5, 46,1, 44,3, 43,8, 37,6, 29,1, 23,8, 21,6, 21,5.

9.2. Скринінг засобів in vivo і in vitro

Приклад А

Аналіз in vitro для визначення зв'язування сполук-кандидатів з VLA-4

Для визначення зв'язування сполук-кандидатів з інтегрином α₄β₁ застосовували аналіз in vitro. Сполуки, що зв'язуються в даному аналізі, можна застосовувати для визначення рівнів VCAM-1 у біологічних зразках за допомогою традиційних аналізів (наприклад, аналізах конкурентного зв'язування). Даний аналіз чутливий до таких низьких величин IC₅₀ як приблизно 1нМ.

Активність інтегрину α₄β₁ вимірювали взаємодією розчинної VCAM-1 із клітинами Jurkat (наприклад, №№ T1B 152, T1B 153 і CRL 8163 в Американській колекції типових культур), лінії людських Т-клітин, експресуючих високі рівні інтегрину α₄β₁. VCAM-1 взаємодіє з клітинною поверхнею залежним від інтегрину α₄β₁ чином (Yednock et al., J. Bio.Chem., 1995, 270:28740).

Рекомбінантна розчинна VCAM-1 експресувалась у вигляді химерного гібридного білка, що містить на N-кінцевій ділянці сім позаклітинних доменів VCAM-1 і на C-кінцевій ділянці константну ділянку важкого ланцюга людського IgG₁. Гібридний білок VCAM-1 одержували й очищували способом, описаним Yednock, вище.

Клітини Jurkat культивували в RPMI 1640, доповненій 10% ембріональною телячою сироваткою, пеніциліном, стрептоміцином і глютаміном, як описано Yednock, вище.

Клітини Jurkat інкубували з 1,5мМ MnCl₂ і 5мкг/мл антитіл 15/7 протягом 30 хвилин на льоді. Mn²⁺ активує рецептор, підсилюючи зв'язування ліганду, а 15/7 являє собою моноклональне антитіло, що впізнає активовану/зв'язану з лігандом конформацію інтегрину α₄β₁ і замикає молекулу в даній конформації, таким чином, стабілізуючи взаємодію VCAM-1/інтегрин α₄β₁ Yednock et al., вище. Іншими дослідниками (Luque et al., 1996, J. Bio. Chem., 271: 11067) одержані подібні до антитіла 15/7 антитіла і їх можна застосовувати в цьому аналізі.

Потім клітини інкубували протягом 30 хвилин при кімнатній температурі зі сполуками-кандидатами в різних концентраціях, що знаходяться в діапазоні від 66мкг/мл до 0,01мкг/мл, із застосуванням стандартного п'ятикратного послідовного розведення. Потім до клітин Jurkat додавали 15мкл розчинного рекомбінантного гібридного білка VCAM-1 та інкубували 30 хвилин на льоду. (Yednock et al., вище).

Потім клітини двічі відмивали, ресуспендували з кон'югованими з PE козячими F(ab')₂ до Fc IgG миші (Immunotech, Westbrook, ME) у співвідношенні 1:200 та інкубували в темряві 30 хвилин у льоду. Клітини двічі відмивали й аналізували стандартним способом на активованому флуоресценцією клітинному сортері ("FACS"), описаним Yednock et al., вище.

Сполуки з величиною IC₅₀ меншою, ніж приблизно 15мкМ, володіють афінністю зв'язування з $\alpha_4\beta_1$.

При тестуванні в даному аналізі кожна зі сполук прикладів 1-381 (або відповідні карбонові кислоти ефірних сполук, тобто пролікарські засоби) володіла рівною 15мкМ або меншою величиною IC₅₀.

Приклад В Аналіз насичення *in vitro* для визначення зв'язування сполук-кандидатів з $\alpha_4\beta_1$

Нижче описаний аналіз *in vitro* для визначення рівнів сполуки в плазмі, необхідних для її активності в описаній у наступному прикладі моделі експериментального аутоімунного енцефаломієліту ("EAE") або в інших моделях *in vivo*.

Клітини Jurkat у стадії логарифмічного росту відмивають і ресуспендують у нормальній плазмі тварин, що містить 20мкг/мл антитіла 15/7 (описаного у прикладі вище).

Клітини Jurkat дворазово розводять або у зразках нормальної плазми, що містять відомі кількості сполуки-кандидату в різних концентраціях, що знаходяться в діапазоні від 66мкг/мл до 0,01мкг/мл, із застосуванням стандартного 12-точкового серійного розведення для стандартної кривої, або в зразках плазми, одержаної з периферичної крові тварин, підданих лікуванню сполукою-кандидатом.

Потім клітини інкубують 30 хвилин при кімнатній температурі, двічі відмивають у фосфатно-сольовому буфері ("PBS"), що містить 2% ембріональної телячої сироватки і по 1мМ хлориду кальцію і хлориду магнію (середовище для аналізу), для видалення антитіла, що не зв'язалось, 15/7.

Потім до клітин додають пов'язані з фікоєритрином козячі F(ab')₂ до Fc IgG миші у співвідношенні 1:200 (Immunotech, Westbrook, ME), у яких запобігали будь-якій неспецифічній перехресній реактивності за допомогою спільної інкубації з 5% сироваткою досліджуваних видів тварин, та інкубують 30 хвилин у темряві при 4°C.

Клітини двічі відмивають середовищем для аналізу і ресуспендують у ньому ж. Після цього їх аналізують із застосуванням стандартного аналізу на активованому флуоресценцією клітинному сортері, як описано в Yednock et al., J Bio. Chem., 1995, 270 : 28740.

Дані відображають у вигляді графіка залежності флуоресценції від дози, наприклад, звичайним чином у вигляді кривої доза-відповідь. Рівні доз, що приводять до верхнього плато кривої, являють собою рівні, необхідні для досягнення ефективності в моделі *in vivo*.

Даний аналіз також можна застосовувати для визначення плазматичних рівнів, необхідних для насичення сайтів зв'язування інших інтегринів, таких як інтегрин $\alpha_9\beta_1$, що є найбільше близькоспорідненим інтегрину $\alpha_4\beta_1$ (Palmer et al., 1993, J.Cell Bio., 123: 1289).

Таким чином, для вимірювання зв'язування інтегрину $\alpha_9\beta_1$ описаний вище аналіз можна проводити, застосовуючи замість клітин Jurkat лінію клітин карциноми товстої кишки людини SW 480(ATTC №CC228), трансфіковану кДНК, що кодує інтегрин α_9 (Vokosaki et al., 1994, J Bio. Chem., 269: 26691). Як контроль можна застосовувати клітини SW 480, які експресують інші субодиниці α і β_1 .

Із застосуванням даного аналізу, для сполук за даним винаходом, тестованих у даному аналізі, встановлювали плазматичні рівні, необхідні для досягнення ефективності в моделях для $\alpha_4\beta_1$ і $\alpha_9\beta_1$ *in vivo*.

Таким чином, у ще одному аспекті даний винахід відноситься до лікування захворювання у пацієнта, що відноситься до ссавців, де захворювання опосередковане $\alpha_9\beta_1$ і де спосіб включає в себе введення зазначеному вище пацієнту терапевтично ефективної кількості сполуки за даним винаходом. Такі сполуки переважно вводять у фармацевтичній композиції, описаній тут вище. Ефективне добуве дозування залежить від віку, ваги, стану пацієнта, де фактори може легко встановити лікуючий лікар. Однак у переважному здійсненні сполуки вводять у кількості приблизно від 20 до 500мкг/кг на добу.

Приклад 1

Зменшення клінічних симптомів експериментального алергійного енцефаломієліту із застосуванням ізопропілового ефіру N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозину

Експериментальний алергійний енцефаломієліт являє собою експериментально індуковане, опосередковане клітинами, аутоімунне запальне порушення центральної нервової системи (ЦНС), що є моделлю розсіяного склерозу на тваринах. Як правило, інфільтрати складаються з лімфоцитів і макрофагів, хоча іноді спостерігають поліморфоядерні клітини (Traugott et al., 1985 Cell. Immunol. 91: 240-54; Traugott et al., 1986 Cell. Immunol. 99: 395-410). EAE активно індукували у сприйнятливих тварин ін'єкцією антигенів гомогенізованої ЦНС із повним ад'ювантом Фрейнда (ПАФ). Крім того, EAE можна пасивно перенести активованими специфічними до мієліну Т-клітинами від активно імунізованої тварини (Paterson, 1960D Exp. Med. 111:119-36). Сприйнятливість до захворювання залежить не тільки від індукуючого антигену і застосовуваного виду тварини, але також і від віку, статі і комерційного джерела тварин (Tsunoda et al., 1996, J. Neuropath. Exp. Neurol. 55: 673-86).

Так само як при РС, клінічно EAE може виявлятися в декількох різних формах. У деяких моделях на тваринах розвивається гостре, монофазне захворювання з наступним спонтанним видужанням. Однак в інших моделях у тварин розвивається хронічне рецидивуюче захворювання, що характеризується періодично повторюваними клінічними атаками, періодами відновлення між ними (Tsunoda et al., 1996). Хронічну прогресуючу форму EAE у дорослих морських свинок Хартлі можна викликати способом імунізації за допомогою всієї ЦНС в ад'юванті (Wisniewski et al., 1983, J. Neuropath. & Exp. Neurol. 42: 243-55; Karlik et al., 1986, Neurology 36: 1112-4; Karlik et al., 1993, Magn. Reson. Med. 30: 326-31), при застосуванні якого тварини демонструють прогресуюче погіршення клінічних симптомів без періодів відновлення або ремісії. Гістологічно, великі осередки демієлінізації, що зливаються, супроводжуються постійною інфільтрацією

ЦНС мононуклеарними клітинами.

Матеріали і методи: тварини та індукція ЕАЕ.

Самиць морських свинок Хартлі (Charles River Canada, St. Constant, Quebec) утримували в середовищі з контрольованим висвітленням і не обмежували в їжі і воді. ЕАЕ індукували у 50 тварин (200-250г) внутрішньошкірною ін'єкцією 0,6мл суміші гомогенізованої ізологічної тканини ЦНС і повного ад'юванту Фрейнда у співвідношенні 1:1 з додаванням 10мг/мл *Mycobacterium tuberculosis* (Difco) у потиличну ділянку. Тварин щодня оцінювали сліпим способом із застосуванням наступної 4-бальної клінічної шкали: 0 = патології немає; 0,5 = втрата маси протягом більше ніж однієї послідовної доби; 1 = атаксія і знижений настановний рефлекс; 2 = парез задніх кінцівок, нетримання сечі, ущільнення калових мас; 3 = параліч; 4 = остаточний параліч.

Режими лікування, ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозину являє собою низькомолекулярну сполуку, з високою афінністю зв'язується з інтегрином сс людини і морської свинки (IC_{50} для інгібування клітинної адгезії до VCAM=1нм). Захворювання у тварини вважали хронічним на 40 добу після імунізації, і, таким чином, лікування починали в цей період і продовжували 10, 20, 30 або 40 діб. Тваринам вводили 0,5мл фізіологічного розчину (розчинник для ізопропілового ефіру N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозину; n=20) або 30мг/кг ізопропілового ефіру N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозину (n=25) два рази на добу. При такому режимі дозування підтримували постійні рівні насичення рецепторів ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозину (>10нм). Одній підгрупі тварин вводили ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозину протягом 30 діб, після чого лікування припиняли, а тварин утримували додаткові 10 діб (n=5). Лікування всіх тварин проводили підшкірним способом.

Умертвіння піддослідних тварин і гістологічний аналіз. Тварин із хронічним ЕАЕ, що не піддавались лікуванню, (n=5), і контрольну групу без ЕАЕ (n=5) умертвляли на 40 добу. Далі після кожного інтервалу лікування тривалістю 10 діб умертвляли по 5 тварин з кожної групи (0,25мл фенобарбіталу натрію), зразки крові збирали для аналізу FACS (див. нижче), головний мозок і спинний мозок розрізали і розділяли на частини. Використовували три спинномозкових частини, що відповідають поперековій, грудній і шийній ділянкам спинного мозку. Головний мозок розрізали на п'ять поперечних зрізів. Перші три проксимальних зрізи поєднували в один блок, а два дистальних - в інший. Тканини фіксували в 10% формаліні і вміщували в парафін. Зрізи товщиною п'ять мкм забарвлювали гематоксилін-еозин (Г-Е) або солохром-Р-ціаніном (SCR) і відносили із застосуванням сліпого методу в кожну з чотирьох категорій: (1) менінгеальне запалення, (2) периваскулярна інфільтрація, (3) енцефаліт або (4) мієліт і демієлінізація (таблиця 6). Загальний патологічний бал являє собою суму балів (з можливих 20) усіх 5 зрізів ЦНС кожної тварини.

Таблиця 6

Шкала патологічних очок

M:	Запальна реакція в мозкових оболонках
0:	змін немає
1:	периваскулярна інфільтрація і/або інфільтрація мозкової оболонки мононуклеарними клітинами, залучено 1-3 судини
2:	залучено 4-6 судин
3:	залучено більше 6 судин
4:	щільна інфільтрація мозкових оболонок із залученням майже всіх або всіх кровоносних судин
P:	Периваскулярна інфільтрація паренхіми
0:	змін немає
1:	1-3 паренхімних судини з інфільтрованими просторами Вірхова-Робіна
2:	залучено 4-6 судин
3:	залучено більше 6 судин
4:	залучено фактично всі або майже всі судини
E:	Енцефаліт або мієліт
0:	проникнення в нейральну паренхіму немає; клітини мікроглії або запальні клітини проникають у нейральну паренхіму
1:	небагато одиничних клітин
2:	проникнення клітин з декількох периваскулярних просторів
3:	залучення великої ділянки нейральної паренхіми
4:	зріз практично цілком інфільтрований
D:	Демієлінізація, ремієлінізація або мієліновий дебрис
0:	демієлінізації немає
1:	єдиний осередок демієлінізації або мієліновий дебрис під м'якою мозковою оболонкою
2:	кілька невеликих осередків демієлінізації
3:	одна велика зливна ділянка демієлінізації
4:	кілька великих зливних ділянок демієлінізації

Щоб оцінити відхилення від норми, що спостерігаються в спинному мозку, зрізи, забарвлені Г-Е, поділяли на 12 репрезентативних круглих ділянок. У кожній ділянці кількість клітин у полі зору $0,12\text{мм}^2$ рахували із застосуванням програмного забезпечення для аналізу зображень Sigma Scan Pro image analysis software (SPSS Inc.) і обчислювали середню кількість клітин у всіх 12 ділянках для всього спинного мозку (36 полів зору для кожної тварини). Необхідно відзначити що, тому що підраховували всі клітинні ядра,

множина клітин на додаток до інфільтратів може включати в себе нейрони і гліальні клітини. Таким чином, кількість клітин у тварин без ЕАЕ служила вихідним рівнем.

Спосіб кількісної оберненої транскрипції-ПЛР IL-2, IL-10 і MCP-1. РНК виділяли з 30мг замороженого спинного мозку морської свинки, із застосуванням комерційного набору для виділення тотальної РНК S.N.A.P.[™] (просте одержання нуклеїнової кислоти) (Invitrogen) відповідно до рекомендацій виробника, модифікований додаванням другої стадії обробки ДНКазою з наступним додатковим очищенням на колонку S.N.A.P. За допомогою додавання вторинної обробки ДНКазою, автори винаходу знайшли, що забруднення ДНК для даних зразків і аналізів послідовно не спостерігали, що вимірювали із застосуванням аналізу ОТ-ПЛР із негативним контролем оберненої транскриптази.

Послідовності праймерів/зондів і концентрації IL-2, IL-10 і MCP-1, а також використані стандартні РНК наведені в таблиці 7. ОТ-ПЛР ставили в трьох екземплярах із застосуванням ABI PPJSM® 7700 Sequence Detection System. У 50мкл реакційної суміші міститься від 10 до 800нг тотальної РНК і праймери і зонди в зазначених вище концентраціях у реакційному буфері, що містить 6,67% гліцерину (Amresco); 5,5мМ MgCl₂; 300мкМ дАТФ, дЦТФ, дГТФ і дУТФ; 100нМ зонда; 1,25 одиниць ДНК-полімерази AmpliTaq Gold® (Applied Biosystems); їх буфер TaqMan® Buffer A (набір реагентів TaqMan® PCR Core reagents kit, Applied Biosystems), 20 одиниць інгібітору РНКаз (Roche); 1,25 одиниць оберненої транскриптази вірусу мишачої лейкемії (MuLV) (Applied Biosystems). Обернену транскрипцію РНК проводили при 48°C протягом 30 хвилин з наступною денатурацією при 95°C протягом 10 хвилин. Проводили 40 температурних циклів ПЛР, що складаються з 95°C протягом 15 сек., потім 60°C протягом 1 хвилини. Кожен планшет включав стандартну криву, із застосуванням стандартних РНК, перерахованих у таблиці 7, і два додаткових контрольних зразки: 1) зразок РНК позитивного контролю, використаний у всіх планшетах, 2) контроль без матриці (NTC).

Таблиця 7

Серелня кількість клітин у спинному мозку

Група, що піддавалась лікуванню	Середня кількість клітин/0,12мм ²
БезЕАЕ	61±3,2
D40 контроль	107±6,1
D50 фізіологічний розчин	138±8,3
D60 фізіологічний розчин	137±8,3
D70 фізіологічний розчин	143±6,7
D80 фізіологічний розчин	113±4,8
D50 ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну	97±3,9
D60 ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну	86±4,2
D70 ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну	89±8
D80 ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну	70±4

Коефіцієнт кореляції стандартних кривих завжди складав більше ніж 0,99. Коефіцієнти варіації для зразків-триплетів складав менше ніж 0,2. Тому що РНК, застосовувана для побудови стандартних кривих, являє собою гетерогенну суміш РНК, що містить постійну, але невідома кількість мРНК-мішені, підрахована кількість є відносною.

Аналіз FACS. На 80 добу після імунізації у тварин без ЕАЕ, у тварин із введенням фізіологічного розчину, із введенням ізопропілового ефіру N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну та у тварин на 10 добу після припинення лікування ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну збирали зразки крові в гепарини. При проведенні всіх процедур зразки утримували при 4°C. 150мкл зразка піддавали впливу перших антитіл протягом 30 хвилин, двічі промивали, після чого інкубували з козячими кон'югованими з PE Fc до IgG миші у присутності 5% сироватки морської свинки (Beckman Coulter № PN EM055 1). Еритроцити лізували лізуючим розчином Becton-Dickinson і зразки досліджували на проточному цитометрі FACScan (Becton Dickinson, Mountain View, CA), виділяючи різні популяції клітин за допомогою світлорозсіювання.

Статистичний аналіз. Статистичну обробку проводили із застосуванням програмного забезпечення SigmaStat v2 (SPSS Inc.) Клінічні бали оцінювали із застосуванням критерію суми рангів Манна-Уїтні, тоді як патологічні бали оцінювали за допомогою двостороннього ANOVA. Кількісні порушення порівнювали із застосуванням рангового ANOVA по Крускалу-Уоллісу. У кожному випадку значимим думали p<0,05. Лінійну регресію проводили на середній кількості клітин спинного мозку.

Результати: Зменшення клінічних симптомів. Клінічні ознаки захворювання у тварин починали виявлятися на 9 добу після імунізації і продовжували виявлятися до 40-ї доби. В даній точці захворювання розглядали як хронічне. Період лікування починали на 40 добу, і він тривав мінімум від 10 діб і максимум до 40 діб. Незважаючи на те, що у тварин, які одержували фізіологічний розчин, аж до кінця захворювання продовжували прогресувати клінічні симптоми, у тварин, що отримували ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну, з 2-3 доби після першої обробки, починало відбуватись зменшення клінічних симптомів (Фіг.1А). У деяких тварин із встановленим клінічним балом до початку лікування в розмірі 2 ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну зменшував парез, і тварини могли протягом періоду лікування користатись своїми задніми кінцівками (тобто повернення до клінічного бала 1). В залежності від тривалості лікування деякі тварини з попередньо

встановленими ознаками захворювання під час одержання ізопропілового ефіру N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну виглядали цілком здоровими. Протягом періоду лікування середні клінічні бали тварин, що підлягали лікуванню ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну, були значимо меншими, ніж середні клінічні бали тварин, що отримували фізіологічний розчин, ($p < 0,001$, критерій суми рангів Манна-Уїтні).

У групи, що підлягала лікуванню ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну, виявляли невелике короточасне посилення ознак, що відбувалось в часовому інтервалі з центром на 54 добу після імунізації (Фіг.1А). У двох тварин виявляли помірне коливання ступеня клінічних симптомів; вони коливались від повної відсутності клінічних ознак (бал 0) до дуже слабкої атаксії (бал 1). Однак жодна з тварин, що не піддаються терапії, оскільки автори винаходу раніше досліджували з антитілами до інтегрину $\alpha_5\beta_1$, не була твариною, що припинила відповідати на терапію в основному внаслідок відторгнення морськими свинками мишачого або гуманізованого антитіла. Додаткових проблем (таких як запалення ділянки ін'єкції) при лікуванні тварин протягом тривалих періодів часу ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну не виникало.

В одній підгрупі тварин ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну вводили протягом 30 діб і потім відміняли, а тваринам протягом останніх 10 діб експерименту проводили ін'єкції фізіологічного розчину. При відміні ізопропілового ефіру N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну відновлялось прогресування клінічних ознак, подібно клінічному протіканню у тварин, що отримували протягом курсу лікування фізіологічний розчин (Фіг.1В). Протягом періоду між 70 і 80 цілодобово після імунізації, середній клінічний бал у тварин після лікування ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну був значимо більшим, ніж у тварин, що отримували ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну протягом всього періоду лікування ($p < 0,05$, критерій суми рангів Манна-Уїтні). Таким чином, ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну успішно вводили протягом періоду аж до 40 діб без яких-небудь несприятливих побічних ефектів, і він підтримував зменшення клінічних ознак, асоційованих із хронічним прогресуючим ЕАЕ.

Результати: Зменшення патологічних відхилень.

Патологічні відхилення оцінювали на забарвлених Г-Е і SCR зрізах головного і спинного мозку. На Фіг.2, рисунки з лівої сторони являють собою зрізи, забарвлені SCR, забарвлювальним мієлін синім кольором (x40). Рисунки з правої сторони являють собою забарвлені Г-Е зрізи, зроблені з задньої серединної ділянки відповідної фотографії SCR, при великому збільшенні (x250) (Фіг.2). Зрізи, представлені на малюнках А і В Фіг.2, одержані від здорової морської свинки і на них не видно ні запалення, ні демієлінізації. На 40-у добу після імунізації у тварин із хронічним захворюванням спостерігали сильне менінгеальне і периваскулярне запалення, а також один або декілька великих розташованих під м'якою оболонкою мозку осередків демієлінізації (Фіг.2С). Щільність інфільтруючих клітин була помітно збільшеною (Фіг.2Б). При прогресуванні захворювання, патологічні відхилення, що спостерігаються, ставали більш сильними. На 60-у добу після імунізації у контрольних тварин, які 20 діб отримували фізіологічний розчин, спостерігали сильну менінгеальну інфільтрацію, великі ділянки мієліту і фокальну демієлінізацію (Фіг.2Е, F). На 80-у добу після імунізації практично всі спінальні зрізи були інфільтрованими і демієлінізованими, включаючи в себе інвазію деяких ділянок сірої речовини (Фіг.2I, J). Навпаки, у тварин, які 20 діб отримували лікування ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну, на 60-у добу після імунізації спостерігали значно менші ділянки демієлінізації і дуже невелику менінгеальну і периваскулярну клітинну інвазію (Фіг.2G, H). Після 40 діб лікування ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну відновлення від патології все ще виявлялось великим; у тварин майже не спостерігали ані менінгеальної, ані периваскулярної інфільтрації, а мієлін залишався інтактним (Фіг.2K, L).

Всього для кожної тварини сліпим методом підраховували бали для п'яти ділянок, а об'єднаний патологічний бал являв собою загальний бал для всіх п'яти зрізів у кожній з чотирьох категорій (менінгеальне запалення, периваскулярна інфільтрація, мієліт і демієлінізація; Фіг.3). Протягом періоду лікування у тварин, що отримували ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-Диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну, спостерігали значиме зменшення середнього патологічного бала у всіх чотирьох категоріях по відношенню до тварин, які отримували фізіологічний розчин, ($p < 0,001$, двосторонній ANOVA). Коли відміняли ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну і тварин утримували протягом 10 діб без лікування, середній об'єднаний патологічний бал у всіх чотирьох категоріях був значимо більшим, ніж у тварин, яким продовжували вводити низькомолекулярну сполуку протягом періоду лікування (Фіг.3; $p < 0,05$, ранговий ANOVA по Крускалу-Уоллісу з тестом SNK).

Результати: Кількісний аналіз патологічних відхилень. Зменшення патологічних відхилень, кількісно визначене вище, кількісно підтверджували в спинному мозку. Середню кількість клітин підраховували в 12 репрезентативних ділянках площею $0,12\text{мм}^2$ на забарвлених Г-Е зрізах поперекового, грудного і шийного відділів спинного мозку і поєднували для перевірки всього спинного мозку (Фіг.4). У всіх тварин з ЕАЕ, що не піддавались лікуванню, спостерігали значимо більшу кількість клітин, ніж у тварин без ЕАЕ, що означало, що клітинна інфільтрація, як і очікувалось, протягом захворювання збільшується ($p < 0,001$, двосторонній ANOVA). Вже після 10 діб лікування ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну спостерігали значиме зменшення кількості клітин і воно зберігалось протягом 20, 30 і 40 діб лікування по відношенню до тварин, які отримували фізіологічний розчин ($p < 0,001$, двосторонній ANOVA). Крім того, у тварин, що піддавались лікуванню ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну протягом 20, 30 або 40 діб, середня кількість клітин було значимо

менше, ніж у контрольних тварин із хронічним плинном захворювання ($p < 0,05$, ранговий ANOVA по Крускалу-Уоллісу з тестом SNK), а після 40 діб лікування ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну середня кількість клітин у спинному мозку не відрізнялась від середньої кількості клітин у спинному мозку тварин без ЕАЕ. Лінійна регресія даних середніх демонструє прогресуюче зменшення запальних клітин у спинному мозку ($r^2 = 0,90$). На основі нахилу даної лінії автори змогли підрахувати швидкість зменшення клітин у розмірі 8 клітин/мм²/доба. Після відміни ізопропілового ефіру N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну у тварин, яким додаткові 10 діб вводили фізіологічний розчин, знову спостерігали значиме збільшення середньої кількості клітин ($p < 0,05$, ранговий ANOVA з тестом SNK).

Результати: Кількісний ПЛР. Кількісний ПЛР проводили на поперекових зрізах спинного мозку для оцінки рівнів IL-2, IL-10 і MCP-1, і його результати підтверджували зменшення патологічних ознак, що вже обговорювалось. У тварин з фізіологічним розчином, що вводиться, кількість IL-2 протягом хронічної фази захворювання збільшувалась. Навпаки, у тварин, що отримували ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну, детектованого рівня РНК IL-2 не виявляли. Після відміни ізопропілового ефіру N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну кількість IL-2 у спинному мозку поверталась до рівнів, порівнянних із тваринами, що отримували фізіологічний розчин. У відношенні IL-10 і MCP-1 спостерігали подібні результати. Доведено значиме зменшення рівнів РНК цитокінів протягом лікування з наступним поверненням до високих рівнів після відміни інгібітору (Фіг.5).

Результати: Аналіз FACS. Як визначено за допомогою аналізу FACS, лікування тварин з ЕАЕ ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну приводило до сильного збільшення вмісту в циркулюючій крові лімфоцитів з інтегрином α_4 , що виявляється, у порівнянні з тваринами, що одержували фізіологічний розчин. Дані результати дозволяють припустити, що активовані периферичною імунізацією лімфоцити не могли проникнути в ЦНС у присутності ізопропілового ефіру N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну і накопичувались в циркулюючій крові (Фіг.6 і 7А). Відповідно до даного припущення, коли відміняли ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну і знову починалось запалення ЦНС, вміст у циркулюючій крові лімфоцитів з інтегрином α_4 , що виявляється, повертався до рівнів тварин з фізіологічним розчином, що вводиться, (Фіг.7А). Помітних субпопуляцій моноцитів з високим і низьким рівнем інтегрину α_4 не виявляли, однак, загальна експресія інтегрину α_4 на циркулюючих моноцитах у тварин з ЕАЕ збільшувалась (Фіг.7В). Ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну не впливав на дане збільшення, додатково вказуючи на те, що дане лікування не інгібує периферичну імунну відповідь.

Приклад 2

Мимовільна ремієлінізація після тривалого інгібування інтегрину α_4 при хронічному ЕАЕ

Для визначення можливості супресування мимовільного відновлення мієліну при експериментальному аутоімунному енцефаломієліті присутністю запальних клітин вивчали модель блокування входження імунних клітин у центральну нервову систему за допомогою інгібування блоків інтегрину альфа-4 бета-1 ($\alpha_4\beta_1$) (VLA-4). Паралізованих морських свинок на розгорнутій, демієлінізуючій стадії ЕАЕ обробляли специфічним інгібітором $\alpha_4\beta_1$, ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну (Piraino et al., J. Neuroimmunol. 2002, 131: 147-159), і автори даного винаходу знайшли, що: (1) у 87% осередків виявлені докази ремієлінізації після 40 діб обробки; (2) у 50% усіх осередків ушкодження відбулось відновлення мієліну і (3) у 50% тварин відновилась моторна функція. У тварин, оброблених носієм, значимого відновлення або повернення моторної функції не спостерігали. Дані результати вказують, що тривале інгібування запалення ЦНС за відсутності відновлення мієліну-мішені може сприяти механізмам мимовільної ремієлінізації.

Методи

Тварини та індукція захворювання. Самиць морських свинок Хартлі (200-250м, Charles River Canada, St. Constant, Quebec) утримували в середовищі з контрольованим висвітленням і температурою і не обмежували в їжі і воді. ЕАЕ індукували внутрішньокірною ін'єкцією 0,6мл суміші гомогенізованої ізологічної тканини ЦНС і повного ад'юванту Фрейнда (Difco, Detroit, MI) у співвідношенні 1:1 з додаванням 10мг/мл *Mycobacterium tuberculosis* (Difco) у потиличну ділянку. Ознаки захворювання у тварин починали виявляти на 9 добу і розглядали захворювання як хронічне на 40 добу після імунізації. Тварин щодня зважували й оцінювали сліпим способом із застосуванням наступної 4-бальної клінічної шкали:

0 = патології немає; 0,5 = втрата маси протягом більше ніж однієї послідовної доби; 1 = атаксія і знижений настановний рефлекс; 2 = парез задніх кінцівок, нетримання сечі, ущільнення калових мас; 3 = параліч; 4 = остаточний параліч.

Критерії для лікування. Тварин для лікування вибирали на підставі тяжкості захворювання виходячи з двох критеріїв: (1) тварини повинні були знаходитись в хронічній стадії захворювання (тобто, щонайменше, 40 діб після імунізації) і (2) тварини до початку періоду лікування повинні були досягти клінічного бала 2 (тобто парези задніх кінцівок). В останньому експерименті авторів винаходу з даною хронічною прогресуючою моделлю ЕАЕ у 95% хронічно хворих тварин із клінічним балом 2 у спинному мозку виявляли від помірної до важкої демієлінізації з діапазоном від декількох невеликих осередків демієлінізації до одного або декількох великих осередків, що зливаються. Суворе дотримання даних критеріїв забезпечувало найкращу можливість для втрати мієліну до початку періоду лікування.

Режими лікування. Тварин, що задовольняли обом критеріям для лікування, лікували протягом періодів 10, 20, 30 або 40 діб. Ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну являє собою низькомолекулярну сполуку (молекулярна маса ~500Да) з високою афінністю зв'язується з інтегрином α_4 людини і морської свинки (IC_{50} для інгібування клітинної адгезії до VCAM-1 високої щільності в присутності 100% = 1-10нм). Тварини в період лікування двічі на добу отримували або фізіологічний розчин ($n=16$) або ізопропіловий ефір N-[N-(3-

піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозину (30мг/кг, n=12). При такому режимі дозування весь час підтримували рівні насичення рецепторів ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозину (>10нМ). Обидва засоби вводили підшкірно. Крім того, групу тварин умертвляли на добу досягнення клінічного бала 2 для одержання контролю "d0" вихідного рівня.

Збирання і обробка тканин. Після умертвіння (0,25мл фенобарбіталу натрію) у тварин відбирали кров і проводили розкриття й одержання зрізів ЦНС. Використовували три зрізи спинного мозку, що відповідають поперековій, грудній і шийній ділянкам спинного мозку. Тканини фіксували в 10% формаліні і вміщували в парафін. Поперечні зрізи товщиною п'ять мкм забарвлювали солохром-R-ціаніном - якісним барвником на мієлін, і перевіряли за допомогою світлової мікроскопії на наявність доказів демієлінізації (відсутність синього забарвлення) і ремієлінізації (ділянки блакитного забарвлення в осередках ушкодження).

З кожного поперекового, грудного і шийного зрізу частину спинного мозку величиною 5мм із дистального кінця фіксували в 2,5% глутаральдегіді при 4°C. Потім з центра кожного поперечного зрізу з дорсальної і вентральної частин одержували 0,5мм зрізи. Дані зрізи потім фіксували в тетроксиді осмію і вміщували в епоксидну смолу. Забарвлені толуїдиновим синім поперечні зрізи розміром один мікрон перевіряли за допомогою світлової мікроскопії на наявність доказів демієлінізації і ремієлінізації. З ділянок, що містять осередки ушкодження, робили додаткові зрізи для електронної мікроскопії і дані зрізи забарвлювали перманганатом калію і розчином уранілацетату в етанолі і аналізували на мікроскопі Philips EM 300.

Гістологічний аналіз. Кількісний аналіз патології спинного мозку провели із застосуванням способу, модифікованого McGavern et al., J. Neurosci. Res. 1999, 58: 492-504. Зображення в середньому 12 поперечних зрізів на тварину одержували при 40x збільшенні із застосуванням цифрової камери Nikon Coolpix 995. Для підрахунку загальної ділянки ушкодження і ремієлінізованої ділянки в кожному поперечному зрізі (у довільних одиницях виміру) застосовували програмне забезпечення для аналізу зображень Sigma Scan Pro (SPSS Inc.). Дані ділянки підсумовували з одержанням загальної оцінки для всього спинного мозку, а ділянку ремієлінізації виражали як відсоток від загальної ділянки ушкодження.

Результати й обговорення. Основна мета даного дослідження являла собою визначення того, чи може тривале інгібування міграції імунних клітин у ЦНС забезпечити мимовільну ремієлінізацію існуючих осередків ушкодження в спинному мозку. Модель EAE у морських свинок демонструє неремітуюче, прогресуюче захворювання після імунізації гомогенатом унієї ЦНС (Wisniewski et al., J. Neuropath. Exp. Neurol. 1983, 42: 243-255; Karlik et al., 1986, Neurology 36: 1112-4; Karlik et al., 1993, Magn. Res. Med. 30:326-331). Гострий параліч починався приблизно після 10 доби зі значної демієлінізацією на 20 добу (Karlik et al., 1986, Neurology 36: 1112-4; Karlik et al., 1993, Magn. Res. Med. 30 326-331). Через 40 діб, у 95% тварин з повним двостороннім паралічем задніх кінцівок на всій стовбурній частині головного мозку і спинного мозку спостерігали від помірної до важкої демієлінізації. Важливо відзначити, що у тварин на даній стадії захворювання ніколи не спостерігали ані рецидивів або ремісій, ані мимовільного відновлення. В даному дослідженні лікування починали тільки тоді, коли тварини досягали даної стадії - щонайменше, через 40 діб після імунізації, і у них виявляли повний двосторонній параліч задніх кінцівок (клінічний бал 2). Потім тваринам протягом періодів 10, 20, 30 або 40 діб вводили або низькомолекулярний інгібітор інтертину $\alpha\beta_1$, ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозину, або носій (фізіологічний розчин). На Фіг.8 представлені одержані за допомогою світлової мікроскопії репрезентативні фотографії забарвлених солохром-ціаніном зрізів спинного мозку (Фіг.8A-P). У контрольних тварин (доба лікування "0") у кожній тварини спостерігали докази обширної демієлінізації; як правило, осередки ушкодження виглядали позбавленими інтактного мієліну з щільною інфільтрацією імунними клітинами з пінистими макрофагами, що містять на своєму лідируючому краї фагоцитований мієліновий дебрис (Фіг.8A, 8B). При найбільш короткому періоді лікування (10 діб) у тварин, які отримували фізіологічний розчин та ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозину, продовжували спостерігати великі осередки демієлінізації у спинному мозку з мінімальними показаннями "блідого мієліну". Навпаки, після 20 діб терапії ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозину у багатьох осередках ушкодження спостерігали дифузійне блакитне забарвлення, аналогічне описаному класичним тінювим осередкам, що вказують на ремієлінізацію у пацієнтів із РС (Фіг.8D). Осередки у контрольних тварин, що отримували фізіологічний розчин, залишалися позбавленими мієліну (Фіг.8C). На 40 добу лікування між двома групами, що піддаються лікуванню, спостерігали різні відмінності у загальній присутності мієліну. Більшість осередків ушкодження у тварин, які піддаються лікуванню ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозину, були присутні як тінюві осередки (Фіг.8P), тоді як в осередках ушкодження у контрольних тварин спостерігали дуже мало, якщо взагалі спостерігали, блакитного забарвлення (Фіг.8E).

Для кращого визначення зміни гістологічної ознаки зразки тканини перевіряли при високому розділенні за допомогою світлової та електронної мікроскопії (Фіг.9). У тварин, які 30 діб отримували фізіологічний розчин, на забарвлених толуїдиновим синім напівтонких зрізах спостерігали ділянки нормального мієліну (Фіг.9A), а також ділянки важкої демієлінізації і втрати аксонів (Фіг.9B). Невеликі перехідні зони між даними двома ділянками містили погано захищені аксони відносно малого діаметра (Фіг.9B), що може являти собою нещодавно демієлінізовані аксони зі спробою відновлення. Також в осередках ушкодження й у нормально мієлінізованих ділянках часто спостерігали наявність аксонів, що перетерпіли уоллерове переродження. У тварин, які отримували ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозину, (Фіг.9C) ділянки слабо мієлінізованих аксонів значно збільшувались і аксони мали тенденцію до більшого діаметра, означаючи більш загальну репаративну відповідь, часто у всій ушкодженій ділянці. Електронна мікроскопія підтвердила дані спостереження. Щільні оболонки мієліну навколо аксонів великого діаметра, що являють собою "нормально" скомпонований мієлін, показані на Фіг.9D. У тварин, які 40 діб отримували фізіологічний розчин, в осередках ушкодження

спостерігали малу кількість мієліну, де великі аксони були цілком демієлінізованими (Фіг.9Е). Навпаки, лікування ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозини приводило до появи декількох тонких шарів мієліну навколо аксонів великого діаметра, являючи собою стадію ремієлінізації (Фіг.9F). Отже, представляється, що тривале введення ізопропілового ефіру N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозини забезпечує мимовільну ремієлінізацію в спинному мозку тварин із хронічним прогресуючим ЕАЕ.

Для кількісного аналізу ефекту ізопропілового ефіру N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозини визначали частку осередків з наявністю ремієлінізації. Кількість осередків ушкодження з блідим мієліном поділяли на загальну кількість осередків ушкодження в поперечних зрізах спинного мозку, взятих на всьому його протязі від кожної тварини (Фіг.10) (для ознайомлення зі способом див. Warrington et al., 2000, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 97: 6820-5). Після 20, 30 і 40 діб введення фізіологічного розчину середня частка осередків з ремієлінізацією складала від 10 до 20%; значимої зміни частоти виникнення блідого мієліну у даних тварин з часом не спостерігали (Фіг.10А). Навпаки, після 20 діб введення ізопропілового ефіру N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозини у порівнянні з тваринами, що отримували сольовий розчин, у спинному мозку збільшувалась частота тінювих осередків, досягаючи 68%; після 30 і 40 діб частка складала 77% і 87%, відповідно ($p < 0,001$, двосторонній ANOVA з тестом Тьюкі). Дані величини значимо вище, ніж величини на початку лікування (доба 0 і доба 10) ($p < 0,05$, двосторонній ANOVA з тестом Тьюкі), вказуючи на те, що сполука збільшувала частоту випадків ремієлінізації залежним від часу чином. Оскільки частка осередків з ознаками ремієлінізації після 20 діб значимо не збільшувалась, представляється, що ремієлінізація в основному починається синхронно між добами лікування 10 і 20 (Фіг.10А).

Також вимірювали загальний ступінь ремієлінізації осередків у спинному мозку. На Фіг.10В представлений репрезентативний зріз спинного мозку з великим демієлінізованим осередком ушкодження в передньому розі. Для кожної тварини визначали загальну ділянку ушкодження за допомогою визначення усіх осередків ушкодження у всіх зрізах спинного мозку і підсумовування ділянок. Подібним чином за допомогою визначення ділянок блідого мієліну вимірювали загальну площу ремієлінізації. На Фіг.10C-F нанесена залежність загальної площі ушкодження в залежності від частки ремієлінізації. У тварин, що отримували фізіологічний розчин, будь-які ознаки відновлення в осередках спостерігали рідко, із середніми, що знаходяться в діапазоні від 2 до 11%, і значимих відмінностей від періоду обробки 40 діб не виявляли (Фіг.10C-F). Навпаки, після 20, 30 або 40 діб лікування ізопропіловим ефіром N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозини в більшості виявлених осередків ушкодження спостерігали різний ступінь ремієлінізації в діапазоні від 2 до 100% у більшості осередків (середня ділянка ремієлінізації складала приблизно 50%) (Фіг.10D-5). ($p < 0,001$, двосторонній ANOVA з тестом Тьюкі). Отже, хоча у всіх тварин протягом всього лікування протягом 40 діб спостерігали осередки ушкодження, ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозини збільшує частоту і частку ремієлінізації. Крім того, наявність ремієлінізації у тварин, які отримували ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозини, узгоджується з відновленням моторної функції, що спостерігається. Початкова точка для лікування являла собою клінічний бал 2, що означає повний двосторонній параліч задніх кінцівок. У 50% тварин, які отримували ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозини, параліч зменшувався до клінічного бала 1, означаючи, що у тварин значним чином відновилось використання їх задніх кінцівок ($p < 0,05$, критерій суми рангів Манна-Уїтні). У контрольних тварин ніколи не спостерігали відновлення функції.

За визначенням, мимовільна ремієлінізація являє собою відновлення мієліну за відсутності терапевтичного впливу, спеціально призначеного для стимуляції ремієлінізації (Miller et al., 1995, Microsc. Res. Tech. 32: 230-245). Мимовільне відновлення документально доведено в моделях демієлінізації на тваринах, що включають в себе гостре токсичне ушкодження, як при застосуванні купризону, лізолецитину або бромистого етидію (Dubois-Dalcq et al., 1990, Bioessays 12: 569-576) і в моделях вірусного енцефаліту (Miller et al., 1995, Microsc. Res. Tech. 32: 230-245) або в моделях із загальною імуносупресією (Rodríguez et al., 1992, Neurol. 42: 348-57 і Murray et al. 2001, Brain 124: 1403-16). В даних прикладах ремієлінізація може завершитись протягом декількох тижнів. Ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозини являє собою низькомолекулярну сполуку, що перешкоджає активності інтегрину $\alpha_4\beta_1$ на імунних клітинах і розроблена як обмежуючий захворювання засіб для запобігання інфільтрації запальних клітин у головний мозок, а не як засіб для безпосередньої активації відновлення мієліну (Piraino et al., 2002, J Neuroimmunol. 131: 147-159). Оскільки модель CP-EAE на морських свинках являє собою неепізодичне захворювання, для якого, як правило, не показано відновлення, виявлення того, що обмежуючий захворювання засіб може самостійно активувати спонтанну ремієлінізацію, є суттєвим. Дані результати вказують на те, що запальне оточення самостійно придушує або порушує нормальні механізми відновлення і може в кінцевому рахунку приводити до їх вичерпання. Хоча у тварин, що отримували фізіологічний розчин, існують ознаки ремієлінізації, вона не досягає значимих рівнів і ніколи не супроводжується клінічною ремісією. Таким чином, представляється, що за допомогою придушення інфільтрації імунних клітин ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирозини запобігає руйнуванню знову сформованого мієліну і забезпечує відновлення.

Насправді індукованої ремієлінізації в ЦНС можна досягти рядом способів, що включають у себе введення гліколіпідів мієліну (Raine et al., 1978, Acta. Neuropathol. (Berl). 43: 43-53; Traugott et al., 1982, J. Neurol. Sci. 56: 65-73), ЦНС-специфічної антисироватки, очищених імуноглобулінів (Warrington et al., 2001, J. Allergy Clin. Immunol. 108: 121-5) або ростових факторів (Vao et al., 1995, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 92: 6190-4). Також нещодавно показано, що ремієлінізацію можуть активувати одержані із сироватки людські моноклональні антитіла (IgM), імовірно, за допомогою прямої стимуляції олігодендроцитів (Warrington et al., 2000, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 97: 6820-6825; Bieber et al., 2002, Glia 37: 241-9; Mitsunaga et al., 2002,

FASEB J. 16: 1325-1327). У моделях з дефіцитом трансплантація ембріональних нервових стовбурних клітин і нервових стовбурних клітин дорослого також приводить до утворення олігодендроцитів і синтезу нового мієліну (Halfpenny et al., 2002, Lancet Neurol. 1: 31-40). Хоча дані дослідження показали, що ЦНС здатна до відновлення, важливо відзначити, що терапевтично індукована ремієлінізація не зупиняє поточне захворювання. Наприклад, нещодавно виявили, що шлях Notch залучений як інгібітор мієлінізації при РС, відбиваючи взаємодію між олігодендроцитами, гліальними клітинами і поточним запаленням (John et al., 2002, Nat. Med. 8: 1115-21). При запальному порушенні, такому як РС, ЦНС все ще могла б бути вразливою для ушкодження.

Ремієлінізуючі антитіла, такі як наталізумаб, приводять до зворотного ходу патології при захворюванні ЕАЕ за допомогою інгібування припливу нових запальних клітин, що відбувається в іншому випадку безупинно. Клітини, що вже увійшли в ЦНС, знищуються за допомогою нормальних механізмів апоптозу (Hyduk et al., 1998, J. Neuropath. Exp. Neurol. 57: 602-614). Узгоджуючись з даними спостереженнями, показано, що при збільшеній тривалості лікування ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну прогресивно зменшує інфільтрати імунних клітин і асоційовані з ними медіатори запалення (Piraino et al., 2002, J. Neuroimmunol. 131: 147-159). У контрольованих іспитах для ремітуючого РС, наталізумаб показав, що лікування протягом шестимісячного періоду приводить до зменшення запальних осередків ушкодження головного мозку і зменшення рецидивів у порівнянні із суб'єктами, що піддавались лікуванню плацебо. Лікування в період іспиту переносилось добре, і у пацієнтів, які отримували наталізумаб, спостерігали поліпшене сприйняття самопочуття (Miller et al., 2003, New Engl. J. Med. 348: 15-23). Таким чином, такі засоби як лікування антитілами до інтегрину α_4 і такі сполуки, як ізопропіловий ефір N-[N-(3-піридинсульфоніл)-L-3,3-диметил-4-тіапроліл]-O-[1-метилпіперазин-4-ілкарбоніл]-L-тирози́ну, служать не тільки як обмежуючий захворювання фактор, але також як і засіб, що забезпечує відновлення ЦНС.

Хоча даний винахід описаний по відношенню до конкретних варіантів його здійснення, фахівцям у даній галузі необхідно розуміти, що можна провести різні зміни і можна замінити різними еквівалентами без відхилення від дійсної сутності й об'єму винаходу. Крім того, для адаптації до конкретної ситуації, речовини, композиції речовин, процесу, стадії або стадій процесу, до мети, сутності й об'єму даного винаходу можна провести множинну модифікації. Мається на увазі, що всі такі модифікації входять в об'єм винаходу.

Приклад 3

Конструювання гуманізованого антитіла 21.6

Гібридні легкі і важкі ланцюги конструювали за допомогою зв'язування клонуваних за допомогою ПЛР кДНК ділянок V_L і V_H мишачого 21.6 з людськими константними ділянками. 5'- і 3'-кінці послідовностей мишачої кДНК модифікували із застосуванням спеціально розроблених праймерів для ПЛР. Праймери для ПЛР для 5'-кінця (таблиця 8), які гібридизуються з послідовностями ДНК, що кодують початкові ділянки лідируючих послідовностей, розробляли для створення послідовностей ДНК, необхідних для ефективного трансляції (Kozak, J. Mol. Biol. 196: 947-950 (1987)) і для створення ділянок рестрикції HindIII для клонування в експресуючий вектор. Праймери для 3'-кінця (таблиця 8), які гібридизуються з послідовностями ДНК, що кодують кінці ділянок J, розробляли для створення послідовностей ДНК, необхідних для зрощування з константними ділянками і для створення ділянки BamHI для клонування в експресуючий вектор. Продукти ампліфікації ПЛР розщеплювали HindIII і BamHI, клонували у вектор pUC19 і визначали послідовність для підтвердження відсутності помилок протягом ампліфікації ПЛР. Потім адаптовані варіабельні ділянки мишачого 21.6 субклонували в експресуючі вектори для клітин ссавців, що містять людські константні ділянки або каппа, або гама-1.

Таблиця 8

Праймери для ПЛР для конструювання гібридного антитіла 21.6

А. Варіабельна ділянка легкого ланцюга												
1. Праймер для реконструкції 5'-кінця (37-членний)												
5'	C	AG	<u>AAG</u>	GCC	GCC	AC	AT	AG	CC	TC	AT	CA 3'
		A	<u>CTT</u>			C	G	A	G	T	T	G
			<i>HindIII</i>	Kozak				M	R	P	S	I Q
				Консенсус								
				Послідовність								
2. Праймер для реконструкції 3'-кінця (35-членний)												
5'	C	<u>GAG GAT</u>	CTC	ACG	TT	GA	TT	CA	CT	GG		3'
	C	<u>CCA</u>			T	T	C	G	T	T		
		<i>BamHI</i>	Донорний ділянка для зрощування									

В. Варіабельна ділянка важкого ланцюга												
1. Праймер для реконструкції 5'-кінця (37-членний)												
5'	C	AG	<u>AAG</u>	GCC	GCC	AC	AT	AA	TG	AG	TG	GT 3'
		A	<u>CTT</u>			C	G	A	C	C	G	C
			<i>HindIII</i>	Kozak				M	K	C	S	W V
				Консенсус								
				Послідовність								
2. Праймер для реконструкції 3'-кінця (33-членний)												
5'	C	<u>GAG GAT</u>	CTC	ACC	TG	GG	GA	GG	GA	T		3'
	C	<u>CCA</u>			A	A	C	T	C			
		<i>BamHI</i>	Донорна ділянка для зрощування									

Моделювання структури варіабельних ділянок мишачого 21.6. Будували молекулярну модель ділянок

V_L і V_H мишачого антитіла 21.6. Модель будували на робочій станції Silicon Graphics IRIS 4D, що працює під керуванням операційної системи UNIX і з застосуванням пакета молекулярного моделювання QUANTA (Polygen Corp., USA). Структура FR ділянки V_L мишачого 21.6 ґрунтувалась на дозволеній структурі людського імуноглобуліну Бенса-Джонса RE1 (Epp et al., Biochemistry 14: 4943-4952 (1975)). Структура FR ділянки V_H мишачого 21.6 ґрунтувалась на дозволеній структурі мишачого антитіла Gloop2. Ідентичні залишки у FR зберігали; неідентичні залишки заміняли із застосуванням засобів QUANTA. CDR1 і CDR2 ділянки V_L мишачого 21.6 ідентифікували як належні канонічним структурним групам 2 і 1, відповідно (Chothia et al., J. Mol. Biol. 196: 901-917 (1987)). Оскільки CDR1 і CDR2 з RE1 належать тим же канонічним групам, CDR1 і CDR2 ділянки V_L мишачого 21.6 моделювали на основі структур CDR1 і CDR2 з RE1. Для CDR3 ділянки V_L мишачого 21.6 відповідності якій-небудь канонічній структурній групі для CDR3 ділянки V_L не виявили. Однак пошук у базі даних виявив, що CDR3 в ділянці V_L мишачого 21.6 подібний з CDR3 в ділянці V_L мишачого HyHEL-5 V_L (Sheriff et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 8075-8079 (1987)). Таким чином, CDR3 ділянки V_L мишачого 21.6 моделювали на основі структури CDR3 в ділянці V_L мишачого HyHEL-5. CDR1 і CDR2 ділянки V_H мишачого 21.6 ідентифікували як належні канонічним структурним групам 1 і 2, відповідно. CDR1 ділянки V_H мишачого 21.6 моделювали на основі CDR1 ділянки V_H Gloop2, що більш за все володіє подібними з канонічною групою 1 для CDR1 ділянок V_H членами. CDR2 ділянки V_H мишачого 21.6 моделювали на основі CDR2 мишачого HyHEL-5 (Sheriff et al., вище), що також є представником канонічної групи 2 CDR2 для ділянок V_H . Для CDR3 ділянок V_H не існує канонічних структур. Однак CDR3 в ділянці V_H мишачого 21.6 був подібним з CDR3 в ділянці V_H мишачого R19.9 (Lascombe et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 607-611 (1989)) і його моделювали на основі даного CDR3 за допомогою видалення додаткового серинового залишку, що присутній на вершині петлі CDR3 ділянки V_H мишачого R19.9 і відпалювання й оптимізації розриву. Нарешті, модель піддавали методу найшвидшого спускання і мінімізації енергії з'єднаних градієнтів із застосуванням можливостей CHARMM (Brooks et al., J. Comp. Chem. 4: 187-217 (1983)), як це здійснено в QUANTA, для зменшення несприятливих атомних контактів і для оптимізації взаємодій Ван-дер-Ваальса й електростатичних взаємодій.

Розробка видозмінених варіабельних ділянок людського 21.6 - відбір гомологічних людських антитіл для каркасної послідовності. За допомогою порівняння амінокислотних послідовностей ідентифікували людські варіабельні ділянки, для FR яких показаний найбільший відсоток ідентичності з мишачим 21.6. У таблицях 10 і 11 наводиться порівняння варіабельних ділянок мишачого 21.6 із всіма відомими варіабельними ділянками, а потім і усіма відомими людськими варіабельними ділянками. Ділянку V_L мишачого 21.6 ідентифікували як належну підгрупі 5 мишачої ділянки V_L каппа, як визначено Kabat. Ідентифікували окремі мишачі ділянки V_L каппа, що володіють до 93,4% ідентичності з ділянкою W_L каппа мишачого 21.6 (38C13VC і PC613'CL). Ділянка V_L мишачого 21.6 була найбільш подібною з людською ділянкою V_L каппа підгрупи 1, як визначено Kabat. Ідентифікували окремі людські ділянки V_L каппа, що володіють до 72,4% ідентичності з ділянкою V_L каппа мишачого 21.6. Каркасні ділянки (FR) однієї з найбільш подібних людських варіабельних ділянок, RE1, застосовували для розробки видозміненої ділянки V_L людського 21.6. Ділянку V_H мишачого 21.6 ідентифікували як належну підгрупі 2с мишачої ділянки V_H , як визначено Kabat. Ідентифікували окремі мишачі варіабельні ділянки важких ланцюгів, що володіють до 93,3% ідентичності з ділянкою V_H мишачого 21.6 (17.2.25'CL і 87.92.6'CL). Ділянка V_H мишачого 21.6 була найбільш подібною з людськими ділянками V_H підгрупи 1, як визначено Kabat, вище. Ідентифікували окремі людські ділянки V_H , що володіють до 64,7% ідентичності з ділянкою V_H мишачого 21.6. FR однієї з найбільш подібних людських варіабельних ділянок, 21/28'CL, застосовували для розробки видозміненої ділянки V_H людського 21.6.

Заміни амінокислот у каркасних ділянках.

(А) Легкий ланцюг. Наступною стадією в процесі розробки видозміненої ділянки V_L людського 21.6 було зв'язування CDR з ділянки V_L мишачого 21.6 з FR людського RE1 (Palm et al., Physiol. Chem, 356: 167-191 (1975)). У першій версії видозміненої ділянки V_L людського 21.6 (La) у людських FR проводили сім змін (таблиця 10, Фіг.13). У положеннях 104, 105 і 107 у FR4, амінокислоти з RE1 заміняли більш звичайними амінокислотами людської ділянки J з іншого людського легкого ланцюга каппа (Riechmann et al., Nature 332: 323-327 (1988)).

У положенні 45 у FR2 звичайно присутній у RE1 лізин замінили на аргінін, що знаходиться в даному положенні в ділянці V_L мишачого 21.6. Амінокислотний залишок в даному положенні вважали важливим у підтриманні петлі CDR2 ділянки V_L мишачого 21.6.

У положенні 49 у FR2 звичайно присутній у RE1 тирозин замінили на гістидин, що знаходиться в даному положенні в ділянці V_L мишачого 21.6. У моделі знайшли, що гістидин в даному положенні в ділянці V_L мишачого 21.6 розташований всередині ділянки зв'язування і, можливо, може вступати в прямий контакт з антигеном під час зв'язування антитіло-антиген.

У положенні 58 у FR3 звичайно присутній у RE1 валін замінили на ізолейцин, що знаходиться в даному положенні в ділянці V_L мишачого 21.6. Амінокислотний залишок у даному положенні вважали важливим у підтриманні петлі CDR2 ділянки V_L мишачого 21.6.

У положенні 69 у FR3 звичайно присутній у RE1 треонін заміняли на аргінін, що знаходиться в даному положенні в ділянці V_L мишачого 21.6. У моделі знайшли, що аргінін у даному положенні в ділянці V_L мишачого 21.6 розташований поруч з петлею CDR1 ділянки V_L мишачого 21.6 і, можливо, може вступати в прямий контакт з антигеном під час зв'язування антитіло-антиген.

Другу версію видозміненої ділянки V_L людського 21.6 (позначену Lb) розробляли як таку, що містить ті ж заміни, що і вище, за винятком того, що не робили змін у положенні 49 у FR2 RE1. (Фіг.13).

(В) Важкий ланцюг. Наступною стадією процесу розробки видозміненої ділянки V_H людського 21.6 було зв'язування CDR з ділянки V_H мишачого 21.6 з FR з 21/28'CL (Dersimonian et al., J. Immunol. 139: 2496-2501 (1987)). У першій версії видозміненої ділянки V_H людського 21.6 (Ha) проводили п'ять змін у людських каркасних ділянках (таблиця 11, Фіг.14). П'ять змін у людських FR знаходились в положеннях 27, 28, 29, 30 і 71.

У положеннях 27, 28, 29 і 30 у FR1, амінокислоти, що є присутніми у людському 21/28'CL заміняли на амінокислоти, розташовані в даних положеннях в ділянці V_H мишачого 21.6. Хоча дані положення

розробляли як розташовані в FR1 (Kabat et al., вище), положення з 26 по 30 являють собою частину структурної петлі, що формує петлю CDR1 ділянки V_H. Отже, можливо, що амінокислоти в даних положеннях безпосередньо залучені і зв'язування антигену. Справді, положення з 27 по 30 являють собою частину канонічної структури CDR1 ділянки V_H, як визначено Chothia et al., вище.

У положенні 71 у FR3, присутній у людському 21/28'CL аргінін заміняли на аланін, що знаходиться в даному положенні в ділянці V_H мишачого 21.6. Положення 71 являє собою частину канонічної структури для CDR2 ділянки V_H, як визначено Chothia et al., вище. З моделі варіабельних ділянок мишачого 21.6 представляється, що аланін у положенні 71 важливий для підтримання петлі CDR2 ділянки V_H. Заміна аланіну на аргінін у даному положенні, дуже імовірно, могла б порушити укладання петлі CDR2.

Друга версія (Hb) видозміненої ділянки V_H людського 21.6 містила п'ять описаних вище для версії Na замін і одну додаткову заміну у FR2.

У положенні 44 у FR2, присутній у людському 21/28'CL аргінін заміняли на гліцин, що знаходиться в даному положенні в ділянці V_H мишачого 21.6. На основі опублікованої інформації про укладання ділянок V_L-V_H і моделі варіабельних ділянок мишачого 21.6 вважали, що амінокислотний залишок у положенні 44 може бути важливим в укладанні ділянок V_L-V_H.

Версію Не видозміненої ділянки V людського 21.6 розробляли, щоб зробити петлю CDR3 такою, що виглядає більш схожою на людську VCAM-1. І мишаче антитіло 21.6 і людська VCAM-1 зв'язуються з інтегрином $\alpha_4\beta_1$. Петля CDR3 ділянки V_H антитілу є найбільш різноманітною із шести петель CDR і, як правило, є найбільш важливим окремим компонентом антитілу у взаємодіях антитіло-антиген (Chothia et al., вище; Hoogenboom & Winter, J. Mol. Biol. 227: 381-388 (1992); Barbas et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 4457-4461 (1992)). Між CDR3 ділянки V_H мишачого 21.6 і амінокислотами з 86 по 94 людської VCAM-1 виявили деяку подібність послідовностей, особливо між послідовністю YGN (тирозин-гліцин-аспарагін) у петлі CDR3 і послідовністю FGN (тобто фенілаланін-гліцин-аспарагін) у VCAM-1. Вважали, що дані послідовності споріднені послідовностям RGD (тобто аргінін-гліцин-аспарагінова кислота), важливим у подіях адгезії у різних клітин (Main et al., Cell 71: 671-678 (1992)). Тому у положенні 98 в CDR3 тирозин, що знаходиться в ділянці V_H мишачого 21.6, заміняли на фенілаланін, що знаходиться в послідовності людського VCAM-1.

Також розглядали можливу заміну в положенні 36 у FR2. Ланцюг V_H мишачого 21.6 містить незвичайний цистеїновий залишок у положенні 36 у FR2. В даному положенні в FR2 звичайно у споріднених послідовностях миші і людини знаходиться триптофан (таблиця 11). Хоча цистеїнові залишки часто важливі для конформації антитіла, модель варіабельних ділянок мишачого 21.6 не вказувала на те, що даний цистеїновий залишок прямо або опосередковано залучений у зв'язування антитіла так, що присутній у FR2 ділянки V_H людського 21/28'CL триптофан не заміщали у всіх трьох версіях гуманізованого антитіла 21.6.

Конструювання видозмінених людських антитіл 21.6. Першу версію видозміненої ділянки V_L людського 21.6 (resh21.6VL_a) конструювали з фрагментів ПЛР, що перекриваються, по суті як описано в Daugherty et al., Nucleic Acids Res. 19: 2471-2476 (1991). Ділянку V_L мишачого 21.6, адаптовану як описано вище і вставлену в pUC19, застосовували як матрицю. Синтезували чотири пари праймерів, APCRI-vla1, vla2-vla3, vla4-vla5 і vla6-vla7 (таблиця 9). Суміжні пари перекривались, щонайменше, по 21 основі. Праймер APCR1 комплементарний до вектора pUC19. Відповідні пари праймерів (0,2мкмоль) змішували з 10нг матричної ДНК і 1 одиницею ДНК-полімерази AmpliTaq (Perkin Elmer Cetus) у 50мкл буфера для ПЛР, що містить 10мМ Tris-HCl (р 8,3), 50мМ KCl, 200мкМ dNTP і 1,5мМ MgCl₂. Кожну реакцію проводили 25 циклів. Після початкового плавлення при 94°C протягом 5хв. проводили циклічні реакції при 94°C протягом 1хв., 55°C протягом 1хв. і 72°C протягом 2хв., а наприкінці інкубували при 72°C протягом додаткових 10хв. Час нагрівання між стадією відпалювання і подовження праймерів складав 2,5хв. Продукти чотирьох реакцій (A, B, C і D) з першого раунду реакцій ПЛР екстрагували фенолом і осаджували етанолом.

Таблиця 9

Праймери ПЛР для конструювання видозмінених варіабельних ділянок людського 21.6

A. Варіабельна ділянка легкого ланцюга
1. Праймери для синтезу версії "a"
21.6VL _a 1 (39-членний):
5' GAT GGT GAC TCT ATC TCC TAC AGA TGC AGA CAG TGA GGA 3'
21.6VL _a 2 (32-членний):
5' CTG TAG GAG ATA GAG TCA CCA TCA CTT GCA AG 3'
21.6VL _a 3 (39-членний):

5' AGG AGC TTT TCC AGG TGT CTG TTG GTA CCA AGC CAT ATA 3'

21.6VL_{a4} (41-членний):

5' ACC AAC AGA CAC CTG GAA AAG CTC CTA GGC TGC TCA TAC AT 3'

21.6VL_{a5} (40-членний):

5' GCA GGC TGC TGA TGG TGA AAG TAT AAT CTC TCC CAG ACC C 3'

21.6VL_{a6} (42-членний):

5' ACT TTC ACC ATC AGC AGC CTG CAG CCT GAA GAT ATT GCA ACT 3'

21.6VL_{a7} (59-членний):

5' CCG AGG ATC CAC TCA CGT TTG ATT TCC ACC TTG GTG CCT TGA CCG AAC GTC CAC
AGA TT 3'

2. Праймери для синтезу версії "b"

21.6VL_{b1} (33-членний): зміни H-49 на Y-49

5' GGA AAA GCT CCT AGG CTG CTC ATA TAT TAC ACA 3'

21.6VL_{b2} (38-членний): зміни ACC-101 на ACA-101 для руйнування ділянки
Sty

5' CCG AGG ATC CAC TCA CGT TTG ATT TCC ACC TTT GTG CC 3'

В. Варіабельна ділянка важкого ланцюга

1. Праймери для синтезу версії "a"

21.6V_{ha1} (51-членний):

5' AAC CCA GTG TAT ATA GGT GTC TTT AAT GTT GAA ACC GCT AGC TTT ACA GCT 3'

21.6V_{ha2} (67-членний):

5' AAA GAC ACC TAT ATA CAC TGG GTT AGA CAG GCC CCT GGC CAA AGG CTG GAG TGG ATG
GGA AGG ATT G 3'

21.6V_{ha3} (26-членний):

5' GAC CCG GCC CTG GAA CTT CGG GTC AT 3'

21.6V_{ha4} (66-членний):

5' GAC CCG AAG TTC CAG GGC CGG GTC ACC ATC ACC GCA GAC ACC TCT GCC AGC ACC
GCC TAC ATG GAA 3'

21.6V_{ha5} (64-членний):

5' CCA TAG CAT AGA CCC CGT AGT TAC CAT AAT ATC CCT CTC TGG CGC AGT AGT AGA
CTG CAG TGT C 3'

21.6V_{ha6} (63-членний):

5' GGT AAC TAC GGG GTC TAT GCT ATG GAC TAC TGG GGT CAA GGA ACC CTT GTC ACC
GTC TCC TCA 3'

2. Праймери для синтезу версії "b"

21.6V_{Hb} (37-членний): зміни R-44 на G-44

5' CCA GGG CCG GGT CAC CAT CAC CAG AGA CAC CTC TGC C 3'

3. Праймери для синтезу версії "c"

21.6V_{Hc} (27-членний): зміни Y-98 на F-98

5' CAG GCC CCT GGC CAA GGG CTG GAG TGG 3'

С. Варіабельні ділянки і легкого, і важкого ланцюгів

Праймери, які гібридизуються з фланкуючими вектор pUC19 ДНК APCR1
(17-членний, смисловий праймер)

5' TAC GCA AAC CGC CTC TC 3'

APCR4 (18-членний, антисмисловий праймер)

5' GAG TGC ACC ATA TGC GGT 3'

Продукти ПЛР А і В і С і D зв'язували в другому раунді реакцій ПЛР. Продукти ПЛР А і В і С і D, (по 50нг кожний) додавали до 50мкл реакційної суміші ПЛР (як описано вище) і ампліфікували 20 циклів як описано вище, за винятком того, що температуру відпалювання підвищували до 60°C. Продукти даних реакцій

позначали E і F. Пари застосовуваних для ПЛР праймерів являли собою APCRI-vla3 і vla4-vla7, відповідно. Продукти ПЛР E і F екстрагували фенолом і осаджували етанолом, а потім збирали в третьому раунді реакцій ПЛР на основі їх власної комплементарності у двохстадійній реакції, подібній з реакцією, описаною вище, із застосуванням APCR1 і vla7 як термінальних праймерів. Повністю зібраний фрагмент, що являє собою повну видозмінену ділянку V_L людського 21.6, включаючи лідируючу послідовність, розщеплювали HindIII і BatHI і клонували в pUC19 для визначення послідовності. Клон із правильною послідовністю позначали як resh21.6VLa.

Другу версію видозміненої ділянки V_L людського 21.6 (Lb) конструювали із застосуванням праймерів для ПЛР для одержання невеликих модифікацій у першій версії видозміненої ділянки Ус людського 21.6 (La) за допомогою способу Kamman et al., Nucl. Acids Res. 17: 5404 (1989). Синтезували два набори праймерів (таблиця 9). Кожну реакцію ПЛР по суті проводили за тих самих умов, що описано вище. У першій реакції ПЛР мутагенний праймер, 21.6VLb2, застосовували для руйнування ділянки Sty (Thr-ACC-97 на Thr-ACA-97) з одержанням resh21.6VLa2. Потім у другій реакції ПЛР застосовували мутагенний праймер 21.6VLb1 (His-49 на Tyr-49) з pUC-resh21.6VLa2 як матричної ДНК. Продукт ПЛР розщеплювали Sty і BatHI і субклонували в pUC-resh21.6VLa2, розщеплену тими ж рестрикційними ферментами. Клон із правильною послідовністю позначили як pUC-resh21.6VLb.

Версію "a" видозміненої ділянки V_H людського 21.6 конструювали із застосуванням тих же способів ПЛР, які описані для конструювання версії "a" видозміненої ділянки V_L людського 21.6 (таблиця 9). Фрагменти ДНК після рестрикції з застосуванням HindIII-BatHI, що кодують версію "g" видозміненої ділянки W_H людського 425 (Kettleborough et al., вище) і версію "b" видозміненої ділянки V# людського AUK12-20 субклонували у вектори pUC19 з одержанням pUC-resh425g і pUC-reshAUK12-20b, відповідно, (версію "b" AUK12-20 одержували мутагенезом за допомогою ПЛР фрагмента V_H a425, описаного Kettleborough et al., вище і вона кодує амінокислотну послідовність:

```
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYSFT SYIHWVRQAPGQGLEWVG  
YIDPFGGTSYNQKFKG KVTMTVDSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR  
GGN-RFAY WGQGTITVTVSS
```

(пробіли розділяють ділянки FR і CDR)).

Плазмиди pUC-resh425g і pUC-reshAUK12-20b, а також вектор pUC, що містить ділянку V_H мишачого 21.6, модифіковану для застосування в конструкції гібридного важкого ланцюга 21.6 (pUC-chim21.6V_H), застосовували як матричні ДНК у наступних реакціях ПЛР. Праймери для ПЛР розробили і синтезували для конструкції видозміненої ділянки V_H людського 21.6 версії "a" (Table 9). Продукт ПЛР A одержували із застосуванням як матричної ДНК pUC-reshAUK12-20b і APCRI-vha1 як пари праймерів для ПЛР. Продукти ПЛР B і D одержували із застосуванням як матричної ДНК pUC-chim21.6V_H і vha2-vha3 і vha6-APCR4 як пари праймерів для ПЛР, відповідно. Нарешті, продукт ПЛР C одержували із застосуванням як матричної ДНК pUC-resh425g і vla4-vla5 як пари праймерів для ПЛР. Кінцевий продукт ПЛР субклонували в pUC19 у вигляді одержаного з застосуванням HindIII-BatHI фрагмента для визначення послідовності ДНК. Клон із правильною послідовністю ДНК позначили як pUC-resb.21.6V_{Ha}. Послідовність ДНК і амінокислотна послідовність першої версії видозміненої варіабельної ділянки 21.6 представлені на Фіг.15.

Інші версії видозміненої ділянки V_H людського 21.6 по суті конструювали як описано вище для конструювання версії "b" видозміненої ділянки V_L людського 21.6. Синтезували два набори праймерів (Table 9). Для другої (Hb) і третьої (Hc) версій, у реакціях ПЛР із pUC-resh21.6V_{Ha} як матричну ДНК застосовували мутагенні праймери 21.6V_{Hb} (Arg-44 на Gly-44) і 21.6V_{Hc} (Tyr-98 на Phe-98), відповідно. Продукти ПЛР V_{Hb} і V_{Hc} розщеплювали рестрикційними ферментами і субклонували у вектор pUC pUC-resh21.6V_{Ha} як одержаних із застосуванням MscI-BatHI і PstI-BamHI фрагментів, відповідно, з одержанням pUC-resh21.6V_{Hb} і pUC-resh21.6V_{Hc}.

Першу версію видозміненої ділянки V_H людського 21.6 (Ha) конструювали способом, подібним зі способом для конструювання першої версії видозміненої ділянки V_L людського 21.6 (La). Однак у даному випадку праймери для ПЛР застосовували з трьома різними матричними ДНК: ділянкою V_H мишачого 21.6, як вже адаптованого для експресії гібридного важкого ланцюга 21.6, версії "g" ділянки V_H гуманізованого 425 (Kettleborough et al., вище) і ділянки V_H версії "b" гуманізованого AUK12-20 (таблиця 9). Послідовність ДНК і амінокислотна послідовність першої версії видозміненої варіабельної ділянки важкого ланцюга гуманізованого 21.6 представлені на Фіг.16. Другу і третю версії ділянки V_H гуманізованого 21.6 (Hb і Hc) конструювали із застосуванням праймерів для ПЛР для одержання невеликих мутацій у першій версії ділянки V_H гуманізованого 21.6 (Ha) (таблиця 9).

Таблиця 10

Вирівнювання амінокислотних послідовностей, що забезпечує конструювання видозмінених ділянок легких ланцюгів людського 21.6

Kabat	№	FR або мишаче CDR	21.6	мишача каппа 5 (фиг.17A)	людська каппа 1 (фиг.17B)	людське RE1	RH V _L 21.6	коментар
1	1	FR1	D	D	D	D	D	
2	2		I	I	I	I		
3	3		Q	Q	Q	Q	Q	
4	4		M	M	M	M	M	
5	5		T	T	T	T	T	
6	6		Q	Q	Q	Q	Q	
7	7		S	S	S	S	S	
8	8		P	P	P	P	P	
9	9		S	S	S	S	S	
10	10		S	S	S	S	S	
11	11		L	L	L	L	L	
12	12		S	S	S	S	S	
13	13		A	A	A	A	A	
14	14		S	S	S	S	S	
15	15		L	L	V	V	V	
16	16		G	G	G	G	G	
17	17		G	D	D	D	D	
18	18		K	R	R	R	R	

Вирівнювання амінокислотних послідовностей, що забезпечує конструювання
видозмінених ділянок легких ланцюгів людського 21.6

Kabat	№	FR або мишаче CDR	21.6	мишача каппа 5 (фиг.17A)	людська каппа 1 (фиг.17B)	людське RE1	RH V _L 21.6	коментар
19	19		V	V	V	V	V	
20	20		T	T	T	T	T	
21	21		I	I	I	I	I	
22	22		T	T	T	T	T	
23	23	FR1	C	C	C	C	C	
24	24	CDR1	K	R	R	Q	K	
25	25		T	A	A	A	T*	
26	26		S	S	S	S	S	
27	27		Q	Q	Q	Q	Q*	
27A			-	D	S	-	-	
27B			-	-	L	-	-	
27C			-	-	V	-	-	
27D			-	-	X	-	-	
27E			-	-	X	-	-	
27F			-	-	-	-	-	
28	28		D	D	S	D	D*	
29	29		I	I	I	I	I*	
30	30		N	S	S	I	N*	
31	31		K	N	N	K	K*	
32	32		Y	Y	Y	Y	Y*	
33	33		M	L	L	L	M*	
34	34	CDR1	A	N	A	N	A	
35	35	FR2	W	W	W	W	W	
36	36		Y	Y	Y	Y	Y	
37	37		Q	Q	Q	Q	Q	
38	38		H	Q	Q	Q	Q	
39	39		K	K	K	T	T	K в CAMPATH-1H
40	40		P	P	P	P	P	
41	41		G	G	G	G	G	
42	42		K	G	K	K	K	в інших версіях
43	43		R	S	A	A	A	розглядається як R
44	44		P	P	P	P	P	
45	45		R	K	K	K	R	підтримує петлю L2, в інших версіях розглядали як K
46	46		L	L	L	L	L	
47	47		L	L	L	L	L	
48	48		I	I	I	I	I*	
49	49		H	Y	Y	Y	H	всередині ділянки зв'язування, здатність взаємодіяти з антигеном, в інших версіях розглядається як Y
50	50	CDR2	Y	Y	A	E	Y*	
51	51		T	A	A	A	T*	
52	52		S	S	S	S	S*	
53	53		A	R	S	N	A	
54	54		L	L	L	L	L	

Вирівнювання амінокислотних послідовностей, що забезпечує конструювання
видозмінених ділянок легких ланцюгів людського 21.6

Kabat	№	FR або мишаче CDR	21.6	мишача каппа 2 (фиг.17A)	людська каппа 1 (фиг.17B)	людське RE1	RH V _L 21.6	коментар
55	55		Q	H	E	Q	Q	
56	56	CDR2	P	S	S	A	P	
57	57	FR3	G	G	G	G	G	
58	58		I	V	V	V	I	Вірогідно підтримує L2, в інших версіях розглядали як V
59	59		P	P	P	P	P	
60	60		S	S	S	S	S	
61	61		R	R	R	R	R	
62	62		F	F	F	F	F	
63	63		S	S	S	S	S	
64	64		G	G	G	G	G*	
65	65		S	S	S	S	S	
66	66		G	G	G	G	G	
67	67		S	S	S	S	S	
68	68		G	G	G	G	G	
69	69		R	T	T	T	R	розташований поряд з L1, на поверхні поряд з ділянкою зв'язування
70	70		D	D	D	D	D	
71	71		Y	Y	F	Y	Y*	F в CAMPATH-1H
72	72		S	S	T	T	T	
73	73		F	L	L	P	F	
74	74		N	T	T	T	T	
75	75		I	I	I	I	I	
76	76		S	S	S	S	S	
77	77		N	N	S	S	S	
78	78		L	L	L	L	L	
79	79		E	E	Q	Q	Q	
80	80		P	Q	P	P	P	
81	81		E	E	E	E	E	
82	82		D	D	D	D	D	
83	83		I	I	F	I	I	
84	84		A	A	A	A	A	
85	85		T	T	T	T	T	
86	86		Y	Y	Y	Y	Y	
87	87		Y	F	Y	Y	Y	
88	88	FR3	C	C	C	C	C	
89	89	CDR3	L	Q	Q	Q	L	
90	90		Q	Q	Q	Q	Q*	
91	91		Y	G	Y	Y	Y*	
92	92		D	N	N	Q	D*	
93	93		N	T	S	S	N*	
94	94		L	L	L	L	L*	
95	95		-	P	P	P	-	
95A			-	P	E	-	-	
95B			-	-	-	-	-	
95C			-	-	-	-	-	
95D			-	-	-	-	-	

**Вирівнювання амінокислотних послідовностей, що забезпечує конструювання
видозмінених ділянок легких ланцюгів людського 21.6**

Kabat	№	FR або мишаче CDR	мишаче 21.6	мишача каппа 5 (фиг.17A)	людська каппа 1 (фиг.17B)	людське RE1	RH V _L 21.6	коментар
95E			-	-	-	-	-	
95F			-	-	-	-	-	
96	95		W	R	W	Y	W*	
97	96	CDR3	T	T	T	T	T	
98	97	FR4	F	F	F	F	F	
99	98		G	G	G	G	G	
100	99		G	G	Q	Q	Q	
101	100		G	G	G	G	G	
102	101		T	T	T	T	T	
103	102		K	K	K	K	K	
104	103		L	L	V	L	V	як у CAMPATH-1H
105	104		E	E	E	Q	E	як у CAMPATH-1H
106	105		I	I	I	I	I	
106A			-	-	-	-	-	
107	106	FR4	K	K	K	T	K	як у CAMPATH-1H

Умовні позначки: (Kabat) нумерація за Kabat et al., вище; (№) послідовна нумерація, як застосовували при молекулярному моделюванні; (мишаче 21.6) амінокислотна послідовність ділянки V_L з мишачого антитіла 21.6; (мишача каппа 5) консенсусна послідовність мишачих ділянок V_L каппа з підгрупи 5 (Kabat et al., вище); (людська каппа 1) консенсусна послідовність людських ділянок V_L з підгрупи 1 (Kabat et al., вище); (людське RE1) амінокислотна послідовність людської ділянки V_L (Palm et al., Physiol. Chem. 356: 167-191 (1975)); (RH V_L 21.6) амінокислотна послідовність версії L1 видозміненої ділянки V_L людського 21.6; (*) залишки, що являють собою частину канонічних структур для петель CDR (Chothia et al., вище); (підкреслено) залишки в людських FR, де замінений амінокислотний залишок.

ТАБЛИЦЯ 11

**Вирівнювання амінокислотних послідовностей, що забезпечує конструювання
видозмінених ділянок важких ланцюгів людського 21.6**

Kabat	№	FR або мишаче CDR	мишача 2с фиг. (18A)	людська 1 фиг. (18B)	людське 21/28'CL	RH V _H 21.6	коментар
1	1	FR1	E	Q	Q	Q	
2	2		V	V	V	V	
3	3		Q	Q	Q	Q	
4	4		L	L	L	L	
5	5		Q	V	V	V	
6	6		Q	Q	Q	Q	
7	7		S	S	S	S	
8	8		G	G	G	G	
9	9		A	A	A	A	
10	10		E	E	E	E	
11	11		L	V	V	V	
12	12		V	K	K	K	
13	13		K	K	K	K	
14	14		P	P	P	P	
15	15		G	G	G	G	
16	16		A	A	A	A	

Вирівнювання амінокислотних послідовностей, що забезпечує конструювання
видозмінених ділянок важких ланцюгів людського 21.6

Kabat	№	FF або мишаче CDR	21.6	мишача 2с фіг. (18A)	людська 1 фіг (18B)	людське 21/28'CL	RH V _H 21.6	коментар
17	17		S	S	S	S	S	
18	18		V	V	V	V	V	
19	19		K	K	K	K	K	
20	20		L	L	V	V	V	
21	21		S	S	S	S	S	
22	22		C	C	C	C	C	
23	23		T	T	K	K	K	
24	24		A	A	A	A	A	
25	25		S	S	S	S	S	
26	26		G	G	G	G	G*	
27	27		F	F	Y	Y	F*	канонічна структура H1, в інших версіях розглядали як Y
28	28		N	N	T	T	N*	канонічна структура H1, на поверхні
29	29		I	I	F	F	I*	канонічна структура H1, в інших версіях розглядали як F
30	30	FR1	K	K	T	T	K*	канонічна структура H1, на поверхні
31	31	CDR1	D	D	S	S	D*	
32	32		T	T	Y	Y	T*	
33	33		Y	Y	A	A	Y	
34	34		I	M	I	M	I*	
35	35		H	H	S	H	H	
35A			-	-	-	-	-	
35B		CDR1	-	-	-	-	-	
36	36	FR2	C	W	W	W	W	прихований залишок без явної специфічної ролі C
37	37		V	V	V	V	V	
38	38		K	K	R	R	R	
39	39		Q	Q	Q	Q	Q	
40	40		R	R	A	A	A	
41	41		P	P	P	P	P	
42	42		E	E	G	G	G	
43	43		Q	Q	Q	Q	Q	
44	44		G	G	G	R	R	укладка V _L -V _H , в інших версіях розглядали як G
45	45		L	L	L	L	L	
46	46		E	E	E	E	E	
47	47		W	W	W	W	W	
48	48		I	I	M	M	M	
49	49	FR2	G	G	G	G	G	
50	50	CDR2	R	R	W	W	R	
51	51		I	I	I	I	I	
52	52		D	D	N	N	D	
52A	53		P	P	P	A	P*	
52B			-	-	-	-	-	

**Вирівнювання амінокислотних послідовностей, що забезпечує конструювання
видозмінених ділянок важких ланцюгів людського 21.6**

Kabat	№	FR або мишаче CDR	мишача 2с фіг. (18A)	людська 1 фіг. (18B)	людське 21/28'CL	RH V _H 21.6	коментар
52C			-	-	-	-	
53	54		A	G	G	A*	
54	55		N	N	N	N*	
55	56		G	G	G	G*	
56	57		Y	N	N	Y	
57	58		T	T	T	T	
58	59		K	N	K	K	
59	60		Y	Y	Y	Y	
60	61		D	A	S	D	
61	62		P	Q	Q	P	
62	63		K	K	K	K	
63	64		F	F	F	F	
64	65		Q	Q	Q	Q	
65	66	CDR2	G	G	G	G	
66	67	FR3	K	R	R	R	
67	68		A	V	V	V	
68	69		T	T	T	T	
69	70		I	I	I	I	
70	71		T	T	T	T	
71	72		A	A	R	A*	канонічна структура H2, підтримується H2
72	73		D	D	D	D	
73	74		T	T	T	T	
74	75		S	S	S	S	
75	76		S	T	A	A	
76	77		N	S	S	S	
77	78		T	T	T	T	
78	79		A	A	A	A	
79	80		Y	Y	Y	Y	
80	81		L	M	M	M	
81	82		Q	E	E	E	
82	83		L	L	L	L	
82A	84		S	S	S	S	
82B	85		S	S	S	S	
82C	86		L	L	L	L	
83	87		T	R	R	R	
84	88		S	S	S	S	
85	89		E	E	E	E	
86	90		D	D	D	D	
87	91		T	T	T	T	
88	92		A	A	A	A	
89	93		V	V	V	V	
90	94		Y	Y	Y	Y	
91	95		F	Y	Y	Y	
92	96		C	C	C	C	
93	97		A	A	A	A	
94	98	FR3	R	R	R		
95	99	CDR3	E	A	G	E	
96	100		G	P	G	G	

Вирівнювання амінокислотних послідовностей, що забезпечує конструювання
видозмінених ділянок важких ланцюгів людського 21.6

Kabat	№	FR або мишаче CDR	мишаче 21.6	мишача 2с фіг. (18A)	людська 1 фіг. (18B)	людське 21/28'CL	RH V _H 21.6	коментар
97	101		Y	Y	G	Y	Y	
98	102		Y	Y	Y	Y	Y	
99	103		G	Y	G	G	G	
100	104		N	D	S	S	N	
100A	105		Y	S	G	G	Y	
100B	106		G	X	G	S	G	
100C	107		V	V	o	-	V	
100D	108		Y	G	C	-	Y	
100E	109		A	Y	Y	-	A	
100F	110		M	Y	R	M		
100G			-	A	0	-	-	
100H			-	M	D	-	-	
100I			-	-	Y	-	-	
100J			-	-	-	-	-	
100K			-	-	F	-	-	
101	111		D	D	D	N	D	
102	112	CDR3	Y	Y	Y	Y	Y	
103	113	FR4	W	W	W	W	W	
104	114		G	G	G	G	G	
105	115		Q	Q	Q	Q	Q	
106	116		G	G	G	G	G	
107	117		T	T	T	T	T	
108	118		S	X	L	L	L	
109	119		V	V	V	V	V	
110	120		T	T	T	T	T	
111	121		V	V	V	V	V	
112	122		S	S	S	S	S	
113	123	FR4	S	S	S	S	S	

Умовні позначки: (Kabat) нумерація за Kabat et al., вище; (№) послідовна нумерація, як застосовували при молекулярному моделюванні; (мишаче 21.6) амінокислотна послідовність ділянки V_H з мишачого антитіла 21.6; (мишача 2с) консенсусна послідовність мишачих ділянок V_H з підгрупи 2с (Kabat et al., вище); (людська 1) консенсусна послідовність людських ділянок V_H з підгрупи 1 (Kabat et al., вище); (людське 21/28'CL) амінокислотна послідовність людської ділянки V_H (Dersimonian et al., J. Immunol., 139: 2496-2501 (1987)); (RH V_H 21.6) амінокислотна послідовність версії H1 видозміненої ділянки V_H людського 21.6; (*) залишки, що являють собою частину канонічних структур для петель CD (Chothia et al., вище); (підкреслено) залишки в людських FR, де замінений амінокислотний залишок.

Приклад 4

Модель ЕАЕ запалення в головному мозку

А. Аналіз *in vitro* зв'язування лімфоцитів зі збудженим ендотелієм на зрізах головного мозку з ЕАЕ. Після описаної в Yednock et al., Nature 356: 63-66 (1992) процедури головний мозок у щурів з ЕАЕ видаляли на 5 добу захворювання (перша доба паралічу хвоста/задніх кінцівок). Головний мозок швидко заморожували, робили зрізи і покривали суспензіями лімфоїдних клітин (спосіб описаний вище для головного мозку, у який вводили шляхом ін'єкції пухлинні клітини). Людські клітини U937 селективно зв'язувались зі збудженими судинами в мозку щурів з ЕАЕ. Попередня обробка клітин U937 антитілом до VLA-4, HP2/1 повністю інгібувала їх зв'язування зі збудженими судинами в прилягаючому зрізі головного мозку з ЕАЕ.

Як показано в таблиці 12, зв'язування людських клітин U937 зі збудженими судинами в головному мозку з ЕАЕ інгібувалось реагентами проти VLA-4 (антитіло до α_4 , HP2/1 і антитіло до β_2 , AIB2), але не антитілами до інших численних рецепторів адгезії. Два антитіла, які селективно інгібують активність VLA-4 у відношенні зв'язування фібрoneктину (FN), не впливають на зв'язування U937 із судинами при ЕАЕ (P4G9 і HP1/7). У таблиці 13 показано, що зв'язування нещодавно виділених людських лімфоцитів і моноцитів, а також нещодавно виділених щурячих або мишачих лімфоцитів зі збудженими при ЕАЕ судинами також селективно інгібувалось антитілами до VLA-4. Аналіз проводили як описано вище, а ступінь зв'язування визначали кількісно із застосуванням референсної популяції клітин.

Таблиця 12

Обробка клітин U937	Клон судин	Відносне зв'язування з ЕАЕ (% від контролю)
Антитіло до інтегрину β_1	AIB2	8±3
Антитіло до інтегрину α_3	A043	111±5
Антитіло до інтегрину α_4	HP2/1 (інгібує зв'язування FN і VCAM-1)	3±1
Антитіло до інтегрину α_4	P4G9 (селективно інгібує зв'язування FN)	151±7
Антитіло до інтегрину α_4	HP1/7 (селективно інгібує зв'язування FN)	338±1
Антитіло до інтегрину α_5	F1D6	104±6
Антитіло до інтегрину α_6	GoH3	88±11

Антитіла до інтегринів α_4 і α_5	F4G9 і P106 (спільно)	138±8
Антитіла до інтегринів α_3 , α_4 і α_6	A043, P1D5 і Go3 (спільно)	112±3
Антитіло до CD44	Homos-3	107±4
Антитіло до L-селектину	TQ-1	96±4
Антитіло доінтегрину β_2	P4H9	77±1
Антитіло до інтегрину β_2	TS1/18	98±5
Антитіло до інтегрину β_2	P4H9 (тестували при 25°C)	100±10
Антитіло до інтегрину β_2	TS1/18 (тестували при 25°C)	114±2
Антитіло до інтегрину α_4	HP2/1 (тестували при 25°C)	5±1
Антитіло до LFA-1	IOT1G	123±2
Антитіло до Mac-1	LM2/1	107±3

Таблиця 13

Обробка свіжовиділених лейкоцитів або моноцитів

Специфічність антитіла	Клон	Тип клітин	Відносно зв'язування із судинами при EAE (% від контролю)
Антитіло до інтегрину β_1	A1IB2	людські лімфоцити	7±2
Антитіло до інтегрину α_4	HP2/1	людські лімфоцити	0±0
Антитіло до інтегрину α_4	HP2/1	людські лімфоцити	1±1
Антитіло до інтегрину α_4	HP2/1	щурячі лімфоцити	18±7
Антитіло до інтегрину α_4	R1-2	мишачі лімфоцити	43±2
Антитіло до CD2	OX-34	щурячі лімфоцити	100±10
Антитіло до L-селектину	MEL-14	мишачі лімфоцити	92±4
Рецептор хомінгу в пейерови бляшки	18.2.6	щурячі лімфоцити	117±12
Антитіло до LFA-1	OX-52	щурячі лімфоцити	87±1
Антитіло до CD45	OX-1	щурячі лімфоцити	90±3
Антитіло до Thy 1.1	OX-7	щурячі лімфоцити	87±3
Антитіло до CD4	OX-35	щурячі лімфоцити	107±8
Антитіло до поверхні моноцитів/Т-клітин	OX-44	щурячі лімфоцити	102±8

В. Ефект від введення антитіла до VLA-4 in vivo. Щурам вводили антитіло до VLA-4 (внутрішньочеревинне введення) для визначення ефекту антитіла в розвитку EAE. Для таблиці 14 нижче, в кожному експерименті, на 0-у добу вводили Т-клітинний клон. На 2-у добу тваринам робили внутрішньочеревинну ін'єкцію PBS, зазначеної кількості очищеного антитіла до інтегрину α_4 або зазначеної кількості очищеного контрольного антитіла. Всі антитіла являли собою мишачі IgGі. Захворювання визначали за повним паралічем хвоста або хвоста і задніх кінцівок. У тих тварин, у яких розвивалось захворювання, параліч починався на добу 4 або 5, досягав максимуму на добу 5 або 6, а потім монотонно зменшувався. Два додаткових експерименти дали порівнянні результати. При вимірі на добу 3, 4 і 7 (доба 3 являє собою одну добу після введення антитіла й одну добу перед найбільш раннім початком паралічу) циркулюючі рівні і різні кількості білих клітин крові у тварин, оброблених HP2/1, і у контрольних тварин із PBS, що вводиться, не розрізнялися. Оптові партії HP2/1 придбавали у AMAC; MOPC - у Sigma; OX-1 і OX-7 - у Vyrproducts for Science.

У деяких хворих EAE щурів і здорових щурів, оброблених антитілом до інтегрину α_4 з експериментів 2 і 3, на 6 добу видаляли головний мозок. Спостерігали велику інфільтрацію в головному мозку хворих EAE тварин, тоді як у щурів, оброблених антитілом до інтегрину α_4 , лейкоцити виявити не могли.

Таблиця 14

Експеримент 1			
	Кількість тварин з паралічем		
Лікування	Доба 5	Доба 6	Доба 7
Без антитіла	4/5	5/6	4/6
HP2/1 (1,2мг)	0/6	0/6	0/6
MOPC (1,2мг)	6/6	6/6	5/6

Експеримент 2			
	Кількість тварин з паралічем		
Лікування	Доба 4	Доба 5	Доба 6
Без антитіла	4/5	5/6	5/5
HP2/1 (1,0мг)	0/6	0/6	2/4
OX-1 (1,0мг)	5/5	5/5	5/5
OX-7 (1,0мг)	5/6	5/5	5/5

Експеримент 3			
	Кількість тварин з паралічем		
Лікування	Доба 4	Доба 5	Доба 6
Без антитіла	6/6	6/6	6/6

HP2/1 (1,0мг)	1/1	2/5	2/5
OX-1 (1,0мг)	1/5	2/5	1/5
OX-7 (1,0мг)	0/6	0/6	2/6

Приклад 5

Одержання додаткових антитіл до VLA-4

Імунізація і протокол скринінгу. Індукували TY21.6 і 21.12 до В-клітинної лінії Ramos (одержаної з ATCC). 10^7 клітин Ramos, гомогенізованих у повному ад'юванті Фрейнда, ін'єктували миші Balb/c (внутрішньочеревинне введення). Через чотирнадцять діб тварин індукували ще 10^7 клітин Ramos (гомогенізованих у неповному ад'юванті Фрейнда, що вводяться внутрішньочеревинно). Через додаткові 14 діб тваринам ін'єктували 2×10^6 живих клітин Ramos (внутрішньовенне введення). Через три доби після останньої індукції видаляли селезінку, виділяли спленоцити, зливали з мієломою SP/2 і розміщали приблизно в 2000 ямок. Проводили скринінг супернатантів на їх здатність інгібувати зв'язування В-клітинної лінії Ramos із трансфікованими VCAM-1 L-клітинами. Трансфіковані VCAM-1 L-клітини одержували із застосуванням стандартних способів: кДНК VCAM-1 виділяли за допомогою ПЛР; праймери синтезували на основі опублікованої послідовності, а РНК виділяли зі стимульованих TNF людських ендотеліальних клітин з пупкової вени (HUVEC). Виділені кДНК трансфікували в мишачі L-клітини і виділяли клони, які експресують високі рівні мРНК VCAM-1. Для аналізу адгезії L-клітини з VCAM-1 вміщували в 96-ямкові планшети, і дозволяли їм рости до досягнення конфлуентності. Клітини U937 флуоресцентно мітили PKH26 (Zynaxis Cell Science, Inc, Malvern, Pa.), попередньо протягом 30 хвилин на льоду обробляли супернатантами гібридом (200000 клітин/зразок) і додавали в окремі ямки з VCAM-1. Адгезії дозволяли відбуватись протягом 30 хвилин при кімнатній температурі, потім ямки відмивали для видалення клітин, що не зв'язались, а клітини, що залишились, лізували 40мкл 0,1% Triton. 20мкл екстракту аналізували на планшет-рідері Pandex для визначення рівня флуоресценції (тобто кількості клітин, що зв'язались). Рівень зв'язування визначали за відсотком флуоресценції щодо флуоресценції, пов'язаної із загальною кількістю доданих клітин/ямку (тобто 200000 клітин U937). Дві окремих гібридами ідентифікували як могутні блокатори зв'язування Ramos з VCAM-1 і стабілізували їх як клони. Антитіла позначали як TY21.6 і TY21.12.

Визначили, що обидва антитіла вступають у реакцію з інтегрином α_4 , тому що антитіла осаджували дві білкові смуги з лізату лімфоцитів, мічених на клітинній поверхні. Дані білки мали молекулярну масу 150 і 130кДа, що відповідає відомим молекулярним масам інтегринових ланцюгів α_4 і β_1 , відповідно. У паралельному зразку комерційно доступним, добре охарактеризованим антитілом до людського інтегрину α_4 (антитіло HP2/1) осаджувались ідентичні смуги. Інших білкових смуг не виявили. Дані результати вказують на те, що 21.6 і 21.12 взаємодіють з інтегриновим комплексом $\alpha_4\beta_1$.

Антитіла TY21.6 і 21.12 додатково характеризували за допомогою аналізу FACS, із застосуванням стандартних способів забарвлення клітин за допомогою непрямой імунофлуоресценції. Обидва антитіла взаємодіяли з людською В-клітинною лінією, JY (що експресує інтегрин α_4 , але тільки дуже низькі рівні β_1). Обидва антитіла не взаємодіяли з людськими клітинами K562 або з людськими нейтрофілами (що експресують β_1 , але дуже низькі рівні інтегрину α_4). Нарешті, обидва антитіла реагували з мишачими L-клітинами, трансфікованими людським інтегрином $\alpha_4\beta_1$ (одержаними як описано вище для трансфікованих VCAM-1 L-клітин із застосуванням Т-клітинної лінії Jurkat як матричної РНК), але не з L-клітинами, трансфікованими контролем. Ідентичний профіль реактивності одержаний із застосуванням HP2/1, тоді як добре охарактеризоване антитіло до інтегрину β_1 (A1B2) не взаємодіяло з JY, але взаємодіяло з K562 і нейтрофілами. Таким чином, TY21.6 і TY21.12 вибірково взаємодіють з інтегрином α_4 .

В. Функціональна характеристика TY21.6, TY21.12 і L25. Всі три антитіла, TY21.6, TY21.12 і L-25 (Clayberger et al., J. Immunol. 138: 1510-1514 (1987)), ефективно інгібують зв'язування людських лімфоцитів зі стимульованими TNF щурячими ЕС з головного мозку. Первинні щурячі ЕС з головного мозку або клони щурячих ЕС з головного мозку (описані вище) вміщували в 96-ямкові планшети для тканинних культур. У деяких ямках ЕС стимулювали TNF (як описано вище) протягом 4-24 годин. Клітини Jurkat, U937 або Ramos мітили флуоресцентною міткою (як описано вище), попередньо обробляли зазначеним антитілом, а потім додавали до окремих ямок (200000 клітин/ямку; ямки в трьох паралелях/обробка антитілом). Рівень зв'язування визначали як описано вище для аналізу зв'язування VCAM-1 у 96-ямках. Результати узагальнені в таблиці 15.

Таблиця 15

Експеримент 1			Експеримент 2			
1° щурячі ЕС з головного мозку	U937	% введених клітин, що зв'язались	Клон RBEC	Антитіло	% введених Jurkat, що зв'язались	% введених Ramos, що зв'язались
0	без а/т	7±1	0	без а/т	3±1	2±1
TNF α	без а/т	36±5	TNF α	без а/т	66±3	40±1
TNF α	HP2/1	13±2	TNF α	HP2/1	6±1	2±1
TNF α	21.6	7±1	TNF α	TY21.6	8±2	1±1
TNF α	21.12	5±2	TNF α	TY21.12	8±1	1±0
			TNF α	L25	12±3	2±1

Знайшли, що всі три антитіла інгібують зв'язування людських лімфоцитів із трансфікованими VCAM-1 L-клітинами (аналіз, як описано вище), як представлено в таблиці 16.

Таблиця 16

Антитіло	% введених Ramos,	% введених U937,
----------	-------------------	------------------

	що зв'язались	що зв'язались
немає	45±13	60±6
HP2/1	0±0	3±2
L25	9±2	11±2
TY21.6	1±1	0±1
TY21.12	0±0	1±0

Як показано в таблиці 17, всі три антитіла інгібують зв'язування клітин зі збудженими судинами в зрізах головного мозку при ЕАЕ (аналіз проводили як описано вище).

Таблиця 17

Обробка U937	Зв'язування
Без антитіла	100±10
TY21.6	0±1
TY21.12	0±1
L25	1±1
HP2/1	3±1

Деякі антитіла до інтегрину α_4 (такі як HP2/4; Pulido et al., J. Biol. Chem. 266: 10241-10245 (1991)) індують самоагрегацію лімфоцитів. Основа даної агрегації погано зрозуміла. У тій же статті повідомлялось, що L25 індує агрегацію лімфоцитів. Однак автори не могли відтворити дані спостереження. У виконанні авторів винаходу L25, TY21.6 і TY21.12 не індукують агрегацію клітин при безпосередньому порівнянні з HP2/4. Агрегацію індукують за допомогою змішування 100000 клітин U937 із супернатантом з антитілом (кінцеве розділення 1:5) у ямках 96-ямкового планшета для тканинних культур (кінцевий обсяг 100мкл/ямку). Агрегації дозволяли відбуватись протягом від 30 хвилин до 4 годин і оцінювали візуально на основі системи довільного рейтингу +/-, у порівнянні з контролем без антитіла. Результати представлені в таблиці 18.

Таблиця 18

Індукуюче антитіло	Ступінь агрегації U937
немає	-
HP2/1	-
L25	-
TY21.6	-
TY21.12	-
HP2/4	+++

Деякі антитіла до інтегрину α_4 інгібують агрегацію, індуковану антитілом до інтегрину α_4 HP2/4, HP2/1, TY21.6 і TY21.12 блокують індуквану HP2/4 агрегацію клітин, тоді як L25 - ні. Даний аналіз проводили як описано вище, за винятком того, що клітини U937 перед додаванням індукуючого антитіла, HP2/4 (кінцева концентрація супернатанту гібридами HP2/4 складала 1:20), протягом 30 хвилин на льоду попередньо обробляли блокуючими антитілами (супернатант, розведений у відношенні 1:5 або очищене антитіло в концентрації 5мкг/мл).

Таблиця 19

Попередня обробка U937	Ступінь агрегації індукованої HP2/4
немає	+++
HP2/1	-
L25	+++
TY21.6	-
TY21.12	+/-

Крім VCAM-1, інтегрин $\alpha_4\beta_1$ опосередковує зв'язування клітин з доменом CS-1 FN. Деякі антитіла до інтегрину α_4 інгібують зв'язування з FN, як у випадку з L25, TY21.6 і TY21.12; всі три антитіла ефективні також як і HP2/1. Даний аналіз проводили, як описано в Pulido et al., (1991), вище. Результати узагальнені в таблиці 20.

Таблиця 20

Покриття планшета	BSA	FN	FN	FN	FN	FN
Jurkat	немає	немає	HP2/1	21.6	21.12	L25
Обробка						
% зв'язування доданого матеріалу	2±1	77±6	42±7	43±6	34±2	21±1
(% інгібування)	-	-	(47)	(45)	(55)	(60)

Дана заявка запитує пріоритет попередніх заявок на видачу патенту США № 60/442713 і 60/500316,

поданих 24 січня 2003р. і 5 вересня 2003р., відповідно. Повний зміст зазначених вище заявок і всі цитовані в них посилання, видані патенти та опубліковані заявки на видачу патентів, включені сюди повністю як посилання.

Посилання

Наступні публікації, патенти і заявки на видачу патенту цитуються в даній заявці у вигляді чисел, показаних надрядковим індексом:

1. Hemler and Takada, European Patent Application Publication No. 330,506, published August 30, 1989
2. Elices, et al., Cell, 60:577-584 (1990)
3. Springer, Nature, 346:425-434 (1990)
4. Osborn, Cell, 62:3-6 (1990)
5. Vedder, et al., Surgery, 106:509 (1989)
6. Pretolani, et al., J. Exp. Med., 180:795 (1994)
7. Abraham, et al., J. clin. Invest, 93:776 (1994)
8. Mulligan, et al., J. Immunology, 150:2407 (1993)
9. Cybulsky, et al., Science, 251:788 (1991)
10. Li, et al., Arterioscler. Thromb., 13:197 (1993)
11. Sasseville, et al., Am. J. Path., 144:27 (1994)
12. Yang, et al., Proc. Nat. Acad. Science (USA), 90:10494 (1993)
13. Burkly, et al., Diabetes, 43:529 (1994)
14. Baron, et al., Clin. Invest, 93:1700 (1994)
15. Hamann, et al., J. Immunology, 152:3238 (1994)
16. Yednock, et al. Nature, 356:63 (1992)
17. Baron, et al., J. Exp. Med, 177:57 (1993)
18. van Dinther-Janssen, et al., J. Immunology, 142:4207 (1991)
19. van Dinther-Janssen, et al., Annals. Rheumatic Dis, 52:672 (1993)
20. Elices, et al., J. Clin. Invest., 93:405 (1994)
21. Postigo, et al., J. Clin. Invest., 89:1445 (1991)
22. Paul, et al., Transpl. Proceed., 25:813 (1993)
23. Okarhara, et al. Can. Res, 54:3233 (1994)
24. Paavonen, et al., Int. J. Can, 58:298 (1994)
25. Schadendorf, et al., J.Path, 170:429 (1993)
26. Bao, et al., Diff, 52:239 (1993)
27. Lauri, et al., British J. Cancer, 68:862 (1993)
28. Kawaguchi, et al., Japanese J. Cancer Res, 83:1304 (1992)
29. Kogan, et al., U.S. Patent No. 5,510,332, issued April 23, 1996
30. International Patent Appl. Publication No. WO 96/01644

Всі зазначені вище публікації, патенти і заявки на видачу патенту включені сюди повністю як посилання в тій мірі, як якщо кожна окрема публікація, патент або заявка на видачу патенту була б конкретно й окремо відзначена, як включена повністю як посилання.

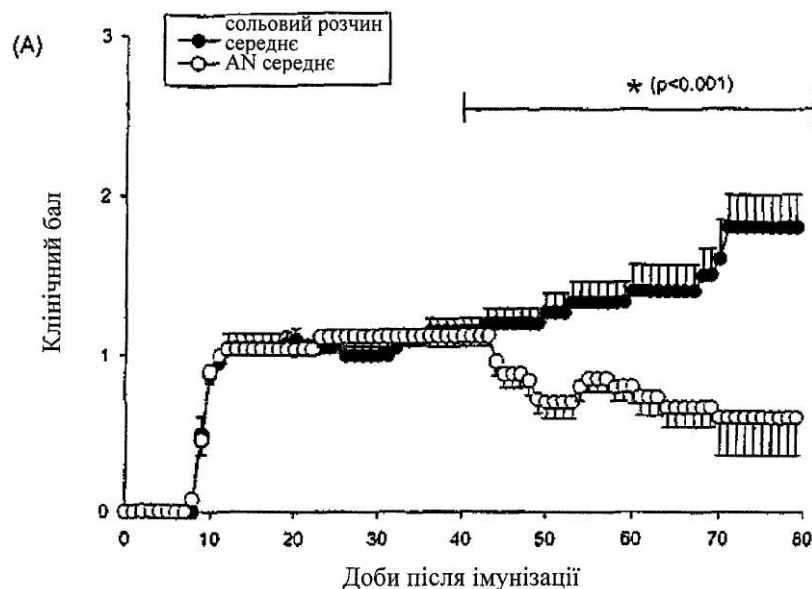
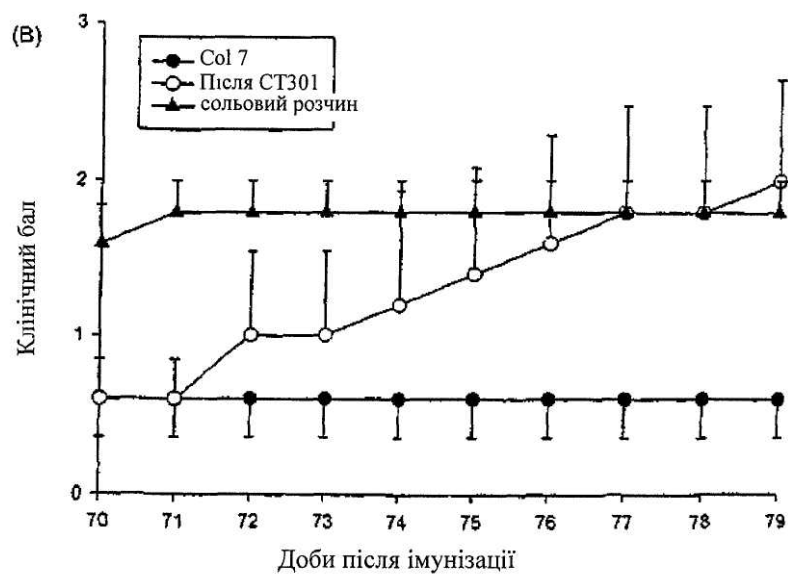


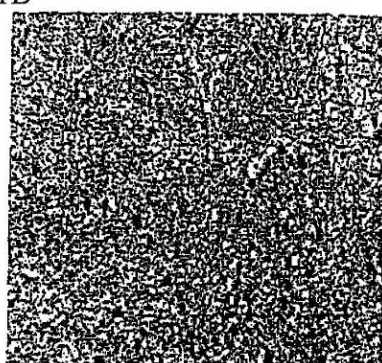
Fig. 1A



Фіг. 1В



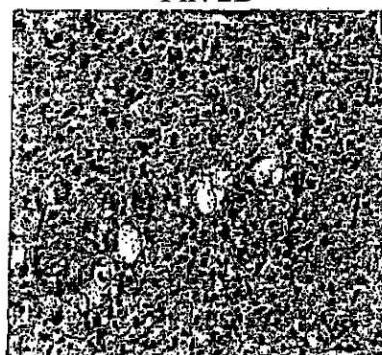
Фіг. 2А



Фіг. 2В



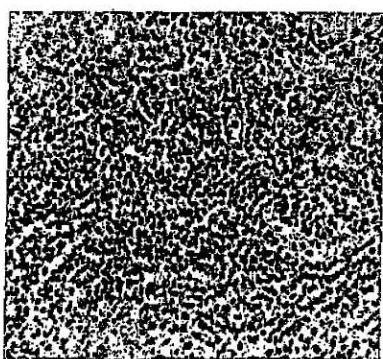
Фіг. 2С



Фіг. 2D



Фіг. 2Е



Фіг. 2F



Fig. 2G

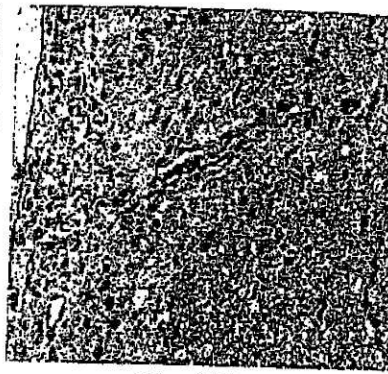


Fig. 2H



Fig. 2I

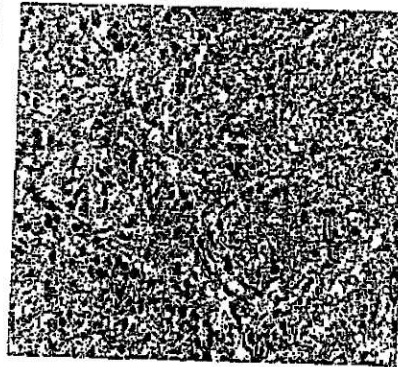


Fig. 2J

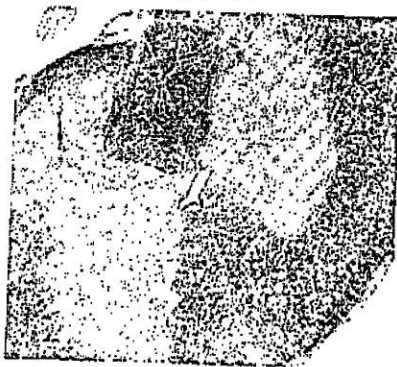


Fig. 2K

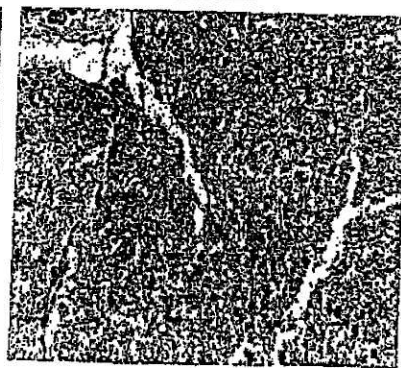


Fig. 2L

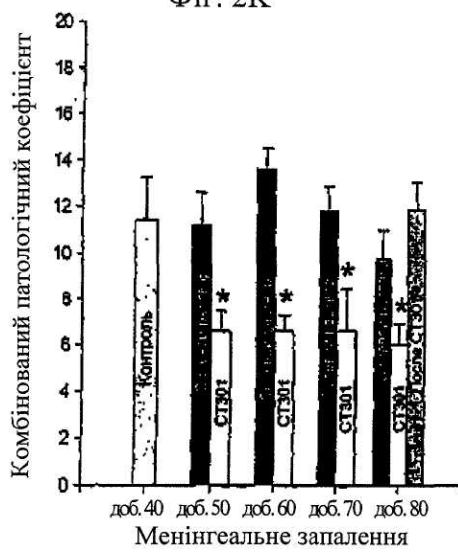


Fig. 3A

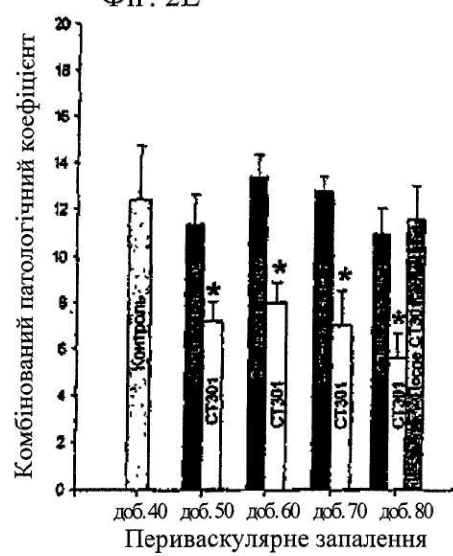
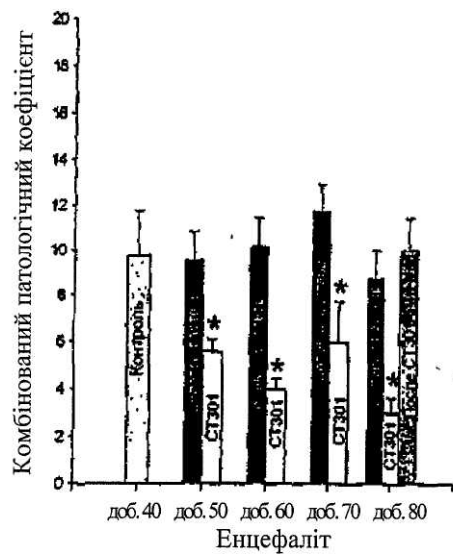
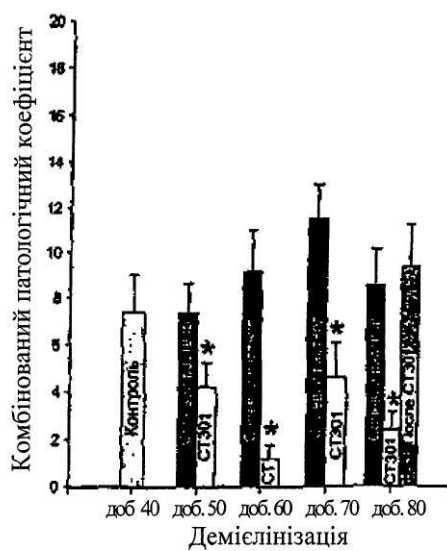


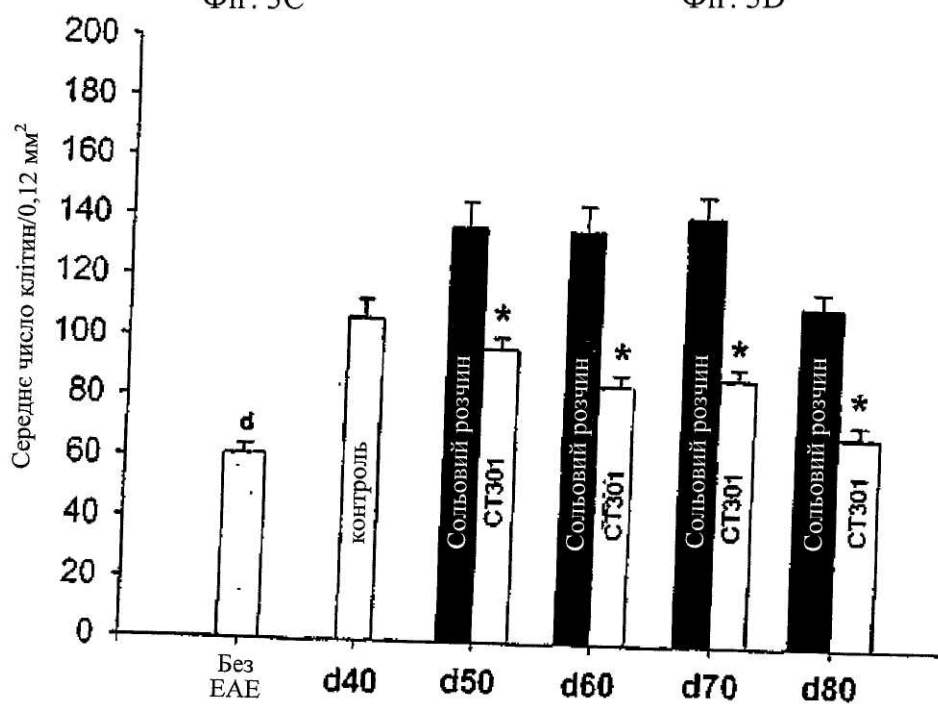
Fig. 3B



Фиг. 3С

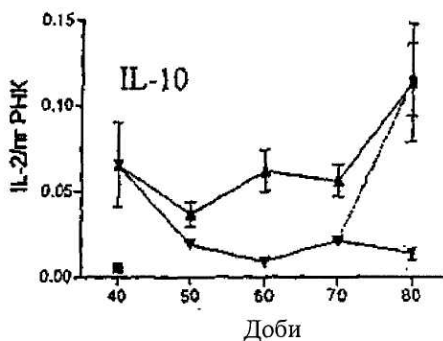
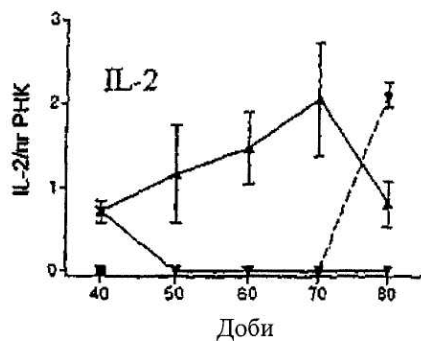
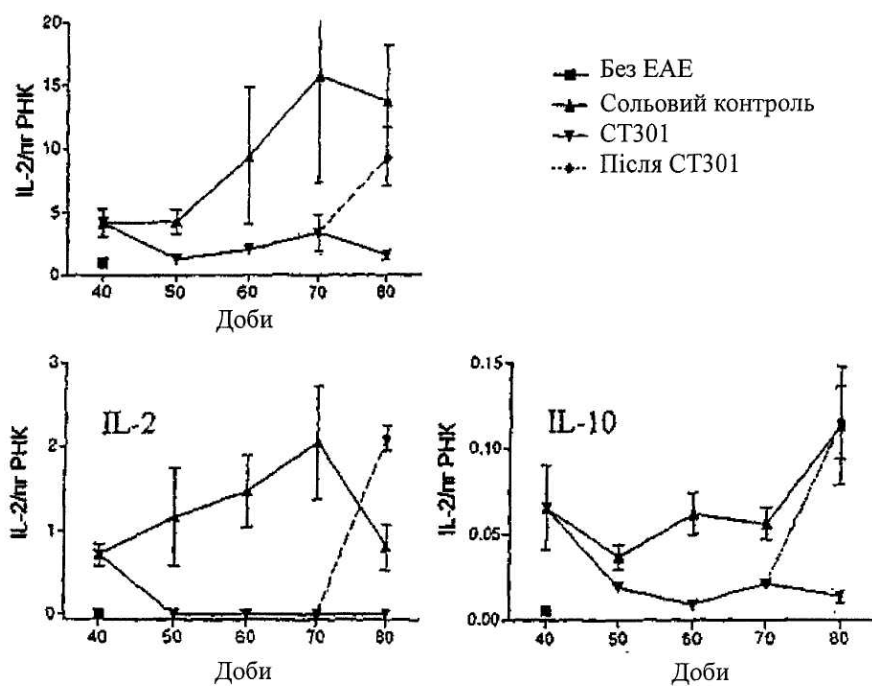


Фиг. 3D

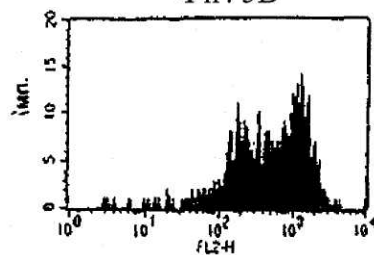


Фиг. 4

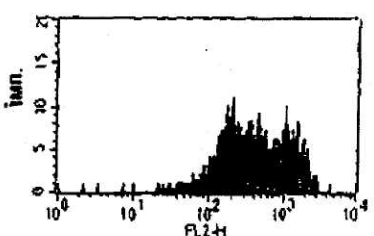
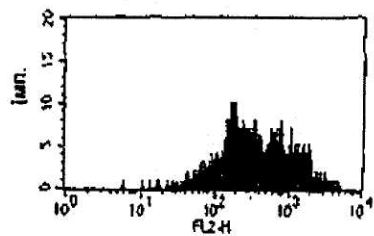
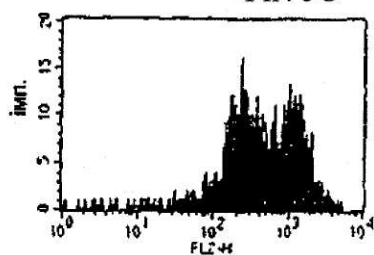
Фиг. 5А



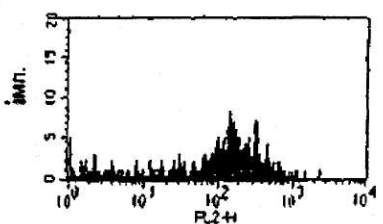
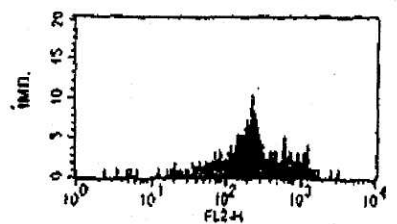
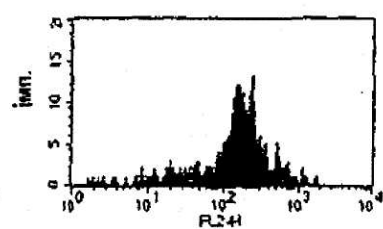
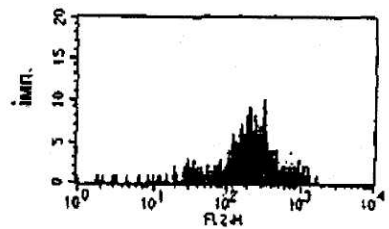
Фиг. 5В



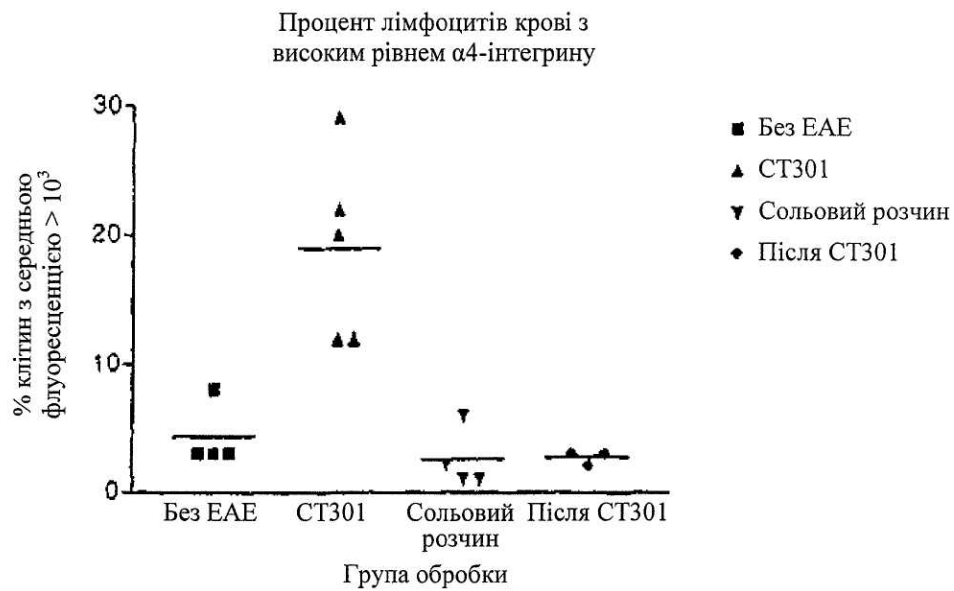
Фиг. 5С



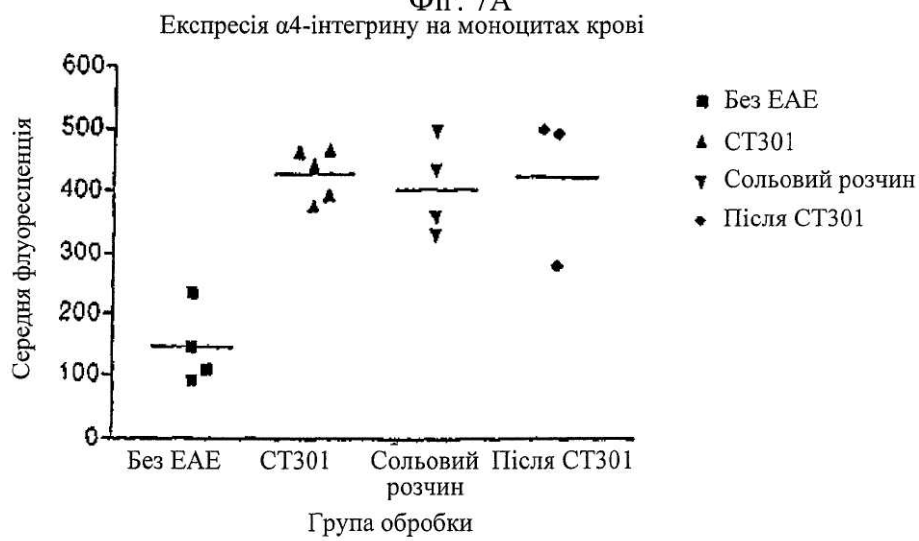
Сольовий розчин



Фиг. 6



Фіг. 7А



Фіг. 7В

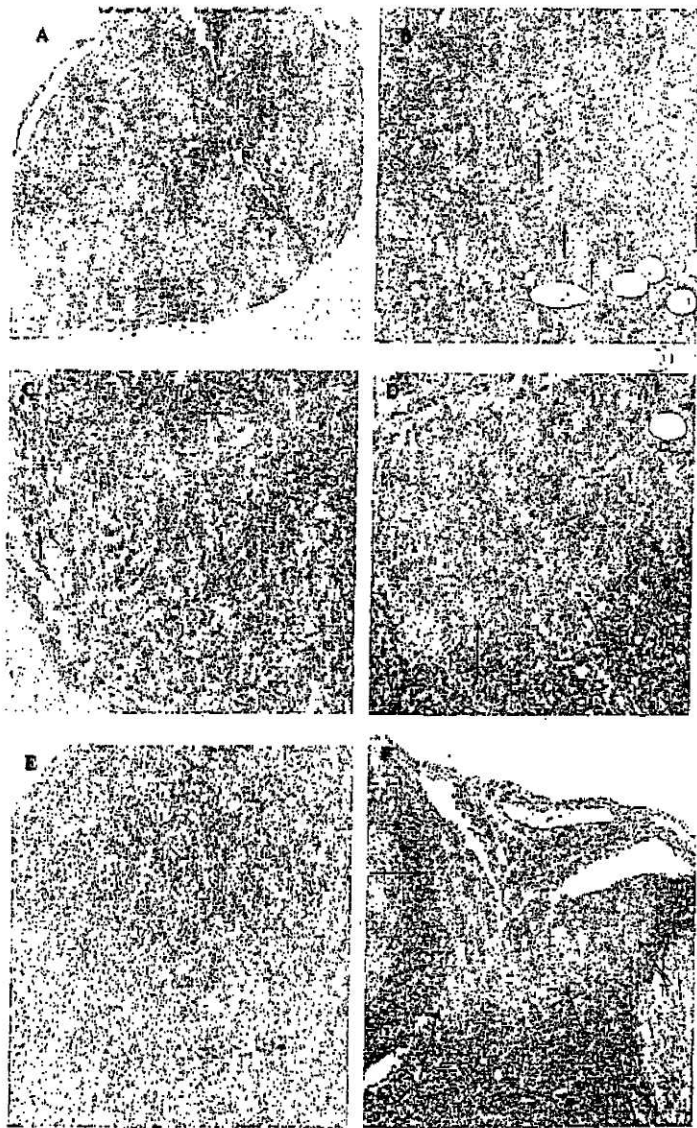


Fig. 8

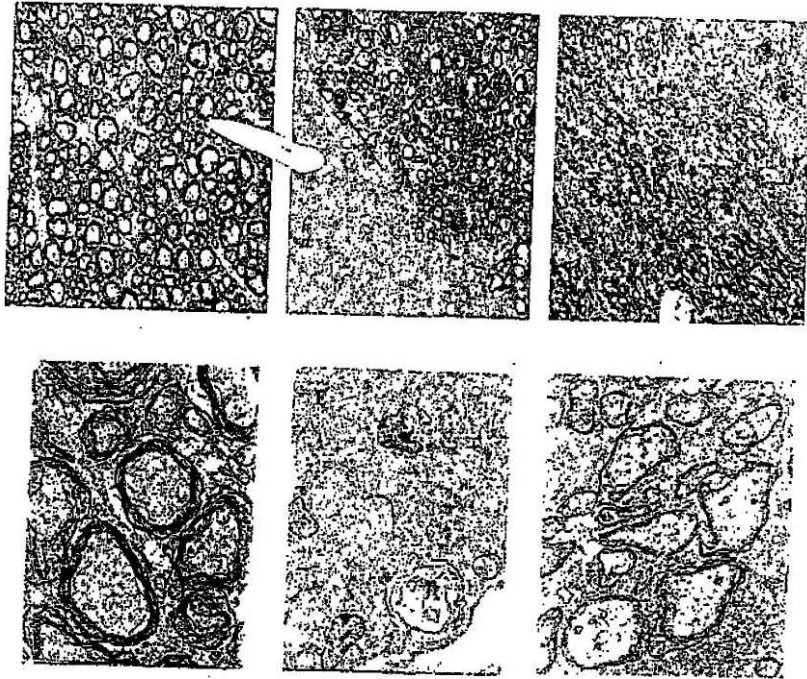
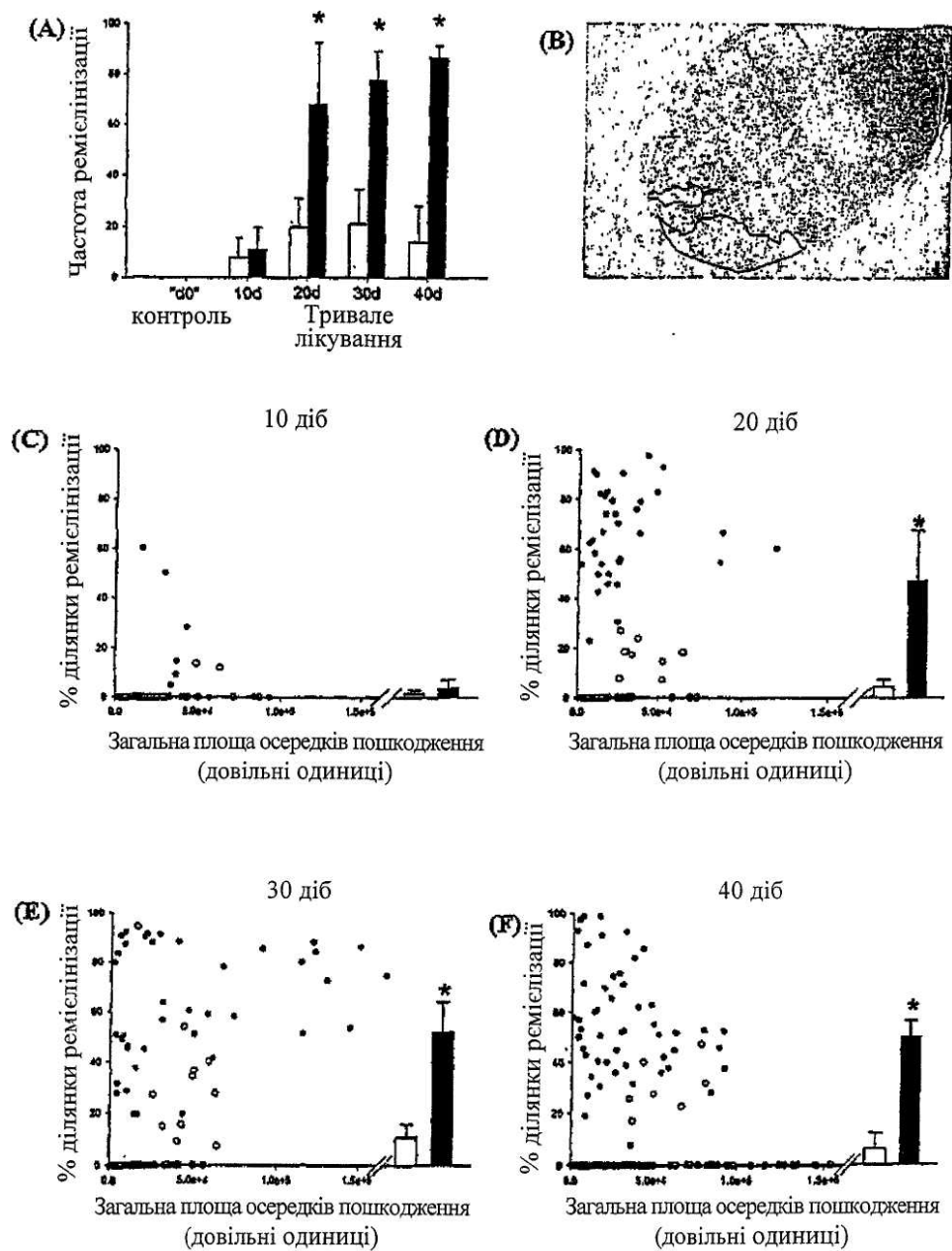


Fig. 9



Фіг. 10

```

      atgagggtccctctgctcagattctctggactctctggtcaggagacgtctgt
1  -----
      tactcccggggacgagtcctaaaaacctaaagaaccagtcctctcgcaaca

      agaaatgagaccgtctattcagttccctggggctctctgtctgtctctggctccatgg
49 -----
      tctttactctggcagataagtcaaggtacctccgagaacaaacagaccgaagtacc

      [M R P S I Q F L G L L L F W L H G
      Лідерна послідовність
      tgttcagctgtgacatccagatgacacagtcctccatctctgactgtctgcatctct
103 -----
      acgagtcacactgtaggctctactgtgtcagaggtaggagtgacagacgtagaga

      A Q C) (D I Q M T Q S P S S L S A S L
      FR1
      gggaggcaaaagtcaccatcactctgcaagacaaagccaagacattadcaagtatac
157 -----
      cctccggttcagctggtagtgaaacgttctgttcgggtctgttaattgttcatata

      G G K V T I T C) (K T S Q D I N K Y M
      CDR1
      ggtctggtaccacaacaagcctgggaaaacgtccctaggctctgctcatcattacac
211 -----
      ccgaaccacgggtctgtcttcggaccttctgcaaggaccgacgagtatgtaatgtg

      A) (W Y Q H K P G K R P R L L I H) (Y T
      FR2
      atctgcattacagccaggcatcccatcaaggctcagctgggaagtgggtctgggag
265 -----
      tagactgtaatgtcgggtccgtagggtagttccaagtcaccttcccccagacctc

      S A L Q P) (G I P S R F S G S G S G R
      CDR2

```

Fig. 11A

319 agattattccttcaacatcagcaacctggagcctgaagatattgcaacttatt
 tctaataagggaagttgttagtcgttggacctcggaccttctataacgctgaataa
 D Y S F N I S N L E P E D I A T Y Y
 FR3

373 ttgtctacagtatcataatctgtggacgttcggtggaggcaccagctggaaat
 aacagatgtcatactattagacacctgcaagccacctccgtggttcgaccttca
 C(L Q Y D N L W T)(F G G G T K L E I
 CDR3 FR4

427 caaacgggctgatgctgtaccactgtatccatcttcccaccatccacccggga
 gtttgcctgactacgacgtggttgacataggtagaagggtaggtgggcccc
 KJ

AGG-S/
 CCC
 482 ---
 agg

Fig. 11B

atgaaatgcagctgggtcatgttcttccctgatggcagtggttacaggg
 1 -----
 tactttacgtcgacccagtcacaagaaggactaccgtcaccatgtccc

[M K C S W V M F F L M A V V T G

Лідерна послідовність

gtcaattcagaggttcagctgcagcagctctggggcagagcttgtgaaagccaggg
 49 -----
 cagttaagctctccaaagtcgacgtcgtcagaccccgctctcgaacacttcggtccc

V N S] (E V Q L Q Q S G A E L V K P G
 FR1

gcctcagtcgaagttgtcctgcacagcttctgggttcaacattaaagacacctat
 103 -----
 cggagtcagttcaacaggaagctgtcgaagaccgaagttgtaatttctgtggata

A S V K L S C T A S G F N I K) (D T Y
 CDR1

atacactgtgtgaaagcagagggcctgaacagggcctggagtggaattggaaggatt
 157 -----
 tatgtgacacacttcgtctccggacttgtcccggacctcacctaacccttcctaa

I H) (C V K Q R P E Q G L E W I G) (R I
 FR2

gatcctgcgaatgggtataactaaatatgacccgaagttccagggcaaggccact
 211 -----
 ctaggacgcttaccatattgatttatactgggcttcaaggtcccgtccgggtga

D P A N G Y T K Y D P K F Q G) (K A T
 CDR2

ataacagctgacatatctccaaacacagcctacctgcagctcagcagcctgaca
 265 -----
 tattgtcgactgtgtaggaggttgtgtcggatggacgtcgagtcgtcggactgt

I T A D T S S N T A Y L Q L S S L T
 FR3

Fig. 12A

tctgaggacactgccgtctatcttctgtctagagagggatattaggttaactac
 319 -----
 agactcctgtgacggcagataaagacacgactctctccctataataccattgatg

S E D T A V Y F C A R) (E G Y Y G N Y
 CDR3

ggggtctatgtctatggactactggggtcaaggaaacctcagtcaccgtctctctca
 373 -----
 ccccagatagatacctgatgacccagttcccttggagtcagtgaggagagagtc

G V Y A M D Y) (W G Q C T S V T V S S]

gccaaaacgacacccccatctgtctatccactggcccgggatcc
 427 -----
 cggctcttgtgtgggggtagacagataaggtgacccgggcctagg

S S]

Fig. 12B

	FR1		CDR1	FR2		CDR2
	1	2	3	4	5	
	12345678901234567890123	45678901234	5678901234	567890123456789	0123456	
	*		*****		* ***	
21.6	DIQMTQSPSSLSASLGKVTITC	KTSQDINKYMA	WYQHKPGKRPRLIH	YTSALQP		
REI	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC	QASQDIKYLN	WYQQTGKAPKLLIY	EASNLQA		
La	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC	KTSQDINKYMA	WYQQTGKAPRLIH	YTSALQP		
Lb	-----R-----					

	FR3		CDR3	FR4
	6	7	8	9
	78901234567890123456789012345678	901234567	8901234567	
	*	*	*****	
21.6	GIPSRFSGSGSGRDYSFNISNLEPEDIATYYC	LQYDNL-WT	FGGGTKLEIK	
REI	GVPSRFSGSGSGTDYFTFISSLQPEDIAATYYC	QQYQSLPYT	FGGGTKLQIT	
La	GIPSRFSGSGSGRDYFTFISSLQPEDIAATYYC	LQYDNL-WT	FGGGTKVEIK	
Lb	-1-----R-----VE-K			

Fig. 13

	FR1		CDR1	FR2		CDR2
	1	2	3	4	5	6
	12345678901234567890123456789012345	67890123456789	0123456789012345			
	** *	****			
21.6	EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIK	DTYIH	CVKQRPEQGLEWIG	RIDPANGYTRYDEKFGQ		
2*CL	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFT	SYAHH	WVRQAPGQRLWMMG	MINAGNGNTKYSQKFGQ		
Ha	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIK	DTYIH	WVRQAPGQRLWMB	RIDPANGYTRYDEKFGQ		
Hb	-----FNIG-----					
Hc	-----FNIG-----					

	FR3		CDR3	FR4
	7	8	9	10
	567890123456789012345678901234	5678901234	34567890123	
	*	*		
21.6	KATITADTSSENTAYLQLSSLTSEDATVYFCAR	EGYYGNVGVYAMDY	WGQGTSTVTVSS	
2*CL	RVTITADTSASTAYMELSSLRSEDATVYFCAR	GGYYGSGS---	NY WGQGTSTVTVSS	
Ha	RVTITADTSASTAYMELSSLRSEDATVYFCAR	EGYYGNVGVYAMDY	WGQGTSTVTVSS	
Hb	-----A-----			
Hc	-----A-----			

Fig. 14

HindIII Послідовність Kozak

```

1  aagcttccggtccacagagacggtctatcagttccctggggctcttgtgttc
-----
   ttcgaacggcggtggtactctggcagataagtcaaggaccgccgagaacaacaag

           [M R P S I Q F L G L L L F
             Лідерна послідовність

55  tggcttcattggtgctcagtggtgacatccagatgacacagttcccatcctcactg
-----
   accgaagtaccacgagtcacactgtaggtctactgtgtcagaggtaggagtgac

   W L H G A Q C][D I Q M T Q S P S S L
                                   FR1

109  tctgcattctGTAggaGATAGAgtcaccatcacttgcgaagacaagccaagacatt
-----
   agacgtagaCATcctCTATCTcagtggtagtgaacgttctggtccggttctgtaa

   S A S V G D R V T I T C][K T S Q D I
                                   CDR1

163  aacaagtatatggcttgggtaccaaCAGACacctggaaaaGCTcctagggtgctc
-----
   ttgttcatataccgaaccatggttGTCTGTggacettttCGAggatccgacgag

   N K Y M A)[W Y Q Q T P G K A P R L L
                                   FR2

217  atacattacacatctgcattacagccaggcatcccatcaagggttcagtggaaqt
-----
   tatgtaatgctgtagacgtaatgtcgggtccgtagggtagtccaagtcaccttca

   I H)[Y T S A L Q P][G I P S R F S G S
                                   CDR2

271  gggctctgggagagatttatACTttcACCatcagcAGCctgCAGcctgaagatatt
-----
   cccagaccctctctataaTGAAagTGGtagtcgtTCGgacGTCggacttctataa

   G S F R D Y T F T I S S L Q P E D I
                                   FR3

```

Фиг. 15A

```

325  gcaacttattattgtctacagtatgataaactgtggacgttcgggtCAAggcacc
-----
   cgttgaataataacagatgtcatactattagacacctgcaagccaGTTcctgtgg

   A T Y Y C)[L Q Y D N L W T][F G Q G T
                                   CDR3 FR4

```

Донорна ділянка сплайсингу BamHI

```

379  aagGTGGaaatcaaacgtgagtgatcc
-----
   ttcCACcttttagtttgcaactcacctagg

   K V E I K]

```

HindIII Послідовність Kozak

1 AAGCTTGGCGCCACCATGGACTGGACCTGGCGCGTGTTTTGCCTGCTCGCCGTG
TTCGAACGGCGGTGGTACCTGACCTGGACCGCGCACAAACGGACGAGCGGCAC

[M D W T W R V F C L L A V

Лідерна послідовність

55 GCTCCTGGGGCCACAGCCAGGTGCAACTAGTGCAGTCCGGCGCCGAAGTGAAG
CGAGGACCCCGGGTGTGGTCCACGTTGATCAGTCAAGGCCGCGGCTTCACTTC

A P G A H S)[Q V Q L V Q S G A E V K

109 AAACCCGGTGCTTCCGTGAAAGTCAGCTGTAAAGCTAGCGGTttcaacattaaa
TTTGGGCCACGAAGGCACTTTCAGTCGACATTTTCGATCGCCAAagtgttaactt

K P G A S V K V S C K A S G F N I K){
FR1

163 gacacctatatacaacTGGGTTAGACAGGCCCCtGGCCAAaGGCTgGAGTGGATg
ctgtggatatatgtgACCCAATCTGTCCGGgGaCCGGTtCCGAaCTCACCTAc

D T Y I H)(W V R Q' A P G Q R L E W H
CDR1 FR2

Фір. 16А

(i) ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 114 амінокислот

(B) ТИП: амінокислотна

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) ТИП МОЛЕКУЛИ: білок

N - Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ser Leu Val Xaa
Xaa Ser Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val
Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
Tyr Asn Ser Leu Pro Glu Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
Ile Lys - C

Fig. 17B

(i) ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 125 амінокислот

(B) ТИП: амінокислотна

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) ТИП МОЛЕКУЛИ: білок

N - Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
Tyr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Asp Pro Lys Phe
Gln Gly Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
Ala Arg Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Asp Ser Xaa Val Gly Tyr Tyr Ala Met
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Xaa Val Thr Val Ser Ser - C

Fig. 18A

(i) ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 129 амінокислот

(B) ТИП: амінокислотна

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) ТИП МОЛЕКУЛИ: білок

N - Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
Gly Trp Ile Asn Pro Tyr Gly Asn Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys
Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala
Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
Cys Ala Arg Ala Pro Gly Tyr Gly Ser Gly Gly Gly Cys Tyr Arg Gly Asp
Tyr Xaa Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser - C

Фіг. 18В