

Даний винахід стосується сполук з непептидильною структурою, які мають активність сильнодіючих інгібіторів зв'язування дуже пізнього антигену-4 (VLA-4, $\alpha_4\beta_1$, CD49d/CD29) з білками, такими як білок молекули, що зв'язується з клітинами судин, типу 1 (VCAM-1), білок домену Heparin/III/CS (ділянки CS-1) фібронектину і остеопонтину. Ці сполуки є корисними як інгібітори клітинної адгезії та пов'язаних з нею або таких, що є її наслідком, патогенних процесів, які згодом опосередковуються VLA-4. Сполуки та композиції згідно з даним винаходом можуть застосовуватись у лікуванні ряду запальних, аутоімунних і респіраторних захворювань, зокрема астми.

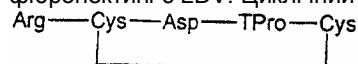
Одним із основних процесів, необхідних для нормального захисту організму-хазяїна є регульоване виведення лейкоцитів із судинної сітки. Ця система призначена для нормальної рециркуляції лейкоцитів, також оскільки вона робить можливим швидкий вихід лейкоцитів із судин в тканини у місцях ураження, вона є однією із центральних патогенних механізмів запальних, респіраторних і аутоімунних захворювань у ссавців. Ключовим фактором цього процесу є клітинна адгезія, і є особливо релевантною до даного винаходу у випадку зв'язування кровотворних клітин, що містять VLA-4, з клітинами та матриксом.

VLA-4 є представником суперсімейства макромолекулярних рецепторів, що знаходяться на клітинній поверхні і називаються інтегринами, які представляють собою нековалентні гетеродимерні комплекси, які складаються з α субодиниці та β субодиниці (Hemler, Ann. Rev. Immunol., 8, p. 365, 1990). Було виявлено вісімнадцять різних α субодиниць, що були позначені як α_1 - α_{10} , α_L , α_M , α_X , α_D , α_{LRI} , α_{IIb} , α_V і α_E , тоді як було виявлено дев'ять різних β субодиниць, які були позначені як β_1 - β_9 . Кожна молекула інтегрину може бути віднесена до підсімейства залежно від типу її α і β субодиниць.

$\alpha_4\beta_1$ інтегрин, VLA-4, представляє собою інтегрин, який обов'язково виділяється всіма лейкоцитами (наприклад, моноцитами, лімфоцитами, базофілами, еозинофілами, мастоцитами і макрофагами), за винятком поліморфонуклеарних лейкоцитів. Зв'язування такого інтегрину з одним із його лігандів виконує ряд відомих функцій клітинного зв'язування та активації (Hemler, Ann. Rev. Immunol., 8, p. 365, 1990, Walsh et al., Clin. and Exp. Allergy, 25, p. 1128, 1995, Huhtala et al., J. Cell Biol., 129, p. 867, 1995). Зокрема, він є рецептором індукованого цитокіном білка, що знаходиться на клітинній поверхні ендотелію, відомого як молекула, що зв'язується з клітинами судин, типу 1 (VCAM-1), а також альтернативних зрощених форм білка зовнішньоклітинного матриксу фібронектину (FN), що містить домен CS-1 (Ruegg et al., J. Cell Biol., 177, p. 179, 1991, Wayner et al., J. Cell Biol., 105, p. 1873, 1987, Kramer et al., J. Biol. Chem., 264, p. 4684, 1989, Gehlsen et al., Science, 24, p. 1228, 1988). Значення взаємодій VLA-4 клітинної адгезії було встановлене з допомогою використання специфічних антагоністів моноклональних антитіл (mAb) α субодиниці VLA-4, яке довело. Що інгібітори VLA-4-залежної клітинної адгезії дають змогу запобігти або інгібувати ряд запальних, респіраторних і аутоімунних патологічних станів (Chisholm et al., Eur. J. Immunol., 23, p. 682, 1993, Lobb et al., J. Clin. Invest, 94, p. 1722, 1994, Richards et al., Am. J. Respir. Cell Mol. Biol., 15, p. 172, 1996, Soiluhaninen et al., J. Neuroimmunol. 72, p. 95, 1997, Sagara et al., Int. Arch. Allergy Immunol., 112, p. 287, 1997, Fryer et al., J. Clin. Invest, 99, p. 2036, 1997). Крім того, можливість інгібування таких патологічних процесів з допомогою агентів, відмінних від антитіл, було доведено на тваринних моделях в результаті їх лікування синтезованим пептидом CS-1 або дрібномолекулярним пептидним інгібітором VLA-4 (Ferguson et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 88, p. 8072, 1991, Wahl et al., J. Clin. Invest, 94, p. 655, 1994, Molossi et al., J. Clin. Invest, 95, p. 2601, 1995, Abraham et al., Am. J. Respir. Crit Care Med, 156, p. 696, 1997, Jackson et al., J. Med. Chem., 40, p. 3359, 1997).

Вище вже було згадано про дослідження у цій галузі моноклональних антитіл (mAb) і пептидних антагоністів VLA-4. При визначенні сайту зв'язування для $\alpha_4\beta_1$ було виявлено, що лімфоїдні клітини можуть зв'язуватися з двома різними сайтами фібронектину (Bernardi et al., J. Cell Biol., 105, p. 489, 1987). Один із компонентів такого клітинного зв'язування був раніше визначений як трипептид Arg-Gly-Asp (RGD), який зв'язується з інтегрином $\alpha_5\beta_1$ (VLA5). Згодом була визначена мінімальна амінокислотна послідовність, необхідна для зв'язування з альтернативним зрощеним сайтом фібронектину та протидії активності VLA-4 в лейкоцитах (Humphries et al., J. Biol. Chem., 266, p. 6886, 1987, Garcia-Pardo et al., J. Immunol., 144, p. 3361, 1990, Komoriya et al., J. Biol. Chem., 266, p. 15075, 1991). Було виявлено, що домен зв'язування VLA-4 у ділянці CS-1 фібронектину (FN), містить октапептид: Glu-Ile-Leu-Asp-Val-Pro-Ser-Thr, а також два схрещених нахлестом пентапептиди: Glu-Ile-Leu-Asp-Val і Leu-Asp-Val-Pro-Ser. Всі такі пептиди інгібували FN-залежну клітинну адгезію, приводячи до попереднього висновку про те, що мінімальною амінокислотою послідовністю, необхідною для інгібування, є Leu-Asp-Val (LDV). Насправді, було виявлено, що мінімальна послідовність LDV є настільки ж ефективною у зв'язуванні активованої форми VLA-4, як і повна послідовність CS-1 фрагмента (Wayner et al., J. Cell Biol., 116, p. 489, 1992).

Вважається, що різні інтегрини зв'язуються з білками зовнішньоклітинного матрикса на сайті розпізнавання Arg-Gly Asp (RGD). Були одержані циклічні пептиди на основі RGD, які, як вважається, мають здатність інгібувати як $\alpha_4\beta_1$, так і $\alpha_5\beta_1$ інтегрини, що зв'язуються з фібронектином (FN) (Nowlin et al., J. Biol. Chem., 268, p. 20352, 1993, PCT/US91/04862), хоча при цьому первинним сайтом розпізнавання для $\alpha_4\beta_1$ у фібронектині є LDV. Циклічний пептид представляє собою:

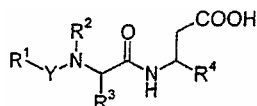


де TPro означає 4-тіопролін.

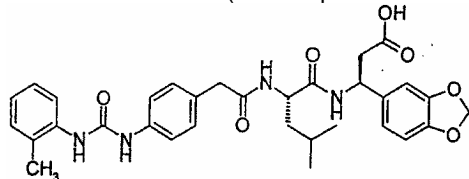
Інші пептидильні інгібітори VLA-4 згадувались у Arrhenius, T. S., Elices, M. J., Gaeta, F. C. A., "CS-1 Peptidomimetics", WO 95/15973, де типовою серед описаних сполук є: N-Фентацетил-Leu-Asp-Phe-NCy³

де NCy³, inter alia, вибраний з морфолінамідо-, тіоморфолінамідо-, 4-(тіадіоксо)піперидинамідо- і D-2-(карбоксамід)-піролідинамідо-, піперидинамідо- груп, а також заміщеної піперидинамідо-групи.

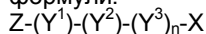
Трипептид Leu-Asp-Val використовувався як основний у групі інгібіторів VLA-4-залежної клітинної адгезії і має формулу:



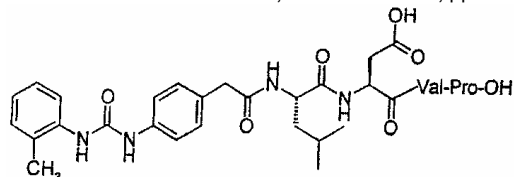
в якій R^1 може означати 4-(N'-(2-метилфеніл)сечовина)фенілметил, Y може означати C=O, R^2 може означати H, R^3 може означати ізобутил, і R^4 може означати 1,3-бензодіоксол-5-іл. Див. Adams, S.P., Lin, K.-C., Lee, W.-C., Castro, A.C., Zimmerman, C.N., Hammond, C.E., Liao, Y.-S., Cuervo, J.H., Singh, J., "Cell Adhesion Inhibitors" ("Інгібітори клітинної адгезії"), WO 96/22966, які описують наступні сполуки:



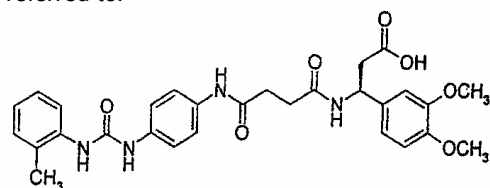
Інші описані пептидильні інгібітори VLA-4-опосередкованої клітинної адгезії включають сполуки формули:



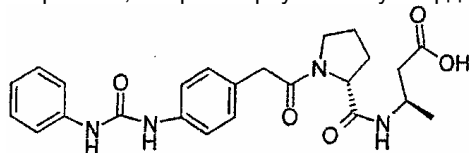
в якій Z може означати 4-(N'-(2-метилфеніл)сечовина)фенілацетил, $(Y^1)-(Y^2)-(Y^3)_n$ представляє ряд амінокислот, які утворюють пептидний ланцюг, і X може означати OH. Див. Lin, K.-C., Adams, S.P., Castro, A.C., Zimmerman, C.N., Cuervo, J.H., Lee, W.-C., Hammond, C.E., Carter, M.B., Almquist, R.T., Ensinger, C.L., "Cell Adhesion Inhibitors", WO 97/03094, де описані наступні сполуки:



Також див. Zheng, Z., Ensinger, C. L., Adams, S. P., WO 98/04247, де описані інгібітори клітинної адгезії, які включають сполуку формули: A-B, в якій A містить детермінанту специфічності, яка суттєво не впливає на активність IIb/IIIa, і B містить клітинний каркас інтерпину. The following compound is representative of those referred to:

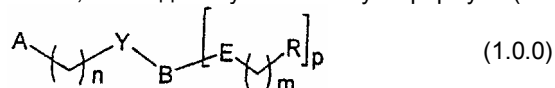


Також див. Singh, J., Zheng, Z., Sprague, P., Van Vlijmen, H. W. T., Castro, A., Adams, S. P., "Molecular Model for VLA-4 Inhibitors" (Молекулярна модель інгібіторів VLA-4"), WO 98/04913, де описана тривимірна модель фармакофора сполуки, що має активність інгібітора VLA-4 і властивості, визначені у таблиці стерпності, та тривимірну систему координат x, y і z. Згадані сполуки описуються формулою:



Незважаючи на описані переваги відомих інгібіторів VLA-4-опосередкованої адгезії, фахівець у цій галузі одразу ж визнає, що такі пептидильні інгібітори мають низький рівень абсорбції, низьку розчинність і підлягають метаболізму in vivo (як системно, так і локально при безпосередньому введенні у легені), знижуючи їх здатність позитивно впливати на хід запального, респіраторного чи аутоімунного захворювання. Відповідно, все ще необхідним є одержання непептидильних або напівпептидильних терапевтичних агентів, з допомогою яких можна було б ефективно лікувати чи запобігати таких патологічних станів.

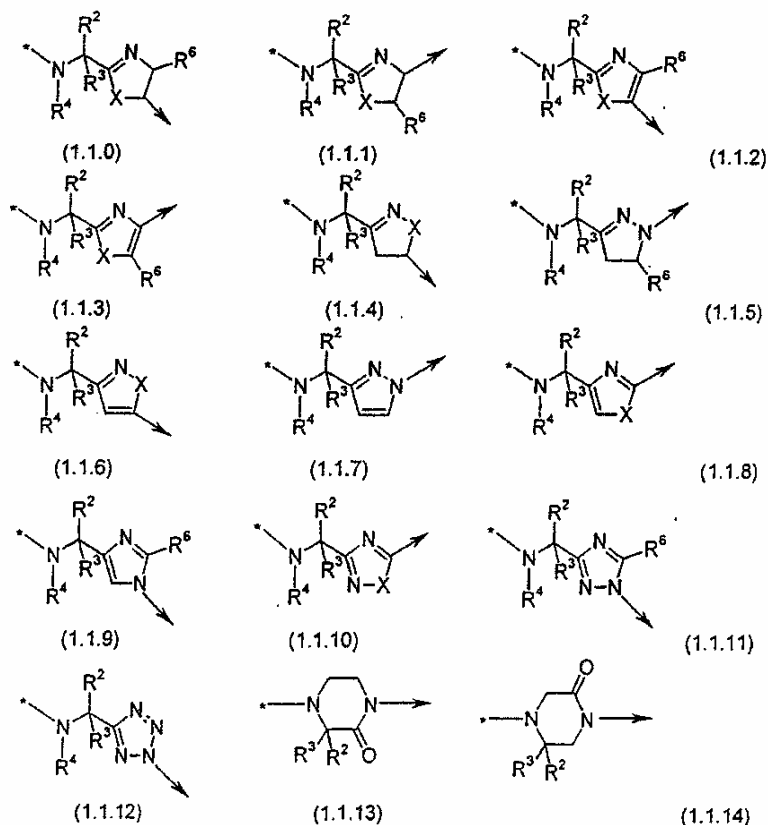
Даний винахід стосується композицій, які інгібують VLA-4-залежну клітинну адгезію у ссавців. Таким чином, винахід стосується сполуки формули (1.0.0):



а також її фармацевтично прийнятних солей та інших похідних проліків, в якій:

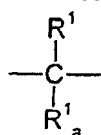
-A означає арил, гетероарил або гетероцикліл, як визначено в описі, в якій арил, гетероарил або гетероцикліл заміщений від 0 до 3 радикалами R^{10} , або представляє собою елемент, вибраний з групи, яка включає дивалентні радикали: $-A^1-NHC(=O)NH-A^2-$, $-A^1-NHC(=O)O-A^2-$ і $-A^1-NH(NCN)NH-A^2-$, де A^1 і A^2 кожен незалежно вибраний з групи, яка включає водень, арил, гетероарил і гетероцикліл, як визначено в описі, де арил, гетероарил, або гетероцикліл заміщений від 0 до 3 радикалами R^{10} ,

-B позначає елемент, незалежно вибраний з групи, яка включає наступні сполуки:



- де символ «*» позначає місце приєднання частини молекули, представленої кожною з часткових формул (1.1.0)-(1.1.14) до частини «Y» у формулі (1.0.0), і символ "→" позначає місце приєднання частини молекули, представленої кожною з часткових формул (1.1.0)-(1.1.14) до частини «E» у формулі (1.0.0),

-E означає одинарний зв'язок, -O-, -CH=CH-, або частину формули (1.9.0):



(1-9.0)

-в якій R^1_a означає водень у випадку, коли R^1 позначає моновалентний замісник, і R^1_a означає одинарний зв'язок, коли R^1 позначає дивалентний замісник,

-X означає -O-, -S(=O)_q-, або -N(R¹⁴)-,

-Y означає -C(=O)-, -C(=S)-, -S(=O)₂-, або -CH(R^a)-,

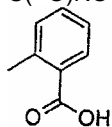
-m є цілим числом, незалежно вибраним з 0, 1 і 2,

-n є цілим числом, незалежно вибраним з 1 і 2,

-p є цілим числом, незалежно вибраним з 1 і 2, за умови, що p має означати 1, де B вибирають з елементів, представлених частковими формулами (1.1.2), (1.1.3), (1.1.5), (1.1.6), (1.1.7), (1.1.8), (1.1.9), (1.1.10), (1.1.11), (1.1.12), (1.1.13) або (1.1.14),

-q є цілим числом, незалежно вибраним з 0 і 2,

-R незалежно вибраний з групи, яка включає -тетразоліл-, -C(=O)-OR⁵, -C(=O)(CH₂)_kC(=O)OR⁵, -C(=O)NO-, -C(=O)-NH-S(=O)₂R⁵, -S(=O)₂-NR¹⁴R⁵, -C(=O)NHS(=O)₂R⁶, і частину формули (3.0.0),



(3.0.0)

в якій:

- k є цілим числом, незалежно вибраним з 0, 1 і 2,

- R^1 незалежно вибраний з групи, яка включає водень, =O, =S, F, (C₁-C₆)алкіл, заміщений від 0 до 3 радикалами R¹⁰, (C₂-C₆)алкеніл, заміщений від 0 до 3 радикалами R¹⁰, (C₂-C₆)алкініл, заміщений від 0 до 3 радикалами R¹⁰, (C₃-C₁₄) карбоциклічне кільце, заміщене від 0 до 3 радикалами R¹², арил, заміщений від 0 до 3 радикалами R¹², і арил(C₁-C₄) алкіл, де арил і алкіл заміщені від 0 до 3 радикалами R¹², гетероциклі, як визначено в описі, заміщений від 0 до 3 радикалами R¹², і гетероциклі(C₁-C₄)алкіл, як визначено в описі, де гетероциклі і алкіл заміщені від 0 до 3 радикалами R¹², C(=O)NR⁸R⁹, і C(=O)R⁸,

- R² і R³ кожен незалежно вибраний з групи, яка включає водень, (C₁-C₄)алкіл, заміщений від 0 до 3 радикалами R¹³, (C₂-C₆) алкеніл, заміщений від 0 до 3 радикалами R¹³, (C₃-C₁₄) карбоциклічне кільце, заміщене від 0 до 3 радикалами R¹³, (C₁-C₄)алкоксикарбоніламіно-(C₁-C₄)алкіл-, (C₁-C₄)алкілтіо-(C₁-C₄)алкіл-, (C₁-C₄)алкілсульфоніл-(C₁-C₄)алкіл-, гідрокси(C₁-C₄) алкілтіо-(C₁-C₄)алкіл-, (C₁-C₄)

алкілкарбоніламіно-(C₁-C₄)алкіл-, (C₁-C₄)алкілсульфоніламіно-(C₁-C₄)алкіл-, (C₁-C₄)алкілсульфоніламінокарбоніл-(C₁-C₄)алкіл-, і гетероциклічне кільце, як визначено в описі, заміщене від 0 до 3 радикалами R¹³,

- за умови, що -

R² і R³ кожен має вищевказані значення, або обидва мають наведені нижче значення, або один із них разом з R⁴ має нижченаведені значення, у цьому випадку другий означає водень або метил,

- R² і R³ разом утворюють спіроциклічне (C₃-C₁₄) карбоциклічне кільце, заміщене від 0 до 3 радикалами R¹³, або

- R² або R³ разом з R⁴ і атомами вуглецю та азоту, до яких вони відповідно приєднані, утворюють гетероарильну або гетероциклічну групу, як визначено в описі, заміщений від 0 до 3 радикалами R¹²,

- R⁵ означає водень, (C₁-C₄)алкіл, (C₃-C₆)циклоалкіл, або арил,

- R⁶ означає водень, (C₁-C₄)алкіл, (CH₂)_r-(C₃-C₆)циклоалкіл, або (CH₂)_s-арил, в якій:

- r і s незалежно означають ціле число, вибране з 0, 1, і 2,

- R⁸ і R⁹ кожен незалежно вибраний з групи, яка включає водень, (C₁-C₄)алкіл, заміщений від 0 до 3 радикалами R¹⁰, (C₃-C₁₄) карбоциклічне кільце, заміщене від 0 до 3 радикалами R¹², арил, заміщений від 0 до 3 радикалами R¹², і арил-(C₁-C₄)алкіл, де арил і алкіл заміщені від 0 до 3 радикалами R¹², гетероцикліл, як визначено в описі, заміщений від 0 до 3 радикалами R¹², і гетероцикліл-(C₁-C₄)алкіл, як визначено в описі, де гетероцикліл і алкіл заміщені від 0 до 3 радикалами R¹²,

- R¹⁰ незалежно вибраний з групи, яка включає F, Cl, -C(=O)OR¹⁴, -OH, нітро, ціано, аміно, ді(C₁-C₄)алкіламіно, (C₁-C₄)алкіл, (C₁-C₄)алкокси, (C₁-C₄)алкілтіо, фенокси, трифторметокси, (C₃-C₆)циклоалкіл, (C₃-C₆)циклоалкокси, (C₃-C₆)циклоалкоксикарбоніл, (C₁-C₄)алкілкарбоніламіно, (C₁-C₄)алкілсульфоніламіно, (C₁-C₄)алкілсечовина, і (C₁-C₄)алкіл і (C₁-C₄)алкокси, кожен заміщений від 1 до 3 замісниками, незалежно вибраними з F і Cl,

- R¹², який виступає в ролі замісника у положенні атома вуглецю, незалежно вибирають з групи, яка включає F, Cl, (C₁-C₄)алкіл, (C₃-C₆)циклоалкіл, (C₁-C₄)алкокси, -C(=O)OR¹⁴, -OH, (C₁-C₄)алкіл і (C₁-C₄)алкокси, кожен заміщений від 1 до 3 замісниками, незалежно вибраними з F і Cl, (C₁-C₄)алкоксикарбоніл, (C₁-C₄)алкілкарбоніл, (C₁-C₄)алкілкарбонілокси, і а гетероарильну або гетероциклічну групу, як визначено в описі, яка є 5- або 6-членною, або

- R¹² у випадку, коли дві групи R¹² приєднані до сусідніх атомів вуглецю карбоциклічного, арильного, гетероарильного або гетероциклічного кільця, може означати ланцюг з 3 або 4 атомами вуглецю, який утворює закрите 5- або 6-членне кільце, необов'язково моно- або дизамінене у положенні його аліфатичних атомів вуглецю замісниками, такими як F, Cl, (C₁-C₄)алкіл, (C₁-C₄)алкокси або гідрокси, або

- R¹² у випадку, коли він приєднаний до насиченого атома вуглецю, може означати =O або =S, або у випадку, коли він приєднаний до атома сірки, може означати =O,

- R¹², коли він виступає замісником у положенні атома азоту, незалежно вибирають з групи, яка включає гідрокси, гідрокси(C₁-C₄)алкіл, (C₁-C₄)алкокси, (C₃-C₆)циклоалкіл, (C₁-C₄)алкілкарбоніл, і арил,

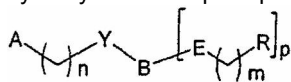
- R¹³ незалежно вибраний з групи, яка включає арил, гетероарил, гетероцикліл, (C₁-C₄)алкокси, (C₃-C₆)циклоалкіл, (C₂-C₆)алкініл, -OR¹⁴, гетероциклілкарбоніл, (C₁-C₄)алкілтіо, -NR⁵R⁶, і -C(=O)NR¹⁴R⁵, і

- R¹⁴ означає водень, гідрокси, (C₁-C₄)алкіл, (C₃-C₆)циклоалкіл, або арил.

Даний винахід також стосується фармацевтичних композицій, що включають одну або більше вищеописану сполуку даного винаходу разом з фармацевтично прийнятним для такої сполуки (сполук) носієм, в якій такі сполуки приступні у кількості, достатній для запобігання, інгібування, притуплення або послаблення клітинної адгезії і пов'язаних з нею або таких, що є її наслідком, патогенних процесів, які згодом опосередковуються антигеном VLA-4. Даний винахід також стосується фармацевтичних композицій, які окрім сполук даного винаходу додатково містять один або більше терапевтичний агент, вибраний з групи, яка включає протизапальні кортикостероїди, нестероїдні протизапальні агенти, бронхолітичні засоби, протиастматичні агенти та імуносупресори.

Даний винахід також стосується способу лікування або профілактики запальних, аутоімунних або респіраторних захворювань інгібуванням клітинної адгезії і пов'язаних з нею або таких, що є її наслідком, патогенних процесів, які згодом опосередковуються антигеном VLA-4, який полягає у введенні ссавцю, що потребує такого лікування, терапевтично ефективної кількості фармацевтичної композиції згідно з даним винаходом. Фармацевтичні композиції згідно з даним винаходом можуть використовуватись у лікуванні ряду запальних, аутоімунних і респіраторних захворювань, включають, але не обмежуються ними, такі захворювання як астма, розсіяний склероз, ревматоїдний артрит, остеоартрит, запальні захворювання кишечника, псоріаз, відторгнення трансплантату, атеросклероз та інші захворювання, які опосередковані або пов'язані з VLA-4.

Даний винахід стосується сполук, які інгібують клітинну адгезію і подальші патогенні процеси, що опосередковуються антигеном VLA-4. Такі сполуки, які, відповідно, є корисними у лікуванні ряду запальних, аутоімунних атм респіраторних захворювань, можуть бути представлені формулою (1.0.0),



(1.0.0)

У сполуці формули (1.0.0), кінцева група, позначена як А означає арил, гетероарил або гетероцикліл, заміщений від 0 до 3 радикалами R¹⁰, або представляє собою елемент, вибраний з групи, яка включає дивалентні радикали: -A¹-NHC(=O)NH-A²-, -A¹-NHC(=O)O-A²-, і -A¹-NH(NCN)NH-A²-, де А¹ і А² кожен незалежно вибраний з групи, яка включає водень, арил, гетероарил і гетероцикліл, де арил, гетероарил або гетероцикліл заміщений від 0 до 3 радикалами R¹⁰.

Термін "арил" як він вжитий відносно "А", а також в інших контекстах у цьому описі, означає карбоциклічну ароматичну групу, яка є елементом, вибраним з групи, яка включає феніл, нафтил, інданіл, інданіл і фтореніл. Проте, переважно якщо "А" означає "арил", він є фенілом.

Термін "гетероарил" як він вжитий відносно "А", а також в інших контекстах у цьому описі, означає

гетероциклічну ароматичну групу, яка є елементом, вибраним з групи, яка включає фурил, тієніл, піроліл, оксазоліл, ізоксазоліл, тiazоліл, іzотiazоліл, імідазоліл, імідазолініл, піразоліл, піразолініл, оксадіазоліл, тіадіазоліл, триазоліл, піридил, піразиніл, піридазиніл, піримідиніл, триазиніл, піраніл, паратіазиніл, індоліл, ізоіндоліл, 3Н-індоліл, індолініл, бензо[b]фураніл, 2,3-дигідробензофураніл, бензо[b]тіофеніл, 1Н-індазоліл, бензімідазоліл, бензтіазоліл, пуриніл, хінолініл, ізохінолініл, 4Н-хінолізиніл, цінолініл, фталазиніл, хіназолініл, хіноксалініл, 1,8-нафтиридиніл, птеридиніл, карбазоліл, акридиніл, феназиніл, фенотіазиніл, феноксазиніл і піразоло[1,5-с]триазиніл.

Проте, переважно "А", що означає "гетероарил", є фурилом, тієнілом, піролілом, оксазолілом, ізоксазолілом, тiazолілом, імідазолілом, піридилом, піримідинілом, індолілом, бензо[b]фуранілом, бензімідазолілом або хінолінілом. Більш переважно "А" є піридилом.

Терміни "гетероциклічний" і "гетероцикліл" як вони вжиті відносно "А", а також в інших контекстах у цьому описі, обидва означають неароматичне 3- - 10-членне карбоциклічне кільце, в якому принаймні один з атомів вуглецю був заміщений гетероатомом, вибраним з N, O або S. Переважно присутні два, а більш переважно один гетероатом, за винятком випадку з азотом, в якому можуть бути приступні до чотирьох N гетероатомів. Гетероциклільна група може містити одне або два замкнених кільця і додатково може містити арил-замкнене кільце. Переважно "гетероцикліл" означає елемент, вибраний з групи, яка включає оксиранил, піролідиніл, піразолідиніл, імідазолідиніл, тетразолідиніл, піперидиніл, піперазиніл, морфолініл, тіоморфолініл, і бензодіоксолан, зокрема 1,3-бензодіоксол-5-іл.

Проте, переважно, якщо "А" означає "гетероцикліл", він є піролідинілом, піперидинілом, піперазинілом або морфолінілом.

Якщо "А" означає частину, вибрану із вищевказаного арильної, гетероарильної або гетероциклільної груп, ця частина може бути заміщеною від 0 до 3 радикалами R^{10} . Вибір "0" просто означає відсутність замісників, тобто заміщення є необов'язковим. Якщо заміщення має місце, переважно приступні два замісники і більш переважно присутній лише один замісник.

У випадку, коли замісником виступає R^{10} , він незалежно вибирається з групи, яка включає F, Cl, -C(=O)OR¹⁴, -OH, нітро, ціано, аміно, ді(C₁-C₄)алкіламіно, (C₁-C₄)алкіл, (C₁-C₄)алкокси, (C₃-C₆)циклоалкіл, (C₃-C₆)циклоалкокси, (C₁-C₄)алкілтіо, фенокси, трифторметокси, (C₃-C₆)циклоалкоксикарбоніл, (C₁-C₄)алкілкарбоніламіно, (C₁-C₄)алкілсульфоніламіно, (C₁-C₄)алкілсечовина, і (C₁-C₄)алкіл і (C₁-C₄)алкокси, кожен заміщений від 1 до 3 замісниками, незалежно вибраними з F і Cl, де R¹⁴ має вказані далі значення. Проте, переважно присутній лише один замісник, яким є F, Cl, OH, метил, метокси, циклогексил, циклопропілокси або F₃C-.

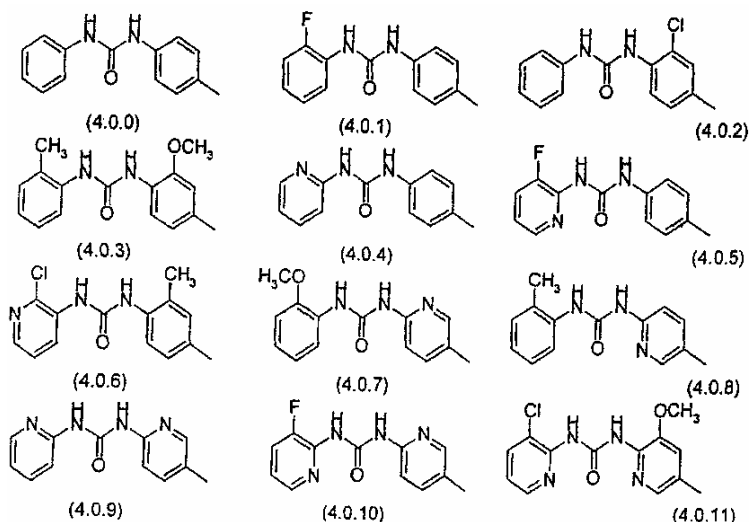
Термін "алкіл" як він вжитий відносно замісників "R¹⁰" у положенні групи "А", а також в інших контекстах у цьому описі, незалежно від того використовуються вони окремо чи у поєднанні, означає алкільний радикал з нерозгалуженим або розгалуженим ланцюгом, що містить вказане число атомів вуглецю, як правило від 1 до 6, але часто від 1 до 4 атомів вуглецю. Приклади таких радикалів включають, але не обмежуються ними, метил, етил, n-пропіл, ізопропіл, n-бутил, ізобутил, втор.-бутил, трет.-бутил, пентил, ізоаміл і гексил.

Термін "алкокси" як він вжитий відносно замісників "R¹⁰" у положенні групи "А", а також в інших контекстах у цьому описі, і незалежно від того, використовуються вони окремо чи у поєднанні, означає радикал алкілового ефіру, де термін "алкіл" має вказані вище значення. Приклади придатних радикалів алкілового ефіру включають, але не обмежуються ними, метокси, етокси, n-пропокси, ізопропокси, n-бутокси, ізобутокси, втор.-бутокси, і трет.-бутокси.

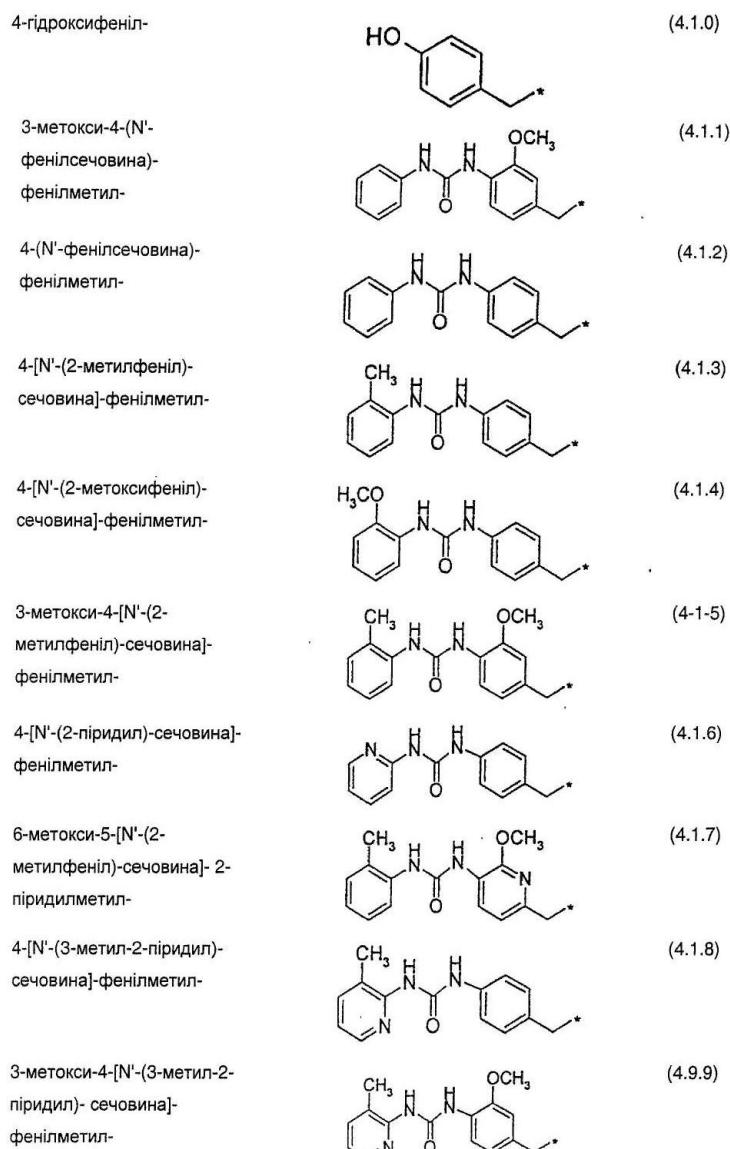
Термін "циклоалкіл" як він вжитий відносно замісників "R¹⁰" у положенні групи "А", а також в інших контекстах у цьому описі, і незалежно від того, використовуються вони окремо чи у поєднанні, означає циклічний алкільний радикал, який містить від 3 до 6 атомів вуглецю. Приклади таких циклоалкільних радикалів включають, але не обмежуються ними, циклопропіл, циклобутил, циклопентил і циклогексил.

Термін "циклоалкілокси" як він вжитий відносно замісників "R¹⁰" у положенні групи "А", а також в інших контекстах у цьому описі, і незалежно від того, використовуються вони окремо чи у поєднанні, означає радикал циклоалкілового ефіру, де термін "циклоалкіл" має вказані вище значення. Приклади таких циклоалкілокси-радикалів включають, але не обмежуються ними, циклопропілокси, циклобутилокси, циклопентилокси і циклогексилокси.

Переважно "А" має значення уреїдо-радикала, більш переважно дтвалентного радикала, який є елементом, вибраним з групи, яка включає -A¹-NHC(=O)NH-A²-, -A¹-NHC(=O)O-A²-, і -A¹-NH(NCH)NH-A²-, де A¹ і A² кожен незалежно вибраний з групи, яка включає водень, арил, гетероарил і гетероцикліл, де арил, гетероарил або гетероцикліл заміщений від 0 до 3 радикалами R¹⁰. Арильну, гетероарильну або гетероциклільну групу, яка зв'язується з уреїдо радикалом з одного або з обох боків, вибирають відповідно до наведених вище визначень, як у випадку з присутністю від 0 до 3 замісників R¹⁰. Краще, якщо арильна група ковалентно зв'язана з обох боків уреїдо-радикала, а також краще, щоб арильна група представляла собою феніл. Особливо переважно, щоб така фенільна група мала один замісник, яким переважно є F, Cl, метил, метокси або F₃C-. Приклади кращих зачень для "А" показані формулами індивідуальних сполук (4.0.0)-(4.0.11):



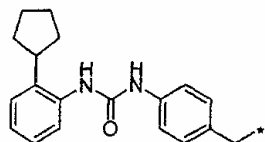
Компонент сполук формули (1.0.0), суміжний з компонентом "А", є містковим елементом метилену або етилену, де $n=1$ або, відповідно, 2. Краще, якщо $n=1$ і присутній метиленовий містковий елемент. Відповідно, враховуючи вищевказані переважні значення компонента "А", і додаючи метиленовий містковий елемент, найпереважніші кінцеві компоненти, що містять компонент "А", можуть бути представлені наступними формулами (4.1.0)-(4.1.23),





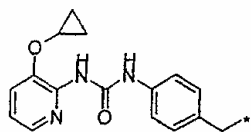
4-[N'-(2-циклопентил)-сечовина]-фенілметил-

(4.1.18)



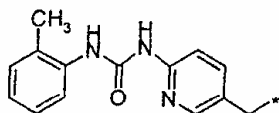
4-[N'-(3-циклопропіокси-2-піридил)-сечовина]-фенілметил-

(4.1.19)



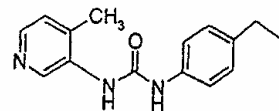
4-[N'-(o-толуїл)-сечовина]-пірид-5-ілметил-

(4.1.20)



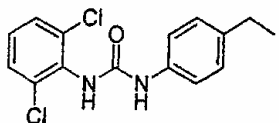
4-[3-(4-метил-піридин-3-іл)-уреїдо]-фенілметил-

(4.1.21)



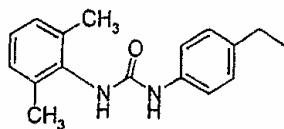
4-[3-(2,6-дихлорфеніл)-уреїдо]-фенілметил-

(4.1.22)



4-[3-(2,6-диметилфеніл)-уреїдо]-фенілметил-

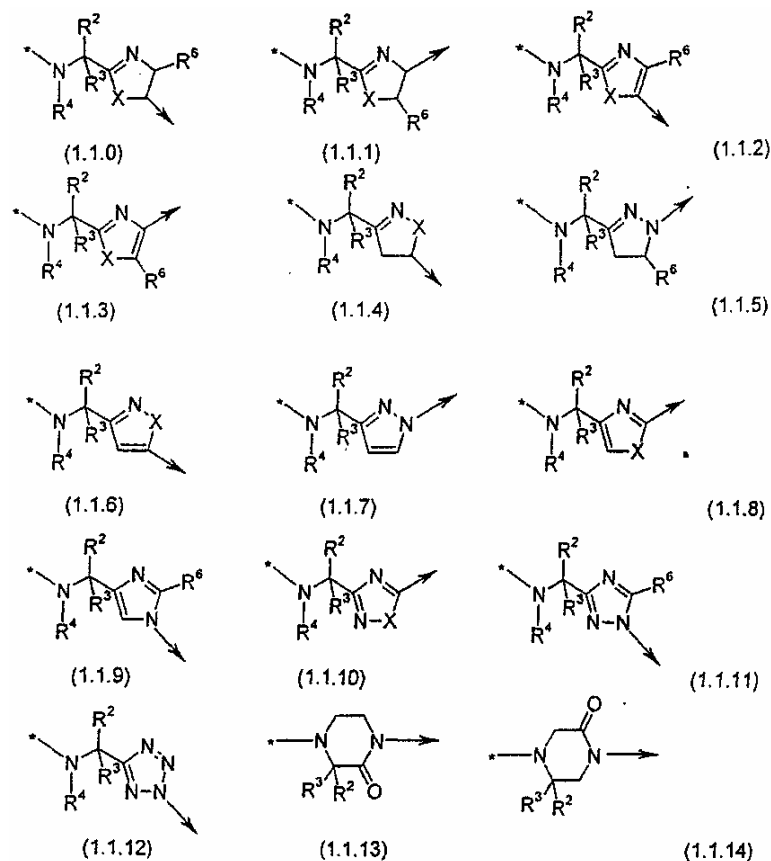
(4.1.23)



Щодо структурних формул індивідуальних сполук слід додатково зауважити, що кращий метиленовий місток переважно приєднується до N,N'-дифенілуреїдо групи у пара-відношенні відносно точки приєднання дивалентної уреїдо групи до фенільної групи.

"Y" компонент формули (1.0.0) може бути $-C(=O)-$, $-C(=S)-$, $-S(=O)_2-$, або $-CH(R^a)-$, де R^a означає водень або (C_1-C_4) алкіл. Якщо "Y" представляє собою частину $-CH(R^a)-$, бажано, щоб R^a означав водень або метил. Проте, крім всього сказаного, найбільш переважно, щоб "Y" означав карбонільну частину, тобто, щоб "Y" представляв собою частину $-C(=O)-$.

Наступний компонент, "B" група сполук формули (1.0.0), є однією з найважливіших частин молекули і ключовим елементом у забезпеченні несподівано ефективних біологічних властивостей, які мають сполуки згідно з даним винаходом. "B" група містить елемент, вибраний з групи, яка включає елементи формул (1.1.0)-(1.1.14):

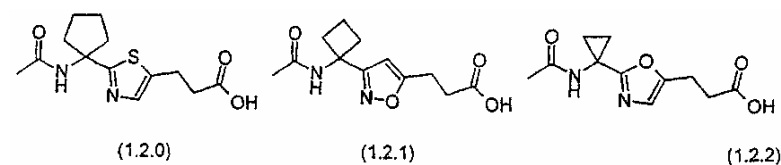


- де символ «*» позначає місце приєднання частини молекули, представлені кожною з часткових формул (1.1.0)-(1.1.14), до частини «Y» у формулі (1.0.0), і символ "→" позначає місце приєднання частини молекули, представлені кожною з часткових формул (1.1.0)-(1.1.14), до частини «E» у формулі (1.0.0).

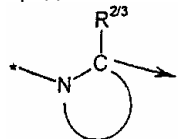
Всі вищенаведені часткові формули, включно з формулами (1.1.0)-(1.1.14), представляють фрагменти молекул, як показано вище, де точки приєднання на будь-якому кінці певного фрагмента позначені з допомогою символів "*" і "→".

У вищенаведених часткових формулах, які описують B компонент сполук формули (1.0.0), частина "X" може означати кисень, сірку ($q=0$) і атом сірки, до якого приєднані два атоми кисню ($q=2$), тобто сульфоніл, або азот (R^{14} водень) або заміщений азот ($R^{14} = (C_1-C_4)$ алкіл, (C_3-C_6) циклоалкіл, або арил). Проте, переважно, щоб "X" означав кисень, сірку або азот.

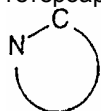
У вищенаведених часткових формулах, які визначають B компонент сполук формули (1.0.0), R^2 і R^3 незалежно вибрані з групи, яка включає водень, (C_1-C_4) алкіл, заміщений від 0 до 3 радикалами R^{13} , (C_2-C_6) алкеніл, заміщений від 0 до 3 радикалами R^{13} , (C_3-C_{14}) карбоциклічне кільце, заміщене від 0 до 3 радикалами R^{13} , (C_1-C_4) алкоксикарбоніламіно- (C_1-C_4) алкіл-, (C_1-C_4) алкілтіо- (C_1-C_4) алкіл-, (C_1-C_4) алкілсульфоніл- (C_1-C_4) алкіл-, гідрокси- (C_1-C_4) алкілтіо- (C_1-C_4) алкіл-, (C_1-C_4) алкілкарбоніламіно- (C_1-C_4) алкіл-, (C_1-C_4) алкілсульфоніламіно- (C_1-C_4) алкіл-, (C_1-C_4) алкілсульфоніламінокарбоніл- (C_1-C_4) алкіл-, і гетероциклічне кільце, заміщене від 0 до 3 радикалами R^{13} , за умови, що R^2 і R^3 не є одночасно воднем. Ця умова також задовільняється, якщо R^2 і R^3 мають значення, що відповідають необов'язковим значенням R^2 і R^3 , у цьому випадку вони утворюють спіроциклічне (C_3-C_{14}) карбоциклічне кільце, заміщене від 0 до 3 радикалами R^{13} . Наприклад, якщо R^2 і R^3 разом утворюють спіроциклічний циклопропіл, циклобутил, або цикlopentильну групу, одержані сполуки згідно з даним винаходом будуть містити частини такі, як частини, представлені частковими формулами (1.2.0)-(1.2.2):



Ще однією переважною підгрупою сполук згідно з даним винаходом є підгрупа, утворена, коли або R^2 , або R^3 разом з R^4 і атомами вуглецю та азоту, до яких вони відповідно приєднані, утворюють гетероарильну або гетероциклічну групу, як визначено в описі. Така гетероарильна або гетероциклічна група може, у свою чергу, бути заміщена від 0 до 3 радикалами R^{12} . Відповідно до вищевказаної умови, якщо один із радикалів R^2 або R^3 приєднується до R^4 , інший повинен бути воднем або метилом. Підгрупа може бути представлена частковою формулою (1.3.0), наведеною нижче:

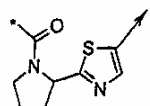


в якій символ "*" позначає точку приєднання частини, представленої частковою формулою (1.3.0), до частини «Y» у формулі (1.0.0), а символ "→" позначає точку приєднання частини, представленої частковою формулою (1.3.0), до залишкової ділянки частини "B" у формулі (1.0.0), що описується частковими формулами (1.1.0)-(1.1.14). Замісник " $R^{2/3}$ " вказує на присутність R^2 замісника або R^3 замісника. Обидва вони можуть бути відсутні, так як один або другий вже були вибрані таким чином що разом з R^4 утворюють гетероарильну або гетероциклічну групу часткової формули (1.3.0), наведеної нижче:

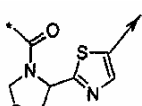


Очевидно, що, якщо присутній R^2 або R^3 , він означатиме водень або метил.

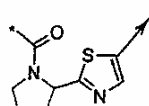
Відповідно, така підгрупа групи "B", представлена частковою формулою (1.3.0), включає, але не обмежується ними, варіанти, представлені частковими формулами (1.3.1)-(1.3.20),



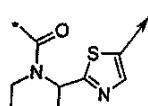
(1.3.1)



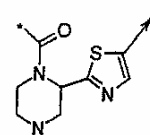
(1.3.2)



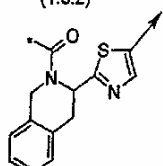
(1.3.3)



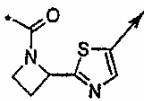
(1.3.4)



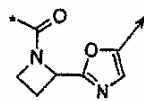
(1.3.5)



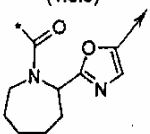
(1.3.6)



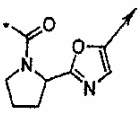
(1.3.7)



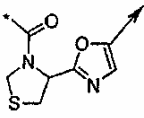
(1.3.8)



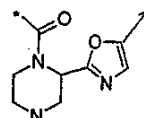
(1.3.9)



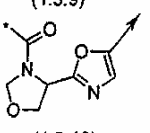
(1.3.10)



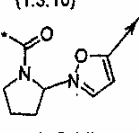
(1.3.11)



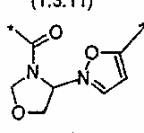
(1.3.12)



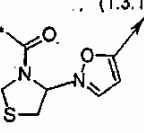
(1.3.13)



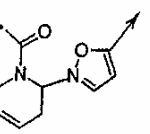
(1.3.14)



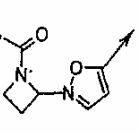
(1.3.15)



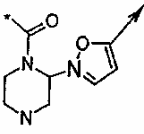
(1.3.16)



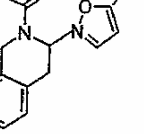
(1.3.17)



(1.3.18)



(1.3.19)



(1.3.20)

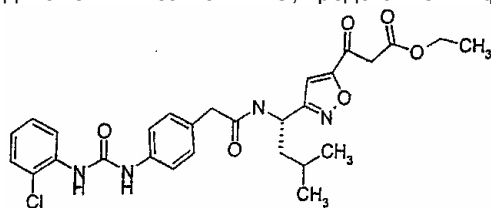
де символ "*" позначає місце приєднання частини молекули, представленої кожною з часткових формул (1.3.1)-(1.3.20), до частини «Y» у формулі (1.0.0), і символ "→" позначає місце приєднання частини молекули, представленої кожною з часткових формул (1.3.1)-(1.3.20), до частини «E» у формулі (1.0.0).

Щодо необов'язкового замісника R^{13} , який може виступати в ролі замісника R^2 і R^3 в компонента, R^{13} відсутній при виборі "0". Краще, якщо R^{13} або відсутній, або присутній як єдиний замісник, вибраний з арилу, гетероарилу, гетероциклілу, (C_1-C_4) алкокси, (C_2-C_6) циклоалкілу, (C_2-C_6) алкінілу, $-OR^{14}$, гетероциклілкарбонілу, (C_1-C_4) алкілтію, $-NR^{14}R^{15}$, і $-C(=O)NR^{14}R^{15}$. Щодо необов'язкового замісника R^{13} , але також з посиланням на решту замісників згідно з даним описом, термін "алкініл" окремо або у поєднанні означає алкініл радикал з нерозгалуженим або розгалуженим ланцюгом, який містить від 2 до 6, переважно від 2 до 4 атомів вуглецю. Приклади таких радикалів включають, але не обмежуються ними, етиніл (ацетиленіл), пропініл, пропаргіл, бутиніл, гексиніл, дециніл і подібні.

Термін "алкілтію", окремо або у поєднанні з іншими термінами, як він вжитий тут, означає радикал тіоефіру формули алкіл-S-, де алкільний компонент є алкільним радикалом з розгалуженим або



якої приєднаний замісник R^1 і R^1_a , де R^1_a означає водень у випадку, коли R^1 позначає моновалентний замісник, і R^1_a означає одинарний зв'язок, коли R^1 позначає дивалентний замісник. У найбільш переважних варіантах, коли R^1 означає дивалентний замісник, він є $=O$. У сполуці, що є прикладом сполук даного винаходу, в якій Е описується частковою формулою (1.9.0), R^1_a означає одинарний зв'язок, і R^1 означає дивалентний замісник $=O$, представлений формулою (1.4.2):



(1.4.2)

У частині сполук згідно з даним винаходом, представлених вищенаведеною частковою формулою (1.4.0), за частиною Е необов'язково розташований метиленовий або етиленовий містковий елемент: $(-CH_2-)_m$, де m є цілим числом, незалежно вибраним з 0, 1 і 2. Краще, якщо присутній етиленовий місток, і ще краще, якщо присутній метиленовий місток. Насправді, переважні сполуки згідно з даним винаходом мають етиленовий або пропіленовий місток між "В" і "R" компонентами формули (1.0.0), і, відповідно, замісник R^1 приєднаний у α -положенні такого етиленового або пропіленового містка. Замісник R^1 може бути відсутнім, тобто R^1 може бути воднем, і така структура є переважною для багатьох сполук формули (1.0.0). Тим не менше, існує ряд інших сполук формули (1.0.0), в яких приступність замісника R^1 є бажаною.

Відповідно, R^1 , окрім водню, має значення, вибрані з групи, що включає: $=O$, $=S$, F, CF_3 , (C_1-C_6) алкіл, заміщений від 0 до 3 радикалами R^{10} , (C_2-C_6) алкеніл, заміщений від 0 до 3 радикалами R^{10} , (C_2-C_6) алкініл, заміщений від 0 до 3 радикалами R^{10} , (C_3-C_{14}) карбоциклічне кільце, заміщене від 0 до 3 радикалами R^{12} , арил, заміщений від 0 до 3 радикалами R^{12} , і арил (C_1-C_4) алкіл, де арил і алкіл заміщені від 0 до 3 радикалами R^{12} , гетероцикліл, заміщений від 0 до 3 радикалами R^{12} , і гетероцикліл (C_1-C_4) алкіл, в якому гетероцикліл і алкіл заміщені від 0 до 3 радикалами R^{12} , $C(=O)NR^9R^9$ і $C(=O)R^9$.

Групи (C_1-C_6) алкіл і (C_2-C_6) алкеніл вже були детально визначені вище. Серед значень, наведених у цій групі, бажано, щоб R^1 означав метил, етил, ізопропіл, трет.-бутил, 2-пропеніл, або 1-, 2-, або 3-бутеніл.

R^1 також може означати (C_1-C_6) алкініл. Термін "алкініл", як він вжитий відносно "R", а також в інших контекстах у цьому описі, окремо або у поєднанні, означає алкінільний радикал з нерозгалуженим або розгалуженим ланцюгом, який містить від 2 до 6 атомів вуглецю. Приклади таких радикалів включають, але не обмежуються ними, етиніл (ацетиленіл), 1-пропініл, пропаргіл (2-пропініл), бутиніл і гексиніл. Якщо R^1 означає алкініл, бажано, щоб він означав етиніл або пропаргіл.

R^1 може також означати (C_3-C_{14}) карбоциклічне кільце, заміщене від 0 до 3 радикалами R^{12} . Значення "системи (C_3-C_{14}) карбоциклічного кільця" детально описувалось вище, але бажано, щоб R^1 , вибраний з цієї групи, означав циклопропіл або цикlopентил.

R^1 може додатково означати арил, заміщений від 0 до 3 радикалами R^{12} , або арил (C_1-C_4) алкіл, де арил і алкіл заміщені від 0 до 3 радикалами R^{12} . Значення термінів "арил" і " (C_1-C_4) алкіл" були детально визначені вище, проте, бажано, щоб R^1 , вибраний з цієї групи, означав феніл, фенілметил або фенілетил. В контексті такого визначення перевага надається тим сполукам, які містять одну або дві R^{12} групи в якості замісників.

Вибір замісника R^{12} залежить від його розташування. У цьому випадку замісник R^{12} знаходиться у положенні арильної або ариалкільної групи, і, таким чином, буде приєднана до атома вуглецю. У випадку, коли він є замісником у положенні атома вуглецю, він незалежно вибирається як елемент з декількох груп, одна з яких включає F, Cl, (C_1-C_4) алкіл, (C_3-C_6) циклоалкіл, (C_1-C_4) алкокси, $-C(=O)OR^{14}$, $-OH$, (C_1-C_4) алкіл і (C_1-C_4) алкоксикарбонілу, (C_1-C_4) алкілкарбонілу, і (C_1-C_4) алкілкарбонілокси. Особлива перевага надається таким замісниками з цієї групи, як метил, метокси, F, Cl, і $-OH$.

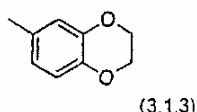
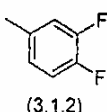
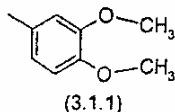
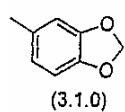
Ще одна група, елементи якої визначають R^{12} , приєднаний до атома вуглецю, включає 5- або 6-членний гетероарил або гетероциклічне кільце, яке містить від 1 до 4 гетероатомів, незалежно вибраних з кисню, азоту і сірки, і ланцюг з 3 або 4 атомами вуглецю, приєднаний до сусідніх атомів вуглецю, де арильне кільце утворює замкнене 9- або 10-членне кільце, необов'язково моно- або дизаміщене у положенні аліфатичного атома вуглецю такими замісниками, як F, Cl, (C_1-C_4) алкіл, (C_1-C_4) алкокси або гідрокси. Переважним гетероарильним замісником цієї групи, що включає R^{12} , є фурил, тієніл, піроліл, оксазоліл, ізоксазоліл, тіазоліл, імідазоліл, піридил, піразиніл, піразоліл, піримідиніл, оксадіазоліл, тіадіазоліл, паратазиніл, індоліл, бензо[*b*]фураніл, бензімідазоліл, бензтіазоліл, хінолініл і ізохінолініл. Більш переважно, R^{12} є піролілом, імідазолілом, оксазолілом або індолілом. Переважними гетероциклічними замісниками цієї групи, які включають R^{12} , є оксираніл, піролідиніл, піразолідиніл, імідазолідиніл, тетразолідиніл, піперидиніл, піперазиніл, морфолініл, тіоморфолініл і бензодіоксолан, зокрема 1,3-бензодіоксол-5-іл. Бажано, щоб у випадку, коли R^{12} є гетероциклілом, щоб він означав піролідиніл, піперидиніл, піперазиніл або морфолініл.

Якщо R^{12} приєднаний до насиченого атома вуглецю, він може означати $=O$ або $=S$, або у випадку, коли він приєднаний до атома сірки, він може означати $=O$. Особлива перевага надається кетонам, утвореним з гетероциклічними замісниками, таким як, наприклад, піролідинон, піразолідинон, імідазолідинон, тетразолідинон, піперидинон і піперазинон. Якщо R^{12} приєднаний до атома сірки і означає $(=O)_1$ або $_2$, переважним є присутність двох $(=O)$, які утворюють сульфонільну групу.

Якщо R^{12} є замісником у положенні атома азоту, він незалежно вибраний з групи, яка включає гідрокси, гідрокси (C_1-C_4) алкіл, (C_1-C_4) алкокси, (C_3-C_6) циклоалкіл, (C_1-C_4) алкілкарбоніл і арил.

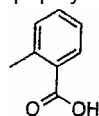
Вищезгаданий замісник R^1 у частковій формулі (1.9.0), який, у свою чергу представляє одне із значень основного компонента Е сполук формули (1.0.0), може додатково означати гетероцикліл, заміщений від 0 до 3 радикалами R^{12} , і гетероцикліл (C_1-C_4) алкіл, де гетероцикліл і алкіл заміщені від 0 до 3 радикалами R^{12} .

Необов'язкові R^{12} замісники у положенні таких гетероциклічної і гетероцикліалкільної груп мають вказані вище значення. Кращим значенням гетероциклілу є значення системи замкнутого бензольного кільця, що містить діоксолан, в якій наприклад, R^1 означає 1,3-бензодіоксол-5-іл. Така гетероциклільна група вважається аналогічною за своєю структурою з 3,4-диметоксифенільною групою, 3,4-дифторфенільною групою або бензо-1,4-діоксанільною групою, представленими відповідними частковими формулами (3.1.0), (3.1.1), (3.1.2) і (3.1.3):



Основний компонент R^1 сполук формули (1.0.0) також може означати $C(=O)NR^8R^9$ або $C(=O)R^8$, де R^8 і R^9 незалежно вибрані з водню, (C_1-C_4) алкілу, заміщеного від 0 до 3 радикалами R^{10} , системи (C_3-C_{14}) карбоциклічного кільця, заміщеного від 0 до 3 замісниками R^{12} , арилу, заміщеного від 0 до 3 радикалами R^{12} , і арил (C_1-C_4) алкілу, де арил і алкіл заміщені від 0 до 3 радикалами R^{12} , гетероциклілу, заміщеного від 0 до 3 радикалами R^{12} , і гетероцикліл (C_1-C_4) алкілу, де гетероцикліл і алкіл заміщені від 0 до 3 радикалами R^{12} . Замісники R^{10} і R^{12} мають вищеописані додаткові значення.

Зрештою, "R" компонент формули (1.0.0) незалежно вибраний з групи, яка включає -тетразоліл, $-C(=O)-OR^5$, $-C(=O)(CH_2)_kC(=O)OR^5$, $-C(=O)NO$, $-C(=O)-NH-S(=O)_2R^5$, $-S(=O)_2-NR^{14}R^5$, $-C(=O)NHS(=O)_2R^6$, і частину формули (3.0.0):



Переважаю R означає $C(=O)-OH$. Проте, крім таких простих карбонових кислот, інші переважні варіанти R включають α -, β - і γ -кето кислоти, які описуються частковою формулою: $-C(=O)(CH_2)_kC(=O)OR^5$. Якщо k означає 0, α -кетокислота є піровиноградною кислотою. Якщо k означає 1, β -кетокислота є ацетокислотою. Якщо k означає 2, γ -кетокислота є левуліновою кислотою.

Компонент R також включає частини, похідні від сульфаміної кислоти, H_2NSO_3H , представленої частковою формулою: $-S(=O)_2-NR^{14}R^5$, а також сульфонамідокарбонільні частини, представлені частковими формулами: $-C(=O)-NH-S(=O)_2R^5$ і $C(=O)NHS(=O)_2R^6$.

В об'єм даного винаходу входять фармацевтично прийнятні похідні сполук формули (1.0.0). Вираз "фармацевтично прийнятна похідна", як він вжитий у цьому винаході, означає будь-яку фармацевтично прийнятну сіль сполуки формули (1.0.0). Крім того, в об'єм даного винаходу входить будь-яка інша сполука, яка при її введенні пацієнту має здатність безпосередньо або опосередковано забезпечувати утворення сполук формули (1.0.0) в результаті метаболізму. Такі сполуки називаються проліками, та існує ряд способів одержання пролікарських форм сполук формули (1.0.0).

Термін "пацієнт", як він вжитий в даному описі, означає ссавців, включно з людиною. І термін "клітина" означає клітини ссавців, включно з людськими клітинами, якщо не обумовлено інакше.

Крім того, в об'єм даного винаходу входять метаболіти або залишки сполук формули (1.0.0), які мають біологічну активність, яка забезпечує здатність інгібувати клітинну адгезію і пов'язані з нею або такі, що є її наслідком, патогенних процесів, які згодом опосередковуються антигеном VLA-4. Після синтезу сполук формули (1.0.0) їх інгібуюча активність та специфічність щодо VLA-4 може бути визначена з допомогою *in vitro* і *in vivo* аналізів, які детально описуються далі.

Бажана біологічна активність сполук формули (1.0.0) також може бути посилена шляхом приєднання до них відповідних функціональних груп, які посилюють існуючу біологічну активність сполук, покращують селективність сполук щодо існуючої біологічної активності, або додають бажану активність до вже існуючої біологічної активності. Такі модифікації відомі з рівня техніки і включають модифікації, внаслідок яких посилюється біологічне проникання у певні біологічні системи, наприклад кровоносну, лімфатичну і центральну нервову систему, покращується можливість перорального введення, покращується розчинність, забезпечуючи ін'єкційне введення, змінюється процес метаболізму, і змінюється об'єм виділення сполуки формули (1.0.0).

Із врахуванням вищенаведених визначень та інших термінів, наведених в описі, інші вжиті тут хімічні та біологічні терміни будуть легко зрозумілими фахівцям. Визначені терміни можуть використовуватись окремо або у поєднанні. Визначена у цьому описі переважна і найбільш переважна довжина ланцюгів радикалів поширюється на всі такі комбінації.

Крім того, на доповнення наведених вище переважних і найбільш переважних підвидових визначень сполук формули (1.0.0), з метою ілюстрації наводиться перелік переважних і найбільш переважних сполук згідно з даним винаходом.

Сполуки, які включають частину часткової формули (1.1.0):

3-[2-(3-Метил-1-{2-[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-бутил)-4,5-дигідрооксазол-5-іл]-пропіонова кислота,

3-[2-(3-Метил-1-{2-[4-(3-{2-фторфеніл}-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-бутил)-4,5-дигідрооксазол-5-іл]-пропіонова кислота,

2-[2-(3-Метил-1-{2-[4-(3-{2-циклопентилфеніл}-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-бутил)-4,5-дигідрооксазол-5-іл]-оцтова кислота,

4-[2-(3-Метил-1-{2-[4-(3-{3-метилпірид-2-іл}-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-бутил)-4,5-дигідрооксазол-5-іл]-масляна кислота,

3-[2-(3-Метил-1-{2-[4-(3-{3-циклопентилпірид-2-іл}-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-бутил)-4,5-

4-(2-(3-Метил-1-(2-(3-фтор-4-(3-(3-метоксипіридил-2-ил)-уреїдо)-феніл)-ацетиламіно)-бутил)-тіазол-5-іл]

3-[2-(3-Метил-1-[2-[3-метокси-4-(3-{3-метилпірид-2-ил}-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно]-бутил)-імідазол-5-іл]-пропіонова кислота,

3-[2-(3-Метил-1-[2-[3-циклопентил-4-(3-{3-метилпірид-2-ил}-урейдо)-феніл]-ацетиламіно]-бутил)-імідазол-5-іл]-пропіонова кислота,

3-[2-(3-Метил-1-[2-[3-метокси-4-(3-{3-циклопентилпірид-2-іл}-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-бутил)-імідазол-5-іл]-пропіонова кислота.

3-[2-(3-Метил-1-{2-[3-трифторметил-4-(3-{3-циклопентилпірид-2-ил}-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-бутил)-імідазол-5-іл]-пропіонова кислота,

3-{2-[1-(2-{4-[3-(2-Хлор-феніл)-уреїдо]-феніл}-ацетиламіно)-3-метил-бутил]-тіазол-5-іл]-пропіонова кислота,

3-{2-[1-(2-{4-[3-(2,6-Дихлорфеніл)-уреїдо]-феніл}-ацетиламіно)-3-метил-бутил]-тіазол-5-іл]-пропіонова кислота,

3-{2-[1-(2-{4-[3-(2-Фторфеніл)-уреїдо]-феніл}-ацетиламіно)-3-метил-бутил]-тіазол-5-іл]-пропіонова кислота.

3-[2-(1-{2-[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-3-метил-бутил)-тіазол-5-іл]-пропіонова кислота.

3-[2-[1-(2-{4-[3-(2-Диметилфеніл)-уреїдо]-феніл}-ацетиламіно)-3-метил-бутил]-тіазол-5-іл]-пропіонова кислота.

3-{2-[1-(2-{4-[3-(2-Хлор-6-метил-феніл)-уреїдо]-феніл}-ацетиламіно)-3-метил-бутил]-тіазол-5-іл}-пропіонова кислота.

3-{2-[1-(2-{4-(3-(2-Метоксифеніл)-уреїдо)-феніл}-ацетиламіно)-3-метил-бутил]-тіазол-5-іл}-пропіонова кислота.

3-{2-[1-(2-{4-[3-(Феніл)-уреїдо]-феніл}-ацетиламіно)-3-метил-бутил]-тіазол-5-іл]-пропіонова кислота,

3-[2-(1-[2-[4-(3-о-толіл-урешо)-феніл]-ацетиламіно}-3-бутеніл)-тіазол-5-іл]-пропіонова кислота,

3-[2-[1-(2-[4-[3-(2-Метил-феніл)-уреїдо]-феніл)-ацетиламіно)-3-метил-бутил]-тіазол-5-іл]-проп-2-енова кислота.

3-{2-[1-(2-{4-[3-(2-Метил-феніл)-уреїдо]-феніл]-ацетиламіно)-3-метил-бутил]-тіазол-5-іл}-1-гідроксіміно-пропіонова кислота,

3-[2-[1-(2-{4-[3-(2-Метил-феніл)-уреїдо]-феніл]-ацетиламіно)-п-бутил]-тіазол-5-іл]-пропіонова кислота, і
3-[2-[1-(2-{4-[3-(2-Метил-феніл)-уреїдо]-феніл]-ацетиламіно)-3-метил-бутил]-тіазол-5-іл]-1-

метилсульфоніл-пропіонамід.

Сполуки, які включають частину часткової формули (1.1.3):

3-[2-(3-Метил-1-{2-[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-бутил)-оксазол-4-іл]-пропіонова кислота,

4-[2-(3-Метил-1-{2-[4-(3-{3-метилпірид-2-іл}-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-бутил)-оксазол-4-іл]-масляна кислота.

3-[2-(3-Метил-1-{2-[3-метокси-4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-бутил)-оксазол-4-іл]-пропіонова кислота.

3-[2-(3-Метил-1-{2-[3-метил-4-(3-{пірид-2-ил}-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-бутил)-тіазол-4-іл]-пропіонова кислота.

3-[2-(3-Метил-1-[2-[3-метокси-4-(3-{3-метоксипірид-2-ил}-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно)-бутил)-1,1-діоксо-тіазол-4-іл]-пропіонова кислота.

3-[2-(3-Метил-1-[2-[3-метил-4-(3-{3-метилпірид-2-ил}-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно)-бутил]-імідазол-4-іл]-пропіонова кислота. і

2-[2-(3-Метил-1-{2-[3-фтор-4-(3-{3-циклопентилпірид-2-ил}-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-бутил)-імідазол-4-іл]-оцтова кислота.

Сполуки, які включають частину часткової формули (1.1.4):

3-[3-(3-Метил-1-[2-[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно]-бутил)-4,5-дигідро-ізоксазол-5-іл]-пропіонова кислота.

3-[3-(3-Метил-1-{2-[4-(3-{2-фторфеніл}-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-бутил)-4,5-дигідро-ізоксазол-5-іл]-пропіонова кислота.

2-[3-(3-Метил-1-(2-[4-(3-[2-циклопентилфеніл]-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно)-бутил)-4,5-дигідро-ізоксазол-5-іл]-оцтова кислота.

4-[3-(3-Метил-1-(2-[4-(3-{3-метилпірид-2-ил}-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно)-бутил)-4,5-дигідро-ізоксазол-5-іл]-масляна кислота.

3-[3-(3-Метил-1-[2-[4-(3-{3-циклопентилпірид-2-ил}-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно]-бутил)-4,5-дигідрорізоксазол-5-іл]-пропіонова кислота. і

3-[3-(3-Метил-1-[2-[3-метокси-4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно]-бутил)-4,5-дигідро-ізоксазол-5-іл]-пропіонова кислота.

Сполуки, які включають частину часткової формули (1.1.5):

3-[3-(3-Метил-1-[2-[4-{3-о-толіл-уреїдо}-феніл]-ацетиламіно}-бутил)-4,5-дигідро-піразол-1-іл]-пропіонова кислота.

3-{3-(3-Метил-1-{2-(4-(3-{2-метоксифеніл}-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-бутил)-4,5-дигідро-піразол-1-іл)-пропіонова кислота.

3-[3-(3-Метил-1-(2-[4-(3-(піридин-2-ил)-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно)-бутил)-4,5-дигідро-піразол-1-іл]-пропіонова кислота.

4-[3-(3-Метил-1-[2-[4-(3-{3-метоксипірид-2-іл}-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно]-бутил)-4,5-дигідро-піразол-1-іл]-масляна кислота.

2-[3-(3-Метил-1-[2-[3-метил-4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно]-бутил)-4,5-дигідро-піразол-1-іл]-
оцтова кислота.

3-[3-(3-Метил-1-{2-[3-фтор-4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-бутил)-4,5-дигідро-піразол-1-іл]-
оцтова кислота.

3-[3-(3-Метил-1-{2-[3-метокси-4-(3-{пірид-2-іл}-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-бутил)-4,5-дигідро-піразол-1-іл]-пропіонова кислота.

3-[2-(4-Гідрокси-1{[4-(3-*o*-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетил}-піролідин-2-іл)-тіазол-5-іл]-пропіонова кислота;

[illegible]

Вищеописані сполуки згідно з даним винаходом можуть використовуватись у формі кислот, складних ефірів або сполук ніших хімічних класів, до яких належать описані сполуки. Також об'єм даного винаходу включає використання таких сполук у вигляді їх фармацевтично прийнятних солей, похідних від різних органічних або неограничених кислот і основ відповідно до відомих процедур. Такі відомі фармацевтично прийнятні солі включають, але не обмежуються ними, ацетат, адипат, альгінат, аспартат, бензоат, бензолсульфонат, безилат, бісульфат, бутират, цитрат, камфорат, камфорсульфонат, циклопентанпропіонат, диглюконат, додецисульфат, етансульфонат, фумарат, глюкогептаноат, глюконат, гліцерофосфат, гемісукцинат, гемісульфат, гептаноат, гексаноат, гіпурат, гідрохлорид, гідробромід, гідройодид, 2-гідроксиетансульфонат, ізотіонат, лактат, лактобіонат, малеат, манделат, метансульфонат, 2-нафталенсульфонат, нікотинат, нітрат, оксалат, олеат, памоат, пектинат, персульфат, 3-фенілпропіонат, фосфонат, пікрат, півалат, пропіонат, саліцилат, фосфат натрію, стеарат, сукцинат, сульфат, сульфосаліцилат, тартрат, тіоціанат, тіомалат, тозилат і ундеканат.

Основні солі сполук згідно з даним винаходом включають, але не обмежуються ними солі амонію, солі лужних металів, такі як солі натрію і калію, солі лужноземельних металів, такі як солі кальцію і магнію, солі з органічними основами, такі як дициклогексиламін, меглумін, N-метил-D-глюкамін, тріс-(гідроксиметил)-метиламін (триметамін), і солі з амінокислотами, такі як аргінін, лізин і т. д. Сполуки згідно з даним винаходом, які містять основні азот-вмісні групи, можуть бути кватернізовані такими агентами, як (C₁-C₄) алкілгаліди, наприклад метил, етил, ізопропіл і трет.-бутил, хлориди, броміди і йодиди, ді(C₁-C₄)алкіл сульфат, наприклад, диметил, діетил і діаміл сульфати, (C₁₀-C₁₈) алкіл галіди, наприклад децил, додецил, лаурил, міристил і стеарил, хлориди, броміди і йодиди, і арил-(C₁-C₄) алкіл галіди, наприклад, бензил хлорид і фенетил бромід. Такі солі роблять можливим одержання як водорозчинних, так і розчинних у маслі сполук згідно з даним винаходом.

Переважаючими серед вищеназваних фармацевтичних солей є, але не обмежуються ними, ацетат, безилат, цитрат, фумарат, глюконат, гемісукцинат, гіпурат, гідрохлорид, гідробромід, ізотіонат, манделат, меглумін, нітрат, олеат, фосфонат, півалат, фосфат натрію, стеарат, сульфат, сульфосаліцилат, тартрат, тіомалат, тозилат і триметамін.

В об'єм даного винаходу входить ряд сольових форм, в яких сполука згідно з даним винаходом містить більше, ніж одну групу, здатну утворювати такі фармацевтично прийнятні солі. Приклади ряду типових сольових форм рклячають, але не обмежуються ними бітартрат, діацетат, дифумарат, димеглумін, дифосфат, динатрієву сіль, і тригідрохлорид.

Фармацевтичні композиції згідно з даним винаходом містять будь-яку одну або більше сполуку-інгібітор згідно з даним винаходом, або її фармацевтично прийнятну сіль, також описану, разом з фармацевтично прийнятним носієм відповідно до властивостей і очікуваної дії такого носія, відомі у галузі, до якої відноситься винахід.

Термін "носії", як він вжитий у даному описі, включає прийнятні розбавники, наповнювачі, активні добавки і носії. Фармацевтично прийнятні носії, які можуть використовуватись у фармацевтичних композиціях згідно з винаходом, включають, але не обмежуються ними, іонообмінні композиції, глинозем, стеарат алюмінію, лецитин, сироваткові білки, наприклад, людський сироватковий альбумін, фосфати, гліцин, сорбінова кислота, сорбат калію, суміші неповних гліцеридів, які містять насичені жирні кислоти рослинного походження, воду, солі або електроліти, наприклад, проламін сульфат, динатрій-водень фосфат, калій водень фосфат, хлорид натрію і солі цинку, колоїдний кремнезем, трисилікат магнію, полівінілпіролідон, речовини на основі целюлози, наприклад, натрійкарбоксиметилцелюлозу, поліетиленгліколь, поліакрилати, воски, поліетилен-поліоксипропілен-блок полімери, і ланолін.

Зокрема, розбавники, наповнювачі, активні добавки і носії, які використовуються у фармацевтичних композиціях згідно з даним винаходом, включають елементи, вибрані з груп, які включають: підкислювальні і підлугувальні агенти, що додаються для досягнення заданого бажаного рівня pH, включають підкислювальні агенти, наприклад, оцтову кислоту, крижану оцтову кислоту, яблучну кислоту і пропіонову кислоту, а підлугувальні агенти, наприклад, едетол, карбонат калію, гідроксид калію, борат натрію, карбонат натрію і гідроксид натрію, газу-носії для аерозолів у випадку, коли фармацевтична композиція має бути доставлена у вигляді аерозолу під суттєвим тиском, наприклад, придатні галогенізовані вуглеводні, азот, або леткий вуглеводень, такий як бутан, пропан, ізобутан або їх суміші, антимікробні агенти, включно з антибактеріальними, протигрибковими і антипротозойними агентами, які додаються у випадку топічної доставки фармацевтичної композиції, наприклад, антимікробні агенти, такі як бензиловий спирт, хлорбутанол, фенілетиловий спирт, ацетат фенілртуті, сорбат калію і сорбінова кислота, та протигрибкові агенти, такі як бензойна кислота, бутилпарабен, етилпарабен, метилпарабен, пропілпарабен і натрій бензоат, антимікробні консерванти, які додаються до фармацевтичних композицій з метою їх захисту від росту потенційно шкідливих мікроорганізмів, наприклад, складні алкілові ефіри p-гідроксибензойної кислоти, солі пропіонату, феноксиетанол, метилпарабен натрій, пропілпарабен натрій, дегідроацетат натрію, хлорид бензалконію, хлорид бензетонію і бензиловий спирт, антиоксиданти, які додаються з метою захисту інгредієнтів фармацевтичної композиції від ушкодження або розкладу під дією окиснюючих агентів, присутніх у самій композиції чи навколишньому середовищі, наприклад, аноксомер, аскорбіл пальмітат, бутильований гідроксианізол, бутильований гідрокситолуол, гіпофосфорна кислота, метабісульфіт калію, пропілпектил і додецилгалат, метабісульфіт натрію, діоксид сірки і токоферолі, буферні агенти, що використовуються для підтримання бажаного встановленого рівня pH композиції, наприклад, ацетат кальцію, метафосфат калію, моноосновний фосфат калію і винна кислота, і хелатоутворюючі агенти, які використовуються для підтримання іонної напруги фармацевтичної композиції та зв'язування і ефективного виведення шкідливих сполук і металів, наприклад, дикалій едетат, динатрій едетат і едетова кислота.

Дерматологічно активні агенти додаються до фармацевтичних композицій згідно з даним винаходом місцевого введення, наприклад, загоюючі агенти, такі як пептидні похідні, дріжджі, пантенол, гексилрезорцинол, фенол, тетрациклін гідрохлорид, ламін і кінетин, глюкокортикостероїди для лікування запалень, наприклад, гідрокортизон, дексаметазон, бетаметазон, триамкінолон, флуокінолон і метилпреднізолон, ретиноїди для лікування акне, псоріазу, старіння шкіри і раку шкіри, наприклад, ретинол, третиноїн, ізотретиноїн, етретинат, ацитретин і аретиноїд, імуносупресори для лікування запалень,

наприклад дапсон і сульфасалазин, слабкодіючі антибактеріальні агенти, наприклад резорцинол, саліцилова кислота, бензоїлпероксид, еритроміцинбензоїл пероксид, еритроміцин, кліндаміцин і мупіроцин, протигрибкові агенти, наприклад грізеофулвін, азоли, такі як міконазол, еконазол, ітраконазол, флуконазол і кетоконазол, і аліламіни, такі як нафтіфін і терфінафін, антивірусні агенти, наприклад, ацикловір, фамцикловір і валацикловір, антигістамінні засоби, наприклад, дифенгідрамін, терфенадин, астемізол, лоратадин, цетиризин, акривастин і темеластин, анестезійні засоби місцевого призначення, наприклад бензокаїн, лідокаїн, дибукан і прамоксин гідрохлорид, анальгетики місцевого призначення, наприклад, метил саліцилат, камфора, ментол і резорцинол, антисептики місцевого призначення для запобігання інфікуванню, наприклад, хлорид бензалконію і повідон-йод, вітаміни та їх похідні, такі як токоферол, токоферол ацетат, смоляна кислота і ретинол.

Додаткові приклади розбавників, наповнювачів, активних добавок і носіїв, що використовуються у фармацевтичних композиціях згідно з даним винаходом включають елементи, вибрані з групи, що включає: диспергуючі і суспендуючі агенти, наприклад, поліеєнан, повідон і діоксид кремнію, пом'якшувачі, наприклад вуглеводні у вигляді масел і воски, складні тригліцеридові ефіри, ацетильовані моногліцериди, метил та інші складні алкілові ефіри C₁₀-C₂₀ жирних кислот, C₁₀-C₂₀ жирних кислот, C₁₀-C₂₀ жирних спиртів, ланолін і його похідні, складні ефіри поліводеньмісних спиртів, такі як поліетиленгліколь (200-600), ефір сорбіту і жирної кислоти, складні парафінові ефіри, фосфоліпіди і стероли, емульгатори, що використовуються для приготування емульсії типу масло-у-воді, наповнювачі, наприклад, лаурокапрам і монометиловий ефір поліетиленгліколю, зволожувачі, наприклад сорбітол, гліцерин і гіалурова кислота, основи для мазей, наприклад петролатум, поліетиленгліколь, ланолін і полоксамер, агенти, що посилюють поглинання, наприклад диметил ізосорбід, діетилгліколь-моноетиловий ефір, 1-додецилазациклопентан-2-он, і диметилсульфоксид (DMSO), консерванти, наприклад, хлорид бензалконію, хлорид бензетонію, складні алкілові ефіри р-гідроксибензойної кислоти, похідні гідантоїну, хлорид цетилпіридинію, пропілпарабен, четвертинні сполуки амонію, такі як бензоат калію і тімеросал, комплексоутворюючі сполуки, які включають циклодекстрини, розчинники, наприклад, ацетон, спирт, амілен гідрат, бутиловий спирт, кукурудзяна олія, бавовняна олія, етилацетат, гліцерин, гексилгліколь, ізопропіловий спирт, ізостеариловий спирт, метиловий спирт, метилхлорид, мінеральна олія, арахісова олія, фосфорна кислота, поліетиленгліколь, поліоксипропілен 15 стеариловий ефір, пропіленгліколь, пропіленгліколь діацетат, сезамова олія і очищена вода, стабілізатори, наприклад сахарат кальцію і тимол, поверхнево-активні речовини, наприклад лапіриум хлорид, лаурет 4, наприклад, α -додецил- ω -гідрокси-полі(окси-1,2-етандііл) або монододециловий ефір поліетиленгліколю.

Відповідно до даного винаходу фармацевтичні композиції можуть бути у формі стерильної препаративної форми для ін'єкцій, наприклад стерильної водної або масляної суспензії для ін'єкцій. Така суспензія може бути одержана з допомогою відомих у цій галузі методик з використанням придатних диспергуючих або зволожуючих агентів та суспендуючих агентів. Стерильна препаративна ін'єкційна форма також може бути у вигляді стерильного ін'єкційного розчину або суспензії у нетоксичному прийнятному для парентерального призначення розбавнику або розчиннику, наприклад такий як розчин у 1,3-бутандіолі. В якості прийнятних носіїв і розчинників, може використовуватись вода, розчин Рінджера та ізотонічний розчин хлориду натрію. Крім того, в якості розчинника або суспендуючого середовища, як правило, використовуються стерильні жирні масла. З цієї метою може використовуватись будь-яка суміш жирних масел, що включає синтетичні моно- або дигліцериди. Жирні кислоти, такі як олеїнова кислота та її гліцеридні похідні, використовуються у приготуванні препаратів для ін'єкцій, як і природні фармацевтично придатні масла, такі як оливкова або касторова олія, особливо в поліоксиетильованій формі. Такі розчини у маслах або суспензії також можуть містити довголанцюговий спиртовий розбавник або диспергуючий агент, такі як Rh, HClX або подібний спирт.

Фармацевтичні композиції згідно з винаходом можуть призначатися перорально у будь-якій пероральній дозованій лікарській формі, які включають, але не обмежуються цим переліком, капсули, таблетки, водні суспензії або розчини. У випадку таблеток для перорального призначення, в якості носіїв, як правило, використовують лактозу і кукурудзяний крохмаль. Також, як правило, додають змащуючі агенти, такі як стеарат магнію. З метою перорального призначення у вигляді капсул використовують такі розбавники, як лактоза і сухий кукурудзяний крохмаль. У випадку, коли для перорального призначення необхідні водні суспензії, активний інгредієнт поєднують з емульгаторами та суспендуючими агентами. При бажанні також можуть додаватися певні підсолоджувачі, смакові добавки та барвники. Альтернативно, фармацевтичні композиції згідно з винаходом можуть використовуватися у формі супозиторіїв для ректального призначення. Останні можуть бути одержані змішуванням активного агента з придатним неподразнюючим наповнювачем, який є твердим при кімнатній температурі, але рідкий при ректальній температурі і, відтак плавиться у прямій кишці, вивільняючи лікарську речовину. Такі матеріали включають, масло какао, бджолиний віск і поліетиленгліколь.

Фармацевтичні композиції згідно з винаходом також можуть призначатися місцево, особливо тоді, коли лікування націлене на певні зони або органи, легко доступні для місцевого призначення, включно з лікуванням захворювань ока, шкіри або нижньої зони кишкового тракту. Придатні лікарські форми для місцевого призначення у цих зонах та органах можуть бути легко одержані.

Місцеве призначення у нижній зоні кишкового тракту може здійснюватись з допомогою ректальних лікарських форм у вигляді супозиторіїв, як описувалося вище, або у вигляді придатних лікарських форм для клізм. Також можуть використовуватись активні трансдермальні пластирі місцевої дії.

Також для місцевого призначення фармацевтичні композиції можуть бути приготовані у вигляді придатних мазей, що містять активний компонент, суспендований або розчинений в одному або в більшій кількості носіїв. Носії для місцевого призначення сполук згідно з винаходом включають, але не обмежуються ними, мінеральну олію, рідкий вазелін, білий вазелін, пропіленгліколь, поліоксиетилден, поліоксипропілен, віск-емульгатор і воду. Альтернативно, фармацевтичні композиції можуть бути одержані у вигляді відповідного лосьйону або крему, що містить активні компоненти, суспендовані або розчинені в водному або в більшій кількості фармацевтично прийнятних носіїв. Придатні носії включають, але не обмежуються ними, мінеральну олію, моностеарат сорбіту, полісорбат, воскоподібний складний цетиловий

ефір, цетеариловий спирт, 2-октилдодеканол, бензиловий спирт і воду.

Для офтальмологічного застосування фармацевтичні композиції можуть бути одержані у вигляді дрібнодисперсної суспензії в ізотонічному стерильному сольовому розчині із сталим значенням pH або, переважно, у вигляді розчинів в ізотонічному стерильному сольовому розчині із сталим значенням pH, з консервантом або без нього, таких як хлорид бензалконію. Альтернативно, для офтальмологічного застосування фармацевтичні композиції можуть бути одержані у вигляді мазі, такої як вазелін.

Фармацевтичні композиції згідно з винаходом також можуть призначатися у вигляді назальних аерозолів або шляхом інгаляції з допомогою розпилювача, інгалятора для сухого порошку та дозованого інгалятора. Такі композиції одержують з допомогою добре відомих у фармацевтиці методик, і вони можуть одержуватися у вигляді розчинів у ропі з використанням бензилового спирту або інших придатних консервантів, промоторів абсорбції з метою посилення біодоступності, гідрофторвуглецю і/або інших відомих солюбілізаторів чи диспергантів.

Кількість активного інгредієнта, який може поєднуватися з матеріалом носія з одержанням разової дозованої форми, буде змінюватися залежно від носія, що підлягає лікуванню, та способу призначення. Проте, слід мати на увазі, що специфічний режим дозування для кожного пацієнта буде залежати від ряду факторів, включно з активністю певної сполуки, що використовується у композиції, віком, масою тіла, загальним станом здоров'я, статтю, режимом харчування, часом введення, ступенем екскреції, поєднанням лікарських засобів, висновком лікаря, що відповідає за лікування, та складністю часткового захворювання, що підлягає лікуванню. Кількість активного інгредієнта також може залежати від терапевтичного або профілактичного агента, якщо такі вводяться одночасно з активним інгредієнтом.

Дозування та дозована норма сполук згідно з винаходом effective для запобігання, інгібування, притуплення або послаблення клітинної адгезії і пов'язаних з нею або таких, що є її наслідком, патогенних процесів, які згодом опосередковуються антигеном VLA-4 залежатиме від ряду факторів, таких як природа інгібітора, величина пацієнта, ціль лікування, природа паталогії, що підлягає лікуванню, використовувана фармацевтична композиція, а також спостереження та висновки лікаря, відповідального за лікування.

Наприклад, якщо дозованою формою є пероральна дозована форма, наприклад таблетка або капсула, придатний інтервал рівнів доз сполук формули (1.0.0) буде приблизно становити від 1,0мкг до 10,0мг/кг від маси тіла на день, переважно приблизно від 5,0мкг до 5,0мг/кг від маси тіла на день, більш переважно приблизно від 10,0мкг до 1,0мг/кг від маси тіла на день, і найбільш переважно приблизно від 20,0мкг до 0,5мг/кг активного інгредієнта від маси тіла на день.

Якщо дозована лікарська форма призначається місцево у бронхи та легені, наприклад з допомогою порошкового інгалятора або розпилювача, придатний рівень доз сполук формули (1.0.0) буде становити приблизно від 0,1мкг до 1,0мг/кг від маси тіла на день, переважно приблизно від 0,5мкг до 0,5мг/кг від маси тіла на день, більш переважно приблизно від 1,0мкг до 0,1мг/кг від маси тіла на день, і найбільш переважно приблизно від 2,0мкг до 0,05мг/кг від маси тіла на день активного інгредієнта.

Взявши як приклад масу тіла 10кг і 100кг з метою ілюстрації діапазону денних доз при місцевому призначенні, які можуть застосовуватися описаним вище способом, придатний рівень доз сполук формули (1.0.0) буде становити приблизно від 1,0-10,0мкг і 10,0-100,0мг на день, переважно приблизно від 5,0-50,0мкг і 5,0-50,0мг на день, більш переважно приблизно від 10,0-100,0мкг і 1,0-10,0мг на день, і найбільш переважно приблизно від 20,0-200,0мкг до 0,5-5,0мг на день активного інгредієнта, що містить сполуку формули (1.0.0). Ці діапазони величин доз представляють сумарні величини доз активного інгредієнта на день для певного пацієнта. Кількість разів введення дози на день залежить від таких фармакологічних і фармакокінетичних факторів, як період напіврозкладу інгредієнта, який вказує на швидкість катаболізму та кліренсу, а також на оптимальний і оптимальний рівень такого активного інгредієнта у плазмі або в іншій рідині тіла, що досягається у пацієнта і є необхідним для досягнення лікувальної ефективності.

Також слід брати до уваги ряд інших факторів при встановленні кількості доз на день та кількості активного інгредієнта на одну дозу, що вводиться. Не останнім за значенням серед цих факторів є індивідуальна реакція пацієнта, що проходить лікування. Таким чином, наприклад якщо активний інгредієнт використовується з метою лікування та профілактики астми і призначається місцево через інгалятор для аерозолів у легені, кожного дня будуть призначатися одна - чотири дози, які забезпечуються одним спрацьовуванням диспергуючого пристрою, тобто "випуском дози" інгалятором, пр цьому кожна доза містить приблизно від 50,0мкг до 10,0мг активного інгредієнта.

В об'єм даного винаходу входять варіанти композицій, що містять, окрім сполуки згідно з даним винаходом в якості активного інгредієнта, додаткові терапевтичні активні інгредієнти, вибрані з групи, яка включає протизапальні кортикостероїди, бронхолітичні засоби, протиастимати засоби, нестероїдні протизапальні засоби, імуносупресори, імуностимулятори, антиметаболіти, антипсоріазні засоби і протидіабетні засоби. Окремі сполуки кожного з цих класів можуть бути вибраними зі сполук, наведених під відповідними назвами у Comprehensive Medicinal Chemistry, Pergamon Press, Oxford, England, pp. 970-986 (1990), і Goodman і Oilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th ed., Hardman, J. Г. і Limbird, L. E., eds., McGraw-Hill, 1996, включеному у цей опис в якості посилання. Особливо переважними активними інгредієнтами для використання у поєднанні зі сполуками формули (1.0.0) є сполуки з протизапальною активністю, такі як теофілін, сульфазалін і аміносаліцифати, імуносупресори, такі як циклоспорин, FK-506 і рапаміцин, антиметаболіти, такі як циклофосфамід і метотрексат, а також імуномодулятори, такі як інтерферони.

Інші аспекти втілення даного винаходу стосуються способу лікування або профілактики запальних, аутоімунних або респіраторних захворювань інгібуванням клітинної адгезії і пов'язаних з нею або таких, що є її наслідком, патогенних процесів, які згодом опосередковуються антигеном VLA-4. Як вже згадувалось, VLA-4-опосередкована клітинна адгезія відіграє ключову роль у ряді запальних, імунних і аутоімунних захворювань. Таким чином, інгібування клітинної адгезії з допомогою сполук згідно з винаходом може використовуватися у способах лікування або профілактики запальних, імунних і аутоімунних захворювань. Переважно захворювання, що лікуються з допомогою способу згідно з винаходом, є астма, артрит, псоріаз, відторгнення трансплантата, розсіяний склероз, діабет і запальні захворювання кишечника.

У вищеописаних способах лікування згідно з даним винаходом можуть використовуватися сполуки

формули (1.0.0) у курсі монотерапії, проте, такі способи також можуть застосовуватись у курсі комбінованої терапії, в ході якої одна або більшість сполук формули (1.0.0) призначаються одночасно у поєднанні з відомими протизапальними агентами, імуномодуляторами, імустимуляторами або імуносупресантами. Терміни "одночасно призначений" або "одночасне призначення", як вони вжиті в описі, означають використання в терапевтичних цілях однієї або декількох сполук формули (1.0.0) у поєднанні з одним або декількома додатковими терапевтичними агентами, що включає, але не обмежується цим, призначення комбінації терапевтично активних агентів у вигляді однієї дозованої форми або у вигляді декількох дозованих форм, які призначаються однаковими або різними способами, причому такі дозовані лікарські форми, що містять декілька активних агентів, призначаються по суті одночасно або в різний час.

Після синтезу будь-якого вищеописаного переважного зразка згідно з даним винаходом або будь-якої іншої сполуки, що входить до об'єму даного винаходу, біологічна активність таких сполук щодо специфічності до VLA-4 може бути визначена з допомогою одного або декількох різних *in vitro* та *in vivo* аналізів, які були раніше описані у спеціальній літературі, що стосується цього предмету. Наприклад, деякі із добре відомих на сьогодні і визнаних методик аналізу і моделей стосуються вимірювання активності VLA-4 шляхом визначення концентрації досліджуваного потенційного інгібітора, необхідної для блокування зв'язування клітин, що виділяють антиген VLA-4, з фібронектином або пластинками, покритими CS-1. У такому аналізі мікротитрувальні лунки покриті або фібронектином (що містить послідовність CS-1), CS-1 пептидом або розчинним VCAM-1. Одразу ж після нанесення покриття на лунки до них додається досліджувана сполука в різних концентраціях разом із відповідним чином міченими клітинами, що виділяють антиген VLA-4. Альтернативно, досліджувана сполука може додаватись спочатку і інкубуватись разом із покритими лунками до того, як будуть додані клітини. Клітини інкубують у лунках щонайменше протягом 30 хвилин. Після інкубування виймають їх вміст, і лунки промивають. Інгібування зв'язування визначають обчисленням даних флуоресцентного аналізу або визначенням радіоактивності для випадку кожного із значень концентрації досліджуваної сполуки, а також для кожної з контрольних лунок, які не містять досліджуваної сполуки. Проте, описаний аналіз має менше переваг у визначенні VLA-4 активності сполук формули (1.0.0), ніж інші згадувані далі аналізи.

Клітини, що виділяють VLA-4, які можуть використовуватись у цьому аналізі, включають клітини Рамоса, клітини Юрката, клітини меланоми А375, а також клітини периферійних лімфоцитів крові людини (PBL). Клітини, що використовуються у цьому аналізі, можуть бути флуоресцентно або радіоактивно мічені.

З метою оцінки інгібуючої специфічності досліджуваних сполук щодо VLA-4, можуть бути проведені аналізи для основних груп інтегринів, тобто β_2 і β_3 , а також інших β_1 , інтегринів, таких як VLA-5, VLA-6 і $\alpha_4\beta_7$. Ці аналізи можуть вважатись подібними до описаних вище аналізів інгібування адгезії і аналізи на зв'язування, за відміною того, що використовують відповідні клітини, що виділяють інтегрини і відповідний ліганд. Наприклад, поліморфонуклеарні клітини (PMNs) виділяють β_2 інтегрини на свої поверхні і зв'язуються з ICAM, тоді як β_3 інтегрини беруть участь в агрегації тромбоцитів, і інгібування може бути обчислене з допомогою стандартного аналізу агрегації тромбоцитів. VLA-5 специфічно зв'язується з послідовностями Arg-Gly-Asp, тоді як VLA-6 зв'язується з ламініном. Крім того, $\alpha_4\beta_7$ є нещодавно виявленим гомологом VLA-4, який також зв'язується з фібронектином і VCAM, а також з MAdCAM-1. Специфічність щодо $\alpha_4\beta_7$ визначається в аналізі на зв'язування, в якому використовують CS-1, VCAM або MAdCAM-1 і клітинну лінію, яка виділяє $\alpha_4\beta_7$, а не VLA-4, таку як лінія клітин RPMI-8866.

Одразу ж після ідентифікації VLA-4-специфічних інгібіторів вони можуть бути досліджені з допомогою додаткових аналізів *in vivo*. Один такий аналіз дає змогу вивчити інгібування гіперчутливості дихальних шляхів, викликаного алергеном, та притоку клітин, так як описано у Henderson et al., "Blockade of CD49d (α_4 integrin) on intrapulmonary but not circulating leukocytes inhibits airway inflammation and hyperresponsiveness in a mouse model of asthma", J. Clin. Invest., 100(12), pp. 3083-92 (1997). У цьому аналізі мишей піддавали впливу подразника, такого як овалбумін. Після періоду одужання мишей піддавали впливу алергенів, розбризкуваних в аерозолях. Перед розбризкуванням аерозолю, мишам вводили різні дози інгібітора VLA-4 шляхом інтратрахеальної ін'єкції. *In vivo* інгібування запалень, пов'язаних з клітинною адгезією, оцінюється шляхом визначення кількості клітин і цитокінів у бронхіально-альвеолярній рідині. У такий спосіб можна визначити інгібітори, які є найбільш придатними для інгібування запалень.

Може застосовуватись ще один аналіз *in vivo*, а саме аналіз, проведений на приматах, що страждають астмою. Цей аналіз проводять відповідно до того, як було описано у Turner, C. R., et al., "Characterization of a primate model of asthma utilizing anti-allergy/anti-asthma agents", Inflammation Research, 45(5), pp. 239-45 (1996), опис якого включений в якості посилання. У цьому аналізі визначають інгібування індукованих антигеном Ascaris останньої фази реакції дихальних шляхів і гіперчутливості дихальних шляхів у приматів, що страждають алергією, після введення протиалергійних/протиастматичних агентів.

На основі сполук згідно з даним винаходом можуть бути одержані фармацевтичні композиції, які можуть призначатись перорально, парентерально, інгаляційно (дозувальний інгалятор, інгалятор на сухому порошку або розпилювач), місцево, ректально, назально, внутрішньоочно, зашійно, вагінально або через імплантований резервуар. Термін "парентеральний", як він вжитий тут, означає методики підшкірної, внутрішньовенної, внутрішньом'язової, внутрішньосуглобової, внутрішньосиновіальної, внутрішньогрудинної, внутрішньооболонкової, внутрішньопечінкової ін'єкції або інфузії, ін'єкції або інфузії всередину ураженої тканини та внутрішньосерпної ін'єкції або інфузії.

Сполуки формули (1.0.0) можуть бути одержані відповідно до добре відомих методик проведення синтезу органічних сполук, непептидильних або напівпептидильних за своєю природою. Існує ряд різних методик, які повністю описані у спеціальній літературі, з якою знайомий фахівець у цій галузі. Наведений далі опис декількох таких схем синтезу представляє собою ілюстрацію і не має обмежувального характеру. З метою економного використання місця в описі використовується цілий ряд скорочень. Хоча такі скорочення добре відомі фахівцям, вони наводяться з метою ясності подальшого опису:

BOP бензотриазол-1-ілокси-тріс(диметиламіно) фосфоній гексафторфосфат

DAST діетиламіносірка трифторид

DIEA діізопропілетил амін

DMF Диметилформамід

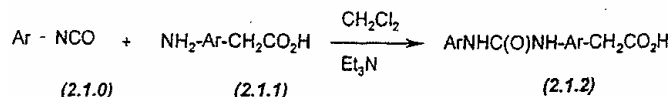
EDCI 1-(3-диметиламінопропіл)-3-етилкарбодіімід гідрохлорид

HOBT 1-гідроксибензотриазол

THF Тетрагідрофуран

Група переважних А компонентів сполук формули (1.0.0) була описана вище і проілюстрована частковими формулами (IVb) - (IVu). Основне значення мають компоненти формули (IVc), тобто 4-(N'-фентсечовина)-фентметил. Наведена далі діаграма синтезу ілюструє узагальнену методику одержання сполук формул (1.4.0)-(1.4.20):

Схема синтезу I - Стадія А



Вихідний матеріал Ar-NCO є ізоціанат, де "Ar" має те ж саме значення, що і компонент А формули (1.0.0) щодо арилу, гетероарилу і гетероциклічної частин, заміщених від 0 до 3 радикалами R¹⁰. Ізоціанат як вихідний матеріал для одержання компонента А, представлений частковими формулами (1.4.1)-(1.4.20), постачається на ринок, наприклад компанією Aldrich Chemical Company, Milwaukee, WI 53233, у такому вигляді:

Фенілізоціанат (1.4.1), (1.4.2)

о-толілізоціанат (1.4.3), (1.4.5), (1.4.7), (1.4.16), (1.4.20)

2-хлорфенілізоціанат (1.4.13), (1.4.14)

2-метоксифенілізоціанат (1.4.4)

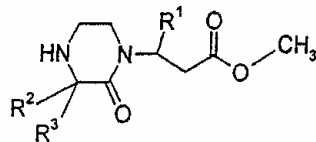
2-фторфенілізоціанат (1.4.12)

4-ізопропілфенілізоціанат (1.4.15)

Аналоги піридилу наведених вище фенілізоціанатів можуть використовуватись з метою одержання відповідної сполуки формули (1.0.0), в якій А компонент містить піридиньну групу.

Один із вищеописаних ізоціанатів вводять у взаємодію з арил-, гетероарил- або гетероцикліл-оцтовою кислотою, що містить аміногрупу у положенні 4. Додавання аміногрупи до ізоціанату є відомою реакцією, в результаті якої просто одержують заміщені сечовини. Реакція може проводитись у розчиннику, такому як метиленхлорид, з триетиламіном при незначною мірою підвищених температурах. Реагент, що використовується для одержання більшості А компонентів, представлених частковими формулами (1.4.1)-(1.4.20), є 4-амінофенілоцтовою кислотою, яка постачається на ринок згаданою вище Aldridge Chemical Company.

Дизаміщену сечовину (2.1.2), одержану відповідно до наведеної вище схеми реакції, з якої одержують реагент, з допомогою якого одержують компонент А сполук формули (1.0.0), після цього вводять у взаємодію з реагентом, внаслідок чого зрештою одержують компонент В, представлений однією з часткових формул (1.1.0)-(1.1.14). Наприклад, реагентом для В компонента може бути компонент часткової формули (1.7.0), представлений нижче (IIIо-а):

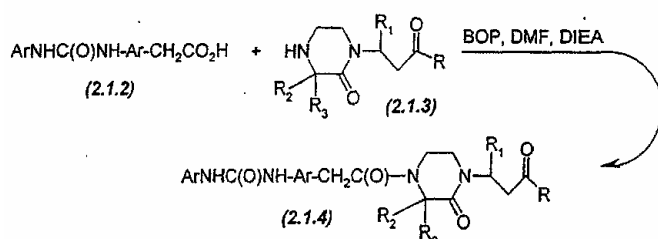


(1.7.0)

Реагенти компонента В, представлені у формулі (IIIо-а), можуть бути одержані відповідно до методик, добре відомих із спеціальної літератури відповідної галузі. Наприклад, див. Bhatt, U., Mohamed, N., Just, G., Tempahedron Lett, 1997, 38(21), 3679-3682, і Sugihara, H. et al., J. Med. Chem., 1998, 41, 489-502.

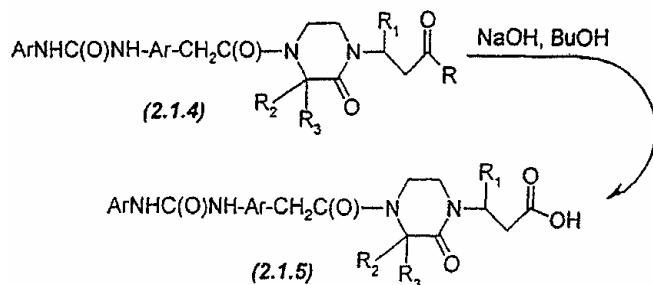
Реакція між реагентом, з якого одержують компонент А, і реагентом, з якого одержують компонент В, буде визначена фахівцем як реакція, яка полягає в ацилюванні аміну карбоною кислотою, підвищений вихід якої досягається при кімнатній температурі або трохи вище від кімнатної завдяки використанню зв'язуючих речовин, таких як 1-(3-диметиламінопропіл)-3-етилкарбодіімід гідрохлорид (EDCI) і 1-гідроксибензотриазол (HOBT), дициклогексилкарбодіімід (DCCI), N,N'-карбонілдіімідазол, POCl₃, TiCl₄, SO₂ClF, Ti(OBu)₄, P₂I₄, Bu₃N, бензотриазол-1-іл діетил фосфат, N,N,N',N'-тетраметил(сукцинімідо)уроній тетрафторборат, і переважно діізопропілетил амін (DIEA) і бензотриазол-1-ілокси-трис(диметиламіно) фосфоній гексафторфосфат (BOP). Ця реакція може бути схематично представлена наступною діаграмою синтезу, на якій представлена узагальнена методика одержання сполук формули (1.0.0):

Схема синтезу I - Стадія В



Піперазиніловий реагент (2.1.3) для компонента В використовують у формі складного (C₁-C₄) алкілового ефіру кислоти, що служить блокуючою групою, запобігаючи реакції групи карбонової кислоти із групою вторинного аміну, яка становить частину піперазинілової частини інших реагентів (2.1.3), присутніх у реакційній суміші. Зв'язуючі речовини сприяють конденсації реагентів (2.1.2) і (2.1.3) з одержанням проміжної сполуки (2.1.4), яка є сполукою формули (1.0.0), в якій R означає O(C₁-C₆)алкіл. Для того, щоб одержати кінцевий продукт формули (1.0.0) у формі кислоти, необхідне проведення додаткової стадії, як показано на наведеній нижче схемі:

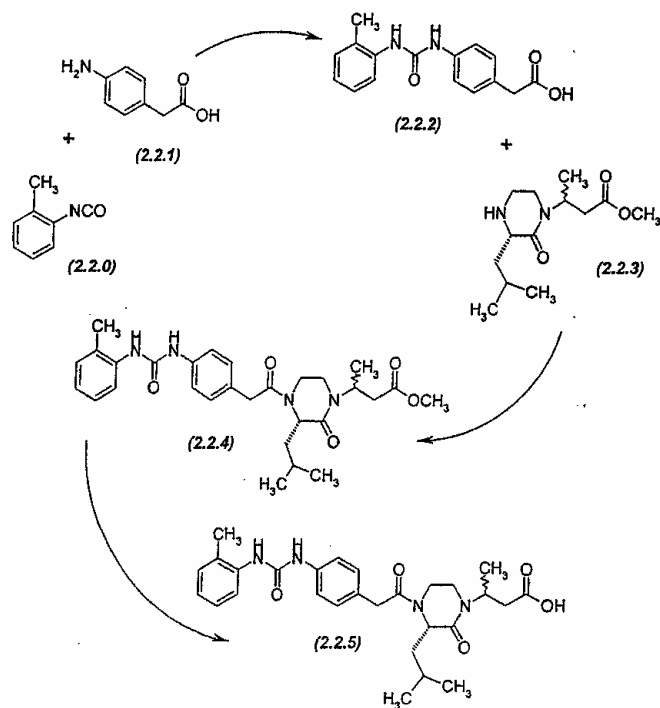
Схема синтезу I - Стадія С



Омилення водного гідроксиду проводять, як вказувалось, у спиртовому розчиннику, переважно трет.-бутанолі. Після цього нейтралізацію переважно проводять з використанням 1N HCl в якості однієї мінеральної кислоти, і реакцію, як правило, проводять при кімнатній температурі.

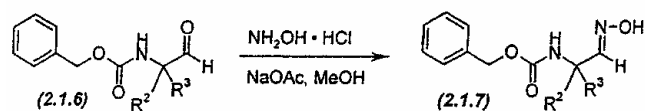
Вищеписані методики синтезу широко застосовуються до сполук формули (1.0.0). Для того, щоб ще більше прояснити цей процесу синтез, нижче наводиться Схема синтезу 1-α, Стадії А - С з посиланням на конкретну сполуку згідно з даним винаходом:

Схема синтезу I - α



Сполуки формули (1.0.0), в яких В компонент є частиною формули (1.1.4), тобто ізоксазолільною групою, можуть бути одержані з допомогою способу, в якому дві останні стадії подібні до двох останніх стадій, Стадії В і С, способу, представленого на Схемі Синтезу I. Одержання амінового реагента, з якого одержують компонент В часткової формули (1.4.4), узагальнено представлено для сполук формули (1.0.0) на наведеній далі Схемі синтезу II - Стадія А:

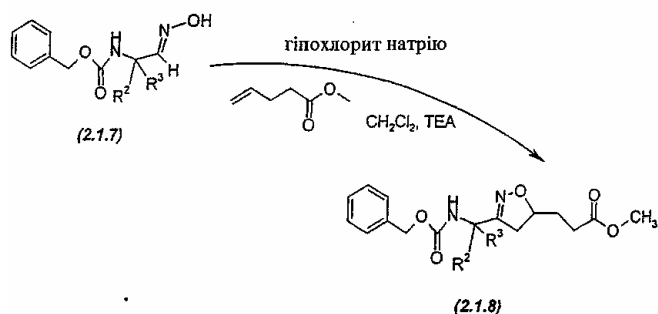
Схема синтезу II - Стадія А



На Стадії А цього синтезу вихідним матеріалом є 1-форміл похідна карбамінової кислоти, що має захисну групу R і відповідні R² і R³ замісники формули: ROC(=O)NHC(R²)(R³)CH(=O). Такий альдегід в якості вихідного матеріалу вводять у взаємодію з гідроксиламінімгідрохлоридом і ацетатом натрію у придатному розчиннику, такому як вода і метанол, з метою одержання відповідного оксиму згідно з відомою методикою,

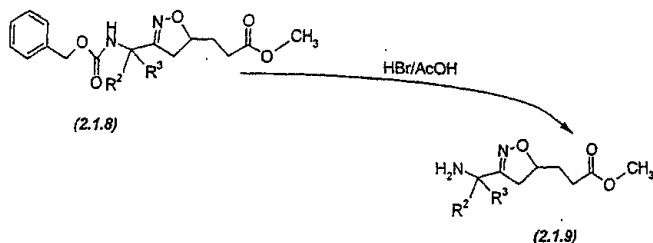
в якій використовується додавання карбонільної групи і видалення води, і підтримується оптимальний рівень pH приблизно 4.

Схема синтезу II - Стадія В



Проміжну сполуку оксим (гідроксиімінометил) (2.1.7) перетворюють у бажаний ізоксазоліл-вмісний В компонент часткової формули (IIIe), проміжну сполуку (2.1.8), шляхом окиснення сполуки (2.1.7) до відповідного нітрил N-оксиду з допомогою гіпохлориду натрію у придатному розчиннику, такому як THF або метиленхлорид, і введення у взаємодію нітрил N-оксиду *in situ* з відповідним кінцевим алкілалкеноатом. Така реакція приєднання циклу [2+3] добре відома з літератури як спосіб одержання ізоксазолінової кільцевої структури. Див., наприклад, *Synthesis*, 508-9, 1982.

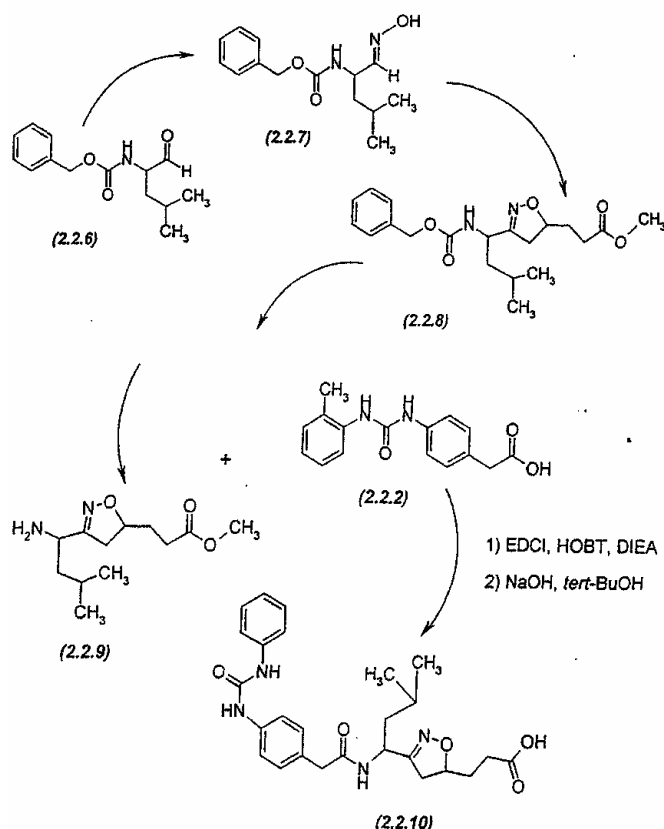
Схема синтезу II - Стадія С



Бензилкарбамат (2.1.8) перетворюють у первинний амін (2.1.9) з допомогою одного з наступних реагентів з використанням опублікованих у літературі методик: H₂/Pd-C (*Ber.*, 65, p. 1192, 1932), HBr, AcOH (*J. Org. Chem.*, 17, p. 1564, 1952), 70% HF, піридин (*J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, p. 451, 1976) або CF₃SO₃H (*J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, p. 107, 1974).

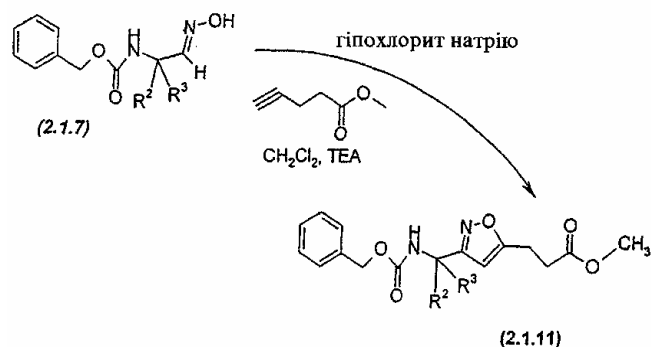
Вищеописані методики синтезу широко застосовуються до сполук формули (1.0.0). Для більш детального пояснення синтезу далі наводиться Схема синтезу II, Стадії А - D, відносно конкретної сполуки згідно з даним винаходом (де Стадія D аналогічна Стадії В і С на схемі I):

Схема синтезу II - α



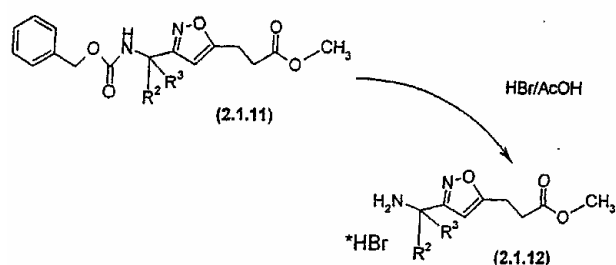
Сполуки формули (1.0.0), в яких В компонент є частиною формули (1.1.6), тобто ізоксазольною групою, можуть бути одержані з допомогою способу, в якому дві останні стадії подібні до Стадії В і С способу, представленого на Схемі Синтезу I. Одержання амінового реагента, з якого одержують компонент В часткової формули (1.1.6), в загальних рисах проілюстроване для сполук формули (1.0.0) на наведеній далі схемі синтезу:

Схема синтезу III - Стадія А



Проміжну сполуку, оксим (гідроксиімінометил) (2.1.7), перетворюють у бажаний ізоксазол-вмісний В компонент часткової формули (1.1.6), проміжна сполука (2.1.11), шляхом окиснення (2.1.7) до відповідного нітрил N-оксиду з допомогою гіпохлориту натрію у придатному розчиннику, такому як THF або метиленхлорид, і введення у взаємодію нітрил N-оксиду *in situ* з відповідним кінцевим алкілалкіноатом. Така реакція додавання циклу [2+3] добре відома в літературі як спосіб одержання ізоксазольової кільцевої структури. Див., наприклад, Synthesis, 508-9, 1982.

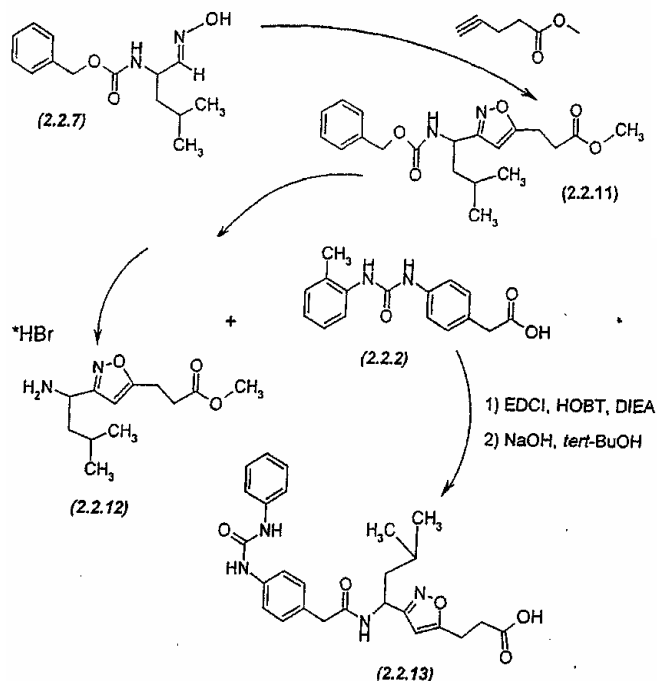
Схема синтезу III - Стадія В



Бензилкарбамат (2.1.11) перетворюють у первинний амін (2.1.12) з допомогою одного з наступних реагентів з використанням опублікованих в літературі методик: $\text{H}_2/\text{Pd-C}$ (Ben, 65, р. 1192, 1932), HBr , AcOH (J. Org. Chem. 17, р. 1564, 1952), 70% HF , піридин (J. Chem. Soc, Chem. Commun., р. 451, 1976) або $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$ (J. Chem. Soc, Chem. Commun., р. 107, 1974).

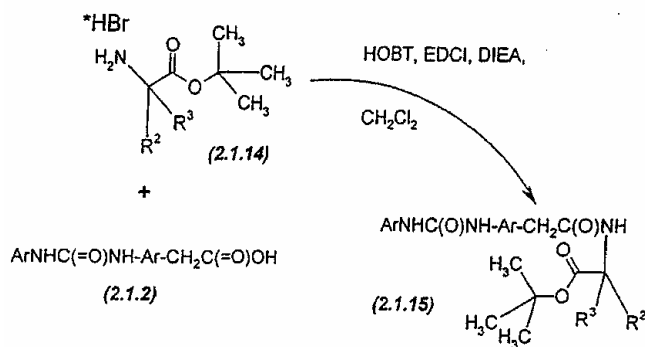
Вищеописані методики синтезу широко застосовуються до сполук формули (1.0.0). Для більш детального пояснення синтезу далі наводиться Схема синтезу III, Стадії А - С відносно конкретної сполуки згідно з даним винаходом (де Стадія С аналогічна Стадії В і С на схемі I):

Схема синтезу III - α



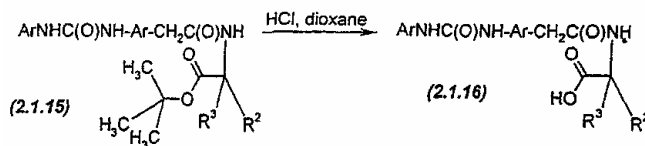
Сполуки формули (1.0.0), в яких В компонент є частиною формули (1.1.0)), тобто оксазоліною групою, може бути одержаний з допомогою способу, узагальнено представленого наведеній далі схемі синтезу:

Схема синтезу IV - Стадія А



Конденсація карбонової кислоти (2.1.2) і аміну (2.1.14) з одержанням складного трет.-бутилового ефіру (2.1.15) показана на Стадії А і є подібною до реакції на Схемі синтезу 1, Стадія В. Складний трет.-бутиловий ефір перетворюють у відповідну кислоту, (2.1.16), піддаючи її впливу кислотних умов, таку як HCl у розчиннику, такому як діоксан при кімнатній або майже при кімнатній температурі. Перетворення сполуки (2.1.15) у (2.1.16) показане на показаній нижче Стадії В.

Схема синтезу IV - Стадія В



Проміжну кислоту (2.1.16) конденсують з аміном (2.1.17) з одержанням аміду (2.1.18), як показано на наведеній далі Стадії С, що є подібним до реакції на Схемі синтезу 1, Стадія В. Проміжну сполуку, амід 19(2.1.18), циклізують до оксазоліну (2.1.19) у присутності діетиламіносірки трифториду (DAST), як показано далі на Стадії D з використанням опианих у літературі методик (Pinto et al., Tempahedron Lett. 30, р.

Схема синтезу IV - Стадія С

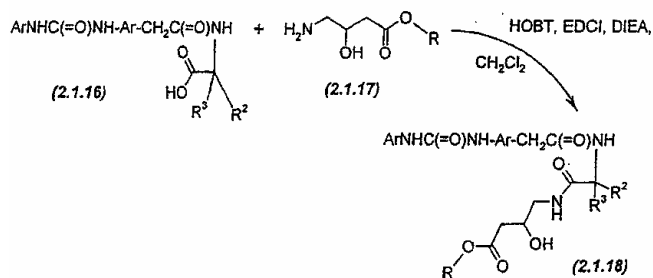
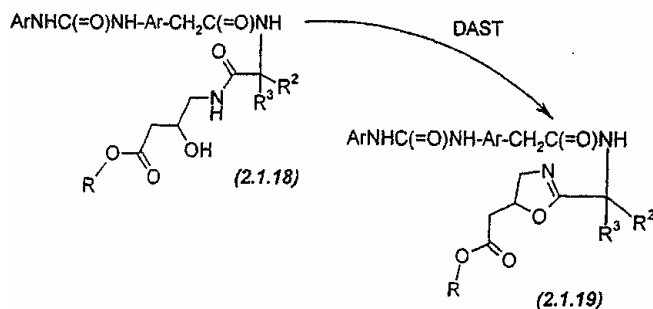
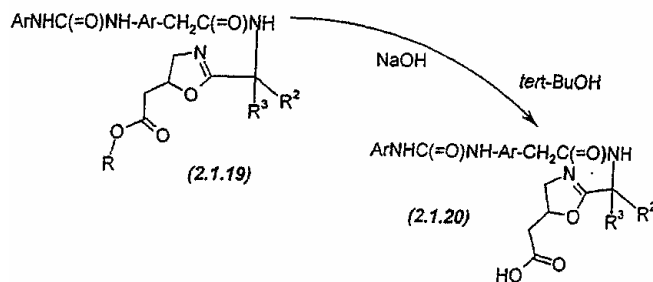


Схема синтезу IV - Стадія D



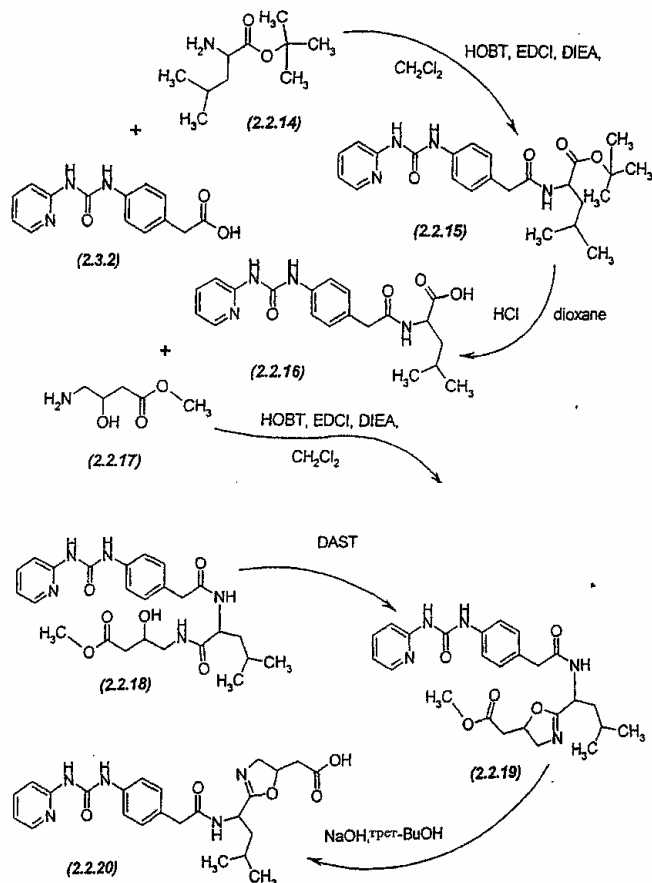
Зрештою, бажану кислоту (2.1.20) одержують із складного ефіру (2.1.19) у присутності водної основи, як показано далі на Стадії Е, подібно до реакції на Схемі синтезу 1, Стадія С.

Схема синтезу IV - Стадія Е



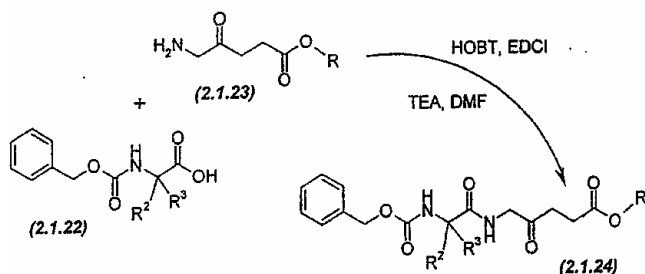
Вищеописані методики синтезу широко застосовуються до сполук формули (1.0.0). Для більш детального пояснення синтезу далі наводиться Схема синтезу IV, Стадії А - Е відносно конкретної сполуки згідно з даним винаходом:

Схема синтезу IV - α



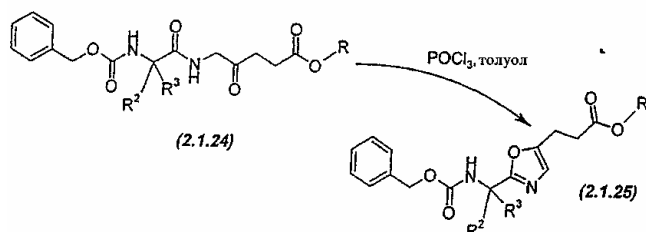
Сполуки формули (1.0.0), в яких В компонент є частиною формули (1.1.2), тобто оксазольною групою, можуть бути одержані з допомогою способу, узагальнено представленого на наведеній далі схемі синтезу:

Схема синтезу V - Стадія А



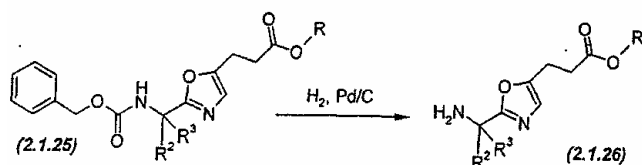
Проміжну сполуку, кислоту (2.1.22), конденсують з аміном (2.1.23) з одержанням аміду (2.1.24), як показано на Стадії А, подібно до реакції на Схемі синтезу I, Стадія В. Проміжну сполуку, амід (2.1.24), циклізують до оксазолу (2.1.25) у присутності оксихлориду фосфору у розчиннику, такому як толуол при температурі від кімнатної до 110°C , як показано далі на Стадії В (J. Org. Chem. 55, р. 386, 1990).

Схема синтезу V - Стадія В



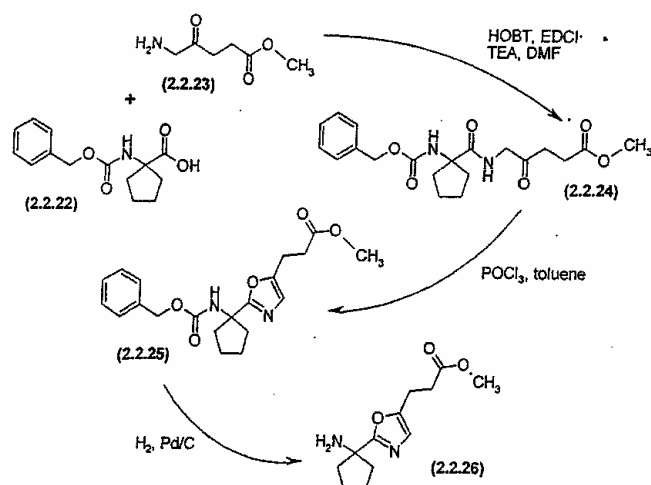
Бензилкарбамат (2.1.25) перетворюють у первинний амін (2.1.26) з допомогою одного з наступних реагентів з використанням опублікованих в літературі методик: $\text{H}_2/\text{Pd-C}$ (Ber., 65, р. 1192, 1932), HBr , AcOH (J. Org. Chem., 17, р. 1564, 1952), 70% HF , піридин (J. Chem. Soc, Chem. Commun., р. 451, 1976) або $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$ (J. Chem. Soc, Chem. Commun. р. 107, 1974). Амін, проміжна сполука (2.1.26), перетворюють у сполуки формули (1.0.0) з допомогою реакцій, аналогічних тим, що показані на Схемі синтезу I, Стадії В і С

Схема синтезу V - Стадія С



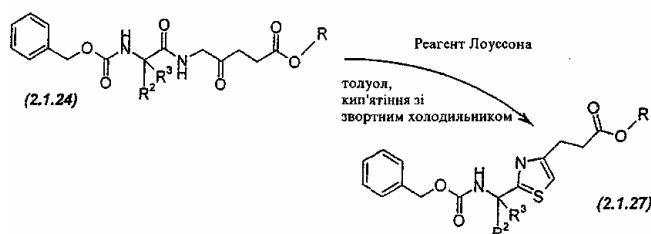
Вищеописані методики синтезу широко застосовуються до сполук формули (1.0.0). Для більш детального пояснення синтезу далі наводиться Схема синтезу V, Стадії А - С щодо конкретної проміжної сполуки згідно з даним винаходом:

Схема синтезу V - α



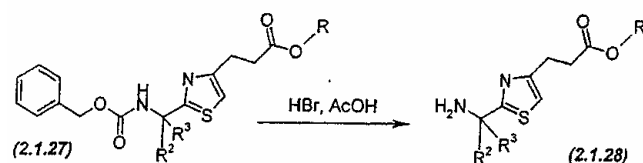
Сполуки формули (1.0.0), в яких В компонент є частиною формули (1.1.2), тобто тіазольною групою, може бути одержаний з допомогою способу, узагальнено представленого на наведений далі схемі синтезу:

Схема синтезу VI - Стадія А



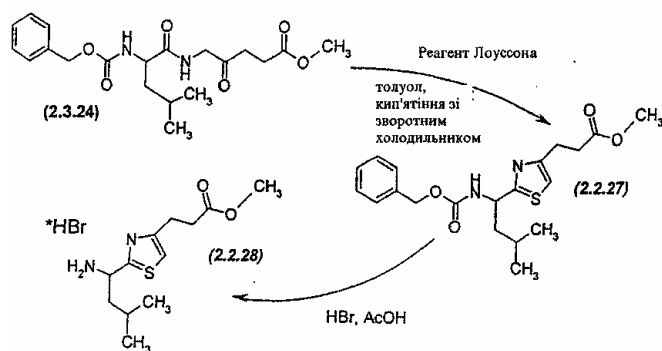
Проміжну сполуку, амід (2.1.24), циклізують до тіазолу (2.1.27) з використанням описаних у літературі умов для Реагента Лоусона [2,4-біс(4-метоксифеніл)-1,3-дитіа-2,4-дифосфенат-2,4-дисульфід] у розчиннику, такому як толуол при температурі від кімнатної до 110°C, як показано на Стадії А. Бензилкарбамат (2.1.27) перетворюють у первинний амін (2.1.28), як показано на Стадії В, з допомогою одного з наступних реагентів з використанням опублікованих в літературі методик: H₂/Pd-C (Ber., 65, p. 1192, 1932), HBr, AcOH (J. Org. Chem., 17, p. 1564, 1952), 70% HF, піридин (J. Chem. Soc. Chem. Commun., p. 451, 1976) або CF₃SO₃H (J. Chem. Soc. Chem. Commun., p. 107, 1974). Амін, проміжна сполука (2.1.28), перетворюють у сполуки формули (1.0.0) з допомогою реакцій, аналогічних тим, що показані на Схемі синтезу I, Стадії В і С

Схема синтезу VI - Стадія В



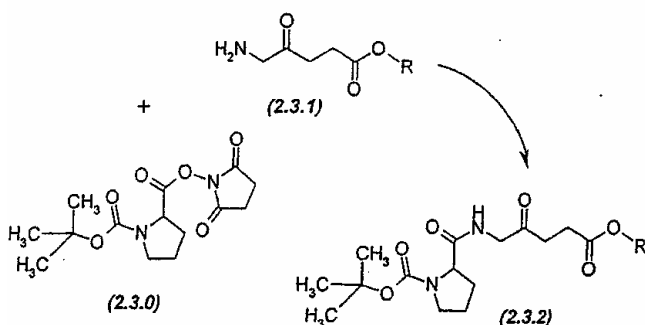
Вищеописані методики синтезу широко застосовуються до сполук формули (1.0.0). Для більш детального пояснення синтезу далі наводиться Схема синтезу VI, Стадії А і В, щодо конкретної проміжної сполуки згідно з даним винаходом:

Схема синтезу VI - α



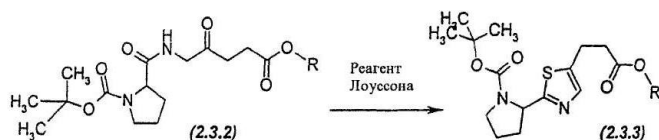
Сполуки формули (1.0.0), в яких В компонент є частиною формули (1.3.0), наприклад, піролідин-2-іл-тіазол-5-ільна група, може бути одержаний з допомогою способу, узагальнено представленого на наведеній далі схемі синтезу:

Схема синтезу VII - Стадія А



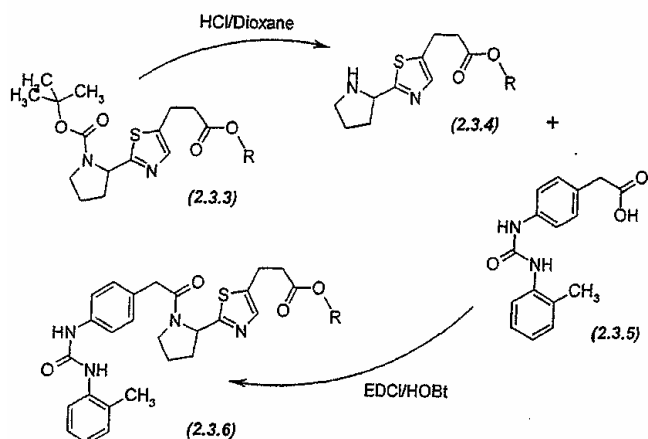
Піролідин дикарбонову кислоту (2.3.0) як складний діефір із захисною групою конденсують з аміном (2.3.1) з одержанням аміду (2.3.2) в умовах реакції, аналогічних умовам, описаним вище на схемі синтезу I, Стадія В. Після цього амід (2.3.2) циклізують до триазолу (2.3.3) з використанням Реагента Лоуссона у відомих у цій галузі умовах, які детально описуються далі. Ця реакція проілюстрована наведеною далі Схемою синтезу VII, Стадія В:

Схема синтезу VII - Стадія В



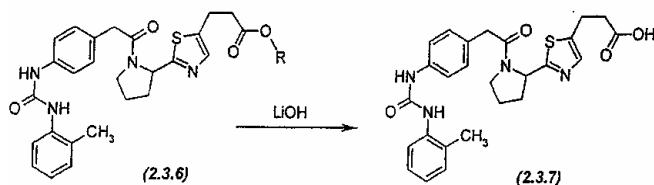
Триазол (2.3.3), одержаний описаним вище способом тепер містить піролідин-2-іл-тіазол-5-ільний компонент, який є основною частиною сполук формули (1.0.0), в яких В компонент є частиною формули (1.3.0). Решту компонентів сполуки формули (1.0.0) одержують на наступних Стадіях, проілюстрованих нижче. З атома азоту піролідинільної групи знімають захист з утворенням піролідинілтїазолу (2.3.4), після чого (2.3.4) конденсують з о-толіл-уреїдофенілоцтовою кислотою, реагент (2.3.5), завдяки чому одержують ліву частину сполуки згідно з даною винаходом. Таким чином утворюється складний "R" ефір сполуки формули (1.0.0), (2.3.6), як показано на наведеній далі Схемі синтезу VII, Стадія С:

Схема синтезу VII - Стадія С



На останній стадії складний ефір (2.3.6) відновлюють з одержанням відповідної карбонової кислоти (2.3.7) відповідно до відомих методик. Ця стадія показана на наведеній далі Схемі синтезу VII, Стадія D:

Схема синтезу VII - Стадія D



ПРИКЛАДИ КРАЩИХ ВАРІАНТІВ РЕАЛІЗАЦІЇ ВИНАХОДУ

Наведені далі приклади ілюструють сполуки, композиції і способи лікування згідно з даним винаходом, але не повинні обмежувати об'єм правової охорони даного винаходу. У наведених прикладах використовується цілий ряд скорочень з метою економії місця. Незважаючи на те, що такі скорочення добре відомі фахівцям, вони наводяться нижче для розуміння опису та зручності читача:

BOP бензотриазол-1-ілокси-трис(диметиламіно) фосфоній гексафторфосфат

DAST діетиламіносірка трифторид

DIEA діізопропілетил амін

DMF диметилформамід

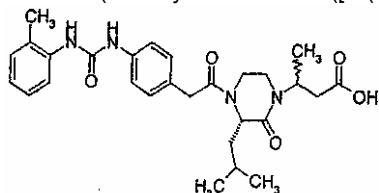
EDCI 1-(3-диметиламінопропіл)-3-етилкарбодіімідгідрохлорид

HOBT 1-гідроксибензотриазол

THF тетрагідрофуран

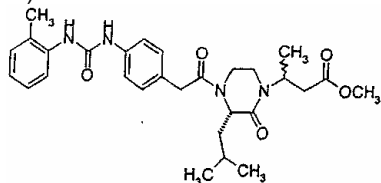
ПРИКЛАД 1

A. 3-(3-ізобутил-2-оксо-4-([4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетил)-піперазин-1-іл)-масляна кислота



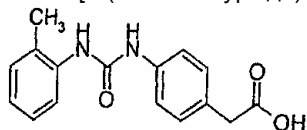
Розчин складного метилового ефіру 3-(3-ізобутил-2-оксо-4-([4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетил)-піперазин-1-іл)-масляної кислоти (20мг, 0,038ммоль) у суміші 1мл 0,1 N NaOH і 1мл трет.-бутанолу перемішували протягом 16 годин при кімнатній температурі. Реакційну суміш після цього концентрували при зниженому тиску, розчиняли у воді (5мл) і екстрагували ефіром (5мл x 2). Водну частину після цього підкислювали до pH<3 з допомогою 1N HCl і екстрагували етилацетатом. Об'єднані органічні фази промивали сольовим розчином, сушили над Na₂SO₄, фільтрували і концентрували при зниженому тиску з одержанням 16мг вказаної у заголовку сполуки у вигляді жовтого липкого масла. МАС-СПЕКТР (M+1)⁺ 509,3, ¹H ЯМР (400МГц, CD₃OD) δ 0,88-1,70 (m, 12H), 2,25 (s, 3H), 2,34-4,96 (m, 10H), 6,98 (t, J=7,4Hz, 1H), 7,11-7,40 (m, 6H), 7,59 (d, J=7,5Hz, 1H).

В. Складний метиловий ефір 3-(3-ізобутил-2-оксо-4-([4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетил)-піперазин-1-іл)-масляної кислоти



До перемішаної суміші [4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-оцтової кислоти (55мг, 0,19ммоль), діізопропілетиламіну (0,17мл), BOP (86мг, 0,19ммоль) в DMF (1мл) додавали складний метиловий ефір 3-(3-ізобутил-2-оксо-піперазин-1-іл)-масляної кислоти (50мг, 0,19ммоль). Після перемішування протягом 16 годин при кімнатній температурі розчин розводили водою і екстрагували в етилацетат. Об'єднані органічні фази промивали 5% лимонною кислотою, насиченим NaHCO₃ і сольовим розчином, сушили над MgSO₄, фільтрували, і концентрували при зниженому тиску. В результаті хроматографії на силікагелі з використанням в якості елюента 2% MeOH/CH₂Cl₂ одержували 20мг вказаної у заголовку сполуки у вигляді жовтої аморфної твердої речовини. МАС-СПЕКТР [M+1]⁺+523,3.

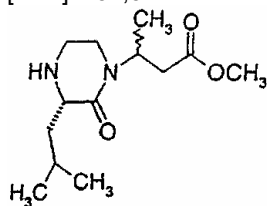
С. [4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-оцтова кислота



До перемішаної суміші 4-амінофенілоцтової кислоти (15,0г) і о-толілізоціанату (10,2мл) в CH₂Cl₂ (200мл) додавали триетиламін (13,8мл). Через 1 годину одержаний гомогенний розчин концентрували при зниженому тиску, розчиняли у воді (100мл) і підкислювали до pH 2 з допомогою 1N HCl. Не зовсім білий осад фільтрували, суспендували в THF (200мл) і додавали 10мл концентрованої HCl. Одержаний гомогенний розчин концентрували при зниженому тиску і перекристалізовували з EtOAc (800мл) з одержанням 22г вказаної у заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини. Т. ПЛ. 221-2°C, МАС-СПЕКТР [M+1]⁺+285,2, Аналіз: розраховано для C₁₆H₁₆N₂O³: C (67,59), H (5,67), N (9,85). Одержано: C

(67,22), Н (5,78), N (9,69).

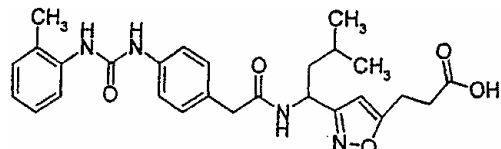
D. Складний метиловий ефір -(3-ізобутил-2-оксо-піперазин-1-іл)-масляної кислоти: МАС-СПЕКТР [M+1]+257,3.



Вказана у заголовку сполука може бути одержана фахівцями з використанням одного з наведених посилань на спеціальну літературу: (a) Bhatt, U., Mohamed, N., Just, G. Tempahedron Lett. 1997, 38(21), 3679-82, або (b) Suginara, H. et al. J. Med. Chem. 1998, 41, 489-502.

ПРИКЛАД 2

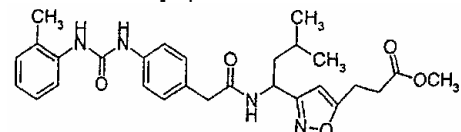
A. 3-[3-(3-Метил-1-(2-[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно)-бутил)-ізоксазол-5-іл]-пропіонова кислота



Суміш складного метилового ефіру 3-[3-(3-метил-1-(2-[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно)-бутил)-ізоксазол-5-іл]-пропіонової кислоти (17мг) в трет.-BuOH (1мл) і 0,1 N NaOH (1мл) перемішували при кімнатній температурі. Через 20 годин суміш концентрували при зниженому тиску, розчиняли у воді (5мл) і екстрагували з допомогою EtOAc (5мл x 3). Водний шар після цього підкислювали до рН 3 з допомогою 1N HCl і екстрагували з допомогою EtOAc. Об'єднані органічні фази промивали сольовим розчином, сушили над Na₂SO₄, фільтрували і концентрували при зниженому тиску з одержанням вказаної у заголовку сполуки у вигляді білої аморфної твердої речовини. Т. ПЛ. = ?, МАС-СПЕКТР [M+1]+493,2,

¹H ЯМР (400МГц, CD₃OD) δ 0,87 (d, 3H), 0,91 (d, 3H), 1,53-1,66 (m, 3H), 2,26 (s, 3H), 2,64 (t, J=7,4Hz, 2H), 2,97 (t, J=7,5Hz, 2H), 3,44 (s, 2H), 5,08 (m, 1H), 6,00 (s, 1H), 6,99 (t, 1H), 7,11-7,36 (m, 6H), 7,59 (d, J=7,9Hz, 1H),

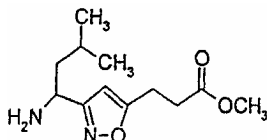
B. Складний метиловий ефір 3-[3-(3-Метил-1-(2-[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно)-бутил)-ізоксазол-5-іл]-пропіонової кислоти



До перемішуваного розчину [4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-оцтової кислоти (305мг, 1,07ммоль), DIEA (1,3мл), НОВТ (120мг, 0,89ммоль) і EDCI (170мг, 0,89ммоль) в CH₂Cl₂ (8мл) при кімнатній температурі додавали розчин гідроброміду складного метилового ефіру 3-[3-(1-аміно-3-метил-бутил)-ізоксазол-5-іл]-пропіонової кислоти (272мг, 0,85ммоль) в CH₂Cl₂ (12мл). Після перемішування протягом 16 годин при кімнатній температурі суміш розводили з допомогою CH₂Cl₂ (20мл) і виливали у воду. Шари were розділяли, і водний шар екстрагували з допомогою CH₂Cl₂ (20мл x 3). Об'єднані органічні фази сушили над MgSO₄, фільтрували, і концентрували при зниженому тиску. Залишок очищали флеш-хроматографії 40 на силікагелевій колонці, елюючи сумішшю 65% EtOAc/гексан, з одержанням 220мг вказаної у заголовку сполуки у вигляді білої аморфної твердої речовини. Т. ПЛ. 153-4°C, МАС-СПЕКТР [M+1]+507,2,

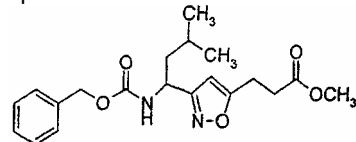
¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ 0,88 (d, J=6,4Hz, 6H), 1,53-1,66 (m, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,66 (t, J=7,6Hz, 2H), 3,00 (t, J=7,6Hz, 2H), 3,49 (s, 2H), 3,68 (s, 3H), 5,15 (dt, J=6,2 і 8,7Hz, 1H), 5,85 (s, 1H), 6,11 (d, J=8,5Hz, 1H), 6,65 (s, 1H), 7,00 (s, 1H), 7,05-7,24 (m, 7H), 7,53 (d, 1H), Аналіз: розраховано для C₂₈H₃₄N₄O₅: C (66,39), H (6,76), N (11,05), Одержано: C (66,29), H (7,11), N (11,11),

C. Гідробромід складного метилового ефіру -[3-(1-аміно-3-метил-бутил)-ізоксазол-5-іл]-пропіонової кислоти



Перемішувану суспензію складного метилового ефіру 3-[3-(1-бензилоксикарбоніламіно-3-метилбутил)-ізоксазол-5-іл]-пропіонової кислоти (320мг, 0,85ммоль) в 30% HBr/AcOH (3мл) поступово нагрівали до гомогенного стану. Через 4 години при кімнатній температурі концентрували оранжевий розчин з одержанням 275мг вказаної у заголовку сполуки у вигляді яскраов-оранжевої аморфної твердої речовини. МАС-СПЕКТР [M+1]+241,2

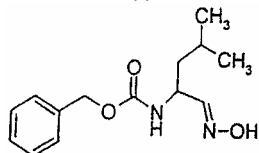
D. Складний метиловий ефір 3-[3-(1-бензилоксикарбоніламіно-3-метилбутил)-ізоксазол-5-іл]-пропіонової кислоти



До перемішуваного розчину складного бензилового ефіру [1-(гідроксиіміно-метил)-3-метил-бутил]-

карбамінової кислоти (6,0г, 22,7ммоль) і складного метилового ефіру пент-4-инової кислоти (3,8г, 34ммоль) в CH_2Cl_2 (80мл) додавали триетиламін (0,2мл) з наступним додаванням білил Clgoh (80мл). Через 4 години при кімнатній температурі органічну фазу відділяли і водну фазу екстрагували з допомогою CH_2Cl_2 (25мл x 3). Об'єднані органічні фази сушили над MgSO_4 , фільтрували і концентрували при зниженому тиску з одержанням жовтого масла. В результаті флеш-хроматографії 40 на силікагелевій колонці, елюючи сумішшю 10-20% EtOAc/гексан, одержували 2,5г вказаної у заголовку сполуки у вигляді воскоподібної блідо-жовтої твердої речовини. MAC-СПЕКТР $[M+1]+375,3$, ^1H ЯМР (400МГц, CDCl_3) δ 0,91 (m, 6H), 1,51-1,76 (m, 3H), 2,67 (t, $J=7,5\text{Hz}$, 2H), 3,02 (t, $J=7,5\text{Hz}$, 2H), 3,67 (s, 3H), 4,89 (m, 1H), 5,08 (m, 3H), 5,92 (s, 1H), 7,31 (m, 5H).

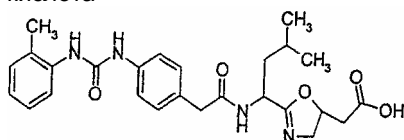
Е. Складний бензиловий ефір 1-(гідроксиіміно-метил)-3-метил-бутил]-карбамінової кислоти



Суміш складного бензилового ефіру (1-форміл-3-метил-бутил)-карбамінової кислоти (2,13г, 8,5ммоль), гідроксиамінгідрохлориду (0,71г, 10,2ммоль) і NaOAc (2г, 24,4 ммоль) в MeOH (20мл) і воді (20мл) інтенсивно перемішували. Через 24 години суміш розводили водою (60мл) і екстрагували з допомогою EtOAc (50мл x 3). Об'єднані органічні фази промивали водою і сольовим розчином, сушили над MgSO_4 , фільтрували і концентрували при зниженому тиску. В результаті флеш-хроматографії 40 на силікагелевій колонці, елюючи сумішшю 15-25% EtOAc/гексан, одержували 1,5г вказаної у заголовку сполуки у вигляді білої воскоподібної твердої речовини. MAC-СПЕКТР $[M+1]+265$

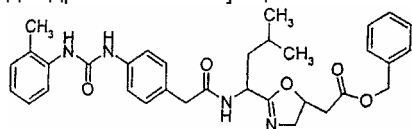
ПРИКЛАД 3

А. [2-(3-Метил-1-(2-[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно)-бутил)-4,5-дигідрооксазол-5-іл]-оцтова кислота



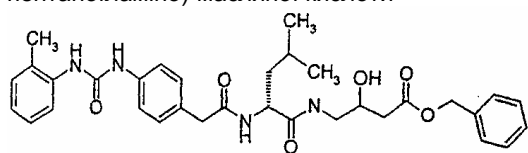
Суміш складного бензилового ефіру [2-(3-метил-1-(2-[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно)-бутил)-4,5-дигідрооксазол-5-іл]-оцтової кислоти (120мг) і гідроксид паладію (40мг) в 10мл THF і 10мл MeOH струшували на шейкері Рагг при 30псі H_2 протягом 2 годин. Суміш фільтрували через Целіт, і фільтрат концентрували при зниженому тиску. Залишок суспендували в EtOAc і концентрували при зниженому тиску. В результаті порошкування з гарячим EtOAc одержували 93мг вказаної у заголовку сполуки у вигляді світло-рожевої твердої речовини. MAC-СПЕКТР $[M+1]+481,3$, ^1H ЯМР (400МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 0,77-0,87 (m, 6H), 1,39-1,59 (m, 3H), 2,10-2,33 (m, 4H, включно з s при 2,21, 3H), 2,40-5,08 (m, 7H, включно з q при 3,36, $J=14,2\text{Hz}$, 2H), 6,90 (t, $J=7,4\text{Hz}$, 1H), 7,08-7,14 (m, 4H), 7,35 (d, $J=6,8\text{Hz}$, 2H), 7,79 (d, $J=8,1\text{Hz}$, 1H), 7,95-8,45 (m, 2H), 9,13-9,23 (m, 1H).

В. Складний бензиловий ефір [2-(3-метил-1-(2-[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно)-бутил)-4,5-дигідрооксазол-5-іл]-оцтової кислоти



До перемішуваної суспензії складного бензилового ефіру 3-гідрокси-4-(4-метил-2-[2-[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно]-пентаноїламіно)-масляної кислоти (0,73г) в CH_2Cl_2 (100мл) і THF (100мл) при кімнатній температурі додавали DAST (0,245мл). Через 2 години додатково додавали 0,245мл DAST. Через 2 години одержаний гомогенний розчин розводили CH_2Cl_2 (600мл), промивали з допомогою 100мл насиченого NaHCO_3 , сушили над MgSO_4 , фільтрували і концентрували при зниженому тиску. В результаті очищення флеш-хроматографією на колонці із силікагелем, елюючи сумішшю 5% MeOH/ CH_2Cl_2 , одержували тверду речовину, яку перекристалізовували з EtOAc з одержанням 0,255г вказаної у заголовку сполуки у вигляді світло-жовтої твердої речовини. MAC-СПЕКТР $[M+1]+571,2$, ^1H ЯМР (400МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 0,73-0,81 (m, 6H), 1,42-1,51 (m, 3H), 2,18 (s, 3H), 2,59-2,70 (m, 2H), 3,26-3,42 (m, 3H), 3,81 (m, 1H), 4,44 (m, 1H), 4,85 (m, 1H), 5,08 (s, 2H), 6,88 (t, 1H), 7,06-7,13 (m, 4H), 7,27-7,33 (m, 6H), 7,79 (d, 1H), 7,83 (z, 1H), 8,27-8,30 (m, 1H), 8,91 (s, 1H).

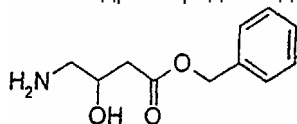
С. Складний бензиловий ефір 3-гідрокси-4-(4-метил-2-[2-[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно]-пентаноїламіно)-масляної кислоти



До перемішуваного розчину 4-метил-2-[2-[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно]-пентанової кислоти (3,6г), гідрохлориду складного бензилового ефіру 4-аміно-3-гідрокси-масляної кислоти (1,6г), триетиламіні (1мл) і НОВТ (1,06г) в DMF (50мл) при кімнатній температурі додавали EDCI (1,63г). Після перемішування протягом 16 годин суміш виливали в 1500мл крижаної води і перемішували протягом 20 хвилин. Одержаний осад фільтрували і сушили з одержанням твердої речовини кремового кольору. В результаті перекристалізації з EtOAc одержували 2,1г вказаної у заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини. MAC-СПЕКТР $[M+1]+589,2$, ^1H ЯМР (400МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 0,73-0,81 (m, 6H), 1,37-1,49 (m, 3H), 2,19 (s, 3H),

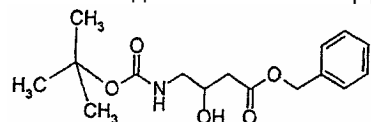
2,20-2,28 (m, 1H), 2,46-2,49 (m, 1H), 2,99-3,09 (m, 2H), 3,33 (q, J=13,8Hz, 2H), 3,90 (m, 1H), 4,19-4,23 (m, 1H), 5,05 (s, 2H), 6,88 (t, 1H), 7,06-7,12 (m, 4H), 7,26-7,34 (m, 6H), 7,75 (d, J=8,1Hz, 1H), 7,92 (dt, 1H), 8,06 (s, 1H), 8,10 (d, J=8,1Hz, 1H), 9,13 (s, 1H).

D. Гідрохлорид складного бензильового ефіру аміно-3-гідрокси-масляної кислоти



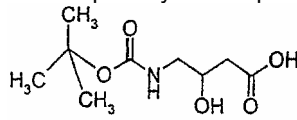
Суміш складного бензильового ефіру 4-трет.-бутоксикарбоніламіно-3-гідрокси-масляної кислоти (2,1г) у суміші 4N HCl/діоксан перемішували при кімнатній температурі протягом 1 години. Суміш концентрували при зниженому тиску з одержанням 1,6г вказаної у заголовку сполуки у вигляді білої аморфної твердої речовини. МАС-СПЕКТР [M+1]+210,1, ¹H ЯМР (400МГц, DMSO-d₆) δ 2,44-2,50 (m, 1H), 2,61-2,74 (m, 2H), 2,88 (dd, 1H), 4,11 (m, 1H), 5,09 (s, 2H), 5,59 (d, J=5,6Hz, 1H), 7,35 (m, 5H), 8,01 (broad s, 3H).

E. складний бензильовий ефір трет.-бутоксикарбоніламіно-3-гідрокси-масляної кислоти



До перемішаного розчину 4-трет.-бутоксикарбоніламіно-3-гідрокси-масляної кислоти (2,0г) в сухому DMF (30мл) при кімнатній температурі додавали K₂CO₃ (2,8г). Через 15 хвилин додавали бензилбромід (1,7г). Через 16 годин суміш виливали в 200мл води і екстрагували в EtOAc (200мл x 2). Об'єднані органічні фази промивали з допомогою 1N NaOH (40мл), води (40мл x 2), сольового розчину (40мл), сушили над MgSO₄, фільтрували і концентрували при зниженому тиску з одержанням масла. В результаті флеш-хроматографії 40 на силікагелевій колонці, елюючи сумішшю 30% EtOAc/гексан, одержували 2,1г вказаної у заголовку сполуки у вигляді безбарвного масла. ¹H ЯМР (400МГц, CDCl₃) δ 1,43 (s, 9H), 2,53 (m, 2H), 3,07-3,14 (m, 1H), 3,30-3,34 (m, 1H), 4,09-4,13 (m, 1H), 4,95 (broad s, 1H), 5,14 (s, 2H), 7,34 (m, 5H).

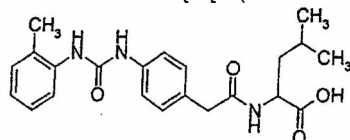
F. трет.-Бутоксикарбоніламіно-3-гідрокси-масляна кислота



Суміш 4-аміно-3-гідрокси-масляної кислоти (2,9г), 1N NaOH (72мл) і ди-трет.-бутилдикарбонату (6,6г) в діоксані (72мл) перемішували при кімнатній температурі. Через 16 годин суміш виливали в 200мл води і екстрагували з допомогою EtOAc (200мл x 2). Водний шар підкислювали до pH 4 з допомогою 3N HCl і екстрагували з допомогою CH₂Cl₂ (200мл x 2). Об'єднані органічні фази промивали водою (40мл), сушили над MgSO₄, фільтрували і концентрували при зниженому тиску з одержанням 2,05г вказаної у заголовку сполуки у вигляді безбарвного масла.

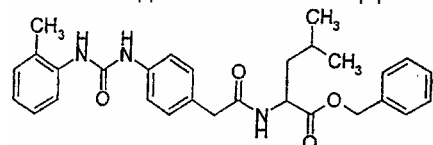
МАС-СПЕКТР (M-1) 218,2; ¹H ЯМР (400МГц, DMSO-d₆) δ 1,33 (s, 9H), 2,07 (dd, 1H), 2,30 (dd, J=4,1 і 15,3Hz, 1H), 2,87 (t, J=5,9Hz, 2H), 3,79 (m, 1H), 6,70 (broad t, 1H).

G. Метил-2-{2-[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-пентанова кислота



Суміш складного бензильового ефіру 4-метил-2-{2-[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-пентанової кислоти (4,0г) і гідроксиду паладію на вугіллі (1,0г) в 200мл MeOH і 200мл THF струшували на шейкері Рагг при 30псі атмосфери H₂. Через 2 години суміш фільтрували через Целіт, і фільтрат концентрували при зниженому тиску з одержанням 3,6г вказаної у заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини. МАС-СПЕКТР [M+1]+398,3, ¹H ЯМР (400МГц, DMSO-d₆) δ 0,79 (d, J=6,4Hz, 3H), 0,86 (d, J=6,4Hz, 3H), 1,44-1,63 (m, 3H), 2,21 (s, 3H), 3,36-3,40 (m, 2H), 4,15-4,20 (m, 1H), 6,91 (t, 1H), 7,09-7,14 (m, 4H), 7,33 (d, 2H), 7,81 (d, 1H), 7,89 (s, 1H), 8,26 (d, 1H), 8,97 (s, 1H).

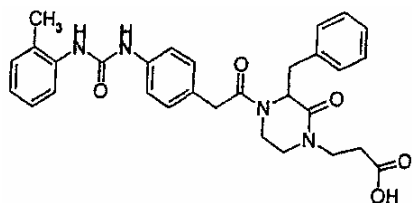
H. Складний бензильовий ефір метил-2-{2-[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-пентанової кислоти



До перемішаного розчину (4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл)-оцтової кислоти (3,0г), складного бензильового ефіру L-лейцину (4,2г), триетиламіну (1,6мл) і НОБТ (1,6г) в сухому DMF (50мл) при кімнатній температурі додавали EDCI (2,4г). Через 16 годин суміш виливали у воду (400мл) і екстрагували з допомогою EtOAc (400мл x 2). Об'єднані органічні фази промивали 5% лимонною кислотою (100мл), насиченим NaHCO₃ (100мл), водою (100мл), сольовим розчином (100мл), сушили над MgSO₄ фільтрували і концентрували при зниженому тиску до досягнення об'єму приблизно 100мл. Одержану суспензію фільтрували з одержанням 4,0г вказаної у заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини. МАС-СПЕКТР (M+1)+488,2, ¹H ЯМР (400МГц, DMSO-d₆) δ 0,79 (d, J=6,4Hz, 3H), 0,86 (d, J=6,4Hz, 3H), 1,45-1,63 (m, 3H), 2,21 (s, 3H), 3,37 (s, 2H), 4,26-4,31 (m, 1H), 5,07 (s, 2H), 6,91 (t, 1H), 7,09-7,15 (m, 4H), 7,29-7,37 (m, 7H), 7,81 (d, 1H), 7,86 (s, 1H), 8,44 (d, 1H), 8,93 (s, 1H).

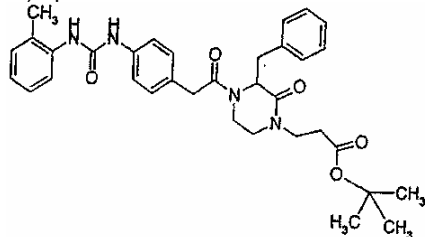
ПРИКЛАД 4

A. (3-Бензил-2-оксо-4-([4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетил)-піперазин-1-іл)-пропіонова кислота



Розчин складного трет.-бутилового ефіру 3-(3-бензил-2-оксо-4-[[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетил]-піперазин-1-іл)-пропіонової кислоти (0,7г) в 10мл суміші 4N HCl/діоксан перемішували при кімнатній температурі. Через 2 години розчин концентрували при зниженому тиску, і залишок розчиняли в 1N NaOH (50мл) і екстрагували з допомогою EtOAc (20мл x 2). Водну фазу підкислювали до pH 2 з використанням 6N HCl і екстрагували з допомогою EtOAc (20мл x 3). Об'єднані органічні фази промивали сольовим розчином, сушили над Na₂SO₄, фільтрували і концентрували при зниженому тиску з одержанням 0,54г вказаної у заголовку сполуки у вигляді білої аморфної твердої речовини. Т. ПЛ. = 103-5°C, МАС-СПЕКТР (М-1) 527.

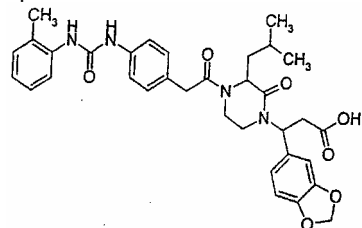
В. Складний трет.-бутиловий ефір 3-Бензил-2-оксо-4-[[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетил]-піперазин-1-іл)-пропіонової кислоти



Вказану у заголовку сполуку (тверда біла аморфна речовина, МАС-СПЕКТР (М-1) 583,4) одержували аналогічно до способу, описаного у Прикладі 1В, з використанням складного трет.-бутилового ефіру 3-(3-бензил-2-оксо-піперазин-1-іл)-пропіонової кислоти в якості амінового реагента, який може бути одержаний фахівцем з використанням методики, описаної у Прикладі 1D.

ПРИКЛАД 5

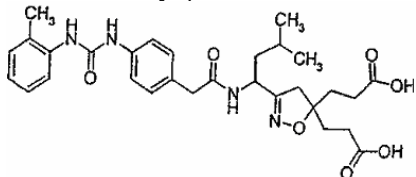
3-Бензо[1,3]діоксол-5-іл-3-(3-ізобутил-2-оксо-4-[[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетил]-піперазин-1-іл)-пропіонова кислота



Вказану у заголовку сполуку (біла аморфна тверда речовина, МАС-СПЕКТР [М+1]+615) одержували аналогічно до способу, описаного у Прикладі 4, з використанням складного трет.-бутилового ефіру 3-бензо[1,3]діоксол-5-іл-3-(3-ізобутил-2-оксо-піперазин-1-іл)-пропіонової кислоти в якості амінового реагента у частині В, який може бути одержаний фахівцем з використанням методики, описаної у Прикладі 1D.

ПРИКЛАД 6

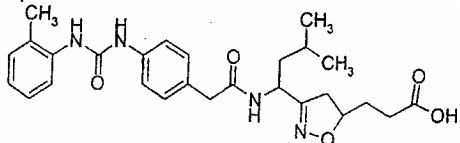
3-[5-(2-Карбоксиетил)-3-(3-метил-1-(2-[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно)-бутил)-4,5-дигідро-ізоксазол-5-іл]-пропіонова кислота



Вказану у заголовку сполуку [М+1]⁺ одержували аналогічно до способу, описаного у Прикладі 2, з використанням складного бензилового ефіру [1-(гідроксиіміно-метил)-3-метил-бутил]-карбамінової кислоти і складного діетилового ефіру 4-метил-гептандіоїлової кислоти в якості вихідних матеріалів у частині D. Біла аморфна тверда речовина, Т. ПЛ. 173-5°C, МАС-СПЕКТР [М+1]⁺ 567,2, Аналіз: розраховано для C₃₀H₃₈N₄O₇: С (63,59), Н (6,76), N (9,88). Одержано: С (63,07), Н (7,21), N (9,70).

ПРИКЛАД 7

3-[3-(3-Метил-1-(2-[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно)-бутил)-4,5-дигідро-ізоксазол-5-іл]-пропіонова кислота

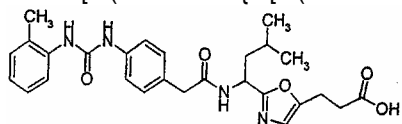


Вказану у заголовку сполуку одержували аналогічно до способу, описаного у Прикладі 2, з використанням складного бензилового ефіру [1-(гідроксиіміно-метил)-3-метил-бутил]-карбамінової кислоти і метил 4-пентеноату в якості вихідних матеріалів у частині D. Світло-бурштинова тверда речовина. ¹H ЯМР (400МГц, DMSO-d₆) δ 0,79 (d, J=6,0Hz, 3H), 0,84 (d, J=5,8Hz, 3H), 1,48-1,67 (m, 5H), 2,19-2,24 (m, 2H), 2,20 (s, 3H), 2,46-2,54 (m, 1H), 2,93 (dt, J=10,6 і 17,1Hz, 1H), 3,32 (s, 2H), 4,43 (m, 1H), 4,62 (m, 1H), 6,90 (t, J=7,5Hz,

1H), 7,08 - 7,13 (m, 4H), 7,33 (d, J=8,1Hz, 2H), 7,80 (d, J=8,3Hz, 1H), 7,85 (s, 1H), 8,22-8,25 (m, 1H), 8,93 (s, 1H), МАС-СПЕКТР (M+) 495,2.

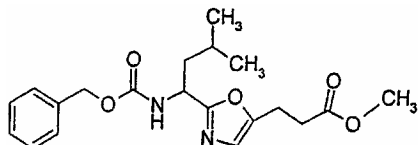
ПРИКЛАД 8

А. [2-(3-Метил-1-{2-[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-аїдетиламіно}-бутил)-оксазол-5-іл]-пропіонова кислота



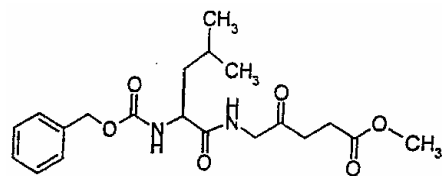
Вказану у заголовку сполуки одержували аналогічно до способу, описаного у Прикладі 2 А-С, з використанням складного метилового ефіру 3-[2-(1-бензилоксикарбоніламіно-3-метил-бутил)-оксазол-5-іл]-пропіонової кислоти в якості вихідного матеріалу. Біла тверда речовина, Т. пл. 168-170°C, ¹H ЯМР (400МГц, DMSO-d₆) δ 0,77 (d, J=6,4Hz, 3H), 0,83 (d, J=6,6Hz, 3H), 1,44-1,63 (m, 3H), 2,19 (s, 3H), 2,50 (t, J=7,4Hz, 2H), 2,79 (t, J=7,3Hz, 2H), 3,34 (d, 2H), 4,92 (q, J=8,0Hz, 1H), 6,72 (s, 1H), 6,89 (t, J=7,4Hz, 1H), 7,07-7,13 (m, 4H), 7,32 (d, J=8,5Hz, 2H), 7,79 (d, J=8,1Hz, 1H), 7,84 (s, 1H), 8,54 (d, J=8,3Hz, 1H), 8,91 (s, 1H), МАС-СПЕКТР (M+) 493,2.

В. Складний метиловий ефір [2-(1-Бензилоксикарбоніламіно-3-метил-бутил)-оксазол-5-іл]-пропіонової кислоти



Суміш складного метилового ефіру 5-(2-бензилоксикарбоніламіно-4-метил-пентаноїламіно)-4-оксопентанової кислоти (300мг) і POCl₃ (351мг) у толуолі (10мл) нагрівали зі зворотним холодильником протягом 3 годин. Після цього додавали додаткові 351мг POCl₃, і суміш нагрівали зі зворотним холодильником протягом додаткових 2 годин. Суміш охолоджували до кімнатної температури, виливали у водний бікарбонат і екстрагували з допомогою EtOAc (2x100мл). Об'єднані органічні фази промивали водою (20мл) і сольовим розчином (20мл), і сушили над MgSO₄. Одержану суміш фільтрували і концентрували при зниженому тиску з одержанням масла. В результаті очищення флеш-хроматографією на силікагелевій колонці, елюючи сумішшю 2,5% MeOH в CH₂Cl₂ одержували 100мг вказаної у заголовку сполуки у вигляді масла. МАС-СПЕКТР (M+) 375.

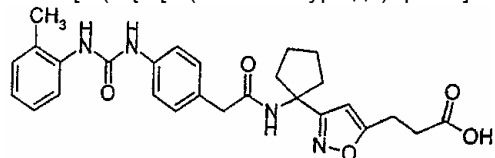
С Складний метиловий ефір 2-(Бензилоксикарбоніламіно-4-метил-пентаноїламіно)-4-оксо-пентанової кислоти



До перемішаного розчину 2-бензилоксикарбоніламіно-4-метил-пентанової кислоти (1,3г), гідрохлориду складного метилового ефіру 5-аміно-4-оксопентанової кислоти (0,90г) і НОВТ (0,67г) в DMF (15мл) при кімнатній температурі додавали TEA (0,7мл) з наступним додаванням EDCI (1,05г). Після перемішування протягом 16 годин суміш виливали у воду (100мл) і екстрагували з допомогою EtOAc (2x100мл). Об'єднані органічні фази промивали 5% лимонною кислотою (20мл), насиченим водним бікарбонатом (20мл) і водою (20мл), сушили над MgSO₄, фільтрували, і концентрували при зниженому тиску з одержанням масла. В результаті очищення флеш-хроматографією на силікагелевій колонці, елюючи сумішшю 2,5% MeOH/CH₂Cl₂ одержували 0,53г вказаної у заголовку сполуки у вигляді масла. МАС-СПЕКТР [M+1]+393.

ПРИКЛАД 9

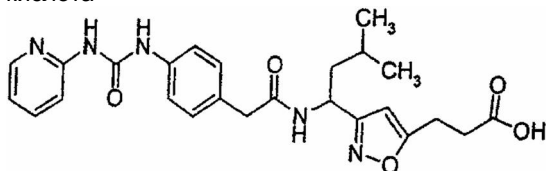
3-[3-(1-{2-[4-(3-о-Толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-циклопентил)-ізоксазол-5-іл]-пропіонова кислота



Вказану у заголовку сполуки одержували аналогічно до способу, описаного у Прикладі 2, з використанням складного бензилового ефіру [1-(гідроксиіміно-метил)-циклопентил]-карбамінової кислоти і метил пент-4-іноату в якості вихідних матеріалів у частині D. Біла тверда речовина, Т. пл. 195-7°C, МАС-СПЕКТР [M+1]+491,3, Аналіз: розраховано для C₂₇H₃₀N₄O₅: С (66,11), Н (6,16), N (11,42). Одержано: С (65,85), Н (6,22), N (11,24).

ПРИКЛАД 10

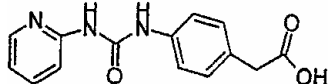
А. [3-(3-Метил-1-{2-[4-(3-піридин-2-іл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-бутил)-ізоксазол-5-іл]-пропіонова кислота



Вказану у заголовку сполуки одержували аналогічно до способу, описаного у Прикладі 2, з

використанням [4-(3-піридин-2-іл-уреїдо)-феніл]-оцтової кислоти у частині В. Біла тверда речовина, Т. ПЛ. 159-161°C, ^1H ЯМР (400МГц, CD_3OD) δ 0,87 (d, J=6,0Hz, 3H), 0,91 (d, J=6,2Hz, 3H), 1,56-1,73 (m, 3H), 2,64 (t, J=7,3Hz, 2H), 2,98 (t, J=7,3Hz, 2H), 3,47 (s, 2H), 5,06-5,10 (m, 1H), 6,01 (s, 1H), 6,96-6,99 (m, 1H), 7,14 (d, 1H), 7,22 (d, 2H), 7,45 (d, 2H), 7,67-7,72 (m, 1H), 8,25 (m, 1H), МАС-СПЕКТР $[\text{M}+1]^+$ 480,3.

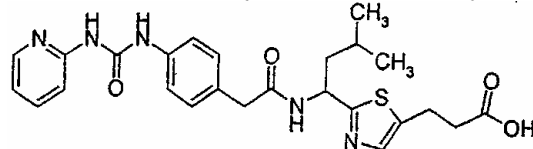
В. [4-(3-Піридин-2-іл-уреїдо)-феніл]-оцтова кислота



Вказану у заголовку сполуку одержували аналогічно до способу, описаного у Прикладі 1С, з використанням 2-піридилізоціанату і 4-амінофенілоцтової кислоти в якості вихідних матеріалів. МАС-СПЕКТР $[\text{M}+1]^+$ 272,2.

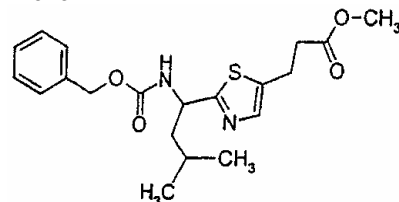
ПРИКЛАД 11

А. [2-(3-Метил-1-{2-[4-(3-піридин-2-іл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-бутил)-тіазол-5-іл]-пропіонова кислота



Вказану у заголовку сполуку одержували аналогічно до способу, описаного у Прикладі 2 А-С, з використанням [4-(3-піридин-2-іл-уреїдо)-феніл]-оцтової кислоти в 2В і складного метилового ефіру 3-[2-(1-бензилоксикарбоніламіно-3-метил-бутил)-тіазол-5-іл]-пропіонової кислоти в частині 2С. Не зовсім біла тверда речовина, Т. ПЛ. 173-5°C, ^1H ЯМР (400МГц, CD_3OD) δ 0,88 (d, J=6,6Hz, 3H), 0,92 (d, J=6,6Hz, 3H), 1,60-1,77 (m, 3H), 2,59 (t, J=7,3Hz, 2H), 3,05 (t, J=7,3Hz, 2H), 3,50 (s, 2H), 5,19 (q, 1H), 6,96-6,99 (m, 1H), 7,14 (d, 1H), 7,24 (d, 2H), 7,38 (s, 1H), 7,46 (d, 2H), 7,67-7,71 (m, 1H), 8,25 (d, 1H), 8,69 (d, 1H), МАС-СПЕКТР $[\text{M}+1]^+$ 496,2.

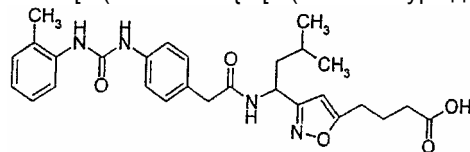
В. Складний метиловий ефір [2-(1-Бензилоксикарбоніламіно-3-метил-бутил)-тіазол-5-іл]-пропіонової кислоти



Суміш складного метилового ефіру 5-(2-бензилоксикарбоніламіно-4-метил-пентаноїламіно)-4-оксопентаної кислоти (0,96г) і Реагента Лоуссона [2,4-біс(4-метоксифеніл)-1,3-дитіа-2,4-дифосфенат-2,4-дисульфід] (2,4г) в 20мл безводного толуолу нагрівали зі зворотним холодильником. Через 5 годин суміш виливали у воду (200мл) і екстрагували з допомогою EtOAc (2x200мл). Об'єднані органічні фази промивали водою (40мл) і сольовий розчин (40мл) сушили над MgSO_4 , фільтрували і концентрували при зниженому тиску до масла. В результаті очищення флеш-хроматографією на силікагелевій колонці, елюючи сумішшю 2,5% $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ одержували 0,39г вказаної у заголовку сполуки у вигляді безбарвного масла. МАС-СПЕКТР $[\text{M}+1]^+$ 391.

ПРИКЛАД 12

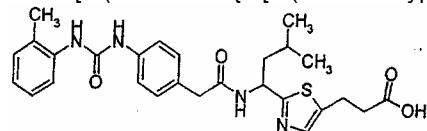
4-[3-(3-Метил-1-{2-[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-бутил)-ізоксазол-5-іл]-масляна кислота



Вказану у заголовку сполуку одержували аналогічно до способу, описаного у Прикладі 2, з використанням складного бензилового ефіру [1-(гідроксиімінометил)-3-метил-бутил]-карбамінової кислоти і метил гекс-5-іноату в якості вихідних матеріалів на Стадії D. Біла тверда речовина, ^1H ЯМР (400МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 0,81 (d, J=5,8Hz, 3H), 0,85 (d, J=5,8Hz, 3H), 1,50-1,82 (m, 5H), 2,21 (s, 3H), 2,25 (t, J=7,3Hz, 2H), 2,70 (t, J=7,5Hz, 2H), 3,35 (s, 2H), 4,92-4,98 (m, 1H), 6,10 (s, 1H), 6,91 (t, 1K), 7,09-7,15 (m, 4H), 7,34 (d, 2H), 7,81 (d, 1H), 7,86 (s, 1H), 8,43 (d, 1H), 8,94 (s, 1H), МАС-СПЕКТР $[\text{M}+1]^+$ 507,3.

ПРИКЛАД 13

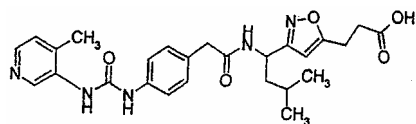
3-[2-(3-Метил-1-{2-[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-бутил)-тіазол-5-іл]-пропіонова кислота



Вказану у заголовку сполуку одержували аналогічно до способу, описаного у Прикладі 11 з використанням придатних вихідних матеріалів і реагентів. Біла тверда речовина, ^1H ЯМР (400МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 0,81 (d, J=6,4Hz, 3H), 0,87 (d, J=6,4Hz, 3H), 1,56-1,74 (m, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,53 (t, J=7,3Hz, 2H), 2,96 (t, J=7,3Hz, 2H), 3,36 (d, J=14Hz, 1H), 3,41 (d, J=14Hz, 1H), 5,03 (q, 1H), 6,91 (t, 1H), 7,09-7,15 (m, 4H), 7,35 (d, 2H), 7,39 (s, 1H), 7,81 (d, 1H), 7,87 (s, 1H), 8,69 (d, 1H), 8,95 (s, 1H), МАС-СПЕКТР $[\text{M}+1]^+$ 509,2.

ПРИКЛАД 14

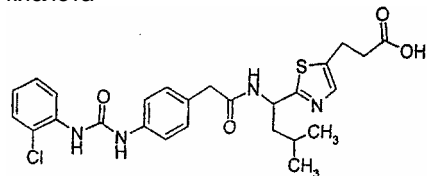
3-(3-[3-Метил-1-{2-[4-[3-(4-метилпіридин-3-іл)-уреїдо]-феніл]-ацетиламіно}-бутил]-ізоксазол-5-іл)-пропіонова кислота



Вказану у заголовку сполуку одержували аналогічно до способу, описаного у Прикладі 2, з використанням {4-[3-(4-метил-піридин-3-іл)-уреїдо]-феніл}-оцтової кислоти у частині В. Біла тверда речовина, МАС-СПЕКТР $[M-1]^+$ 492.

ПРИКЛАД 15

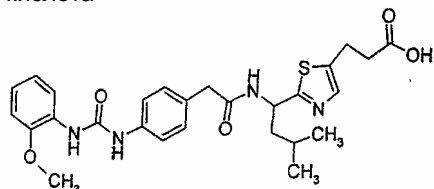
3-[2-[1-(2-{4-[3-(2-Хлор-феніл)-уреїдо]-феніл]-ацетиламіно)-3-метил-бутил]-тіазол-5-іл]-пропіонова кислота



Вказану у заголовку сполуку одержували аналогічно до способу, описаного у Прикладі 11, з використанням придатних вихідних матеріалів і реагентів. Біла тверда речовина, Т. ПЛ. 173-5°C, МАС-СПЕКТР $[M-1]^+$ 527, Аналіз: розраховано для $C_{26}H_{29}ClN_4O_4S$: С (59,03), Н (5,52), N (10,59). Одержано: С (58,89), Н (5,60), N (10,49).

ПРИКЛАД 16

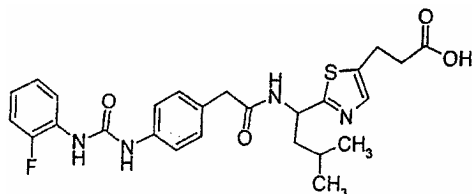
3-[2-[1-(2-{4-[3-(2-Метоксифеніл)-уреїдо]-феніл]-ацетиламіно)-3-метил-бутил]-тіазол-5-іл]-пропіонова кислота



Вказану у заголовку сполуку одержували аналогічно до способу, описаного у Прикладі 11, з використанням придатних вихідних матеріалів і реагентів. Біла тверда речовина, Т. ПЛ. 197-198°C, МАС-СПЕКТР $[M-1]^+$ 523, Аналіз: розраховано для $C_{27}H_{32}N_4O_5S$: С (62,90), Н (6,26), N (10,87). Одержано: С (62,09), Н (6,33), N (9,91).

ПРИКЛАД 17

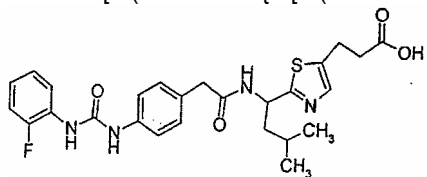
3-[2-[1-(2-{4-[3-(2-Фторфеніл)-уреїдо]-феніл]-ацетиламіно)-3-метил-бутил]-тіазол-5-іл]-пропіонова кислота



Вказану у заголовку сполуку одержували аналогічно до способу, описаного у Прикладі 11, з використанням придатних вихідних матеріалів і реагентів. Біла тверда речовина, Т. ПЛ. 83-85°C, МАС-СПЕКТР $[M-1]^+$ 511,1.

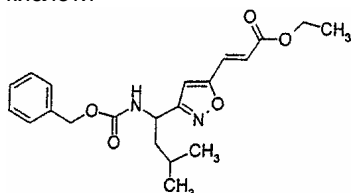
ПРИКЛАД 18

А. 3-[3-(3-Метил-1-[2-[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіної-бутил]-ізоксазол-5-іл]-акрилова кислота



Вказану у заголовку сполуку одержували аналогічно до способу, описаного у Прикладі 2, з використанням складного етилового ефіру 3-[3-(1-бензилоксикарбоніламіно-3-метил-бутил)-ізоксазол-5-іл]-акрилової кислоти в якості вихідного матеріалу у частині С Біла тверда речовина, Т. ПЛ. 136-8°C, МАС-СПЕКТР $[M-1]^+$ 489.

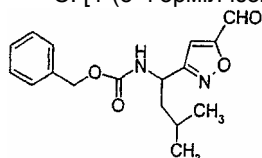
В. Складний етиловий ефір 3-[3-(1-Бензилоксикарбоніламіно-3-метил-бутил)-ізоксазол-5-іл]-акрилової кислоти



Перемішували суміш складного бензилового ефіру [1-(5-форміл-ізоксазол-3-іл)-3-метил-бутил]-карбамінової кислоти (407мг, 1,3ммоль), піридину (10мл) і етил водень малонату (255мг, 1,9ммоль) нагрівали до 55°C. Через 2 дні суміш охолоджували до кімнатної температури, виливали у воду і

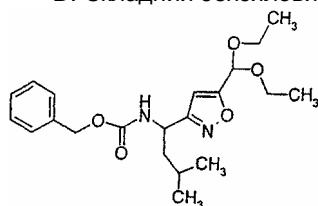
екстрагували в EtOAc (3х). Об'єднані органічні фази промивали з допомогою 1N HCl, води і сольового розчину, сушили над NaSO₄, фільтрували і концентрували при зниженому тиску з одержанням 480мг жовтого масла. В результаті очищення флеш хроматографією 40 (малий), елюючи сумішшю 1:3 EtOAc/гексан, одержували 220мг вказаної у заголовку сполуки у вигляді світло-жовтого масла. МАС-СПЕКТР [M+1]⁺ 387.

C. [1-(5-Форміл-ізоксазол-3-іл)-3-метил-бутил]-карбамінової кислоти складний бензиловий ефір



Перемішувану суміш складного бензинового ефіру [1-(5-діетоксиметил-ізоксазол-3-іл)-3-метил-бутил]-карбамінової кислоти (920мг, 2,4ммоль), ацетону (50мл) і Н₂SO₄ (10 крапель) нагрівали до кипіння зі зворотним холодильником. Через 35 хвилин суміш охолоджували до кімнатної температури, нейтралізували твердим NaHCO₃ і концентрували при зниженому тиску. Одержану пасту знімали в EtOAc, промивали водою і сольовим розчином, сушили над Na₂SO₄, фільтрували, і концентрували при зниженому тиску з одержанням світло-жовтого масла. В результаті очищення флеш хроматографією 40 (малий), елюючи сумішшю 1:3 EtOAc/гексан, одержували 407мг вказаної у заголовку сполуки у вигляді світло-жовтого масла. МАС-СПЕКТР [M+1]⁺ 317.

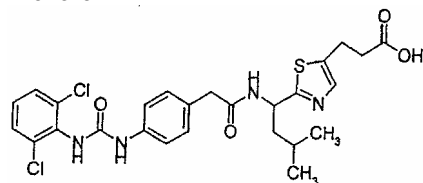
D. Складний бензиловий ефір [1-(5-Діетоксиметил-ізоксазол-3-іл)-3-метил-бутил]-карбамінової кислоти



Суміш складного бензинового ефіру [1-(гідроксиіміно-метил)-3-метил-бутил]-карбамінової кислоти (1,2г, 4,5ммоль), 3,3-діетоксипропіну (1,5г, 11,4ммоль), CH₂Cl₂ (40мл) і TEA (6 крапель) перемішували до гомогенного стану, після чого додавали відбілювач Clorox (20мл). Після інтенсивного перемішування протягом 12 годин шари розділяли, і водний шар екстрагували з допомогою CH₂Cl₂ (3х). Об'єднані органічні фази сушили над Na₂SO₄, фільтрували, і концентрували при зниженому тиску з одержанням жовтого масла. В результаті очищення флеш хроматографією 40 (малий), елюючи 10% EtOAc в гексані, одержували 920мг вказаної у заголовку сполуки у вигляді безбарвного масла. МАС-СПЕКТР [M+1]⁺ 391.

ПРИКЛАД 19

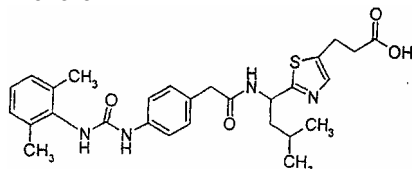
3-{2-[1-(2-{4-[3-(2,6-Дихлорфеніл)-уреїдо]-феніл)-ацетиламіно]-3-метил-бутил]-тіазол-5-іл]-пропіонова кислота



Вказану у заголовку сполуку одержували аналогічно до способу, описаного у Прикладі 11, з використанням придатних вихідних матеріалів і реагентів. Біла тверда речовина, Т. ПЛ. 148-50°C, МАС-СПЕКТР [M-1]⁺ 561.

ПРИКЛАД 20

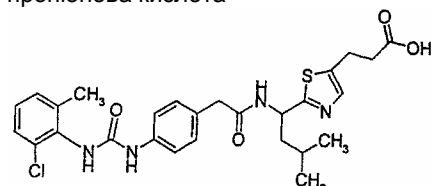
3-{2-[1-(2-{4-[3-(2,6-Диметилфеніл)-уреїдо]-феніл)-ацетиламіно]-3-метил-бутил]-тіазол-5-іл]-пропіонова кислота



Вказану у заголовку сполуку одержували аналогічно до способу, описаного у Прикладі 11, з використанням придатних вихідних матеріалів і реагентів. Біла тверда речовина, Т. ПЛ. 125-7X, МАС-СПЕКТР [M-1]⁺ 521.

ПРИКЛАД 21

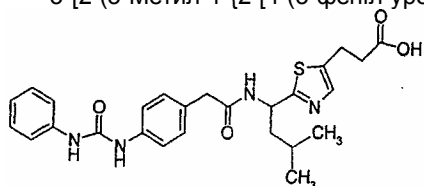
3-{2-[1-(2-{4-[3-(2-Хлор-6-метил-феніл)-уреїдо]-феніл)-ацетиламіно]-3-метил-бутил]-тіазол-5-іл]-пропіонова кислота



Вказану у заголовку сполуку одержували аналогічно до способу, описаного у Прикладі 11, з використанням придатних вихідних матеріалів і реагентів. Біла тверда речовина, Т. ПЛ. 160-2°C, МАС-СПЕКТР [M-1]⁺ 541.

ПРИКЛАД 22

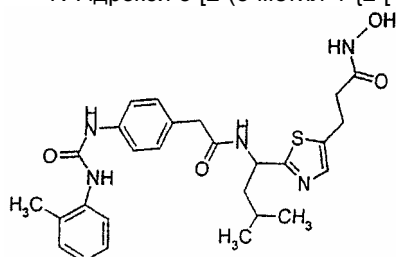
3-[2-(3-Метил-1-{2-[4-(3-феніл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-бутил)-тіазол-5-іл]-пропіонова кислота



Вказану у заголовку сполуки одержували аналогічно до способу, описаного у Прикладі 11, з використанням придатних вихідних матеріалів і реагентів. Біла тверда речовина, Т. ПЛ. 146-8°C, МАС-СПЕКТР $[M+1]^+$ 495,3.

ПРИКЛАД 23

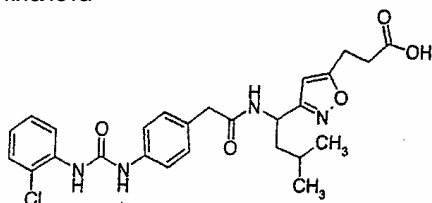
N-Гідрокси-3-[2-(3-метил-1-{2-[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-бутил)-тіазол-5-іл]-пропіонамід



Гідрохлорид гідроксиламіну (6,96г) суспендували в метанолі (35мл) і нагрівали до 90°C. Цей розчин додавали до гідроксиду калію (8,34г), розчиненого в метанолі (21мл). Після перемішування протягом 15 хвилин розчин фільтрували і додавали складний метиловий ефір 3-[2-(3-метил-1-{2-[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-бутил)-тіазол-5-іл]-пропіонової кислоти (0,80г, 1,53ммоль). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 15 хвилин, додавали 1N HCl (50мл), і метанол видаляли in vacuo. Залишок розділяли між етилацетатом і соляною кислотою (1N). Органічну частину сушили над сульфатом натрію, і розчинник видаляли in vacuo. Вказану у заголовку сполуку (0,175г, 17%) виділяли кристалізацією із суміші етилацетату і метанолу. МАС-СПЕКТР $[M+1]$ 524,1.

ПРИКЛАД 24

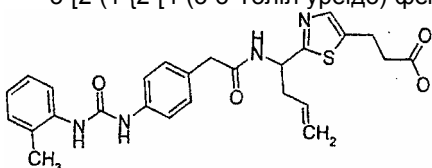
3-[3-[1-(2-[4-[3-(2-Хлор-феніл)-уреїдо]-феніл]-ацетиламіно)-3-метил-бутил]-ізоксазол-5-іл]-пропіонова кислота



Вказану у заголовку сполуки одержували аналогічно до способу, описаного у Прикладі 2, з використанням придатних вихідних матеріалів і реагентів. Біла тверда речовина, Т. ПЛ. 143-5°C, МАС-СПЕКТР $[M-1]^+$ 511,2.

ПРИКЛАД 25

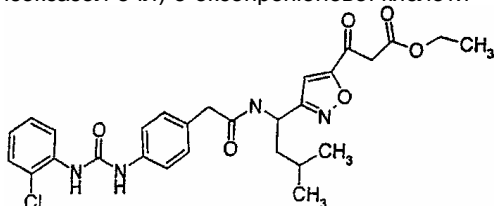
3-[2-(1-{2-[4-(3-о-Толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-бут-3-еніл)-тіазол-5-іл]-пропіонова кислота



Вказану у заголовку сполуку одержували аналогічно до способу, описаного у Прикладі 11, з використанням придатних вихідних матеріалів і реагентів. Біла аморфна тверда речовина, МАС-СПЕКТР $[M+1]^+$ 493.

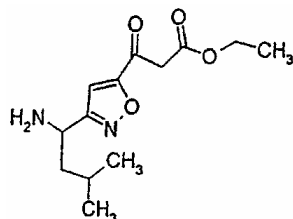
ПРИКЛАД 26

А. Складний етиловий ефір 3-[3-[1-(2-[4-[3-(2-Хлор-феніл)-уреїдо]-феніл]-ацетиламіно)-3-метил-бутил]-ізоксазол-5-іл]-3-оксопропіонової кислоти'



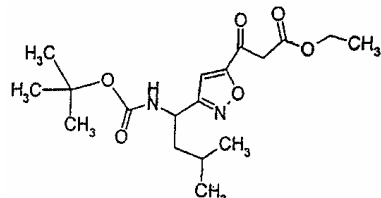
Вказану у заголовку сполуку одержували аналогічно до способу, описаного у Прикладі 2, з використанням гідрохлориду складного етилового ефіру 3-[3-(1-аміно-3-метил-бутил)-ізоксазол-5-іл]-3-оксопропіонової кислоти на Стадії В. Біла тверда речовина, Т. ПЛ. 150-2°C, МАС-СПЕКТР $(M+1)^+$ 555,5.

В. Гідрохлорид складного етилового ефіру 3-[3-(1-Аміно-3-метил-бутил)-ізоксазол-5-іл]-3-оксопропіонової кислоти



Розчин складного етилового ефіру 3-[3-(1-трет.-бутоксикарбоніламіно-3-метил-бутил)-ізоксазол-5-іл]-3-оксопропіонової кислоти (1,4г, 3,9ммоль) в 4М НСІ в діоксані (5мл) перемішували при кімнатній температурі. Через 3 години суміш концентрували при зниженому тиску з одержанням вказаної у заголовку сполуки у вигляді блідо-жовтої твердої речовини. МАС-СПЕКТР $[M+1]^+$ 269,0.

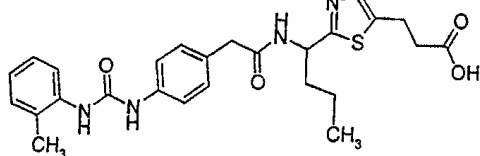
С Складний етиловий ефір 3-[3-(1-трет.-Бутоксикарбоніламіно-3-метил-бутил)-ізоксазол-5-іл]-3-оксопропіонової кислоти



Вказану у заголовку сполуку одержували з 3-(1-трет.-бутоксикарбоніламіно-3-метил-бутил)-ізоксазол-5-карбонової кислоти взаємодією з карбонілдіімідазолом та з наступною взаємодією з магнієвою сіллю моноетилмалонату, як описано в Angew. Chem. Int Ed. Eng., 18 (1979), p. 72.

ПРИКЛАД 27

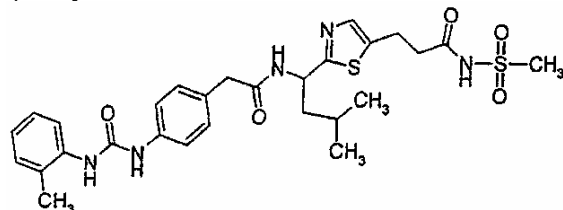
3-[2-(1-{2-[4-(3-о-Толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-бутил)-тіазол-5-іл]-пропіонова кислота



Вказану у заголовку сполуку одержували аналогічно до способу, описаного у Прикладі 11, з використанням придатних вихідних матеріалів і реагентів. Біла тверда речовина, МАС-СПЕКТР $[M-1]^+$ 493.

ПРИКЛАД 28

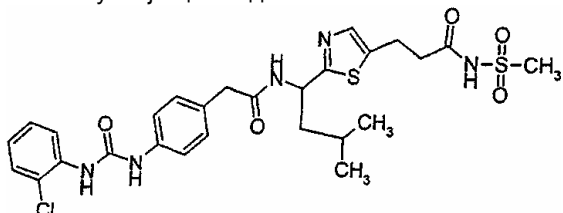
N-{1-[5-(3-Метансульфоніламіно-3-оксо-пропіл)-тіазол-2-іл]-3-метил-бутил}-2-[4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетамід



Суміш 3-[2-(3-метил-1-{2-[4-(3-толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно}-бутил)-тіазол-5-іл]-пропіонової кислоти (Приклад 13) (91мг, 0,2ммоль), DMF (5мл), EDCI (48мг, 0,2ммоль) і DMAP (26мг, 0,2ммоль) перемішували при кімнатній температурі. Через 10 хвилин додавали метансульфонамід (51мг, 0,5ммоль). Після перемішування протягом 16 годин розчин розводили EtOAc і промивали з допомогою 1N HCl (2x). Органічний шар сушили над Na_2SO_4 , фільтрували, і концентрували при зниженому тиску. Одержану тверду речовину очищали флеш-хроматографією 12, елюючи 10% AcOH в EtOAc, з одержанням 30мг вказаної у заголовку сполуки у вигляді білої аморфної твердої речовини. МАС-СПЕКТР $[M-1]^+$ 584.

ПРИКЛАД 29

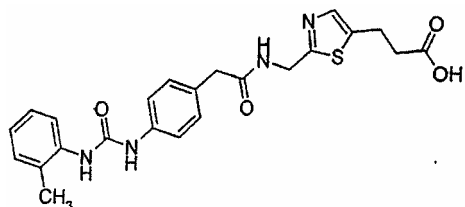
2-[4-[3-(2-Хлор-феніл)-уреїдо]-феніл]-N-{1-[5-(3-метансульфоніламіно-3-оксо-пропіл)-тіазол-2-іл]-3-метил-бутил}-ацетамід



Вказану у заголовку сполуку одержували аналогічно до Прикладу 28 з 3-[2-[1-(2-[4-[3-(2-хлор-феніл)-уреїдо]-феніл]-ацетиламіно)-3-метил-бутил]-тіазол-5-іл]-пропіонової кислоти. Безбарвне масло, МАС-СПЕКТР $[M+1]^+$ 607.

ПРИКЛАД 3

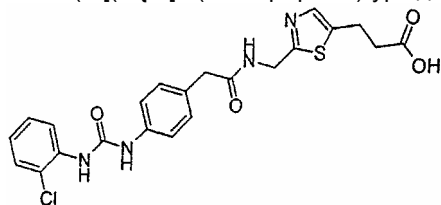
3-[2-((2-[4-(3-о-Толіл-уреїдо)-феніл]-ацетиламіно)-метил)-тіазол-5-іл]-пропіонова кислота



Вказану у заголовку сполуку одержували аналогічно до способу, описаного у Прикладі 11, з використанням придатних вихідних матеріалів і реагентів. Біла тверда речовина, МАС-СПЕКТР $[M+1]^+$ 453.

ПРИКЛАД 31

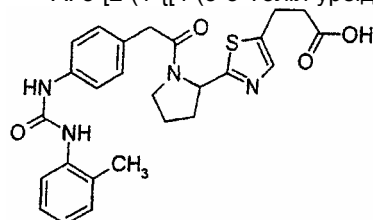
3-(2-((2-(4-(3-(2-Хлор-феніл)-уреїдо)-феніл)-ацетиламіно)-метил]-тіазол-5-іл)-пропіонова кислота



Вказану у заголовку сполуку одержували аналогічно до способу, описаного у Прикладі 11, з використанням придатних вихідних матеріалів і реагентів. Біла тверда речовина, МАС-СПЕКТР $[M+1]^+$ 473.

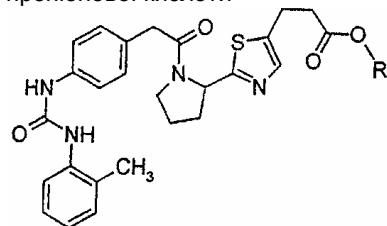
ПРИКЛАД 32

А. 3-[2-(1-[[4-(3-о-Толіл-уреїдо)-феніл]-ацетил]-піролідин-2-іл)-тіазол-5-іл]-пропіонова кислота



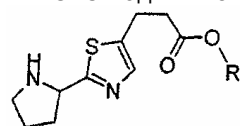
Розчин одержували із розчину складного метилового ефіру 3-[2-(1-[[4-(3-о-Толіл-уреїдо)-феніл]-ацетил]-піролідин-2-іл)-тіазол-5-іл]-пропіонової кислоти (0,33г, 0,65ммоль) в метанолі (4мл), тетрагідрофурані (8мл) і водному гідроксиді літію (2М, 4мл). Розчин перемішували протягом 4 годин і розділяли між водною соляною кислотою (1N, 30мл) і етилацетатом (100мл). Водну частину екстрагували етилацетатом (50мл). Об'єднані органічні частини екстрагували сольовим розчином (20мл), і розчинник видаляли in vacuo з одержанням вказаної у заголовку сполуки (0,3г, 94%). ^1H ЯМР (400МГц, CD_3OD): δ 7,60 (d, $J=7,3\text{Hz}$, 1H), 7,46 (s, 0,3H), 7,39 (d, $J=8,5\text{Hz}$, 2,7H), 7,29 (d, $J=8,5\text{Hz}$, 0,6), 7,18 (m, 3H), 6,99 (m, 1,4H), 5,40 (d, $J=7,0\text{Hz}$, 0,3H), 5,34 (d, $J=6,0\text{Hz}$, 0,7H) 3,4-3,8 (m, 4H), 3,05 (m, 2H), 2,60 (m, 2H), 2,27 (s, 3H), 1,9-2,2 (m, 4H), МАС-СПЕКТР: Calc'd for $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$: 492,18, Одержано: (M+1) 492,9.

В. Складний метиловий ефір 3-[2-(1-[[4-(3-о-Толіл-уреїдо)-феніл]-ацетил]-піролідин-2-іл)-тіазол-5-іл]-пропіонової кислоти



одержували розчин складного метилового ефіру 3-(2-Піролідин-2-іл-тіазол-5-іл)-пропіонової кислоти (са. 1,09ммоль) в диметилформаміді. До цього розчину додавали [4-(3-о-толіл-уреїдо)-феніл]-оцтову кислоту (0,38г, 1,3ммоль), 1-(3-диметиламінолпропіл)-3-етилкарбодіімід гідрохлорид (0,33г, 1,7ммоль) і 1-гідроксибензотриазол (0,24г, 1,8ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 1 години, і додавали триетиламін (0,15г, 1,46ммоль). Після перемішування реакційної суміші протягом ночі (са. 16h) її виливали у воду (100мл) і екстрагували етилацетатом (3x50мл). Об'єднану органічну фазу екстрагували насиченим бікарбонатом натрію (30мл), вода (2x15мл) і сольовим розчином (20мл), після чого сушили над сульфатом магнію. Розчинник видаляли in vacuo і залишок хроматографували на колонці із силікагелем, елюючи сумішшю метанол: оцтова кислота : етил ацетат (1:1: 98) з одержанням вказаної у заголовку сполуки (0,33г, 65%). МАС-СПЕКТР: Calc'd for $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$: 506,20. Одержано: (M+1) 507,2 і (M-1) 505,3.

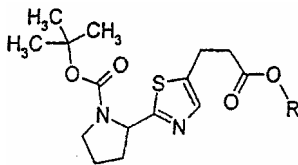
С. Складний метиловий ефір 3-(2-Піролідин-2-іл-тіазол-5-іл)-пропіонової кислоти



Розчин складного трет.-бутилового ефіру 2-[5-(2-Метоксикарбоніл-етил)-тіазол-2-іл]-Піролідин-1-карбонової кислоти (0,37г, 1,09ммоль) у розчині соляної кислоти в діоксані (4N, 10мл) перемішували при кімнатній температурі протягом 1 години. Розчинник видаляли in vacuo, і залишок розчиняли в метиленхлориді. Метиленхлорид видаляли in vacuo, і залишок знову розчиняли в метиленхлориді. Розчинник видаляли in vacuo, і залишок використовували без очищення. МАС-СПЕКТР: Calc'd for $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$: 2401,09. Found (M+1): 241,2.

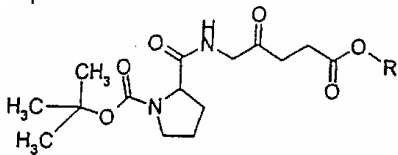
Д. Складний трет.-бутиловий ефір 2-[5-(2-Метоксикарбоніл-етил)-тіазол-2-іл]-Піролідин-1-карбонової

кислоти



Одержували розчин складного трет.-бутилового ефіру 2-(4-Метоксикарбоніл-2-оксо-бутилкарбамоїл)-Піролідін-1-карбонової кислоти (0,57г, 1,66ммоль) у толуолі (15мл) і додавали Реагнет Лоуссона (0,405г, 1,0ммоль). Реакційну суміш нагрівали зі зворотним холодильником протягом 3 годин і виливали у воду (150мл). Цю суміш екстрагували етилацетатом (3х50мл). Об'єдану органічну фазу екстрагували насиченим бікарбонатом натрію (2х30мл) і сольовим розчином (30мл), після цього сушили над сульфатом магнію. Розчинник видаляли *in vacuo*, і залишок хроматографували на колонці Biotage 40s сумішшю етилацетат:гексан (1:1) з одержанням вказаної у заголовку сполуки (0,37г, 65%). ^1H ЯМР (400МГц, CDCl_3): δ 7,37 (s, 1H, тiazол), 5,18 (m, 0,4H), 5,05 (m, 0,6H), 3,67 (s, 3H), 3,35-3,60 (m, 2H), 3,10 (m, 2H), 2,64 (t, J=7,5Hz, 2H), 2,20 (m, 2H), 1,90 (m, 2H), 1,62 (bs, 1H), 1,46 (bs, 4H), 1,31 (bs, 5H), MAC-СПЕКТР: Розраховано $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: 340,15, Одержано (M+1): 341,0.

Е. Складний трет.-бутиловий ефір 2-(4-Метоксикарбоніл-2-оксо-бутилкарбамоїл)-Піролідін-1-карбонової кислоти



Складний 2-терт.-бутиловий ефір, складний 1-(2,5-діоксо-піролідін-1-іл) ефір піролідін-1,2-дикарбонової кислоти (1,03г, 3,3ммоль) розчиняли в DMF (30мл) і додавали гідрохлоридну сіль складного метилового ефіру 5-аміно-4-оксо-пентанової кислоти (0,60г, 3,3ммоль). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 1 години. Додавали триетиламін і перемішування продовжували протягом ночі (са. 16h). Реакційну суміш виливали у воду (300мл) і екстрагували етилацетатом (3х70мл). Об'єдану органічну фазу екстрагували насиченим водним розчином бікарбонату натрію (60мл), водою (2х30мл) і сольовим розчином (50мл). Органічну фазу сушили над сульфат магнію, і розчинник видаляли *in vacuo*. Одержане жовте масло хроматографували на колонці Biotage 40S, елюючи сумішшю етилацетат:гексан (4:1), з одержанням вказаної у заголовку сполуки (0,57г, 50%). ^1H ЯМР (400МГц, CDCl_3): δ 4,2 (m, 3H), 3,65 (s, 3H), 3,43 (m, 1,5H), 3,35 (m, 0,5H), 2,70 (m, 2H), 2,62 (m, 2H), 2,25 (bs, 0,25H), 2,15 (bs, 0,75H), 1,88 (m, 2H), 1,70 (bs, 1H), 1,25 (bs, 9H), MAC-СПЕКТР: Розраховано $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4$ (M-BOC): 242,13, Одержано (M-BOC+1): 243,0.

ПРИКЛАД 33

Зв'язування біотинілового CS-1 з виділеним антигеном VLA-4 Аналіз зв'язування VLA-4/bCS-1 рецептора з лігандом, описаний далі, дає змогу визначити здатність сполуки специфічно інгібувати VLA-4-залежне зв'язування.

А. Приготування планшетів, покритих VLA-4

Пластижки, покриті VLA-4, готують за день до проведення аналізу. Середовище, що виділяє VLA-4 виділяли з клітин Юркат (Jurkat) відповідно до протоколу Makarem et al, J. Biol. Chem., 269, 4005-4011 (1994) і розводили в 50mM NaHCO_3 (pH 8,8) до кінцевої концентрації 0,4мг/мл. Аліквоти цього маточного розчину по 100мл додавали до кожної лунки 96-лункового планшета Microfluor "B" з дном U-подібної форми (Dynatech No. 0010107205) і інкубували протягом ночі при температурі 4°C. Розчин для покриття видаляли відсмоктуванням, і нейтралізували протягом 0,5 години з допомогою PBS плюс 1mM MnCl₂, що містить знежирене сухе молоко (1%) (200мл/лунка, 37°C). Сухе молоко видаляли відсмоктуванням безпосередньо перед додаванням біотинілованого CS-1.

В. Зв'язування біотинілованого CS-1 з виділеним VLA-4

Одержували біотинілований пептид CS-1 (bCS-1). Такий пептид розводили з допомогою PBS у поєднанні з 1mM MnCl₂, що містить знежирене сухе молоко (1%) (PBSB), до досягнення кінцевої концентрації 5мг/мл. Аліквоти по 200мл додають до кожної лунки 96-лункового поліпропіленового планшета, що містить сполуки (32, 10, 3,2, 1, 0,32 і 0,1mM), носій або антитіла (0,5мг/мл) в PBSB, що містять 0,1% DMSO, протягом 60 хвилин (37°C). Планшет промивали тричі з допомогою 200мл/лунка PBSB з метою видалення незв'язаного bCS-1. Після цього до кожної лунки додавали по 100мл розведень 1:5000 стрептавідину полі-HRP в PBSB протягом 60 хвилин (37°C). Незв'язаний стрептавідин полі-HRP видаляли відсмоктуванням, і планшет промивали тричі з допомогою PBSB (200мл/лунка). Після останнього промивання до кожної лунки додавали 100мл субстрату TMB для проведення реакції із зв'язаним стрептавідин полі-HRP, і оптичну густину у кожній лунці визначали на зчитувальному пристрої для планшетів Emax (650). Результати наводились як середнє арифметичне від результатів подвійних вимірювань.

ПРИКЛАД 34

VLA-4-залежне зв'язування клітин THP1 з бакуловірусом sVCAM

Аналіз клітинного зв'язування THP1 з бакуловірусом sVCAM дають змогу встановити здатність сполуки інгібувати VLA-4-залежне зв'язування з sVCAM.

А. Одержання покритих sVCAM планшетів

Покриті бакуловірусом sVCAM планшети готували за день до проведення експерименту. Маточний розчин бакуловірусу sVCAM з PanVera розводили в 50mM NaHCO_3 (pH 8,8) до досягнення кінцевої концентрації 5мг/мл. Після цього до кожної лунки 96-лункового планшета Microfluor "B" з дном U-подібної форми додавали аліквоти по 50мл (Dynatech No. 0010107205) і інкубували протягом ночі (4°C). Розчин для покриття видаляли відсмоктуванням, і лунки нейтралізували протягом 1 години з допомогою PBS, що

містить знежирене сухе молоко (5%) (150мл/лунка, 4°C). Сухе молоко видаляли витрушуванням безпосередньо перед додаванням біотинізованого CS-1.

В. Мічення і зв'язування клітин THP1

Клітини THP1 одержували в Американській колекції типів культур (American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD)) і вирощували у середовищі RPMI 1640, що містить 10% 1mM $MnCl_2$ протягом 20 хвилин (37°C). Після активації з допомогою $MnCl_2$, клітини згортали (приблизно 500г протягом 5 хвилин) і двічі ресуспендували у основному живильному середовищі без сироватки (EBM, 37°C). Після цього, клітини, що знаходились у вільному від сироватки живильному середовищі (2×10^6 /мл) інкубували з 5mM Calcein AM протягом 30 хвилин при температурі 37°C. Після мічення всі клітини згортали (приблизно 500г протягом 5min) і двічі ресуспендували в RPMI 1640, що містить 10% FBS, для розщеплення будь-якого незв'язаного кальцеїну AM. Клітини двічі ресуспендували в DPBS (+1mM $CaCl_2$ і 1mM $MgCl_2$), що містить 1мг/мл BSA (DPBSB), і розводили до концентрації 667,000клітин/мл. Аліквоти по 200мл додають до кожної лунки 96-лункового поліпропіленового планшета, що містить сполуки (10, 5, 1 і 0,1mM), носій або антитіла (0,5мг/мл) в DPBSB, що містять 0,1% DMSO, протягом 30 хвилин (37°C). Наступні 150мл (100,00,0 клітин) видаляли з кожної лунки і переносили у відповідні лунки нейтралізованого покритого бакуловірусом sVCAM планшета протягом 45 хвилин (37°C). Незв'язані клітини видаляли відсмоктуванням, і планшет тричі промивали з допомогою DPBSB (100мл/лунка). Після останнього промивання до кожної лунки додавали 100мл DPBSB, і планшети читували на флуоресцентному зчитувальному пристрої Cytofluor II. Результати фіксувались для кожної лунки при активізації 480 і емісії 530. Результати наводились як середнє арифметичне від результатів подвійних вимірювань. Середнє фонове значення флуоресценції у порожніх лунках віднімали від значення флуоресценції для кожної лунки з одержанням точного значення інтенсивності флуоресценції кожного зразка.