

Цей винахід стосується нових похідних пептидів, композицій, що їх вміщують, а також їх медичного застосування для лікування розладів, які є наслідком дефіциту гормонів росту.

Гормон росту являє собою такий гормон, який стимулює рост усіх тканин організму, які здатні рости. Крім того, відомо, що гормон росту справляє певний вплив на процеси обміну речовин, зокрема, сприяє стимулюванню синтезу протеїнів та мобілізуванню вільних жирних кислот, і що він спричиняє зміну напрямку енергетичного обміну від обміну вуглеводу до обміну жирних кислот. Дефіцит гормону росту може призвести до деяких тяжких розладів, таких як, наприклад, карликовості.

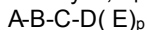
Гормон росту вивільнюється з гіпофіза. Виділення відбувається під чітким безпосереднім або опосередкованим контролем певних гормонів та нейротрансмітерів. Виділення гормону росту може стимулюватися так званим релізінг-гормоном виділення гормону росту (GHRH) та інгібуватися соматостатином. В обох випадках ці гормони виділяються з гіпоталамуса, але їхня дія опосередкована перше через специфічні рецептори, які розміщені в гіпофізі. Відомі також і описані деякі інші сполуки, що стимулюють виділення гормону росту. Наприклад, такі сполуки, як аргінін, L-3,4-дигідроксифеніл (L-Dopa), глюкагон, вазопресин, PACAP (пептид, що активує аденіліл-циклазу гіпофіза), агоністи мускаринових рецепторів, а також синтетичний гексапептид, GHRP (релізінг-пептид гормону росту), сприяють виділенню ендогенного гормону росту, чи безпосередньо впливаючи на гіпофіз, чи впливаючи на виділення GHRP і/або соматостатину з гіпоталамуса.

У випадках розладів або за таких обставин, коли потрібно підвищити рівень гормону росту, протеїнова природа цих гормонів змушує застосовувати парентеральне введення в організм. Крім того, деякі природні підсилювачі секреції прямої дії, такі як GHRH та PACAP, є пептидами з високою молекулярною масою, через що також віддається перевага парентеральному введенню.

Використання більш коротких пептидів з метою підвищення рівня гормону росту в організмі ссавців було запропоновано раніше у EP 18 072, EP 83 864, WO 89/07110, WO 89/10933, WO 88/9780, WO 83/02272, WO 91/18016, WO 92/01711 та WO 93/04081.

Структура релізінг-пептидів гормону росту або похідних цих пептидів є важливим чинником ефективності їхнього впливу на виділення гормонів росту, так само, як і їхньої біологічної доступності. Отже, предметом цього винаходу є нові пептиди з властивостями релізінг-фактора гормонів росту, більш досконалі порівняно до нині відомих пептидів цього типу.

Сполука, що має загальну формулу 1



де $p \in 0$ або 1;

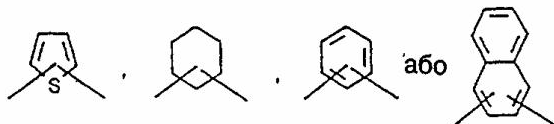
A являє собою водень або $R^1-(CH_2)_q-(X)_r-(CH_2)_s-CO-$, де

$q \in 0$ або цілим числом, вибраним з групи: 1, 2, 3, 4, 5;

$r \in 0$ або 1;

$s \in 0$ або цілим числом, вибраним з групи: 1, 2, 3, 4, 5;

R^1 являє собою водень, імідазоліл, гуанідине-групу, піперазино-групу, морфоліно-групу, піперидино-групу або $N(R^2)-R^3$, де кожний з радикалів R^2 та R^3 є незалежно воднем або нижчим алкілом, що, як варіант, заміщуються однією чи кількома гідроксил-, піридинил-, або фураніл-групами; а також X, коли $r \in 1$, являє собою $-NH-$, $-CH_2-$, $-CH=CH-$, $-C(R^{16})(R^{17})-$,



де кожний з радикалів R^{16} та R^{17} є незалежно воднем або нижчим алкілом; B являє собою $(G)_t(H)_u$, де як t, так і u є незалежно 0 або 1;

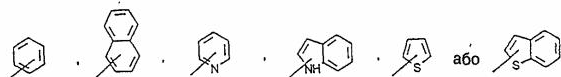
G і H являють собою амінокислотні залишки (радикали), вибрані з групи, до якої належать природні L-амінокислоти чи відповідні до них D-ізмери, або штучні амінокислоти, такі як 1,4-діамінобутирова кислота, аміно-ізобутирова кислота, 1,3-діамінопропіонова кислота, 4-амінофенілаланінова, 3-піридилаланінова, 1,2,3,4-тетрагідроізохінолінова кислота, 1,2,3,4-тетрагідроноргарман-3-карбонова кислота, N-метилантранілова кислота, антранілова кислота, N-бензилглїцинова, 3-амінометил бензойна кислота, 3-аміно-3-метил-бутанова, саркозин, ніпекотова кислота або ізо-ніпекотова кислота;

коли як t, так і u дорівнюють 1, амідний зв'язок між G і H, як варіант, замінюється радикалом $-Y-NR^{18}-$, де Y являє собою $-CO-$ або $-CH_2-$, а R^{18} являє собою водень, нижчий алкіл або нижчий аралкіл;

C являє собою D-амінокислоту, що має формулу $-NH-CH((CH_2)_w-R^4)-CO-$, де

$w \in 0, 1$ або 2; і

R^4 вибрано з групи, до якої належать



кожна з яких варіативно заміщується галогеном, нижчим алкілом, нижчим алкілокси, нижчим алкіламіно, аміно або гідрокси;

D, коли $p \in 1$, являє собою D-амінокислоту, що має формулу



або, коли $p \in 0$, D являє собою $-NR^{20}-CH((CH_2)_l-R^5)-CH_2-R^6$

чи $-NR^{20}-CH((CH_2)_m-R^5)-CO-R^6$, де

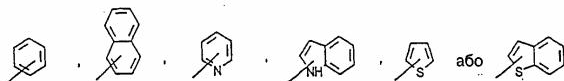
$k \in 0, 1$ або 2;

$l \in 0, 1$ або 2;

$m \in 0, 1$ або 2;

R^{20} вибрано з групи, до якої належать нижчий алкіл або нижчий аралкіл;

R^5 вибрано з групи, до якої належать



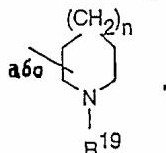
кожна з яких варіативно заміщується галогеном, нижчим алкілом, нижчим алкілокси, аміно або гідрокси; також

R^6 являє собою піперазино, морфоліно, піперидино, -OH або $N(R^7)-R^8$, де кожний з радикалів R^7 та R^8 є незалежно воднем або нижчим алкілом;

E, коли $p \in 1$, являє собою $-NH-CH-(R^{10})-(CH_2)_v-R^9$, де

$v \in 0$ або цілим числом, яке вибрано з групи чисел: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8;

R^9 є воднем, імідазолілом, гуанідином, піперазино, морфоліно, піперидино, $-N(R^{11})-R^{12}$,

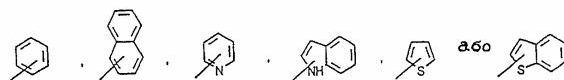


де $n \in 0, 1$ або 2, і R^{19} є воднем або нижчим алкілом,



де $o \in$ цілим числом, вибраним з групи: 1, 2, 3,

кожний з радикалів R^{11} та R^{12} є незалежно воднем чи нижчим алкілом, або



кожна з яких варіативно заміщується галогеном, нижчим алкілом, нижчим алкілокси, зміно, алкіламіно, гідрокси, або продуктом перегрупування Амадорі з аміногрупи та гексапіранози чи гексапіранозил-гексапіранози

i

R^{10} , коли $p \in 1$, вибрано з групи, до якої належать -H, -COOH, $-CH_2-R^{13}$, $-CO-R^{13}$ або $-CH_2-OH$, де

R^{13} являє собою піперазино, морфоліно, піперидино, -OH або $-N(R^{14})-R^{15}$, і де кожний з радикалів R^{14} та R^{15} є незалежно воднем або нижчим алкілом;

всі амідні зв'язки всередині формули 1, за винятком зв'язку між C та D, можуть незалежно бути заміщеними радикалом $-Y-NR^{18}$, де Y являє собою -CO- чи $-CH_2-$, а R^{18} являє собою водень, нижчий алкіл або нижчий аралкіл, або фармацевтичне прийнятною відповідною сіллю;

також, за винятком сполук

(3-Амінометилбензоїл)-D-2Nal-N-Me-D-Phe-Lys-NH₂

H-Aib-His-D-2Nal-N-Me-D-Phe-Lys-NH₂

H-Aib-His-N-Me-D-2Nal-N-Me-D-Phe-Lys-NH₂

3-(H-Aib-His-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH)-1-морфолінопропан

2-(H-Aib-His-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH)-2-(1-метил-2-піролідиніл)етан

((3R)-Піперидинкарбоніл)-N-Me-D-2Nal-N-Me-D-Phe-Lys-NH₂

3-((3-Амінометилбензоїл)-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH)-1-морфолінопропан

2-(H-Aib-His-N-Me-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH)-1-(1-метил-2-піролідиніл)етан

2-(((3R)-Піперидинкарбоніл)-N-Me-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH)-1-(1-метил-2-піролідиніл)етан

2-((3-Амінометилбензоїл)-N-Me-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH)-1-(1-метил-2-піролідиніл)етан

3-(H-Aib-His-N-Me-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH)-1-морфолінопропан

3-(((3R)-Піперидинкарбоніл)-N-Me-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH)-1-морфолінопропан

3-((3-Амінометилбензоїл)-N-Me-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH)-1-морфолінопропан

2-((3-Амінометилбензоїл)-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH)-1-(1-метил-2-піролідиніл)етан

2-(((3R)-Піперидинкарбоніл)-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH)-1-(1-метил-2-піролідиніл)етан.

Пептидним похідним, які відповідають формулі 1, притаманна підвищена стійкість до протеолітичного розщеплення ферментами, що обумовлено присутністю у пептидному ряді (послідовності) суміжних D-амінокислот, варіативно, у комбінації із заміщенням амідного зв'язку (-CONH-) зв'язком $-Y-NR^{18}$, згаданим вище, наприклад, амінометиленом ($-CH_2NH-$), і/або в комбінації з перетвореннями на N- чи C-кінці пептидного ланцюга. Підвищена біологічна доступність пептидних похідних, запропонованих у цьому винаході, у порівнянні з доступністю пептидів, які було запропоновано у попередніх виданнях спеціальної літератури, є, очевидно, наслідком їхньої стійкості до протеолітичного розщеплення у сукупності з малими розмірами [молекул - прим, перекл.].

У наведених вище формулах та далі у тексті цього документа спеціальним термінам відповідають такі визначення.

Складовими молекул, які у попередніх рядках цього тексту визначено терміном "нижчі алкіли", слід вважати такі алкільні складові, що містять переважно 1-6 атомів вуглецю, мають певну довжину і пряму (лінійну), розгалужену або циклічну конфігурацію ланцюгів. Прикладами прямоланцюгових (лінійних) алкілів є метил, етил, пропіл, бутіл і гексил. Прикладами алкілів з розгалуженим ланцюгом є ізопропіл, втор-бутіл, трет-бутіл, ізопентил та ізогексил. Прикладами циклічних алкілів є циклопропіл, циклобутил, циклопентил та

циклогексил.

Складовими молекул, які у попередніх рядках цього тексту визначено терміном "нижчі алкокси", слід вважати такі алкокси-складові, що містять переважно 1-6 атомів вуглецю, мають певну довжину і пряму, розгалужену або циклічну конфігурацію ланцюгів. Прикладами прямоланцюгових алкокси є метокси, етокси, пропокси, бутокси, пентокси та гексокси. Прикладами алкокси з розгалуженим ланцюгом є ізопропокси, втор-бутокси, трет-бутокси, ізопентокси та ізогексокси. Прикладами циклічних алкокси є циклопропілокси, циклобутилокси, циклопентилокси та циклогексилокси.

Складовими молекул, які у попередніх рядках цього тексту визначено терміном "нижчі алкіламіно", слід вважати такі алкіламіно-складові, що містять переважно 1-6 атомів вуглецю, мають певну довжину і пряму, розгалужену або циклічну конфігурацію ланцюгів. Прикладами прямоланцюгових алкіламіно є метиламіно, етиламіно, пропіламіно, бутиламіно, пентиламіно та гексиламіно. Прикладами алкіламіно з розгалуженим ланцюгом є ізопропіламіно, втор-бутиламіно, трет-бутиламіно, ізопентиламіно та ізогексиламіно. Прикладами циклічних алкіламіно є циклопропіламіно, циклобутиламіно, циклопентиламіно та циклогексиламіно.

В контексті цього винаходу під терміном "арил" слід розуміти об'єднану назву ароматичних кілець, таких як карбоциклічні та гетероциклічні ароматичні кільця, вибрані з групи, до якої належать феніл, нафтил, піридил, 1-Н-тетразол-5-іл, тіазол, імідазоліл, індоліл, примідиніл, тіадіазоліл, піразоліл, оксазоліл, ізоксазоліл, тіофеніл, хінолініл, піразиніл або ізотіазоліл, що варіативно заміщується одним чи кількома радикалами C₁₋₆-алкілу, C₁₋₆-апкокси, галогену, аміно чи арилу. Арил переважно представлений фенілом, тієнілом, імідазолілом, піридиліом, індолілом, хіноліном або нафтилом, що варіативно заміщується галогеном, аміно, гідрокси, C₁₋₆-алкілом чи C₁₋₆-апкокси.

Складовими молекул, які у попередніх рядках цього тексту визначено терміном "аралкіл", слід вважати такі, що містять у свою чергу - як складові - визначені у попередніх рядках тексту нижчий алкіл та арил.

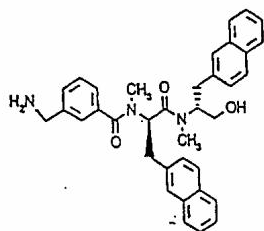
Під терміном "галоген" слід розуміти групу, до якої належать Cl, F, Br та I.

Стандартний код з трьох літер застосовано для природних амінокислот, наприклад, Ala - для аланіну.

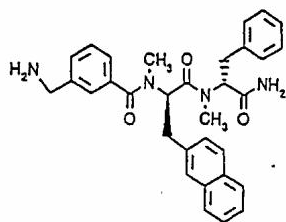
В найбільш оптимальному варіанті реалізації сполуки згідно з формулою 1, А являє собою водень, 3-N-Me-AMB, -3-AMB або Aib. Якщо t дорівнює 1, Г у сполучі згідно з формулою 1 оптимально може являти собою Ala, Gly, саркозин, 3-амінометилбензоїл, R-ніпекотиніл, ніпекотову кислоту або ізоніпекотову кислоту, більш оптимально - 3-амінометилбензоїл, R-ніпекотиніл, ніпекотову кислоту або ізоніпекотову кислоту. Якщо u дорівнює 1, Н оптимально може являти собою His, Phe, Tic, Phe (4-NH₂), 3-PyaI, Gly, Ala, Sar, Pro, Tyr, Arg, Абоп, 3-амінометилбензойна кислота або D-Phe, більш оптимально Н може являти собою His, Phe або Ala, найбільш оптимально Н може являти собою His або Ala. С в сполучі згідно з формулою 1 оптимально являє собою D-2-нафтилаланін (D-2Nal), D-1-нафтилаланін (D-1 Nal), D-Phe або D-Trp, більш оптимально - D-2Nal або D-Pheі найбільш оптимально - N-Me-D-2Nal, D-2Nal, D-Phe, або N-Me-D-Phe. D у сполучі згідно з формулою 1 оптимально являє собою -NR₂₀-CH((CH₂)_k-R⁵)-CO-, де k оптимально дорівнює 1 і R²⁰ являє собою нижчий алкіл; більш оптимально R являє собою D-Phe або D-2Nal. Найбільш оптимально D являє собою N-Me-O-Phe-ол, N-Me-D-Phe, N-Me-D-2Nal-ол, N-Me-D-Phe-NH₂, N-Me-D-Phe-NH-Me, або N-Me-D-(4-1)Phe-NH-Me.

Якщо у сполучі згідно з формулою 1 р дорівнює 1, Е оптимально являє собою Lys-NH₂, Ser-NH₂, MH-(2-(1-піперазино)етил), NH-(3-(1-морфоліно) пропіл), NH-(2-аміноетил), NH-(4-амінометилбензил), NH-(бензил), Lys-OH, NH-(1-гідрокси-6-аміно-2S-гексил), NH-(2-(1-метил-2-піролідиніл)етил, або 3-N,N-диметил-амінопропіл; найбільш оптимально Е являє собою NH-(2-(1-метил-2-піролідиніл)етил, 3-N,N-диметил-амінопропіл, Lys-NH₂, або Ser-NH₂ або R⁴ в сполучі згідно з формулою 1 оптимально є 2-нафтил. R⁵ оптимально являє собою феніл, v оптимально є в межах 2-6, і R⁹ оптимально являє собою NH₂, 2-морфоліноетил, 3-морфолінопропіл або (1-метилпіролідиніл)етил. R¹⁰ оптимально являє собою -COOH, -CH₂-OH, -H-, -CONH₂ або -CON(CH₃)₂.

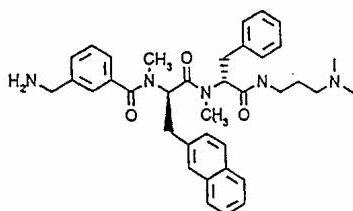
Прикладами специфічних сполук, представлених в цьому винаході, є (2R)-2-((3-Амінометилбензоїл))-N-Me-D-2Nal-N-Me)-3-(2-нафтил)пропанол:



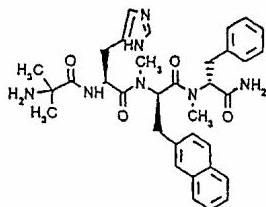
(3-Амінометилбензоїл)- N-Me-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH₂:



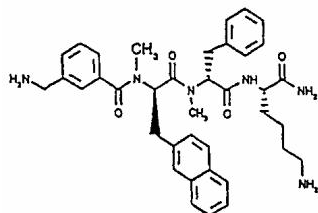
3-((3-Амінометилбензоїл)- N-Me-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH)-N,N-диметиламінопропан:



H-Aib-His-N-Me-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH₂:



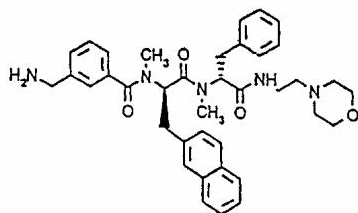
(3-Амінометилбензоїл)- N-Me-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH₂:



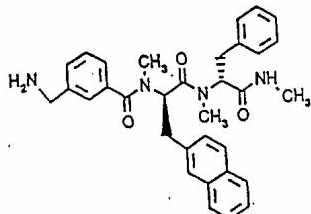
H-Aib-Ala-D-2Nal-N-Me-D-Phe-Lys-NH₂

H-Aib-His-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH₂

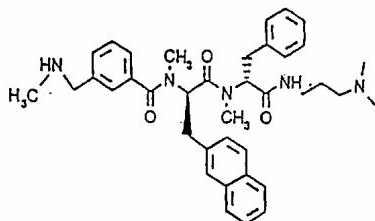
2-((3-Амінометилбензоїл)- N-Me-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH)-1-морфоліноетан:



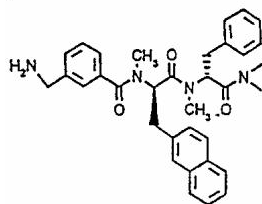
(3-Амінометилбензоїл)- N-Me-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH-Me:



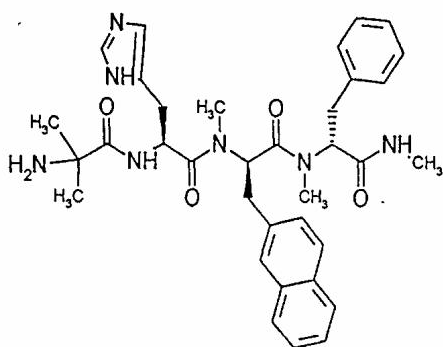
3-((3-Метиламінометилбензоїл)-N-Me-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH)-N,N-диметиламінопропан:



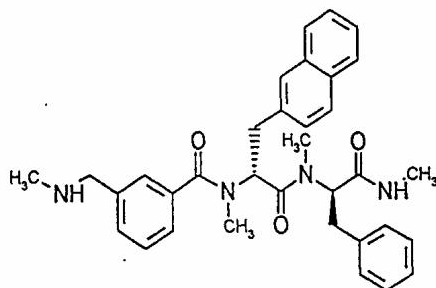
(3-Амінометилбензоїл)-N-Me-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH₂:



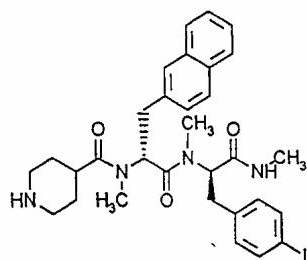
H-Aib-His-N-Me-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NHMe:



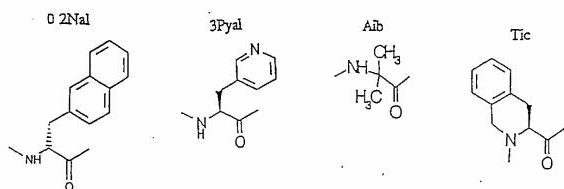
3-метиламінометил-Nme-D-2Nal-Nme-D-Phe-NH-CH₃



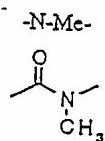
Піперидин-4-карбонова кислота-N-((1R)-1-(N-((1R)-2-(4-йодофеніл)1-(метилкарбамоїл)етил)-N-метилкарбамоїл)-2-(2-нафтил)етил)-N-метиламід



Структури залишків ненатуральних (штучних) амінокислот:

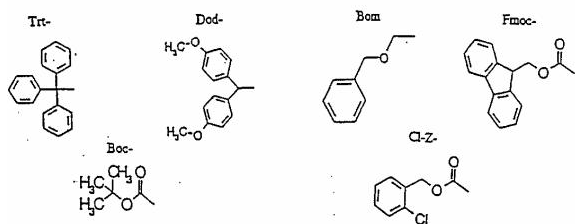


Скорочення, яке використано для позначення заміщення пептидного зв'язку:



Сполуки згідно з формулою 1 можна виготовити традиційними способами, що полягають у розчинному або твердофазовому синтезі пептидів. Для прикладу, твердофазовий синтез може головним чином здійснюватися за схемою, яку описано Stewart (час утримування) і Young, Solid Phase Peptide Synthesis, 2nd. Ed., Rockprotygomd, Illinois, USA, 1976. Приклади здійснення розчинного синтезу пептидів наведені у Bodansky et al., Peptide Synthesis, 2nd., Ed., New Ya6ok, USA, 1976.

У якості заміщувача амідного зв'язку згідно з методом, який описано у Y.Sasaki і D.H. Coy, Peptides 3(1), 1987, pp. 119-121., можна застосовувати амінометилен. Пептидні похідні, які містять дериватизовану моно- або ди-гексапіранозою аміногрупу, можна приготувати шляхом перегрупування Амадори, головним чином способом, який описано R. Albert (час утримування) et al., Life Sciences 53, 1993, pp. 517-525. Прикладами моно- або ди-гексапіраноз є глюкоза, галактоза, мальтоза, лактоза або целобіоза. Похідні, що застосовуються у синтезі як вихідні матеріали, або можна отримати промисловим шляхом, при необхідності забезпечуючи їх відповідними захисними групами, або такі стартові матеріали, що використовуються для виготовлення складової "A" у загальній формулі 1, можна приготувати добре відомими способами та при необхідності само по собі забезпечити захистом. Скорочення, які використано для позначення захисних груп:



До фармацевтичне прийнятних солей кислотних присадок у сполуках згідно з формулою 1 належать такі, що їх виготовляють шляхом реакції пептиду з неорганічною або органічною кислотою, наприклад, з хлористоводневою [соляною], бромистоводневою, сірчаною, оцтовою, фосфорною, молочною, малеїною, фталевою, лимонною, глутаровою, глюконовою, метансульфоною, саліциловою, бурштиною, винною, щавлевою, толуолсульфоною, трифтороцтовою, сульфаміною та фумаровою кислотою.

В іншому аспекті цей винахід стосується фармацевтичної композиції, що містить в собі - як активний компонент - сполуку згідно з загальною формулою 1 або її фармацевтичне сприйнятну сіль, разом із фармацевтичним сприйнятним носієм або розріджувачем.

Фармацевтичні композиції, що містять в собі сполуку згідно з цим винаходом, можна приготувати за допомогою стандартної методики, яку описано, наприклад, у Remington's Pharmaceutical Sciences, 1985. Ці композиції можуть з'являтися у продажі також у стандартних формах, наприклад, у вигляді капсул, таблеток, аерозолів, суспензій, пластирів або засобів місцевого застосування.

Фармацевтичний носій або розріджувач, що застосовується згідно з цим винаходом, можуть являти собою стандартний твердий або рідкий носій. Прикладами твердих носіїв є лактоза, терра альба, сахароза (цукроза), циклодекстрин, тальк, желатин, агар, пектин, акація, стеарат магнію, стеаринова кислота або нижчі алкілові ефіри целюлози. Прикладами рідких носіїв є сироп, аріхісова олія, маслинова олія, фосфоліпіди, жирні кислоти, жирнокислотні аміни, поліоксиетилен та вода.

Аналогічно, до носіїв або розріджувачів може належати будь-яка з відомих у галузі речовин тривалого вивільнення, таких як, наприклад, гліцерил моностеарат, гліцерил дистеарат, у вільному (незв'язаному) вигляді чи у суміші із парафіном.

Якщо для орального введення використовується твердий носій, препарат може бути виготовлений у формі таблеток, уміщений у жорсткі желатинові капсули у порошко- чи гранулоподібному вигляді або виготовлений у формі пастилок та ромбиків. Вагова кількість твердого носія може змінюватись в широкому діапазоні, але зазвичай вона становить від 25мг до 1г.

Типова таблетка, виготовлена стандартним способом, може мати у своєму складі такі компоненти:

Ядро:

Активна сполука (як незв'язана сполука, так і її сіль)	100мг
Колоїдальний кремнієвий діоксид (Aerosil)	1,5мг
Целюлоза, мікрокрис. (Avicel)	70мг
Модифікована целюлозна смола (Ac-Di-Sol)	7,5мг
Стеарат магнію	

Оболонка:

Гідроксипропілметилцелюлоза (HPMC), близько	9,0мг
*Mywacett 9-40 T, близько	0,9мг

*Для покриваючої плівки оболонки як пластифікатор використовується ацильований моногліцерид.

Якщо застосовується рідкий носій, препарат може бути виготовлений у вигляді сиропу, емульсії, м'яких желатинових капсул або стерильної рідини для ін'єкцій, такої як водна або безводна рідка суспензія чи розчин.

Для введення через носову порожнину або дихальний тракт препарат має містити в собі сполуку згідно з формулою 1, розчинену або суспендовану в рідкому носії, зокрема, у водному носії, що робить можливим застосування цього препарату у вигляді аерозолі. Носій може містити в собі такі присадки, як солюбілізуючі агенти, наприклад пропіленгліколь, такі поверхнево-активні присадки, як поліетиленгліколи солей жовчної кислоти, поліпропіленгліколи або поліоксетилен-ефіри вищих спиртів, такі підсилювачі (енхансери) абсорбції як лецитин (фосфатидилхолін) чи циклодекстрин, або такі консерванти, як парабени.

Для введення через шкіру препарат може бути виготовлений у вигляді, придатному для застосування його за допомогою пластирів або електрофорезу.

Зазвичай сполуки згідно цього винаходу розфасовуються в дозованих одиницях, що містять 0,0001-100мг активного компоненту, разом із фармацевтично-принятною кількістю носію на дозовану одиницю.

Дозування сполук згідно цього винаходу оптимально становить 1-500мг/добу, наприклад, близько 100мг в одній дозі, якщо вони вводяться пацієнтам, наприклад людям, як ліки.

Показано, що сполуки згідно з загальною формулою 1 здатні сприяти вивільнюванню ендогенного гормону росту *in vivo*. Таким чином, ці сполуки можуть бути використаними для лікування організму за таких обставин, коли є потреба у зростанні рівнів гормону росту у плазмі, а саме тоді, коли спостерігається дефіцит гормону росту в організмі людини, у випадку лікування пацієнтів похилого віку, а також у випадку лікування свійської худоби.

Отже, в конкретному аспекті цей винахід стосується фармацевтичної композиції, призначеної для стимулювання, вивільнювання гормону росту з гіпофіза. Ця композиція містить у своєму складі як активний компонент сполуку згідно з формулою 1 або фармацевтично прийнятну сіль цієї сполуки разом із

фармацевтично прийнятним носієм чи розріджувачем.

В іншому аспекті, цей винахід стосується методу стимулювання вивільнювання гормону росту з гіпофіза; цей метод полягає у введенні об'єкту, що потребує такого введення, ефективного об'єму сполуки згідно з загальною формулою 1 або фармацевтично прийнятною солі цієї сполуки.

В ще одному аспекті цей винахід стосується використання сполуки згідно з загальною формулою 1 або її фармацевтично прийнятною солі для виготовлення медикаменту, призначеного для стимулювання вивільнювання гормону росту з гіпофіза.

Сполуки згідно з формулою 1 мають важливі фармакологічні властивості. Прикладом таких властивостей є стимулювання вивільнювання гормону росту з гіпофіза, що справляє ефект, притаманний самому гормону росту. До ефектів, що справляє гормон росту належать такі: стимулювання вивільнювання гормону росту в організмі людини похилого віку; запобігання катаболічних побічних ефектів глюкокортикоїдів; лікування остеопорозу; стимулювання діяльності імунної системи; прискорення заживлення ран, прискорення реабілітації ушкоджених кісток; лікування затримки росту; лікування захворювань нирок або недостатності, що є наслідком затримки росту; лікування фізіологічної низькорослості, зокрема у дітей з дефіцитом гормону росту, а також низькорослості, викликаній хронічними захворюваннями; лікування ожиріння та затримки росту, викликаного ожирінням; лікування затримки росту, пов'язаної з синдромом Прадера-Віллі і синдрому Тернера; прискорення заживлення опіків та зменшення відсотку госпіталізованих пацієнтів, що страждають від опіків; лікування внутрішньоматкової затримки росту, дисплазії скелета, гіперкортизолізму і синдрому Іценко-Кушинга; збудження пульсуючого вивільнювання гормону росту; заміщення гормону росту в організмі пацієнтів, що зазнали стресів; лікування остеохондродисплазій, синдрому Нунана, шизофренії, депресій, хвороби Альцгеймера, заповільненого заживлення ран та фізіологічної депривації; лікування дисфункції легеневих шляхів та залежності від примусового вентилування легенів; ослаблення протеїн-катаболічної реакції організму на широке оперативне втручання; зменшення загального виснаження організму (кахеції) та втрати протеїнів, зумовленої такими хронічними захворюваннями як рак та СНІД; лікування гіперінсулінемії, зокрема нездіюблостою (гіперплазії панкреатичних островків); супутнє (допоміжне) лікування з метою збудження овуляції; стимулювання розвитку тимусної функції вилочкової залози та запобігання вікового послаблення тимусної функції; лікування пацієнтів з пригніченою імунною системою; підвищення сили м'язів рухливості, профілактика збереження міцності шкірного покриву, регулювання метаболічного гомеостазу, ниркового гомеостазу у випадку вікової в'ялості; стимулювання розвитку остеобластів, виправлення кісток та розвитку хрящів; стимулювання функції імунної системи в організмі домашніх тварин, а також лікування вікових розладів в організмі домашніх тварин; сприяння росту свійської худоби та стимулювання росту овечої та козячої вовни.

З метою використання у вказаних вище випадках доза препарату може змінюватися в залежності від застосування конкретного варіанта сполуки згідно з формулою 1, від режиму і способу введення і від бажаного терапевтичного результату. Однак, для досягнення ефективного вивільнювання ендогенного гормону росту оптимальна доза, що може бути введеною пацієнтам та тваринам, може становити від 0,0001-100мг/кг ваги тіла на добу. Зазвичай дозовані одиниці, призначені для введення через ротову або носову порожнину, містять в собі від близько 0,0001мг до близько 100мг, найоптимальніше від близько 0,001мг до 50мг, сполуки згідно з формулою 1 змішаною з фармацевтично прийнятними носієм або розріджувачем.

Сполуки згідно з формулою 1 можуть бути введенними у вигляді фармацевтичне прийнятних сольових присадок до кислот, або, якщо потрібно, у вигляді солей лужних чи лужноземельних металів або нижчого алкіламонію. Є підстави вважати, що застосування таких варіантів сполук у вигляді солей забезпечує приблизно такий самий порядок біологічної активності, як і у випадку застосування незв'язаних базових сполук.

Як варіант, фармацевтична композиція згідно з цим винаходом може містити в собі сполуку згідно з формулою 1 у комбінації з одним чи більшою кількістю сполук, що відзначаються різною активністю, наприклад, з антибіотиком або іншим фармацевтично активним матеріалом. Це може бути інакший засіб, підсилюючий секрецію, такий, як GHRP (1 або 6) чи GHRH або їх аналоги, гормон росту або його аналог, або соматомедин, наприклад, IGF-1 чи IGF-2.

Спосіб введення препарату в організм полягає у будь-якому ефективному транспортуванні активної сполуки до потрібного органу або частини тіла; до шляхів такого транспортування належать належать оральний, назальний (через носову порожнину), легеневий, трансдермальний або парентеральний; при цьому перевага віддається оральному шляхові.

Окремо від фармацевтичного застосування сполук згідно з формулою 1, вони можуть стати корисними як інструмент для дослідження регулювання здатності гормонів росту вивільнюватись *in vitro*.

Сполуки згідно з формулою 1 також можуть стати корисними як інструмент оцінки вивільнюючої здатності гіпофіза стосовно виділення гормону росту *in vivo*. Наприклад, з метою визначення їх впливу на гормон росту можуть випробовуватися зразки сироватки, які було взято до і після введення цих сполук до організму людини. Порівняння гормонів росту у кожному зразку сироватки дозволяє безпосередньо визначити здатність гіпофіза пацієнта до вивільнювання гормону росту.

Сполуки згідно з формулою 1 можуть вводитися в організм важливої з точки зору економіки сільськогосподарської худоби з метою прискорення приросту поголів'я і збільшення розміру та ваги цих тварин і збільшення продуктивності надойв молока.

Сполуки згідно з формулою 1 можна оцінити *in vitro*, вивчаючи їх ефективність та потенціальні властивості щодо вивільнювання гормону росту в соматотрофних клітинах щурів.

Соматотрофні клітини щурів можна приготувати, в цілому притримуючись попередніх описів (Chen et al., Endocrinology 1991, 129, 3337-3342 та Chen et al., Endocrinology, 1989, 124, 2791-2798). Щурів позбавляють життя обезголовленням. Після цього миттєво вилачують з їхніх тіл гіпофізи. Далі гіпофізи ферментують із 0,2%-ою колагеназою (п 0,2% гіалурінідаза) у врівноваженому сольовому розчині Хенкса. Після цього клітини ресуспендують в субстраті Dulbecco's Modified Eagle, що містить 0,37% NaHCO₃, 10% кінської сироватки, 2,5%

сироватки з організму телички, 1% неконцентрованих амінокислот, 1% глутаміну та 1% пеніцилін/стрептоміцин, і концентрацію доводиться до 1.5×10^5 клітин/мл. Один мл цієї суспензії уміщується до кожної з комірок 24-коміркової панелі і залишається перед експериментом з оцінки вивільнювання на 2-3 дні.

В день виконання експерименту комірки двічі промивають у згаданому вище субстраті, що містить 25 міліграN-молекул HEPES, pH7,4. Вивільнення гормону росту ініціюється додаванням субстрату, що містить 25 міліграN-молекул HEPES і тестової сполуки. Інкубація триває 15 хвилин при 37°C. Після інкубації об'єм гормону росту, що виділився в субстрат, вимірюється за допомогою стандартного радіоімунноаналізу (RIA).

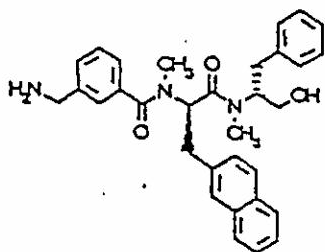
Сполуки згідно з формулою 1 можна оцінити за їх впливом на вивільнення гормону росту *in vivo* в організмі щурів-самців, анестезованому у пентоетилбарбітуровій кислоті, як описано у попередніх працях (Bereu et al. Endocrinology 1991, 129, 2592-2598). У конкретному випадку дорослих щурів-самців Спрегью-Доулі було анестезовано шляхом внутрішньочеревного вливання пентоетилбарбітурової кислоти з розрахунку 50мг/кг ваги. Після досягнення повної анестезії за допомогою трахеометричної канюлі і катетерів виконали імплантацію в сонну артерію та яремну вену. Після 15-хвилинного відновлення в момент часу 0 брали пробу крові. Підсилювач секреції гіпофіза вводили внутрішньовенне, проби крові тримали на льоді протягом 15 хвилин, після чого центрифугували протягом 2 хвилин при 12.000об/хв. Сироватку декантували і за допомогою стандартного RIA визначали кількість гормону росту.

Далі винахід ілюструється прикладами, котрі ні в якому разі не можуть обмежувати коло застосування винаходу, передбаченого його ФОРМУЛОЮ.

Сполуку, приготування якої описується у наступному прикладі, виділено як сіль трифтороцтової кислоти (TFA).

Приклад 1

Приготування 2(B)-2-((3-Амінометилбензоїл)-N-Me-D-2Nal-Nal-Me)-3-фенілпропанолу.



165.7мг Вос-N-Me-D-2Nal-OH та 165.2мг (R)-метиламіно-3-феніл-пропан-1-іл(виготовленого з H-N-Me-D-Phe-OH згідно з McKennon, M. J.; Meyers, A. J. Абод. Chem. 1993, 58, 3568-71) та 68.1мг HO При розчиняли в суміші 2мл DMF та 4мл DCM при 0°C. Додавали 115мг EDAC та суміш помішували протягом 1Н при 0°C та після цього протягом 18 год. при кімнатній температурі.

Далі, перед добавленням 50мл of EtOAc, DCM видаляли з суміші потоком азоту, і результативний розчин екстрагували послідовно з 100мл 5% водного розчину NaHCO₃, 100мл H₂O, 100мл 5% водного розчину KHSO₄ та 100мл H₂O. Результативну органічну фазу висушували Na₂SO₄ та концентрували в вакуумі на роторному випарювальному апараті до отримання маслоподібної речовини.

502.6мг 3-Вос-амінометилбензойної кислоти розчиняли в 10мл DCM шляхом додавання 2 краплин DMF і далі перетворювали в симетричний ангідрид шляхом помішування з 191.6мг EDAC протягом 10 хвилин.

До цієї суміші добавляли розчин згаданого ліофілізованого 2(R)-(H-N-Me-D2Nal-N-Me)-3-фенілпропанолу та 342мкл DIEA в 5мл DCM та продовжували реакцію протягом 20Н при кімнатній температурі. Суміш реакції після цього концентрували до здобуття маслоподібної речовини та повторно розчиняли в 50мл EtOAc. Здобутий розчин екстрагували послідовно зі 100мл 5% водного розчину NaHCO₃, 100мл H₂O, 100мл 5% водного розчину KHSO₄ та 100мл H₂O. Результативну органічну фазу висушували з Na₂SO₄ та концентрували у вакуумі на роторному випарювальному апараті до здобуття маслоподібної речовини. Маслоподібну речовину після цього розчиняли в 4мл DCM / TFAу співвідношенні 1:1 та помішували. По 10 хвилинах суміш концентрували потоком азоту та результативну маслоподібну речовину повторно розчиняли в 20мл 70% CH₃CN / 0.03M HCl та до розчину добавляли 480мл H₂O. Сирий продукт після цього очищали за допомогою напівпрепаративної хроматографії HPLC за сім погонів на 25мм x 250мм-ⁱⁱ колонці, впакованій 7μ- C-18 силікагелевим матеріалом, котрий завчасно врівноважили 28%-им CH₃CN в 0.05M (NH₄)₂SO₄, pH якого було доведено до 2,5 за допомогою 4M H₂SO₄.

Колонку елюювали з використанням градієнту 28% - 38% CH₃CN в 0.05M (NH₄)₂SO₄, при pH2,5, швидкості 10мл/хвилин протягом 47 хвилин та 40°C; фракції, що вміщують пептид, було зібрано, розбавлено 3 об'ємними частками H₂O та оброблено за допомогою картриджа Sep-Pak® C18 (Waters part #:51910), який збалансували з 0.1% TFA. Пептид елюювали з картриджа Sep-Pak® 70% CH₃CN 0,1% TFA та відділяли з елюату шляхом ліофілізування після розбавлення водою.

Кінцевий продукт характеризували за допомогою аналітичної хроматографії RP-HPLC (час утримування) та мас-спектрометрії десорбції плазми (молекулярна маса). Спектрометрія мас узгоджується із очікуваною структурою в межах експериментальної похибки методу (за результатами спектрометрії мас. ± 0.9 атомних одиниць маси).

Хроматографічний аналіз RP-HPLC виконували з використанням УФ-детектування при 214nm та C-18-силікагелевої колонки Vydac 218TP54, 4.6мм x 250мм, 5μ (The Separations Group, Hesperia), елюювання відбувалося при швидкості 1мл/хвил. Та температурі 42°C. Використовувалося два різних режими елюювання:

A1: Колонку врівноважували 5%-им CH₃CN в буфері, що являв собою 0.1M (NH₄)₂SO₄, pH якого було доведено до 2,5 за допомогою 4M H₂SO₄, та елюювали при градієнті CH₃CN від 5% до 60% в тому ж самому буфері протягом 50 хвилин.

В1: Колонку врівноважували 5% CH₃CN / 0.1% TFA / H₂O та елюювали при градієнті від 5% CH₃CN / 0.1% TFA / H₂O до 60% CH₃CN / 0.1% TFA / H₂O протягом 50 хвилин.

Виявлений час утримування з використанням режимів А1 та В1 становить відповідно 29,90 хвилин та 31,52 хвилин.

Синтез 3-Вос-амінометилбензойної кислоти

25г 3-цианобензойної кислоти розчиняли в 70мл 25% NH₃/H₂O, і під азотною атмосферою добавляли 200мл H₂O та 5г 10% Pd/C. Суміш гідрогенізували під атмосферним тиском при кімнатній температурі, при цьому поступово доводячи рН до 10.5 шляхом додавання 12% NH₃/H₂O. Після абсорбції близько 41 H₂, протягом 18г, реакцію було припинено та каталізатор видалено за допомогою фільтрування. Фільтрат концентрували в вакуумі до об'єму 20мл, і вихідний матеріал, що не прореагував, видаляли шляхом екстрагування з етилацетатом після підкислювання 200мл 1.5М хлористоводневої (соляної) кислоти. Фазу водного розчину концентрували до сухості та повторно розчинювали в 400мл THF та 343мл 1М NaOH. Добавляли розчин 30г Вос-ангідриду в 100мл THF, і суміш помішували протягом доби (через ніч). Після цього суміш реакції підкислювали до рН 3 N HCl та екстрагували 3x300мл EtOAc. Органічну фазу випаровували до піноподібної кондиції. Вихід становив 22г.

Скорочення:

r.t. кімнатна температура

EDAC: N-етил-N'-(3-діметиламінопропіл)-карбодіімід гідрохлорид

EtOAc: етилацетат

Вос: t-бутилоксикарбоніл

N-Me-D-2NaI: N-метил-D-2-нафтиланін

DCM: дихлорометан

DIEA: діізпропілетиламін

DMF: N,N-діметилформамід

НОПри: 1-гідрокси-7-азабензотріазол

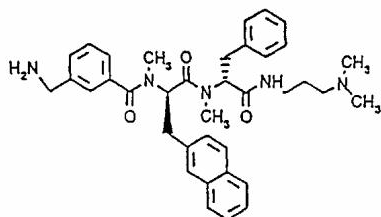
N-Me-D-Phe-ол: N-метил-D-фенілапанінол

TFA: трифтороцтова кислота

THF: тетрагідрофуран

Приклад 2

3-((3-Амінометилбензоїл))- N-Me-D-2NaI-N-Me-D-Phe-NH)-N,N-диметиламінопропан



Вос-N-Me-D-Phe-OH (279мг) розчиняли в DMF (4мл) та помішували 10 хвилин із HOBt (168мг) та EDAC (230мг). Добавляли 3-Діметиламіно-1-пропіламін (188мкл), і суміш помішували 18 год при кімнатній температурі. Після цього добавляли 5% водний розчин гідрокарбонату натрію (50мл) та результативну суміш екстрагували із EtOAc (50мл) і органічну фазу висушували над Na₂SO₄ та концентрували в вакуумі до здобуття маслоподібної речовини.

Цю маслоподібну речовину помішували протягом 10 хвилин при кімнатній температурі з TFA/DCM 1:1(6мл). Після цього TFA / DCM випаровували потоком азоту та здобуту масляну речовину розчиняли в суміші 70% CH₃CN (10мл), 1 N HCl (3мл) та води (37мл), і результативну суміш було негайно заморожено та ліофілізовано.

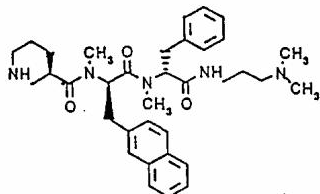
Після ліофілізації продукт розчиняли в DMF (6мл) та DCM (12мл). До цієї суміші добавляли при помішуванні Вос-N-Me-D-2NaI-OH (494мг), HOAt (204мг), DIEA (171мкл) та - після охолодження до 0°С - EDAC (288мг). Після помішування протягом 18г при кімнатній температурі DCM випаровували потоком азоту та добавляли EtOAc (100мл). Цю суміш екстрагували двічі 5% водним розчином гідрокарбонату натрію (100мл) та водою (100мл) та висушено над Na₂SO₄ та концентрували в вакуумі до здобуття маслоподібної речовини (480мг). Цю масляну речовину помішували 10 хвилин при кімнатній температурі із TFA / DCM 1:1 (6мл). Далі TFA/DCM випаровували потоком азоту та результативне масло розчиняли в 70% CH₃CN (10мл). Добавляли 1N-HCl (1мл) та воду (47мл), і результативну суміш негайно заморожували та ліофілізували до здобуття маслоподібної речовини (2 HCl, H-N-Me-D-2NaI-N-Me-D-Phe-NH-(CH₂)₃-N(CH₃)₂). Половину об'єму згаданої масляної речовини (2 HCl, H-N-Me-D-2NaI-N-Me-D-Phe-NH-(CH₂)₃-N(CH₃)₂) розчиняли в DCM (9мл) та добавляли 2 краплі DMF та DIEA (342мкл). Цей розчин добавляли до розчину Вос-SAMB-OH (503мг) та EDAC (192мг) в DCM (5мл), які перемішували протягом 15 хвилин при кімнатній температурі. Після помішування на протязі 20г суміш реакції концентрували до здобуття маслоподібної речовини за допомогою азотного потоку і перемішували протягом 15 хвилин із 5% водним розчином гідрокарбонату натрію (100мл).

Після цього добавляли EtOAc (50мл), органічна фаза відділяли та екстрагували з 5% водним розчином гідрокарбонату натрію (100мл) та водою (100мл), і після цього висушували над Na₂SO₄ та концентрували в вакуумі до здобуття маслоподібної речовини (340мг). Цю масляну речовину помішували 10 хвилин при кімнатній температурі з TFA/DCM у співвідношенні 1:1 (6мл). Далі TFA/DCM випаровували потоком азоту та результативне масло розчиняли в 70%-ому CH₃CN (10мл) і розбавляли водою до кінцевого об'єму 50мл. Сирий продукт очищали за допомогою напівпрепаративної хроматографії HPLC за вісім прогонів та ліофілізували за допомогою процедур, аналогічних тим, що описані прикладі 1. Здобутий кінцевий продукт вивчали за допомогою аналітичної хроматографії RP-HPLC (час утримування) та мас-спектрометрії десорбції

плазми (молекулярна маса). Отримана молекулярна маса (MH^+ :608,2 атомних одиниць маси) узгоджується з очікуваною структурою (теор. MH^+ 608,8 атомних одиниць маси), в межах експериментальне допустимої похибки методу. Час утримування RP-HPLC з використанням режимів елюювання A1 та B1, описаних в прикладі 1, становив відповідно 25.23 та 26.58 хвилин.

Приклад 3

3-(((3R)-3-Піперидинкарбоніл)-N-Me-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH)-1-N,N-диметиламінопропан



Половина 2 HCl, H-N-Me-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH-(CH₂)₃-N(CH₃)₂, здобутого як масляна речовина в прикладі 2, розчиняли в DCM (9мл) та 2 краплинах DMF, і добавляли DIEA (342мкл).

Цей розчин добавляли до розчину Вос-{B}-ніпекотової кислоти (459мг) та EDAC (192мг) в DCM (5мл), який перед цим перемішували протягом 15 хвилин при кімнатній температурі.

Після помішування на протязі 20г суміш реакції концентрували до здобуття маслоподібної речовини потоком азоту та помішували протягом 15 хвилин із 5%-им водним розчином гідрокарбонату натрію (100мл).

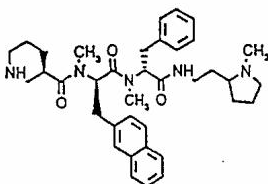
Після цього добавляли EtOAc (50мл), органічну фазу відділяли та екстрагували з 5%-им водним розчином гідрокарбонату натрію (100мл) та водою (100мл), далі висушували над Na₂SO₄ та концентрували в вакуумі до здобуття маслоподібної речовини.

Цю масляну речовину помішували 10 хвилин при кімнатній температурі з TFA/DCM 1:1 (6мл). Далі TFA/DCM випаровували потоком азоту, і результативну масляну речовину розчиняли в 70% CH₃CN (10мл) та розбавляли водою до кінцевого об'єму 50мл. Цей сирий продукт після цього очищали за допомогою напівпрепаративної хроматографії HPLC за п'ять прогонів та ліофілізували за допомогою процедур, аналогічних описаним в прикладі 1.

Здобутий кінцевий продукт вивчали за допомогою аналітичної хроматографії RP-HPLC (час утримування) та мас-спектрометрії десорбції плазми (молекулярна маса). Отримана молекулярна маса (MH^+ :586,3 атомних одиниць маси) узгоджується з очікуваною структурою (теор. MH^+ 585.8 атомних одиниць маси), в межах експериментальне допустимої похибки методу. Час утримування RP-HPLC з використанням режимів елюювання A1 та B1, описаних в прикладі 1, становив відповідно 25,33 та 26,35 хвилин.

Приклад 4

2-(((3R)-3-Піперидинкарбоніл)-N-Me-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH)-1-(1-метил-2-піролідиніл)етан



Вос-N-Me-D-Phe-OH (279мг) розчиняли в DMF (10мл) та помішували 10 хвилин з HOBT (168мг) та EDAC (384мг). Добавляли 2-(Аміноетил)-1-метил-піролідін (290мкл) та DIEA (171мкл), і суміш помішували протягом 20 Н при кімнатній температурі. Після цього суміш концентрували до здобуття маслоподібної речовини, яку розчиняли в 50мл води та ліофілізували. Продукт повторно розчиняли в 25мл водою та після цього подавали на картридж Sep-Pak® C18 Waters (час утримування). #:43345), який врівноважували 0,03 N соляною кислотою. Продукт елювали на Sep-Pak® із 70% CH₃CN в 0,03 N соляною кислотою та відділяли з елюату за допомогою ліофілізування після розбавлення водою. Результативний матеріал помішували протягом 10 хвилин при кімнатній температурі з TPA/DCM 1:1 (6мл). Після цього TFA/DCM випаровували потоком азоту та результативну масляну речовину розчиняли в 70% CH₃CN (10мл) та добавляли 1 N соляної кислоти (2мл). Після розбавлення водою (50мл) продукт відділяли за допомогою ліофілізування. Результативний матеріал розчиняли в DMF (3мл) та помішували 18 Н при кімнатній температурі після добавлення Вос-N-Me-D-2Nal-OH (329мг), HOAt (136мг), EDAC (230мг) та DIEA (171мкл). Далі добавляли EtOAc (50мл) та цю суміш екстрагували з 5%-им водним розчином гідрокарбонату натрію (50мл), з 5%-им водним розчином гідросульфату калію (50мл) та з водою (50мл). Органічну фазу висушували сульфатом натрію та концентрували в вакуумі до здобуття маслоподібної речовини.

Цю масляну речовину перемішували 10 хвилин при кімнатній температурі з TFA/DCM 1:1 (6мл). Після цього TFA/DCM випаровували потоком азоту та результативне масло розчиняли в 70% CH₃CN (10мл) і добавляли 1 N соляної кислоти (3мл). Продукт відділяли за допомогою ліофілізування після розбавлення водою цього розбавлення водою (50мл).

286мг цього ліофілизованого продукту розчиняли в DCM (15мл) та DIEA (171"1). Цей розчин добавляли до розчину Вос-(R)-ніпекотової кислоти (459мг) та EDAC (192мг) в DCM (10мл), які перемішували перед цим протягом 25 хвилин при кімнатній температурі.

Після помішування на протязі 20Н суміш реакції концентрували до здобуття маслоподібної речовини потоком азоту, після чого повторно розчиняли в EtOAc (100мл) та екстрагували з 5%-им водним розчином гідрокарбонату натрію (50мл), з 5%-им водним розчину гідросульфату калію (50мл) та з водою (50мл). Органічну фазу висушували сульфатом натрію та концентрували в вакуумі до здобуття маслоподібної речовини.

Цю масляну речовину помішували 10 хвилин при кімнатній температурі з TFA/DCM 1:1 (6мл). Далі

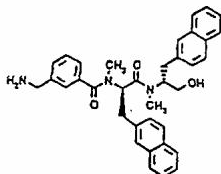
TPA/DCM випаровували потоком азоту та результативне масло розчиняли в 70% CH₃CN (10мл) та розбавляли водою до кінцевого об'єму 50мл.

Далі цей сирий продукт очищали за допомогою напівпрепаративної хроматографії HPLC за три прогони і ліофілізували за допомогою процедур, аналогічних описаним у прикладі 1. Здобутий кінцевий продукт вивчали за допомогою аналітичної хроматографії RP-HPLC (час утримування) та мас-спектрометрії десорбції плазми (молекулярна маса). Отримана молекулярна маса (MH⁺: 612,2 атомних одиниць маси) узгоджується з очікуваною структурою (теор. MH⁺: 612,39 атомних одиниць маси), в межах експериментально допустимої похибки методу.

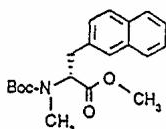
Час утримування RP-HPLC з використанням режиму елюювання A1, описаного в прикладі 1, становив 25,80 хвилин.

Приклад 5

(2R)-2-((3-Амінометилбензоїл)-N-Me-D-2Nal-N-Me)-3-(2-нафтил)пропанол

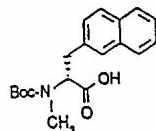


(R)-2-(N-трет-Бутоксикарбоніл-N-метиламіно)-3-(2-нафтил) пропіонової кислоти складний метиловий ефір.



(R)-2-(N-трет-Бутоксикарбоніл-N-метиламіно)-3-(2-нафтил)- пропіонову кислоту (5,0г, 16,4ммол) розчиняли в сухому DMF (50мл). Добавляли йодометан (6,2мл, 98,4ммол) та оксид срібла(I) (13,3г; 57,4ммол), і суміш перемішували протягом доби. Суміш реакції фільтрували та фільтрат екстрагували з метиленхлоридом (200мл). Органічну фазу промивали with цианідом калію (2x50мл; 5%) та водою (3x75мл). Далі органічну фазу висушували (MgSO₄) та розчинник видаляли в вакуумі. Залишок (осад) піддавали хроматографічній обробці (Силікагель, 5x40см) з використанням етилацетату та гептану (1:2) як елюента, здобуваючи 4,98 г of (R) 2-(N-трет-Бутоксикарбоніл-N-метиламіно)-3-(2-нафтил) пропіонової кислоти складний метиловий ефір.

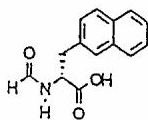
¹H-NMR (COCl₂): 1.30, 1.35 (два s, 9H); 2.71, 2.75 (два s, 3H); 3.19, 3.47 (два m, 35 2H); 3.74, 3.77 (два s, 3H); 4.65, 5.05 (два dd, 1H), 7.29-7.82 (m, 7H) (суміш ротамерів) (P)-2-{N-трет-Бутоксикарбоніл-N-метиламіно)-3-(2-нафтил)пропіонова кислота.



(R)-2-(N-трет-Бутоксикарбоніл-N-метиламіно)-3-(2-нафтил) пропіонової кислоти складний метиловий ефір (21,73г; 65,57ммол) розчиняли в 1,4-діоксані (200мл) та добавляли воду (20мл). Суміш реакції охолоджували в водяній ванні та добавляли гідроксид літію (1,73г; 72,13ммол). Через 15 хвилин добавляли воду (140мл), і суміш реакції після цього додатково помішували 3 години при кімнатній температурі. Добавляли етилацетат (400мл) та воду (300мл), і pH доводили до 2,5 з використанням підросульфату натрію 1M (110мл). Фази розділили, і фазу водного розчину екстрагували з етилацетатом (200мл). Комбіновані органічні фази промивали водою (300мл), висушували (MoSO₄), і розчинник видаляли в вакуумі, здобуваючи 20,1г при (R) 2-(N-трет-Бутоксикарбоніл-N-метиламіно)-3-(2-нафтил) пропіонової кислоти.

H-NMR (DMSO) 1.18, 1.21 (два s, 9H), 2.62, 2.66 (два s, 3H); 3.11-3.58 (m, 2H); 4.75, 4.90 (два dd, 1H), 7.48-7.88 (m, 7H); 1.85 (s (br), 1H)(суміш ротамерів)

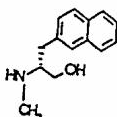
(R)2-Форміламіно-3-(2-нафтил)пропіонова кислота.



(R)-2-аміно-3-(2-нафтил) пропіонову кислоту (18,11г, 84,14ммол) розчиняли в мурашиній кислоті (204мл) та по краплинах добавляли ангідрид оцтової кислоти (70мл). Суміш реакції нагрівали to 55°C та помішували 3½ години при кімнатній температурі. По краплинах добавляли льодяну воду (70мл) та помішували при 0°C протягом 20 хвилин. Суміш реакції фільтрували та промивали льодяною водою (20мл), здобуваючи 20,26г (R) 2-форміламіно-3-(2-нафтил) пропіонової кислоти.

¹H-NMR (DMSO): 3.05 (dd, 1H); 3.27 (dd, 1H); 4.64 (m, 1H); 7.48-7.87 (m, 7H); 7.95 (s, 1H), 8.45 (d, 1H); 12.9 (s (br), 1H).

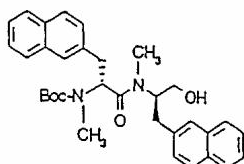
(B)-Метиламіно-3-(2-нафтил) пропан-1 -ол.



(R)-2-Форміламіно-3-(2-нафтил)пропіонову кислоту (4,37г; 18ммол) розчиняли в сухому тетрагідрофурани (100мл) і добавляли борогідрид натрію (1,6г; 43,2ммол). Іод (4,57г; 18ммол) розчиняли в сухому тетрагідрофурани (40мл) і по краплинах добавляли до суміші реакції при температурі, що не перевищувала 40°C. Після цього добавлення суміш реакції нагрівали до температури флегми (зі зворотним охолодженням) протягом 12 годин. Добавляли гідроксид калію (50мл, 20%). Фазу водного розчину екстрагували зі складним метил-третбутиловим ефіром (4x50мл). Комбіновані органічні шари промивали насиченим хлоридом натрію (150мл), висушували (MgSO₄), і розчинник видаляли в вакуумі. Залишок (осад) піддавали хроматографічній обробці (Silica: 5x40см) з використанням DCM/ метанол/аміаку (100:10:1), здобуваючи 1,81г (R) метиламіно-3-(2-нафтил)пропан-1-олу.

¹H-NMR (CDCl₃): 2,43 (s, 3H); 2,88-3.05 (m, 3H); 3,10 (s (br), 2H); 3,42 (dd, 1H); 3,69 (dd, 1H); 7,30-7,82 (m, 7H).

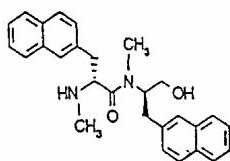
N-((1 R)-1 -[N-((1 R)-2-Гідрокси-1 -((2-нафтил)метил)етил)-N-метилкарбамоїл]-2-(2-нафтил)етил]-N-метилкарбамінової кислоти складний трет-бутиловий ефір



(R)-(N-7рет-Бутоксикарбонш-N-метиламіно)-3-(2-нафтил) пропіонову кислоту (0,55г, 1,67ммол) та (R) метиламіно-3-(2-нафтил) пропан-1-іл (0,38г, 2,00ммол) розчиняли в метиленхлориді (15мл) та диметилформаміді (7.5мл). Суміш реакції охолоджували на льодяній ванні. Добавляли 1-Гідрокси-7-азабензотріазол (0,24г; 2,09ммол) та N-(3-диметиламінопропіл)-N'-етилкарбодіімід гідрохлорид (0,38г; 2,0ммол). Суміш реакції помішували 12 годин при кімнатній температурі. Далі суміш реакції концентрували в вакуумі. Добавляли етилацетат (200мл), і органічний розчин промивали водою (100мл), гідрокарбонатом натрію/карбонатом натрію (pH 9) (75мл), гідросульфатом натрію (75мл, 10%), водою (100мл) і висушували (MgSO₄). Розчинник видаляли в вакуумі, і залишок (осад) піддавали хроматографічній обробці (Silica, 2x45см) з використанням етилацетату, здобуваючи 0,25g of N-((1R)-1-(N-[(1R)-2-гідрокси-1-((2-нафтил)метил)етил]-N-метилкарбамоїл]-2-(2-нафтил)етил)-N-метилкарбамінової кислоти складний трет-бутиловий ефір.

¹H-NMR (DMSO): 0.80-1.99 (декілька s, 9H); 2.45-4.20 (m, 12 H); 4.70-5.12 (m, 2H) (вибрані пікові значення, суміш ротамерів)

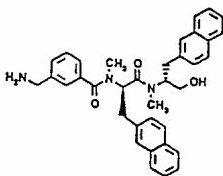
(2R)-N-((1R)-2-гідрокси-1-((2-нафтил)метил)етил)-N-метил-2-метиламіно-3-(2-нафтил)пропіонамід.



N-((1 R)-1-(N-[(1 R)-2-гідрокси-1-((2-нафтил)метил)етил)-N-метилкарбамоїл]-2-(2-нафтил)етил)-N-метилкарбамінової кислоти складний трет-бутил ефір (0,25г; 0,475ммол) розчиняли в DCM (3мл). Добавляли трифторооцтову кислоту (1мл), і суміш реакції помішували протягом 20 хвилин. Розчинник видаляли в вакуумі. DCM (5мл) добавляли та видаляли в вакуумі, і операцію повторювали. Залишок (осад) розчиняли в метанолі (5мл). Добавляли гідрокарбонат натрію /карбонат натрію (5мл; pH9), і розчин екстрагували з етилацетатом (2x10мл). Органічну фазу висушували (MgSO₄), розчинник видаляли, здобуваючи 0,22г (2R)-N-((1 R)-2-гідрокси-1-((2-нафтил)метил)етил)-N-метил-2-метиламіно-3-(2-нафтил)пропіонамід.

¹H-NMR (CDCl₃): 170, 2.37, 2.45, 2.93 (чотири s, 6H); 2.56-3.05 (m, 2H), 3.52-3.85 (m, 7H); 4.25, 4.97 (два m, 1H), 6.86-7.78 (m, 14H) (вибрані пікові значення, суміш ротамерів).

(2R)-2-((3-Амінометилбензоїл)-N-Me-D-2NaI-N-Me)-3-(2-нафтил)пропанол



3-Вос-амінометилбензойну кислоту (502.6мг) розчиняли в DCM (6мл) та після цього перетворювали в симетричний ангідрид, помішуючи з EDAC (191.6мг) протягом 15 хвилин.

До цієї суміші добавляли розчин (2R)-N-((1 R)-2-гідрокси-1 -((2-нафтил)метил)етил)-N-метил-2-метиламіно-3-(2-нафтил)пропіонамід (200мг) в DCM (5мл), після чого реакція тривала протягом 20 Н при кімнатній температурі.

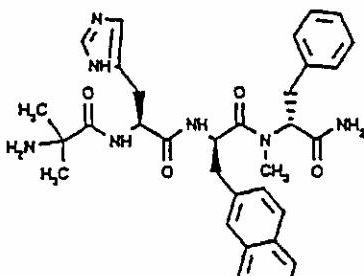
Суміш реакції далі концентрували до здобуття маслоподібної речовини та повторно розчинювали в EtOAc (100мл). Цей розчин екстрагували послідовно з 5% водним розчином NaHCO₃ (2x50мл), 5% водним розчином KHSO₄ (2x50мл) та H₂O (2x50мл). Результативну органічну фазу висушували Na₂SO₄ та концентрували в вакуумі на ротормому випарювальному апараті до здобуття маслоподібної речовини. Маслоподібну речовину після цього розчиняли в DCM / TFA 1:1 (6мл) та помішували. По 10 хвилинах суміш концентрували потоком азоту та результативне масло повторно розчиняли в 70% CH₃CN / 0.1% TFA (5мл) і розбавляли водою до об'єму 100мл.

Цей сирий продукт далі очищали за допомогою напівпрепаративної хроматографії HPLC за два прогони та ліофілізували за допомогою процедур, аналогічних тим, що описані в прикладі 1.

Здобутий кінцевий продукт вивчали за допомогою хроматографічного аналізу RP-HPLC (час утримування) та мас-спектрометрії десорбції плазми (молекулярна маса). Отримана молекулярна маса (MH^+ : 559,5 атомних одиниць маси) узгоджується з очікуваною структурою (теор. MH^+ 560,72 атомних одиниць маси) в межах експериментальної похибки методу.

Час утримування RP-HPLC з використанням режимів елюювання A1 та B1, описаних в ПРИКЛАДІ 1, становив відповідно 33,07 та 34,63 хвилин.

Приклад 6 H-Aib-His-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH₂

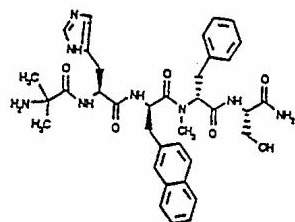


Пептид синтезували згідно зі схемою Fmoc на пептидному синтезаторі Applied Biosystems 431A, калібровка 0.22ммоль, з використанням запропонованих виробником FastMoc УФ-протоколів, застосовуючи проміжні зв'язки HBTU для ЯМР і УФ-моніторинга депротектування захисної Fmoc-групи. Для синтезування користувалися вихідною смолою кат.#: D-1675 виробництва фірми Bachem Feinchemikalien AG, Bubendorf, Switzerland (427мг), що являє собою Fmoc-2,4-диметилокси-4'-(карбоксиметилокси)-бензгідріл-амін, приєднаний до аміно-метил-полістиренової смоли через амідний зв'язок. Ємність (продуктивність) замішування становила 0,55ммоль/г. Використовували такі захищені похідні амінокислот, як Fmoc-N-Me-D-Phe-OH, Fmoc-D-2Nal-OH, Fmoc-His(Trt) та Fmoc-Aib-OH. Хімічний зв'язок Fmoc-N-Me-D-Phe-OH реалізовано як подвійний зв'язок. Після синтезування пептид гідролізували з 750мг пептидної смоли шляхом перемішування протягом 180 хвилин при кімнатній температурі із сумішю 8мл TFA, 600мг фенолу, 200мкл етандітолу, 400мкл тіанізолу і 400мкл H₂O. Гідролізовану суміш фільтрували, і фільтрат концентрували до близько 2мл потоком азоту. З цієї масляної речовини за допомогою 50мл діетиленфіру осаджували сирий пептид і 2 рази промивали його також 50мл діетиленфіру. Сирий пептид просушували і очищали напівпрепаративною хроматографією HPLC за один прогон і ліофілізували з використанням процедур, аналогічних описаним в прикладі 1.

Здобутий кінцевий продукт вивчали за допомогою хроматографічного аналізу RP-HPLC (час утримування) та мас-спектрометрії десорбції плазми (молекулярна маса). Отримана молекулярна маса (MH^+ : 598,5 атомних одиниць маси) узгоджується з очікуваною структурою (теор. MH^+ 598,73 атомних одиниць маси) в межах експериментальної похибки методу.

Час утримування RP-HPLC з використанням режимів елюювання A1 та B1, описаних в прикладі 1, становив відповідно 24, 68 та 25,58 хвилин.

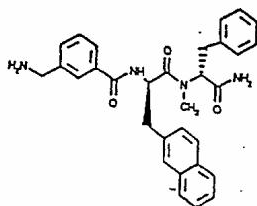
Приклад 7 H-Aib-His-D-2Nal-N-Me-D-Phe-Ser-NH₂



Цю сполуку синтезували за допомогою процедур, аналогічних описаним в прикладі 6. Здобутий кінцевий продукт вивчали за допомогою хроматографічного аналізу RP-HPLC (час утримування) та мас-спектрометрії десорбції плазми (молекулярна маса). Отримана молекулярна маса (MH^+ : 685,6 атомних одиниць маси) узгоджується з очікуваною структурою (теор. MH^+ 685,81 атомних одиниць маси) в межах експериментальної похибки методу.

Час утримування RP-HPLC з використанням режимів елюювання A1 та B1, описаних в прикладі 1, становив відповідно 24.42 та 25.92 хвилин.

Приклад 8 (3-Амінометилбензоїл)-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH₂



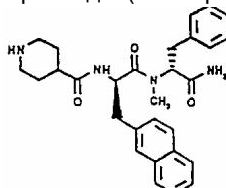
Цю сполуку синтезували за допомогою процедур, аналогічних описаним в прикладі 6. Єдиним винятком було те, що зв'язування Fmoc-D-2Nal-OH здійснювалося з використанням HATU як активуючого реагенту. H-N-Me-D-Phe-смола (0.23ммоль) протягом 150 хвилин сполучали з 1ммоль Fmoc-D-2Nal-OH, з використанням

1ммол НАТУ в присутності DIEA (2ммол).

Здобутий кінцевий продукт вивчали за допомогою хроматографічного аналізу RP-HPLC (час утримування) та мас-спектрометрії десорбції плазми (молекулярна маса). Отримана молекулярна маса (MH^+ : 511,2 атомних одиниць маси) узгоджується з очікуваною структурою (теор. MH^+ 509,6 атомних одиниць маси) в межах експериментальної похибки методу.

Час утримування RP-HPLC з використанням режимів елюювання A1 та B1, описаних в прикладі 1, становив відповідно 30,73 та 32,47 хвилин.

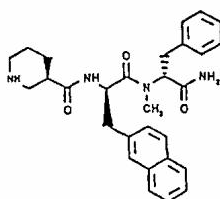
Приклад 9 (4-Піперидинкарбоніл)-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH₂



Цю сполуку синтезували з використанням процедур, аналогічних описаним в ПРИКЛАДІ 8. Здобутий кінцевий продукт вивчали за допомогою хроматографічного аналізу RP-HPLC (час утримування) та мас-спектрометрії десорбції плазми (молекулярна маса). Отримана молекулярна маса (MH^+ : 486,8 атомних одиниць маси) узгоджується з очікуваною структурою (теор. MH^+ 487,6 атомних одиниць маси) в межах експериментальної похибки методу.

Час утримування RP-HPLC з використанням режимів елюювання A1 та B1, описаних в прикладі 1, становив відповідно 27,03 та 28,48 хвилин.

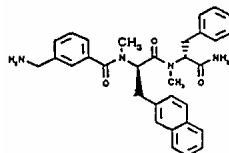
Приклад 10 ((3P)-3-Піперидинкарбоніл)-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH₂



Цю сполуку синтезували з використанням процедур, аналогічних описаним в прикладі 8. Здобутий кінцевий продукт вивчали за допомогою хроматографічного аналізу RP-HPLC (час утримування) та мас-спектрометрії десорбції плазми (молекулярна маса). Отримана молекулярна маса (MH^+ : 486,9 атомних одиниць маси) узгоджується з очікуваною структурою (теор. MH^+ 487,6 атомних одиниць маси) в межах експериментальної похибки методу.

Час утримування RP-HPLC з використанням режимів елюювання A1 та B1, описаних в прикладі 1, становив відповідно 28,03 та 29,50 хвилин.

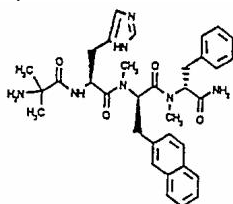
Приклад 11 (3-Амінометилбензоїл)-N-Me-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH₂



Цю сполуку синтезували з використанням процедур, аналогічних описаним в прикладі 8, за винятком того, що останній залишок (осад) вводиться з використанням симетричного ангідридного сполучення. Вос-3-Амінометилбензойну кислоту (251мг) помішували протягом 15 хвилин з EDAC (96мг) в DCM. Після цього добавляли смолу (429мг) і продовжували помішування протягом 18 год. Інша відміна полягає в тому, що витрачуваний на гідроліз з відділенням пептиду від смоли час було зменшено до 60 хвилин. Здобутий кінцевий продукт вивчали за допомогою хроматографічного аналізу RP-HPLC (час утримування) та мас-спектрометрії десорбції плазми (молекулярна маса). Отримана молекулярна маса (MH^+ :522,9 атомних одиниць маси) узгоджується з очікуваною структурою (теор. MH^+ 523,6 атомних одиниць маси) в межах експериментальної похибки методу.

Час утримування RP-HPLC з використанням режимів елюювання A1 та B1, описаних в прикладі 1, становив відповідно 28,83 та 30,13 хвилин.

Приклад 12 H-Aib-His-N-Me-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH₂

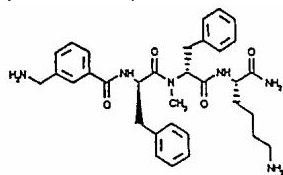


Цю сполуку синтезували з використанням процедур, аналогічних описаним в ПРИКЛАДІ 8; в цьому прикладі як для Fmoc-N-Me-D-2Nal-OH, так і для Fmoc-His(Trt) сполучення реалізовано з використанням НАТУ, і витрачуваний на гідроліз з відділенням пептиду від смоли час було зменшено до 60 хвилин. Здобутий кінцевий продукт вивчали за допомогою хроматографічного аналізу RP-HPLC (час утримування) та мас-спектрометрії десорбції плазми (молекулярна маса). Отримана молекулярна маса (MH^+ :612,3 атомних

одиниць маси) узгоджується з очікуваною структурою (теор. MH^+ :612,8 атомних одиниць маси) в межах експериментальної похибки методу.

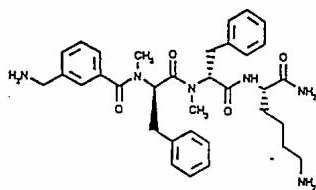
Час утримування RP-HPLC з використанням режимів елювання A1 та B1, описаних в прикладі 1, становив відповідно 24,33 та 26,20 хвилин.

Приклад 13 (3-Амінометилбензоїл)-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH₂



Цю сполуку синтезували з використанням процедур, аналогічних описаним в прикладі 8. Здобутий кінцевий продукт вивчали за допомогою хроматографічного аналізу RP-HPLC (час утримування) та мас-спектрометрії десорбції плазми (молекулярна маса). Отримана молекулярна маса (MH^+ :587,2 атомних одиниць маси) узгоджується з очікуваною структурою (теор. MH^+ :586,74 атомних одиниць маси) в межах експериментальної похибки методу. Час утримування RP-HPLC з використанням режимів елювання A1 та B1, описаних в прикладі 1, становив відповідно 21,13 та 22,60 хвилин.

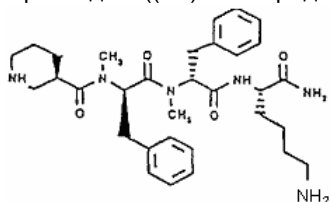
Приклад 14 (3-Амінометилбензоїл)-N-Me-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH₂



Цю сполуку синтезували з використанням процедур, аналогічних описаним в прикладі 11. Здобутий кінцевий продукт вивчали за допомогою хроматографічного аналізу RP-HPLC (час утримування) та мас-спектрометрії десорбції плазми (молекулярна маса). Отримана молекулярна маса (MH^+ :601,6 атомних одиниць маси) узгоджується з очікуваною структурою (теор. MH^+ :601,77 атомних одиниць маси) в межах експериментальної похибки методу.

Час утримування RP-HPLC з використанням режимів елювання A1 та B1, описаних в прикладі 1, становив відповідно 20,40 та 21,70 хвилин.

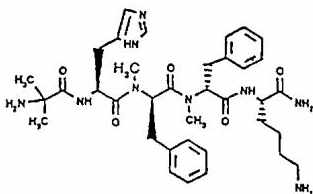
Приклад 15 ((3R)-3-Піперидинкарбоніл)-N-Me-D-Phe-N-Me-D-Phe-Lys-NH₂



Цю сполуку синтезували з використанням процедур, аналогічних описаним в прикладі 11. Здобутий кінцевий продукт вивчали за допомогою хроматографічного аналізу RP-HPLC (час утримування) та мас-спектрометрії десорбції плазми (молекулярна маса). Отримана молекулярна маса (MH^+ :579,4 атомних одиниць маси) узгоджується з очікуваною структурою (теор. MH^+ :579,8 атомних одиниць маси) в межах експериментальної похибки методу.

Час утримування RP-HPLC з використанням режимів елювання A1 та B1, описаних в прикладі 1, становив відповідно 19,88 та 21,20 хвилин.

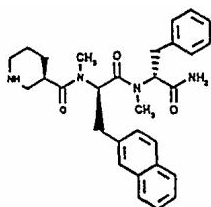
Приклад 16 H-Aib-His-N-Me-D-Phe-N-Me-D-Phe-Lys-NH₂



Цю сполуку синтезували з використанням процедур, аналогічних описаним в прикладі 12. Здобутий кінцевий продукт вивчали за допомогою хроматографічного аналізу RP-HPLC (час утримування) та мас-спектрометрії десорбції плазми (молекулярна маса). Отримана молекулярна маса (MH^+ :690,6 атомних одиниць маси) узгоджується з очікуваною структурою (теор. MH^+ :690,9 атомних одиниць маси) в межах експериментальної похибки методу.

Час утримування RP-HPLC з використанням режимів елювання A1 та B1, описаних в прикладі 1, становив відповідно 15,71 та 17,82 хвилин.

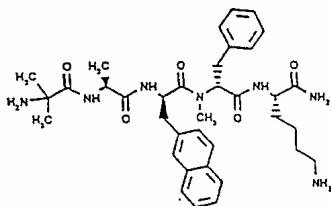
Приклад 17 ((3R)-3-Піперидинкарбоніл)-N-Me-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH₂



Цю сполуку синтезували з використанням процедур, аналогічних описаним в прикладі 11, з використанням Fmoc-N-Me-D-Phe-OH, Fmoc-N-Me-D-2Nal-OH та Вос-(R)-Ніпекотової кислоти, де сполучення як Fmoc-N-Me-D-2Nal-OH, так і Вос-(R)-Ніпекотової кислоти реалізовано з використанням HATU. Здобутий кінцевий продукт вивчали за допомогою хроматографічного аналізу RP-HPLC (час утримування) та мас-спектрометрії десорбції плазми (молекулярна маса). Отримана молекулярна маса (MH^+ :500,7 атомних одиниць маси) узгоджується з очікуваною структурою (теор. MH^+ :501,7 атомних одиниць маси) в межах експериментальної похибки методу.

Час утримування RP-HPLC з використанням режимів елювання A1 та B1, описаних в прикладі 1, становив відповідно 28,18 та 29,55 хвилин.

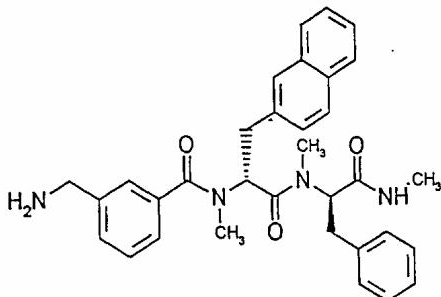
Приклад 18 H-Aib-Ala-D-2Nal-N-Me-D-Phe-Lys-NH₂



Цю сполуку синтезували з використанням процедур, аналогічних описаним в прикладі 11. Здобутий кінцевий продукт вивчали за допомогою хроматографічного аналізу RP-HPLC (час утримування) та мас-спектрометрії десорбції плазми (молекулярна маса). Отримана молекулярна маса (MH^+ :660,7 атомних одиниць маси) узгоджується з очікуваною структурою (теор. MH^+ :660,8 атомних одиниць маси) в межах експериментальної похибки методу.

Час утримування RP-HPLC з використанням режимів елювання A1 та B1, описаних в прикладі 1, становив відповідно 25,63 та 26,75 хвилин.

Приклад 19 H-3-Амінометилбензоїл-N-Me-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NH-CH₃



Вос-3АМВ-ОН (115мг, 0.458ммоль), 1-гідрокси-7-азабензотріазол (62мг, 0.458ммоль) та 1-етил-3(3-диметиламінопропіл)карбодііміду гідрохлорид (97мг, 0.504ммоль) розчиняли в DCM (8мл) та DMF (1мл) і помішували протягом 15 хвилин. Спочатку добавляли N-метил-2-метиламіно-N-((1 R)-1 -(метилкарбамоїл)-2-фенілетил)-3-(2-нафтил)пропіонамід (185мг, 0.458ммоль), розчинений в DCM (5мл), а після цього діізпропілетиламін (80мл, 0.458ммоль), і суміш помішували протягом 20 годин. Органічну фазу промивали гідрокарбонатом натрію (50мл, 5%) H₂O (50мл), насичували NaCl/H₂O (50мл), висушували сульфатом натрію та випарювали в вакуумі.

Залишок (осад) розчиняли в DCM (2мл) обробляли TFA (2мл) протягом 10 хвилин. Леткі компоненти видаляли потоком N₂. Залишок (осад) розчиняли в 50мл 20% MeCN і розбавляли водою до об'єму 500мл.

Напівпрепаративна HPLC

10мл/хвил., 5 прогонів, 30-40% MeCN/0,1M (NH₄)₂SO₄ pH2,5

Детектування 276нм, Ser-Pals, 70% MeCN/0,1% TFA, ліофілізування

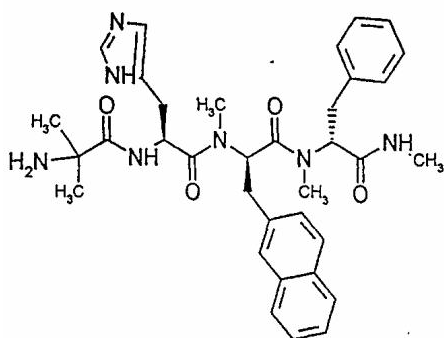
PD-MS Теор. 536,7

Експер. 535,7±1

HPLC A1 t_r (час утримування) 31,20 хвил.

B1 t_r (час утримування) 36,35 хвил.

Приклад 20 H-Aib-His-N-Me-D-2Nal-N-Me-D-Phe-NHMe



Фтос-1-His(Тритил)-ОН (1,54г, 2,48ммоль) (BACHEM B-1570) і 1-гідроксиаза-бензотріазол (338мг, 2,48ммоль) розчиняли в 9мл DMF, охолодженого до 0-4°C і добавляли 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодіїмід гідрохлорид (475мг, 2,48ммоль). Суміш реакції помішували протягом 15 хвилин при 0-4°C.

N-Метил-2-метиламін-N-((1R)-1-(Метилкарбамоїл)-2-фенілетил)-3-(2-нафтил)пропіонамід (500мг, 1,24ммоль), розчиненого в метиленхлориді (18мл), охолоджували до 0°C, потім добавляли до суміші і помішували протягом 1 години при 0-4°C, а далі додавали діізпропілетиламін (0,425мл, 2,48ммоль). Температуру суміші повільно підвищували до кімнатної, і суміш помішували після досягнення цієї температури протягом 72 годин. DCM випарювали в потоці N₂ до суміші добавляли 100мл етилацетату і промивали її гідрокарбонатом натрію (2x100мл, 5%) та гідросульфатом калію (100мл, 5%). Фази розділяли, і органічну фазу просушували сульфатом натрію та випарювали в вакуумі. Залишок (осад) розчиняли в DMF (8мл) та вводили в реакцію з піперидином протягом 15 хвилин, розбавляли з H₂O (100мл) та різко охолоджували оцтовою кислотою (1,5мл). Добавляли ацетонітрил, та суміш розбавляли H₂O до об'єму 250мл. Прозорий розчин додавали до 10 г "Sepraks" #Water, промивали H₂O/O.OS m HCl та елюювали з 50мл 35% MeCN/0,03 M HCl. Дали розбавляли H₂O до об'єму 200мл та ліофілізували.

Вос-α аміноізобутирова кислота (756мг, 3,72ммоль), 1-гідроксиазабензотріазоль гідрат (506мг, 3,72ммоль) та 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодіїмід гідрохлорид (713мг, 3,72ммоль) розчиняли в DMF (6мл) та після 15 хвилин, добавляли N-1-Ніз(Тритил)-NMeD2NaI-NMeDPhe-NHCH₃, 2 HCL розчиняли в DCM (12мл), після чого добавляли діізпропілетиламін (0,637мл) та помішували протягом 72 годин. DCM випарювали в потоці N₂, до суміші добавляли 100мл етилацетату і промивали гідрокарбонатом натрію (2x50мл, 5%) та гідросульфатом калію (50мл, 5%). Фази розділяли, і органічну фазу просушували сульфатом натрію та випарювали в вакуумі. Залишок (осад) розчиняли в DCM (6мл), охолодженому до 0-4°C, і обробляли TFA (6мл) протягом 10 хвил. при 0-4°C. Леткі компоненти видаляли потоком N₂. Масляний залишок розчиняли в 35мл 70% ацетонітрилу, розбавляли H₂O до об'єму 50мл і добавляли 10мл концентрованої соляної кислоти (12-молярної) та помішували протягом 72 годин. Суміш розбавляли водою до 200мл та нейтралізували твердим карбонатом калію, після чого остаточно розбавляли H₂O до об'єму 400мл.

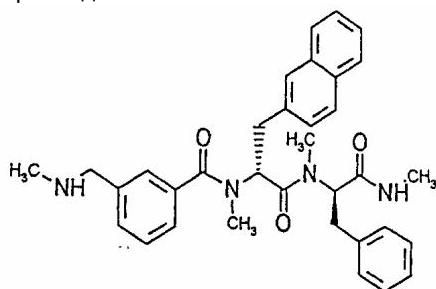
Напівпрепаративна HPLC

PD-MS, теор: 550,7, експер. 550,1

HPLC A1 t_r (час утримування). 31,75 хвил.

B1 t_r (час утримування) 36,15 хвил.

Приклад 21 3-метиламінотетилбензоїл-N-Me-D-2NaI-N-Me-D-Phe-NH-CH₃



Вос-NMe3AMB-ОН (658мг, 2,48ммоль), 1-гідроксиазабензотріазол гідрат (338мг, 2,48ммоль) та 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодіїмід гідрохлорид (475мг, 2,48ммоль) розчиняли в 6мл of DMF та помішували протягом 15 хвилин. Добавляли N-Метил-2-метиламін-N-((1P)-1-(метилкарбамоїл)-2-фенілетил)-3-(2-нафтил)пропіонамід (500мг, 1,24ммоль), розчинений в метиленхлориді (12мл), після чого добавляли діізпропілетиламін (0,425мл, 2,48ммоль). Суміш помішували протягом 20 годин.

DCM випарювали в потоці N₂ і до суміші добавляли 75мл етилацетату, після чого промивали гідрокарбонатом натрію (2x50мл, 5%) та гідросульфатом калію (50мл, 5%). Фази розділяли, і органічну фазу просушували сульфатом натрію та випарювали в вакуумі. Залишок (осад) розчиняли в 10мл метиленхлориді, охолоджували до 0-4°C і обробляли TFA (10мл) протягом 10 хвил. при 0-4°C. Леткі компоненти видаляли потоком N₂. Масляний залишок (осад) розчиняли в 25мл 70% MeCN/0,1% TFA та розбавляли H₂O до об'єму 600мл.

Напівпрепаративна HPLC

Велика колонка, 40мл/хвил., 8 прогонів 28-40& P 11 (1)2304, 276 нМ.

Sepraks, Ліофілізування

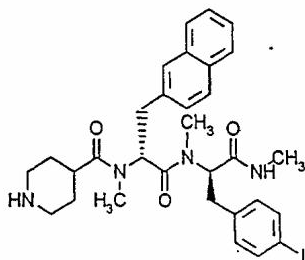
PD-MS Теор: 550,7, експер. 550,1

HPLC A1 t_r (час утримування) 31,75 хвил.

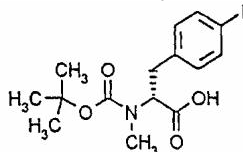
B1 t_r (час утримування) 36,15 хвил.

Приклад 22

Піперидин-4-карбонова кислота N-((1 R)-1 -(N-((1 R)-2-(4-йодофеніл)-1 -(метилкарбамоїл)етил)-N-метилкарбамоїл)-2-(2-нафтил)етил)-N-метиламід



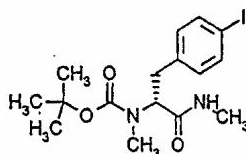
(2R)-2-(N-tert-бутоксикарбоніл-N-метиламіно)-3-(4-йодофеніл)пропіонова кислота



Приготовляли згідно з Can J. Chem. (1977), 55, 906.

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3) δ 1.34 (s, 4.5H), 1.38 (s, 4.5H), 2.70 (s, 1.5H), 2.75 (s, 1.5H); 2.85-3.10 (m, 1H), 3.2-3.4 (m, 1H); 4.4-4.6 (m, 0.5H), 6.9-7.0 (m, 2H), 7.62 (d, $J=10\text{Hz}$, 2H), 9.5-10 (bs, 1H)

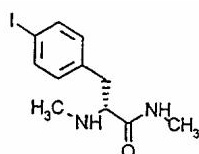
N-((1 R)-2-(4-Йодофеніл)-1 -(метилкарбамоїл)етил)-N-метилкарбамінова кислота tert-бутилефір



(2R)-2-(N-tert-бутоксикарбоніл-N-метиламіно)-3-(4-йодофеніл)пропіонова кислота (2,00г, 4,9ммоль) розчиняли в метиленхлориді (20мл). Добавляли гідроксibenзотріазол-гідрат (0,67г, 4,9ммоль) та 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)-карбодіімід гідроклорид (0,99г, 4,9ммоль) та суміш помішували протягом 15 хвилин. Метиламін (0,38г 40% розчину в метанолі, 4,9ммоль) добавляли та суміш помішували overnight. Добавляли метиленхлорид (40мл), і суміш промивали насиченим водним розчином гідрокарбонату натрію (50мл) та розчином гідросульфату натрію (10%, 50мл). Органічну фазу просушували (MgSO_4) та розчинник видаляли в вакуумі. Залишок(осад) піддавали хроматографічній обробці на силікагелевій основі (2,5x20см) з використанням етилацетату/гептану (2:1) як елюенту, здобуваючи 1,77г N-((1R)-2-(4-йодофеніл)-1-(метилкарбамоїл)етил)-N-метилкарбамінової кислоти tert-бутилефіру.

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3) (вибрані пікові значення для основного ротамеру) δ 1,39 (s, 9H); 2,75 (s, 3H); 2,80 (d, 3H); 3,29 (dd, 1H), 4,88 (t, 1H).

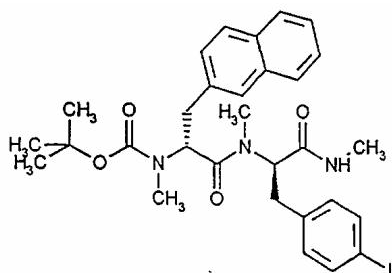
(2R)-3-(4-Йодофеніл)-N-метил-2-(метиламіно)пропіонамід



N-((1 R)-2-(4-Йодофеніл)-1-(метилкарбамоїл)етил)-N-метилкарбамінової кислоти tert-бутилефір (1,7г; 4,0ммоль) розчиняли в метиленхлориді (10мл) та добавляли трифторооцтову кислоту (5мл). Суміш помішували протягом 1 год. Добавляли метиленхлорид (30мл) та воду (30мл). Твердий гідрокарбонат натрію добавляли до отримання рН8. Органічну фазу відділяли, висушували (MgSO_4) та випарювали в вакуумі, здобуваючи 1,22 г (2R)-3-(4-йодофеніл)-N-метил-2-(метиламіно)пропіонамиду.

$^1\text{H-NMR}$: (CDCl_3) δ 2,28 (s, 3H), 2,68 (dd, 1H); 2,81 (d, 3H); 3,08-3.19 (m, 2H); 6,95 (d, 2H); 7,63 (d, 2H)

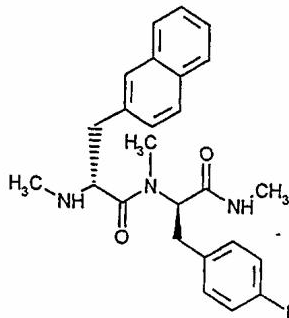
N-Метил-N-((1P)-1-(N-метил-N-((1 R)-1 -(метилкарбамоїл)-2-(4-йодофеніл)етил)карбамоїл)-2-(2-нафтил)етил)карбамінової кислоти tert-бутилефір



(2R)-2-(N-tert-бутоксикарбоніл-N-метиламіно)-3-(2-нафтил)пропіонову кислоту (1.10г, 3.30ммоль) розчиняли в метиленхлориді (10мл) і добавляли HOAt (0.45г, 3.1ммоль) та EDAC (0.66г, 3.5ммоль). Після помішування протягом 15 хвилин добавляли (2R)-3-(4-йодофеніл)-N-метил-2-(метиламіно)пропіонамід (1.0г, 3.1ммоль) та діізопропілетиламін (0.45г, 3.4ммоль), і суміш помішували протягом доби. Метиленхлорид (30мл) добавляли та суміш промивали насиченим водним розчином гідрокарбонату натрію (30мл) та розчином гідросульфату натрію (10%, 30мл). Органічну фазу просушували ($MgSO_4$), та розчинник видаляли в вакуумі. Залишок (осад) піддавали хроматографічній обробці на силікагелевій основі (2.5x20см) з використанням етилацетату/гептану (2:1) як елюенту, здобуваючи 1.74г N-метил-N-((1R)-1-(N-метил-N-((1R)-1-(метил карбамойл)-2-(4-йодофеніл)етил)карбамойл)-2-(2-нафтил)етил)карбамінової кислоти tert-бутилефіру.

1H -NMR: ($CDCl_3$) (вибрані пікові значення для головного ротамеру) δ 1.38(s,9H); 2.18(d, 3H); 2.45 (s, 3H); 2.75 (s, 3H); 5.05 (m, 1H); 5.42 (m, 1H).

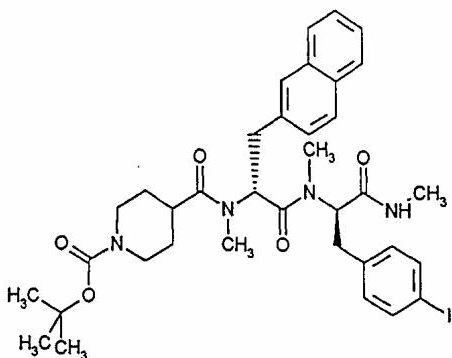
(2R)-N-((1 R)-2-(4-Йодофеніл)-1-(метилкарбамойл)етил)-N-метил-2-метиламіно-3-(2-нафтил)пропіонамід



N-Метил-N-((1 R)-1-(N-мети-(1 R)-1-(метил карбамойл)-2-(4-йодофеніл)етил)карбамойл)-2-(2-нафтил)етил)карбамінової кислоти tert-бутилефір розчиняли в суміші метиленхлориду та трифторооцтової кислоти та помішували протягом 15 хвилин. Добавляли метиленхлорид (20мл) та воду (30мл). Додаванням твердого гідрокарбонату натрію доводили суміш до pH8. Органічну фазу відділяли, висушували ($MgSO_4$) та випарювали в вакуумі, здобуваючи 1.40г (2R)-N-((1 R)-2-(4-йодофеніл)-1-(метил карбамойл)етил)-N-метил-2-метиламіно-3-(2-нафтил)пропіонамиду.

1H -NMR: ($CDCl_3$) (вибрані пікові значення для головного ротамеру) δ 1.79 (s, 3H); 2.02 (d, 3H); 2.55 (s, 3H); 3.78 (dd, 1H); 5.44 (dd, 1H).

4-(N-((1R)-1-(N-((1R)-2-(4-Йодофеніл)-1-(метил карбамойл)етил)-N-метилкарбамойл)-2-(2-нафтил)етил)-N-метилкарбамойл)піперидин-1-карбонової кислоти tert-бутилефір



1-tert-бутоксикарбонілпіперидин-4-карбову кислоту (143мг, 0.66ммоль) розчиняли в метиленхлориді (10мл), і добавляли HOAt (90мг, 0.66ммоль) та EDAC (140мг, 0.73ммоль). По 15 хвилинах помішування добавляли (2R)-N-((1 R)-2-(4-йодофеніл)-1-(метилкарбамойл)етил)-N-метил-2-метиламіно-3-(2-нафтил)пропіонамід (350мг, 0.66ммоль) та діізопропілетиламіну (85мг, 0.66ммоль). і суміш помішували протягом доби. Добавляли метиленхлорид (20мл), і суміш промивали насиченим водним розчином гідрокарбонату натрію (20мл) та розчином гідросульфату натрію (10%, 20мл). Органічну фазу просушували ($MgSO_4$), і розчинник видаляли в вакуумі. Залишок (осад) піддавали хроматографічній обробці на силікагелевій основі (2.5x20см), з використанням етилацетату як елюенту, здобуваючи 412мг 4-(N-((1R)-1-(N-((1R)-2-(4-йодофеніл)-1-(метилкарбамойл)етил)-N-метилкарбамойл)-2-(2-нафтил)етил)-N-метилкарбамойл)піперидин-1-карбонової кислоти tert-бутилефіру.

4-(N-((1 R)-1-(N-((1R)-2-(4-йодофеніл)-1-(метилкарбамойл)етил)-N-метилкарбамойл)-2-(2-нафтил)етил)-N-метилкарбамойл)піперидин-1-карбонової кислоти tert-бутилефір (412мг, 0.56ммоль) розчиняли в суміші метиленхлориду (5мл) та трифторооцтової кислоти (5мл) та перемішували протягом 5 хвилин. Добавляли метиленхлорид (20мл) та насичений водний розчин гідрокарбонату натрію (20мл). Додаванням твердого гідрокарбонату натрію суміш доводили до pH8. Фази розділяли, і органічну фазу просушували ($MgSO_4$) і випаровували, здобуваючи 255мг головної сполуки.

1H -NMR: ($CDCl_3$) (вибрані пікові значення для головного ротамеру) δ 2.32 (d, 3H); 2.58 (s, 3H); 2.68 (s,3H); 5.33 (m, 1H); 5.84 (t, 1H)

HPLC: t_R (час утримання) = 33,35 хвилин (A1) PDMS: m/z 640,8 ($M+H$)⁺

Скорочення

NBTU

O-(Бензотріазол-1-іл)-1,1,3,3-

	тетраметилуронію
	гексафторофосфат
NMP	N-метил піролі дон
	O-(7-Азабензотріазол-1-іл)-
HATU	1,1,3,3-тетраметилуронію
	гексафторофосфат
Trt-	Тритил
HOBT	7-гідроксибензотріозолу гідрат
3-AtB	3-Амінометилбензоїл
N-Me-3-AMB	3-метиламінометилбензоїл