



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ(21)(22) Заявка: **2005126728/15**, **26.01.2004**(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
26.01.2004

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
24.01.2003 US 60/442,171
05.09.2003 US 60/500,316(43) Дата публикации заявки: **20.01.2006** Бюл. № 2(45) Опубликовано: **27.02.2011** Бюл. № 6(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **PAVELKO K.D. et al. Acceleration in the rate of CNS remyelination in lysolecithin-induced demyelination. J.Neurosci. 1998. Apr.1; 18(7): 2498-505. PMID: 9502810 найдено [онлайн] 11.01.2008. в PubMed. TUBRIDY N. et al. The effect of anti-alpha4 integrin antibody on brain lesion activity in MS. The UK Antegren Study Group.Neurology. 1999. Aug 11; (см. прод.)**(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: **24.08.2005**(86) Заявка РСТ:
US 2004/002039 (26.01.2004)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2004/066932 (12.08.2004)

Адрес для переписки:

**129010, Москва, ул. Б.Спасская, 25, стр.3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры", пат.пов. Е.Е.Назиной, рег. № 517**

(72) Автор(ы):

**КАРЛИК Стив Дж. (СА),
ПЛИСС Майкл А. (US),
КОНРАДИ Андрей В. (US),
ГРАНТ Франсин С. (US),
СЕМКО Кристофер М. (US),
ДРЕССЕН Дарен (US),
МЕССЕРСМИТ Элизабет (US),
ФРИДМАН Стефен (US),
ЙЕДНОК Тед (US)**

(73) Патентообладатель(и):

ЭЛАН ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ ИНК. (US)**(54) ПРИМЕНЕНИЕ РЕМИЕЛИНИЗИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ НЕРВНЫХ КЛЕТОК ПРИ ДЕМИЕЛИНИЗИРУЮЩЕМ ЗАБОЛЕВАНИИ**

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицины. Изобретение раскрывает применение ремиелинизирующего средства для получения лекарственного средства в количестве, стимулирующем ремиелинизацию нервных клеток млекопитающего, для лечения

демиелинизирующего заболевания и способ стимуляции ремиелинизации нервных клеток у млекопитающего, где лекарственное средство вводят постоянно нуждающемуся в этом млекопитающему; постоянное введение ремиелинизирующего средства представляет собой еженедельное или ежемесячное введение в

течение периода, по меньшей мере, равного шести месяцам; и ремиелинизирующее средство представляет собой антитело или его иммунологически активный фрагмент, связывающийся с альфа-4-интегрином, и, в

частности, антитело представляет собой моноклональное антитело натализумаб или его иммунологически активный фрагмент. 2 н. и 24 з.п. ф-лы, 20 табл., 18 ил.

(5б) (продолжение):

53(3): 466-72. PMID: 10449105 найдено [онлайн] 11.01.2008. в PubMed. US 6060501, SCHERING AG, 09.05.2000. SHEREMATA W.A. et al. A safety and pharmacokinetic study of intravenous natalizumab in patients with MS. *Neurology*. 1999. Mar 23; 52(5): 1072-4. PMID:10102433. RU 94037731 A1, 20.07.1996. SU 1718797 A1, 15.03.1992.

R U 2 4 1 2 7 2 1 C 2

R U 2 4 1 2 7 2 1 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: **2005126728/15, 26.01.2004**

(24) Effective date for property rights:
26.01.2004

Priority:

(30) Priority:
24.01.2003 US 60/442,171
05.09.2003 US 60/500,316

(43) Application published: **20.01.2006 Bull. 2**

(45) Date of publication: **27.02.2011 Bull. 6**

(85) Commencement of national phase: **24.08.2005**

(86) PCT application:
US 2004/002039 (26.01.2004)

(87) PCT publication:
WO 2004/066932 (12.08.2004)

Mail address:

129010, Moskva, ul. B.Spaskaja, 25, str.3, OOO
"Juridicheskaja firma Gorodisskij i Partnery",
pat.pov. E.E.Nazinoj, reg. № 517

(72) Inventor(s):

KARLIK Stiv Dzh. (CA),
PLISS Majkl A. (US),
KONRADI Andrej V. (US),
GRANT Fransin S. (US),
SEMKO Kristofer M. (US),
DRESSEN Daren (US),
MESSERSMIT Ehlizabet (US),
FRIDMAN Stefen (US),
JEDNOK Ted (US)

(73) Proprietor(s):

EhLAN FARMAS'JuTIKALZ INK. (US)

(54) **APPLICATION OF REMYELINATING MEDICATION FOR STIMULATION OF NERVE CELLS IN CASE OF DEMYELINATING DISEASE**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to field of medicine. Invention describes application of remyelinating medication for obtaining medication in amount, stimulating remyelination of nerve cells in mammals, for treatment of demyelinating disease and method of stimulating remyelination of nerve cells in mammals, where medication is introduced to constantly demanding it mammal; constant introduction of remyelinating medication represents weekly or monthly

introduction during period, equal to, at least, six months; and remyelinating medication represents antibody or its immunologically active enzyme, binding with alfa-4-integrin, and, in particular, antibody represents monoclonal antibody natalizumab or its immunologically active fragment.

EFFECT: application of remyelinating medication for obtaining medication in amount, stimulating remyelination of nerve cells in mammals.

26 cl, 20 tbl, 18 dwg, 381 ex

RU 2 412 721 C2

RU 2 412 721 C2

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Изобретение, в общем, относится к композициям, соединениям, которые могут использоваться для лечения демиелинизирующих заболеваний и состояний и/или снижения паралича у пациента.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Воспаление является ответом васкуляризованных тканей на инфекцию или повреждение и вызвано адгезией лейкоцитов к эндотелиальным клеткам и их инфильтрацией в окружающие ткани. При нормальном воспалении инфильтрирующие лейкоциты высвобождают токсические медиаторы для уничтожения вторгшихся организмов, фагоцитируют дебрис и погибшие клетки, и играют роль в восстановлении тканей и иммунном ответе. Однако при патологическом воспалении инфильтрирующие лейкоциты реагируют избыточно и могут вызывать серьезное или фатальное повреждение. См., например, Hickey, *Psychoneuroimmunology II* (Academic Press 1990).

Интегрины представляют собой семейство гликопротеинов клеточной поверхности, участвующих в клеточной адгезии, миграции и активации иммунных клеток. Альфа-4-интегрин экспрессируется всеми циркулирующими лейкоцитами кроме нейтрофилов и образует гетеродимерные рецепторы в связи с бета-1 (β_1) или бета-7 (β_7) интегринами субъединицами; альфа-4-бета-1 ($\alpha_4\beta_1$) и альфа-4-бета-7 ($\alpha_4\beta_7$) играют роль в миграции лейкоцитов по сосудистому эндотелию (Springer et al., *Cell* 1994, 76: 301-14; Butcher et al., *Science* 1996, 272: 60-6) и вносят вклад в активацию и выживание клеток в паренхиме (Damle et al., *J Immunol.* 1993; 151: 2368-79; Koopman et al., *J. Immunol.* 1994, 152: 3760-7; Leussink et al., *Acta Neuropathol.* 2002, 103: 131-136). $\alpha_4\beta_1$ конститутивно экспрессируется на лимфоцитах, моноцитах, макрофагах, тучных клетках, базофилах и эозинофилах.

Альфа-4-бета-1 (также известный как очень поздний антиген-4, VLA-4) связывается молекулой адгезии сосудистых клеток-1 (Lobb et al., *J. Clin. Invest.* 1994, 94: 1722-8), которая экспрессируется сосудистым эндотелием во многих участках хронического воспаления (Bevilacqua et al., 1993 *Annu. Rev. Immunol.* 11: 767-804; Postigo et al. 1993 *Res. Immunol.* 144: 723-35). $\alpha_4\beta_1$ имеет другие лиганды, включая фибронектин и другие компоненты внеклеточного матрикса (ECM).

Димер альфа-4-бета-7 взаимодействует с адрессином - молекулой клеточной адгезии слизистой (MAdCAM-1), и опосредует хоуминг лимфоцитов в кишечник (Farstad et al., 1997 *Am. J. Pathol.* 150: 187-99; Issekutz, 1991 *J. Immunol.* 147: 4178-84). Экспрессия MAdCAM-1 на сосудистом эндотелии также повышена в участках воспаления в кишечном тракте пациентов с воспалительным заболеванием кишечника (IBD) (Briskin et al., 1997 *Am. J. Pathol.* 151: 97-110).

Молекулы адгезии, такие как альфа-4-интегрины, являются потенциальными мишенями для терапевтических средств. Например, рецептор VLA-4, субъединицей которого является альфа-4-интегрин, является важной мишенью из-за его взаимодействия с лигандом, находящимся на эндотелиальных клетках головного мозга. Заболевания и состояния, являющиеся результатом воспаления головного мозга, имеют особо тяжелые последствия. В другом примере димер интегрин альфа-4-бета-7 является важной мишенью вследствие его вовлечения в хоуминг лимфоцитов и патологическое воспаление желудочно-кишечного тракта.

Альфа-4-бета-1 интегрин экспрессирован на внеклеточной поверхности активированных лимфоцитов и моноцитов, которые были задействованы в патогенез острых воспалительных повреждений головного мозга и нарушение гемато-

энцефалического барьера (ГЭБ), связанное с рассеянным склерозом (РС) (Coles et al., 1999 Ann. Neurol. 46 (3): 296-304). Средства, направленные против интегрин альфа-4, тестировали на их противовоспалительный потенциал *in vitro* и *in vivo*. См. Yednock et al., Nature 1992, 356: 63-66; патент США № 5840299, выданный Bendig et al. 24 ноября 1998 г., и патент США № 6001809, выданный Thorsett et al. 14 декабря 1999 года. Эксперименты *in vitro* демонстрируют, что антитела против интегрин альфа-4 блокируют присоединение лимфоцитов к эндотелиальным клеткам головного мозга. Эксперименты, в которых тестируется действие антител против альфа-4 интегрин на животных, имеющих искусственно индуцированное состояние, имитирующее рассеянный склероз, экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит (ЕАЕ), продемонстрировали, что введение антител против альфа-4 интегрин предотвращает воспаление головного мозга и последующий паралич у животных. Во всех данных экспериментах антитела против альфа-4 интегрин выявляются как терапевтические средства, которые потенциально могут использоваться для лечения рассеянного склероза и других воспалительных заболеваний и нарушений.

К настоящему времени не было открыто каких-либо способов лечения, которые бы ингибировали или предотвращали демиелинизацию, не говоря о средствах, которые способствовали ремиелинизации. Например, влияние рассеянного склероза на здравоохранение и затраты на него превышают таковые для других демиелинизирующих заболеваний. Для РС не существует эффективного способа лечения. Это заболевание, которое поражает преимущественно молодых взрослых людей (т.е. в среднем возрасте 30 лет) с частотой 1 случай на 1000 субъектов. Экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит является основной моделью, используемой для изучения РС на животных. Однако, в отличие от ЕАЕ, РС представляет собой аутоиммунное заболевание, причина которого неизвестна. Прогрессирование заболевания характеризуется вбросом иммунных клеток в центральную нервную систему, которое время от времени приводит к отеку, демиелинизации, повреждению и утрате аксонов.

Необходимы новые соединения, композиции и способы применения данных соединений и композиций для ингибирования демиелинизации, для стимуляции ремиелинизации и/или для лечения паралича, ассоциированного с демиелинизацией, и их продолжают искать для лечения таких заболеваний, как РС, а также других демиелинизирующих заболеваний, связанных с воспалением.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Основываясь на указанном выше, необходимы новые композиции и способы лечения данных заболеваний, которые будут эффективно лечить или ингибировать данные заболевания, так что пациенты смогут достигать большей продолжительности жизни и более высокого ее качества.

Изобретение относится к способам стимуляции ремиелинизации нервных клеток млекопитающего, охватывающим введение млекопитающему ремиелинизирующего средства в эффективном для ремиелинизации количестве. Предпочтительно, млекопитающее по способам настоящего изобретения является человеком, и данный человек страдает от состояния, которое демиелинизирует клетки.

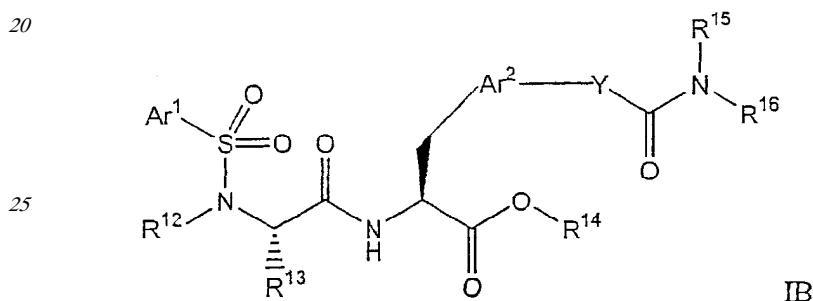
Состояния, которые демиелинизируют клетки, по настоящему изобретению включают в себя рассеянный склероз, врожденное метаболическое заболевание, невропатию с аномальной миелинизацией, демиелинизацию, индуцированную лекарственными средствами, демиелинизацию, индуцированную облучением, наследственное демиелинизирующее состояние, индуцированное прионами

демиелинизирующее состояние, демиелинизацию, индуцированную энцефалитом, или повреждение спинного мозга. Предпочтительно, состояние представляет собой рассеянный склероз.

5 Изобретение далее относится к композиции, содержащей терапевтически эффективное количество ремиелинизирующего средства, которое предотвращает демиелинизацию и/или стимулирует ремиелинизацию при введении нуждающемуся в этом субъекту.

10 В способах и композициях по изобретению ремиелинизирующее средство может представлять собой антитело, иммунологически активный фрагмент антитела, соединение или их комбинации. Антитело или его иммунологически активный фрагмент предпочтительно представляет собой натализумаб (Antegren®) или его иммунологически активный фрагмент.

15 В способах и композициях по изобретению ремиелинизирующее средство может представлять собой низкомолекулярное соединение формулы I, IA, IB, IC, II, ПА или ПБ. Предпочтительно, соединения представляют собой соединения следующей формулы IB



30 в которой:

Ar¹ выбран из группы, состоящей из арила, замещенного арила, гетероарила и замещенного гетероарила;

35 Ar² выбран из группы, состоящей из арила, замещенного арила, гетероарила и замещенного гетероарила; R¹² выбран из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, циклоалкила и замещенного циклоалкила, или R¹² и R¹³ вместе с атомом азота, связанным с R¹², и атомом углерода, связанным с R¹³, образуют гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу;

40 R¹³ выбран из группы, состоящей из водорода, алкила и замещенного алкила, или R¹² и R¹³ вместе с атомом азота, связанным с R¹², и атомом углерода, связанным с R¹³, образуют гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу;

R¹⁴ выбран из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, арила и замещенного арила;

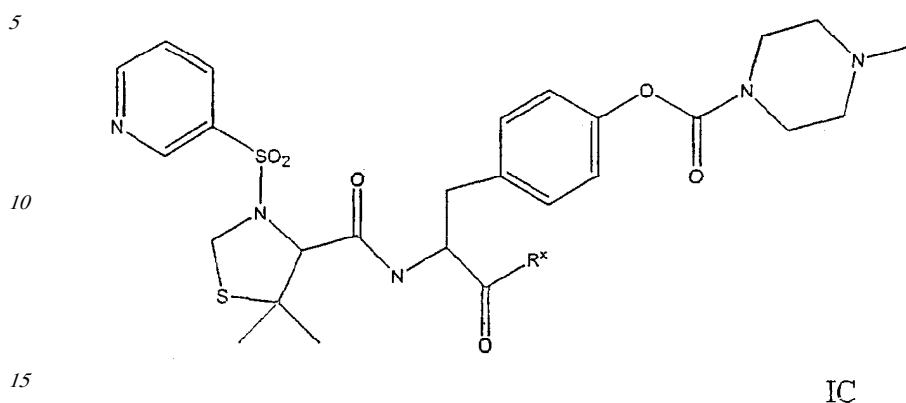
45 R¹⁵ выбран из группы, состоящей из алкила и замещенного алкила, или R¹⁵ и R¹⁶ вместе с атомом азота, с которым они связаны, образуют гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу;

50 R¹⁶ выбран из группы, состоящей из алкила и замещенного алкила, или R¹⁵ и R¹⁶ вместе с атомом азота, с которым они связаны, образуют гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу; и

Y выбран из группы, состоящей из -O-, -NR¹⁰⁰-, и -CH₂-, в котором R¹⁰⁰ представляет водород или алкил;

и их фармацевтически приемлемые соли.

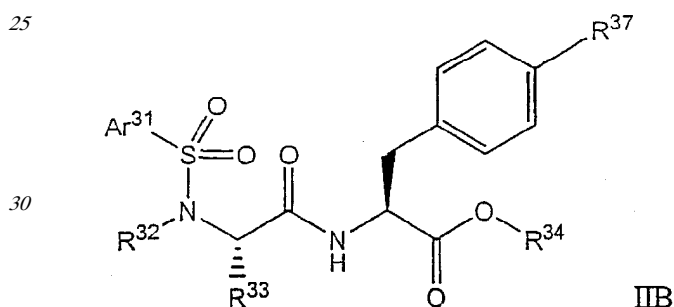
В дальнейшем осуществлении соединения предпочтительно представляют собой соединения следующей формулы IC



в которой R^x представляет собой гидроксиль или C₁₋₅-алкокси, и их фармацевтически приемлемые соли. Предпочтительно, соединение представляет собой изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина.

20

В другом осуществлении соединения предпочтительно представляют собой соединения следующей формулы IIIB



в котором:

Ar³¹ выбран из группы, состоящей из арила, замещенного арила, гетероарила и замещенного гетероарила;

R³² выбран из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, циклоалкила и замещенного циклоалкила, или R³² и R³³ вместе с атомом азота, связанным с R³², и атомом углерода, связанным с R³³, образуют гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу;

40

R³³ выбран из группы, состоящей из водорода, алкила и замещенного алкила, или R³² и R³³ вместе с атомом азота, связанным с R³², и атомом углерода, связанным с R³³, образуют гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу;

45

R³⁴ выбран из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, арила и замещенного арила; и

R³⁷ представляет собой арил, гетероарил, замещенный арил, замещенный гетероарил, гетероцикл, замещенный гетероцикл, арилокси, замещенный арилокси, аралкокси, замещенный аралкокси, гетероарилокси, замещенный гетероарилокси; и их фармацевтически приемлемые соли.

50

Еще в одном осуществлении соединения представляет собой изопропиловый

эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина.

Изобретение также относится к фармацевтической композиции, включающей в себя терапевтически эффективное количество соединения формулы I, IA, IB, IC, II, ПА или ПВ и их фармацевтически приемлемые соли. Предпочтительно, соединение представляет собой соединение формулы IB, IC или ПВ. В предпочтительном осуществлении соединение представляет собой изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина.

Ремиелинизирующее средство по изобретению может вводиться отдельно или в комбинации с другими ремиелинизирующими средствами, средствами против альфа-4, или противовоспалительными средствами. Изобретение, кроме того, относится к фармацевтическим композициям, включающим в себя фармацевтически приемлемый носитель и терапевтически эффективное количество описанного здесь ремиелинизирующего средства. Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может дополнительно включать в себя один или несколько дополнительных средств, включая другие ремиелинизирующие средства, средства против альфа-4 или противовоспалительные средства.

Композиции по изобретению могут вводиться различными способами введения, включая пероральный, парентеральный (например, подкожный, субдуральный, внутривенный, внутримышечный, интратекальный, внутрибрюшинный, интрацеребральный, внутриартериальный пути введения или путь введения в очаг повреждения), местный, локализованный (например, хирургический компресс или хирургический суппозиторий), ректальный и легочный (например, аэрозоли, ингаляция или порошок).

Другой аспект изобретения относится к комбинированной терапии, включающей в себя терапевтически эффективное количество ремиелинизирующего средства и терапевтически эффективное количество противовоспалительного средства. Противовоспалительные средства включают в себя в качестве неограничивающих примеров адренокортикотропный гормон (АСТН), кортикостероид (например, преднизон, метилпреднизолон, дексаметазон, кортизол, кортизон, флудрокортизон, преднизолон, 6 α -метилпреднизолон, триамцинолон и бетаметазон), интерферон (например, интерферон бета-1b и интерферон бета-1a), Сорахоне® или нестероидное противовоспалительное лекарственное средство (например, аспирин, салицилат натрия, трисалицилат холина-магния, сальсалат, дифлунизал, сульфасалазин, олсалазин, производные парааминофенола, индол, инденуксусная кислота, гетероарилуксусная кислота, антраниловая кислота, еноловая кислота, алканоны, диарилзамещенный фуранон, диарилзамещенные пиразолы, индолуксусные кислоты и сульфонанилид). Ремиелинизирующее средство может быть выбрано из любых соединений формулы I, IA, IB, IC, II, ПА или ПВ. Альтернативно, ремиелинизирующее средство может представлять собой антитело против VLA-4 или его иммунологически эффективный фрагмент или полипептид, который связывается с VLA-4, предотвращая таким образом его связывание с собственным лигандом.

Комбинированная терапия может использоваться для лечения субъекта, страдающего от рассеянного склероза, врожденного метаболического заболевания, невропатии с аномальной миелинизацией, демиелинизации, индуцированной лекарственными средствами, демиелинизации, индуцированной облучением, наследственного демиелинизирующего состояния, индуцированного прионами

демиелинизирующего состояния, демиелинизации, индуцированной энцефалитом или повреждения спинного мозга.

Еще один аспект изобретения относится к применению соединения формулы I, IA, IB, IC, II, IIA или IIB для получения лекарственного средства для лечения

демиелинизирующего заболевания у нуждающегося в этом субъекта. Предпочтительно, соединение представляет собой соединение формулы IB, IC или IIB. В предпочтительном осуществлении соединение представляет собой изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина.

В другом аспекте предоставляется способ инверсии паралича у субъекта с демиелинизирующим заболеванием, включающий в себя введение субъекту ремиелинизирующего средства в количестве, достаточном для ингибирования лимфоцитарной инфильтрации иммунными клетками спинного мозга для стимуляции ремиелинизации нервных клеток в спинном мозге и лечения, таким образом, паралича в указанном субъекте при такой необходимости.

Другой аспект изобретения относится к применению ремиелинизирующего средства для получения лекарственного средства для лечения демиелинизирующего заболевания у нуждающегося в этом субъекта или для лечения паралича у субъекта с демиелинизирующим заболеванием.

Эти и другие объекты, преимущества и характеристики изобретения станут понятны специалистам в данной области после чтения подробностей способов и препаратов, более полно описанных ниже.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

ФИГ.1А. Продолжительная инверсия хронического экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита в течение лечения изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина. ЕАЕ индуцировали у самок морских свинок Hartley посредством затылочной внутрикожной инъекции 0,6 мл смеси 1:1 гомогенизированной изологичной ткани ЦНС и полного адьюванта Фрейнда (CFA), с 10 мг/мл инактивированной *M. tuberculosis*. Начиная с 40 суток после иммунизации, животные получали солевой раствор (n=20, 0,5 мл/сутки) или изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина (n=25, 30 мг/кг, 2х/сутки) в течение 10, 20, 30 или 40 суток. После курса лечения средний клинический балл животных, обработанных изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина, был значительно ниже, чем таковой в контрольной группе солевого раствора (p < 0,001, тест суммы рангов Манна-Уитни). Более того, во время продолжительного введения изопропилового эфира N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина не наблюдалось неблагоприятных побочных эффектов, и не было смертей от лечения, как ранее наблюдалось с антителами.

ФИГ.1В. Возвращение клинически активного заболевания после отмены изопропилового эфира N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина. Через 30 суток лечения изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина пять животных поддерживали в течение дополнительных 10 суток без введения малой молекулы. Как только изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-

метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина отменяли, животные возвращались к клиническому прогрессированию заболевания. Между 70 и 80 сутками средний клинический балл животных после введения изопропилового эфира N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина был значимо выше, чем у животных, получавших изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина во время периода лечения ($p < 0,05$, тест суммы рангов Манна-Уитни).

ФИГ.2. Восстановление по данным патологии во время длительного лечения изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина. Панели А, С, Е, G, I и К представляли собой срезы спинного мозга, окрашенные солюхром-R-цианином (SCR) (увеличение 40х). На панелях В, D, F, H, J и L показано большое увеличение (250х) окрашенных гематоксилином-эозином (H-E) срезов, взятых из дорсальной медиальной области соответствующего окрашенного SCR фото. Данный срез (2А), взятый от нормальной морской свинки, не характеризуется ни воспалением, ни демиелинизацией, в отличие от панели (2В), соответствующих срезов H-E. На 40 сутки после иммунизации животное, которое не получало лечение, характеризовалось интенсивным менингеальным воспалением и большой дорсо-медиальной бляшкой демиелинизации (2С). Плотность инфильтрации клетками данной области (2D) была намного выше, чем на ФИГ.2. Даже позже при заболевании, на 60 сутки после иммунизации обработанное соевым раствором животное характеризовалось обширной зоной демиелинизации под мягкой мозговой оболочкой (2Е), с очень большой плотностью клеточных инфильтратов (2F). Животное, которое в течение 20 суток получало лечение изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина, наоборот, характеризовалось намного меньшей областью демиелинизации (2G), и намного меньшей плотностью клеточной инфильтрации в области повреждения (2H). Животное, представленное на 2I, получало 40 суток обработки соевым раствором. Фактически весь срез был инфильтрирован и демиелинизирован, включая вторжение в некоторые области серого вещества. В то время как клеточная инфильтрация на 2J была снижена по сравнению с 60 сутками после иммунизации (см. 2F), она все же была намного выше, чем нормальные уровни, наблюдаемые на 2В. Однако через 40 суток лечения изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина почти не было менингеального и периваскулярного воспаления, и миелин был очевидно незатронутым (2К). Клеточное воспаление (2L) было практически таким же, как и у нормального животного (2В).

ФИГ.3. Снижение патологической аномалии при хроническом ЕАЕ во время лечения изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина. Животные получали солевой раствор или изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина ($n=25$) в течение 10, 20, 30 или 40 суток. Кроме того, подгруппа животных получала изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина в течение 30 суток, и затем лечение отменяли в течение оставшихся 10 суток эксперимента (группа после введения

изопропилового эфира N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина). После умерщвления головной и спинной мозг фиксировали в формалине и заливали парафином. Срезы толщиной пять мкм окрашивали гематоксилином-эозином (H-E) или солохром-R-цианином, и вслепую назначали 4-числовой патологический балл, основываясь на оценке каждой из четырех категорий: (3A) менингеальное воспаление, (3B) периваскулярная инфильтрация, (3C) энцефалит и (3D) демиелинизация. Заметьте, что животные, не имеющие ЕАЕ, имеют балл, равный нулю во всех категориях. После курса лечения животные, получавшие изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина, характеризовались значимым снижением среднего патологического балла в каждой из четырех категорий, в отношении обработанных солевым раствором животных ($p < 0,001$, 2-сторонний ANOVA). При отмене изопропилового эфира N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина, и поддержании животных в течение дополнительных 10 суток без лечения, средний комбинированный патологический балл во всех четырех категориях возвращался к значимо более высокому по сравнению с таковым у животных, получавших малую молекулу ($p < 0,05$, ANOVA по Крускалу-Уоллису на рангах с тестом SNK).

ФИГ.4. Сниженная инфильтрация спинного мозга при лечении изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина. Среднее число инфильтрирующих клеток подсчитывали в репрезентативных областях из двенадцати областей, покрывающих весь спинной мозг в форме пирога (см. способы). Значимое снижение клеточной инфильтрации происходило при индукции ЕАЕ по сравнению с животными без ЕАЕ (*, $p < 0,05$; ANOVA по Крускалу-Уоллису на рангах с тестом SNK). Животные, обработанные изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина, имели меньше клеток в спинном мозге, чем обработанные солевым раствором животные во время 10, 20, 30 или 40 суток лечения (*, $p < 0,001$, двухсторонний ANOVA). Более того, животные, которых лечили изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина 20, 30 или 40 суток, имели значимо более низкое количество клеток, чем контрольные (d40) животные с ЕАЕ (#, $p < 0,05$, ANOVA по Крускалу-Уоллису на рангах с тестом SNK). После изопропилового эфира N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина среднее количество клеток у животных, поддерживаемых в течение дополнительных 10 суток без введения малых молекул, было значимо повышено по сравнению с животными, которые получали лечение изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина ($p < 0,05$, ANOVA по Крускалу-Уоллису на рангах с тестом SNK).

ФИГ.5. Сниженная экспрессия воспалительных цитокинов при лечении изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина. Кусок поясничного отдела спинного мозга моментально замораживали в жидком азоте и рутинно обрабатывали для экстракции РНК для количественного ПЦР-анализа. Тогда как незаметные уровни РНК цитокинов выявляли у животных без ЕАЕ, экспрессия IL-2 (B), IL-10 (C) и MCP-1

(А) повышалась у контрольных животных d40 с воспалением ЦНС. В то время как обработанные солевым раствором животные имели повышенные уровни воспалительных цитокинов в течение эксперимента, животные, получавшие изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина, характеризовались заметным снижением их экспрессии, соответственно с клиническим и патологическим восстановлением. После отмены изопропилового эфира N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина и повторной инфильтрации ЦНС, экспрессия IL-2, IL-10 и MCP-1 снова возрастала до уровня, сравнимого с таковым в обработанных солевым раствором животных.

ФИГ.6. Экспрессия α_4 интегрина на лимфоцитах. На 80 сутки после иммунизации гепаринизированные образцы крови собирали от животных без ЕАЕ, животных, обработанных солевым раствором, животных, которых лечили изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина, и животных через 10 суток после отмены изопропилового эфира N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина. Образцы подвергали воздействию антител против интегрин α_4 , затем оценивали на проточном цитометре, разделяющем разные клеточные популяции по светорассеянию. Лечение животных изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина вызывало сильное повышение в циркуляции количества лимфоцитов, несущих β_4 интегрин, по сравнению с животными, обработанными солевым раствором. Данные результаты указывают на число клеток, экспрессирующих альфа-4. В присутствии соединения имеется больше альфа-4-экспрессирующих клеток, чем у животных, обработанных солевым контролем. Ось x представляет экспрессию альфа-4; ось y представляет число клеток, оцениваемых путем FACS.

ФИГ.7. Экспрессия интегрин α_4 на лимфоцитах и моноцитах в циркуляции на 80 сутки после иммунизации. Гепаринизированные образцы крови собирали от всех групп животных на 80 сутки после иммунизации, подвергали воздействию антитела против интегрин α_4 , и сортировали посредством проточной цитометрии. На панели А показано, что лечение изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина вызывало большое повышение процента несущих интегрин α_4 лимфоцитов в циркуляции по сравнению с животными без ЕАЕ и обработанными солевым раствором животными, и это указывает на то, что активированные периферические лимфоциты не способны входить в ЦНС в присутствии ингибитора. В соответствии с данной идеей процент данных клеток в циркуляции возвращался к уровню обработки солевым раствором, когда изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина был отменен, и воспаление ЦНС возобновлялось, как показано на панели В. Общая экспрессия интегрин β_4 на циркулирующих моноцитах была повышена во всех животных с ЕАЕ, хотя не имелось различимых субпопуляций. Данное повышение в моноцитах α_4 интегрин не подвергалось влиянию изопропилового эфира N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина, и это указывало на то, что ингибитор не влияет на периферическую иммунную реакцию.

ФИГ.8. У животных, которых лечили изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-

илкарбонил]-L-тирозина, наблюдали теньевые бляшки. Изображения 8А-F представляют окрашенные солохром-R-цианином срезы спинного мозга отдельных животных в группах обработки. (8А) Изображение малого увеличения (40х) показывает степень демиелинизации спинного мозга. (8В) Изображение большого увеличения (100х) демиелинизированного очага повреждения на «сутки 0» (сутки 0 отмеряют, по меньшей мере, через 40 суток после индукции заболевания, причем животное достигает клинического балла, равного 2 или выше) у контрольного животного показывает плотную клеточную инфильтрацию и пенистые макрофаги, содержащие фагоцитированный миелиновый дебрис (стрелки). (8С) Повреждение от животного, которое получало 20 дней обработки солевым раствором, остается полностью лишенным миелина (250х). (8D) Животные, которые получали 20 суток лечения изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина, наоборот, представляли очаги с диффузной голубой окраской, покрывающие бляшку (250х). (8Е) Сильная демиелинизация была видна в спинном мозге через 40 суток обработки носителем (100х). (8F) Однако через 40 суток терапии изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина большинство повреждений характеризовались ясной миелиновой бледностью (100х).

ФИГ.9. Полутонкие и EM срезы подтверждают ремиелинизацию за счет лечения изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина. Полутонкие срезы, окрашенные толудиновым голубым, показаны на панелях 9А, 9В и 9С (все 400х). Репрезентативные EM срезы из тех же животных показаны на панелях 9D, 9Е и 9F (9D и 9Е, 1100х; 9F, 1300х). (ФИГ. 9А и 9D) Нормальный миелин. (9В и 9Е) 30 сутки обработки солевым раствором. Некоторые мелкогабаритные аксоны характеризовались тонкими миелиновыми оболочками (t), соседствующими с полной демиелинизацией (d) и нормальным миелином (n). Некоторые аксоны претерпевали уоллеровское перерождение (стрелки). В данном случае дегенерирующие аксоны наблюдали внутри нормально присутствующего миелина (стрелки, 9В). Электронная микроскопия подтверждала отсутствие миелиновой обертки вокруг крупногабаритных аксонов (9Е). (9С и 9F) 30 сутки обработки изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина. У животных, которые получали изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина, область нормально присутствующего миелина в левой части изображения (n) находится вблизи большой области аксонов сходного размера с тонким слоем миелина (t). Область аксонов с тонким слоем миелина была более протяженной и состояла из аксонов большого размера (9С). Путем EM подтверждали наличие множественных тонких миелиновых обверток вокруг аксонов большого диаметра, что указывало на ремиелинизацию (9F).

ФИГ.10. Изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина повышал частоту и площадь ремиелинизации в спинном мозге (10А). Число очагов, характеризующихся миелиновой бледностью, выражали в процентах от общего числа очагов в среднем из двенадцати поперечных срезов спинного мозга для каждого животного. Изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина (черные полосы) повышал частоту

ремиелинизации по отношению к обработанным соевым раствором животным (белые полосы), и имелось зависимое от времени повышение теневого бледнения при обработке изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина. (10B) Представление методологии определения степени ремиелинизации. Обводили контуры всех очагов повреждения внутри среза спинного мозга и подсчитывали площадь внутри обведения. Очаги повреждения, на которых показана миелиновая бледность, также обводили для получения общей области ремиелинизации для каждого животного, и степень ремиелинизации выражали в процентах общей области повреждения. (10C-F) Каждый график рассеяния показывает общую площадь повреждения по оси x, и процентную долю очагов повреждения, характеризующихся миелиновой бледностью, по оси y. Очаги повреждения у животных, обработанных соевым раствором (белые символы) характеризуются малой степенью ремиелинизации. После 20, 30 или 40 суток лечения изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина, наоборот, большинство очагов повреждения у животных, которых лечили изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина (черные символы), характеризовались изменчивостью по степени ремиелинизации (0-100%). Средняя площадь в процентах показана на гистограмме справа от каждого графика рассеяния (соевый раствор, белый столбик; изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина, черный столбик). Через 20, 30 или 40 суток лечения животные, обработанные изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина, характеризовались значимо более высокими процентными долями ремиелинизации (50%), чем таковые после 10 суток лечения или все контроли соевого раствора (< 10%).

ФИГ.11А и 11В. Последовательности ДНК и аминокислотные последовательности варибельной области легкой цепи мышинового 21.6 соответственно.

ФИГ.12А и 12В. Последовательности ДНК и аминокислотные последовательности варибельной области тяжелой цепи мышинового 21.6 соответственно.

ФИГ.13. Сравнение аминокислотных последовательностей мышиною и измененной человеческой варибельных областей легкой цепи 21.6. Аминокислотные последовательности, которые представляют собой часть канонических для петлевых структур CDR последовательностей, помечены звездочкой. RE1 обозначает FR и CDR из V_L -области легкой цепи человеческого RE1. La и Lb представляют собой две версии измененной человеческой V_L -области 21.6. Остатки в FR La, которые отличаются от таковых в последовательности RE1, подчеркнуты. В Lb показаны только остатки в каркасных областях, которые отличаются от таковых в RE1.

ФИГ.14. Сравнение аминокислотных последовательностей мышиною и измененной человеческой варибельных областей тяжелой цепи 21.6. Аминокислотные последовательности, которые представляют собой часть канонических для петлевых структур CDR последовательностей, помечены звездочкой. 2*CL обозначает FR и CDR из V_H -области человеческого антитела 21/28'CL. Ha, Hb и Hc представляют собой три варианта измененной

человеческой V_H -области 21.6. Остатки в FR На, которые отличаются от таковых в последовательности 21/28'CL, подчеркнуты. В Nb и Nc показаны только остатки в каркасных областях, которые отличаются от таковых в 21/28'CL.

5 ФИГ.15А и 15В. Последовательность кДНК и аминокислотная последовательность первого варианта («а») измененной человеческой вариабельной области легкой цепи 21.6.

10 ФИГ.16А и 16В. Последовательность кДНК и аминокислотная последовательность первого версии («а») измененной человеческой вариабельной области тяжелой цепи 21.6.

ФИГ.17А и 17В. ФИГ.17А представляет собой последовательность длиной 109 аминокислот мышечных областей каппа V_L из подгруппы 5, использованных для конструирования измененных человеческих вариабельных областей легкой цепи 21.6.

15 ФИГ.17В представляет собой последовательность длиной 114 аминокислот человеческих областей V_L из подгруппы 1, использованных для конструирования измененных человеческих вариабельных областей легкой цепи 21.6.

Последовательности далее описаны ниже в таблице 10.

20 ФИГ.18А и 18В. ФИГ.18А представляет собой консенсусную последовательность длиной 125 аминокислот мышечных областей V_H из подгруппы 2с, использованных для конструирования измененных человеческих вариабельных областей тяжелой цепи 21.6. ФИГ.18В представляет собой консенсусную последовательность длиной 129 аминокислот человеческих областей V_H из подгруппы 1, использованных для конструирования измененных человеческих вариабельных областей тяжелой

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

30 Перед описанием настоящих способов и терапевтических средств следует понимать, что данное изобретение не ограничено описанными конкретными способами и терапевтическими средствами, которое могут, конечно, изменяться. Также следует понимать, что используемая здесь терминология предназначена только для цели описания конкретных вариантов осуществления, и не предназначена для ограничения, поскольку объем настоящего изобретения ограничен только прилагаемой формулой изобретения.

35 Там, где предоставляется интервал значения, следует понимать, что каждое промежуточное значение до десятой доли нижнего предела, кроме случаев, где контекст ясно указывает на иное, между верхним и нижним пределом такого интервала и любое другое установленное и промежуточное значение в таком

40 установленном интервале относится к изобретению. Верхний и нижний пределы данных меньших интервалов могут независимо включаться в меньший, с допущением любого конкретного предела, которые исключен из установленного интервала. Там, где установленный интервал включает в себя один или оба предела, интервалы, исключающие оба этих включенных предела, также относятся к

45 изобретению. Также рассматриваются любые значения, попадающие в указанные интервалы.

50 Все технические и научные термины, кроме определенных иначе случаев, имеют то значение, которое обычно применяется обычным специалистом в области, к которой относится изобретение. Хотя любые способы и материалы, сходные или эквивалентные описанным здесь, могут использоваться в воплощении или тестировании настоящего изобретения, предпочтительные способы и материалы описаны здесь. Все указанные здесь публикации включены сюда в качестве ссылки

для раскрытия и описания способов и/или материалов в связи с тем, какие публикации цитируются.

1. Сокращения и определения

5 Согласно данному подробному описанию применяются следующие сокращения и определения. Нужно заметить, что используемые здесь формы единственного числа включают в себя объекты ссылки во множественном числе, кроме случаев, где контекст ясно указывает на иное. Так, например, ссылка на «антитело» включает в себя множество таких антител, и ссылка на «данную дозировку» включает в себя 10 ссылку на одну или несколько дозировок и их эквивалентов, известных специалистам в данной области, и так далее.

Обсуждаемые здесь публикации предоставлены исключительно для их описания перед датой подачи настоящей заявки. Ничего здесь не следует истолковывать как допущение того, что настоящее изобретение не дает право на то, чтобы 15 предшествовать такой публикации на основании предшествующего изобретения. Кроме того, предоставленные даты публикации могут отличаться от действительных дат публикации, которые могут потребовать независимого подтверждения.

1.1. Сокращения

20 Здесь применяются следующие сокращения.

АС кислая церамидаза

АсОН уксусная кислота

АКТГ адренкортикотропный гормон

АДЕМ острый диссеминированный энцефаломиелит

25 ALD адренолейкодистрофия

AMN адреномиелоневропатия

aq или aq. водный

ГЭБ гемато-энцефалический барьер

30 ш.д. широкий дублет

ш.м. широкий мультиплет

Вп бензил

Вос трет-бутоксикарбонил

Вос₂О ди-трет-бутилдикарбонат

35 ВОР бензотриазол-1-илокси-трис(диметиламино)фосфония гексафторфосфат

ш.с. широкий синглет

С константная область иммуноглобулина

САСН детская атаксия с гипомиелинизацией центральной нервной системы

40 САДАSIL церебральная аутосомно-доминантная артериопатия с подкорковыми инфарктами и лейкоэнцефалопатией

Сbz карбобензилокси

кДНК комплементарная дезоксирибонуклеиновая кислота

CDR определяющая комплементарность область

45 CDR1 определяющая комплементарность область 1

CDR2 определяющая комплементарность область 2

CDR3 определяющая комплементарность область 3

СFA полный адьювант Фрейнда

50 СНCl₃ хлороформ

CH₂Cl₂ дихлорметан

CIDP хроническая иммунная демиелинизирующая полиневропатия

CJD болезнь Крейцфельда-Якоба

- ЦНС центральная нервная система
 (COCl)₂ оксалилхлорид
 COX-2 циклооксигеназа-2
 CS синдром Кокейна
 5 CSF колониестимулирующий фактор
 CTX сухожильно-мозговой ксантоматоз
 д дублет
 DBU 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ен
 10 DCC 1,3-дициклогексилкарбодиимид
 дд дублет дублетов
 DMAP 4-N,N-диметиламинопиридин
 DME диметиловый эфир этиленгликоля
 DMF N,N-диметилформаид
 15 DMSO диметилсульфоксид
 ДНК дезоксирибонуклеиновая кислота
 дт дублет триплетов
 ЕАЕ экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит
 20 EBNA2 ядерный антиген вируса Эпштейна-Барр 2
 ЕСМ внеклеточный матрикс
 EDC 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида гидрохлорид
 EDTA этилендиаминотетраацетат
 ELAMS эндотелиальные молекулы адгезии
 25 EM электронная микроскопия
 Et₃N триэтиламин
 Et₂O диэтиловый эфир
 EtOAc этилацетат
 30 EtOH этанол
 экв или экв. эквивалент
 FACS активированный флуоресценцией клеточный сортер
 Fmoc N-(9-флуоренилметоксикарбонил)
 FmocONSu N-(9-флуоренилметоксикарбонил)сукцинимид
 35 FR каркасная область
 FR1 каркасная область 1
 FR2 каркасная область 2
 FR3 каркасная область 3
 40 г граммы
 GA глатирамер-ацетат
 GALOP полиневропатия с нарушением походки, с участием аутоантител, с
 поздним началом
 GM-CSF гранулоцитарно-моноцитарный колониестимулирующий фактор
 45 GSD болезнь Герстманна-Штраусслера
 ч час
 H тяжелая цепь иммуноглобулина
 НАМА человеческое антитело против мышинных антител
 50 HBr бромоводородная кислота
 HCl соляная кислота
 H-E гематоксилин-эозин
 hex A гексоаминидаза A

- HIC хроматография гидрофобных взаимодействий
 HIG человеческий иммуноглобулин
 HMSN IV наследственная моторная и сенсорная невропатия IV (также известная
 как гередоатаксия, подобная полиневриту)
- 5 H₂O вода
 НОВТ 1-гидроксибензотриазола гидрат
 HUVES человеческие клетки сосудистого эндотелия пуповины
 ICAM-1 молекула межклеточной адгезии 1
- 10 Ig иммуноглобулин
 IgG иммуноглобулин G
 IgM иммуноглобулин M
 IL интерлейкин
 IL-1 интерлейкин-1
 15 IL-2 интерлейкин-2
 IL-8 интерлейкин-8
 K₂CO₃ карбонат калия
 L легкая цепь иммуноглобулина
- 20 LFA-1 антиген, связанный с функцией лимфоцитов 1 (также известный как β₂
 интегрин, CD 11a/CD 18 и α_Lβ₂)
 м мультиплет
 MAb моноклональные антитела
 Mac-1 α_Mβ₂ интегрин (также известный как CD11b/CD18)
 25 MAdCAM-1 молекула клеточной адгезии - адрессин слизистой оболочки
 MALDI/TOF MS опосредованная матрицей лазерная десорбция-
 ионизация/времяпролетная масс-спектрометрия
 MBP основной белок миелина
- 30 MCP-1 моноцитарный белок хемотаксиса 1
 MeOH метанол
 MES 2-(N-морфолин)этансульфоновая кислота
 мг миллиграмм
 MgSO₄ сульфат магния
 35 мин минута
 MIP-1α макрофагальный воспалительный белок 1 альфа
 MIP-1β макрофагальный воспалительный белок 1 бета
 мл миллилитр
- 40 MLD метахроматическая лейкодистрофия
 мм миллиметр
 mM миллимолярная концентрация
 ммоль миллимоль
 45 MOG миелиновый гликопротеин олигодендроцитов
 т.п. точка плавления
 РС рассеянный склероз
 N нормальный
 NaCl хлорид натрия
- 50 Na₂CO₃ карбонат натрия
 NaHCO₃ бикарбонат натрия
 NaOEt этоксид натрия
 NaOH гидроксид натрия

- NH₄Cl хлорид аммония
 NMM N-метилморфолин
 NSAID нестероидное противовоспалительное средство
 ПЦР полимеразная цепная реакция
 5 PEG полиэтиленгликоль
 Phe L-фенилаланин
 PKU фенилкетонурия
 PLP белок протеолипида
 10 PMSF фенолметилсульфонилфторид
 ROEMS полиневропатия-органомегалия-эндокринопатия с изменениями М-белка и
 кожи
 Pro L-пролин
 PRP родственный приону белок
 15 psi фунтов на кв.дюйм
 PtO₂ оксид платины
 кв.квартет
 квинт. квинтет
 20 RANTES регулируемый после активации, экспрессируемый в нормальных Т-
 клетках и секретируемый хемокин (также известный как малый индуцируемый
 цитокин А5)
 РНК рибонуклеиновая кислота
 rt комнатная температура
 25 ОТ-ПЦР полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией
 с синглет
 SAMI селективные ингибиторы молекулы адгезии
 насыщ. насыщенный
 30 scFv одноцепочечный Fv-фрагмент
 SCR солохром-R-цианин
 SDS додецилсульфат натрия
 SDS-PAGE электрофорез в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия
 35 ВП-РС вторичный прогрессирующий рассеянный склероз
 t триплет
 t-BuOH трет-бутанол
 TFA трифторуксусная кислота
 TGF-β фактор роста опухоли бета
 40 THF тетрагидрофуран
 TLC или tlc тонкослойная хроматография
 TNF фактор некроза опухоли
 TNF-α фактор некроза опухоли альфа
 TNF-β фактор некроза опухоли бета
 45 Ts тозил
 TsCl тозилхлорид
 TsOH тозилат
 UV ультрафиолет
 50 VCAM-1 молекула адгезии клеток сосудов 1
 V_H тяжелая цепь переменного домена
 V_L легкая цепь переменного домена
 VLA-4 очень поздний антиген 4 (также известен как альфа-4 бета-1, α4β1)

мкл микролитр

φ фенил

1.2 Определения

5 Сокращения для двадцати встречающихся в природе аминокислот придерживаются общепринятой практики (IMMUNOLOGY-A SYNTHESIS (2nd ed., E.S. Golub & D.R. Gren, eds., Sinauer Associates, Sunderland, Mass., 1991)).

10 Стереоизомеры (например, D-аминокислоты) двадцати обычных аминокислот, ненатуральные аминокислоты, такие как α,α-дизамещенные аминокислоты, N-алкиламинокислоты, молочная кислота и другие нетрадиционные аминокислоты также могут представлять собой подходящие компоненты для полипептидов по
15 настоящему изобретению. Примеры нетрадиционных аминокислот включают в себя: 4-гидроксипролин, γ-карбоксиглутамат, ε-N,N,N-триметиллизин, ε-N-ацетиллизин, O-фосфосерин, N-ацетилсерин, N-формилметионин, 3-метилгистидин, 5-гидроксилизин, ω-N-метиларгинин и другие сходные аминокислоты и иминокислоты (например, 4-гидроксипролин). Более того, аминокислоты можно модифицировать гликозилированием, фосфорилированием и тому подобным.

20 В обозначении полипептида, используемом здесь, левая область представляет собой N-концевую область и правая область представляет собой C-концевую область согласно стандартной практике и условным обозначениям. Подобным образом, если не указан иной способ обозначения, левый конец одноцепочечных полинуклеотидных последовательностей представляет собой 5'-конец; левая область
25 двухцепочечных полинуклеотидных последовательностей обозначена как 5'-область. Область присоединения образующихся транскриптов РНК от 5' до 3' обозначается как область транскрипции; области последовательности цепи ДНК, содержащие такую же последовательность, что и РНК, и которые являются 5'-областью для 5'-конца транскрипта РНК, обозначаются как «восходящие последовательности»;
30 области последовательности цепи ДНК, содержащие такую же последовательность, что и РНК, и которые являются 3'-областью для 3'-конца транскрипта РНК, обозначаются как «нисходящие последовательности».

35 Фраза «полинуклеотидная последовательность» обозначает двухцепочечный полимер дезоксирибонуклеотидных или рибонуклеотидных оснований, читаемых с 5'- до 3'-конца. Она включает в себя самореплицирующиеся плазмиды, инфекционные полимеры ДНК или РНК и нефункциональную ДНК или РНК.

40 Следующие термины используют для описания сходства последовательностей между двумя или более полинуклеотидами: «последовательность сравнения», «окно сравнения», «идентичность последовательности», «процент идентичности последовательности» и «существенная идентичность». «Последовательность
45 сравнения» представляет собой определенную последовательность, используемую в качестве основы для сравнения последовательности; последовательность сравнения может представлять собой часть большей последовательности, как, например, участок полноразмерной ДНК, или последовательности гена, приведенного в списке
50 последовательностей, такой как полинуклеотидная последовательность на фиг.11 или 12, или может включать в себя полную последовательность ДНК или последовательность гена. Как правило, последовательность сравнения представляет собой последовательность длиной, по крайней мере, 20 нуклеотидов, часто длиной, по крайней мере, 25 нуклеотидов и зачастую длиной, по крайней мере, 50 нуклеотидов. Поскольку два полинуклеотида, каждый из которых может (1) содержать последовательность (то есть фрагмент полной полинуклеотидной

последовательности), которые схожи между двумя полинуклеотидами, и (2) может дополнительно содержать последовательность, которая различается среди двух полинуклеотидов, сравнения последовательностей между двумя (или более) полинуклеотидами типично проводят внутри «окна сравнения», для того чтобы
5 определить и сравнить локальные области сходства последовательности. Используемый здесь термин «окно сравнения» относится к абстрактному сегменту, по крайней мере, из 20 следующих друг за другом положений нуклеотидов, в котором можно сравнивать полинуклеотидную последовательность с
10 последовательностью сравнения, по крайней мере, из 20 следующих друг за другом нуклеотидов и в котором фрагмент полинуклеотидной последовательности в окне сравнения может содержать вставки и делеции (то есть вставки) порядка 20 процентов или менее по сравнению с последовательностью сравнения (которая не
15 содержит вставок или делеций) для оптимального выравнивания двух последовательностей. Оптимальное выравнивание последовательностей при выравнивании окна сравнения можно проводить посредством алгоритма локальной гомологии Smith-Waterman, *Adv. Appl. Math.* 2: 482 (1981), алгоритма выравнивания по гомологии Needleman-Wunsch, *J.Mol.Biol.* 48: 443 (1970), способа поиска
20 сходства Pearson-Lipman, *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 85: 2444 (1988) (каждый из которых включен сюда полностью в качестве ссылки), посредством компьютеризированной реализации данных алгоритмов (GAP, BESTFIT, FASTA и TFASTA в программном пакете Wisconsin Genetics Software Package версии 7.0, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.) или посредством визуального
25 анализа и выбирают лучшее выравнивание (то есть приведшее к самому высокому проценту сходства последовательности в окне сравнения), полученное посредством различных способов. Термин «идентичность последовательности» означает, что две полинуклеотидные последовательности идентичны (то есть по основополагающему
30 принципу нуклеотид за нуклеотидом) в окне сравнения. Термин «процент идентичности последовательности» высчитывается при сравнении двух оптимально выровненных последовательностей в окне сравнения, определяя количество положений, в которых в обеих последовательностях встречаются идентичные основания нуклеиновых кислот (например, А, Т, С, G, U или I), чтобы получить
35 количество совпавших положений, разделив количество совпавших положений на общее количество положений в окне сравнения (то есть размер окна), и умножив результат на 100, чтобы получить процент идентичности последовательности. Используемый здесь термин «существенная идентичность» обозначает
40 характеристику полинуклеотидной последовательности, где полинуклеотид содержит последовательность, которая имеет, по крайней мере, 85 процентов идентичности последовательности, предпочтительно, по крайней мере, от 90 до 95 процентов идентичности последовательности, более обычно, по крайней мере, 99 процентов идентичности последовательности по сравнению с последовательностью
45 сравнения в окне сравнения размером, по крайней мере, 20 нуклеотидных положений, зачастую в окне сравнения размером, по крайней мере, 25-50 нуклеотидов, где процент идентичности последовательности рассчитывается при сравнении последовательности сравнения с полинуклеотидной
50 последовательностью, которая может содержать делеции или вставки, которые составляют всего 20 процентов или менее от последовательности сравнения в окне сравнения. Последовательность сравнения может представлять собой фрагмент большей последовательности.

В применении к полипептидам термин «идентичность последовательности» означает, что пептиды содержат идентичные аминокислоты в соответствующих положениях. Термин «сходство последовательности» означает, что пептиды имеют идентичные или сходные аминокислоты (то есть консервативные замены) в соответствующих положениях. Термин "существенная идентичность" означает, что две пептидные последовательности, если они оптимально выровнены, например, посредством программ GAP или BESTFIT с использованием весов по вставкам, установленных по умолчанию, имеют, по крайней мере, 80 процентов идентичности последовательности, предпочтительно, по крайней мере, 90 процентов идентичности последовательности, более предпочтительно, по крайней мере, 95 процентов идентичности последовательности или более (например, 99 процентов идентичности последовательности). Предпочтительно, положения остатков, которые не идентичны, отличаются консервативными аминокислотными заменами. Термин «существенное сходство» означает, что две пептидные последовательности имеют соответствующее количество процентов сходства последовательности.

Используемый здесь термин «по существу сходный» предназначен для обозначения любого полипептида, который содержит в последовательности модификацию, такую, что функционально эквивалентная аминокислота заменяется одной или более аминокислотами в полипептиде, получая, таким образом, изменение, которое не имеет никакого или имеет относительно небольшое влияние на связывающие свойства полипептида. Например, один или более аминокислотных остатков внутри последовательности можно заменить другой аминокислотой сходной полярности или сходного размера.

Термин «по существу чистый» означает, что исследуемое вещество представляет собой преобладающее присутствующее вещество (то есть на молярной основе оно присутствует в гораздо большем количестве, чем любые другие индивидуальные вещества в композиции), и, предпочтительно, по существу очищенная фракция представляет собой композицию, в которой исследуемое вещество содержит, по крайней мере, приблизительно 50 процентов (на молярной основе) от всех присутствующих макромолекулярных веществ. В основном, по существу чистая композиция будет содержать более чем приблизительно 80-90 процентов от всех макромолекулярных веществ, присутствующих в композиции. Наиболее предпочтительно, исследуемое вещество очищено до значительной однородности (загрязняющие вещества невозможно обнаружить в композиции обычными способами определения), где композиция состоит в значительной степени из одного макромолекулярного вещества.

В целях классификации аминокислотных замен в качестве консервативных или неконсервативных аминокислоты группируют следующим образом: группа I (гидрофобные боковые цепи): норлейцин, met, ala, val, leu, ile; группа II (нейтральные гидрофильные боковые цепи): cys, ser, thr; группа III (кислые боковые цепи): asp, glu; группа IV (основные боковые цепи): asn, gln, his, lys, arg; группа V (остатки, влияющие на ориентацию цепи): gly, pro и группа VI (ароматические боковые цепи): trp, tyr, phe. Консервативные замены предусматривают замены между аминокислотами внутри одного и того же класса. Неконсервативные замены представляют собой замену члена одного из этих классов на другой.

Аминокислоты из переменных областей зрелых тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов обозначаются N_x и L_{xx} соответственно, где «x» представляет собой число, обозначающее положение аминокислот согласно схеме Kabat et al.,

в SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987) и (1991)) (здесь и далее в совокупности называемые «Kabat», полностью включенные сюда в качестве ссылки). В Kabat перечислено множество аминокислотных последовательностей антител для каждого подкласса, и
5 приведена наиболее часто встречающаяся аминокислота для каждого положения остатка в данном подклассе. Kabat использует способ обозначения номера остатка для каждой аминокислоты в перечисленной последовательности, и этот способ обозначения номера остатка стал стандартным в данной области. Схема Kabat
10 применима к другим антителам, не включенным в перечень, при выравнивании рассматриваемого антитела с одной из консенсусных последовательностей в Kabat. Использование системы нумерации Kabat легко определяет аминокислоты в равнозначных положениях в различных антителах. Например, аминокислота в
15 положении L50 антитела человека занимает положение, равнозначное положению аминокислоты L50 антитела мыши.

Термин «реагент» или «средство» используют для обозначения биологически активной молекулы, которая связывается с рецептором лиганда. Например, антитела или их фрагменты, которые иммунологически взаимодействуют с рецептором VLA-4
20 или VCAM-1, можно использовать для стимуляции ремиелинизации и/или снижения паралича у субъектов в статистически значимом количестве. Также рассмотрены пептиды, или пептидомиметики, или родственные соединения, которые могут взаимодействовать, так чтобы связаться с рецептором на поверхности клетки, и их можно искусственно получить способами, известными в данной области. Также
25 рассмотрены другие реагенты, которые взаимодействуют с рецептором VLA-4, как обсуждалось здесь, или как очевидно специалистам в данной области.

Используемый здесь термин «ремиелинизирующее средство» обозначает любое средство, которое активирует ремиелинизацию и/или снижает паралич у субъекта в
30 статистически значимом количестве. Предпочтительно такие средства включают в себя иммуноглобулины (например, антитела, фрагменты антител и рекомбинантно получаемые антитела или фрагменты), полипептиды (например, растворимые формы белков-лигандов для интегринов) и низкомолекулярные молекулы, которые при введении эффективного количества ингибируют демиелинизацию и/или стимулируют
35 ремиелинизацию у пациентов. Такие средства могут также привести к снижению паралича при введении в эффективном количестве пациенту. Данные средства можно выбрать из средств против альфа-4-интегрина (предпочтительно антагонисты против альфа-4-бета-1-интегрина) и средств против VCAM-1. Тем не менее, в
40 отношении настоящего изобретения, такие средства против альфа-4-интегрина и против VCAM-1 включают в себя только те средства, которые при введении в эффективном количестве ингибируют демиелинизацию и/или стимулируют ремиелинизацию и/или снижают паралич.

Используемый здесь термин «средство против альфа-4-интегрина» обозначает
45 любое средство, которое специфически связывается с интегрином, содержащим субъединицу альфа-4, и ингибирует активность интегрина. Термин «антагонисты интегрина» включает в себя любое средство, которое ингибирует связывание содержащих субъединицу альфа-4 интегринов с лигандом и/или рецептором
50 интегрина. Предпочтительно, антагонисты интегрина ингибируют связывание димера альфа-4-бета-1 с его родственным лигандом (лигандами). Такие антагонисты могут включать в себя антитела против интегрина или содержащие гомологи антител белки, а также и другие молекулы, такие как растворимые формы белков-

лигандов для интегрин. Растворимые формы белков-лигандов для содержащих субъединицу альфа-4 интегринов включают в себя растворимый V α СAM-1, белки слияния V α СAM-1 или бифункциональные белки слияния V α СAM-1/Ig. Например, растворимую форму лиганда интегрин или его фрагмент можно вводить для связывания интегрин и, предпочтительно, для конкуренции за участок связывания интегрин в клетках, тем самым приводя к эффектам, сходным с эффектами при введении антагонистов, таких как антитела против интегрин (например, VLA-4). В частности, растворимые мутанты интегрин, которые связывают лиганд, но не вызывают зависимую от интегрин передачу сигналов, включены в объем изобретения.

«Натализумаб» или "Antegren[®]" обозначают гуманизированное антитело против VLA-4, как обычно описано в находящихся в собственности патентах США номер 5840299 и 6033665, которые полностью включены сюда в качестве ссылок. Также здесь рассматриваются другие специфичные для VLA-4 антитела. Такие ремиелинизирующие антитела и иммуноглобулины включают в себя в качестве неограничивающих примеров иммуноглобулины, описанные в таких патентах США номер 6602503 и 6551593, опубликованной заявке на патент США номер 20020197233 (Relton et al.), как здесь далее обсуждается.

Используемый здесь термин «эффективность» в контексте длительного режима дозировки обозначает эффективность определенного режима лечения. Эффективность можно оценить на основе изменения течения заболевания в ответ на средство по настоящему изобретению. Например, при лечении РС эффективность можно оценить по частоте рецидивов рецидивно-ремиссионного РС, по наличию или отсутствию новых поражений в центральной нервной системе, как определяют с использованием способов, таких как MRI.

Используемый здесь термин «успех» в контексте длительного режима лечения относится к эффективности определенного режима лечения. Он включает в себя гармоничное соотношение эффективности, токсичности (например, побочные эффекты и переносимость пациентом препарата или единицы дозы), соблюдение больным режима и схемы лечения и тому подобное. Для длительного режима введения, который будет рассматриваться в качестве «успешного», необходимо уравновесить различные аспекты ухода за пациентом и эффективности, для того чтобы получить самый благоприятный для пациента результат.

Используемый здесь термин «специфически связывается» или «связывается специфически» относится к ситуации, в которой ни один участник из пары при специфичном связывании не покажет какого-либо значительного связывания с молекулой, за исключением его специфичного партнера при связывании (например, аффинность приблизительно 1000 \times или более для его партнера при связывании). В настоящем изобретении низкомолекулярные соединения, такие как изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина, не показывают значительного связывания с каким-либо полипептидом, за исключением альфа-4-интегрин или рецептора, содержащего альфа-4-интегрин. Например, низкомолекулярное соединение, используемое в способах по изобретению, которое связывается с альфа-4-интегрином с аффинностью связывания большей, чем 0,3 нМ, как говорят, с альфа-4-интегрином связывается специфично.

Используемый здесь термин «вызывает иммунный ответ» и «вызывает иммунный ответ организма-хозяина» обозначает формирование иммунного ответа на рецептор,

содержащий альфа-4-интегрин у субъекта при введении средства по изобретению субъекту. Иммунный ответ у субъекта можно охарактеризовать по реакционной способности сыворотки к рецептору альфа-4-интегрина, которая больше, по крайней мере, в два раза, чем у не подвергавшегося лечению субъекта, более
5 предпочтительно в три раза больше реакционной способности не подвергавшегося лечению субъекта и, даже более предпочтительно, по крайней мере, в четыре раза больше реакционной способности не подвергавшегося лечению субъекта, при измерении иммунореактивности сыворотки с использованием разведения сыворотки
10 приблизительно 1:100.

Термин «фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель» предназначен для обозначения любого соединения, используемого при приготовлении части препарата, которая предназначена для того, чтобы служить просто в качестве
15 носителя, то есть которая сама по себе не предназначена для того, чтобы обладать биологической активностью. Фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель, в основном, безопасны, нетоксичны и не являются неприемлемыми ни биологически, ни как-либо иначе. Фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель, как они используются в спецификации и в формуле изобретения,
20 включают в себя как один, так и более чем один такой носитель.

Используемые здесь термины «обработка» и «лечение» и им подобные в основном обозначают получение необходимого фармакологического и физиологического эффекта. Точнее сказать, описанные здесь реагенты, которые
25 используются для лечения субъектов с демиелинизирующими заболеваниями или состоянием, должны осуществлять одно или более действий из следующих: (1) предотвращать демиелинизацию; (2) ингибировать демиелинизацию; (3) стимулировать ремиелинизацию; (4) замедлять или прекращать развитие паралича и (5) снижать/полностью обращать паралич. Таким образом, воздействие может
30 быть профилактическим в виде предотвращения или частичного предотвращения развития заболевания, его симптома или состояния и/или может быть терапевтическим в виде частичного или полного излечения от заболевания, состояния, симптома или побочного действия, относящегося к заболеванию, в зависимости от состояния или заболевания, которое подвергают лечению.

Используемый здесь термин «лечение» охватывает любое лечение заболевания млекопитающих, особенно человека, и включает в себя: (a) предупреждение
35 заболевания, встречающегося у субъекта, который может быть предрасположен к заболеванию, но его наличие еще не было диагностировано; (b) ингибирование заболевания, то есть торможение его развития или (c) ослабление заболевания, то есть вызывает регрессию заболевания и/или его симптомов или состояний.

Изобретение направлено на лечение страданий пациента, вызванных заболеванием, связанных с патологическим воспалением. Настоящее изобретение затрагивает
45 предотвращение, ингибирование или ослабление неблагоприятных действий, присущих патологическому воспалению и демиелинизации в течение длительных периодов времени, и/или если таковые вызываются физиологическими ответами на присутствие несвойственного воспаления в биологической системе в течение длительных периодов времени.

«Терапевтически эффективным количеством» обозначают количество средства,
50 реагента или комбинации реагентов, описанных здесь, которое при введении млекопитающему достаточно для того, чтобы стимулировать ремиелинизацию клеток млекопитающих и/или снизить паралич у животного в статистически

значимом количестве.

Термином «количество, эффективное для ремиелинизации» обозначают количество средства, реагента или композиции, эффективное для ингибирования демиелинизации и/или стимуляции ремиелинизации у субъекта и/или снижения паралича. «Количество, эффективное для ремиелинизации» изменяется в зависимости от соединения или композиции определенного, нуждающегося в лечении заболевания и его серьезности и возраста, веса и т.д. млекопитающего, которое будут лечить.

«Длительным введением» обозначают введение средства, реагента или комбинационную терапию по изобретению в количестве и с периодичностью введения, чтобы привести к одному или более пунктов из следующих: (1) снизить паралич у субъекта с демиелинизирующим заболеванием и состоянием, (2) остановить прогрессирование паралича у субъекта с демиелинизирующим заболеванием и состоянием; (3) стимулировать ремиелинизацию у субъекта с демиелинизирующим заболеванием и состоянием; и (4) предотвратить демиелинизацию у субъекта с демиелинизирующим заболеванием и состоянием. Введение предпочтительно осуществляется два раза в неделю, еженедельно, ежемесячно или через месяц, но может быть ежедневным. Более предпочтительно, лечение является еженедельным или ежемесячным и применяется в течение от 6 месяцев до нескольких лет или до конца жизни пациента в зависимости от заболевания или состояния, которое подвергается лечению.

Дополнительные определения, относящиеся к соединениям формулы I, IA, IB, IC, II, PA и PB, описаны там же.

2. Основные аспекты изобретения

Настоящее изобретение основано на удивительном результате, что длительное введение появляющегося класса новых соединений, известных как селективные ингибиторы молекул адгезии (SAMI), обеспечивает соответствующий контроль над воспалительным ответом таким способом, что стимулирует ремиелинизацию. Существующие ингибиторы не обеспечивали такого контроля над воспалительным ответом, и болезнь продолжала прогрессировать. Что показали авторы изобретения здесь, так это то, что класс низкомолекулярных соединений, предпочтительно иллюстрируемых соединениями формулы I и II, предпочтительно формулы IB, IC и PB, применим при лечении такого патологического воспаления. Такие низкомолекулярные соединения можно вводить, используя длительный режим дозировки или кратковременный режим дозировки. Однако длительный режим дозировки предпочтителен, для того чтобы поддержать подавление патологического воспаления. Таким образом, для того чтобы реализовать некоторые из наиболее важных преимуществ изобретения, уровни ремиелинизирующих средств необходимо поддерживать в течение большого количества месяцев или даже лет.

В общем смысле, способ по изобретению не затрагивает никакого определенного способа введения, так как способ введения зависит от формы активного средства и препарата, приготовленного для введения активного средства. Способы введения включают в себя пероральный, парентеральный (например, подкожный, субдуральный, внутривенный, внутримышечный, интратекальный, внутрибрюшинный, внутримозговой, внутриартериальный или в очаг поражения пути введения), местный, локализованный (например, хирургический компресс или хирургический суппозиторий), ректальный и легочный (например, аэрозоли,

ингаляция или порошок). Предпочтительно, путь введения является парентеральным. Путь введения обоснован вводимой композицией (например, иммуноглобулин, вводимый внутривенно в сравнении с низкомолекулярным соединением, вводимым перорально), нацеленностью на определенную ткань (например, интратекальное введение, для нацеливание на участок поражения спинного мозга) и тому подобным, как известно обычным специалистам в данной области.

Дополнительно, ремиелинизирующие средства можно объединять с другими соединениями или композициями, используемыми для лечения, облегчения или смягчения симптомов, связанных с демиелинизирующими состояниями или заболеваниями. Кроме того, описанные здесь соединения можно вводить отдельно или в комбинации с другими средствами, такими как другие ремиелинизирующие средства, включающие в себя антитела и их иммунологически активные фрагменты (например, натализумаб). Низкомолекулярные соединения при введении в комбинации можно вводить в том же самом препарате, что и другие низкомолекулярные соединения или композиции, или в отдельном препарате. Ремиелинизирующие средства в виде антител при введении в комбинации, в основном, вводят в отдельном препарате, в отличие от ремиелинизирующих средств в виде низкомолекулярных соединений, других соединений и композиций. Ремиелинизирующие средства при введении в комбинации можно вводить до, после или одновременно с другими соединениями и композициями, используемыми для лечения, облегчения или смягчения симптомов. Основной аспект изобретения относится к введению относительно постоянных количеств активного средства в систему кровообращения пациента в течение месяцев или лет. Такое длительное введение ремиелинизирующего средства обеспечивает соответствующий контроль над патологическим воспалением, поддерживаемый на постоянном уровне в течение длительного периода времени. Поддерживая терапевтические уровни активного средства в течение длительного периода времени, можно на длительный срок подавить патологическое воспаление у пациента.

В очень определенном смысле, изобретение относится к получению и поддержанию у пациента-человека уровня насыщенности рецептора димера, содержащего альфа-4-интегрин в диапазоне приблизительно от 65% до 100%, более предпочтительно, от 75% до 100%, и еще более предпочтительно между 80-100%. Такие уровни насыщенности рецептора длительно поддерживают на данных уровнях (например, в течение приблизительно 6 месяцев или около того), для того чтобы обеспечить длительное подавление патологического воспаления.

Вообще, ремиелинизирующие средства можно выбрать из средств, которые специфично связываются с альфа-4-интегрином, или связывают специфично альфа-4-интегрин. Например, низкомолекулярные соединения, используемые в способах по изобретению, можно выбрать из соединений, которые обладают аффинностью связывания с альфа-4-интегрином от 0,3 до 3 нМ. Кроме того, можно также выбрать антитела, такие как натализумаб, которые обладают аффинностью связывания с альфа-4-интегрином приблизительно от 0,2 до приблизительно 0,4 нМ.

В другом аспекте изобретения описанные здесь соединения и композиции можно использовать для того, чтобы заблокировать миграцию иммунных клеток из кровотока в центральную нервную систему в случае, например, рассеянного склероза, или к областям, которые приводят к вызванному воспалением разрушению миелина. Предпочтительно, такие средства или реагенты блокируют миграцию

иммунных клеток способом, который ингибирует демиелинизацию и который дополнительно может стимулировать ремиелинизацию. Средства или реагенты могут также предотвращать демиелинизацию и стимулировать ремиелинизацию центральной нервной системы при врожденных метаболических нарушениях, в которых инфильтрация иммунных клеток влияет на образование миелиновой оболочки, главным образом, в ЦНС. Реагенты предпочтительно также снижают паралич при введении субъекту с параличом, вызванным демиелинизирующим заболеванием или состоянием.

3. Показания для лечения

Воспалительные заболевания, которые включены сюда для лечения описанными здесь композициями, соединениями и способами, включают в себя, в основном, состояния, относящиеся к демиелинизации. Гистологически, миелиновые нарушения представляют собой либо демиелинизацию, либо дисмиелинизацию. Демиелинизация подразумевает разрушение миелина. Дисмиелинизация относится к дефектному образованию или дефектному поддержанию состояния миелина, являющихся следствием дисфункции олигодендроцитов. Предпочтительно, описанные здесь композиции и способы предназначены для лечения заболеваний и состояний, относящихся к демиелинизации, и способствуют ремиелинизации. Дополнительные заболевания или состояния, рассматриваемые для лечения, включают в себя менингит, энцефалит и повреждение спинного мозга и состояния, которые, в основном, вызывают демиелинизацию в качестве результата воспалительного ответа. Описанные здесь соединения, композиции и способы не направлены на заболевания и состояния, где имеет место быть, например, генетический дефект, приводящий к неправильному образованию миелина, например дисмиелинизации.

Описанные здесь композиции, соединения и смеси предусмотрены для лечения состояний и заболеваний, связанных с демиелинизацией. Заболевания и состояния, влекущие за собой демиелинизацию, включают в себя в качестве неограничивающих примеров рассеянный склероз, врожденные метаболические нарушения (например, фенилкетонурия, болезнь Тея-Сакса, болезнь Ниманна-Пика, болезнь Гоше, синдром Гурлера, болезнь Краббе и другие лейкодистрофии), невропатии с аномальной миелинизацией (например, синдром Гийена-Барре, хроническая иммунная демиелинизирующая полиневропатия (CIDP), множественная CIDP, синдром против MAG, синдром GALOP, синдром антител против сульфатидов, синдром антител против GM2, синдром POEMS, периневрит, синдром антитела IgM против GD1b), связанную с лекарственными препаратами демиелинизацию (например, вызванную введением хлорохина, FK506, пергексила, прокаинамида и зимелдина), другие наследственные демиелинизирующие состояния (например, синдром гликопротеинов с дефицитом углевода, синдром Коккейна, врожденная гипомиелинизация, врожденная мышечная дистрофия, болезнь Фарбера, синдром Маринеску-Шегрена, метахроматическая лейкодистрофия, болезнь Пелицеуса-Мерцбахера, болезнь Рефсума, связанные с прионами состояния и болезнь Салла) и другие демиелинизирующие состояния (например, менингит, энцефалит и повреждение спинного мозга) или заболевания.

Существуют различные модели заболеваний, которые можно использовать для изучения данных заболеваний *in vivo*. Например, модели животных включают в себя в качестве неограничивающих примеров:

Таблица 1	
Модель заболевания	Вид

ЕАЕ	Мышь, крыса, морская свинка
ЕАЕ, вызванная миелиновым гликопротеином олигодендроцитов (MOG)	Крыса
Трансгенная по TNF- α модель демиелинизации	Мышь

5 3.1. Рассеянный склероз

Самым распространенным демиелинизирующим заболеванием является рассеянный склероз, но множество других метаболических и воспалительных нарушений приводят к недостаточной или неправильной миелинизации. РС представляет собой хроническое неврологическое заболевание, которое появляется в ранней молодости у взрослых людей и прогрессирует в большинстве случаев до значительной недееспособности. В одних только Соединенных Штатах имеет место приблизительно 350000 случаев РС. За исключением травмы, РС представляет собой самую частую причину неврологической недееспособности, начиная с ранней 15 молодости до среднего периода взросления.

Причину РС все еще необходимо определить. РС характеризуется хроническим воспалением, демиелинизацией и глиозом (рубцеванием). Демиелинизация может привести или к отрицательным, или к положительным эффектам на аксональную проводимость. Положительные аномалии проводимости включают в себя замедленную аксональную проводимость, неполную блокаду проводимости, которая происходит при наличии высокочастотной, а не низкочастотной, последовательности импульсов, или полную блокаду проводимости. Положительные аномалии проводимости включают в себя эктопическую генерацию 20 импульса, спонтанную или после механического стресса, и аномальную «взаимную передачу сигналов» между демиелинизированными эксонами.

Т-клетки, реакционноспособные против белков миелина, либо основного белка миелина (МВР), либо белка протеолипида (PLP), как было замечено, опосредовали 30 воспаление в ЦНС при экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите. Также наблюдали, что пациенты имели повышенные уровни иммуноглобулинов (Ig) в ЦНС. Далее возможно, что некоторые из повреждений ткани, наблюдаемых при РС, опосредованы цитокиновыми продуктами активированных Т-клеток, макрофагов или астроцитов.

35 На сегодняшний день 80% пациентов с диагнозом РС живут 20 лет после начала заболевания. Способы лечения при лечении РС включают в себя (1) лечение, нацеленное на изменение течения заболевания, включая сюда лечение острого приступа заболевания, и направленное на долгосрочное подавление заболевания; (2) 40 лечение симптомов РС; (3) предупреждение развития и лечение медицинских осложнений и (4) оказание помощи при вторичных личных и социальных проблемах.

Начало РС может быть драматичным или настолько мягким, что не заставляет пациента обращаться за медицинской помощью. Самые распространенные симптомы включают в себя слабость в одной или более конечностях, неясность 45 зрения из-за оптического неврита, сенсорных нарушений, двоение в глазах и атаксии. Течение заболевания можно разложить на три общие группы: (1) рецидивирующий РС, (2) хронический прогрессирующий РС и (3) пассивный РС. Рецидивирующий РС характеризуется повторяющимися приступами неврологической дисфункции. Приступы РС, как правило, развиваются в период от дней до недель и могут 50 сопровождаться полным восстановлением, частичным восстановлением или отсутствием восстановления. Восстановление от приступов, как правило, происходит в период от недель до нескольких месяцев от максимального проявления

симптомов, хотя изредка некоторое восстановление может продолжаться в течение 2 или более лет.

Хронический прогрессирующий РС приводит к постепенно прогрессирующему ухудшению без периодов успокоения или ремиссии. Данная форма развивается у 5 пациентов с предшествующим в истории болезни рецидивирующим РС, хотя 20% пациентов не могут вспомнить никаких рецидивов. Острые рецидивы также могут произойти во время прогрессирующего течения.

Третья форма представляет собой пассивный РС. Пассивный РС характеризуется 10 неизменной неврологической недостаточностью с различной интенсивностью. У большинства пациентов с пассивным РС наблюдается более ранний в истории болезни рецидивирующий РС.

Течение заболевания также зависит от возраста пациента. Например, 15 благоприятные прогностические факторы включают в себя раннее начало (исключая детство), рецидивирующее течение и небольшую остаточную недееспособность через 5 лет после начала заболевания. В отличие от этого, неблагоприятный прогноз связан с началом в позднем возрасте (то есть возраст 40 лет или старше) и прогрессирующее течение. Данные параметры являются взаимосвязанными, так как 20 у хронического прогрессирующего РС наблюдают тенденцию начала в более позднем возрасте, чем у рецидивирующего РС. Недееспособность при хроническом прогрессирующем РС обычно является следствием прогрессирующей параплегии или тетраплегии (паралича) у пациентов. В одном аспекте изобретения пациента 25 будут предпочтительно лечить, когда пациент находится в фазе ремиссии, а не на рецидивирующей стадии заболевания.

Кратковременное использование либо аденокортикотропного гормона, либо кортикостероидов для перорального введения (например, преднизон для 30 перорального введения или метилпреднизолон для внутривенного введения) представляет собой единственное специфическое терапевтическое средство для лечения пациентов с острым приступом РС.

Более новые способы лечения РС включают в себя лечение пациента 35 интерфероном бета-1b, интерфероном бета-1a и Сорахоне[®] (ранее известным как сополимер 1). Данные три лекарственных препарата, как было показано, значительно уменьшали частоту рецидивов заболевания. Данные лекарственные препараты вводят самостоятельно внутримышечно или подкожно.

Тем не менее, ни один из используемых способов лечения не ингибирует 40 демиелинизацию, не говоря уже о стимуляции или возможности самопроизвольной ремиелинизации или снижении паралича. Один аспект изобретения предусматривает лечение РС описанными здесь средствами или отдельно, или в комбинации с другими стандартными способами лечения.

3.2. Врожденные метаболические нарушения

45 Врожденные метаболические нарушения включают в себя фенилкетонурию (ПКУ) и другие аминокислотурии, болезнь Тея-Сакса, болезнь Ниманна-Пика, болезнь Гоше, синдром Гурлера, болезнь Краббе и другие лейкодистрофии, которые влияют на образование оболочки, как описано более полно ниже.

ПКУ представляет собой наследственную ошибку в метаболизме, вызванную 50 недостаточностью фермента фенилаланингидроксилазы. Отсутствие данного фермента приводит к задержке умственного развития, повреждению органов, необычному положению тела и может, в случаях ПКУ по материнской линии, сильно ставить под угрозу беременность. Модель для изучения ПКУ описана на мышах.

Предпочтительно, для младенцев, у которых определена РКУ, устанавливают диету, не содержащую фенилаланин или с его пониженным содержанием. Аспект изобретения будет объединять такие диеты с описанными здесь соединениями и композициями для того, чтобы предотвратить демиелинизацию и ремиелинировать клетки, поврежденные вследствие РКУ.

Классическая болезнь Тея-Сакса появляется у субъекта приблизительно в возрасте 6 месяцев и в конечном счете приводит к смерти субъекта в возрасте 5 лет. Болезнь является следствием недостаточности фермента, гексоаминидазы (hex A), который необходим для деградации определенных жирных веществ в головном мозге и нервных клетках. Данные вещества в отсутствие фермента накапливаются и приводят к разрушению нервных клеток. Другая форма недостаточности фермента hex A встречается позже в течение жизни и обозначается как ювенильная, хроническая и взрослая формы начала недостаточности hex A. Симптомы похожи на симптомы, которые характерны для классической болезни Тея-Сакса. Также существует взрослая форма начала недостаточности фермента. В настоящее время не существует никакого способа лечения или обработки данной болезни/недостаточности, а только профилактическая мера исследования эмбриона *in utero* на наличие заболевания. Таким образом, описанные здесь соединения и композиции можно применять для ослабления или предотвращения разрушения клеток.

Болезнь Ниманна-Пика распадается на три класса: острая младенческая форма, тип В, представляющий собой менее распространенную, хроническую, не неврологическую форму, и тип С, представляющий собой биохимически и генетически отличающуюся форму заболевания. У нормального субъекта клеточный холестерин импортируется в лизосомы для процессинга, после чего он высвобождается. Клетки, полученные от субъектов с болезнью Ниманна-Пика, как было показано, являются дефектными в отношении высвобождения холестерина из лизосом. Это приводит к чрезмерному отложению холестерина внутри лизосом, вызывая ошибки процессинга. В NPC1, как было известно, обнаружили чувствительные к стерину области, подобные областям в других белках, которые, предполагают, играют роль в регуляции транспорта холестерина. Никаких успешных способов лечения не определили для форм болезни Ниманна-Пика типов А и С. Для типа С пациентам рекомендуют придерживаться диеты с низким содержанием холестерина. Таким образом, описанные здесь соединения и композиции можно применять для ослабления или предотвращения разрушения клеток.

Болезнь Гоше является наследственным заболеванием, вызванным генной мутацией. В норме данный ген ответственен за фермент, называемый глюкоцереброзидазой, который необходим организму для разрушения липидов, глюкоцереброзидов. У пациентов с болезнью Гоше организм не способен должным образом вырабатывать данный фермент, и липиды не могут разрушаться. Так же как и болезнь Тея-Сакса, болезнь Гоше значительно больше распространена у потомков еврейской популяции из Западной Европы (Ашкенази), хотя могут быть поражены субъекты из любой этнической группы. Среди популяции евреев Ашкенази болезнь Гоше является самым распространенным генетическим нарушением с встречаемостью заболевания приблизительно 1 на 450 человек. В неограниченной популяции болезнь Гоше поражает приблизительно 1 на 100000 человек.

В 1991 году стала доступна замещающая ферментная терапия в качестве первого

эффективного способа лечения болезни Гоше. Способ лечения состоит из измененной формы фермента глюкоцереброзидазы, вводимого внутривенно. Рассматривают, что описанные здесь композиции и соединения можно использовать отдельно или, более предпочтительно, в комбинации с введением

5 глюкоцереброзидазы для лечения заболевания у пораженного субъекта.

Синдром Гурлера, также известный как мукополисахаридоз типа I, представляет собой класс болезней накопления. Данные генетические заболевания участвуют в общем клеточном накоплении мукополисахаридов в фибробластах. Заболевания

10 генетически различимы. Пересадка фибробластов и костного мозга, по-видимому, не помогает, таким образом необходимы соединения и композиции, применимые для ослабления серьезности заболевания и его прогрессирования. Описанные здесь соединения и композиции можно вводить субъекту для ослабления

15 Болезнь Краббе (также известная как глобоидно-клеточная лейкодистрофия) является аутосомным рецессивным состоянием, являющимся следствием недостаточности галактозилцерамидазы (или галактоцереброзидазы), лизосомального фермента, который катаболизирует основной липидный компонент

20 миелина. Встречаемость во Франции составляет приблизительно 1:150000 рождений. Болезнь приводит к демиелинизации центральной и периферической нервной системы. Начало заболевания, главным образом, случается в течение первого года жизни, и состояние быстро прогрессирует, но также сообщали о ювенильной, о

25 подростковой или взрослой формах начала заболевания с более изменчивой степенью прогрессирования. Диагноз устанавливают по анализу фермента (недостаточность галактозилцерамидазы). Существует несколько природных моделей животных (мышь, собака, обезьяна). Болезнь Краббе, как и все лейкодистрофии, не имеет никаких известных способов лечения или эффективных

30 обработок. В одном осуществлении настоящего изобретения необходимо использовать описанные здесь композиции и соединения для лечения или ослабления болезни Краббе и других лейкодистрофий.

Лейкодистрофии представляют собой группу генетически предопределенных нарушений, которые влияют на головной мозг, спинной мозг и периферические

35 нервы. Они включают в себя аденолейкодистрофию (ALD), аденомиелоневропатию (AMN), синдром Айкарди-Гутьерса, болезнь Александра, САСН (то есть детскую атаксию с гипомиелинизацией центральной нервной системы или болезнь исчезновения белого вещества мозга), САДАСИЛ (то есть церебральную

40 аутосомно-доминантную артериопатию с подкорковыми инфарктами и лейкоэнцефалопатией), болезнь Канавана (губчатую дегенерацию), сухожильно-мозговой ксантоматоз (СТХ), болезнь Краббе (описанную выше), метакроматическую лейкодистрофию (MLD), неонатальную аденолейкодистрофию, синдром овариолейкодистрофии, болезнь Пелицеуса-Мерцбахера (сцепленную с X-

45 хромосомой спастическую параплегию), болезнь Рефсума, синдром Ван-Дер-Кнаапа (вакуолизованную лейкодистрофию с подкорковыми кистами) и синдром Цельвегера. Ни одно из заболеваний не имеет эффективных способов обработки, не говоря уже о способах лечения. Следовательно, необходимы способы лечения или

50 ослабления симптомов заболевания, таких как при использовании описанных здесь композиций и соединений.

3.3. Невропатии с аномальной миелинизацией

Существует множество хронических иммунных полиневропатий, которые

приводят к демиелинизации у пациента. Возраст начала развития состояния изменяется в зависимости от состояния. Существуют стандартные способы лечения этих заболеваний и их можно комбинировать с описанными здесь композициями и соединениями. Альтернативно, описанные здесь композиции и соединения можно использовать отдельно. Существующие стандартные способы лечения включают в себя следующие способы:

Таблица 2

	Невропатия	Клинические признаки	Лечение
10	Хроническая иммунная демиелинизирующая полиневропатия (CIDP)	Начало заболевания в период 1-80 лет. Характеризуется слабостью, потерей чувствительности и гипертрофией нервов	Иммуносупрессия Т-клеток преднизолом, циклоспорином А или метотрексатом, HIG, переливание плазмы
15	Множественная CIDP	Начало заболевания в период от 28 до 58 лет, и оно характеризуется асимметричной слабостью, потерей чувствительности с течением заболевания, которое является слабо прогрессирующим или рецидивно-ремиссионным	Иммуносупрессия Т-клеток преднизолом, иммуноглобулином человека (HIG)
20	Множественная двигательная невропатия (MMN)	Начало заболевания находится в диапазоне от 25 до 70 лет, встречается в два раза больше у мужчин, чем у женщин. Признаки включают в себя слабость, мышечную атрофию, фасцикуляцию и судороги, которые прогрессируют в течение 1-30 лет	HIG, иммуносупрессия В-клеток с переливанием плазмы, циклофосфамид, ритуксан
25	Невропатия с IgM, связывающим миелин-связанный гликопротеин (MAG)	Начало заболевания обычно с 50 лет и характеризуется потерей чувствительности (100%), слабостью, нарушением походки, тремором, которые все медленно прогрессируют.	Иммуносупрессия В-клеток, переливание плазмы, циклофосфамид, ритуксан, α-интерферон, кладрибин или флударабин, преднизон
	Синдром GALOP (полиневропатия с нарушением походки, с участием аутоантител, с поздним началом)	Нарушение походки с полиневропатией	HIG, переливание плазмы, циклофосфамид
30	Синдром POEMS (полиневропатия-органомегалия-эндокринопатия с изменениями М-белка и кожи), также известный как синдром Crow-Fukase и болезнь Такацуки	Начало заболевания встречается в диапазоне от 27 до 80 лет со слабостью, потерей чувствительности, с пониженными или с отсутствующими сухожильными рефлексам, кожными расстройствами и другими характерными признаками	Остеосклеротические поражения лечат облучением. Широкораспространенные поражения лечат химиотерапией (мелфалан и преднизон)

3.4. Демиелинизация, вызванная облучением и лекарственными препаратами

Некоторые лекарственные препараты и облучение могут вызывать демиелинизацию у субъектов. Лекарственные средства, которые ответственны за демиелинизацию, включают в себя в качестве неограничивающих примеров хлорохин, FK506, пергексиллин, прокаинамид и зимелдин.

Облучение также может вызывать демиелинизацию. Токсичность для центральной нервной системы (ЦНС) вследствие облучения, как полагают, вызвана (1) повреждением структур сосудов, (2) разрушением предшественников астроцитов олигодендроцитов-2 и зрелых олигодендроцитов, (3) разрушением популяции нервных стволовых клеток в гиппокампе, мозжечке и коре головного мозга и генерализованными изменениями экспрессии цитокинов. Большинство повреждений при облучении являются следствием радиотерапии, проводимой во время лечения некоторых раков. См. для ознакомления Velka *et al.*, 2001 *Br. J. Cancer* 85: 1233-9. Тем не менее, радиационное воздействие также может представлять собой проблему для космонавтов (Норелл, 1994 *Adv. Space Res.* 14: 433-42), а также в случае воздействия радиоактивных веществ.

Пациенты, которые получали лекарственные препараты или случайно или преднамеренно подвергались воздействию радиации, могут знать по опыту

благоприятное воздействие при введении одного из описанных здесь соединений или композиций для предупреждения развития демиелинизации или стимуляции ремиелинизации.

3.5. Наследственные состояния, вызывающие демиелинизацию

Дополнительные наследственные синдромы/болезни, которые приводят к демиелинизации, включают в себя синдром Кокейна, врожденную гипомиелинизацию, болезнь Фарбера, метахроматическую лейкодистрофию, болезнь Пелицеуса-Мерцбахера, болезнь Рефсума, связанные с прионами состояния и болезнь Салла.

Синдром Кокейна (CS) является редким наследственным нарушением, в котором люди становятся чувствительными к солнечному свету, они невысокого роста и с признаками преждевременного старения. В классической форме синдрома Кокейна (тип I) симптомы прогрессируют и типично становятся очевидны после достижения возраста одного года. Раннее начало или врожденная форма синдрома Кокейна (тип II) очевидны при рождении. Интересно, что в отличие от других заболеваний, связанных с репарацией ДНК, синдром Кокейна не связан с раком. CS представляет собой мультисистемное нарушение, которое вызывает как сильную недостаточность роста тела и мозга, так и прогрессирующую кахексию, дегенерацию сетчатки глаза, кохлеарную и неврологическую дегенерацию с лейкодистрофией и демиелинизирующей невропатией без перерастания в рак. После воздействия УФ (например, солнечного света) субъекты с синдромом Кокейна больше не могут осуществлять сопряженную с транскрипцией репарацию. К настоящему моменту было идентифицировано два гена, дефектных при синдроме Кокейна, CSA и CSB. Ген CSA обнаружен в 5 хромосоме. Оба гена кодируют белки, которые взаимодействуют с компонентами транскрипционных аппаратов и с белками репарации ДНК.

До настоящего времени никаких способов лечения или эффективных обработок для пациентов с данным заболеванием не определили. Таким образом, один аспект изобретения представляет собой лечение данного заболевания описанными здесь соединениями и композициями.

Врожденная гипомиелинизация имеет несколько названий, включающих в себя врожденную дисмиелинизирующую невропатию, врожденную гипомиелинизирующую полиневропатию, врожденную полиневропатию с гипомиелинизацией (луковицы), врожденную невропатию с гипомиелинизацией, вызванную гипомиелинизацией врожденную невропатию, невропатию с гипомиелинизацией и СНН. Наследственные периферические невропатии являются комплексной, клинически и генетически гетерогенной группой нарушений среди самых распространенных генетических нарушений у людей, которые приводят к прогрессирующей дегенерации периферических нервов. Врожденная гипомиелинизация представляет собой одну из групп нарушений. Данная группа включает в себя наследственную невропатию с предрасположенностью к компрессионным параличам, болезнь Шарко-Мари-Тута, синдром Дежерина-Сотта, и врожденную гипомиелинизирующую невропатию. Не существует никаких известных способов лечения или эффективных обработок для какого-либо из данных нарушений.

Болезнь Фарбера имеет несколько названий, включая: липогрануломатоз Фарбера, недостаточность церамидазы, недостаточность кислой церамидазы, недостаточность АС, недостаточность N-лаурилсфингозиндезацилазы и N-

ацилсфингозинамидогидролазы. Как показывают некоторые названия, болезнь является следствием недостаточности кислой церамидазы (также известной как N-ацилсфингозинамидогидролаза, ASAH). Отсутствие фермента приводит к накоплению несурфированного кислого мукополисахарида в нейронах и глиальных клетках. Пациенты с данным заболеванием обычно умирают до 2 лет.

Метахроматическая лейкодистрофия (MLD) является генетическим нарушением, вызванным недостаточностью фермента арилсульфатазы А. Она является одной из группы генетических нарушений, называемых лейкодистрофией, которые влияют на рост миелиновой оболочки. Существует три формы MLD: поздняя младенческая, ювенильная и взрослая. В поздней младенческой форме, которая является самой распространенной, начало возникновения симптомов появляется в возрастном диапазоне от 6 месяцев до 2 лет. Младенец обычно нормален при рождении, но в конечном счете утрачивает предварительно приобретенные способности. Симптомы включают в себя гипотонию (низкий мышечный тонус), речевые аномалии, потерю умственных способностей, слепоту, ригидность (то есть неконтролируемая напряженность мускулатуры), конвульсии, затрудненное глотание, паралич и слабоумие. Симптомы ювенильной формы появляются в возрастном диапазоне от 4 до 14 лет и включают в себя снижение обучаемости в школе, умственную деградацию, атаксию, конвульсии и слабоумие. Во взрослой форме симптомы, которые появляются после 16 лет, могут включать в себя ослабление концентрации внимания, депрессии, психиатрические расстройства, атаксию, тремор и слабоумие. Конвульсии могут иметь место и во взрослой форме, но ей они менее присущи, чем другим формам. Во всех трех формах умственная деградация является обычно первым признаком.

Болезнь Пелицеуса-Мерцбахера (также известная как перинатальная суданотрофная лейкодистрофия) представляет собой генетическое нарушение, связанное с X-хромосомой, которое вызывает аномальность белка протеолипида. Аномальность приводит к смерти младенца типично до возраста одного года. Не существует никаких известных обработок или способов лечения для заболевания.

Болезнь Рефсума (также называемая как недостаточность оксидазы фитановой кислоты, наследственная полиневротическая атаксия (атаксия полиневритоформная гередопатия) или наследственная моторная и сенсорная невропатия IV, HMSN IV) вызвана мутациями в гене, который кодирует гидроксилазу фитаноил-коА-гидроксилазу (РАНХ или РНУН). Основные клинические проявления представляют собой пигментную дегенерацию сетчатки, хроническую полиневропатию и мозжечковые симптомы. Фитановая кислота, жирная кислота с необычайно разветвленной цепью (3,7,11,15-тетраметилгексадекановая кислота) накапливается в тканях и в жидкостях организма пациентов с данным заболеванием, и она не может метаболизироваться из-за отсутствия РАНХ. Проводимый раз или дважды в месяц плазмаферез эффективно удаляет кислоту из организма и позволяет ослабить диетические требования, ограничивающие потребление фитановой кислоты.

Состояния, обусловленные прионами, включают в себя болезнь Герстманна-Штрейсслера (GSD), болезнь Крейтцфельда-Якоба (CJD), фатальную семейную бессонницу, и абберантные изоформы прионового белка могут действовать в качестве инфекционных агентов при данных нарушениях, а также при куру и скрепи (заболевание, обнаруженное у овец). Термин прион происходит от фразы «белковый инфекционный агент» (Prusiner, *Science* 216: 136-44, 1982). Существует протеолитическое расщепление родственного приону белка (PRP), которое приводит

к появлению амилоидогенного пептида, который полимеризуется в нерастворимые волокна.

Болезнь Салла и другие типы сиалурий представляют собой заболевания, охватывающие проблемы с аккумуляцией сиаловой кислоты. Данные заболевания являются аутосомными рецессивными нейродегенеративными нарушениями, которые могут представлять собой как серьезную младенческую форму (то есть ISSD), так и медленно прогрессирующую взрослую форму, которая преобладает в Финляндии (то есть болезнь Салла). Основными признаками являются гипотония, мозжечковая атаксия и задержка умственного развития. Данные состояния и заболевания также рассматривают для паллиативного или улучшающего состояние лечения.

3.6. Другие демиелинизирующие состояния

Другие состояния, которые приводят к демиелинизации, включают в себя послеинфекционный энцефалит (также известный как острый диссеминированный энцефаломиелит, ADEM), менингит и повреждения спинного мозга. Описанные здесь композиции и соединения также рассматриваются для применения при лечении этих других демиелинизирующих заболеваний.

4. Ремиелинизирующие средства

По настоящему изобретению ремиелинизирующие средства могут быть выбраны из средств, которые специфично связываются с альфа-4-интегринами. Различные типы средств со способностью связываться с альфа-4-интегрином и ингибировать его могут служить ремиелинизирующими средствами, и, таким образом, могут использоваться в воплощении изобретения. Многие такие антагонисты альфа-4-интегрина идентифицированы и охарактеризованы, и конкретные средства описаны ниже. Данные антагонисты альфа-4-интегрина могут подвергаться скринингу на активность по ремиелинизации. Конкретно, данные средства могут включать в себя как малые молекулы, так и полипептиды (например, иммуноглобулины). Посредством описанного здесь раскрытия специалист в данной области сможет идентифицировать другие средства, способные ингибировать содержащие альфа-4-интегриновые димеры за счет биологической имитации конкретно описанных средств или за счет сходства с ними, для ингибирования демиелинизации и/или стимуляции ремиелинизации, и/или снижения паралича. Подразумевается, что настоящее изобретение относится к постоянному введению таких средств. Поскольку предусматривается использовать комбинации средств, также предоставляется обсуждение средств, отличных от низкомолекулярных соединений.

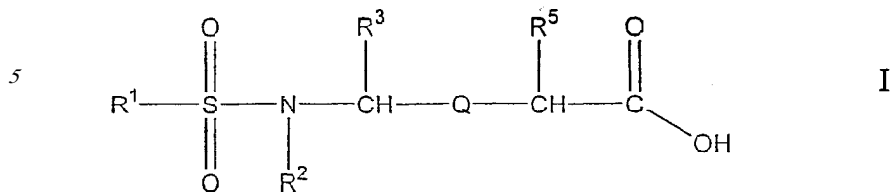
4.1. Соединения

Различные соединения идентифицированы в качестве средств, которые препятствуют связыванию VLA-4 и VCAM-1. Некоторые из данных соединений при их введении пациенту в эффективном количестве ингибируют демиелинизацию, и/или стимулируют ремиелинизацию, и/или снижают паралич. Соединения по настоящему изобретению включают в себя соединения в пределах формул I, IA, IB, IC, II, IIА и IIВ, описанных ниже в разделе 4.1.1.

4.1.1. Соединения формулы I и формулы II

В одном из аспектов соединения, которые могут использоваться в качестве ремиелинизирующих средств, представляют собой соединения, определенные приведенной ниже формулой I. Данные соединения имеют средство связывания с VLA-4, которые выражаются в виде IC₅₀, примерно равной 15 мкМ или менее (измеряемой, как описано ниже в примере А), и действуют как ремиелинизирующие

средства:



10 в которой

R^1 выбран из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, арила, замещенного арила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, гетероарила и замещенного гетероарила;

15 R^2 выбран из группы, состоящей из водорода, алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, замещенного алкила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, и R^1 и R^2 вместе с атомом азота, связанным с R^2 , и с группой SO_2 , связанной с R^1 , могут образовывать гетероциклическую или
20 замещенную гетероциклическую группу;

R^3 выбран из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, и, когда R^2 не
25 образует гетероциклическую группу с R^1 , R^2 и R^3 вместе с атомом азота, связанным с R^2 , и атомом углерода, связанным с R^3 , могут образовывать гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу;

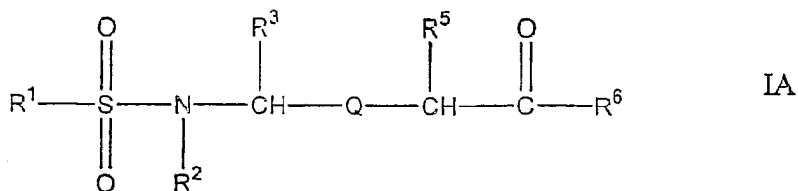
R^5 представляет собой $-(CH_2)_x-Ar-R^{5'}$, где $R^{5'}$ выбран из группы, состоящей из $-O-Z-$
30 $NR^8R^{8'}$ и $-O-Z-R^{8''}$, где R^8 и $R^{8'}$ независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, и где R^8 и $R^{8'}$ объединены с образованием гетероцикла или замещенного гетероцикла, $R^{8''}$ выбран из группы, состоящей из
35 гетероцикла и замещенного гетероцикла, и Z выбран из группы, состоящей из $-C(O)-$ и $-SO_2-$;

Ar представляет собой арил, гетероарил, замещенный арил или замещенный гетероарил;

40 x представляет собой целое число от 1 до 4;

Q представляет собой $-C(X)NR^7-$, где R^7 выбран из группы, состоящей из водорода и алкила; и X выбран из группы, состоящей из кислорода и серы; и их фармацевтически приемлемые соли.

45 В другом осуществлении соединения могут быть предоставлены в виде пролекарственных средств, которые преобразуются (например, гидролизуются, метаболизируются и т.д.) *in vivo* в соединение приведенной выше формулы I. В предпочтительном примере такого осуществления группа карбоновой кислоты соединения формулы I модифицируется в группу, которая *in vivo* преобразуется в
50 группу карбоновой кислоты (включая ее соли). В конкретном предпочтительном осуществлении такие пролекарственные средства представлены формулой IA:



в которой:

R^1 выбран из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, арила, замещенного арила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, гетероарила и замещенного гетероарила;

R^2 выбран из группы, состоящей из водорода, алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, замещенного алкила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, и R^1 и R^2 вместе с атомом азота, связанным с R^2 , и с группой SO_2 , связанной с R^1 , могут образовывать гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу;

R^3 выбран из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, и, когда R^2 не образует гетероциклическую группу с R^1 , R^2 и R^3 вместе с атомом азота, связанным с R^2 и атомом углерода, связанным с R^3 , могут образовывать гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу;

R^5 представляет собой $-(\text{CH}_2)_x\text{-Ar-R}^{5'}$, где $\text{R}^{5'}$ выбран из группы, состоящей из $-\text{O-Z-NR}^8\text{R}^{8'}$ и $-\text{O-Z-R}^{8''}$, где R^8 и $\text{R}^{8'}$ независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, и где R^8 и $\text{R}^{8'}$ объединены с образованием гетероцикла или замещенного гетероцикла, $\text{R}^{8''}$ выбран из группы, состоящей из гетероцикла и замещенного гетероцикла, и Z выбран из группы, состоящей из $-\text{C(O)-}$ и $-\text{SO}_2-$;

Ar представляет собой арил, гетероарил, замещенный арил или замещенный гетероарил;

x представляет собой целое число от 1 до 4;

R^6 выбран из группы, состоящей из 4-диоксотетрагидрофуран-3-ил (3,4-енол), аминоксидов, замещенного аминоксидов, циклоалкоксидов, замещенного циклоалкоксидов, $-\text{O-(N-сукцинимидила)}$, $-\text{NH-адамантила}$, $-\text{Q-холест-5-ен-3-}\beta$ -ила, $-\text{NHOY}$, где Y представляет собой водород, алкил, замещенный алкил, арил, и замещенный арил, $-\text{NH(CH}_2)_p\text{COOY}$, где p представляет собой целое число от 1 до 8, и Y соответствует указанному выше, $-\text{OCH}_2\text{NR}^9\text{R}^{10}$, где R^9 выбран из группы, состоящей из $-\text{C(O)-арила}$ и $-\text{C(O)-замещенного арила}$, и R^{10} выбран из группы, состоящей из водорода и $-\text{CH}_2\text{COOR}^{11}$, где R^{11} представляет собой алкил, и $-\text{NHSO}_2\text{Z}'$, где Z' представляет собой алкил, замещенный алкил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл;

Q представляет собой $-\text{C(X)NR}^7-$, где R^7 выбран из группы, состоящей из водорода и алкила; и X выбран из группы, состоящей из кислорода и серы;

и их фармацевтически приемлемые соли
со следующими условиями

(А) когда R^1 и R^2 вместе с SO_2 -группой, прилегающей к R^1 , и азотом,
5 прилегающим к R^2 , образуют группу сахарин-2-ила, R^3 представляет собой $-CH_3$, R^5
представляет собой $p-[(CH_3)_2NC(O)O]$ бензил, и Q представляет собой $-C(O)NH-$,
тогда как R^6 не является $-OC(CH_3)_3$;

(В) когда R^1 представляет собой p -метилфенил, R^2 и R^3 вместе с атомом азота,
10 прилегающим к R^2 , и атомом углерода, прилегающим к R^3 , образуют
пирролидинильное кольцо, происходящее из D-пролина; R^5 представляет собой $p-[(4-$
метилпиперазин-1-ил) $NC(O)O]$ бензил, происходящий из D-фенилаланина, и Q
представляет собой $-C(O)NH-$, тогда как R^6 не является $-OC(CH_3)_3$;

(С) когда R^1 представляет собой пиримидин-2-ил, R^2 и R^3 вместе с атомом
15 углерода, связанным с R^2 , и атомом углерода, связанным с R^3 , образуют
пирролидинильное кольцо, R^5 представляет собой $p-[(CH_3)_2NC(O)O]$ бензил, и Q
представляет собой $-C(O)NH-$, тогда как R^6 не является $-OC(CH_3)_3$; и

(D) когда R^1 представляет собой p -метилфенил, R^2 и R^3 вместе с атомом азота,
20 прилегающим к R^2 , и атомом углерода, прилегающим к R^3 , образуют кольцо (2S)-
пиперазин-2-карбонила; R^5 представляет собой $p-[(CH_3)_2NC(O)O]$ бензил, и Q
представляет собой $-C(O)NH-$, тогда как R^6 не является $-OC(CH_3)_3$.

25 Дальнейшее описание соединений указанных выше формул I и IA и процедур и
условий взаимодействия для получения данных соединений описано в заявке на
выдачу патента США № 09/126958 (подана 31 июля 1998 г., и выдан патент США
№ 6489300), включенной сюда полностью в качестве ссылки.

Предпочтительно в соединениях указанной выше формулы I и IAR¹ выбран из
30 группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, арила, замещенного арила,
гетероцикла, замещенного гетероцикла, гетероарила и замещенного гетероарила.
Более предпочтительно, R^1 выбран из группы, состоящей из арила, замещенного
арила, гетероарила и замещенного гетероарила.

35 Предпочтительно R^1 в соединениях указанной выше формулы I и IA выбран из
группы, состоящей из фенила, 4-метилфенила, 4-трет-бутилфенила, 2,4,6-
триметилфенила, 2-фторфенила, 3-фторфенила, 4-фторфенила, 2,4-дифторфенила, 3,4-
дифторфенила, 3,5-дифторфенила, 2-хлорфенила, 3-хлорфенила, 4-хлорфенила, 3,4-
40 дихлорфенила, 3,5-дихлорфенила, 3-хлор-4-фторфенила, 4-бромфенила, 2-
метоксифенила, 3-метоксифенила, 4-метоксифенила, 3,4-диметоксифенила, 4-трет-
бутоксифенила, 4-(3'-диметиламино-*n*-пропокси)фенила, 2-карбоксифенила, 2-
(метоксикарбонил)фенила, 4-($H_2NC(O)$)фенила, 4-($H_2NC(S)$)фенила, 4-цианофенила, 4-
трифторметилфенила, 4-трифторметоксифенила, 3,5-ди(трифторметил)фенил, 4-
45 нитрофенила, 4-аминофенил, 4-($CH_3C(O)NH$)фенила, 4-($PhNHC(O)NH$)фенила, 4-
амидинофенила, 4-метиламидинофенила, 4-($CH_3SC(=NH)$)фенила, 4-хлор-3-
($H_2NS(O)_2$)фенила, 1-нафтила, 2-нафтила, пиридин-2-ила, пиридин-3-ила,
пиримидин-2-ила, хинолин-8-ила, 2-(трифторацетил)-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-7-
50 ила, морфолин-4-ила, 2-тиенила, 5-хлор-2-тиенила, 2,5-дихлор-4-тиенила, 1-N-
метилимидазол-4-ила, 1-N-метилпиразол-3-ила, 1-N-метилпиразол-4-ила, 1-N-
бутилпиразол-4-ила, 1-N-метил-3-метил-5-хлорпиразол-4-ила, 1-N-метил-5-метил-3-
хлорпиразол-4-ила, 2-тиазолила и 5-метил-1,3,4-тиадиазол-2-ила.

Предпочтительно R² в соединениях указанной выше формулы I и IA выбран из группы, состоящей из метила, бензила, -(CH₂)₂-2-тиенила, и -(CH₂)₂-ф.

В одном из предпочтительных вариантов осуществления R² и R³ в соединениях 5 указанной выше формулы I и IA вместе с атомом азота, связанным с заместителем R², и атомом углерода, связанным с заместителем R³, образуют гетероциклическую группу или замещенную гетероциклическую группу из 4-6 атомов кольца, содержащих в кольце 1-2 гетероатома, выбранных из группы, состоящей из азота, кислорода и серы, причем данное кольцо необязательно замещено 1-2 10 заместителями, выбранными из группы, состоящей из фтора, метила, гидрокси, оксо (=O), amino, фенила, тиофенила, тиобензила, (тиоморфолин-4-ил)C(O)O-, CH₃S(O)₂- и CH₃S(O)₂O-, или может быть конденсировано с другим кольцом, таким как фенильное или циклоалкильное кольцо, с обеспечением конденсированного 15 гетероциклического кольца из 10-14 атомов кольца, содержащих в кольце 1-2 гетероатома, выбранных из группы, состоящей из азота, кислорода и серы. Такие гетероциклические кольца включают в себя азетидинил (например, L-азетидинил), тиазолидинил (например, L-тиазолидинил), пиперидинил (например, L-пиперидинил), пиперазинил (например, L-пиперазинил), дигидроиндолил (например, L-2,3- 20 дигидроиндол-2-ил), тетрагидрохинолинил (например, L-1,2,3,4-тетрагидрохинолин-2-ил), тиоморфолинил (например, L-тиоморфолин-3-ил), пирролидинил (например, L-пирролидинил), замещенный пирролидинил, такой как 4-гидроксипирролидинил (например, 4-α-(или β-)гидрокси-L-пирролидинил), 4-оксопирролидинил (например, 4-оксо-L-пирролидинил), 4-фторпирролидинил (например, 4-α-(или β-)фтор-L-пирролидинил), 4,4-дифторпирролидинил (например, 4,4-дифтор-L-пирролидинил), 4-(тиоморфолин-4-ил-C(O)O-)пирролидинил (например, 4-α-(или β-)(тиоморфолин-4-илC(O)O)-L-пирролидинил, 4-(CH₃S(O)₂O-)пирролидинил (например, 4-α-(или β-)(CH₃S(O)₂O)-L-пирролидинил, 3- 30 фенилпирролидинил (например, 3-α-(или β-)фенил-L-пирролидинил), 3-тиофенилпирролидинил (например, 3-α-(или β-)тиофенил-L-пирролидинил), 4-аминопирролидинил (например, 4-α-(или β-)амино-L-пирролидинил), 3-метоксипирролидинил (например, 3-α-(или β-)метокси-L-пирролидинил), 4,4-диметилпирролидинил, замещенный пиперазинил, такой как 4-N-Cbz-пиперазинил и 4-(CH₃S(O)₂-)пиперазинил, замещенный тиазолидинил, такой как 5,5-диметилтиазолидин-4-ил, 1,1-диоксотиазолидинил (например, L-1,1-диоксотиазолидин-2-ил), замещенный 1,1-диоксотиазолидинил, такой как L-1,1-диоксо-5,5-диметилтиазолидин-2-ил, 1,1-диоксотиоморфолинил (например, L-1,1-диоксотиоморфолин-3-ил) и тому подобное. 40

Q в соединениях указанной выше формулы I и IA предпочтительно представляет собой -C(O)NH- или -C(S)NH-.

В соединениях указанной выше формулы I и IA Ar предпочтительно представляет собой арил или замещенный арил, и, даже более предпочтительно, представляет собой фенил или замещенный фенил. Предпочтительно, x представляет собой 1. 45

В соединениях указанной выше формулы I и IA R⁵ предпочтительно выбран из всех возможных изомеров, возникающих путем замещения следующими группами:

- 3-[(CH₃)₂NC(O)O-]бензил,
- 4-[(CH₃)₂NC(O)O-]бензил,
- 4-[(пиперидин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
- 4-[(пиперидин-4'-ил)C(O)O-]бензил,
- 4-[(1'-метилпиперидин-4'-ил)C(O)O-]бензил,

- 4-[(4'-гидроксипиперидин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-формилоксипиперидин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-этоксикарбонилпиперидин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-карбоксилпиперидин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
 5 4-[(3'-гидроксиметилпиперидин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-гидроксиметилпиперидин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-фенил-1'-Вос-пиперидин-4'-ил)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-пиперидон-1'-илэтиленкеталь)C(O)O-]бензил,
 10 4-[(пиперазин-4'-ил)-C(O)O-]бензил,
 4-[(1'-Вос-пиперазин-4'-ил)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-метилпиперазин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-метилгомопиперазин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
 15 4-[(4'-(2-гидроксиэтил)пиперазин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-фенилпиперазин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-(пиридин-2-ил)пиперазин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-(4-трифторметилпиридин-2-ил)пиперазин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-(пиримидин-2-ил)пиперазин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
 20 4-[(4'-ацетилпиперазин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-(фенил-C(O)-)пиперазин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-(пиридин-4-ил-C(O)-)пиперазин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-(фенил-NHC(O)-)пиперазин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-(фенил-NHC(S)-)пиперазин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
 25 4-[(4'-метансульфонилпиперазин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
 4-[(4'-трифторметансульфонилпиперазин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
 4-[(морфолин-4'-ил)C(O)O-]бензил,
 3-нитро-4-[(морфолин-4'-ил)-C(O)O-]бензил,
 30 4-[(тиоморфолин-4'-ил)C(O)O-]бензил,
 4-[(тиоморфолин-4'-илсульфон)C(O)O-]бензил (альтернативная номенклатура 4-
 [(1,1-диоксотиоморфолин-4-ил)-C(O)O-]бензил),
 4-[(пирролидин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
 4-[(2'-метилпирролидин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
 35 4-[(2'-(метоксикарбонил)пирролидин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
 4-[(2'-(гидроксиметил)пирролидин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
 4-[(2'-(N,N-диметиламино)этил)(CH₃)NC(O)O-]бензил,
 4-[(2'-(N-метил-N-толуол-4-сульфонамино)этил)(CH₃)N-C(O)O-]бензил,
 40 4-[(2'-(морфолин-4'-ил)этил)(CH₃)NC(O)O-]бензил,
 4-[(2'-(гидрокси)этил)(CH₃)NC(O)O-]бензил,
 4-[(бис-(2'-(гидрокси)этил)NC(O)O-]бензил,
 4-[(2'-(формилокси)этил)(CH₃)NC(O)O-]бензил,
 4-[(CH₃OC(O)CH₂)HNC(O)O-]бензил,
 45 4-[2'-(фенил-NHC(O)O-)этил-]HNC(O)O-]бензил,
 3-хлор-4-[(CH₃)₂NC(O)O-]бензил,
 3-хлор-4-[(4'-метилпиперазин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
 3-хлор-4-[(4'-(пиридин-2-ил)пиперазин-1'-ил)C(O)O-]бензил,
 50 3-хлор-4-[(тиоморфолин-4'-ил)C(O)O-]бензил и
 3-фтор-4-[(CH₃)₂NC(O)O-]бензил.

В соединениях формулы IA R⁶ предпочтительно представляет собой 2,4-диоксо-тетрагидрофуран-3-ил(3,4-енол), метокси, этокси, н-пропокси, изопропокси, н-

бутокси, трет-бутокси, циклопентокси, циклопропилметокси, неопентокси, 2- α -
 изопропил-4- β -метилциклогексокси, 2- β -изопропил-4- β -метилциклогексокси, 2-
 метоксифенокси, 2-(морфолин-4-ил)этокси, $-\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2\text{CH}_3$, 2-
 (фенокси)этокси, $-\text{OCH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{NH}-\text{Вос}$, $-\text{NH}_2$, бензилокси, $-\text{NHCH}_2\text{COOH}$, -
 5 $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$, $-\text{NH}$ -адамантил, $-\text{NHSO}_2$ -п- CH_3 - ϕ , $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{COOCH}_2\text{CH}_3$, $-\text{NHOY}'$,
 где Y' представляет собой водород, метил, изопропил или бензил, $\text{O}(\text{N}$ -
 сукцинимидил), $-\text{O}$ -холест-5-ен-3- β -ил, $-\text{OCH}_2-\text{OC}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_z\text{NHC}(\text{O})\text{W}$, где z
 равен 1 или 2, и W выбран из группы, состоящей из пирид-3-ила, N-метилпиридила,
 10 и N-метил-1,4-дигидропирид-3-ила, $-\text{NR}''\text{C}(\text{O})-\text{R}'$, где R' представляет собой арил,
 гетероарил или гетероцикл, и R'' представляет собой водород или $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_3$.

Даже более предпочтительно, R⁶ в соединениях формулы IA выбран из группы,
 состоящей из метокси, этокси, н-пропокси, изопропокси, н-бутокси, трет-бутокси,
 15 циклопентокси, циклопропилметокси, неопентокси, 2- α -изопропил-4- β -
 метилциклогексокси, 2- β -изопропил-4- β -метилциклогексокси, 2-метоксифенокси, 2-
 (морфолин-4-ил)этокси, $-\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2\text{CH}_3$, 2-(фенокси)этокси, $-\text{OCH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{NH}-\text{Вос}$
 и бензилокси.

Предпочтительные соединения в объеме приведенной выше формулы I и IA
 20 включают для примера:

- этиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-
 илкарбонилокси)фенилаланина
- этиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 25 диметилкарбамилокси)фенилаланина
- изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-
 илкарбонилокси)фенилаланина
- н-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-
 илкарбонилокси)фенилаланина
- 30 циклопентиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-
 метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-
 илкарбонилокси)фенилаланина
- 35 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-
 илкарбонилокси)фенилаланин
- изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
- н-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 40 диметилкарбамилокси)фенилаланина
- циклопентиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 45 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- этиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-
 (изонипекотоилокси)фенилаланина
- этиловый эфир N-(α -толуолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N-
 50 метилизонипекотоилокси)фенилаланина
- N-(α -толуолсульфонил)-L-пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-
 илкарбонилокси)фенилаланин
- этиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-3-(N,N-

- диметилкарбамилокси)фенилаланина
 этиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(1-трет-
 бутилкарбонилокси-4-фенилпиперидин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
 5 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-
 10 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-[(1,1-диоксо)тиаморфолин-3-
 карбонил]-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-[(1,1-диоксо)тиаморфолин-3-карбонил]-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 15 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(4-
 метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-
 илкарбонилокси)фенилаланин
 20 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)саркозил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)саркозил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)саркозил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
 25 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметиламиносульфонилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметиламиносульфонилокси)фенилаланин
 30 трет-бутиловый эфир N-(1-метилимидазол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(4-аминобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)саркозил-L-4-(морфолин-4-
 35 илкарбонилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(морфолин-4-
 илкарбонилокси)фенилаланина
 N-(α -толуолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-
 40 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-(пиперазин-2-карбонил)-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(α -толуолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 45 N-адамантиламид N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланилглицин
 50 метиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметиламиносульфонилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(пиперазин-2-карбонил)-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина

- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4-бензилоксикарбонилпиперазин-2-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 5 N-(толуол-4-сульфонил)саркозил-L-4-(изонипекотоилокси)фенилаланин
трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-[(1,1-диоксо)тиаморфолин-3-карбонил]-L-4-(морфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
N-(толуол-4-сульфонил)-L-[(1,1-диоксо)тиаморфолин-3-карбонил]-L-4-(морфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланин
- 10 трет-бутиловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)саркозил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- 15 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксо-5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
N-(1-метилимидазол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- 20 трет-бутиловый эфир 2-(сахарин-2-ил)пропионоил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксо-5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- 25 N-(4-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
N-(пиридин-3-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-D-пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- 30 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-N-метилаланил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
трет-бутиловый эфир N-(4-нитробензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 35 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-[(1,1-диоксо)тиаморфолин-3-карбонил]-L-4-(N,N-диметиламиносульфонилокси)фенилаланина
трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)саркозил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
- 40 N-(толуол-4-сульфонил)-L-N-метилаланил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(1,1-диоксотииоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланин
N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланин
- 45 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(изонипекотоилокси)фенилаланин
N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(пирролидин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
- 50 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(морфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланин
неопентиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
неопентиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-

- диметилкарбамилокси)фенилаланина
 этиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-трет-
 бутилоксикарбонилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 этиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(морфолин-4-
 5 илкарбонилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир 2-(сахарин-2-ил)пропионоил-L-4-(4-метилпиперазин-1-
 илкарбонилокси)фенилаланина
 2-(сахарин-2-ил)пропионоил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
 10 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)саркозил-L-4-(1,1-
 диоксотиаморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)саркозил-L-4-(тиоморфолин-4-
 илкарбонилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-N-метилаланил-L-4-(N,N-
 15 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(тиаморфолин-3-карбонил)-L-4-
 (N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)саркозил-L-4-(1,1-диоксотиаморфолин-4-
 20 илкарбонилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-
 карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-
 карбонил)-L-4-(морфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
 25 N-(толуол-4-сульфонил)-L-N-метилаланил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(тиаморфолин-3-карбонил)-L-
 4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 30 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-
 карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(пиридин-3-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(пиримидин-2-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 35 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(4-нитробензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(4-цианобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 40 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-
 диметиламиносульфонилокси)фенилаланин
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 45 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксо)тиапролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 50 N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксо)тиапролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин

- N-(4-фторбензолсульфонил)-L-тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
- 5 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(1-трет-бутилоксикарбонилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- этиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- этиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-ацетилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- 10 этиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-метансульфонилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(морфолин-4-илкарбонилокси)-3-нитрофенилаланин
- 15 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(1-трет-бутилоксикарбонилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-N-метил-2-(трет-бутил)глицинил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- 20 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(1,1-диоксотиаморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(1,1-диоксотиаморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
- 25 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(1,1-диоксотиаморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
- 30 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(морфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
- N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- 35 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(морфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(4-трифторметилоксибензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 40 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 3-[N-(толуол-4-сульфонил)-N-метиламино]-1-[1-трет-бутилоксикарбонил-2-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилэтил]азетидин-2-он
- трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксо-5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 45 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксо-5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(морфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланин
- 50 N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- N-(пиримидин-2-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-

- диметилкарбамилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- 5 3-[N-(толуол-4-сульфонил)-N-метиламино]-1-[1-карбоксии-2-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилэтил]азетидин-2-он
 трет-бутиловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- 10 N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксо)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(изонипекотоилокси)фенилаланина
- 15 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(1,1-диоксотиаморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
- 20 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(пирролидин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 25 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксо)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(2,5-дихлортиофен-3-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 30 трет-бутиловый эфир N-(4-ацетамидобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(4-трет-бутилбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 35 N-(пиридин-2-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(2-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 40 трет-бутиловый эфир N-(3-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(2,4-дифторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 45 N-(4-ацетамидобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
 N-(4-трифторметоксибензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- 50 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(4-цианобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(3,3-диметил)пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(3,3-диметил)пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- изопропиловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

- трет-бутиловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-
диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-
диметилкарбамилокси)фенилаланин
- 5 этиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-(1,4-диокса-8-аза-
спиро[4.5]декан-8-ил)карбонилокси)фенилаланина
N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-(1,4-диокса-8-аза-спиро[4.5]декан-8-
ил)карбонилокси)фенилаланин
- 10 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-ацетилпиперазин-1-
илкарбонилокси)фенилаланин
N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-метансульфонилпиперазин-1-
илкарбонилокси)фенилаланин
- 15 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-фенилпиперазин-1-
илкарбонилокси)фенилаланин
трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(пиперазин-1-
илкарбонилокси)фенилаланина
2-(сахарин-2-ил)пропионил-L-4-(4'-метилпиперазин-1-
илкарбонилокси)фенилаланин
- 20 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-
метансульфонилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
(N-трет-бутоксикарбонил-2-амино-2-метилпропиловый) эфир N-(толуол-4-
сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 25 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-ацетилпиперазин-1-
илкарбонилокси)фенилаланина
трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-
гидроксипиперидин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- 30 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-(2'-(морфолин-4'-
ил)этил)карбамилокси)фенилаланина
трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-(1,4-диокса-8-аза-
спиро[4.5]декан-8-ил)карбонилокси)фенилаланина
- 35 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-(2'-гидроксиэтил)-
N-метилкарбамилокси)фенилаланина
трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-(2'-
гидроксиэтил)пиперазин-1-илкарбонилокси)-L-фенилаланина
N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-(2'-формилоксиэтил)-N-
метилкарбамилокси)фенилаланин
- 40 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-(2'-гидроксиэтил)-
N-метилкарбамилокси)фенилаланина
трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-
(метоксикарбонилметил)карбамилокси)фенилаланина
- 45 изопропиловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-
диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-
метоксипиперидин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- 50 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-метоксипиперидин-1-
илкарбонилокси)фенилаланин
трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-4-оксопролил-L-4-(N,N-
диметилкарбамилокси)фенилаланина

- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-транс-4-гидроксипролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(3-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 5 трет-бутиловый эфир N-(морфолино-сульфонил)-L-пролил-L-(4-N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- N-(морфолино-сульфонил)-L-пролил-L-(4-N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- трет-бутиловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 10 N-(2-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- N-(2,4-дифторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- 15 N-(толуол-4-сульфонил)-L-(тиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- изопропиловый эфир N-(пиридин-3-сульфонил)-L-(5,5-диметилтиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 20 N-(3-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- N-(4-трет-бутилбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- 25 N-(толуол-4-сульфонил)-(3,3-диметил)пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- N-(2,5-дихлортиофен-3-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- 30 N-(4-метоксибензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- изопропиловый эфир N-(4-метоксибензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 35 N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1-оксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1-оксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 40 изопропиловый эфир N-(3,4-дифторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- N-(3,4-дифторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- трет-бутиловый эфир N-(3,4-дифторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 45 N-(3,4-дифторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
- 50 N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланин
- этиловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-

- (N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(пиридин-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 5 изопропиловый эфир N-(пиридин-2-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(пиридин-2-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
 изопропиловый эфир N-(пиридин-2-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-
 (N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 10 N-(пиридин-2-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(тиаморфолин-3-карбонил)-L-4-
 (N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(3-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-
 15 (N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(2-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-
 (N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(3,4-дифторбензолсульфонил)-L-(5,5-
 20 диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(3,5-дифторбензолсульфонил)-L-(5,5-
 диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(2,4-дифторбензолсульфонил)-L-(5,5-
 диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 25 изопропиловый эфир N-(4-хлорбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-
 (N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(3-хлорбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-
 (N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 30 изопропиловый эфир N-(2-хлорбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-
 (N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(3,4-дихлорбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-
 4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(3,5-дихлорбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-
 35 4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(3-хлорбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-
 карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(3,4-дихлорбензолсульфонил)-L-(1,1-
 40 диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(4-метоксибензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-
 4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(3-метоксибензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-
 4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 45 изопропиловый эфир N-(2-метоксибензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-
 4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(3,4-диметоксибензолсульфонил)-L-(5,5-
 диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 50 изопропиловый эфир N-(2,4-дифторбензолсульфонил)-L-(тиаморфолин-3-
 карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(3,4-дихлорбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин

- N-(3-хлорбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(3-хлор-4-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 5 трет-бутиловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(тиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(3,4-дифторбензолсульфонил)-L-(тиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 10 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
 N-(3,4-дифторбензолсульфонил)-L-(тиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
 изопропиловый эфир N-(2,5-дихлортиофен-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 15 изопропиловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(8-хиолинсульфонил)-L-пролил-1-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 20 N-(8-хиолинсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
 изопропиловый эфир N-(8-хиолинсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(8-хиолинсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- 25 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-фенилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-этоксикарбонил)пиперидин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- 30 трет-бутиловый эфир N-(пиридин-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(3-сульфонамидо-4-хлорбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 35 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1-оксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(2,4-дифторбензолсульфонил)-L-(1-оксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 40 2,2-диметилпропиловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 2,2-диметилпропиловый эфир N-(пиридин-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 циклопропилметиловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 45 метиловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 этиловый эфир N-(пиридин-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 50 циклопропилметиловый эфир N-(пиридин-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 2-метоксифениловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-

диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 н-бутиловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-
 (N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 н-пропиловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-
 4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 2,2-диметилпропионил оксиметилловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-
 (5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-(4'-(2'-
 аминоэтил)морфолино)карбамилокси)фенилаланин
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-[4-(карбоксо)пиперидин-1-илкарбонилокси]
 фенилаланин
 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-бис-(2-
 гидроксипропил)карбамилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-[3-
 (гидроксиметил)пиперидин-1-илкарбонилокси]фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-
 трифторметансульфонил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(4-(N-фенилмочевина)бензолсульфонил)-L-пролил-L-4-
 (N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(2-трифторацетил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-7-
 сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(1-метилпиразол-3-сульфонил)-L-(5,5-
 диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(1-метилпиразол-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 изопропиловый эфир N-(пиридин-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-
 (N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(пиридин-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N-
 метил-N-(2-диметиламиноэтил)карбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-метил-N-(2-
 диметиламиноэтил)карбамилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N-метил-N-(2-
 диметиламиноэтил)карбамилокси)фенилаланин
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-метил-N-(2-
 диметиламиноэтил)карбамилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-
 хлор-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-
 хлор-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-
 хлор-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-
 хлор-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-

- хлор-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-
- хлор-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 5 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-3-хлор-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-
 хлор-4-(4-(2'-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-
- 10 хлор-4-(4-(2'-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(4-нитробензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(4-аминобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 15 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(тиоморфолин-4-
 илкарбонилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-
 фенилкарбамилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- 20 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-фенилкарбамилпиперазин-1-
 илкарбонилокси)фенилаланин
 изопропиловый эфир N-(1-н-бутилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-
 диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(пиридин-4-
 25 илкарбонил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-4-оксопролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-транс-4-гидроксипролил-L-4-(N,N-
 30 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 изопропиловый эфир N-(4-цианобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(4-аминобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
- 35 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-4-оксопролил-L-4-(4-
 метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-[3-(гидроксиметил)пиперидин-1-
 илкарбонилокси]фенилаланин
- 40 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4,4-дифтор)пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4,4-дифтор)пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-(4-бензоилпиперазин-1-
 45 илкарбонилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(1-метил-1H-имидазол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)пролил-L-4-
 50 (тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланин
 изопропиловый эфир N-(4-цианобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(тиоморфолин-4-
 илкарбонилокси)фенилаланина
 метиловый эфир N-(4-амидинобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-

- диметилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-4-оксопролил-L-4-
 (тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-4-гидроксипролил-L-4-(тиоморфолин-4-
 5 илкарбонилокси)фенилаланин
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-(4-бензоилпиперазин-1-
 илкарбонилокси)фенилаланин
 метиловый эфир N-(4-амидинобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(тиоморфолин-4-
 10 илкарбонилокси)фенилаланина
 N-(3-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбонилокси)фенилаланин
 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-[N-метил-N-(2-(N'-
 метил-N'-толуолсульфониламино)этил)карбамилокси]фенилаланина
 15 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-[N-(2-(N'-
 фениламинокарбонилокси)этил)карбамилокси]фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-4-(транс-гидрокси)пролил-L-
 4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 20 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-4-(транс-гидрокси)пролил-L-
 4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(4-амидинобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 бис-{4-[(2S)-2-трет-бутоксикарбонил-2-((4R)-5,5-диметил-3-(толуол-4-
 25 сульфонил)тиазолидин-4-карбоксамидо)этил]фениловый} эфир пиперазин-1,4-
 дикарбоновой кислоты
 бис-4-[(2S)-2-карбокси-2-((4R)-5,5-диметил-3-(толуол-4-сульфонил)тиазолидин-4-
 карбоксамидо)этил]фениловый эфир пиперазин-1,4-дикарбоновой кислоты
 30 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(пиперазин-3-карбонил)-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-
 (2-гидроксиметилпирролидин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(2-
 35 гидроксиметилпирролидин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(2-
 метоксикарбонилпирролидин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-
 40 (тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланин
 N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(4-(2-
 пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-
 (4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 45 бис-{4-[(2S)-2-изопропоксикарбонил-2-((2R)-1-(толуол-4-сульфонил)пирролидин-2-
 карбоксамидо)этил]фениловый} эфир пиперазин-1,4-дикарбоновой кислоты
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4-гидрокси)пролил-L-4-
 (тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
 50 2-(2-метоксиэтокси)этиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-
 (4-(2-пиримидил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

- изопропиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-фтор-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1-метансульфонилпиразин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 5 N[2-(1,1-диоксо-2,3-дигидро-3,3-диметил-1,2-бензизотиазол-2-ил)ацетил]-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- трет-бутиловый эфир N-[2-(N-2,10-камфорсультамил)ацетил]-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 10 N-[2-(N-2,10-камфорсультамил)ацетил]-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- изопропиловый эфир N-[2-(N-2,10-камфорсультамил)ацетил]-L-3-хлор-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(4-бромбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 15 N-(4-бромбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4-гидрокси)пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
- 20 N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(4-(2-пиримидил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
- бис-{4-[(2S)-2-трет-бутоксикарбонил-2-((2R)-1-(толуол-4-сульфонил)пирролидин-2-карбоксамидо)этил]фениловый} эфир пиперазин-1,4-дикарбоновой кислоты
- 25 изопропиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- N-(4-фторбензолсульфонил)тиазолидинил-2-карбонил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- 30 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)тиазолидинил-2-карбонил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4-оксо)пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланин
- N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4-оксо)пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
- 35 N-(4-фторбензолсульфонил)тиазолидинил-2-карбонил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
- трет-бутиловый эфир N-(4-нитробензолсульфонил)-L-пропил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- 40 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)тиазолидинил-2-карбонил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- N-(4-бромбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
- 45 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(N-фенилтиокарбонил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)тиазолидинил-2-карбонил-L-4-(4-метилгомопиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- 50 бис-{4-[(2S)-2-карбоксил-2-((2R)-1-(толуол-4-сульфонил)пирролидин-2-карбоксамидо)этил]фениловый} эфир пиперазин-1,4-дикарбоновой кислоты
- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4-метансульфонилокси)пропил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

- N-(4-аминокарбонилбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- N-(4-аминокарбонилбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланин
- 5 N-(4-амидинобензолсульфонил)-L-пролил-L-(4-тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланин
- N-(4-нитробензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
- 10 этиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
- 15 N-(4-фторбензолсульфонил)тиазолидинил-2-карбонил-L-4-(4-метилгомипиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
- изопропиловый эфир N-(1-метилпиразол-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- изопропиловый эфир N-(1-метилимидазол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- 20 трет-бутиловый эфир N-(1-метилимидазол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
- 25 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- 30 изопропиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- 35 N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1-метансульфонилпиразин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- N-(толуол-4-сульфонил)-L-4-(метансульфонилокси)пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- трет-бутиловый эфир N-(метансульфонил)-N-бензилглицинил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 40 трет-бутиловый эфир N-(4-бромбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланила
- N-(4-трифторметоксибензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- 45 трет-бутиловый эфир N-(4-трифторметоксибензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(4-трифторметоксибензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- 50 N-(4-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
- N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(4-гидрокси)пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин

N-(4-трифторметоксибензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин

N-(1-метилимидазол-4-сульфонил)-L-пролил-L-3-хлор-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин

5 изопропиловый эфир N-(1-метилимидазол-4-сульфонил)-L-пролил-L-3-хлор-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

N-(1-метилимидазол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин

10 N-(1-метилимидазол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин

N-(1-метилпиразол-3-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин

15 изопропиловый эфир N-(1-метилпиразол-3-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

трет-бутиловый эфир N-(1-метилпиразол-3-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

трет-бутиловый эфир N-(1-метилпиразол-3-сульфонил)-L-(5,5-

20 диметил)тиапролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

изопропиловый эфир N-(1-метилимидазол-4-сульфонил)-L-пролил-L-3-хлор-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

2-феноксипропиловый эфир N-(1-метилпиразол-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

25 N-(1-метилпиразол-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин

этиловый эфир N-(1-метилпиразол-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

30 N-(3-хлор-1,5-диметилпиразол-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(4-(5-трифторметил-2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин

и их фармацевтически приемлемые соли, а также любые перечисленные выше сложноэфирные соединения, в которых один сложный эфир заменяется другим эфиром, выбранным из группы, состоящей из метилового эфира, этилового эфира, н-пропилового эфира, изопропилового эфира, н-бутилового эфира, изобутилового эфира, втор-бутилового эфира, трет-бутилового эфира и неопентилового эфира.

Более предпочтительные соединения в объеме формулы I, IA и IB включают в себя в качестве примера:

40 этиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

этиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

45 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

н-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

50 циклопентиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-

- илкарбонилокси)фенилаланин
 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 н-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 5 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 циклопентиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 10 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
 этиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-
 (изонипекотоилокси)фенилаланина
 этиловый эфир N-(α -толуолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N-
 15 метилизонипекотоилокси)фенилаланина
 N-((α -толуолсульфонил)-L-пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-
 илкарбонилокси)фенилаланин
 этиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-3-(N,N-
 20 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 этиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(1-трет-
 бутилкарбонилокси-4-фенилпиперидин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 25 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 30 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-[(1,1-диоксо)тиаморфолин-3-
 карбонил]-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-[(1,1-диоксо)тиаморфолин-3-карбонил]-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(4-
 35 метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-
 илкарбонилокси)фенилаланин
 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)саркозил-L-4-(N,N-
 40 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)саркозил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)саркозил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(1-метилимидазол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 45 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(4-аминобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)саркозил-L-4-(морфолин-4-
 50 илкарбонилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(морфолин-4-
 илкарбонилокси)фенилаланина
 N-(α -толуолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-

- диметилкарбамилокси)фенилаланин
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-(пиперазин-2-карбонил)-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
- 5 трет-бутиловый эфир N-(α-толуолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(пиперазин-2-карбонил)-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4-
 10 бензилоксикарбонилпиперазин-2-карбонил)-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
- N-(толуол-4-сульфонил)саркозил-L-4-(изонипекотоилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-[(1,1-диоксо)тиаморфолин-3-
 карбонил]-L-4-(морфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
- 15 N-(толуол-4-сульфонил)-L-[(1,1-диоксо)тиаморфолин-3-карбонил]-L-4-
 (морфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланин
- трет-бутиловый эфир N-(1-метилпирозол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 20 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)саркозил-L-4-(4-метилпиперазин-1-
 илкарбонилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксо-5,5-
 25 диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- N-(1-метилимидазол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
- N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксо-5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-
 30 диметилкарбамилокси)фенилаланин
- N-(4-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
- N-(пиридин-3-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-D-пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-
 35 илкарбонилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-N-метилаланил-L-4-(4-
 метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(4-нитробензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 40 диметилкарбамилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)саркозил-L-4-(тиоморфолин-4-
 илкарбонилокси)фенилаланина
- N-(толуол-4-сульфонил)-L-N-метилаланил-L-4-(4-метилпиперазин-1-
 илкарбонилокси)фенилаланин
- 45 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(1,1-диоксотииоморфолин-4-
 илкарбонилокси)фенилаланин
- N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(тиоморфолин-4-
 илкарбонилокси)фенилаланин
- 50 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(изонипекотоилокси)фенилаланин
- N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(пирролидин-1-
 илкарбонилокси)фенилаланин
- N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(морфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланин

- неопентиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- неопентиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 5 этиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-трет-бутилоксикарбонилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- этиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(морфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
- 10 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)саркозил-L-4-(1,1-диоксотиаморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
- N-(толуол-4-сульфонил)саркозил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланин
- 15 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-N-метилаланил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(тиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 20 N-(толуол-4-сульфонил)саркозил-L-4-(1,1-диоксотиаморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланин
- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(морфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
- 25 N-(толуол-4-сульфонил)-L-N-метилаланил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(тиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 30 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(пиридин-3-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 35 трет-бутиловый эфир N-(пиримидин-2-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- N-(4-нитробензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- трет-бутиловый эфир N-(4-цианобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 40 N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксо)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 45 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- N-(1-метилпирозол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- 50 N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксо)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- N-(4-фторбензолсульфонил)-L-тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин

- N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(1-трет-бутилоксикарбонилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 5 этиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 этиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-ацетилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 10 этиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-метансульфонилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(морфолин-4-илкарбонилокси)-3-нитрофенилаланин
 15 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(1-трет-бутилоксикарбонилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-N-метил-2-(трет-бутил)глицинил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 20 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(1,1-диоксотиаморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(1,1-диоксотиаморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
 25 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(1,1-диоксотиаморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
 30 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(морфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
 N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(морфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
 35 трет-бутиловый эфир N-(4-трифторметоксибензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 40 3-[N-(толуол-4-сульфонил)-N-метиламино]-1-[1-трет-бутилоксикарбонил-2-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилэтил]азетидин-2-он
 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксо-5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 45 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксо-5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(морфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланин
 50 N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
 N-(пиримидин-2-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин

- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
3-[N-(толуол-4-сульфонил)-N-метиламино]-1-[1-карбокси-2-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилэтил]азетидин-2-он
- 5 трет-бутиловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксо)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- 10 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(изонипекотоилокси)фенилаланина
трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(1,1-диоксотиаморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
- 15 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(пирролидин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 20 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксо)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
трет-бутиловый эфир N-(2,5-дихлортиофен-3-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 25 трет-бутиловый эфир N-(4-ацетамидобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
трет-бутиловый эфир N-(4-трет-бутилбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 30 N-(пиридин-2-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
трет-бутиловый эфир N-(2-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
трет-бутиловый эфир N-(3-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 35 трет-бутиловый эфир N-(2,4-дифторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
N-(4-ацетамидобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- 40 N-(4-трифторметоксибензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
N-(4-цианобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
- 45 диметилкарбамилокси)фенилаланин
трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(3,3-диметил)пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(3,3-диметил)пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 50 изопропиловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
трет-бутиловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-

- диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
- 5 этиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-(1,4-диокса-8-аза-
 спиро[4.5]декан-8-ил)карбонилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-(1,4-диокса-8-аза-спиро[4.5]декан-8-
 ил)карбонилокси)фенилаланин
- 10 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-ацетилпиперазин-1-
 илкарбонилокси)фенилаланин
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-метансульфонилпиперазин-1-
 илкарбонилокси)фенилаланин
- 15 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-фенилпиперазин-1-
 илкарбонилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(пиперазин-1-
 илкарбонилокси)фенилаланина
- 20 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-
 метансульфонилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 (N-трет-бутоксикарбонил-2-амино-2-метилпропиловый) эфир N-(толуол-4-
 сульфони́л)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 25 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-ацетилпиперазин-1-
 илкарбонилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-
 гидроксипиперидин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- 30 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-N-(2'-(морфолин-4'-
 ил)этил)карбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-(1,4-диокса-8-аза-
 спиро[4.5]декан-8-ил)карбонилокси)фенилаланина
- 35 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-(2'-гидроксиэтил)-
 N-метилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-(2-
 гидроксиэтил)пиперазин-1-илкарбонилокси)-L-фенилаланина
- 40 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-(2'-формилоксиэтил)-N-
 метилкарбамилокси)фенилаланин
 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-(2'-гидроксиэтил)-
 N-метилкарбамилокси)фенилаланина
- 45 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-
 (метоксикарбонилметил)карбамилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-
 диметил)тиапролил-L-(4-N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 50 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-
 метоксипиперидин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-метоксипиперидин-1-
 илкарбонилокси)фенилаланин
- 55 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-4-оксопролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-транс-4-гидроксипролил-L-4-
 (N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(3-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-

- диметилкарбамилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(морфолиносulьфонил)-L-пролил-L-(4-N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 5 N-(морфолиносulьфонил)-L-пролил-L-(4-N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(1,1-
 диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(2-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 10 N-(2,4-дифторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-(тиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 15 изопропиловый эфир N-(пиридин-3-сульфонил)-L-(5,5-диметилтиапролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(3-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-
 20 (N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
 N-(4-трет-бутилбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-
 (N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
 N-(толуол-4-сульфонил)-(3,3-диметил)пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 25 N-(2,5-дихлортиофен-3-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 N-(4-метоксибензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 30 изопропиловый эфир N-(4-метоксибензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1-оксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1-оксотиаморфолин-3-
 35 карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(3,4-дифторбензолсульфонил)-L-пролил-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(3,4-дифторбензолсульфонил)-L-пролил-4-(N,N-
 40 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(3,4-дифторбензолсульфонил)-L-(1,1-
 диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(3,4-дифторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин
 45 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-
 (тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-(тиоморфолин-4-
 илкарбонилокси)фенилаланин
 50 этиловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-
 (N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(пиридин-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-
 диметилкарбамилокси)фенилаланин

диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
трет-бутиловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(тиаморфолин-3-
карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
5 трет-бутиловый эфир N-(3,4-дифторбензолсульфонил)-L-(тиаморфолин-3-
карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиопролил-L-
(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
N-(3,4-дифторбензолсульфонил)-L-(тиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-
10 диметилкарбамилокси)фенилаланин
изопропиловый эфир N-(2,5-дихлортиофен-3-сульфонил)-L-(5,5-
диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
изопропиловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-
диметил)тиапролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
15 изопропиловый эфир N-(8-хиолинсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-
диметилкарбамилокси)фенилаланина
N-(8-хиолинсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
изопропиловый эфир N-(8-хиолинсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-
20 диметилкарбамилокси)фенилаланина
N-(8-хиолинсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-
диметилкарбамилокси)фенилаланин
трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-фенилпиперазин-1-
илкарбонилокси)фенилаланина
25 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-
(этоксикарбонил)пиперидин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
трет-бутиловый эфир N-(пиридин-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-
(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
30 изопропиловый эфир N-(3-сульфонамидо-4-хлорбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-
(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1-оксотиаморфолин-3-
карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
трет-бутиловый эфир N-(2,4-дифторбензолсульфонил)-L-(1-оксотиаморфолин-3-
35 карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
2,2-диметилпропиловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-
диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
2,2-диметилпропиловый эфир N-(пиридин-3-сульфонил)-L-(5,5-
40 диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
циклопропилметилловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-
диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
метилловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-
(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
45 этиловый эфир N-(пиридин-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-
диметилкарбамилокси)фенилаланина
метилловый эфир N-(пиридин-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-
диметилкарбамилокси)фенилаланинациклопропила
50 2-метоксифениловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-
диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
н-бутиловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-
(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

- н-пропиловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 2,2-диметилпропионил оксиметилловый эфир N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 5 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-(4'-(2'-аминоэтил)морфолино)карбамилокси)фенилаланин
- N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-[4-(карбоксо)пиперидин-1-илкарбонилокси] фенилаланин
- 10 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-бис-(2-гидроксиэтил)карбамилокси)фенилаланина
- изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-[3-(гидроксиметил)пиперидин-1-илкарбонилокси]фенилаланина
- 15 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-трифторметансульфонил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(4-(N-фенилмочевина)бензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- изопропиловый эфир N-(2-трифторацетил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-7-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 20 изопропиловый эфир N-(1-метилпиразол-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- N-(1-метилпиразол-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- 25 изопропиловый эфир N-(пиридин-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- N-(пиридин-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- 30 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N-метил-N-(2-диметиламиноэтил)карбамилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-метил-N-(2-диметиламиноэтил)карбамилокси)фенилаланина
- 35 N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N-метил-N-(2-диметиламиноэтил)карбамилокси)фенилаланин
- N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-метил-N-(2-диметиламиноэтил)карбамилокси)фенилаланин
- 40 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- 45 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
- изопропиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
- изопропиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 50 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- изопропиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

- изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-3-хлор-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- изопропиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(4-(2'-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- 5 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(4-(2'-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- изопропиловый эфир N-(4-нитробензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 10 изопропиловый эфир N-(4-аминобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
- изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-фенилкарбамилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- 15 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-фенилкарбамилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
- изопропиловый эфир N-(1-н-бутилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 20 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(пиридин-4-илкарбонил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- N-(толуол-4-сульфонил)-L-4-оксопролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- 25 N-(толуол-4-сульфонил)-L-транс-4-гидроксипролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- изопропиловый эфир N-(4-цианобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 30 N-(4-аминобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-4-оксопролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-[3-(гидроксиметил)пиперидин-1-илкарбонилокси]фенилаланин
- 35 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4,4-дифтор)пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4,4-дифтор)пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- 40 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-(4-бензоилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- изопропиловый эфир N-(1-метил-1H-имидазол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 45 N-(толуол-4-сульфонил)-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланин
- изопропиловый эфир N-(4-цианобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
- 50 метиловый эфир N-(4-амидинобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-4-оксопролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина

- N-(толуол-4-сульфонил)-L-4-гидроксипролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланин
- N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-(4-бензоилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
- 5 метиловый эфир N-(4-амидинобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
- N-(3-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбонилокси)фенилаланин
- 10 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-[N-метил-N-(2-(N'-метил-N'-толуолсульфониламино)этил)карбамилокси]фенилаланина
- изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-[N-(2-(N'-фениламинокарбонилокси)этил)карбамилокси]фенилаланина
- 15 изопропиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-4-(транс-гидрокси)пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-4-(транс-гидрокси)пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- N-(4-амидинобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- 20 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(пиперазин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(2-гидроксиметилпирролидин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- 25 N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(2-гидроксиметилпирролидин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(2-метоксикарбонилпирролидин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- 30 N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланин
- N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
- трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- 35 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4-гидрокси)пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина
- 2-(2-метоксиэтокси)этиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 40 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(4-(2-пиримидил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- изопропиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-фтор-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 45 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1-метансульфонилпиперазин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- трет-бутиловый эфир N-(4-бромбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 50 N-(4-бромбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
- N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4-гидрокси)пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин

- N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(4-(2-пиримидил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
 изопропиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- 5 N-(4-фторбензолсульфонил)тиазолидинил-2-карбонил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)тиазолидинил-2-карбонил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 10 N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4-оксо)пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланин
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4-оксо)пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
- 15 N-(4-фторбензолсульфонил)тиазолидинил-2-карбонил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(4-нитробензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)тиазолидинил-2-карбонил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- 20 N-(4-бромбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(N-фенилтиокарбонил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- 25 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)тиазолидинил-2-карбонил-L-4-(4-метилгомопиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-4-(метансульфонилокси)пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
- 30 N-(4-аминокарбонилбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
 N-(4-аминокарбонилбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланин
- 35 N-(4-амидинобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланин
 N-(4-нитробензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
- 40 этиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
- 45 N-(4-фторбензолсульфонил)тиазолидинил-2-карбонил-L-4-(4-метилгомопиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
 изопропиловый эфир N-(1-метилпиразол-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(1-метилимидазол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
- 50 трет-бутиловый эфир N-(1-метилимидазол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин

- трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 5 изопропиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(4-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 10 N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1-метансульфонилпиперазин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
 N-(толуол-4-сульфонил)-L-4-(метансульфонилокси)пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(4-бромбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 15 N-(4-трифторметоксибензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
 трет-бутиловый эфир N-(4-трифторметоксибензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 20 трет-бутиловый эфир N-(4-трифторметоксибензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 N-(4-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
 25 N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(4-гидрокси)пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
 N-(4-трифторметоксибензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
 30 N-(1-метилимидазол-4-сульфонил)-L-пролил-L-3-хлор-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланин
 изопропиловый эфир N-(1-метилимидазол-4-сульфонил)-L-пролил-L-3-хлор-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(1-метилимидазол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
 35 N-(1-метилимидазол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
 N-(1-метилпиразол-3-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин
 40 изопропиловый эфир N-(1-метилпиразол-3-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 трет-бутиловый эфир N-(1-метилпиразол-3-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 45 трет-бутиловый эфир N-(1-метилпиразол-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 изопропиловый эфир N-(1-метилимидазол-4-сульфонил)-L-пролил-L-3-хлор-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина
 50 2-феноксипропиловый эфир N-(1-метилпиразол-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина
 N-(1-метилпиразол-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин

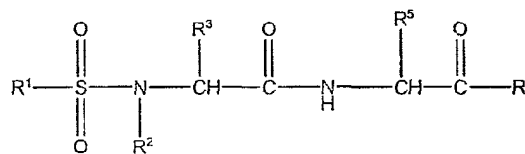
этиловый эфир N-(1-метилпиразол-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(4-(2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

N-(3-хлор-1,5-диметилпиразол-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(4-(5-трифторметил-2-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланин

и их фармацевтически приемлемые соли.

Предпочтительные соединения указанной выше формулы I и IA включают те, что приведены ниже в таблице 3.

Таблица 3



10

15

20

25

30

35

40

45

50

R ¹	R ²	R ³	R ⁵	R ⁶
<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(4-метилпиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(4-метилпиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(4-метилпиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-O- <i>n</i> -бутил
<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(4-метилпиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-O-циклопентил
<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(4-метилпиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(4-метилпиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OH
<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-O- <i>n</i> -бутил
<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-O-циклопентил
<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(пиперидин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
φ-CH ₂ -	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(1-метилпиперидин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
φ-CH ₂ -	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(4-метилпиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OH

	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
5	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(1-Вос-4-фенилпиперидин-4-ил)-C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
10	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
15	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
20	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
25	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>l</i> -[(4-метилпиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>l</i> -[(4-метилпиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-ОН
30	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	CH ₃ -	Н	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	CH ₃ -	Н	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	CH ₃ -	Н	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
35	1- метилимидазол-4- ил	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>l</i> -NH ₂ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	CH ₃ -	Н	<i>l</i> -[(морфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
40	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(морфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	φ-CH ₂ -	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
45	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -NH-CH ₂ - (L-пиперазинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
	φ-CH ₂ -	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
50	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -NH-CH ₂ - (L-пиперазинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃

	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -(Cbz)NHCH ₂ - [L-4-N-(Cbz)-пиперазинил]		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃ ,
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	CH ₃ -	H	<i>m</i> -[(пиперидин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OH
5	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)		<i>m</i> -[(морфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
10	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)		<i>m</i> -[(морфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-OH
	1- метилпиразол-4- ил	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
15	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	-CH ₃	H	<i>m</i> -[(4-метилпиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
20	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -SO ₂ -C(CH ₃) ₂ - (L-1,1-диоксо-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	1- метилпиразол-4- ил	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
25	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -SO ₂ -C(CH ₃) ₂ - (L-1,1-диоксо-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
30	3-пиридил	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OH
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (D-пирролидинил)		<i>m</i> -[(4-метилпиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
35	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	-CH ₃	-CH ₃	<i>m</i> -[(4-метилпиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>m</i> -нитро-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	-CH ₃	H	<i>m</i> -[(тиоморфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
40	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	-CH ₃	-CH ₃	<i>m</i> -[(4-метилпиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OH
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(тиоморфолин-4-илсульфон)-C(O)O-]бензил-	-OH
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(тиоморфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-OH
45	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(пиперидин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OH
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(пирролидин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OH
50	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(морфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-OH
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(4-метилпиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ C(CH ₃) ₃

	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ C(CH ₃) ₃
5	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(1-Вос-пиперазин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(морфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
10	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	-CH ₃	H	<i>m</i> -[(тиоморфолин-4-илсульфон)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	-CH ₃	H	<i>m</i> -[(тиоморфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	-CH ₃	-CH ₃	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
15	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S-CH ₂ - (L-тиоморфолин-3-ил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	-CH ₃	H	<i>m</i> -[(тиоморфолин-4-илсульфон)-C(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
20	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)		<i>m</i> -[(морфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	-CH ₃	-CH ₃	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
25	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S-CH ₂ - (L-тиоморфолин-3-ил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
30	пиридин-3-ил	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>m</i> -нитро-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
35	<i>m</i> -N≡C-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
40	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-диоксотиазолидин-4- ил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
45	<i>m</i> -F ₃ C-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	1- метилпиразол-4- ил	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
50	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-диоксотиазолидин-4- ил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-CH ₂ - (L-тиазолидин-4-ил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН

	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	2,4-диоксо- тетрагидро- фуран-3-ил(3,4- енол)
5	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(пиперазин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(1-Вос-пиперазин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
10	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(пиперазин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(4-ацетилпиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
15	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(4-метансульфонилпиперазин-1-ил)-C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		3-нитро-4-[(морфолин-4-ил)-C(O)O-]бензил-	-ОН
20	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(1-Вос-пиперазин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	-CH ₃	-C(CH ₃) ₃	<i>l</i> -[(4-метилпиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
25	<i>l</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>l</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)		<i>l</i> -[(1,1-диоксотiomорфолин-4-ил)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
30	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)		<i>l</i> -[(1,1-диоксотiomорфолин-4-ил)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>l</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(1,1-диоксотiomорфолин-4-ил)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
35	<i>l</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(тиоморфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>l</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(морфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
40	<i>l</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>l</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)		<i>l</i> -[(морфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
45	<i>l</i> -F ₃ CO-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
50	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂

	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -SO ₂ -C(CH ₃) ₂ - (L-1,1-диоксо-5,5- диметилтиазаолидин-4-ил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
5	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -SO ₂ -C(CH ₃) ₂ - (L-1,1-диоксо-5,5- диметилтиазаолидин-4-ил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
10	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)		<i>m</i> -[(морфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -SO ₂ -C(CH ₃) ₂ - (L-1,1-диоксо-5,5- диметилтиазаолидин-4-ил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
15	пиримидин-2-ил	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)		<i>m</i> -[(4-метилпиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
20	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-диоксотиазолидин-4- ил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
25	2,5-дихлортиен-3- ил	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>m</i> -CH ₃ C(O)NH-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
30	<i>m</i> -C(CH ₃) ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	пиридин-2-ил	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
35	<i>o</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
40	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	2,4-дифтор-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
45	<i>m</i> -CH ₃ C(O)NH-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>m</i> -C(F) ₃ O-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
50	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазаолидин-4-ил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	<i>m</i> -N≡C-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН

	морфолин-4-ил	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
5	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -C(CH ₃) ₂ - (L-4,4- диметилпирролидинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -C(CH ₃) ₂ - (L-4,4- диметилпирролидинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
10	1- метилпиразол-4- ил	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
15	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(тиоморфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	1- метилимидазол-4- ил	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
20	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	1- метилпиразол-4- ил	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
25	<i>l</i> -CH ₃ C(O)NH-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>l</i> -(CH ₃) ₃ C-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
30	1- метилпиразол-4- ил	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
35	пиридин-3-ил-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>l</i> -N≡C-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
40	<i>l</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(1,4-диокса-8-азаспиро[4.5]декан-8-ил)-C(O)O-] бензил-	-OCH ₂ CH ₃
45	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(1,4-диокса-8-азаспиро[4.5]декан-8-ил)-C(O)O-] бензил-	-ОН
50	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(4-ацетилпиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-ОН

	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>l</i> -[(4-метансульфонилпиперазин-1-ил)- C(O)O-]бензил-	-ОН
5	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>l</i> -[(4-φ-пиперазин-1-ил)C(O)(O)-]бензил-	-ОН
	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>l</i> -[(пиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
10	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -NH-CH ₂ - (L-пиперазинил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>l</i> -F ₃ CO-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
15	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -C(CH ₃) ₂ - (4,4-диметилпирролидинил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -C(CH ₃) ₂ - (4,4-диметил пирролидинил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
20	<i>l</i> -CH ₃ C(O)NH-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ HC(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>o</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
25	морфолин-4-ил-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
30	2,4-дифтор-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	морфолин-4-ил-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
35	1- метилпиразол-4- ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
40	<i>o</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
	2,4-дифтор-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
45	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S-CH ₂ - (L-тиоморфолин-3-ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
50	пиридин-3-ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂

	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
5	пиридин-2-ил-	R ² /R ³ -цикл 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	1- метилпиразол-4- ил	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
10	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ -цикл 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(4-метансульфонилпиперазин-1-ил)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(4-φ-пиперазин-1-ил)C(O)(O)-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
15	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-O- CH ₂ C(CH ₃) ₂ -NHC(O)OC(CH ₃) ₃
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-O-CH ₂ CH ₂ - (морфолин-4-ил)
20	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(4-ацетилпиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NCH ₂ CH ₂ N(CH ₃)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
25	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NCH ₂ CH ₂ N(CH ₃)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NCH ₂ CH ₂ N(CH ₃)C(O)O-]бензил-	-ОН
30	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NCH ₂ CH ₂ N(CH ₃)C(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(4-гидроксипиперидин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
35	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>m</i> -(CH ₃) ₃ C-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
40	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(тиоморфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	2,5-дихлортиен-3- ил-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
45	<i>m</i> -CH ₃ O-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -C(CH ₃) ₂ - (4,4-диметилпирролидинил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
50	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)	3-хлор-4-[(4-метилпиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃

	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		3-хлор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]-бензил-	-ОН
5	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		3-хлор-4-[(тиоморфолин-4-ил)C(O)O-]-бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(морфолин-4-ил)-CH ₂ CH ₂ NHC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
10	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(1,4-диокса-8-азаспиро[4.5]декан-8-ил)-C(O)O-] бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		3-хлор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]-бензил-	-OC(CH ₃) ₃
15	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>m</i> -[(тиоморфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-ОН
	пиридин-2-ил-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -(O)-CH ₂ - (L-1-оксотииоморфолин-4- ил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
25	4-Cl-3-(NH ₂ -SO ₂ -)- φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		3-хлор-4-[(тиоморфолин-4-ил)C(O)O-]-бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
30	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		3-хлор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]-бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[НОСН ₂ CH ₂ N(CH ₃)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
35	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>m</i> -[(2-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил)-C(O)O-]- бензил-	-OC(CH ₃) ₃
40	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>m</i> -[(2-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил)-C(O)O-]- бензил-	-ОН
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(2-(СН ₃ ОС(О)-)пирролидин-1-ил)-C(O)O-]-бензил-	-OC(CH ₃) ₃
45	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(4-(НС(О)О-)пиперидин-1-ил)-C(O)O-]-бензил-	-ОН
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(4-(гидроксипиперидин-1-ил)-C(O)O-]-бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
50	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		3-хлор-4-[(тиоморфолин-4-ил)C(O)O-]-бензил-	-ОН

	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>l</i> -[(4-(CH ₃ CH ₂ OC(O)-)пиперидин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
5	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>l</i> -[(4-(HOCH ₂ CH ₂ -)пиперазин-1-ил)- C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>l</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)	<i>l</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)-C(O)O-]бензил-	-ОН
10	<i>l</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)	<i>l</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)- C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>l</i> -[HC(O)OCH ₂ CH ₂ N(CH ₃)C(O)O-]бензил-	-ОН
15	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>l</i> -[HOCH ₂ CH ₂ N(CH ₃)C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>l</i> -[CH ₃ OC(O)CH ₂ NHC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
20	хинолин-8-ил-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	3,4-дифтор-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
25	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>l</i> -[(тиоморфолин-4-ил)-C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	<i>l</i> -CH ₃ O-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
30	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -(O)-CH ₂ - (L-1-оксотиоморфолин-4- ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
	3,4-дифтор-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотиоморфолин-3-ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
35	<i>l</i> -H ₂ N-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	3,4-дифтор-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотиоморфолин-3-ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
40	3,4-дифтор-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
45	хинолин-8-ил-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
	1- метилпирозол-4- ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
50	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -(O)-CH ₂ - (L-1-оксотиоморфолин-4- ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃

	1- <i>н</i> - бутилпиразол-4- ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>п</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
5	1- метилпиразол-3- ил	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>п</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
10	2-(CF ₃ C(O)-)- 1,2,3,4- тетрагидро- изохинолин-7-ил	R ² /R ³ =цикл 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>п</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	<i>п</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>п</i> -[(4-(φNHC(O)-)-пиперазин-1-ил)- C(O)O-]бензил-	-ОН
15	<i>п</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>п</i> -[(4-метоксиперидин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>п</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>п</i> -[(4-(пиридин-4-илC(O))пиперазин-1-ил)-C(O)O-] бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
20	<i>п</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -C(O)-CH ₂ - (L-4-оксопирролидинил)		<i>п</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>п</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH(OH)CH ₂ - (L-4- гидроксопирролидинил)		<i>п</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
25	<i>м</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>п</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>п</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>п</i> -[(4-метоксиперидин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
30	<i>п</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>п</i> -[(4-(φNHC(O)-)пиперазин-1-ил)- C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	<i>п</i> -(φNHC(O)NH)φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>п</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
35	<i>п</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		3-хлор-4-[(4-метилпиперидин-1-ил)- C(O)O-]-бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
40	<i>п</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		3-хлор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]-бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	<i>п</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>п</i> -[(4-(CH ₃ SO ₂ -)пиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
45	<i>п</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>п</i> -[(морфолин-4-ил)CH ₂ CH ₂ NHC(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>п</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>п</i> -[(4-(НО(О)-)пиперидин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-ОН
50	<i>п</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>п</i> -[(НОСН ₂ СН ₂) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	<i>п</i> -O ₂ N-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>п</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂

	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(4-(HOCH ₂)-пиперидин-1-ил)-C(O)O-]-бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
5	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	3-хлор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]-бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S-CH ₂ - (L-тиоморфолин-3-ил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
10	1-метилпиразол-3-ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
15	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	<i>o</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
20	3,4-дифтор-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	3,5-дифтор-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
25	2,4-дифтор-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
30	<i>m</i> -NH ₂ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>m</i> -N≡C-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
35	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH(OH)CH ₂ - (L-4-гидрокси-пирро- лидинил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ C(O)CH ₂ - (L-4-оксипирролидинил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
40	пиридин-2-ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
45	<i>m</i> -Cl-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	<i>m</i> -Cl-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
50	<i>o</i> -Cl-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂

	3,4-дихлор-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
5	3,5-дихлор-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
10	1- метилпиразол-4- ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
	пиридин-3-ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
15	1- метилпиразол-4- ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	<i>l</i> -[(тиоморфолин-4-ил)-C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
20	хинолин-8-ил	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	<i>m</i> -Cl-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
25	пиридин-2-ил	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
30	3,4-дихлор-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	2,5-дихлортиен-3- ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
35	<i>l</i> -CH ₃ O-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
40	<i>m</i> -CH ₃ O-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	<i>o</i> -CH ₃ O-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
45	3,4-диметокси-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	2,4-дифтор-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S-CH ₂ - (L-тиоморфолин-3-ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
50	3,4-дихлор-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН

	<i>m</i> -Cl-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
5	2,4-дифтор-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S(O)-CH ₂ - (L-1-оксотiomорфолин-4- ил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -C(O)-CH ₂ - (L-4-оксопирролидинил)	<i>m</i> -[(4-метилпиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
10	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH(OH)CH ₂ - (L-4-гидроксипирро- лидинил)	<i>m</i> -[(тиоморфолин-4-ил)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
15	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(3-(НОСН ₂ -)пиперидин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CF ₂ -CH ₂ - (L-4,4-дифторпирро- лидинил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
20	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-O(CH ₂ CH ₂ O) ₂ CH ₃
25	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH(O- C(O)тиоморфолин-4-ил- CH ₂ - (L-4-(тиоморфолин-4- ил)C(O)O-пирролидинил)	<i>m</i> -[(тиоморфолин-4-ил)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CF ₂ -CH ₂ - (L-4,4-дифтор- пирролидинил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
30	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)-C(O)O-] бензил-	-OC(CH ₃) ₃
35	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(4-(φC(O)-)пиперазин-1-ил)- C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	3-фтор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
40	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	3-хлор-4-[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-] бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
45	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	3-хлор-4-[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-] бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ N(-SO ₂ CH ₃)-CH ₂ - (L-4-метансульфонил- пиперазинил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
50	1- метилимидазол-4- ил-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	<i>m</i> -Br-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃

	<i>m</i> -Br-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		H(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
5	<i>m</i> -NH ₂ C(=N)-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₃
	<i>m</i> -N≡C-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(тиоморфолин-4-ил)-C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
10	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH(O- C(O)тиоморфолин-4-ил)- CH ₂ - (L-4-(тиоморфолин-4- ил)C(O)O-пирролидинил)		<i>m</i> -[(тиоморфолин-4-ил)-C(O)O-]бензил-	-ОН
15	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -C(O)-CH ₂ - (L-4-оксопирролидинил)		<i>m</i> -[(тиоморфолин-4-ил)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -C(O)-CH ₂ - (L-4-оксопирролидинил)		<i>m</i> -[(тиоморфолин-4-ил)-C(O)O-]бензил-	-ОН
20	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -C(O)-CH ₂ - (L-4-оксопирролидинил)		<i>m</i> -[(4-метилпиперазин-1-ил)-C(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)-C(O)O-] бензил-	-ОН
25	хинолин-8-ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
30	пиридин-4-ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
35	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S- (тиазолидин-2-ил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
40	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S- (тиазолидин-2-ил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -C(O)-CH ₂ - (L-4-оксопирролидинил)		<i>m</i> -[(тиоморфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-ОН
45	<i>m</i> -NH ₂ -C(=N)-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(тиоморфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-OCH ₃
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -C(O)-CH ₂ - (L-4-оксопирролидинил)		<i>m</i> -[(4-метилпиперазин-1-ил)-C(O)O-]бензил-	-ОН
50	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S- (тиазолидин-2-ил)		<i>m</i> -[(4-пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-ОН

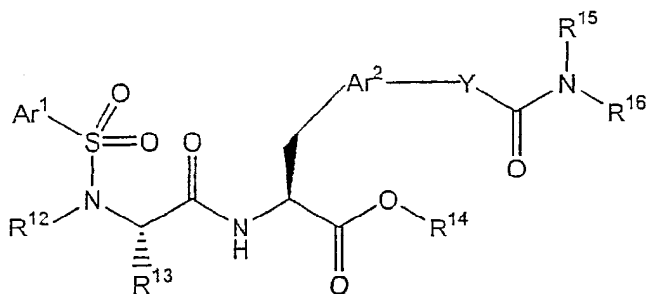
	<i>m</i> -NO ₂ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(4-пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил]C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
5	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S- (тиазолидин-2-ил)	<i>m</i> -[(4-пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил]C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>m</i> -Br-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(4-пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил]C(O)O-]бензил-	-ОН
10	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(4-(φC(O)-)пиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(4-(φNHC(S)-)пиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
15	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S- (тиазолидин-2-ил)	<i>m</i> -[(4-CH ₃ -гомопиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[<i>m</i> -CH ₃ -φ-SO ₂ N(CH ₃)CH ₂ CH ₂ N(CH ₃)C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
20	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[φNHC(O)O-CH ₂ CH ₂ NHC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	3-Cl-4-F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1- диоксотiomорфолин-3-ил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
25	1- метилпиразол-4- ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -S-CH ₂ - (L-тиоморфолин-3-ил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH(-OSO ₂ CH ₃)-CH ₂ - (L-4-метансульфокси- пирролидинил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
30	<i>m</i> -H ₂ NC(O)-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>m</i> -H ₂ N-C(=N)-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
35	<i>m</i> -H ₂ NC(O)-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(тиоморфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>m</i> -H ₂ N-C(=N)-φ	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(тиоморфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-ОН
40	<i>m</i> -NO ₂ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)- C(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)	3-хлор-4-[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-]- бензил-	-OCH ₂ CH ₃
45	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)	3-хлор-4-[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-]- бензил-	-ОН
50	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S- (тиазолидин-2-ил)	<i>m</i> -[(4-CH ₃ -гомопиперазин-1-ил)C(O)O-]-бензил-	-ОН

	1-метилпиразол-4-ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		3-хлор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
5	1-метилимидазол-4-ил-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)- C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	1-метилимидазол-4-ил-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)- C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
10	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)- C(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)- C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
15	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)- C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	<i>l</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)- C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
20	<i>l</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)- C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ N(-SO ₂ -CH ₃)CH ₂ - (4-метансульфонил- пиперазин-2-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
25	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH(-OSO ₂ -CH ₃)CH ₂ - (L-4-метансульфокси- пирролидинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
	3,4-дифтор-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S-CH ₂ - (L-тиоморфолин-3-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
30	пиридин-3-ил	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>l</i> -[(тиоморфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
35	3,4-дифтор-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S-CH ₂ - (L-тиоморфолин-3-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>l</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH(OH)CH ₂ - (L-4-гидроксипирро- лидинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
40	<i>l</i> -Br-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>l</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)- C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
45	<i>l</i> -CF ₃ O-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>l</i> -CF ₃ O-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₃ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
50	<i>l</i> -CF ₃ O-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>l</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)- C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃

	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)- C(O)O-]бензил-	-ОН
5	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH(OH)CH ₂ - (L-4-гидроксипирро- лидинил)	<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)- C(O)O-]бензил-	-ОН
	<i>m</i> -CF ₃ O-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)- C(O)O-]бензил-	-ОН
10	1- метилимидазол-4- ил-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	3-хлор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
	1- метилимидазол-4- ил-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	3-хлор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
15	1- метилимидазол-4- ил-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)- C(O)O-]бензил-	-ОН
	1- метилимидазол-4- ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)- C(O)O-]бензил-	-ОН
20	1- метилпиразол-4- ил-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)- C(O)O-]бензил-	-ОН
	1- метилпиразол-4- ил-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)- C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
25	1- метилпиразол-4- ил-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)- C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	1- метилпиразол-4- ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)- C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
30	1- метилимидазол-4- ил-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	3-хлор-4-[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O] бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	1- метилпиразол-4- ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₂ Oφ
35	1- метилпиразол-4- ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	3-хлор-4-[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-] бензил-	-ОН
	1- метилпиразол-4- ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	3-хлор-4-[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-] бензил-	-OCH ₂ CH ₃
45	1,5-диметил-3- хлорпиразол-4- ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[4-[5-CF ₃ -пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)-C(O)O-] бензил-	-ОН
	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH(OH)CH ₂ - (L-4-гидроксипирро- лидинил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
50	пиридин-4-ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН

1-метилпиразол-4-ил-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	l -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил	-OCH ₂ C(CH ₃) ₃
5 1-метилпиразол-4-ил-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	l -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ O- C(O)C(CH ₃) ₃
10 пиридин-3-ил-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	l -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ C(CH ₃) ₃
1-метилпиразол-4-ил-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	l -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	2-CH ₃ O-φ-O-
15 1-метилпиразол-4-ил-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	l -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ -циклопропил
1-метилпиразол-4-ил-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	l -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₂ CH ₃
20 1-метилпиразол-4-ил-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	l -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃
1-метилпиразол-4-ил-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	l -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-O-CH ₃
25 1-метилпиразол-4-ил-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	l -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-O-CH ₃
пиридин-3-ил-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	l -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
30 пиридин-3-ил-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	l -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃
пиридин-3-ил-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	l -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ -циклопропил
35 пиридин-3-ил-	R^2/R^3 =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтриазолидин-4-ил)	l -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ -циклопропил

В предпочтительном осуществлении соединений формулы I и IA данные соединения определяются приведенной ниже формулой IB:



IB

в которой:

Ar¹ выбран из группы, состоящей из арила, замещенного арила, гетероарила и замещенного гетероарила;

Ar² выбран из группы, состоящей из арила, замещенного арила, гетероарила и замещенного гетероарила;

Ar¹² выбран из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, циклоалкила и замещенного циклоалкила;

или R¹² и R¹³ вместе с атомом азота, связанным с R¹², и атомом углерода, связанным с R¹³, образуют гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу;

R¹³ выбран из группы, состоящей из водорода, алкила и замещенного алкила, или R¹² и R¹³ вместе с атомом азота, связанным с R¹², и атомом углерода, связанным с R¹³, образуют гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу;

R¹⁴ выбран из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, арила и замещенного арила;

R¹⁵ выбран из группы, состоящей из алкила и замещенного алкила, или R¹⁵ и R¹⁶ вместе с атомом азота, с которым они связаны, образуют гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу;

R¹⁶ выбран из группы, состоящей из алкила и замещенного алкила, или R¹⁵ и R¹⁶ вместе с атомом азота, с которым они связаны, образуют гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу; и

Y выбран из группы, состоящей из -O-, -NR¹⁰⁰-, и -CH₂-, в котором R¹⁰⁰ представляет водород или алкил;

и их фармацевтически приемлемыми солями.

Предпочтительно в соединениях приведенной выше формулы IB R¹² представляет собой алкил, замещенный алкил, или R¹² и R¹³ вместе с атомом азота, связанным с R¹² и атомом углерода, связанным с R¹³ образуют гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу. Предпочтительно в соединениях приведенной выше формулы IB R¹⁴ представляет собой водород или алкил.

Предпочтительно в соединениях приведенной выше формулы IB Ar¹ выбран из группы, состоящей из фенила, 4-метилфенила,

4-трет-бутилфенила, 2,4,6-триметилфенила, 2-фторфенила,

3-фторфенила, 4-фторфенила, 2,4-дифторфенила, 3,4-дифторфенила, 3,5-дифторфенила, 2-хлорфенила, 3-хлорфенила, 4-хлорфенила,

3,4-дихлорфенила, 3,5-дихлорфенила, 3-хлор-4-фторфенила,

4-бромфенила, 2-метоксифенила, 3-метоксифенила,

4-метоксифенила, 3,4-диметоксифенила, 4-трет-бутоксифенила,

4-(3'-диметиламино-н-пропокси)фенила, 2-карбоксифенила,

2-(метоксикарбонил)фенила, 4-(H₂NC(O)-)фенила,

4-(H₂NC(S)-)фенила, 4-цианофенила, 4-трифторметилфенила,

4-трифторметоксифенила, 3,5-ди(трифторметил)фенила,

4-нитрофенила, 4-аминофенила, 4-(CH₃C(O)NH-)фенила,

4-(PhNHC(O)NH-)фенила, 4-амидинофенила, 4-метиламидинофенила,

4-[CH₃SC(=NH)-]фенила, 4-хлор-3-[H₂NS(O)₂-]фенила, 1-нафтила,

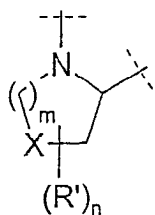
2-нафтила, пиридин-2-ила, пиридин-3-ила, пиридин-4-ила,

пиримидин-2-ила, хинолин-8-ила,

2-(трифторацетил)-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-7-ила, 2-тиенила, 5-хлор-2-тиенила, 2,5-дихлор-4-тиенила, 1-N-метилимидазол-4-ила, 1-N-метилпиразол-3-ила, 1-N-метилпиразол-4-ила,

1-N-бутилпиразол-4-ила, 1-N-метил-3-метил-5-хлорпиразол-4-ила, 1-N-метил-5-метил-3-хлорпиразол-4-ила, 2-тиазолила и 5-метил-1,3,4-тиадиазол-2-ила.

Предпочтительно в соединениях приведенной выше формулы IB R^{12} и R^{13} , вместе с атомом азота, связанным с R^{12} , и атомом углерода, связанным с R^{13} , образуют гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу формулы:



где X выбран из группы, состоящей из -S-, -SO-, -SO₂ и необязательно замещенного -CH₂-;

m представляет собой целое число от 0 до 12;

n представляет собой целое число от 0 до 2; и

R' выбран из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила и аминогруппы.

Предпочтительно, m представляет собой 1, X представляет собой -S- или -CH₂-, R' представляет собой алкил или замещенный алкил.

Даже более предпочтительно R^{12} и R^{13} , вместе с атомом азота, связанным с R^{12} , и атомом углерода, связанным с R^{13} , образуют гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу, выбранную из группы, состоящей из азетидинила,

тиазолидинила, пиперидинила, пиперазинила, тиоморфолинила, пирролидинила,

4-гидроксипирролидинила, 4-оксопирролидинила,

4-фторпирролидинила, 4,4-дифторпирролидинила,

4-(тиоморфолин-4-ил-C(O)O-)пирролидинила,

4-[CH₃S(O)₂O]пирролидинила, 3-фенилпирролидинила,

3-тиофенилпирролидинила, 4-аминопирролидинила,

3-метоксипирролидинила, 4,4-диметилпирролидинила,

4-N-Cbz-пиперазинила, 4-[CH₃S(O)₂]пиперазинила,

тиазолидин-3-ила, 5,5-диметилтиазолидин-3-ила,

5,5-диметилтиазолидин-4-ила, 1,1-диоксотиазолидинила,

1,1-диоксо-5,5-диметилтиазолидин-2-ила и

1,1-диоксотиоморфолинила.

Предпочтительно в соединениях формулы IB Ar^2 выбран из группы, состоящей из фенила, 2-пиридила, 3-пиридила, 4-пиридила, и 4-пирид-2-онила.

Предпочтительно в формуле IB Y представляет собой -O-, и когда Y представляет собой -O-, радикал OC(O)NR¹⁵R¹⁶ предпочтительно выбран из группы, состоящей

из (CH₃)₂NC(O)O-, (пиперидин-1-ил)C(O)O-, (4-гидроксипиперидин-1-ил)C(O)O-,

(4-формилоксипиперидин-1-ил)C(O)O-,

(4-этоксикарбонилпиперидин-1-ил)C(O)O-,

(4-карбоксилпиперидин-1-ил)C(O)O-,

(3-гидроксиметилпиперидин-1-ил)C(O)O-,

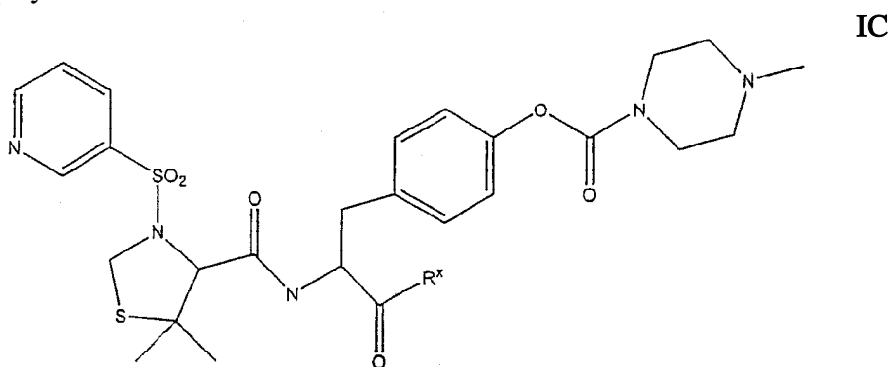
(4-гидроксиметилпиперидин-1-ил)C(O)O-,

(4-пиперидон-1-илэтиленкеталь)C(O)O-, (пиперазин-1-ил)-C(O)O-, (1-Вос-

пиперазин-4-ил)-C(O)O-, (4-метилпиперазин-1-ил)-C(O)O-, (4-метилгомопиперазин-1-ил)C(O)O-,

(4-(2-гидроксиэтил)пиперазин-1-ил)C(O)O-,
 (4-фенилпиперазин-1-ил)-C(O)O-,
 (4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-,
 (4-(4-трифторметилпиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-,
 5 (4-(пиримидин-2-ил)пиперазин-1-ил)-C(O)O-,
 (4-ацетилпиперазин-1-ил)-C(O)O-,
 (4-(фенил-C(O)пиперазин-1-ил)C(O)O-,
 (4-(пиридин-4'-ил-C(O)-)пиперазин-1-ил)-C(O)O-,
 10 (4-(фенил-NHC(O)-)пиперазин-1-ил)C(O)O-,
 (4-(фенил-NHC(S)-)пиперазин-1-ил)-C(O)O-,
 (4-метансульфонилпиперазин-1-ил)-C(O)O-,
 (4-трифторметансульфонилпиперазин)-1-ил-C(O)O-,
 (морфолин-4-ил)C(O)O-, (тиоморфолин-4-ил)C(O)O-,
 15 (тиоморфолин-4'-илсульфон)-C(O)O-, (пирролидин-1-ил)C(O)O-,
 (2-метилпирролидин-1-ил)C(O)O-, (2-(метоксикарбонил)пирролидин-1-ил)C(O)O-,
 (2-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил)C(O)O-,
 (2-(N,N-диметиламино)этил)(CH₃)NC(O)O-,
 20 (2-(N-метил-N-толуол-4-сульфониламино)этил)(CH₃)N-C(O)O-,
 (2-(морфолин-4-ил)этил)(CH₃)NC(O)O-,
 (2-(гидрокси)этил)(CH₃)NC(O)O-, бис-(2-(гидрокси)этил)NC(O)O-, (2-
 (формилокси)этил)(CH₃)NC(O)O-, (CH₃OC(O)CH₂)HNC(O)O-, и
 25 2-[(фенил-NHC(O)O-)этил-]HNC(O)O-.

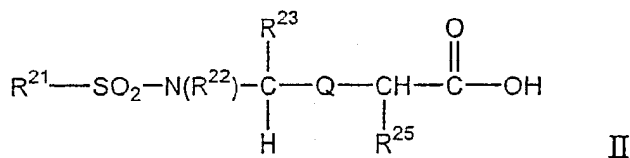
В предпочтительном осуществлении соединения определены приведенной ниже формулой IC



где R^x представляет собой гидрокси или C₁₋₅-алкокси, и их фармацевтически приемлемыми солями.

Предпочтительно, соединение представляет собой изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина.

В другом аспекте соединения, которые могут использоваться в качестве ремиелинизирующих средств, представляют собой соединения, определенные приведенной ниже формулой II. Данные соединения характеризуются сродством связывания с VLA-4, которое выражается в виде IC₅₀, примерно равной 15 мкМ или менее (измеренной как описано ниже в примере А) и действуют в качестве ремиелинизирующих средств:



где: R^{21} выбран из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, арила, замещенного арила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, гетероарила и замещенного гетероарила;

R^{22} выбран из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, и R^{21} и R^{22} , вместе с атомом азота, связанным с R^{22} , и SO_2 -группой, связанной с R^{21} , могут образовывать гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу;

R^{23} выбран из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, и где R^{22} и R^{23} , вместе с атомом азота, связанным с R^{22} , и атомом углерода, связанным с R^{23} , могут образовывать насыщенную гетероциклическую группу или насыщенную замещенную гетероциклическую группу с тем условием, что когда указанная насыщенная гетероциклическая группа является монозамещенной, ее заместитель не представляет собой карбоксил;

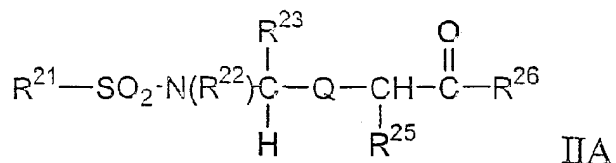
Q представляет собой $-\text{C}(\text{X})\text{NR}^7-$, где R^7 выбран из группы, состоящей из водорода и алкила;

X выбран из группы, состоящей из кислорода и серы; и

R^{25} представляет собой $-\text{CH}_2\text{Ar}^{22}-\text{R}^{25'}$, где Ar^{22} представляет собой арил или гетероарил, и $\text{R}^{25'}$ выбран из группы, состоящей из арила, гетероарила, замещенного арила, замещенного гетероарила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, арилокси, замещенного арилокси, аралкокси, замещенного аралкокси, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, гетероцикл-О-, замещенного гетероцикл-О-, гетероаралкокси и замещенного гетероаралкокси;

и их фармацевтически приемлемые соли.

В другом осуществлении соединения по изобретению также могут предоставляться в виде пролекарственных средств, которые преобразуются (например, гидролизуются, метаболизируются, и т.д.) *in vivo* в соединение приведенной выше формулы II. В предпочтительном примере такого осуществления группа карбоновой кислоты соединения формулы II модифицируется в группу, которая *in vivo* преобразуется в группу карбоновой кислоты (включая ее соли). В конкретном предпочтительном осуществлении такие пролекарственные средства представлены формулой IIIA:



в которой:

R^{21} выбран из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, арила, замещенного арила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, гетероарила и замещенного гетероарила;

R^{22} выбран из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, арила, замещенного арила, гетероарила и замещенного гетероарила, и R^{21} и R^{22} вместе с атомом азота, связанным с R^{22} , и с группой SO_2 , связанной с R^{21} , могут образовывать гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу;

R^{23} выбран из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла и замещенного гетероцикла, и R^{22} и R^{23} вместе с атомом азота, связанным с R^{22} , и атомом углерода, связанным с R^{23} , могут образовывать гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу с тем условием, что когда указанная насыщенная гетероциклическая группа является монозамещенной, ее заместитель не представляет собой карбоксил;

R^{25} представляет собой $-CH_2Ar^{22}-R^{25'}$, где Ar^{22} представляет собой арил или гетероарил, и $R^{25'}$ выбран из группы, состоящей из арила, гетероарила, замещенного арила, замещенного гетероарила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, арилокси, замещенного арилокси, аралкокси, замещенного аралкокси, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, гетероцикл-О-, замещенного гетероцикл-О-, гетероаралкокси, и замещенного гетероаралкокси;

R^{26} выбран из группы, состоящей из 2,4-диоксотетрагидрофуран-3-ил-(3,4-енола), amino, алкокси, замещенного алкокси, циклоалкокси, замещенного циклоалкокси, -O-(N-сукцинимидила), -NH-адамантил, -O-холест-5-ен-3 β -ила, -NHOY, где Y представляет собой водород, алкил, замещенный алкил, арил, и замещенный арил, -NH(CH₂)_pCOOY, где p представляет собой целое число от 1 до 8, и Y соответствует определенному выше, -OCH₂NR²⁹R³⁰, где R²⁹ выбран из группы, состоящей из -C(O)-арила и -C(O)-замещенного арила, и R³⁰ выбран из группы, состоящей из водорода и -CH₂COOR³¹, где R³¹ представляет собой алкил, и -NHSO₂Z', где Z' представляет собой алкил, замещенный алкил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл или замещенный гетероцикл;

Q представляет собой -C(X)NR⁷-, где R⁷ выбран из группы, состоящей из водорода и алкила;

X выбран из группы, состоящей из кислорода и серы; и их фармацевтически приемлемыми солями.

Дополнительное описание соединений указанных выше формул II и ПА и описание процедур и условий взаимодействия для получения данных соединений находится в заявке на выдачу патента США 09/127346 (подана 31 июля 1998 г.), 09/688820 (Продолженная, подана 17 октября 2000, и выдана в виде патента США № 6583139) и 10/382988 (Продолженная, подана 7 марта 2003 г.), причем все они включены сюда полностью в качестве ссылки.

Предпочтительно, в соединениях приведенной выше формулы II и ПА R^{21} выбран из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, арила, замещенного арила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, гетероарила и замещенного гетероарила.

Более предпочтительно, R^{21} выбран из группы, состоящей из арила, замещенного арила, гетероарила и замещенного гетероарила.

Даже более предпочтительно, в соединениях приведенной выше формулы II и III

R^{21} выбран из группы, состоящей из

4-метилфенила, 4-хлорфенила, 1-нафтила, 2-нафтила,
 4-метоксифенила, фенила, 2,4,6-триметилфенила,
 2-(метоксикарбонил)фенила, 2-карбоксифенила, 3,5-дихлорфенила, 4-
 трифторметилфенила, 3,4-дихлорфенила, 3,4-диметоксифенила,
 4-($\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{NH}$ -)фенила, 4-трифторметоксифенила, 4-цианофенила,
 3,5-ди(трифторметил)фенила, 4-трет-бутилфенила,
 4-трет-бутоксифенила, 4-нитрофенила, 2-тиенила,
 1-N-метил-3-метил-5-хлорпиразол-4-ила, 1-N-метилимидазол-4-ила, 4-
 бромфенила, 4-амидинофенила, 4-метиламидинофенила,
 4- $[\text{CH}_3\text{SC}(=\text{NH})]$ фенила, 5-хлор-2-тиенила, 2,5-дихлор-4-тиенила,
 1-N-метил-4-пиразолила, 2-тиазолила,
 5-метил-1,3,4-тиадиазол-2-ила, 4- $[\text{H}_2\text{NC}(\text{S})]$ фенила, 4-аминофенила, 4-фторфенила,
 2-фторфенила, 3-фторфенила, 3,5-дифторфенила, пиридин-3-ила, пиримидин-2-ила,
 4-(3'-диметиламино-н-пропокси)фенила и 1-метилпиразол-4-ила.

Предпочтительно, R^{22} в соединениях приведенной выше формулы II и III представляет собой водород, метил, фенил, бензил, $-(\text{CH}_2)_2$ -2-тиенил и $-(\text{CH}_2)_2$ -ф.

В другом предпочтительном осуществлении R^{22} и R^{23} в соединениях приведенной выше формулы II и III, и R^{32} и R^{33} , в соединениях формулы IV, вместе с атомом азота, связанным с R^{22} или R^{32} , и атомом углерода, связанным с R^{23} или R^{33} , образуют насыщенную гетероциклическую группу или насыщенную замещенную гетероциклическую группу с тем условием, что когда указанная насыщенная гетероциклическая группа является монозамещенной, ее заместитель не представляет собой карбоксил.

Q в соединениях приведенной выше формулы II и III предпочтительно представляет собой $-\text{C}(\text{O})\text{NH}$ - или $-\text{C}(\text{S})\text{NH}$ -.

В соединениях приведенной выше формулы II и III R^{25} предпочтительно выбран из группы, состоящей из всех возможных изомеров, возникающих путем замещения следующими группами:

4-(2-карбоксифенокси)бензил, 4-(бензилокси)бензил,
 4-[(1-метилпиперидин-4-ил)-O-]бензил,
 4-(имидазолид-2-он-1-ил)бензил и
 4-(3-формилимидазолид-2-он-1-ил)бензил.

В соединениях формулы III R^{26} предпочтительно представляет собой 2,4-диоксотетрагидрофуран-3-ил-(3,4-енол), метокси, этокси, изопропокси, н-бутокси, трет-бутокси, циклопентокси, нео-пентокси, 2- α -изопропил-4- β -метилциклогексокси,

2- β -изопропил-4- β -метилциклогексокси, $-\text{NH}^2$, бензилокси,
 $-\text{NHCH}_2\text{COOH}$, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$, $-\text{NH}$ -адамантил, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{COOCH}_2\text{CH}_3$,

$-\text{NHSO}_2$ -p- CH_3 -ф, $-\text{NHOR}^8$, где R^8 представляет собой водород, метил, изопропил или бензил, O-(N-сукцинимидил), -O-холест-5-ен-3- β -ил, $-\text{OCH}_2-\text{OC}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_z\text{NHC}(\text{O})\text{W}$, где z представляет собой 1 или 2, и W выбран из группы, состоящей из пирид-3-ила, N-метилпиридила и N-метил-1,4-дигидропирид-3-ила, $-\text{NR}''\text{C}(\text{O})-\text{R}'$, где R' представляет собой арил, гетероарил или гетероцикл, и R'' представляет собой водород или $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_3$.

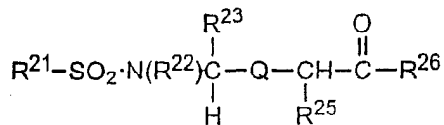
Предпочтительные соединения в пределах объема приведенных выше формул II и ПА включают, например, следующие:

- N-(Толуол-4-сульфонил)-L-пролил-4-(а-метилбензилокси)-L-фенилаланин
 - N-(Толуол-4-сульфонил)-L-пролил-4-(2-карбоксифенокси)-L-фенилаланин
 - N-(Толуол-4-сульфонил)-L-пролил-O-(бензил)-L-тирозин
- и их фармацевтически приемлемые соли.

Предпочтительные соединения приведенной выше формулы II и ПА включают в себя соединения, которые указаны ниже в таблице 4.

10

Таблица 4

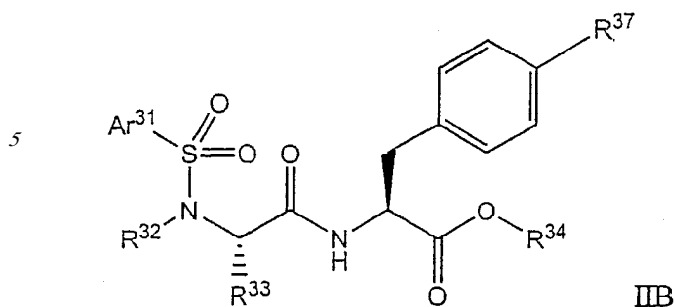


15

R ²¹	R ²²	R ²³	R ²⁵	R ²⁶	Q=C(O)NR ⁷ , где R ⁷ представляет собой
p-CH ₃ -φ	R ²² /R ²³ =цикл, 3 углеродных атома (L-пирролидинил)		p-[O-(о-карбоксифенил)]бензил-	-ОН	H
p-CH ₃ -φ	R ²² /R ²³ =цикл, 3 углеродных атома (L-пирролидинил)		p-бензилоксибензил-	-ОН	H
p-CH ₃ -φ	R ²² /R ²³ =цикл, 3 углеродных атома (L-пирролидинил)		p-[(1-метилпиперидинил-4-ил)-O]-бензил-	-OCH ₂ CH ₃	H
p-CH ₃ -φ	R ²² /R ²³ =цикл, 3 углеродных атома (L-пирролидинил)		p-(имидазолид-2-он-1-ил)бензил-	-OC(CH ₃) ₃	H
p-CH ₃ -φ	R ²² /R ²³ =цикл, 3 углеродных атома (L-пирролидинил)		p-(3-формилимидазолид-2-он-1-ил)бензил-	-ОН	H
p-CH ₃ -φ	R ²² /R ²³ =цикл, 3 углеродных атома (L-пирролидинил)		p-(имидазолид-2-он-1-ил)бензил-	-ОН	H
p-CH ₃ -φ	R ²² /R ²³ =цикл, 3 углеродных атома (L-пирролидинил)		p-[1-Н-2-оксо-3-метилтетрагидропиримидин-1-ил]бензил-	-Ot-Bu	H
p-CH ₃ -φ	R ²² /R ²³ =цикл, 3 углеродных атома (L-пирролидинил)		p-[1-Н-2-оксо-3-метилтетрагидропиримидин-1-ил]бензил-	-ОН	H
p-CH ₃ -φ	R ²² /R ²³ =цикл, 3 углеродных атома (L-пирролидинил)		4-[2-метоксифенил]бензил-	-Ot-Bu	H
p-CH ₃ -φ	R ²² /R ²³ =цикл, 3 углеродных атома (L-пирролидинил)		4-[2-метоксифенил]бензил-	-ОН	H
p-CH ₃ -φ	R ²² /R ²³ =цикл, 3 углеродных атома (L-пирролидинил)		p-[2,4,5-триоксо-3-(3-хлорфенил)тетрагидроимидазол-1-ил]бензил-	-OBz	H

50

В предпочтительном осуществлении соединений формулы II и ПА соединения определены приведенной ниже формулой ПВ:



в которой:

Ar^{31} выбран из группы, состоящей из арила, замещенного арила, гетероарила и замещенного гетероарила;

R^{32} выбран из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, циклоалкила и замещенного циклоалкила, или R^{32} и R^{33} вместе с атомом азота, связанным с R^{32} , и атомом углерода, связанным с R^{33} , образуют гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу;

R^{33} выбран из группы, состоящей из водорода, алкила и замещенного алкила, или R^{32} и R^{33} вместе с атомом азота, связанным с R^{32} , и атомом углерода, связанным с R^{33} , образуют гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу;

R^{34} выбран из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, арила и замещенного арила; и

R^{37} представляет собой арил, гетероарил, замещенный арил, замещенный гетероарил, гетероцикл, замещенный гетероцикл, арилокси, замещенный арилокси, аралкокси, замещенный аралкокси, гетероарилокси, замещенный гетероарилокси; и их фармацевтически приемлемыми солями.

Предпочтительно в соединениях приведенной выше формулы IVB R^{32} представляет собой алкил, замещенный алкил, или R^{32} и R^{33} вместе с атомом азота, связанным с R^{32} , и атомом углерода, связанным с R^{33} , образуют гетероциклическую или замещенную гетероциклическую группу, и R^{34} представляет собой водород или алкил.

Предпочтительно в соединениях приведенной выше формулы IVB R^{37} представляет собой арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл или замещенный гетероцикл. В предпочтительном осуществлении R^{37} представляет собой замещенный арил, где данный арил замещен заместителями в количестве от одного до трех, которые независимо выбраны из группы, состоящей из алкила и алкокси. В предпочтительном осуществлении R^{37} представляет собой замещенный гетероарил, где данный гетероарил замещен заместителями в количестве от одного до трех, которые независимо выбраны из группы, состоящей из алкила, алкокси и оксогруппы. В другом предпочтительном осуществлении R^{37} представляет собой замещенный арил или гетероарил, где арил или гетероарил является 2,6-дизамещенным. Еще в одном предпочтительном осуществлении R^{37} представляет собой 2,6-дизамещенный арил, в котором заместители независимо выбраны из группы, состоящей из алкила и алкокси. Еще в одном предпочтительном осуществлении R^{37} представляет собой 2,6-дизамещенный гетероарил, в котором заместители независимо выбраны из группы, состоящей из алкила, оксо- и

алкоксигрупп. В другом предпочтительном осуществлении R³⁷ выбран из группы, состоящей из 2,6-диалкоксиарила, 2,6-диалкоксигетероарила, 2-алкил-6-алкоксиарила, 2-алкил-6-алкоксигетероарила, 2-оксо-6-алкоксигетероарила, 2-оксо-6-алкилгетероарила и необязательно замещенного имидазолидин-2,4-дион-3-ила.

Предпочтительно в соединениях приведенной выше формулы ПВ Ar³¹ выбран из группы, состоящей из 4-метилфенила, 4-хлорфенила, 1-нафтила, 2-нафтила, 4-метоксифенила, фенила,

2,4,6-триметилфенила, 2-(метоксикарбонил)фенила, 2-карбоксифенила, 3,5-дихлорфенила, 4-трифторметилфенила, 3,4-дихлорфенила, 3,4-диметоксифенила, 4-(CH₃C(O)NH-)фенила, 4-трифторметоксифенила, 4-цианофенила, 3,5-ди(трифторметил)фенила, 4-трет-бутилфенила, 4-трет-бутоксифенила, 4-нитрофенила, 2-тиенила, 1-N-метил-3-метил-5-хлорпиразол-4-ила, 1-N-метилимидазол-4-ила, 4-бромфенила, 4-амидинофенила, 4-метиламидинофенила, 4-[CH₃SC(=NH)]фенила, 5-хлор-2-тиенила, 2,5-дихлор-4-тиенила, 1-N-метил-4-пиразолила, 2-тиазолила, 5-метил-1,3,4-тиадиазол-2-ила, 4-[H₂NC(S)]фенила, 4-аминофенила, 4-фторфенила, 2-фторфенила, 3-фторфенила, 3,5-дифторфенила, пиридин-3-ила, пиримидин-2-ила, 4-(3'-диметиламино-н-пропокси)фенила и 1-метилпиразол-4-ила.

При описании соединений, композиций и способов по изобретению следующие термины имеют следующее значение, кроме указанных иначе случаев.

Определения

Используемый здесь термин «ацил» относится к группам

H-C(O)-, алкил-C(O)-, замещенной алкил-C(O)-, алкенил-C(O)-, замещенной алкенил-C(O)-, алкинил-C(O)-, замещенной алкинил-C(O)-, циклоалкил-C(O)-, замещенной циклоалкил-C(O)-,

арил-C(O)-, замещенной арил-C(O)-, гетероарил-C(O)-, замещенной гетероарил-C(O), гетероцикл-C(O)- и замещенной гетероцикл-C(O)-, где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл соответствуют данному здесь определению.

«Ациламино» относится к группе -C(O)NRR, где каждый R независимо выбран из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, арила, замещенного арила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, и где каждый R объединен с образованием вместе с атомом азота гетероциклического или замещенного гетероциклического кольца, где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл соответствуют данному здесь определению.

«Ацилокси» относится к группам алкил-C(O)O-, замещенной алкил-C(O)O-, алкенил-C(O)O-, замещенной алкенил-C(O)O-, алкинил-C(O)O-, замещенной алкинил-C(O)O-, арил-C(O)O-, замещенной арил-C(O)O-, циклоалкил-C(O)O-,

замещенной циклоалкил-С(О)О-, гетероарил-С(О)О-, замещенной гетероарил-С(О)О-, гетероцикл-С(О)О- и замещенной гетероцикл-С(О)О-, где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл соответствуют данному здесь определению.

«Алкенокси» относится к группе «алкенил-О-».

«Замещенный алкенокси» относится к группе «замещенный алкенил-О-».

«Алкенил» относится к алкенильной группе, предпочтительно, имеющей от 2 до 10 углеродных атомов и, более предпочтительно, от 2 до 6 углеродных атомов, и имеющей, по меньшей мере, 1 и, предпочтительно, от 1-2 участков алкенильной ненасыщенности.

«Замещенный алкенил» относится к алкенильной группе, имеющей от 1 до 5 заместителей, независимо выбранных из группы, состоящей из алкокси, замещенного алкокси, ацила, ациламино, тиокарбониламино, ацилокси, амино, амидино, алкиламидино, тиамидино, аминоацила, аминокарбониламино, аминотиокарбониламино, аминокарбонилокси, арила, замещенного арила, арилокси, замещенного арилокси, арилоксиарила, замещенного арилоксиарила, галогена, гидроксила, циано, нитро, карбоксила, карбоксилалкила, карбоксил-замещенного алкила, карбоксил-циклоалкила, карбоксил-замещенного циклоалкила, карбоксиларила, карбоксил-замещенного арила, карбоксилгетероарила, карбоксил-замещенного гетероарила, карбоксилгетероцикла, карбоксил-замещенного гетероцикла, циклоалкила, замещенного циклоалкила, гуанидино, гуанидиносulfона, тиола, тиаалкила, замещенного тиаалкила, тиаарила, замещенного тиаарила, тиоциклоалкила, замещенного тиоциклоалкила, тиогетероарила, замещенного тиогетероарила, тиогетероцикла, замещенного тиогетероцикла, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, циклоалкокси, замещенного циклоалкокси, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, гетероциклилокси, замещенного гетероциклилокси, оксикарбониламино, окситиокарбониламино, циклоалкилокси, замещенного циклоалкилокси, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, -OS(O)₂-алкила, -OS(O)₂-замещенного алкила, -OS(O)₂-арила, -OS(O)₂-замещенного арила, -OS(O)₂-гетероарила, -OS(O)₂-замещенного гетероарила, -OS(O)₂-гетероцикла, -OS(O)₂-замещенного гетероцикла, -OSO₂-NRR, где R представляет собой водород или алкил, -NRS(O)₂-алкила, -NRS(O)₂-замещенного алкила, -NRS(O)₂-арила, -NRS(O)₂-замещенного арила, -NRS(O)₂-гетероарила, -NRS(O)₂-замещенного гетероарила, -NRS(O)₂-гетероцикла, -NRS(O)₂-замещенного гетероцикла, -NRS(O)₂-NR-алкила, -NRS(O)₂-NR-замещенного алкила, -NRS(O)₂-NR-арила, -NRS(O)₂-NR-замещенного арила, -NRS(O)₂-NR-гетероарила, -NRS(O)₂-NR-замещенного гетероарила, -NRS(O)₂-NR-гетероцикла, -NRS(O)₂-NR-замещенного гетероцикла, где R представляет собой водород или алкил, моно- и диалкиламино, моно- и ди(замещенный алкил)амино, моно- и диариламино, моно- и ди(замещенный арил)амино, моно- и дигетероариламино, моно- и ди(замещенный гетероарил)амино, моно- и дигетероцикламино, моно- и ди(замещенный гетероцикл)амино, несимметричных дизамещенных аминов, имеющих различные заместители, независимо выбранные из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, арила,

замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероциклической, замещенной гетероциклической и замещенной алкенильной групп, имеющих аминокгруппы, блокированные общепринятыми блокирующими группами, такими как Boc, Cbz, формил и тому подобными, или алкенильных/замещенных алкенильных групп, замещенных -SO₂-алкилом, -SO₂-замещенным алкилом, -SO₂-алкенилом, -SO₂-замещенным алкенилом, -SO₂-циклоалкилом, -SO₂-замещенным циклоалкилом, -SO₂-арилом, -SO₂-замещенным арилом, -SO₂-гетероарилом, -SO₂-замещенным гетероарилом, -SO₂-гетероциклом, -SO₂-замещенным гетероциклом и -SO₂NRR, где R представляет собой водород или алкил.

Предпочтительно, заместители независимо выбраны из группы, состоящей из алкокси, замещенного алкокси, ацила, ациламино, ацилокси, амино, замещенного амина, аминаоцила, аминаокарбониламино, аминаокарбонилокси, арила, замещенного арила, арилокси, замещенного арилокси, карбоксила, сложных эфиров карбоксила, циано, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкилокси, замещенного циклоалкилокси, галогена, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, гетероцикла, замещенного гетероцикла, гидроксила, нитро и оксикарбониламино.

«Алкокси» относится к группе «алкил-О-», которая включает в себя, например, метокси, этокси, н-пропокси, изопропокси, н-бутокси, трет-бутокси, втор-бутокси, н-пентокси, н-гексокси, 1,2-диметилбутокси и тому подобное.

«Замещенный алкокси» относится к группе «замещенный алкил-О-».

«Алкил» относится к алкильным группам, предпочтительно, имеющим от 1 до 10 атомов углерода и, более предпочтительно, от 1 до 6 атомов углерода. Примером данного термина служат такие группы, как метил, трет-бутил, н-гептил, октил и тому подобные.

«Замещенный алкил» относится к алкильной группе из 1-10 углеродных атомов, имеющей 1-5 заместителей, независимо выбранных из группы, состоящей из алкокси, замещенного алкокси, ацила, ациламино, тиокарбониламино, ацилокси, амина, амидино, алкилаамидино, тиоамидино, аминаоцила, аминаокарбониламино, аминотиокарбониламино, аминаокарбонилокси, арила, замещенного арила, арилокси, замещенного арилокси, арилоксиарила, замещенного арилоксиарила, циано, галогена, гидроксила, нитро, карбоксила, карбоксилалкила, карбоксил-замещенного алкила, карбоксил-циклоалкила, карбоксил-замещенного циклоалкила, карбоксиларила, карбоксил-замещенного арила, карбоксилгетероарила, карбоксил-замещенного гетероарила, карбоксилгетероцикла, карбоксил-замещенного гетероцикла, циклоалкила, замещенного циклоалкила, гуанидино, гуанидиносурьфона, тиола, тиоалкила, замещенного тиоалкила, тиоарила, замещенного тиоарила, тиоциклоалкила, замещенного тиоциклоалкила, тиогетероарила, замещенного тиогетероарила, тиогетероцикла, замещенного тиогетероцикла, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, циклоалкокси, замещенного циклоалкокси, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, гетероциклилокси, замещенного гетероциклилокси, оксикарбониламино, окситиокарбониламино, циклоалкилокси, замещенного циклоалкилокси, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, -OS(O)₂-алкила, -OS(O)₂-замещенного алкила, -OS(O)₂-арила, -OS(O)₂-замещенного арила, -OS(O)₂-гетероарила, -OS(O)₂-замещенного гетероарила, -OS(O)₂-гетероцикла, -OS(O)₂-замещенного гетероцикла, -OSO₂-NRR, где R представляет собой водород или алкил, -NRS(O)₂-алкила, -NRS(O)₂-замещенного алкила, -NRS(O)₂-арила, -NRS(O)₂-

замещенного арила, $-NRS(O)_2$ -гетероарила, $-NRS(O)_2$ -замещенного гетероарила, $-NRS(O)_2$ -гетероцикла, $-NRS(O)_2$ -замещенного гетероцикла, $-NRS(O)_2$ -NR-алкила, $-NRS(O)_2$ -NR-замещенного алкила, $-NRS(O)_2$ -NR-арила, $-NRS(O)_2$ -NR-замещенного арила, $-NRS(O)_2$ -NR-гетероарила, $-NRS(O)_2$ -NR-замещенного гетероарила, $-NRS(O)_2$ -NR-гетероцикла, $-NRS(O)_2$ -NR-замещенного гетероцикла, где R представляет собой водород или алкил, моно- и диалкиламино, моно- и ди(замещенный алкил)амино, моно- и диариламино, моно- и ди(замещенный арил)амино, моно- и дигетероариламино, моно- и ди(замещенный гетероарил)амино, моно- и дигетероцикламино, моно- и ди(замещенный гетероцикл)амино, несимметричных дизамещенных аминов, имеющих различные заместители, независимо выбранные из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероциклической, замещенной гетероциклической и замещенной алкенильной групп, имеющих аминогруппы, блокированные общепринятыми блокирующими группами, такими как Boc, Cbz, формил и тому подобными, или алкильных/замещенных алкильных групп, замещенных $-SO_2$ -алкилом, $-SO_2$ -замещенным алкилом, $-SO_2$ -алкенилом, $-SO_2$ -замещенным алкенилом, $-SO_2$ -циклоалкилом, $-SO_2$ -замещенным циклоалкилом, $-SO_2$ -арилом, $-SO_2$ -замещенным арилом, $-SO_2$ -гетероарилом, $-SO_2$ -замещенным гетероарилом, $-SO_2$ -гетероциклом, $-SO_2$ -замещенным гетероциклом и $-SO_2NRR$, где R представляет собой водород или алкил.

Предпочтительно, заместители независимо выбраны из группы, состоящей из алкокси, замещенного алкокси, ацила, ациламино, ацилокси, амина, замещенного амина, аминацила, аминокарбониламино, аминокарбонилокси, арила, замещенного арила, арилокси, замещенного арилокси, карбоксила, сложных эфиров карбоксила, циано, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкилокси, замещенного циклоалкилокси, галогена, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, гетероцикла, замещенного гетероцикла, гидроксила, нитро и оксикарбониламино.

«Алкилен» относится к линейным и разветвленным дивалентным алкильным группам, имеющим от 1 до 10 углеродных атомов и, более предпочтительно, от 1 до 6 углеродных атомов. Примером данного термина служат такие группы, как метилен ($-CH_2-$), 1,6-гептилен, 1,8-октилен, этилен ($-CH_2CH_2-$), изомеры пропилена (например, $-CH_2CH_2CH_2-$ и $-CH(CH_3)CH_2-$) и тому подобное.

«Замещенный алкилен» относится к группам, имеющим от 1 до 5 заместителей, независимо выбранных из группы, состоящей из алкокси, замещенного алкокси, ацила, ациламино, тиокарбониламино, ацилокси, амина, амидино, алкиламидино, тиоамидино, аминацила, аминокарбониламино, аминотиокарбониламино, аминокарбонилокси, арила, замещенного арила, арилокси, замещенного арилокси, арилоксиарила, замещенного арилоксиарила, галогена, гидроксила, циано, нитро, карбоксила, карбоксилалкила, карбоксил-замещенного алкила, карбоксил-циклоалкила, карбоксил-замещенного циклоалкила, карбоксиларила, карбоксил-замещенного арила, карбоксилгетероарила, карбоксил-замещенного гетероарила, карбоксилгетероцикла, карбоксил-замещенного гетероцикла, циклоалкила, замещенного циклоалкила, гуанидино, гуанидиносulfона, тиола, тиоалкила, замещенного тиоалкила, тиоарила, замещенного тиоарила, тиоциклоалкила, замещенного тиоциклоалкила, тиогетероарила, замещенного тиогетероарила, тиогетероцикла, замещенного тиогетероцикла, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, циклоалкокси, замещенного

циклоалкокси, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, гетероциклилокси, замещенного гетероциклилокси, оксикарбониламино, окситиокарбониламино, -OS(O)₂-алкила, -OS(O)₂-замещенного алкила, -OS(O)₂-арила, -OS(O)₂-замещенного арила, -OS(O)₂-гетероарила, -OS(O)₂-замещенного гетероарила, -OS(O)₂-гетероцикла, -OS(O)₂-замещенного гетероцикла, -OSO₂-NRR, где R представляет собой водород или алкил, -NRS(O)₂-алкила, -NRS(O)₂-замещенного алкила, -NRS(O)₂-арила, -NRS(O)₂-замещенного арила, -NRS(O)₂-гетероарила, -NRS(O)₂-замещенного гетероарила, -NRS(O)₂-гетероцикла, -NRS(O)₂-замещенного гетероцикла, -NRS(O)₂-NR-алкила, -NRS(O)₂-NR-замещенного алкила, -NRS(O)₂-NR-арила, -NRS(O)₂-NR-замещенного арила, -NRS(O)₂-NR-гетероарила, -NRS(O)₂-NR-замещенного гетероарила, -NRS(O)₂-NR-гетероцикла, -NRS(O)₂-NR-замещенного гетероцикла, где R представляет собой водород или алкил, моно- и диалкиламино, моно- и ди(замещенный алкил)амино, моно- и диариламино, моно- и ди(замещенный арил)амино, моно- и дигетероариламино, моно- и ди(замещенный гетероарил)амино, моно- и дигетероцикламино, моно- и ди(замещенный гетероцикл)амино, несимметричных дизамененных аминов, имеющих различные заместители, независимо выбранные из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероциклической, замещенной гетероциклической и замещенной алкенильной групп, имеющих аминокруппы, блокированные общепринятыми блокирующими группами, такими как Boc, Cbz, формил и тому подобными, или алкенильных/замещенных алкенильных групп, замещенных -SO₂-алкилом, -SO₂-замещенным алкилом, -SO₂-алкенилом, -SO₂-замещенным алкенилом, -SO₂-циклоалкилом, -SO₂-замещенным циклоалкилом, -SO₂-арилом, -SO₂-замещенным арилом, -SO₂-гетероарилом, -SO₂-замещенным гетероарилом, -SO₂-гетероциклом, -SO₂-замещенным гетероциклом и -SO₂NRR, где R представляет собой водород или алкил.

«Алкинил» относится к алкинильной группе, предпочтительно имеющей от 2 до 10 углеродных атомов, и, более предпочтительно, от 3 до 6 углеродных атомов, и имеющей, по меньшей мере, 1 и, предпочтительно, от 1 до 2 участков алкинильного насыщения.

«Замещенный алкинил» относится к алкинильным группам, имеющим от 1 до 5 заместителей, независимо выбранных из группы, состоящей из алкокси, замещенного алкокси, ацила, ациламино, тиокарбониламино, ацилокси, амина, амидино, алкилаамидино, тиоамидино, аминаоцила, аминаокарбониламино, аминотиокарбониламино, аминаокарбонилокси, арила, замещенного арила, арилокси, замещенного арилокси, арилоксиарила, замещенного арилоксиарила, галогена, гидроксила, циано, нитро, карбоксила, карбоксилалкила, карбоксил-замещенного алкила, карбоксил-циклоалкила, карбоксил-замещенного циклоалкила, карбоксиларила, карбоксил-замещенного арила, карбоксилгетероарила, карбоксил-замещенного гетероарила, карбоксилгетероцикла, карбоксил-замещенного гетероцикла, циклоалкила, замещенного циклоалкила, гуанидино, гуанидиносурьфона, тиола, тиоалкила, замещенного тиоалкила, тиоарила, замещенного тиоарила, тиоциклоалкила, замещенного тиоциклоалкила, тиогетероарила, замещенного тиогетероарила, тиогетероцикла, замещенного тиогетероцикла, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, циклоалкокси, замещенного циклоалкокси, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, гетероциклилокси, замещенного гетероциклилокси, оксикарбониламино, окситиокарбониламино, -OS(O)₂-алкила, -OS(O)₂-замещенного

алкила, $-\text{OS}(\text{O})_2$ -арила, $-\text{OS}(\text{O})_2$ -замещенного арила, $-\text{OS}(\text{O})_2$ -гетероарила, $-\text{OS}(\text{O})_2$ -замещенного гетероарила, $-\text{OS}(\text{O})_2$ -гетероцикла, $-\text{OS}(\text{O})_2$ -замещенного гетероцикла, $-\text{OSO}_2$ -NRR, где R представляет собой водород или алкил, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -алкила, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -замещенного алкила, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -арила, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -замещенного арила, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -гетероарила, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -замещенного гетероарила, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -гетероцикла, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -замещенного гетероцикла, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -NR-алкила, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -NR-замещенного алкила, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -NR-арила, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -NR-замещенного арила, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -NR-гетероарила, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -NR-замещенного гетероарила, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -NR-гетероцикла, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -NR-замещенного гетероцикла, где R представляет собой водород или алкил, моно- и диалкиламино, моно- и ди(замещенный алкил)амино, моно- и диариламино, моно- и ди(замещенный арил)амино, моно- и дигетероариламино, моно- и ди(замещенный гетероарил)амино, моно- и дигетероцикламино, моно- и ди(замещенный гетероцикл)амино, несимметричных дизамещенных аминов, имеющих различные заместители, независимо выбранные из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероциклической, замещенной гетероциклической и замещенной алкинильной групп, имеющих аминокгруппы, блокированные общепринятыми блокирующими группами, такими как Boc, Cbz, формил и тому подобными, или алкинильных/замещенных алкинильных групп, замещенных $-\text{SO}_2$ -алкилом, $-\text{SO}_2$ -замещенным алкилом, $-\text{SO}_2$ -алкенилом, $-\text{SO}_2$ -замещенным алкенилом, $-\text{SO}_2$ -циклоалкилом, $-\text{SO}_2$ -замещенным циклоалкилом, $-\text{SO}_2$ -арилом, $-\text{SO}_2$ -замещенным арилом, $-\text{SO}_2$ -гетероарилом, $-\text{SO}_2$ -замещенным гетероарилом, $-\text{SO}_2$ -гетероциклом, $-\text{SO}_2$ -замещенным гетероциклом и $-\text{SO}_2$ NRR, где R представляет собой водород или алкил.

«Амидино» относится к группе $\text{H}_2\text{NC}(=\text{NH})-$, и термин «алкиламидино» относится к соединениям, имеющим от 1 до 3 алкильных групп (например, алкил- $\text{HNC}(=\text{NH})-$).

«Амино» относится к группе $-\text{NH}_2$.

«Замещенная аминокгруппа» относится к группе -NRR, в которой каждая группа R независимо выбрана из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила, алкенила, замещенного алкенила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла и замещенного гетероцикла, при условии того, что обе группы R не представляют собой водород; или где R могут быть объединены с атомом азота с образованием гетероциклического или замещенного гетероциклического кольца.

«Аминоацил» относится к группам -NRC(O)-алкил, -NRC(O)замещенный алкил, -NRC(O)циклоалкил, -NRC(O)замещенный циклоалкил, -NRC(O)алкенил, -NRC(O)замещенный алкенил, -NRC(O)алкинил, -NRC(O)замещенный алкинил, -NRC(O)арил, -NRC(O)замещенный арил, -NRC(O)гетероарил, -NRC(O)замещенный гетероарил, -NRC(O)гетероцикл и -NRC(O)замещенный гетероцикл, где R представляет собой водород или алкил, и где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл соответствуют приведенным выше определениям.

«Аминоккарбониламино» относится к группам -NRC(O)NRR, -NRC(O)NR-алкил, -NRC(O)NR-замещенный алкил, -NRC(O)NR-алкенил, -NRC(O)NR-замещенный алкенил, -NRC(O)NR-алкинил, -NRC(O)NR-замещенный алкинил, -NRC(O)NR-арил, -NRC(O)NR-замещенный арил, -NRC(O)NR-циклоалкил, -NRC(O)NR-

замещенный циклоалкил, -NRC(O)NR-гетероарил и -NRC(O)NR-замещенный гетероарил, -NRC(O)NR-гетероцикл и -NRC(O)NR-замещенный гетероцикл, где каждый R независимо представляет собой водород, алкил, или где каждый R объединен с атомом азота с образованием гетероциклического или замещенного гетероциклического кольца, а также где одна из аминогрупп блокирована общепринятыми блокирующими группами, такими как Вос, Cbz, формил и тому подобными, и где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл соответствуют приведенным выше определениям.

«Аминокарбонилокси» относится к группам -NRC(O)O-алкил, -NRC(O)O-замещенный алкил, -NRC(O)O-алкенил, -NRC(O)O-замещенный алкенил, -NRC(O)O-алкинил, -NRC(O)O-замещенный алкинил, -NRC(O)O-циклоалкил, -NRC(O)O-замещенный циклоалкил, -NRC(O)O-арил, -NRC(O)O-замещенный арил, -NRC(O)O-гетероарил, -NRC(O)O-замещенный гетероарил, -NRC(O)O-гетероцикл и -NRC(O)O-замещенный гетероцикл, где R представляет собой водород или алкил, и где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл соответствуют приведенным выше определениям.

«Аминотиокарбониламино» относится к группам -NRC(S)NRR, -NRC(S)NR-алкил, -NRC(S)NR-замещенный алкил, -NRC(S)NR-алкенил, -NRC(S)NR-замещенный алкенил, -NRC(S)NR-алкинил, -NRC(S)NR-замещенный алкинил, -NRC(S)NR-арил, -NRC(S)NR-замещенный арил, -NRC(S)NR-циклоалкил, -NRC(S)NR-замещенный циклоалкил, -NRC(S)NR-гетероарил и -NRC(S)NR-замещенный гетероарил, -NRC(S)NR-гетероцикл и -NRC(S)NR-замещенный гетероцикл, где каждый R независимо представляет собой водород, алкил, или где каждый R объединен с атомом азота с образованием гетероциклического или замещенного гетероциклического кольца, а также где одна из аминогрупп блокирована общепринятыми блокирующими группами, такими как Вос, Cbz, формил и тому подобными, и где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл соответствуют приведенным выше определениям.

«Арил» относится к ненасыщенной ароматической карбоциклической группе из 6-14 углеродных атомов, имеющей единственное кольцо (например, фенил) или множественные конденсированные кольца (например, нафтил или антрил), причем данные конденсированные кольца могут быть ароматическими или могут не быть таковыми (например, 2-бензоксазолинон, 2H-1,4-бензоксазин-3(4H)-он-7-ил и тому подобное), при обеспечении того, что точка прикрепления представляет собой атом ароматического кольца. Предпочтительные арилы включают в себя фенил, нафтил и 5,6,7,8-тетрагидронафт-2-ил.

«Замещенный арил» относится к арильным группам, которые замещены 1-3 заместителями, выбранными из группы, состоящей из гидроксид, ацила, ациламино, тиокарбониламино, ацилокси, алкила, замещенного алкила, алкокси, замещенного алкокси, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкила, амидино, алкиламидино, тиоамидино, амина, аминацила, аминокарбонилокси, аминокарбониламино, аминотиокарбониламино, арила, замещенного арила,

арилокси, замещенного арилокси, циклоалкокси, замещенного циклоалкокси, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, гетероциклилокси, замещенного гетероциклилокси, карбоксила, карбоксилалкила, карбоксил-замещенного алкила, карбоксил-циклоалкила, карбоксил-замещенного циклоалкила, карбоксиларила, карбоксил-замещенного арила, карбоксилгетероарила, карбоксил-замещенного гетероарила, карбоксилгетероцикла, карбоксил-замещенного гетероцикла, карбоксиламидо, циано, тиола, тиоалкила, замещенного тиоалкила, тиоарила, замещенного тиоарила, тиогетероарила, замещенного тиогетероарила, тиоциклоалкила, замещенного тиоциклоалкила, тиогетероцикла, замещенного тиогетероцикла, циклоалкила, замещенного циклоалкила, гуанидино, гуанидиносulfона, галогена, нитро, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, циклоалкокси, замещенного циклоалкокси, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, гетероциклилокси, замещенного гетероциклилокси, оксикарбониламино, окситиокарбониламино, $-S(O)_2$ -алкила, $-S(O)_2$ -замещенного алкила, $-S(O)_2$ -циклоалкила, $-S(O)_2$ -замещенного циклоалкила, $-S(O)_2$ -алкенила, $-S(O)_2$ -замещенного алкенила, $-S(O)_2$ -арила, $-S(O)_2$ -замещенного арила, $-S(O)_2$ -гетероарила, $-S(O)_2$ -замещенного гетероарила, $-S(O)_2$ -гетероцикла, $-S(O)_2$ -замещенного гетероцикла, $-OS(O)_2$ -алкила, $-OS(O)_2$ -замещенного алкила, $-OS(O)_2$ -арила, $-OS(O)_2$ -замещенного арила, $-OS(O)_2$ -гетероарила, $-OS(O)_2$ -замещенного гетероарила, $-OS(O)_2$ -гетероцикла, $-OS(O)_2$ -замещенного гетероцикла, $-OSO_2-NRR$, где R представляет собой водород или алкил, $-NRS(O)_2$ -алкила, $-NRS(O)_2$ -замещенного алкила, $-NRS(O)_2$ -арила, $-NRS(O)_2$ -замещенного арила, $-NRS(O)_2$ -гетероарила, $-NRS(O)_2$ -замещенного гетероарила, $-NRS(O)_2$ -гетероцикла, $-NRS(O)_2$ -замещенного гетероцикла, $-NRS(O)_2-NR$ -алкила, $-NRS(O)_2-NR$ -замещенного алкила, $-NRS(O)_2-NR$ -арила, $-NRS(O)_2-NR$ -замещенного арила, $-NRS(O)_2-NR$ -гетероарила, $-NRS(O)_2-NR$ -замещенного гетероарила, $-NRS(O)_2-NR$ -гетероцикла, $-NRS(O)_2-NR$ -замещенного гетероцикла, где R представляет собой водород или алкил, моно- и диалкиламино, моно- и ди(замещенный алкил)амино, моно- и диариламино, моно- и ди(замещенный арил)амино, моно- и дигетероариламино, моно- и ди(замещенный гетероарил)амино, моно- и дигетероцикламино, моно- и ди(замещенный гетероцикл)амино, несимметричных дизамещенных аминов, имеющих различные заместители, независимо выбранные из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероциклической, замещенной гетероциклической групп, имеющих аминогруппы на замещенном ариле, блокированные общепринятыми блокирующими группами, такими как Boc, Cbz, формил и тому подобными, или замещенных $-SO_2NRR$, где R представляет собой водород или алкил.

Предпочтительные заместители выбраны из группы, состоящей из гидрокси, ацила, ациламино, ацилокси, алкила, замещенного алкила, алкокси, замещенного алкокси, алкенила, замещенного алкенила, амина, замещенного амина, аминацила, аминакарбонилокси, аминакарбониламино, арила, замещенного арила, арилокси, замещенного арилокси, циклоалкокси, замещенного циклоалкокси, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, гетероциклилокси, замещенного гетероциклилокси, карбоксила, сложных эфиров карбоксила, циано, циклоалкила, замещенного циклоалкила, галогена, нитро, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла, замещенного гетероцикла и оксикарбониламино.

«Арилокси» относится к группе арил-О-, которая включает в себя, например,

фенокси, нафтокси, и тому подобное.

«Замещенный арилокси» относится замещенным арил-О-группам.

«Арилоксиарил» относится к группе -арил-О-арил.

«Замещенный арилоксиарил» относится к арилоксиарильным группам,
 5 замещенным 1-3 заместителями на одном или обоих арильных кольцах, выбранными из группы, состоящей из гидроксигруппы, ацила, ациламино, тиокарбониламино, ацилокси, алкила, замещенного алкила, алкокси, замещенного алкокси, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, амидино, алкиламидино,
 10 тиоамидино, амино, аминоксила, аминоксилокси, аминоксилоксиамино, аминотиокарбониламино, арила, замещенного арила, арилокси, замещенного арилокси, циклоалкокси, замещенного циклоалкокси, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, гетероциклокси, замещенного гетероциклокси, карбоксила, карбоксилалкила, карбоксил-замещенного алкила, карбоксил-циклоалкила,
 15 карбоксил-замещенного циклоалкила, карбоксиларила, карбоксил-замещенного арила, карбоксилгетероарила, карбоксил-замещенного гетероарила, карбоксилгетероцикла, карбоксил-замещенного гетероцикла, карбоксиламино, циано, тиола, тиоалкила, замещенного тиоалкила, тиоарила, замещенного тиоарила,
 20 тиогетероарила, замещенного тиогетероарила, тиоциклоалкила, замещенного тиоциклоалкила, тиогетероцикла, замещенного тиогетероцикла, циклоалкила, замещенного циклоалкила, гуанидино, гуанидиносulfон, галогена, нитро, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, циклоалкокси, замещенного циклоалкокси, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, гетероциклокси, замещенного гетероциклокси,
 25 оксикарбониламино, окситиокарбониламино, $-S(O)_2$ -алкила, $-S(O)_2$ -замещенного алкила, $-S(O)_2$ -циклоалкила, $-S(O)_2$ -замещенного циклоалкила, $-S(O)_2$ -алкенила, $-S(O)_2$ -замещенного алкенила, $-S(O)_2$ -арила, $-S(O)_2$ -замещенного арила, $-S(O)_2$ -гетероарила, $-S(O)_2$ -замещенного гетероарила, $-S(O)_2$ -гетероцикла, $-S(O)_2$ -замещенного гетероцикла, $-OS(O)_2$ -алкила, $-OS(O)_2$ -замещенного алкила, $-OS(O)_2$ -арила, $-OS(O)_2$ -замещенного арила, $-OS(O)_2$ -гетероарила, $-OS(O)_2$ -замещенного гетероарила, $-OS(O)_2$ -гетероцикла, $-OS(O)_2$ -замещенного гетероцикла, $-OSO_2$ -NRR, где R представляет собой водород или алкил, $-NRS(O)_2$ -алкила, $-NRS(O)_2$ -замещенного алкила, $-NRS(O)_2$ -арила, $-NRS(O)_2$ -замещенного арила, $-NRS(O)_2$ -гетероарила, $-NRS(O)_2$ -замещенного гетероарила, $-NRS(O)_2$ -гетероцикла, $-NRS(O)_2$ -замещенного гетероцикла, $-NRS(O)_2$ -NR-алкила, $-NRS(O)_2$ -NR-замещенного алкила, $-NRS(O)_2$ -NR-арила, $-NRS(O)_2$ -NR-замещенного арила, $-NRS(O)_2$ -NR-гетероарила, $-NRS(O)_2$ -NR-замещенного гетероарила, $-NRS(O)_2$ -NR-гетероцикла, $-NRS(O)_2$ -NR-замещенного гетероцикла, где R представляет собой водород или алкил, моно- и диалкиламино, моно- и ди(замещенный алкил)амино, моно- и диариламино, моно- и ди(замещенный арил)амино, моно- и дигетероариламино, моно- и ди(замещенный гетероарил)амино, моно- и дигетероцикламино, моно- и ди(замещенный гетероцикл)амино, несимметричных дизамещенных аминов, имеющих различные заместители, независимо выбранные из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероциклической, замещенной
 50 гетероциклической групп, имеющих аминогруппы на замещенном ариле, блокированные общепринятыми блокирующими группами, такими как Boc, Cbz, формил, и тому подобными, или замещенных $-SO_2$ NRR, где R представляет собой водород или алкил.

«Аралкоксии» относится к аралалкилен-О-группам.

«Замещенный аралкоксии» относится к замещенным аралалкилен-О-группам.

«Карбоксил» относится к группе -COOH и ее фармацевтически приемлемым солям.

5 Термин «сложные эфиры карбоксила» относится к -C(O)O-алкилу, C(O)O- (замещенному алкилу), -C(O)O-алкенилу, -C(O)O-(замещенному алкенилу), -C(O)O-арилу, -C(O)O-(замещенному арилу), -C(O)O-циклоалкилу, -C(O)O-(замещенному циклоалкилу), -C(O)O-гетероарилу, -C(O)O-(замещенному гетероарилу), -C(O)O-гетероциклу и -C(O)O-(замещенному гетероциклу).

10 «Циклоалкенил» относится к циклическим алкенильным группам из 3-8 углеродных атомов, имеющим единственное циклическое кольцо.

«Циклоалкоксии» относится к -О-циклоалкильным группам.

«Замещенный циклоалкоксии» относится к -О-замещенным циклоалкильным группам.

15 «Циклоалкил» относится к циклическим алкильным группам из 3-12 углеродных атомов, имеющим единственное или множественные конденсированные кольца, включающим в себя, например, адамантил, циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклооктил и тому подобное. Предпочтительно, «циклоалкил»
20 относится к циклическим алкильным группам от 3 до 8 углеродных атомов, имеющим единственное циклическое кольцо.

«Замещенный циклоалкил» и «замещенный циклоалкенил» относится к циклоалкильной или циклоалкенильной группе, предпочтительно, из 3-8 углеродных атомов, имеющей от 1 до 5 заместителей, независимо выбранных из группы,
25 состоящей из оксо (=O), тиоксо (=S), алкокси, замещенного алкокси, ацила, ациламино, тиокарбониламино, ацилокси, амино, амидино, алкиламидино, тиоамидино, аминоацила, аминокарбониламино, аминотиокарбониламино, аминокарбонилокси, арила, замещенного арила, арилокси, замещенного арилокси, арилоксиарила, замещенного арилоксиарила, галогена, гидроксила, циано, нитро,
30 карбоксила, карбоксилалкила, карбоксил-замещенного алкила, карбоксил-циклоалкила, карбоксил-замещенного циклоалкила, карбоксиларила, карбоксил-замещенного арила, карбоксилгетероарила, карбоксил-замещенного гетероарила, карбоксилгетероцикла, карбоксил-замещенного гетероцикла, циклоалкила,
35 замещенного циклоалкила, гуанидино, гуанидиносulfона, тиола, тиоалкила, замещенного тиоалкила, тиоарила, замещенного тиоарила, тиоциклоалкила, замещенного тиоциклоалкила, тиогетероарила, замещенного тиогетероарила, тиогетероцикла, замещенного тиогетероцикла, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, циклоалкоксии, замещенного циклоалкоксии, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, гетероциклилокси, замещенного гетероциклилокси, оксикарбониламино, окситиокарбониламино, -OS(O)₂-алкила, -OS(O)₂-замещенного алкила, -OS(O)₂-арила, -OS(O)₂-замещенного арила, -OS(O)₂-гетероарила, -OS(O)₂-замещенного гетероарила, -OS(O)₂-гетероцикла, -OS(O)₂-замещенного гетероцикла, -OSO₂-NRR, где R представляет собой водород или алкил, -NRS(O)₂-алкила, -NRS(O)₂-замещенного алкила, -NRS(O)₂-арила, -NRS(O)₂-замещенного арила, -NRS(O)₂-гетероарила, -NRS(O)₂-замещенного гетероарила, -NRS(O)₂-гетероцикла, -NRS(O)₂-замещенного гетероцикла, -NRS(O)₂-NR-алкила, -NRS(O)₂-NR-замещенного алкила, -NRS(O)₂-NR-арила, -NRS(O)₂-NR-замещенного арила, -NRS(O)₂-NR-гетероарила, -NRS(O)₂-NR-замещенного гетероарила, -NRS(O)₂-NR-гетероцикла, -NRS(O)₂-NR-замещенного гетероцикла, где R представляет собой водород или алкил, моно- и диалкиламино,

моно- и ди(замещенный алкил)амино, моно- и диариламино, моно- и ди(замещенный арил)амино, моно- и дигетероариламино, моно- и ди(замещенный гетероарил)амино, моно- и дигетероцикламино, моно- и ди(замещенный гетероцикл)амино, несимметричных дизамещенных аминов, имеющих различные заместители, независимо выбранные из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероциклической, замещенной гетероциклической и замещенной алкинильной групп, имеющих аминокгруппы, блокированные общепринятыми блокирующими группами, такими как Boc, Cbz, формил и тому подобными, или алкинильных/замещенных алкинильных групп, замещенных -SO₂-алкилом, -SO₂-замещенным алкилом, -SO₂-алкенилом, -SO₂-замещенным алкенилом, -SO₂-циклоалкилом, -SO₂-замещенным циклоалкилом, -SO₂-арилом, -SO₂-замещенным арилом, -SO₂-гетероарилом, -SO₂-замещенным гетероарилом, -SO₂-гетероциклом, -SO₂-замещенным гетероциклом и -SO₂NRR, где R представляет собой водород или алкил.

Предпочтительные заместители выбраны из группы, состоящей из оксо (=O), тиоксо (=S), алкокси, замещенного алкокси, ацила, ациламино, ацилокси, амино, замещенного амино, аминокцила, аминоккарбониламино, аминоккарбонилокси, арила, замещенного арила, арилокси, замещенного арилокси, карбоксила, сложных эфиров карбоксила, циано, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкилокси, замещенного циклоалкилокси, галогена, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, гетероцикла, замещенного гетероцикла, гидроксидила, нитро и оксикарбониламино.

«Гуанидино» относится к группам -NRC(=NR)NRR, -NRC(=NR)NR-алкила, -NRC(=NR)NR-замещенного алкила, -NRC(=NR)NR-алкенила, -NRC(=NR)NR-замещенного алкенила, -NRC(=NR)NR-алкинила, -NRC(=NR)NR-замещенного алкинила, -NRC(=NR)NR-арила, -NRC(=NR)NR-замещенного арила, -NRC(=NR)NR-циклоалкила, -NRC(=NR)NR-гетероарила, -NRC(=NR)NR-замещенного гетероарила, -NRC(=NR)NR-гетероцикла и -NRC(=NR)NR-замещенного гетероцикла, где каждый R независимо представляет собой водород или алкил, а также где одна из аминокгрупп блокирована общепринятыми блокирующими группами, такими как Boc, Cbz, формил и тому подобными, и где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл соответствуют приведенным выше определениям.

«Гуанидиносальфон» относится к группам -NRC(=NR)NRSO₂-алкил, -NRC(=NR)NRSO₂-замещенный алкил, -NRC(=NR)NRSO₂-алкенил, -NRC(=NR)NRSO₂-замещенный алкенил, -NRC(=NR)NRSO₂-алкинил, -NRC(=NR)NRSO₂-замещенный алкинил, -NRC(=NR)NRSO₂-арил, -NRC(=NR)NRSO₂-замещенный арил, -NRC(=NR)NRSO₂-циклоалкил, -NRC(=NR)NRSO₂-замещенный циклоалкил, -NRC(=NR)NRSO₂-гетероарил, и -NRC(=NR)NRSO₂-замещенный гетероарил, -NRC(=NR)NRSO₂-гетероцикл, и -NRC(=NR)NRSO₂-замещенный гетероцикл, где каждый R независимо представляет собой водород и алкил, и где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл соответствуют приведенным выше определениям.

«Галоген» относится к фтору, хлору, бром и иоду и предпочтительно

представляет собой фтор, хлор или бром.

«Гетероарил» относится к ароматической карбоциклической группе из 2-10 углеродных атомов и 1-4 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из кислорода, азота и серы внутри кольца или их оксидов. Такие гетероарильные группы могут иметь одно кольцо (например, пиридил или фурил) или множественные конденсированные кольца (например, индолизинил или бензотиенил), в которых одно или несколько конденсированных колец могут быть ароматическими или не быть таковыми при обеспечении того, что точка прикрепления представляет собой атом ароматического кольца. Кроме того, гетероатомы гетероарильной группы могут быть окислены, т.е. образовывать пиридин-N-оксиды или 1,1-диоксо-1,2,5-тиадиазолы и тому подобное. Кроме того, углеродные атомы кольца могут быть замещены оксогруппой (=O).

Предпочтительные гетероарилы включают в себя пиридил, пирролил, индолил, фурил, пиридазинил, пиримидинил, пиразинил, 1-оксо-1,2,5-тиадиазолил и 1,1-диоксо-1,2,5-тиадиазолил.

«Замещенный гетероарил» относится к гетероарильным группам, которые замещены 1-3 заместителями, выбранными из группы, состоящей из гидроксидной, ацил-, ациламино-, тиокарбониламино-, ацилокси-, алкил-, замещенного алкил-, алкокси-, замещенного алкокси-, алкенил-, замещенного алкенил-, алкинил-, замещенного алкил-, амидино-, алкиламидино-, тиамидино-, амино-, аминацил-, аминокарбонил-, аминокарбониламино-, аминотиокарбониламино-, арила-, замещенного арила-, арилокси-, замещенного арилокси-, циклоалкокси-, замещенного циклоалкокси-, гетероарилокси-, замещенного гетероарилокси-, гетероциклилокси-, замещенного гетероциклилокси-, карбоксила-, карбоксилалкила-, карбоксил-замещенного алкила-, карбоксил-циклоалкила-, карбоксил-замещенного циклоалкила-, карбоксиларила-, карбоксил-замещенного арила-, карбоксилгетероарила-, карбоксил-замещенного гетероарила-, карбоксилгетероцикла-, карбоксил-замещенного гетероцикла-, карбоксиламидо-, циано-, тиола-, тиоалкила-, замещенного тиоалкила-, тиоарила-, замещенного тиоарила-, тиогетероарила-, замещенного тиогетероарила-, тиоциклоалкила-, замещенного тиоциклоалкила-, тиогетероцикла-, замещенного тиогетероцикла-, циклоалкила-, замещенного циклоалкила-, гуанидино-, гуанидиносulfона-, галогена-, нитро-, гетероарила-, замещенного гетероарила-, гетероцикла-, замещенного гетероцикла-, циклоалкокси-, замещенного циклоалкокси-, гетероарилокси-, замещенного гетероарилокси-, гетероциклилокси-, замещенного гетероциклилокси-, оксикарбониламино-, окситиокарбониламино-, -S(O)₂-алкила-, -S(O)₂-замещенного алкила-, -S(O)₂-циклоалкила-, -S(O)₂-замещенного циклоалкила-, -S(O)₂-алкенила-, -S(O)₂-замещенного алкенила-, -S(O)₂-арила-, -S(O)₂-замещенного арила-, -S(O)₂-гетероарила-, -S(O)₂-замещенного гетероарила-, -S(O)₂-гетероцикла-, -S(O)₂-замещенного гетероцикла-, -OS(O)₂-алкила-, -OS(O)₂-замещенного алкила-, -OS(O)₂-арила-, -OS(O)₂-замещенного арила-, -OS(O)₂-гетероарила-, -OS(O)₂-замещенного гетероарила-, -OS(O)₂-гетероцикла-, -OS(O)₂-замещенного гетероцикла-, -OSO₂-NRR, где R представляет собой водород или алкил, -NRS(O)₂-алкила-, -NRS(O)₂-замещенного алкила-, -NRS(O)₂-арила-, -NRS(O)₂-замещенного арила-, -NRS(O)₂-гетероарила-, -NRS(O)₂-замещенного гетероарила-, -NRS(O)₂-гетероцикла-, -NRS(O)₂-замещенного гетероцикла-, -NRS(O)₂-NR-алкила-, -NRS(O)₂-NR-замещенного алкила-, -NRS(O)₂-NR-арила-, -NRS(O)₂-NR-замещенного арила-, -NRS(O)₂-NR-гетероарила-, -NRS(O)₂-NR-замещенного гетероарила-, -NRS(O)₂-NR-гетероцикла-, -NRS(O)₂-NR-замещенного гетероцикла-, где R представляет собой

водород или алкил, моно- и диалкиламино, моно- и ди(замещенный алкил)амино, моно- и диариламино, моно- и ди(замещенный арил)амино, моно- и дигетероариламино, моно- и ди(замещенный гетероарил)амино, моно- и дигетероцикламино, моно- и ди(замещенный гетероцикл)амино, несимметричных
 5 дизамещенных аминов, имеющих различные заместители, независимо выбранные из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероциклической, замещенной гетероциклической групп, имеющих аминогруппы на замещенном ариле,
 10 блокированные общепринятыми блокирующими группами, такими как Boc, Cbz, формил и тому подобными, или замещенных $-SO_2NRR$, где R представляет собой водород или алкил.

Предпочтительные заместители выбраны из группы, состоящей из заместителей, определенных выше как предпочтительные для замещенного арила.

15 «Гетероарилокси» относится к группе -O-гетероарил, и «замещенный гетероарилокси» относится к группе -O-(замещенный гетероарил).

«Гетероаралкоккси» относится к группе гетероарил-алкилен-O-.

20 «Замещенный гетероаралкоккси» относится к группе замещенный гетероарил-алкилен-O-.

«Гетероцикл» или «гетероциклический» относится к насыщенной или ненасыщенной группе, имеющей единственное кольцо или множественные конденсированные кольца, состоящие из 1-10 углеродных атомов и 1-4 гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из азота, серы или кислорода в
 25 составе кольца, где в системе конденсированных колец одно или несколько колец могут представляться собой арил или гетероарил.

«Замещенный гетероцикл» относится к гетероциклическим группам, которые замещены 1-3 заместителями, выбранными из группы, состоящей из оксо (=O),
 30 тиоксо (=S), алкоккси, замещенного алкоккси, ацила, ациламино, тиокарбониламино, ацилокси, амино, амидино, алкилаמידино, тиоамидино, аминоацила, аминокрбониламино, аминотиокарбониламино, аминокрбонилокси, арила, замещенного арила, арилокси, замещенного арилокси, арилоксиарила, замещенного арилоксиарила, галогена, гидроксила, циано, нитро, карбоксила, карбоксилалкила,
 35 карбоксил-замещенного алкила, карбоксилциклоалкила, карбоксил-замещенного циклоалкила, карбоксиларила, карбоксил-замещенного арила, карбоксилгетероарила, карбоксил-замещенного гетероарила, карбоксилгетероцикла, карбоксил-замещенного гетероцикла, циклоалкила, замещенного циклоалкила, гуанидино, гуанидиносulfона, тиола, тиоалкила,
 40 замещенного тиоалкила, тиоарила, замещенного тиоарила, тиоциклоалкила, замещенного тиоциклоалкила, тиогетероарила, замещенного тиогетероарила, тиогетероцикла, замещенного тиогетероцикла, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, циклоалкоккси, замещенного циклоалкоккси, гетероарилокси, замещенного гетероарилокси, -C(O)O-арила, -C(O)O-замещенного арила, гетероциклилокси, замещенного гетероциклилокси, оксикарбониламино, окситиокарбониламино, -OS(O)₂-алкила, -OS(O)₂-замещенного алкила, -OS(O)₂-арила, -OS(O)₂-замещенного арила, -OS(O)₂-гетероарила, -OS(O)₂-замещенного гетероарила, -OS(O)₂-гетероцикла, -OS(O)₂-замещенного гетероцикла, -OSO₂-NRR, где R представляет собой водород или алкил, -NRS(O)₂-алкила, -NRS(O)₂-замещенного алкила, -NRS(O)₂-арила, -NRS(O)₂-замещенного арила, -NRS(O)₂-гетероарила, -NRS(O)₂-замещенного гетероарила, -NRS(O)₂-

гетероцикла, $-NRS(O)_2$ -замещенного гетероцикла, $-NRS(O)_2$ -NR-алкила, $-NRS(O)_2$ -NR-замещенного алкила, $-NRS(O)_2$ -NR-арила, $-NRS(O)_2$ -NR-замещенного арила, $-NRS(O)_2$ -NR-гетероарила, $-NRS(O)_2$ -NR-замещенного гетероарила, $-NRS(O)_2$ -NR-гетероцикла, $-NRS(O)_2$ -NR-замещенного гетероцикла, где R представляет собой водород или алкил, моно- и диалкиламино, моно- и ди(замещенный алкил)амино, моно- и диариламино, моно- и ди(замещенный арил)амино, моно- и дигетероариламино, моно- и ди(замещенный гетероарил)амино, моно- и дигетероцикламино, моно- и ди(замещенный гетероцикл)амино, несимметричных дизамещенных аминов, имеющих различные заместители, независимо выбранные из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, арила, замещенного арила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероциклической, замещенной гетероциклической и замещенной алкинильной групп, имеющих аминокгруппы, блокированные общепринятыми блокирующими группами, такими как Boc, Cbz, формил и тому подобными, или алкинильных/замещенных алкинильных групп, замещенных $-SO_2$ -алкилом, $-SO_2$ -замещенным алкилом, $-SO_2$ -алкенилом, $-SO_2$ -замещенным алкенилом, $-SO_2$ -циклоалкилом, $-SO_2$ -замещенным циклоалкилом, $-SO_2$ -арилом, $-SO_2$ -замещенным арилом, $-SO_2$ -гетероарилом, $-SO_2$ -замещенным гетероарилом, $-SO_2$ -гетероциклом, $-SO_2$ -замещенным гетероциклом и $-SO_2NRR$, где R представляет собой водород или алкил.

Предпочтительные заместители выбраны из группы, состоящей из предпочтительных заместителей, определенных для замещенного циклоалкила.

Примеры гетероциклов и гетероарилов включают в качестве неограничивающих примеров азетидин, пиррол, имидазол, пиразол, пиридин, пиразин, пиримидин, пиридазин, индолизин, изоиндол, индол, дигидроиндол, индазол, пурин, хинолизин, изохинолин, хинолин, фталазин, нафтилпиридин, хиноксалин, хиназолин, циннолин, птеридин, карбазол, карболин, фенантридин, акридин, фенантролин, изотиазол, феназин, изоксазол, феноксазин, фенотиазин, имидазолидин, имидазолин, пиперидин, пиперазин, индолин, фталимид, 1,2,3,4-тетрагидроизохинолин, 4,5,6,7-тетрагидробензо[b]тиофен, тиазол, тиазолидин, тиофен, бензо[b]тиофен, морфолино, морфолинил, тиоморфолино, тиоморфолинил (также обозначаемый как тиаморфолинил), пиперидинил, пирролидин, тетрагидрофуранил и тому подобное.

«Гетероциклилокси» относится к группе -O-гетероцикл, и «замещенный гетероциклилокси» относится к группе -O-(замещенный гетероцикл).

«N,N-Диметилкарбамилокси» относится к группе $-OC(O)N(CH_3)_2$.

«Охо» относится к $(=O)$.

«Оксиалкилен» относится к $-OCH_2CHR^d$, где R^d представляет собой алкил.

«Оксикарбониламино» относится к группам $-OC(O)NH_2$, $-OC(O)NRR$, $-OC(O)NR$ -алкил, $-OC(O)NR$ -замещенный алкил, $-OC(O)NR$ -алкенил, $-OC(O)NR$ -замещенный алкенил, $-OC(O)NR$ -алкинил, $-OC(O)NR$ -замещенный алкинил, $-OC(O)NR$ -циклоалкил, $-OC(O)NR$ -замещенный циклоалкил, $-OC(O)NR$ -арил, $-OC(O)NR$ -замещенный арил, $-OC(O)NR$ -гетероарил, $-OC(O)NR$ -замещенный гетероарил, $-OC(O)NR$ -гетероцикл и $-OC(O)NR$ -замещенный гетероцикл, где R представляет собой водород, алкил, или где каждый R объединен с атомом азота с образованием гетероциклического или замещенного гетероциклического кольца, и где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл соответствуют приведенным выше определениям.

«Окситиокарбониламино» относится к группам $-\text{OC}(\text{S})\text{NH}_2$, $-\text{OC}(\text{S})\text{NRR}$, $-\text{OC}(\text{S})\text{NR}$ -алкил, $-\text{OC}(\text{S})\text{NR}$ -замещенный алкил, $-\text{OC}(\text{S})\text{NR}$ -алкенил, $-\text{OC}(\text{S})\text{NR}$ -замещенный алкенил, $-\text{OC}(\text{S})\text{NR}$ -алкинил, $-\text{OC}(\text{S})\text{NR}$ -замещенный алкинил, $-\text{OC}(\text{S})\text{NR}$ -циклоалкил, $-\text{OC}(\text{S})\text{NR}$ -замещенный циклоалкил, $-\text{OC}(\text{S})\text{NR}$ -арил, $-\text{OC}(\text{S})\text{NR}$ -замещенный арил, $-\text{OC}(\text{S})\text{NR}$ -гетероарил, $-\text{OC}(\text{S})\text{NR}$ -замещенный гетероарил, $-\text{OC}(\text{S})\text{NR}$ -гетероцикл, и $-\text{OC}(\text{S})\text{NR}$ -замещенный гетероцикл, где R представляет собой водород, алкил, или где каждый R объединен с атомом азота с образованием гетероциклического или замещенного гетероциклического кольца, и где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл соответствуют приведенным выше определениям.

«Тиоалкил» относится к группам $-\text{S}$ -алкил.

«Замещенный тиоалкил» к группе $-\text{S}$ -(замещенный алкил).

«Тиоамидино» относится к группе $\text{RSC}(\text{=NH})-$, где R представляет собой водород или алкил.

«Тиоарил» относится к группе $-\text{S}$ -арил, и «замещенный тиоарил» относится к группе $-\text{S}$ -(замещенный арил).

«Тиокарбониламино» относится к группе $-\text{C}(\text{S})\text{NRR}$, где каждый R выбран из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила, алкенила, замещенного алкенила, алкинила, замещенного алкинила, арила, замещенного арила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, гетероарила, замещенного гетероарила, гетероцикла, замещенного гетероцикла, или где каждый R объединен с образованием вместе с атомом азота гетероциклического или замещенного гетероциклического кольца, где алкил, замещенный алкил, алкенил, замещенный алкенил, алкинил, замещенный алкинил, циклоалкил, замещенный циклоалкил, арил, замещенный арил, гетероарил, замещенный гетероарил, гетероцикл и замещенный гетероцикл соответствуют приведенным выше определениям.

«Тиоциклоалкил» относится к группам $-\text{S}$ -циклоалкил.

«Замещенный тиоциклоалкил» относится к группе $-\text{S}$ -(замещенный циклоалкил).

«Тиогетероарил» относится к группе $-\text{S}$ -гетероарил, и «замещенный тиогетероарил» относится к группе $-\text{S}$ -(замещенный гетероарил).

«Тиогетероцикл» относится к группе $-\text{S}$ -гетероцикл, и «замещенный тиогетероцикл» относится к группе $-\text{S}$ -(замещенный гетероцикл).

«Тиол» относится к группе $-\text{SH}$.

«Необязательно замещенный» означает, что указанная группа может быть незамещенной, или указанная группа может быть замещенной.

«Фармацевтически приемлемая соль» относится к солям, которые сохраняют биологическую эффективность и свойства соединений по изобретению, и которые не являются неприемлемыми с точки зрения биологии или с другой точки зрения. Во многих случаях соединения по изобретению способны образовывать кислотные и/или основные соли за счет наличия amino- и/или карбоксильных групп или сходных с ними групп.

Фармацевтически приемлемые основно-аддитивные соли могут быть получены из неорганических и органических оснований. Соли, происходящие из неорганических оснований, включают, исключительно для примера, соли натрия, калия, лития, аммония, кальция и магния. Соли, происходящие из органических оснований, включают в себя в качестве неограничивающих примеров соли первичных,

вторичных и третичных аминов, таких как алкиламины, диалкиламины, триалкиламины, замещенные алкиламины, ди(замещенный алкил)амины, три(замещенный алкил)амины, алкениламины, диалкениламины, триалкениламины, замещенные алкениламины, ди(замещенный алкенил)амины, три(замещенный алкенил)амины, циклоалкиламины, ди(циклоалкил)амины, три(циклоалкил)амины, замещенные циклоалкиламины, ди(замещенный циклоалкил)амин, три(замещенный циклоалкил)амины, циклоалкениламины, ди(циклоалкенил)амины, три(циклоалкенил)амины, замещенные циклоалкениламины, ди(замещенный циклоалкенил)амин, три(замещенный циклоалкенил)амины, ариламины, диариламины, триариламины, гетероариламины, дигетероариламины, тригетероариламины, гетероцикламины, дигетероцикламины, тригетероцикламины, смешанные ди- и триамины, в которых, по меньшей мере, два заместителя на амине различны и выбраны из группы, состоящей из алкила, замещенного алкила, алкенила, замещенного алкенила, циклоалкила, замещенного циклоалкила, циклоалкенила, замещенного циклоалкенила, арила, гетероарила, гетероцикла и тому подобного. Также включены амины, в которых два или три заместителя, вместе с азотом амина, образуют гетероциклическую или гетероарильную группу.

Примеры подходящих аминов включают в себя, исключительно для примера, изопропиламин, триметиламин, диэтиламин, три(изопропил)амин, три(н-пропил)амин, этаноламин, 2-диметиламиноэтанол, трометамин, лизин, аргинин, гистидин, кофеин, прокаин, гидрабамин, холин, бетаин, этилендиамин, глюкозамин, N-алкилглюкамины, теобромин, пурины, пиперазин, пиперидин, морфолин, N-этилпиперидин и тому подобное. Также следует понимать, что другие производные карбоновой кислоты могут использоваться при воплощении данного изобретения, например, амиды карбоновой кислоты, включая карбоксамиды, низшие алкилкарбоксамиды, диалкилкарбоксамиды и тому подобное.

Фармацевтически приемлемые кислотнo-аддитивные соли могут быть получены из неорганических и органических кислот. Соли, происходящие из неорганических кислот, включают в себя соли соляной кислоты, бромоводородной кислоты, серной кислоты, азотной кислоты, фосфорной кислоты и подобные им. Соли, происходящие от органических кислот, включают в себя соли уксусной кислоты, пропионовой кислоты, гликолевой кислоты, пировиноградной кислоты, щавелевой кислоты, яблочной кислоты, малоновой кислоты, янтарной кислоты, малеиновой кислоты, фумаровой кислоты, винной кислоты, лимонной кислоты, бензойной кислоты, коричной кислоты, миндальной кислоты, метансульфоновой кислоты, этансульфоновой кислоты, п-толуолсульфоновой кислоты, салициловой кислоты и тому подобное.

Термин «фармацевтически приемлемый катион» относится катиону фармацевтически приемлемой соли.

Получение соединений

Соединения по изобретению могут быть получены из легко доступных исходных материалов с использованием следующих обычных способов и процедур. Следует понимать, что там, где даны типичные или предпочтительные условия процесса (т.е. температуры взаимодействия, периоды времени, молярные отношения, реагенты, растворители, величины давления и т.д.), могут также использоваться другие условия процесса, кроме специально указанных случаев. Оптимальные условия взаимодействия могут меняться с конкретными используемыми реагентами или растворителем, но такие условия могут определяться специалистом в данной области

путем рутинных процедур оптимизации.

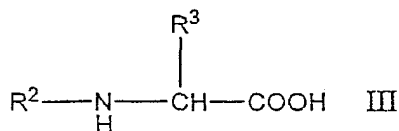
Кроме того, как будет ясно специалистам в данной области, общепринятые защитные группы могут оказаться необходимыми для предотвращения нежелательных взаимодействий некоторых функциональных групп. Подходящие защитные группы для различных функциональных групп, а также подходящие условия для защиты и снятия защиты конкретных функциональных групп хорошо известны в данной области. Например, множественные защитные группы описаны Т. W. Greene и G. M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis, Second Edition*, Wiley, New York, 1991, и в цитируемых там ссылках.

Более того, соединения по изобретению обычно содержат один или несколько хиральных центров. В соответствии с этим, если требуется, такие соединения могут быть получены или выделены в виде чистых стереоизомеров, т.е. в виде отдельных энантиомеров или диастереоизомеров, или в виде обогащенных стереоизомером смесей. Все такие стереоизомеры (и обогащенные смеси) включены в объем изобретения, кроме указанных иначе случаев. Чистые стереоизомеры (или обогащенные смеси) могут быть получены, например, с использованием, например, оптически активных исходных материалов или стереоселективных реагентов, хорошо известных в данной области. Альтернативно, рацемические смеси таких соединения могут быть разделены, например, с использованием хиральной колоночной хроматографии, разрешающих хиральность агентов и тому подобного.

При следующем получении соединений R^1 , R^2 , R^3 , R^5 , R^6 и R^7 соответствуют приведенным выше определениям для формул I, IA, II и IIA. Кроме того, при следующем получении соединений R^1 представляет собой эквивалент:

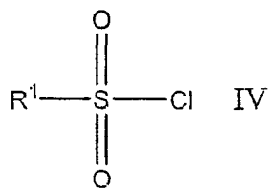
Ar^1 , как данный радикал определен для формулы IB,
 R^{21} , как данный радикал определен для формул II и IIA, и
 Ar^{21} , как данный радикал определен для формулы IIB;
 R^2 представляет собой эквивалент:
 R^{12} , как данный радикал определен для формулы IB,
 R^{22} , как данный радикал определен для формул II и IIA, и
 R^{32} , как данный радикал определен для формулы IIB;
 R^3 представляет собой эквивалент:
 R^{13} , как данный радикал определен для формулы IB,
 R^{23} , как данный радикал определен для формулы II и IIA, и
 R^{33} , как данный радикал определен для формулы IIB;
 R^5 представляет собой эквивалент:
 R^{25} , как данный радикал определен для формул II и IIA; и
 R^6 представляет собой эквивалент:
ОН для формул I и II,
 OR^{14} , как данный радикал определен для формулы IB,
 R^{26} , как данный радикал определен для формулы IIA, и
 OR^{34} , как данный радикал определен для формулы IIB.

В предпочтительном способе синтеза соединения формул I, IA, II и IIA, в которых Q представляет собой $-C(O)NR^7-$, и соединения формул IB, IC и IIB получают путем начального присоединения аминокислоты формулы III:



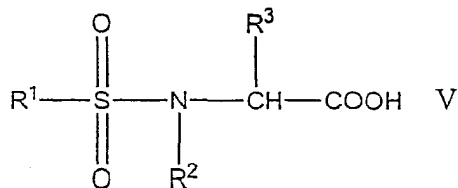
5

к сульфонилхлориду формулы IV:



10

с получением N-сульфониламино кислоты формулы V:



15

Данную реакцию обычно проводят путем взаимодействия аминокислоты формулы III, по меньшей мере, с одним эквивалентом, предпочтительно, примерно с 1,1-2 эквивалентами сульфонилхлорида IV в инертном растворителе, таком как дихлорметан и тому подобное. В общем, взаимодействие проводят при температуре, изменяющейся от -70°C примерно до 40°C в течение примерно 1-24 часов.

25

Предпочтительно, данное взаимодействие проводили в присутствии подходящего основания для нейтрализации кислоты, образующейся во время взаимодействия.

Подходящие основания включают в себя, например, третичные амины, такие как триэтиламин, диизопропилэтиламин, N-метилморфолин и тому подобное.

30

Альтернативно, взаимодействие может проводиться в условиях типа Шоттена-Бауманна с использованием водных щелочей, таких как гидроксид натрия и тому подобное, в качестве основания. По окончании взаимодействия полученную в результате N-сульфониламино кислоту V получают общепринятыми способами, включая нейтрализацию, экстракцию, осаждение, хроматографию, фильтрацию и тому подобное.

35

Аминокислоты формулы III, использованные в описанных выше взаимодействиях, представляют собой известные соединения или соединения, которые могут быть получены из известных соединений в общепринятых синтетических процедурах.

40

Примеры подходящих аминокислот для применения в данном взаимодействии включают в себя в качестве неограничивающих примеров L-пролин, транс-4-гидроксил-L-пролин, цис-4-гидроксил-L-пролин, транс-3-фенил-L-пролин, цис-3-фенил-L-пролин, L-(2-метил)пролин, L-пипеколиновую кислоту, L-азетидин-2-карбоновую кислоту, L-индолин-2-карбоновую кислоту, L-1,2,3,4-

45

тетрагидроизохинолин-3-карбоновую кислоту, L-тиазолидин-4-карбоновую кислоту, L-(5,5-диметил)тиазолидин-4-карбоновую кислоту, L-тиаморфолин-3-карбоновую кислоту, глицин, 2-трет-бутилглицин, D,L-фенилглицин, L-аланин, α -метилаланин, N-метил-L-фенилаланин, L-дифенилаланин, саркозин, D,L-

50

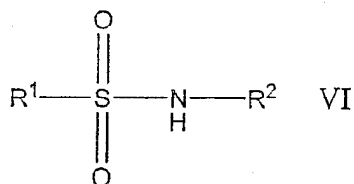
фенилсаркозин, β -трет-бутиловый эфир L-аспарагиновой кислоты, γ -трет-бутиловый эфир L-глутаминовой кислоты, L-(O-бензил)серин, 1-аминоциклопропанкарбоновую кислоту, 1-аминоциклобутанкарбоновую кислоту, 1-аминоциклопентанкарбоновую

кислоту (циклолейцин), 1-аминоциклогексанкарбоновую кислоту, L-серин и тому подобное. Если требуется, соответствующие сложные эфиры аминокислот формулы III, такие как метиловые сложные эфиры, этиловые сложные эфиры и подобные им, могут использоваться в указанных выше взаимодействиях с
5 сульфонилхлоридом IV. Последующий гидролиз сложноэфирной группы до карбоновой кислоты с использованием общепринятых реагентов и условий, т.е. обработки гидроксидом щелочных металлов в инертном разбавителе, например, смеси метанол/вода, затем предоставляет N-сульфониламинокислоту V.

10 Сходным образом, сульфонилхлориды формулы IV, использованные в указанных выше взаимодействиях, представляют собой известные соединения или соединения, которые могут быть получены из известных соединений в общепринятых
15 синтетических процедурах. Такие соединения обычно получают из соответствующей сульфоновой кислоты, т.е. из соединений формулы R^1-SO_3H , с использованием трихлорида фосфора и пентахлорида фосфорной кислоты. Данное взаимодействие, в общем, проводят путем контактирования сульфоновой кислоты примерно с 2-5
20 молярными эквивалентами трихлорида фосфора и пентахлорида фосфора, в чистом виде или в инертном растворителе, таком как дихлорметан, при температуре в интервале примерно от 0°C до 80°C примерно в течение 1-48 часов с получением сульфонилхлорида. Альтернативно, сульфонилхлорид формулы IV может быть
25 получен из соответствующего тиолового соединения, т.е. из соединений формулы R^1-SH , путем обработки тиола хлорином (Cl_2) и водой в общепринятых условиях взаимодействия.

Примеры сульфонилхлоридов, подходящих для применения по изобретению, включают в себя в качестве неограничивающих примеров метансульфонилхлорид, 2-
30 пропансульфонилхлорид, 1-бутансульфонилхлорид, бензолсульфонилхлорид, 1-нафталинсульфонилхлорид, 2-нафталинсульфонилхлорид, п-толуолсульфонилхлорид, α -толуолсульфонилхлорид, 4-
35 ацетамидобензолсульфонилхлорид, 4-амидинобензолсульфонилхлорид, 4-трет-бутилбензолсульфонилхлорид, 4-бромбензолсульфонилхлорид, 2-карбоксібензолсульфонилхлорид, 4-цианобензолсульфонилхлорид, 3,4-
40 дихлорбензолсульфонилхлорид, 3,5-дихлорбензолсульфонилхлорид, 3,4-диметоксибензолсульфонилхлорид, 3,5-дифторметилбензолсульфонилхлорид, 4-
45 фторбензолсульфонилхлорид, 4-метоксибензолсульфонилхлорид, 2-метоксикарбонилбензолсульфонилхлорид, 4-метиламидобензолсульфонилхлорид, 4-нитробензолсульфонилхлорид, 4-тиоамидобензолсульфонилхлорид, 4-
40 трифторметилбензолсульфонилхлорид, 4-трифторметоксибензолсульфонилхлорид, 2,4,6-триметилбензолсульфонилхлорид, 2-фенилэтансульфонилхлорид, 2-тиофенсульфонилхлорид, 5-хлор-2-тиофенсульфонилхлорид, 2,5-дихлор-4-
45 тиофенсульфонилхлорид, 2-тиазолсульфонилхлорид, 2-метил-4-тиазолсульфонилхлорид, 1-метил-4-имидазолсульфонилхлорид, 1-метил-4-
40 пиразолсульфонилхлорид, 5-хлор-1,3-диметил-4-пиразолсульфонилхлорид, 3-пиридинсульфонилхлорид, 2-пиримидинсульфонилхлорид и тому подобное. Если
50 требуется, сульфонилфторид, сульфонилбромид или ангидрид сульфоновой кислоты может использоваться вместо сульфонилхлорида в описанном выше взаимодействии с образованием N-сульфониламинокислот формулы V.

Промежуточные N-сульфониламинокислоты формулы V могут также быть получены путем взаимодействия сульфониламида формулы VI:



5

с производным карбоновой кислоты формулы $\text{L}(\text{R}^3)\text{CHCOOR}^y$, в которой L представляет собой уходящую группу, такую как хлор, бром, иод, мезилат, тозилат и подобные им, и водород или алкильную группу. Данное взаимодействие обычно проводят путем контакта сульфонида VI, по меньшей мере, с одним эквивалентом, предпочтительно, с 1,1-2 эквивалентами производного карбоновой кислоты в присутствии подходящего основания, такого как триэтиламин, в инертном растворителе, таком как DMF, при температуре, изменяющейся примерно от 24°C до 37°C, приблизительно в течение 0,5-4 часов. Данное взаимодействие далее описано в Zuckermann et al., J. Am. Chem. Soc., 1992, 114, 10646-10647.

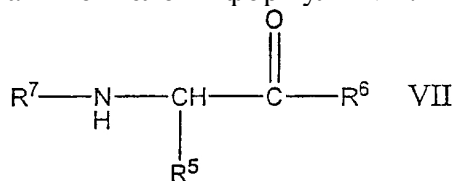
15

Предпочтительные производные карбоновой кислоты для применения в данном взаимодействии представляют собой эфиры α -хлор- и α -бромкарбоновой кислоты, такие как трет-бутилбромацетат и тому подобное. Когда эфир карбоновой кислоты используется в данном взаимодействии, сложноэфирную группу впоследствии гидролизуют с использованием общепринятых процедур с получением N-сульфониламино кислоты формулы V.

20

Соединения по настоящему изобретению получают затем путем присоединения промежуточной N-сульфониламино кислоты формулы V к производному аминокислоты формулы VII:

25



30

Реакцию присоединения обычно проводят с использованием хорошо известных реагентов присоединения, таких как карбодиимиды, реагенты BOP (гексафторфосфонат бензотриазол-1-илокси-трис(диметиламино)фосфония) и тому подобное. Подходящие карбодиимиды включают в себя, например, дициклогексилкарбодиимид (DCC), 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимид (EDC) и тому подобное. Если требуется, могут также использоваться виды карбодиимидовых реагентов присоединения на полимерной основе, например, описанные в Tetrahedron Letters, 34 (48) 7685 (1993). Кроме того, хорошо известные вещества, способствующие присоединению, такие как N-гидроксисукцинимид, 1-гидроксибензотриазол и подобные им, могут использоваться для облегчения реакции присоединения.

40

Данная реакция присоединения обычно проводится путем контакта N-сульфониламино кислоты V примерно с 1-2 эквивалентами реагента присоединения и, по меньшей мере, с одним эквивалентом, предпочтительно, примерно 1-1,2 эквивалента производного аминокислоты VII в инертном растворителе, таком как дихлорметан, хлороформ, ацетонитрил, тетрагидрофуран, N,N-диметилформамид и тому подобное. В общем, данное взаимодействие проводят при температуре, изменяющейся примерно от 0°C до 37°C, приблизительно в течение 12-24 часов. По окончании взаимодействия соединение по настоящему изобретению получают общепринятыми способами, включая нейтрализацию, экстракцию, осаждение,

50

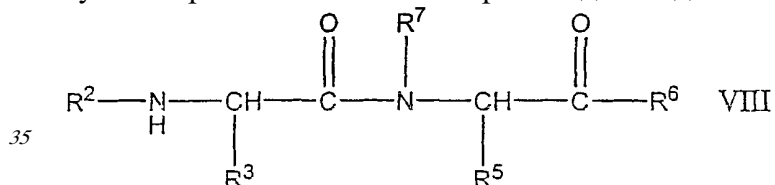
хроматографию, фильтрацию и тому подобное.

Альтернативно, N-сульфониламинокислота V может преобразовываться в галогенид кислоты, и галогенид кислоты может присоединяться к производному аминокислоты VII для предоставления соединений по настоящему изобретению.

5 Галогенид кислоты V может быть получен путем контакта V с галогенидом неорганической кислоты, таким как тионилхлорид, трихлорид фосфора, трибромид фосфора или пентахлорид фосфора, или, предпочтительно, с оксалилхлоридом в обычных условиях. В общем, данное взаимодействие проводили с использованием
10 примерно от 1 до 5 молярных эквивалентов галогенида неорганической кислоты или оксалилхлорида, в чистом виде или в инертном растворителе, таком как дихлорметан или четыреххлористый углерод, при температуре, изменяющейся примерно от 0°C до 80°C, приблизительно в течение 1-48 часов. В данном взаимодействии также может применяться катализатор, такой как DMF.

15 Галогенид N-сульфониламинокислоты V затем приводят в контакт, по меньшей мере, с одним эквивалентом, предпочтительно, примерно 1,1-1,5 эквивалента производного аминокислоты VII в инертном растворителе, таком как дихлорметан, при температуре, изменяющейся примерно от -70°C до 40°C, приблизительно в
20 течение 1-24 часов. Предпочтительно, данное взаимодействие проводят в присутствии подходящего основания для нейтрализации кислоты, образованной во время взаимодействия. Подходящие основания включают в себя, например, третичные амины, такие как триэтиламин, диизопропилэтиламин, N-метилморфолин и подобные им. Альтернативно, взаимодействие может проводиться в условиях типа
25 Шоттена-Бауманна, с использованием водных щелочей, таких как гидроксид натрия и тому подобное. По окончании данного взаимодействия соединение по настоящему изобретению получают общепринятыми способами, включая нейтрализацию, экстракцию, осаждение, хроматографию, фильтрацию и тому подобное.

30 Альтернативно, соединения по настоящему изобретению могут быть получены путем образования вначале производного диаминокислоты формулы VIII:



35 Производные диаминокислоты формулы VIII можно легко получить путем присоединения аминокислоты формулы III к производному аминокислоты формулы VII с использованием общепринятых способов и реагентов для
40 присоединения аминокислот, таких как карбодиимиды, реагент BOP и тому подобное, как описано выше. Диаминокислота VIII затем может сульфенироваться с использованием сульфенилхлорида формулы IV и с использованием процедур синтеза, описанных выше, с предоставлением соединения по настоящему
45 изобретению.

Производные аминокислоты формулы VII, использованные в указанных выше взаимодействиях, представляют собой известные соединения или соединения, которые могут быть получены из известных соединений путем общепринятых
50 процедур синтеза. Например, производные аминокислоты формулы VII могут быть получены путем C-алкилирования коммерчески доступного диэтил-2-ацетамидомалоната (Aldrich, Милуоки, Висконсин, США) галогенидом алкила или замещенного алкила. Данное взаимодействие обычно проводят путем обработки диэтил-2-ацетамидомалоната, по меньшей мере, одним эквивалентом этоксида

натрия и, по меньшей мере, одним эквивалентом галогенида алкила или замещенного алкила в этаноле, кипящем с обратным холодильником, примерно в течение 6-12 часов. Полученный в результате С-алкилированный малонат затем дезацетилируют, гидролизуют и декарбоксилируют путем нагревания в водной соляной кислоте с обратным холодильником в течение примерно 6-12 часов с предоставлением аминокислоты, обычно в виде соли соляной кислоты.

Примеры производных соляной кислоты формулы VII, подходящих для применения в указанных выше взаимодействиях, включают в качестве неограничивающих примеров метиловый эфир L-тирозина, метиловый эфир L-3,5-дииодтирозина, метиловый эфир L-3-иодтирозина, метиловый эфир β -(4-гидроксинафт-1-ил)-L-аланина, метиловый эфир β -(6-гидроксинафт-2-ил)-L-аланина, и тому подобное. Если требуется, также, конечно, могут использоваться другие сложные эфиры или амиды описанных выше соединений.

Для простоты синтеза соединения по настоящему изобретению обычно получают в виде сложного эфира, т.е. где R⁶ представляет собой алкокси- или замещенную алкоксигруппу и тому подобное. Если требуется, сложноэфирная группа может гидролизываться с использованием общепринятых условий и реагентов с предоставлением соответствующей карбоновой кислоты. Обычно данную реакцию проводят путем обработки сложного эфира, по меньшей мере, одним эквивалентом гидроксида щелочного металла, такого как гидроксид лития, натрия или калия, в инертном растворителе, таком как метанол или смеси метанола и воды, при температуре, изменяющейся примерно от 0°C до 24°C, приблизительно в течение 1-10 часов. Альтернативно, сложные эфиры бензила могут удаляться путем гидрирования с использованием палладиевого катализатора, такого как палладий на углероде. Полученные в результате карбоновые кислоты могут присоединяться, если требуется, к аминам, таким как этиловый эфир β -аланина, к гидроксиаминам, таким как гидроксилламин и N-гидроксилисукцинимид, к алкоксиаминам и замещенным алкоксиаминам, таким как O-метилгидроксилламин и O-бензилгидроксилламин, и тому подобное, с использованием общепринятых реагентов и условий для присоединения, описанных выше.

Как понятно специалистам в данной области, другие функциональные группы, присутствующие на каком-либо из заместителей соединений по настоящему изобретению, могут легко модифицироваться или дериватизироваться до или после указанных выше реакций присоединения с использованием хорошо известных синтетических процедур. Например, нитрогруппа, присутствующая на заместителе соединения по настоящему изобретению, или ее промежуточное соединение может быть легко восстановлено путем гидрирования в присутствии палладиевого катализатора, такого как палладий на углероде, с предоставлением соответствующей аминогруппы. Данное взаимодействие обычно проводят при температуре от 20°C до 50°C, приблизительно в течение 6-24 часов в инертном растворителе, таком как метанол. Соединения, имеющие нитрогруппу, например, на заместителе R³, могут быть получены, например, путем использования производного 4-нитрофенилаланина и тому подобного в описанных выше реакциях присоединения.

Сходным образом, пиридильная группа может гидрироваться в присутствии платинового катализатора, такого как оксид платины, в кислом растворителе с обеспечением соответствующего пиперидинильного аналога. В общем, данное взаимодействие проводят путем обработки пиридинового соединения водородом

при давлении, изменяющем примерно от 20 фунтов на кв.дюйм до 60 фунтов на кв.дюйм, предпочтительно, примерно 40 фунтов на кв.дюйм, в присутствии катализатора при температуре, примерно равной от 20°C до 50°C, приблизительно в течение 2-24 часов в кислом растворителе, например в смеси метанола и водной соляной кислоты. Соединения, имеющие пиридинильную группу, могут быть легко получены путем использования, например, производных β -(2-пиридил)-, β -(3-пиридил)- или β -(4-пиридил)-L-аланина в описанных выше реакциях присоединения.

Кроме того, когда заместитель соединения по настоящему изобретению или его промежуточное соединение содержит первичную или вторичную аминогруппу, такие аминогруппы могут быть далее дериватизованы до или после описанных выше реакций присоединения для обеспечения, например, амидов, сульфонамидов, мочевины, тиомочевины, карбаматов, вторичных или третичных аминов и тому подобного. Соединения, имеющие первичную аминогруппу на таком заместителе, могут быть получены, например, путем восстановления соответствующего нитросоединения, как описано выше. Альтернативно, такие соединения могут быть получены путем использования производных аминокислоты формулы VII, происходящих от лизина, 4-аминофенилаланина и тому подобного в указанных выше реакциях присоединения.

Для иллюстрации, соединение по настоящему изобретению или его промежуточное соединение, имеющее заместитель, содержащий первичную или вторичную аминогруппу, может быть легко N-ацилировано с использованием общепринятых ацилирующих реагентов и условий с обеспечением соответствующего амида. Данная реакция ацилирования обычно проводится путем обработки аминокислоты, по меньшей мере, одним эквивалентом, предпочтительно, примерно 1,1-1,2 эквивалента карбоновой кислоты в присутствии реагента для присоединения, такого как карбодиимид, реагент BOP (гексафторфосфонат бензотриазол-1-илокси-трис(диметиламино)фосфония) и тому подобное, в инертном растворителе, таком как дихлорметан, хлороформ, ацетонитрил, тетрагидрофуран, N,N-диметилформамид и тому подобное, при температуре, изменяющейся примерно от 0°C до 37°C, приблизительно в течение 4-24 часов. Предпочтительно, способствующее соединение, такое как N-гидроксисукцинимид, 1-гидроксибензотриазол и тому подобное, используют для облегчения реакции ацилирования. Примеры карбоновых кислот, подходящих для применения в данном взаимодействии, включают в себя в качестве неограничивающих примеров N-трет-бутилоксикарбонилглицин, N-трет-бутилоксикарбонил-L-фенилаланин, бензиловый эфир N-трет-бутилоксикарбонил-L-аспарагиновой кислоты, бензойную кислоту, N-трет-бутилоксикарбонилизонипекотиновую кислоту, N-метилизонипекотиновую кислоту, N-трет-бутилоксикарбонилнипекотиновую кислоту, N-третбутилоксикарбонил-L-тетрагидроизохинолин-3-карбоновую кислоту, N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролин и тому подобное.

Альтернативно, соединение по настоящему изобретению или его промежуточное соединение, имеющее заместитель, содержащий первичную или вторичную аминогруппу, может быть N-ацилировано с использованием ацилгалогенида или ангидрида карбоновой кислоты с образованием соответствующего амида. Данную реакцию обычно проводят путем контакта аминокислоты, по меньшей мере, с одним эквивалентом, предпочтительно, примерно 1,1-1,2 эквивалента ацилгалогенида или ангидрида карбоновой кислоты в инертном растворителе, таком как дихлорметан, при температуре от -70°C до 40°C, приблизительно в течение 1-24

часов. Если требуется, катализатор ацилирования, такой как 4-(N,N-диметиламино)пиридин, может использоваться для реакции ацилирования. Реакцию ацилирования предпочтительно проводят в присутствии подходящего основания для нейтрализации кислоты, образуемой во время взаимодействия. Подходящие

5 основания включают в себя, например, третичные амины, такие как триэтиламин, диизопропилэтиламин, N-метилморфолин и тому подобное. Альтернативно, взаимодействие может проводиться в условиях типа Шоттена-Бауманна с использованием водной щелочи, такой как гидроксид натрия и тому подобное.

10 Примеры ацилгалогенидов и ангидридов карбоновой кислоты, подходящих для применения в данном взаимодействии, включают в себя в качестве неограничивающих примеров 2-метилпропионилхлорид, триметилацетилхлорид, фенилацетилхлорид, бензоилхлорид, 2-бромбензоилхлорид, 2-метилбензоилхлорид, 2-трифторметилбензоилхлорид, изоникотиноилхлорид, никотиноилхлорид,

15 пиколиноилхлорид, уксусный ангидрид, янтарный ангидрид и тому подобное. Карбамилхлориды, такие как N,N-диметилкарбамилхлорид, N,N-диэтилкарбамилхлорид и тому подобное, также могут использоваться в данном взаимодействии для предоставления мочевины. Сходным образом, дикарбонаты, такие как ди-трет-бутилдикарбонат, могут использоваться для предоставления карбаматов.

Подобным образом, соединение по настоящему изобретению или его промежуточное соединение, содержащее первичную или вторичную аминогруппу, может быть N-сульфонировано с образованием сульфонамида с использованием

25 сульфонилгалогенида или ангидрида сульфоновой кислоты. Сульфонилгалогениды и ангидриды сульфоновой кислоты, подходящие для применения в данном взаимодействии, включают в себя в качестве неограничивающих примеров метансульфонилхлорид, хлорметансульфонилхлорид, п-толуолсульфонилхлорид, трифторметансульфоновый ангидрид и тому подобное. Сходным образом, сульфамойлхлориды, например диметилсульфамойлхлорид, могут использоваться для предоставления сульфамидов (например, >N-SO₂-N<).

30

Кроме того, первичная и вторичная аминогруппа, присутствующая на заместителе соединения по настоящему изобретению или его промежуточном соединении, может

35 подлежать взаимодействию с изоцианатом или тиоизоцианатом с получением мочевины или тиомочевины соответственно. Данное взаимодействие обычно проводят путем контакта amino-соединения, по меньшей мере, с одним эквивалентом, предпочтительно, примерно 1,1-1,2 эквивалента изоцианата или тиоизоцианата в инертном растворителе, таком как толуол и тому подобное, при

40 температуре от 24°C до 37°C, приблизительно в течение 12-24 часов. Изоцианаты и тиоизоцианаты, используемые в данном взаимодействии, коммерчески доступны или могут быть получены из коммерчески доступных соединений с использованием хорошо известных процедур синтеза. Например, изоцианаты и тиоизоцианаты легко

45 получить путем взаимодействия подходящего амина с фосгеном или тиофосгеном. Примеры изоцианатов и тиоизоцианатов, подходящих для применения в данном взаимодействии, включают в себя в качестве неограничивающих примеров этилизоцианат, n-пропилизоцианат, 4-цианофенилизоцианат, 3-

50 метоксифенилизоцианат, 2-фенилэтилизоцианат, метилтиоизоцианат, этилтиоизоцианат, 2-фенилэтилтиоизоцианат, 3-фенилпропилтиоизоцианат, 3-(N,N-диэтиламино)пропилтиоизоцианат, фенилтиоизоцианат, бензилтиоизоцианат, 3-пиридилтиоизоцианат, флуоресцеин-изотиоцианат (изомер L) и тому подобное.

Более того, когда соединение по настоящему изобретению или его промежуточное соединение содержит первичную или вторичную аминогруппу, данная аминогруппа может подвергнуться восстановительному алкилированию с использованием альдегидов или кетонов с образованием вторичной или третичной аминогруппы. Данное взаимодействие обычно проводят путем контакта аминоксоединения, по меньшей мере, с одним эквивалентом, предпочтительно, примерно с 1,1-1,5 эквивалента альдегида или кетона, и, по меньшей мере, одного эквивалента, по отношению к аминоксоединению, восстанавливающего агента гидрида металла, такого как цианоборогидрид натрия, в инертном растворителе, таком как метанол, тетрагидрофуран, их смеси и тому подобное, при температуре, изменяющейся от 0°C до 50°C, приблизительно в течение 1-72 часов. Альдегиды и кетоны, подходящие для применения в данном взаимодействии, включают в себя, например, бензальдегид, 4-хлорбензальдегид, валеральдегид и тому подобное.

Подобным образом, когда соединение по настоящему изобретению или его промежуточное соединение имеет заместитель, содержащий гидроксильную группу, гидроксильная группа может далее модифицироваться или дериватизироваться до или после указанных выше реакций присоединения для предоставления, например, простых эфиров, карбаматов и тому подобное. Соединения формул I и II, имеющие гидроксильную группу на заместителе R⁵, например, могут получаться с использованием производного аминокислоты формулы VII, происходящего от тирозина и тому подобного, в описанных выше взаимодействиях.

Например, когда соединение по настоящему изобретению или его промежуточное соединение имеет заместитель, содержащий гидроксильную группу, гидроксильная группа может легко O-алкилироваться с образованием простых эфиров. Данную реакцию O-алкилирования обычно проводят путем контакта гидроксисоединения с подходящим основанием щелочного или щелочноземельного металла, такого как карбонат калия, в инертном растворителе, таком как ацетон, 2-бутанон и тому подобное, с образованием соли щелочного или щелочноземельного металла гидроксильной группой. Данную соль, в основном, не выделяют, но проводят взаимодействие *in situ*, по меньшей мере, с одним эквивалентом галогенида или сульфоната алкила или замещенного алкила, такого как хлорид, бромид, иодид, мезилат или тозилат алкила, с получением простого эфира. В общем, данное взаимодействие проводят при температуре, изменяющейся от 60°C до 150°C, приблизительно в течение 24-72 часов. Предпочтительно, каталитическое количество иодида натрия или калия добавляют к реакционной смеси, когда при взаимодействии используют хлорид или бромид алкила.

Неограничивающие примеры галогенидов и сульфонатов алкила или замещенного алкила, подходящих для применения в данном взаимодействии, включают в себя трет-бутилбромацетат, N-трет-бутилхлорацетамид, 1-бромэтилбензол, этил- α -бромфенилацетат, 2-(N-этил-N-фениламино)этилхлорид, 2-(N,N-этиламино)этилхлорид, 2-(N,N-диизопропиламино)этилхлорид, 2-(N,N-добензиламино)этилхлорид, 3-(N,N-этиламино)пропилхлорид, 3-(N-бензил-N-метиламино)пропилхлорид, N-(2-хлорэтил)морфолин, 2-(гексаметиленимино)этилхлорид, 3-(N-метилпиперазин)пропилхлорид, 1-(3-хлорфенил)-4-(3-хлорпропил)пиперазин, 2-(4-гидрокси-4-фенилпиперидин)этилхлорид,

N-трет-бутилоксикарбонил-3-пиперидинметилтозилат и тому подобное.

Альтернативно, гидроксильная группа, присутствующая на заместителе

соединения по настоящему изобретению или его промежуточного соединения, могут подлежать О-алкилированию с использованием реакции Мицунобу. В данном взаимодействии спирт, такой как 3-(N,N-диметиламино)-1-пропанол и тому подобное, взаимодействует примерно с 1,0-1,3 эквивалента трифенилфосфина и примерно 1,0-1,3 эквивалента диэтилазодикарбоксилата в инертном растворителе, таком как тетрагидрофуран, при температуре, изменяющейся от -10°C до 5°C, приблизительно в течение 0,25-1 часа. Примерно 1,0-1,3 эквивалента гидроксисоединения, такого как метиловый эфир N-трет-бутилтирозина, затем добавляют, и реакционную смесь перемешивают при температуре примерно от 0°C до 30°C приблизительно в течение 2-48 часов с обеспечением О-алкилированного продукта.

Сходным образом, соединение по настоящему изобретению или его промежуточное вещество, содержащее арилгидроксигруппу, может подвергаться взаимодействию с арилиодидом для предоставления простого эфира диарила. В общем, данное взаимодействие проводят путем образования соли щелочного металла гидроксильной группой, с использованием подходящего основания, такого как гидрид натрия, в инертном растворителе, таком как ксилены, при температуре примерно от -25°C до 10°C. Соль затем обрабатывают примерно 1,1-1,5 эквивалента комплекса бромидов одновалентной меди и диметилсульфида при температуре, изменяющейся от 10°C до 30°C, приблизительно в течение 0,5-2,0 часов, с последующим введением примерно 1,1-1,5 эквивалента арилиодида, такого как 2-иодбензоат натрия, и тому подобного. Реакционную смесь затем нагревают примерно до 70°C-150°C приблизительно в течение 2-24 часов для предоставления простого эфира диарила.

Кроме того, содержащее гидроксигруппу соединение может также легко дериватизоваться с образованием карбамата. В одном из способов получения таких карбаматов гидроксисоединение по настоящему изобретению или его промежуточное вещество контактирует примерно с 1,0-1,2 эквивалента 4-нитрофенилхлорформиата в инертном растворителе, таком как дихлорметан, при температуре, изменяющейся примерно от -25°C до 0°C, приблизительно в течение 0,5-2,0 часа. Обработка полученного в результате карбоната избытком, предпочтительно, примерно 2-5 эквивалентами триалкиламина, такого как триэтиламин, примерно в течение 0,5-2 часов, с последующей обработкой примерно 1,0-1,5 эквивалента первичного или вторичного амина, предоставляет карбамат. Примеры аминов, подходящих для применения в данном взаимодействии, включают в себя в качестве неограничивающих примеров пиперазин, 1-метилпиперазин, 1-ацетилпиперазин, морфолин, тиоморфолин, пирролидин, пиперидин и тому подобное.

Альтернативно, в другом способе получения карбаматов содержащее гидроксигруппу соединение контактирует примерно с 1,0-1,5 эквивалента карбамилхлорида в инертном растворителе, например дихлорметане, при температуре, изменяющейся примерно от 25°C до 70°C, приблизительно в течение 2-72 часов. Обычно данное взаимодействие проводят в присутствии подходящего основания для нейтрализации кислоты, образуемой во время взаимодействия. Подходящие основания включают в себя, например, третичные амины, такие как триэтиламин, диизопропилэтиламин, N-метилморфолин и тому подобное. Кроме того, по меньшей мере, один эквивалент (по отношению к гидроксисоединению) 4-(N,N-диметиламино)пиридина предпочтительно добавляют к реакционной смеси для облегчения взаимодействия. Примеры карбамилхлоридов, подходящих для

применения в данном взаимодействии, включают в себя, например, диметилкарбамилхлорид, диэтилкарбамилхлорид и подобные им.

Также, когда соединение по настоящему изобретению или его промежуточное соединение содержит первичную или вторичную гидроксильную группу, такие гидроксильные группы могут легко преобразовываться в уходящую группу и замещаться с образованием, например, аминов, сульфидов и фторидов. Например, производные 4-гидрокси-L-пролина могут преобразовываться в соответствующие производные 4-амино-, 4-тио- или 4-фтор-L-пролина путем нуклеофильного замещения дериватизированной гидроксильной группы. В общем, когда в данных взаимодействиях используется хиральное соединение, стереохимия атома углерода, присоединенного к дериватизированной гидроксильной группе, обычно изменяется на противоположную.

Данные взаимодействия обычно проводятся путем исходного преобразования гидроксильной группы в уходящую группу, такую как тозилат, путем обработки гидрокси-соединения, по меньшей мере, одним эквивалентом сульфонилогалогенида, такого как *p*-толуолсульфонилхлорид и тому подобное, в пиридине. Данное взаимодействие, в основном, проводят при температуре, примерно равной от 0°C до 70°C, приблизительно в течение 1-48 часов. Полученный в результате тозилат может затем легко замещаться азидом натрия, например, путем контакта тозилата, по меньшей мере, с одним эквивалентом азиды натрия в инертном растворителе, таком как смесь *N,N*-диметилформамида и воды, при температуре, изменяющейся примерно от 0°C до 37°C, приблизительно в течение 1-12 часов с предоставлением соответствующего азидо-соединения. Азидная группа может затем восстанавливаться, например, путем гидрогенирования с использованием катализатора палладия на углероде с предоставлением амино(-NH₂)-соединения.

Сходным образом, группа тозилата может быть легко замещена тиолом с образованием сульфида. Данное взаимодействие обычно проводят путем контакта тозилата, по меньшей мере, с одним эквивалентом тиола, такого как тиофенол, в присутствии подходящего основания, такого как 1,8-дизабицикло[5.4.0]ундец-7-ен (DBU), в инертном растворителе, таком как *N,N*-диметилформамид, при температуре примерно от 0°C до 37°C приблизительно в течение 1-12 часов с предоставлением сульфида. Кроме того, обработка тозилата трифторидом морфолиносеры в инертном растворителе, таком как дихлорметан, при температуре, изменяющейся примерно от 0°C до 37°C, приблизительно в течение 12-24 часов, дает соответствующее соединение фтора.

Более того, соединение по настоящему изобретению или его промежуточное соединение, имеющее заместитель, содержащий иодоарильную группу, например, когда R⁵ формул I или II представляет собой (4-иодфенил)метильную группу, может легко преобразовываться до или после реакций присоединения в биарильное соединение. Обычно данное взаимодействие проводят путем обработки иодоарильного соединения примерно 1,1-2 эквивалентами иодида арилцинка, такого как иодид 2-(метоксикарбонил)фенилцинка, в присутствии палладиевого катализатора, такого как тетра(трифенилфосфин) палладия, в инертном растворителе, таком как тетрагидрофуран, при температуре, изменяющейся примерно от 24°C до 30°C до окончания взаимодействия. Данное взаимодействие далее описано, например, в Rieke, J. Org. Chem. 1991, 56, 1445.

В некоторых случаях соединения по настоящему изобретению или их промежуточные соединения могут содержать заместители, имеющие один или

несколько атомов серы. Такие атомы серы присутствуют, например, когда аминокислота формулы III, используемая в описанных выше взаимодействиях, происходит от L-тиазолидин-4-карбоновой кислоты, L-(5,5-диметил)тиазолидин-4-карбоновой кислоты, L-тиаморфолин-3-карбоновой кислоты и тому подобного.

5 Когда они присутствуют, такие атомы серы могут окисляться до или после описанных выше реакций присоединения для предоставления соединения сульфоксида или сульфона с использованием общепринятых реагентов и условий взаимодействия. Подходящие реагенты для окисления сульфидного соединения до
10 сульфоксида включают в себя, например, пероксид водорода, 3-хлорпероксибензойную кислоту (MCPBA), периодат натрия и тому подобное. Реакцию окисления обычно проводят путем контакта сульфидного соединения примерно с 0,95-1,1 эквивалента окисляющего реагента в инертном растворителе, таком как дихлорметан, при температуре, изменяющейся примерно от -50°C до 75°C,
15 приблизительно в течение 1-24 часов. Полученный в результате сульфоксид может далее окисляться до соответствующего сульфона путем контакта сульфоксида, по меньшей мере, с одним дополнительным эквивалентом окисляющего реагента, такого как пероксид водорода, MCPBA, перманганат калия и тому подобное.
20 Альтернативно, сульфон может быть получен непосредственно путем контакта сульфида, по меньшей мере, с двумя эквивалентами и, предпочтительно, с избытком окисляющего реагента. Такие взаимодействия описаны далее в March, "Advanced Organic Chemistry", 4th Ed., pp. 1202-1202, Wiley Publishers, (1992).

25 Как описано выше, соединения по настоящему изобретению, имеющие заместитель R^2 , отличный от водорода, могут быть получены с использованием N-замещенной аминокислоты формулы III, такой как саркозин, N-метил-L-фенилаланин и тому подобные, в описанных выше реакциях присоединения. Альтернативно, такие соединения могут быть получены путем N-алкилирования
30 сульфонамида формулы I или V (где R^2 представляет собой водород) с использованием общепринятых процедур синтеза. Обычно, данная реакция N-алкилирования проводится путем контакта сульфонамида, по меньшей мере, с одним эквивалентом, предпочтительно, 1,1-2 эквивалентами галогенида алкила или
35 замещенного алкила в присутствии подходящего основания, такого как карбонат калия, в инертном растворителе, таком как ацетон, 2-бутанон и тому подобное, при температуре, изменяющейся примерно от 35°C до 70°C, приблизительно в течение 2-48 часов. Примеры галогенидов алкила или замещенного алкила, подходящих для применения в данном взаимодействии, включают в себя в качестве
40 неограничивающих примеров метилиодид и тому подобное.

Кроме того, сульфонамиды формулы I или V, где R^2 представляет собой водород, и R^1 представляет собой 2-алкоксикарбониларильную группу, могут подвергаться внутримолекулярной циклизации с образованием производных 1,2-бензизотиазол-3-она и их аналогов. Данное взаимодействие обычно проводят путем обработки
45 сульфонамида, такого как бензиловый эфир N-(2-метоксикарбонилфенилсульфонил)глицин-L-фенилаланина, примерно 1,0-1,5 эквивалента подходящего основания, такого как гидрид щелочного металла, в инертном растворителе, таком как тетрагидрофуран, при температуре,
50 изменяющейся примерно от 0°C до 30°C, приблизительно в течение 2-48 часов с получением циклизованного производного 1,2-бензизотиазол-3-она.

Наконец, соединения формулы I или II, где Q представляет собой $-C(S)NR^7-$, получают путем использования производного аминокислоты вместо

аминокислоты III в описанных выше процедурах синтеза. Такие производные аминотионокислоты могут быть получены путем процедур, описанных в Shalaky et al. J.Org.Chem., 61: 9045-9048 (1996) и Brain et al., J.Org.Chem., 62: 3808-3809 (1997), и в цитируемых в данных источниках ссылках.

4.1.2. Фармацевтические препараты соединений

В общем, соединения по настоящему изобретению вводят в терапевтически эффективном количестве любым из принятых для данных соединений способов введения. Соединения можно вводить различными путями, включая, в качестве неограничивающих примеров, пероральный, парентеральный (например, подкожный, субдуральный, внутривенный, внутримышечный, интратекальный, внутрибрюшинный, интрацеребральный, внутриартериальный пути введения или путь введения в очаг повреждения), местный, интраназальный, локализованный (например, хирургический компресс или хирургический суппозиторий), ректальный и легочный (например, аэрозоли, ингаляция или порошок). Соответственно данные соединения эффективны в виде композиций для инъекции и перорального применения. Соединения могут вводиться путем инфузии или путем болюсной инъекции. Предпочтительно, соединения вводят парентеральными путями. Более предпочтительно, соединения вводят внутривенными путями. Такие композиции получают способом, хорошо известным в области фармации.

Действующее количество соединения по настоящему изобретению, т.е. активного ингредиента, зависит от некоторого количества факторов, таких как тяжесть заболевания, т.е., состояние или заболевание, ассоциированное с демиелинизацией, или паралич, ассоциированный с демиелинизацией, подлежащий лечению, возраст и относительное состояние здоровья субъекта, сильнодействие используемого соединения, путь и форма введения и другие факторы.

Токсичность и терапевтическая эффективность таких соединений может определяться путем стандартных фармацевтических процедур в клеточных культурах или на экспериментальных животных, например, для определения LD₅₀ (дозы, летальной для 50% популяции) и ED₅₀ (дозы, терапевтически эффективной для 50% популяции). Отношение дозы между токсическими и терапевтическими эффектами представляет собой терапевтический индекс, и он может выражаться как отношение LD₅₀/ED₅₀. Соединения, которые характеризуются высоким терапевтическим индексом, являются предпочтительными.

Данные, полученные из анализов на клеточных культурах и исследований на животных, могут использоваться для составления интервала дозировки для применения на людях. Дозировка таких соединений предпочтительно находится в интервале циркулирующих концентраций, которые включают в себя ED₅₀ с малой или отсутствующей токсичностью. Данная дозировка может меняться в пределах данного интервала в зависимости от использованной дозированной формы и задействованного пути введения. Для любого соединения, использованного по способу изобретения, терапевтически эффективную дозу можно оценить изначально по анализам клеточной культуры. Доза может определяться на экспериментальных животных для достижения интервала циркулирующих в плазме концентраций, который включает в себя IC₅₀ (т.е. концентрация тестируемого соединения, при которой достигается половина от максимального ингибирования симптомов), определенную на клеточных культурах. Такую информацию можно использовать при более аккуратном определении доз, которые могут использоваться на людях. Уровень в плазме может измеряться, например, путем высокоэффективной

жидкостной хроматографии. Эффективный уровень в крови соединений по настоящему изобретению предпочтительно превышает значение 10 нг/мл или равен ему.

5 Количество фармацевтической композиции, вводимой пациенту, меняется в зависимости от того, что вводится, от цели введения, профилактической или терапевтической, состояния пациента, способа введения и тому подобного. В
10 терапевтических применениях композиции вводят пациенту, уже страдающему от заболевания, в количестве, достаточном для лечения или, по меньшей мере, частичного предотвращения симптомов заболевания и его осложнений. Количество, соответствующее осуществлению этого, определяется как «терапевтически эффективная доза». Количества, эффективные для данного применения, зависят от патологического состояния, подлежащего лечению, а также от суждения
15 наблюдающего клинициста, которое зависит от таких факторов, как тяжесть воспаления, возраст, масса тела и общее состояние пациента, и тому подобное.

Композиции, вводимые пациенту, находятся в виде описанных выше фармацевтических композиций. Данные композиции могут стерилизоваться
20 общепринятыми способами стерилизации, или могут стерильно фильтроваться. Полученные в результате водные растворы могут упаковываться для применения в том виде, как они есть, или лиофилизироваться, причем лиофилизованные препараты комбинируются со стерильным водным носителем перед введением. рН препаратов соединения обычно составляет от 3 до 11, более предпочтительно, от 5 до 9 и,
25 наиболее предпочтительно, от 7 до 8. Следует понимать, что применение некоторых из следующих далее наполнителей, носителей или стабилизаторов приводит к образованию фармацевтических солей.

Активное соединение эффективно в широком интервале дозировок и, в основном, вводится в фармацевтически или терапевтически эффективном количестве.
30 Терапевтическая дозировка соединений по настоящему изобретению изменяется, например, согласно конкретному применению, при котором проводится лечение, способу введения соединения, здоровью и состоянию пациента, и суждению предписывающего врача. Например, для внутривенного введения доза обычно находится в интервале примерно от 20 мкг до 500 мкг на килограмм массы тела,
35 предпочтительно, примерно от 100 мкг до 300 мкг на килограмм массы тела. Подходящие интервалы дозировки для интраназального введения, в общем, составляют примерно от 0,1 мкг до 1 мг на килограмм массы тела. Эффективные дозы могут экстраполироваться из кривых доза-ответ, происходящих из тест-систем *in vitro* или тест-систем, основанных на экспериментальных животных. Обычно
40 клиницист вводит соединение, пока дозировка не достигает требуемого эффекта.

При использовании в качестве фармацевтического средства соединения по настоящему изобретению обычно вводят в виде фармацевтических композиций. Изобретение также относится к фармацевтическим композициям, которые содержат
45 в качестве активного ингредиента одно или несколько описанных выше соединений по настоящему изобретению, которые ассоциированы с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями или наполнителями. Используемый наполнитель обычно подходит для введения субъектам-людям или другим
50 млекопитающим. При получении композиций по изобретению активный ингредиент обычно смешивают с наполнителем, разбавляют наполнителем или вкладывают в носитель, который может быть в виде капсулы, пакетика, бумаги или другого контейнера. Когда наполнитель служит в качестве растворителя, он может быть

твердым, полутвердым или жидким веществом, которое действует как несущее средство, носитель или среда для активного ингредиента. Таким образом, композиции могут находиться в виде таблеток, пилюль, порошков, лепешек, пакетиков, облаток, эликсиров, суспензий, эмульсий, растворов, сиропов, аэрозолей (в твердой или жидкой среде), мазей, содержащих, например, до 10% по массе активного соединения, мягких и твердых желатиновых капсул, суппозиториев, стерильных растворов для инъекций и стерильных упакованных порошков.

При получении препарата может быть необходимым перемалывание активного соединения для обеспечения подходящего размера частиц перед комбинацией с другими ингредиентами. Если активное соединение по существу нерастворимо, его обычно перемалывают до размера частиц менее 200 меш. Если активное соединение по существу водорастворимо, размер частиц обычно доводят путем помола для обеспечения по существу однородного распределения в препарате, например, примерно, 40 меш.

Некоторые примеры подходящих наполнителей включают в себя лактозу, декстрозу, сахарозу, сорбит, маннит, крахмалы, аравийскую камедь, фосфат кальция, альгинаты, трагакант, желатин, силикат кальция, микрокристаллическую целлюлозу, поливинилпирролидон, целлюлозу, стерильную воду, сироп и метилцеллюлозу. Препараты могут, кроме того, включать в себя: лубриканты, такие как тальк, стеарат магния и минеральное масло; увлажняющие средства; эмульгирующие и суспендирующие средства; консерванты, такие как метил- и пропилгидроксibenзоаты; подсластители; и вкусовые добавки. Композиции по изобретению могут быть составлены так, что обеспечивается быстрое, замедленное или задержанное высвобождение активного ингредиента после введения пациенту путем предназначенных для этого процедур, известных в данной области.

Количество активного соединения в фармацевтической композиции и ее единичной дозированной форме может меняться или принимать разные значения в широком интервале в зависимости от конкретного применения, способа введения, сильнодействия конкретного соединения, и требуемой концентрации. Термин «единичные дозированные формы» относится к физически дискретным единицам для субъектов-людей и других млекопитающих, причем каждая единица содержит предварительно определенное количество активного вещества, рассчитанное так, что оно продуцирует требуемое терапевтическое действие, в ассоциации с подходящим фармацевтическим наполнителем. Концентрация терапевтически активного соединения может изменяться примерно от 1 мг/мл до 1 г/мл.

Предпочтительно, соединение может входить в состав препарата для парентерального введения в подходящем инертном носителе, таком как стерильный физиологический солевой раствор. Например, концентрация соединения в раствореносителе обычно составляет примерно 1-100 мг/мл. Вводимая доза определяется путем введения. Предпочтительные пути введения включают в себя парентеральное или внутривенное введение. Терапевтически эффективная доза представляет собой дозу, эффективную для продукции значимого снижения демиелинизации и заметного повышения ремиелинизации. Предпочтительно, данного количества достаточно для продукции статистически значимого количества ремиелинизации у субъекта.

Например, для получения твердых композиций, таких как таблетки, принципиальный активный ингредиент смешивается с фармацевтическим наполнителем с образованием твердой предварительной композиции, содержащей гомогенную смесь соединения по настоящему изобретению. При указании на данные

предварительные композиции как на гомогенные, подразумевается, что активный ингредиент равномерно распределяется по композиции, так что композиция может легко подразделяться на равно эффективные единичные дозированные формы, такие как таблетки, пилюли и капсулы. Данный твердый предварительный препарат затем подразделяют на единичные дозированные формы типа, описанного выше, содержащие, например, примерно 0,1-500 мг активного ингредиента по настоящему изобретению.

Таблетки или пилюли по настоящему изобретению могут быть покрыты или иначе комбинированы с предоставлением дозированной формы, обеспечивающей преимущество пролонгированного действия. Например, таблетка или пилюля может содержать внутренний дозированный и наружный дозированный компонент, причем последний находится в виде оболочки вокруг первого. Два компонента могут быть разделены внутренним слоем, который служит для препятствия дезинтеграции в желудке и позволяет внутреннему компоненту проходить интактным в двенадцатиперстную кишку или задерживаться по высвобождению. Различные материалы могут использоваться для таких внутренних слоев или покрытий, причем такие материалы включают в себя некоторое количество полимерных кислот и смесей полимерных кислот с такими материалами, как шеллак, цетиловый спирт и ацетат целлюлозы.

Жидкие формы, в состав которых могут включаться новые композиции по настоящему изобретению для перорального введения или путем инъекции, включают в себя водные растворы, подходящие сиропы со вкусом, водные или масляные суспензии, и эмульсии со вкусом с пищевыми маслами, такими как кукурузное масло, хлопковое масло, кунжутное масло, кокосовое масло или арахисовое масло, а также эликсиры и сходные фармацевтические носители.

Композиции для ингаляции или нагнетания включают в себя растворы и суспензии в фармацевтически приемлемых, водных или органических растворителях или их смесях, и порошки. Жидкие или твердые композиции могут содержать подходящие фармацевтически приемлемые наполнители, как описаны выше. Композиции могут вводиться пероральным или назальным респираторным путем для местного или системного эффекта. Композиции в предпочтительных фармацевтически приемлемых растворителях могут распыляться путем использования инертных газов. Распыляемые растворы могут ингалироваться непосредственно из устройства распыления, или устройство распыления могут прикрепляться к покрытию лицевой маски, или к машине для дыхания с переменным положительным давлением. Раствор, суспензию или композиции в виде порошка можно вводить, предпочтительно, перорально или назально из устройств, которые доставляют препарат подходящим образом.

Соединения по данному изобретению могут вводиться в форме для замедленного высвобождения. Подходящие примеры препаратов с замедленным высвобождением включают в себя полупроницаемые матрицы твердых гидрофобных полимеров, содержащих белок, причем данные матрицы находятся в виде оформленных предметов, например пленок или микрокапсул. Примеры матриц с замедленным высвобождением включают в себя полиэферы, гидрогели (например, поли(2-гидроксиэтилметакрилат), как описано Langer et al., J. Biomed. Mater. Res. 15: 167-277 (1981) и Langer, Chem. Tech. 12: 98-105 (1982) или поли(виниловый спирт)), полиактиды (патент США № 3773919), сополимеры L-глутаминовой кислоты и гамма-этил-L-глутамат (Sidman et al., Biopolymers 22: 547-556, 1983), недеградируемый

этиленвинилацетат (Langer et al., выше), деградируемые сополимеры молочной кислоты и гликолевой кислоты, такие как LUPRON DEPOT™ (т.е. инъеклируемые микросферы, составленные из сополимера молочной кислоты и гликолевой кислоты и лейпролидацетата), и поли-D-(-)-3-гидроксимасляную кислоту (EP 133988).

Соединения по изобретению могут вводиться в форме для замедленного высвобождения, например в виде инъекции депо, препарата для имплантации, или осмотического насоса, которые могут быть получены таким способом, что будет обеспечиваться замедленное высвобождение активного ингредиента. Имплантаты для препаратов замедленного высвобождения хорошо известны в данной области. Имплантаты могут быть получены, в качестве неограничивающих примеров, в виде микросфер, пластин, с подлежащими или не подлежащими биодеградации полимерами. Например, полимеры молочной кислоты и/или гликолевой кислоты образуют легко разрушающийся полимер, который хорошо переносится организмом-хозяином. Имплантат помещают вблизи участка отложений белка (например, участка образования амилоидных отложений, ассоциированного с нейродегенеративными нарушениями), так что местная концентрация активного средства повышается в данном участке относительно остального организма.

Следующие примеры получения препаратов иллюстрируют фармацевтические композиции по настоящему изобретению.

Пример получения препарата 1

Подготавливают жесткие желатиновые капсулы, содержащие следующие ингредиенты.

<u>Ингредиент</u>	<u>Количество (мг/капсулу)</u>
Активный ингредиент	30,0
Крахмал	305,0
Стеарат магния	5,0

Указанные выше ингредиенты смешивают и заполняют ими желатиновые капсулы в количестве 340 мг.

Пример получения препарата 2

Формулу таблетки получают с использованием приведенных ниже ингредиентов.

<u>Ингредиент</u>	<u>Количество (мг/капсулу)</u>
Активный ингредиент	25,0
Целлюлоза, микрокристаллическая	200,0
Коллоидный диоксид кремния	10,0
Стеариновая кислота	5,0

Компоненты перемешивают и прессуют с образованием таблеток, каждая из которых весит 240 мг.

Пример получения препарата 3

Получают препарат сухого порошка для ингаляций, содержащий следующие компоненты:

<u>Ингредиент</u>	<u>Масса, %</u>
Активный ингредиент	5,0
Лактоза	95

Активную смесь смешивают с лактозой, и смесь добавляют в устройство для ингаляции сухого порошка.

Пример получения препарата 4

Таблетки, каждая из которых содержит 30 мг активного ингредиента, получают следующим образом.

	<u>Ингредиент</u>	<u>Количество (мг/капсулу)</u>
5	Активный ингредиент	30,0 мг
	Крахмал	45,0 мг
	Микрокристаллическая целлюлоза	35,0 мг
	Поливинилпирролидон (в виде 10%-ного раствора в воде)	4,0 мг
	Карбоксиметилкрахмал натрия	4,5 мг
10	Стеарат магния	0,5 мг
	Тальк	1,0 мг
	Всего	120 мг

Активный ингредиент, крахмал и целлюлозу пропускают через сито с ячейками 20 меш. США и тщательно перемешивают. Раствор поливинилпирролидона смешивают с полученными в результате порошками, которые затем пропускают через сито с ячейками 16 меш США. Полученные таким образом гранулы сушат при 50-60°C и пропускают через сито с ячейками 16 меш США. Карбоксиметилкрахмал натрия, стеарат магния и тальк, ранее пропущенные через сито с ячейками 30 меш США, затем добавляют в гранулы, которые после смешивания прессуют на устройстве для получения таблеток с получением таблеток, каждая из которых весит 150 мг.

Пример получения препарата 5

Капсулы, каждая из которых содержит 40 мг лекарственного средства, получают следующим образом.

	<u>Ингредиент</u>	<u>Количество (мг/капсулу)</u>
	Активный ингредиент	40,0 мг
	Крахмал	109,0 мг
	Стеарат магния	1,0 мг
30	Всего	150,0 мг

Активный ингредиент, целлюлозу, крахмал, стеарат магния перемешивают, пропускают через сито с ячейками 20 меш США, и смесью заполняют жесткие желатиновые капсулы в количестве 150 мг.

Пример получения препарата 5

Суппозитории, каждый из которых содержит 25 мг активного ингредиента, получают следующим образом.

	<u>Ингредиент</u>	<u>Количество</u>
40	Активный ингредиент	25 мг
	Глицериды насыщенных жирных кислот	до 2000 мг

Активный ингредиент пропускают через сито с ячейками 60 меш США и суспендируют в глицеридах насыщенных жирных кислот, ранее расплавленных с использованием минимально необходимой температуры. Затем смесь наливают в форму для суппозиторий с номинальной емкостью 2,0 г, и дают ей остыть.

Пример получения препарата 7

Суспензии, каждая из которых содержит 50 мг лекарственного средства на дозу в 5,0 мл, получали следующим образом.

	<u>Ингредиент</u>	<u>Количество</u>
	Активный ингредиент	50,0 мг
	Ксантановая камедь	4,0 мг

	Карбоксиметилцеллюлоза натрия	(11%)
	Микрокристаллическая целлюлоза (89%)	50,0 мг
	Сахароза	1,75 г
	Бензоат натрия	10,0 мг
5	Вкусовая добавка и краситель	q.v.
	Очищенная вода	до 5,0 мл

10 Лекарственное средство, сахарозу и ксантановую камедь перемешивали, пропускали через сито с ячейками 10 меш США, и затем смешивали с ранее полученным раствором микрокристаллической целлюлозы и карбоксиметилцеллюлозы натрия в воде. Бензоат натрия, вкусовую добавку и краситель растворяли в некотором количестве воды и добавляли при перемешивании. Затем добавляли достаточное для получения требуемого объема количество воды.

15 Пример получения препарата 8

Таблетки из твердого желатина, каждая из которых содержит 15 мг активного ингредиента, получали следующим образом.

	<u>Ингредиент</u>	<u>Количество (мг/капсулу)</u>
20	Активный ингредиент	15,0 мг
	Крахмал	407,0 мг
	Стеарат магния	3,0 мг
	Всего	425,0 мг

25 Активный ингредиент, целлюлозу, крахмал и стеарат магния перемешивали, пропускали через сито с ячейками 20 меш США, и смесью заполняли твердые желатиновые капсулы в количестве 560 мг.

Пример получения препарата 9

30 Препарат для внутривенного введения получали следующим образом.

	<u>Ингредиент</u>	<u>Количество</u>
	Активный ингредиент	250,0 мг
	Изотонический солевой раствор	1000 мл

35 Терапевтические композиции соединения, в общем, помещали в контейнер, имеющий порт стерильного доступа, например в сумку для внутривенного раствора или пузырек, имеющий пробку, которая может прокалываться иглой для подкожной инъекции или сходным острым инструментом.

Пример получения препарата 10

40 Препарат для местного введения может быть получен следующим образом.

	<u>Ингредиент</u>	<u>Количество</u>
	Активный ингредиент	1-10 г
	Эмульгирующий воск	30 г
45	Жидкий парафин	20 г
	Белый мягкий парафин	до 100 г

50 Белый мягкий парафин нагревают до расплавления. В него вводят жидкий парафин и эмульгирующий воск и перемешивают до растворения. Добавляют активный ингредиент и продолжают перемешивание до его распределения. Смесь затем охлаждают до затвердевания.

Другой предпочтительный препарат, используемый в способах по настоящему изобретению, использует устройства чрескожной доставки («пластыри»). Такие

чрезкожные пластыри могут использоваться для предоставления непрерывного или прерывистого вливания соединений по настоящему изобретению в контролируемых количествах. Конструкция и применение чрескожных пластырей для доставки фармацевтических средств хорошо известны в данной области. См., например, патент США № 5023252, выданный 11 июня 1991 г., включенный сюда в качестве ссылки. Такие пластыри могут конструироваться для непрерывной, дискретной доставки фармацевтических средств или их доставки по требованию.

Способы прямого или непрямого помещения могут использоваться, когда желательно или необходимо вводить фармацевтическую композицию в головной мозг. Прямые способы обычно используют помещение катетера для доставки лекарственных средств в систему желудочков организма-хозяина для преодоления гематоэнцефалического барьера. Одна из таких имплантируемых систем доставки, используемая для транспорта биологических факторов в конкретные анатомические области организма, описана в патенте США № 5011472, который включен сюда в качестве ссылки.

Непрямые способы, которые, в общем, предпочтительны, обычно используют получение композиций для предоставления латентных лекарственных средств, которые способны преобразовываться из гидрофильных лекарственных средств в жирорастворимые. Получение латентных средств, в общем, достигается путем блокирования гидроксильной, карбонильной, сульфатной группы и первичной аминогруппы на лекарственном средстве для его приведения в более жирорастворимое состояние и придания способности транспортироваться через гематоэнцефалический барьер. Альтернативно, доставка гидрофильных лекарственных средств может усиливаться путем интраартериальной инфузии гипертонических растворов, которые могут на время открывать гематоэнцефалический барьер.

По одному из аспектов изобретения соединение может вводиться само по себе, в виде комбинации веществ, в комбинации с ремиелинизирующими антителами и/или антителами против альфа-4, или в комбинации с противовоспалительным средством, которое обычно используется для лечения состояний и заболеваний, ассоциированных с демиелинизацией. При введении в комбинации низкомолекулярные соединения могут вводиться в одном препарате с другими соединениями или композициями, или в отдельном препарате. При введении в комбинации ремиелинизирующие средства могут вводиться перед, после или одновременно с введением других соединений и композиций.

Фармацевтические композиции по изобретению подходят для применения в различных системах доставки лекарственных средств. Подходящие для применения по настоящему изобретению препараты находятся в Remington's Pharmaceutical Sciences, Mace Publishing Company, Philadelphia, PA, 17th ed. (1985).

Для увеличения времени полужизни в сыворотке соединения могут инкапсулироваться, вводиться в просвет липосом, могут быть получены в виде коллоида, или могут использоваться другие общепринятые способы, которые обеспечивают продленное время полужизни в сыворотке данных соединений. Доступны различные способы для получения липосом, как описано, например, Szoka et al., патенты США № 4235871, 4501728 и 4837028, каждый из которых введен сюда полностью в качестве ссылки.

Полимерные конъюгаты

Соединения по настоящему изобретению могут быть получены и могут вводиться

в виде полимерных конъюгатов. Полимерные конъюгаты могут характеризоваться преимуществами над неконъюгированными полимерами, такими как повышенная растворимость и стабильность.

5 Как таковые, единичные полимерные молекулы могут использоваться для конъюгации с соединениями по настоящему изобретению, хотя также рассматривается, что также может быть привязано более одной полимерной молекулы. Конъюгированные соединения по настоящему соединению могут найти использование *in vivo*, а также в применениях не *in vivo*. Кроме того, очевидно, что 10 конъюгирующие полимеры могут использовать любые другие группы, радикалы или другие конъюгированные молекулы, в качестве подходящих для конечного применения. Например, в некоторых применениях может использоваться ковалентное связывание полимера с функциональной группой, которая придает 15 устойчивость к УФ или антиоксидантные свойства, или другие свойства или характеристики полимера. Дальнейшим примером преимущества может служить функционализация полимера, которая может сделать его реакционноспособным и гарантировать его перекрестное связывание с молекулой лекарственного средства, а также усилить различные свойства или характеристики всего конъюгированного 20 материала. В соответствии с этим полимер может содержать функциональность, повторяющиеся группы, связи или другие составляющие структуры, которые не препятствуют эффективности композиции конъюгированных соединений по настоящему изобретению в плане назначенной для них цели.

Иллюстративные полимеры, которые могут использоваться для достижения 25 данных требуемых характеристик, описаны выше, а также в РСТ WO 01/54690 (выданном Zheng et al.), включенном сюда полностью в качестве ссылки. Полимер может быть присоединен к соединениям по настоящему изобретению (предпочтительно через линкерную группу) с образованием стабильных связей, 30 которые значимо не отщепляются ферментами человека. В общем, чтобы связь была «значимо» не отщепляемой, требуется, чтобы не более 20% связей, связывающих полимер и соединения по настоящему изобретению, к которым присоединен полимер, расщеплялось в течение 24 часов, что измеряется стандартными 35 способами, известными в данной области, включающими в себя в качестве неограничивающих примеров высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ).

Соединения по настоящему изобретению конъюгируют наиболее предпочтительно через терминальную реакционноспособную группу полимера, хотя 40 конъюгаты можно также разветвлять от нетерминальных реакционноспособных групп. Полимер с реакционноспособной(-ыми) группой(-ами) обозначается здесь как «активированный полимер». Реакционноспособная группа селективно взаимодействует с реакционноспособными группами на соединениях по настоящему изобретению. Активированный(-ые) полимер(-ы) взаимодействуют так, что может 45 произойти присоединение в любой доступной функциональной группе на соединениях по настоящему изобретению. Аминогруппы, углеродные, свободные гидроксильные группы, подходящим образом активированные карбонильные группы, гидроксил, гуанидин, окисленные углеводные группы, аминокгруппы, 50 углеродные и меркаптогруппы соединений по настоящему изобретению (если они доступны) могут использоваться в качестве участков присоединения.

В общем, используется примерно от 1,0 до 10 моль активированного полимера на моль соединений по настоящему изобретению, в зависимости от концентрации.

Конечное количество представляет собой баланс между максимизацией степени взаимодействия и минимизацией неспецифических модификаций продукта, и, в то же время, определение химических способов, которые сохранят оптимальную активность, при оптимизации, в то же время, полужизни соединений по настоящему изобретению. Предпочтительно, по меньшей мере, примерно 50% биологической активности соединений по настоящему изобретению сохраняется, и, наиболее предпочтительно, сохраняется 100%.

Взаимодействия могут осуществляться любым известным в данной области способом, использованным для взаимодействия биологически активных материалов с инертными полимерами. В общем, данный процесс задействует получение активированного полимера и последующее взаимодействие соединений по настоящему изобретению с активированным полимером для продукции растворимого соединения, подходящего для получения препарата. Данная реакция модификации может осуществляться различными способами, которые могут задействовать одну или нескольких стадий. Включенные сюда полимерные вещества предпочтительно растворимы в воде при комнатной температуре. Неограничивающий список таких полимеров включает в себя полиалкиленоксидгомополимеры, такие как полиэтиленгликоль (ПЭГ) или полипропиленгликоли, полиоксиэтиленированные полиолы, их сополимеры и блоксополимеры, при обеспечении того, что сохраняется растворимость блоксополимеров в воде.

В предпочтительном воплощении настоящего изобретения полиалкиленгликолевые остатки C₁-C₄-алкилполиалкиленгликолей, предпочтительно, полиэтиленгликоля (ПЭГ), или поли(окси)алкиленгликолевые остатки таких гликолей преимущественно вводятся в состав интересующих полимерных систем. Так, полимер, к которому присоединяются соединения по настоящему изобретению, может представлять собой гомополимер полиэтиленгликоля (ПЭГ) или полиоксиэтиленированного полиола, при обеспечении того, что в любом случае полимер растворим в воде при комнатной температуре. Неограничивающие примеры таких полимеров включают в себя полиалкиленоксидгомополимеры, такие как ПЭГ или полипропиленгликоли, полиоксиэтиленированные гликоли, их сополимеры и их блоксополимеры, при обеспечении того, что сохраняется растворимость блоксополимеров в воде.

Примеры полиоксиэтилированных полиолов включают в себя в качестве неограничивающих примеров полиоксиэтилированный глицерин, полиоксиэтилированный сорбит, полиоксиэтилированную глюкозу или подобные им. Глицериновый скелет полиоксиэтилированного глицерина является тем же скелетом, что встречается в природе, например, у животных и людей в моно-, ди- и триглицеридах. Поэтому данное разветвление не обязательно будет рассматриваться в организме как чужеродный агент.

Обычным специалистам в данной области понятно, что предшествующий список является сугубо иллюстративным, и что здесь рассматриваются все полимерные материалы, имеющие описанные здесь качества. Полимер не обязательно имеет какую-либо конкретную молекулярную массу, но предпочтительно, чтобы молекулярная масса составляла от 300 до 100000, более предпочтительно, от 10000 до 40000. В частности, размеры от 20000 и более наиболее эффективны в плане предотвращения потери продукта вследствие фильтрации в почках.

Полиэтиленгликоль (ПЭГ) и родственные полиаоксиленоксиды (РАО) известны в

данной области как подходящие вспомогательные вещества для получения лекарственных средств. См., например, РСТ WO 93/24476. ПЭГ также конъюгировали с белками, пептидами и ферментами для повышения растворимости в воде и времени жизни в циркуляции *in vivo*, а также для снижения антигенности.

5 См., например, патенты США № 5298643 и 5321095, причем оба выданы Greenwald et al. В РСТ WO 93/24476 описано применение сложноэфирной связи для ковалентного связывания органической молекулы с водорастворимыми полиэтиленгликолями. Таким образом, соединение по изобретению предпочтительно вводят в качестве производных полиэтиленгликоля (ПЭГ).

10 Как таковые, соединения или конъюгаты по данному изобретению могут содержать один или несколько заместителей полиэтиленгликоля (ПЭГ), ковалентно присоединенных к ним. Такие конъюгаты демонстрируют увеличенное время полужизни в сыворотке, по сравнению с соединениями, не имеющими полиэтиленгликолевых заместителей. Без ограничения какой-либо теории полагают, что улучшенное время полужизни в сыворотке ассоциировано с ковалентной конъюгацией, по меньшей мере, одной полиэтиленгликолевой группы со структурой соединения.

20 Термин «ПЭГ» относится к полимерам, включающим в себя множественные оксиалкиленовые единицы. Такие полимеры необязательно связаны с одним заместителем, предпочтительно выбранным из группы, выбранной из алкила, арила, замещенного алкила и замещенного арила. В состав данных полимеров входят те связанные с двумя аминогруппами полиоксиалкиленовыми полимерами, которые известны в данной области как Jeffamines®. Кроме того, такие полимеры могут необязательно содержать одну или несколько неоксиалкиленовых единиц, таких как коммерчески доступные поли[ди(этиленгликоль)адипат, поли[ди(этиленгликоль)фталатдиолы, и тому подобное.

30 Под производным ПЭГ подразумевается полиэтиленгликолевый полимер, в котором одна или обе терминальных гидроксильных группы, находящихся в полиэтиленгликоле, модифицированы. Примеры подходящих модификаций включают в себя замещение одной или обеих гидроксильных групп альтернативными функциональными группами, которые могут быть защищенными или незащищенными низкомолекулярными лигандами, или другой макромолекулой или полимером. Модификация терминальных гидроксильных групп в полиэтиленгликоле может достигаться путем взаимодействия полиэтиленгликоля с соединениями, включающими в себя комплементарные реакционноспособные функциональные группы, включающие функциональные группы, которые могут претерпевать взаимодействие с гидроксильными группами полиэтиленгликоля. ПЭГ-производные соединений по настоящему изобретению могут содержать один или несколько полиэтиленгликолевых (ПЭГ) заместителей, ковалентно присоединенных к ним путем связывающей группы.

45 «Связывающая группа» или «линкер» относится к группе или группам, которые ковалентно связывают не замещенное ПЭГ соединение по настоящему изобретению с одной или несколькими группами ПЭГ. Каждый линкер может быть хиральным или ахиральным, линейным, разветвленным или циклическим и может быть гомогенным или гетерогенным по их атомарному содержанию (например, линкеры, содержащие только атомы углерода, или линкеры, содержащие углеродные атомы, а также один или несколько гетероатомов, присутствующих на линкере).

50 Группа или группы ПЭГ ковалентно связаны с линкером с использованием

общепринятых химических способов, предоставляющих ковалентную связь ПЭГ-группы с линкером. Линкер, в свою очередь, может ковалентно связываться с другими, не замещенными ПЭГ соединениями по настоящему изобретению.

Химические способы взаимодействия, результатом которых являются такие связи, хорошо известны в данной области. Такие химические способы взаимодействия охватывают применение функциональных групп на линкере, не замещенное ПЭГ соединение и группы ПЭГ. Предпочтительно, комплементарные функциональные группы на линкере выбраны относительно функциональных групп, доступных на группе ПЭГ для связывания, или тех, которые могут быть введены на группы ПЭГ для связывания. Такие комплементарные функциональные группы также хорошо известны в данной области.

Такие полимеры имеют среднюю молекулярную массу примерно от 100 до 100000; предпочтительно, примерно от 1000 до 50000; более предпочтительно, примерно от 10000 до 40000.

5. Иммуноглобулины

В одном из конкретных осуществлений средства по изобретению представляют собой иммуноглобулины, которые при введении пациенту ингибируют демиелинизацию, и/или способствуют демиелинизации и/или снижают паралич. Данные иммуноглобулины могут быть выбраны из иммуноглобулинов, которые селективно связываются с альфа-4-интегрином или димером, включающим в себя альфа-4-интегрин, таким как альфа-4-бета-1, или связываются с VCAM-1. Предпочтительно, иммуноглобулины связываются с альфа-4-бета-1 и ингибируют активность альфа-4-бета-1. Иммуноглобулины предпочтительно представляют собой антитела или их фрагменты.

Под «антителами» подразумеваются полноразмерные иммуноглобулины, такие как IgG1 (или любой субкласс IgG) или IgM, или ингибиторы, происходящие от антител, такие как натализумаб (Antegren®).

Под «гомологом антитела» подразумеваются интактные антитела, состоящие из легких и тяжелых цепей иммуноглобулинов, связанных дисульфидными связями. Термин «гомолог антитела» также, как подразумевается, охватывает белок, включающий в себя один или несколько полипептидов, выбранных из легких цепей иммуноглобулинов, тяжелых цепей иммуноглобулинов, и их антигенсвязывающих фрагментов, которые способны связываться с одним или несколькими антигенами (т.е. интегрином или интегриновым лигандом). Полипептиды-компоненты гомолога антитела, состоящего более чем из одного полипептида, могут необязательно быть связаны дисульфидными мостиками или, иначе, ковалентно перекрестно связаны. Соответственно, поэтому «гомологи антитела» включают в себя интактные иммуноглобулины типов IgA, IgG, IgE, IgD, IgM (а также их субтипов, например, IgG1), где легкие цепи иммуноглобулинов могут относиться к типам каппа или лямбда. «Гомологи антитела» также включают в себя части интактных антител, которые сохраняют антигенсвязывающую специфичность, например Fab-фрагменты, Fab'-фрагменты, F(ab')₂-фрагменты, Fv-фрагменты, scFv-фрагменты, мономеры тяжелых и легких цепей, или их димеры или смеси.

Когда средство по изобретению представляет собой антитело, предпочтительным антителом является моноклональное антитело. В отличие от препаратов поликлонального антитела, которые обычно содержат различные антитела, направленные против различных эпитопов, каждое моноклональное антитело направлено против единичного эпитопа антигена. Второе преимущество

моноклональных антител состоит в том, что они синтезируются средствами, которые обеспечивают отсутствие контаминации другими иммуноглобулинами, например, посредством фагового дисплея или выделения гибридомы. Хотя настоящее изобретение, как подразумевается, относится и к поликлональным, и к 5 моноклональным антителам в качестве средств по изобретению, моноклональные антитела являются предпочтительными, поскольку они высоко специфичны, и изобретение, таким образом, преимущественно обсуждается в плане моноклональных антител.

10 «Нативные антитела и иммуноглобулины» обычно представляют собой гетеротетрамерные гликопротеины массой примерно 150000 дальтон, состоящие из двух идентичных легких (L) цепей и двух идентичных тяжелых (H) цепей. Каждая легкая цепь связана с тяжелой цепью одной ковалентной дисульфидной связью, в то время как число дисульфидных связей изменяется в тяжелых цепях разных изотипов 15 иммуноглобулинов. Каждая тяжелая и легкая цепь также содержит регулярно расположенные дисульфидные мостики между цепей. Каждая тяжелая цепь на одном конце имеет вариабельный домен (V_H), за которым следует некоторое количество константных доменов. Каждая легкая цепь имеет вариабельный домен с одного 20 конца (V_L) и константный домен с другого конца; константный домен легкой цепи выровнен с первым константным доменом тяжелой цепи, а вариабельный домен легкой цепи выровнен с вариабельным доменом тяжелой цепи. Конкретные аминокислотные остатки, как полагают, образуют поверхность раздела между вариабельными доменами легкой и тяжелой цепи (Clothia et al., 1985, J. Mol. Biol., 25 186: 651-63; Novotny et al., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 4592-6).

Кроме того, другие антитела могут быть идентифицированы с использованием способов, доступных в данной области. Например, моноклональные антитела по 30 настоящему изобретению могут продуцироваться с использованием технологии фагового дисплея. Затем выделяют фрагменты антител, которые селективно связываются с альфа-4-интегрином или димером, включающим в себя альфа-4-интегрин. Типовые предпочтительные способы продукции таких антител посредством фагового дисплея описаны в патентах США № 6225447; 6180336; 6172197; 6140471; 5969108; 5885793; 5872215; 5871907; 5858657; 5837242; 5733743 35 и 5565332.

«Вариант» антитела относится здесь к молекуле иммуноглобулина, которая отличается по аминокислотной последовательности от аминокислотной 40 последовательности «родительского» антитела посредством добавления, делеции и/или замены одного или нескольких аминокислотных остатков в последовательности родительского антитела. Родительское антитело или иммуноглобулин может представлять собой поликлональное антитело, моноклональное антитело, гуманизированное антитело, приматизированное® 45 антитело или другой фрагмент антитела. В предпочтительном осуществлении вариант включает в себя одну или несколько аминокислотных замен в одной или нескольких гипервариабельных областях родительского антитела. Например, вариант может включать в себя, по меньшей мере, одну, например примерно от одной до десяти, и, предпочтительно, примерно от двух до пяти замен в одной или 50 нескольких гипервариабельных областях родительского антитела. Обычно вариант имеет аминокислотную последовательность, характеризующуюся, по меньшей мере, 75%-ной аминокислотной идентичностью в отношении последовательностей вариабельного домена тяжелой или легкой цепи родительского антитела, более

предпочтительно, по меньшей мере, 80%-ной, более предпочтительно, по меньшей мере, 85%-ной, более предпочтительно, по меньшей мере, 90%-ной, и, наиболее предпочтительно, по меньшей мере, 95%-ной идентичностью. Идентичность или гомология в отношении данной последовательности определяется здесь как процент аминокислотных остатков в последовательности-кандидате, которые идентичны в отношении остатков родительского антитела, после выравнивания последовательностей и введения вставок для достижения максимальной процентной идентичности последовательности, если это необходимо. Не следует рассматривать какие-либо N-концевые, C-концевые или внутренние продления, делеции или вставки в последовательность антитела как изменения, воздействующие на идентичность или гомологию последовательности. Вариант сохраняет способность связывать рецептор и предпочтительно характеризуется свойствами, которые превосходят таковые родительского антитела. Например, вариант может характеризоваться более высоким сродством связывания, усиленной способностью активировать рецептор и т.д. Для анализа данных свойств следует сравнивать Fab-форму варианта с Fab-формой родительского антитела или полноразмерную форму варианта с полноразмерной формой родительского антитела. Вариант антитела, представляющий здесь особый интерес, является тем, который демонстрирует, по меньшей мере, примерно 10-кратное, предпочтительно, по меньшей мере, примерно 20-кратное, и, наиболее предпочтительно, по меньшей мере, примерно 50-кратное усиление биологической активности по сравнению с родительским антителом. «Родительское антитело» здесь представляет собой антитело, которое кодируется аминокислотной последовательностью, использованной для получения варианта. Предпочтительно, родительское антитело имеет человеческую каркасную область и имеет константную(-ые) область(-и) человеческого антитела. Например, родительское антитело может быть гуманизированным или человеческим антителом. «Выделенное» антитело является тем, которое идентифицировано и отделено, и/или выделено из компонента его природного окружения. Компоненты-примеси его природного окружения являются веществами, которые препятствуют с диагностическими и терапевтическими применениями антитела, и могут включать в себя ферменты, гормоны и другие белковые или небелковые растворенные вещества. В предпочтительных вариантах осуществления антитело очищено (1) до чистоты, составляющей более 95% по массе антитела, что определяется способом Лоури, и, наиболее предпочтительно, более 99% по массе, (2) до степени, достаточной для получения, по меньшей мере, 15 остатков N-концевой или внутренней аминокислотной последовательности путем использования секвенатора с вращающейся кюветой, или (3) до гомогенности, определяемой SDS-PAGE в восстанавливающих или невосстанавливающих условиях с использованием Кумасси голубого, или, предпочтительно, окраски серебром. Выделенное антитело включает в себя антитело *in situ* с рекомбинантными клетками, если, по меньшей мере, один компонент природного окружения антитела отсутствует. Однако обычно выделенные антитела получают, по меньшей мере, посредством одной стадии очистки.

5.1. Моноклональные антитела

Моноклональные антитела также могут продуцироваться с использованием общепринятых способов с гибридомой или путем генной инженерии. Данные способы широко применяются для продукции гибридных клеточных линий, которые секретируют большие концентрации моноклональных антител против многих

конкретных антигенов, и также могут использоваться для продукции моноклональных антител по настоящему изобретению. Например, мыши (например, мыши Balb/c) могут иммунизироваться антигенным эпитопом альфа-4 путем внутрибрюшинной инъекции. По прохождении достаточного для обеспечения иммунного ответа времени мышей умерщвляют, и получают клетки селезенки и сливают их с миеломными клетками с использованием способов, хорошо известных в данной области. Полученные в результате клетки слияния, гибридомы, затем выращивают на селективной среде, и выживающие клетки выращивают на такой среде с использованием условий ограничивающих разведений. После клонирования и повторного клонирования могут выделяться гибридомы, которые секретируют антитела (например, классов IgG или IgM, или подкласса IgG1), которые селективно связываются с мишенью, альфа-4 или димером, содержащим интегрин альфа-4. Для продукции средств, специализированных для использования человеком, выделенные моноклональные антитела могут затем использоваться для продукции химерных и гуманизированных антител. Также могут быть получены антитела, которые являются антипептидными. Такие антипептидные антитела получают против пептидов альфа-4-интегрина.

Термин «химерный», когда он относится к средству по изобретению, означает, что данное средство включает в себя связь (химическую перекрестную связь ковалентного или другого типа) двух или большего числа белков, имеющих отдельные структуры и/или имеющих отдельные источники происхождения. Таким образом, химерный антагонист интегрин альфа-4 может включать в себя один радикал, который представляет собой антагонист интегрин альфа-4 или его фрагмент, и другой радикал, который не представляет собой антагонист интегрин альфа-4.

Видом «химерного белка» является «слияние» или «белок слияния», который относится к коллинеарной ковалентной связи двух или большего числа белков или их фрагментов посредством их отдельных пептидных скелетов, наиболее предпочтительно, путем генной экспрессии полинуклеотидной молекулы, кодирующей данные белки. Таким образом, предпочтительные белки слияния представляют собой химерные белки, которые включают в себя ремиелинизирующее антитело или его фрагмент, ковалентно связанный со вторым радикалом, который не имеет происхождения, сходного с ремиелинизирующим антителом (т.е. который происходит от другого иммуноглобулина или полипептида). Предпочтительные белки слияния по изобретению включают в себя части интактных антител, которые сохраняют антигенсвязывающую специфичность, например Fab-фрагменты, Fab'-фрагменты, F(ab')₂-фрагменты, Fv-фрагменты, scFv-фрагменты, мономеры или димеры тяжелых цепей, мономеры или димеры легких цепей, димеры, состоящие из одной тяжелой и одной легкой цепи, и тому подобное.

Наиболее предпочтительные белки слияния являются химерными и содержат ремиелинизирующий радикал, слитый или иначе связанный со всеми или частичными шарнирной и константной областями иммуноглобулиновой легкой цепи, тяжелой цепи или обеих. Так, данное изобретение относится к молекуле, которая включает в себя: (1) ремиелинизирующий радикал, (2) второй пептид, например, который повышает растворимость или время жизни *in vivo* ремиелинизирующего радикала, например представитель иммуноглобулинового суперсемейства, или его фрагмент или его часть, например часть или фрагмент IgG, например константная область тяжелой цепи человеческого IgG1, например CH₂, CH₃, и шарнирные области.

Конкретно, «слияние ремиелинизирующего радикала/Ig» представляет собой белок, содержащий биологически активный ремиелинизирующий радикал по изобретению. Видом ремиелинизирующего средства является «слияние интегрин/Fc», который представляет собой белок, содержащий ремиелинизирующий иммуноглобулин по изобретению, связанный, по меньшей мере, с частью константного домена иммуноглобулина. Предпочтительный белок слияния с Fc включает в себя иммуноглобулин по изобретению, связанный с фрагментом антитела, содержащего С-концевой домен тяжелых цепей иммуноглобулина.

Термин «белок слияния» также означает ремиелинизирующий радикал, который химически связан через моно- или гетерофункциональную молекулу со вторым радикалом, который не является ремиелинизирующим радикалом (результатом чего является «химерная» молекула) и получен *de novo* из очищенного белка, как описано ниже. Так, одним из примеров химически связанной, в отличие от рекомбинантно связанной, химерной молекулы, является белок слияния, который может включать в себя: (1) радикал, мишенью которого является интегриновая субъединица альфа-4, например радикал VCAM-1, способный связываться с VLA-4 на поверхности несущих VLA-4 клеток; (2) вторую молекулу, которая увеличивает растворимость или время жизни *in vivo* направленной молекулы, например полиалкиленгликолевого полимера, такого как полиэтиленгликоль (ПЭГ). Молекула, мишенью которой является альфа-4, может представлять собой любой встречающийся в природе лиганд альфа-4 или его фрагмент, например пептид VCAM-1 или сходную консервативно замещенную аминокислотную последовательность.

Химерные, приматизированные® и гуманизированные антитела могут продуцироваться из антител, не относящихся к человеку, и могут иметь то же или сходное средство связывания, как антитело, из которого они продуцируются. Могут использоваться способы, разработанные для продукции химерных антител (Morrison et al., 1984 Proc. Natl. Acad. Sci. 81: 6851; Neuberger et al., 1984 Nature 312: 604; Takeda et al., 1985 Nature 314: 452) путем сплайсинга генов из молекулы мышинового антитела с подходящей специфичностью против антигена, с генами, например, из молекулы человеческого антитела с подходящей биологической активностью; такие антитела входят в объем изобретения. Например, нуклеиновая кислота, кодирующая переменную (V) область мышинового моноклонального антитела, может присоединяться к нуклеиновой кислоте, кодирующей человеческую константную (C) область, например, IgG1 или IgG4. Полученное в результате антитело, таким образом, представляет собой гибрид видов, в общем, с антигенсвязывающим доменом из антитела, не относящегося к человеку, и С- или эффекторным доменом из человеческого антитела.

Гуманизированные антитела представляют собой антитела с переменными областями, которые преимущественно происходят из человеческого антитела (акцепторное антитело), но которые имеют определяющие комплементарность области, происходящие по существу из антитела, не относящегося к человеку (донорное антитело). См., например, Queen et al., 1989 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 10029-33; WO 90/07861; и патенты США № 6054297; 5693761; 5585089; 5530101 и 5224539. Константная область или области данных антител, в основном, также происходят из человеческого антитела. Человеческие переменные домены обычно выбраны из человеческих антител, имеющих последовательности, характеризующиеся высокой степенью гомологии в отношении требуемых связывающих переменных доменов, не относящихся к человеку. Остатки

вариабельных областей тяжелой и легкой цепи могут происходить из одного и того же антитела, или из другого человеческого антитела. Кроме того, последовательности могут быть выбраны как консенсус нескольких человеческих антител, такой как описано в WO 92/22653.

5 Конкретные аминокислоты в вариабельной области человека выбирают для замены, основываясь на предсказанной конформации и антигенсвязывающих свойствах. Это можно определить с использованием способов, таких как компьютерное моделирование, предсказание поведения и связывающих свойств
10 аминокислот в определенных участках в пределах вариабельной области, и наблюдение эффектов замены. Например, когда аминокислота отличается в вариабельной области, не относящейся к человеку, по сравнению с человеческой вариабельной областью, человеческая вариабельная область может изменяться так, чтобы она отражала аминокислотный состав вариабельной области, не относящейся
15 к человеку. Здесь описаны некоторые примеры гуманизации антител против альфа-4.

Под «гомологом гуманизованного антитела» подразумевается гомолог антитела, продуцированный путем технологии рекомбинантной ДНК, в котором некоторые или все аминокислоты человеческой иммуноглобулиновой легкой или
20 тяжелой цепи, которые не требуются для связывания антигена, замещены на соответствующие аминокислоты иммуноглобулиновой легкой или тяжелой цепи, не относящейся к человеку. «Гомолог человеческого антитела» представляет собой гомолог антитела, в котором все аминокислоты легкой или тяжелой цепи иммуноглобулина (независимо от того, требуются ли они для связывания антигена)
25 происходят из человеческого источника.

В конкретном осуществлении антитела, используемые в постоянном режиме дозировки по настоящему изобретению, представляют собой гуманизованные антитела, описанные в патенте США № 5840299, который включен сюда в качестве
30 ссылки.

В другом осуществлении трансгенные мыши, содержащие гены человеческого антитела, могут иммунизироваться антигенной альфа-4-структурой, и гибридная технология может использоваться для получения человеческих антител, которые селективно связываются с альфа-4.

35 Химерные, человеческие и/или гуманизованные антитела могут продуцироваться посредством рекомбинантной экспрессии, например экспрессии в человеческих гибридомах (Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985)), в миеломных клетках или в клетках яичника китайского хомячка (СНО). Альтернативно, последовательности, кодирующие антитела, могут
40 включаться в состав векторов, подходящих для введения в геном животных, с продукцией таким образом трансгенного животного. Одним из примеров является продукция таких антител в молоко трансгенного животного, такого как крупный рогатый скот. См., например, патент США № 5849992 и 5304489. Подходящие
45 трансгены включают в себя трансгены, имеющие промотор и/или энхансер из специфического гена молочной железы, например казеина или β -лактоглобулина.

5.1.1. Гуманизованные и приматизированные® антитела

В одном из вариантов осуществления изобретения предоставляются
50 гуманизованные (и приматизированные®) иммуноглобулины (или антитела), специфичные в отношении альфа-4-субъединицы VLA-4, которые при введении в эффективном количестве ингибируют демиелинизацию и/или способствуют ремиелинизации и/или снижают паралич. Гуманизованные и приматизированные

антитела представляют собой антитела животного происхождения (обычно из млекопитающих), которые модифицированы с использованием способов генной инженерии. Данные способы используются для замены константной области и/или каркасных последовательностей вариабельной области человеческими последовательностями, при сохранении исходной специфичности антитела в отношении антигена. Гуманизированные и приматизированные® антитела обычно происходят от антител грызуна (например, мыши и хомяка) со специфичностью в отношении человеческих антигенов (например, человеческого VCAМ-1 или человеческого VLA-4). Путем видоизменения донорного антитела (антитела животного, которому вводится антиген), так чтобы оно имело последовательности из животного, которому будет вводиться данное антитело для терапевтических целей, у этого животного будет снижен ответ хозяина после введения данного антитела. Только Fc-области или вся последовательность, кроме определяющих комплементарность областей (CDR), могут замещаться акцепторными доменами, где акцептором является животное, которому надлежит ввести видоизмененное антитело (например, млекопитающие, такие как люди, одомашненные животные, сельскохозяйственные животные и тому подобное).

Предпочтительными являются антитела, связывающиеся с субъединицей альфа-4 VLA-4, которые при введении пациенту в эффективном количестве ингибируют демиелинизацию. Более предпочтительными являются те антитела, которые при введении в эффективном количестве индуцируют ремиелинизацию и/или снижают паралич у субъекта, когда данный субъект страдает от демиелинизирующего заболевания или состояния.

Обычно CDR мышинового антитела трансплантируют в соответствующие области в человеческом антителе, поскольку именно CDR (т.е. три участка в тяжелой цепи антитела, три в легкой цепи), представляющие собой области мышинового антитела (или любого другого антитела животного) связываются со специфическим антигеном. Трансплантация CDR достигается посредством генной инженерии, посредством чего ДНК-последовательности CDR определяют путем клонирования генных сегментов вариабельных (V) областей мышинных тяжелых и легких цепей, и их затем переносят на соответствующие человеческие V-области путем сайт-специфического мутагенеза. На конечной стадии процесса добавляют сегменты гена константной области человека требуемого изотипа (обычно гамма I для C_H и каппа для C_L), и гуманизированные гены легких и тяжелых цепей совместно экспрессируют в клетках млекопитающих для продукции растворимых гуманизированных антител.

Перенос данных CDR на человеческое антитело дает данному антителу антигенсвязывающие свойства исходного мышинового антитела. Шесть CDR в мышинном антителе структурно монтируют в каркасную область V-области. Причина успешности пересадки CDR состоит в том, что каркасные области между мышинными и человеческими антителами могут иметь очень сходные 3-D структуры со сходными точками прикрепления CDR, так что CDR могут быть обменены. Такие гомологи гуманизированных антител могут быть получены, как описано, например, в Jones et al., 1986, Nature 321: 522-5; Riechmann et al., 1988, Nature 332: 323-7; Queen et al., 1989, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 86: 10029; и Orlandi et al., 1989, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 86: 3833.

Тем не менее, некоторые аминокислоты в пределах каркасных областей, как полагают, взаимодействуют с CDR и влияют на общую связывающую активность в отношении антигена. Прямой перенос CDR из мышинового антитела для продукции

рекомбинантного гуманизированного антитела без каких-либо модификаций каркасов человеческой V-области часто приводит к частичной или полной потере сродства связывания. В некоторых случаях оказывается критическим изменение остатков в каркасных областях акцепторного антитела (например, человеческого антитела) для достижения связывающей активности.

Queen et al., 1989 (выше) и WO 90/07861 (Protein Design Labs) описали получение гуманизированного антитела, которое содержит модифицированные остатки в каркасных областях акцепторного антитела путем комбинации CDR мышинового MAб (анти-Tac) с каркасными и константными областями человеческого иммуноглобулина. Одно из решений проблемы потери сродства связывания без какой-либо модификации каркасных областей человеческой V-области охватывает два ключевых этапа. Во-первых, путем компьютерного анализа выбирают человеческие каркасные V-области на предмет оптимальной гомологии белковой последовательности в отношении каркаса V-области исходного мышинового антитела. На второй стадии моделируют на компьютере третичную структуру мышиной V-области для визуализации каркасных аминокислотных остатков, которые, вероятно, взаимодействуют с мышинными CDR. Данные мышинные аминокислотные остатки затем накладывают на гомологичный человеческий каркас. Для дополнительных подробностей, см. патенты США № 5693762; 5693761; 5585089 и 5530101 (Protein Design Labs).

Некоторые содержащие альфа-4-субъединицу интегриновые антагонисты, которые могут использоваться по настоящему изобретению, включают в себя гомологи химерных и гуманизированных рекомбинантных антител (т.е. интактные иммуноглобулины и их части) со специфичностью в отношении B-эпитопов, которые были получены и описаны в патенте США № 5932214 (MAbHP1/2). Исходный материал для получения гомологов химерных (мышинная переменная часть - человеческая константная) и гуманизированных антител против интегринов может представлять собой мышинное моноклональное антитело против интегринина, описанное ранее, коммерчески доступное моноклональное антитело против интегринина (например, HP2/1, Amac International, Inc., Westbrook, Мэн). Другие предпочтительные гуманизированные гомологи антител против VLA-4 описаны Athena Neurosciences, Inc. в PCT/US95/01219 (27 июля 1995 г.), патенте США № 5840299 и 6033665. Содержание патентов 5932214, 5840299 и 6033665 включено сюда полностью в качестве ссылки.

Данные гуманизированные антитела против VLA-4 включают в себя гуманизированную легкую цепь и гуманизированную тяжелую цепь. Гуманизированная легкая цепь включает в себя три определяющих комплементарность области (CDR1, CDR2 и CDR3), имеющие аминокислотные последовательности из соответствующих определяющих комплементарность областей легкой цепи мышинового иммуноглобулина 21.6, и каркас переменной области из каркасной последовательности переменной области человеческой легкой каппа цепи, кроме того, что, по меньшей мере, в одном положении аминокислотное положение занято той же аминокислотой, что присутствует в эквивалентном положении переменной области легкой цепи мышинового иммуноглобулина 21.6. Гуманизированная тяжелая цепь включает в себя три определяющих комплементарность области (CDR1, CDR2 и CDR3), имеющие аминокислотные последовательности из соответствующих определяющих комплементарность областей тяжелой цепи мышинового иммуноглобулина 21.6, и

каркас вариабельной области из каркасной последовательности вариабельной области человеческой тяжелой цепи, кроме того, что, по меньшей мере, в одном положении аминокислотное положение занято той же аминокислотой, что присутствует в эквивалентном положении вариабельной области тяжелой цепи мышинового иммуноглобулина 21.6. См. патенты США № 5840299 и 6033665.

Фрагменты выделенного антагониста против альфа-4-интегрина (например, фрагменты описанных здесь гомологов антител) также могут эффективно продуцироваться рекомбинантными способами, путем протеолитического расщепления, или путем химического синтеза с использованием способов, известных специалистам в данной области. По рекомбинантным способам внутренние или концевые фрагменты полипептида могут генерироваться посредством удаления одного или нескольких нуклеотидов с одного конца (для концевого фрагмента) или обоих концов (с внутреннего фрагмента) последовательности ДНК, который кодирует выделенный каркасный полипептид. Экспрессия мутированной ДНК приводит к продукции полипептидных фрагментов. Расщепление некоторыми эндонуклеазами может также генерировать ДНК, которые кодируют набор фрагментов. ДНК, которые кодируют фрагменты белка, могут также генерироваться путем случайной нарезки, рестрикционного расщепления или их комбинации. Белковые фрагменты могут генерироваться непосредственно из интактных белков. Пептиды могут специфично расщепляться протеолитическими ферментами, включающими в себя в качестве неограничивающих примеров плазмин, тромбин, трипсин, химотрипсин или пепсин. Каждый из данных ферментов специфичен в плане типа пептидной связи, которую он атакует. Трипсин катализирует гидролиз пептидных связей, в которых карбонильная группа относится к основной аминокислоте, обычно аргинину или лизину. Пепсин и химотрипсин катализируют гидролиз пептидных связей от ароматических аминокислот, например триптофана, тирозина и фенилаланина. Альтернативные наборы расщепленных белковых фрагментов образуются путем предотвращения расщепления в участке, который чувствителен к протеолитическому ферменту. Например, взаимодействие ϵ -аминогруппы аминокислоты лизина с этилтрифтороацетатом в слабо основном растворе приводит к блокированию данных аминокислотных остатков, прилегающая к которым пептидная связь больше не чувствительна к гидролизу трипсином. Белки могут модифицироваться для создания пептидных связей, которые чувствительны к протеолитическим ферментам. Например, алкилирование цистеиновых остатков β -галогенэтиламинами дает пептидные связи, которые гидролизуются трипсином (Lindley, 1956, Nature 178: 647). Кроме того, могут использоваться химические реагенты, которые расщепляют пептидные цепи в конкретных остатках. Например, бромциан расщепляет пептиды у остатков метионина (Gross et al., 1961, J. Am. Chem. Soc. 83: 1510). Таким образом, путем обработки белков различными комбинациями модификаторов, протеолитических ферментов и/или химических реагентов, белки могут разделяться на фрагменты требуемой длины без перекрывания с другими фрагментами, или могут подразделяться на перекрывающиеся фрагменты требуемой длины.

5.1.1.1. Натализумаб и родственные гуманизированные антитела

Изобретение относится к способу применения гуманизированных иммуноглобулинов, которые специфично связываются с лигандом VLA-4, отдельно или в комбинации для стимуляции ремиелинизации. Одно из предпочтительных антител для применения по таким способам лечения и в лекарственных средствах

включает в себя антитело, описанное в патенте США № 5840299, перепорученном Elan Pharmaceuticals, который включен сюда полностью в качестве ссылки. В другом аспекте рассматривается применение фрагментов данных антител с ремиелинизирующей активностью, при ее оценке *in vivo*.

5 Гуманизированные антитела включают в себя гуманизованную легкую цепь и гуманизованную тяжелую цепь. В одном из аспектов гуманизованная легкая цепь может включать в себя три определяющих комплементарности области (т.е. CDR1, CDR2 и CDR3), имеющих аминокислотные последовательности от
10 соответствующих определяющих комплементарности областей легкой цепи мышинового иммуноглобулина 21-6, и каркас вариабельной области из каркасной последовательности вариабельной области человеческой легкой цепи каппа, кроме того, что, по меньшей мере, в одном положении, выбранном из первой группы, состоящей из положений L45, L49, L58 и L69, аминокислотное положение занято той
15 же аминокислотой, что присутствует в эквивалентном положении каркаса вариабельной области легкой цепи мышинового иммуноглобулина 21.6.

Гуманизованная тяжелая цепь включает в себя три определяющих комплементарности области (т.е. CDR1, CDR2 и CDR3), имеющих аминокислотные последовательности от соответствующих определяющих комплементарности
20 областей тяжелой цепи мышинового иммуноглобулина 21-6, и каркас вариабельной области из каркасной последовательности вариабельной области человеческой тяжелой цепи, кроме того, что, по меньшей мере, в одном положении, выбранном из группы, состоящей из положений H27, H28, H29, H30, H44, H71, аминокислотное
25 положение занято той же аминокислотой, что присутствует в эквивалентном положении каркаса вариабельной области тяжелой цепи мышинового иммуноглобулина 21.6. Данные иммуноглобулины специфично связываются с VLA-4 со сродством, имеющим нижний предел, примерно равный 10^7 M^{-1} , и верхний предел,
30 равный примерно пятикратному сродству мышинового иммуноглобулина 21-6.

Обычно каркасы вариабельных областей гуманизованных легких и тяжелых цепей происходят из каркасных последовательностей вариабельных областей RE1 и 21/28'CL соответственно. Когда каркас вариабельной области гуманизованной легкой цепи происходит из RE1, по меньшей мере, две аминокислоты каркаса
35 замещены. Одна из аминокислот относится к первой группе положений, описанных выше. Другие аминокислоты относятся к третьей группе, состоящей из положений L104, L105 и L107. Данное положение занято той же аминокислотой, которая присутствует в эквивалентном положении легкой цепи каппа из
40 человеческого иммуноглобулина, отличного от RE1.

Некоторые гуманизированные иммуноглобулины имеют последовательность вариабельной области зрелой легкой цепи, обозначенную La или Lb, или последовательность вариабельной области зрелой тяжелой цепи, обозначенную Ha,
45 Hb или Hc (фиг.13). Предпочтительные гуманизированные иммуноглобулины включают в себя иммуноглобулины, имеющие легкую цепь La и тяжелую цепь Ha, Hb или Hc (фиг.14).

Гуманизированные иммуноглобулины имеют вариабельные каркасные области, происходящие, по существу, из человеческого иммуноглобулина (обозначенного как акцепторный иммуноглобулин) и определяющие комплементарности области,
50 происходящие, по существу, из мышинового иммуноглобулина, называемого *mu* MAb 21.6 (обозначенного как донорный иммуноглобулин). Константная(-ые) область(-и), если они присутствуют, происходит(-ят), по существу, из человеческого

иммуноглобулина. Гуманизированные антитела характеризуются специфичным средством связывания с VLA-4, равным, по меньшей мере, 10^7 , 10^8 , 10^9 или 10^{10} M^{-1} . Обычно верхний предел сродства связывания гуманизированных антител в отношении VLA-4 в три-пять раз более сродства *mu* MAb 21.6 (примерно 10^9 M^{-1}). Часто нижний предел сродства связывания также в три-пять раз менее сродства *mu* MAb 21.6.

Гуманизированные антитела могут продуцироваться, например, как это было выполнено с мышинным моноклональным антителом MAb 21.6. Исходным материалом для продукции гуманизированных антител является *mu* MAb 21.6. Выделение и свойства данного антитела описаны в патенте США № 6033655 (перепорученном Elan Pharmaceuticals, Inc.), который включен сюда полностью в качестве ссылки. В кратком изложении, *mu* MAb 21.6 специфично в отношении альфа-4-субъединицы VLA-4 и, как было показано, ингибирует связывание человеческих лимфоцитов с культурами ткани клеток головного мозга крысы, стимулированной фактором некроза опухолей. От N-конца до C-конца легкие и тяжелые цепи содержат домены FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4. Оценка аминокислот в каждом домене осуществляется согласно правилу нумерации Kabat.

В следующей стадии для поставки каркасных остатков используются человеческие антитела. Перемещение мышинных CDR в каркас человеческого переменного домена, наиболее вероятно, приводит к сохранению их верной пространственной ориентации, если каркас человеческого переменного домена принимает ту же или сходную конформацию по сравнению с мышинным переменным каркасом, из которого происходят CDR. Это достигается путем получения человеческих переменных доменов из человеческих антител, каркасные последовательности которых характеризуются высокой степенью идентичности в отношении мышинных переменных каркасных доменов, из которых произошли CDR. Переменные каркасные области тяжелых и легких цепей могут происходить из одних и тех же или разных последовательностей человеческих антител. Последовательности человеческих антител могут представлять собой последовательности встречающихся в природе человеческих антител или могут представлять собой консенсусные последовательности различных человеческих антител. См. Kettleborough et al., Protein Engineering 4: 773 (1991); Kolbinger et al., Protein Engineering 6: 971 (1993).

Подходящие последовательности человеческого антитела идентифицируют сравнениями на компьютере с аминокислотными последовательностями мышинных переменных областей с последовательностями известных человеческих антител. Сравнение проводят отдельно для тяжелых и легких цепей, но принципы являются сходными для обоих типов. Данное сравнение выявляет, что легкая цепь *mu* 21.6 характеризуется наибольшей гомологией по последовательности в отношении человеческих легких цепей субтипа каппа 1; тяжелая цепь *mu* 21.6 характеризуется наибольшей гомологией по последовательности в отношении человеческих тяжелых цепей субтипа один, по определению Kabat, см. выше. Таким образом, каркасные области человеческих легких и тяжелых цепей обычно происходят из человеческих антител данных субтипов, или из консенсусных последовательностей таких субтипов. Предпочтительные переменные области человеческих легких и тяжелых цепей, характеризующиеся наибольшей идентичностью последовательностей в отношении соответствующих областей из *mu* MAb 21.6, происходят из антител RE1 и 21/28'CL соответственно.

Компьютерное моделирование затем может использоваться для дальнейшего

усиления способности гуманизованного антитела связываться с распознаваемым им лигандом. Неприродное соседство мышинных областей CDR с человеческой вариабельной каркасной областью может приводить к неприродным конформационным ограничениям, которые, если не корректируются заменой некоторых аминокислотных остатков, приводят к потере сродства связывания. Выбор аминокислотных остатков для замены частично определяется компьютерным моделированием. Широко доступно компьютерное оборудование и программы для получения трехмерных изображений иммуноглобулиновых молекул. В общем, молекулярные модели продуцируют, начиная с разрешенных структур иммуноглобулиновых цепей и их доменов. Подлежащие моделированию цепи сравнивают на предмет сходства аминокислотной последовательности с цепями или доменами разрешенных трехмерных структур, и цепи и домены, характеризующиеся максимальным сходством по последовательности, выбирают в качестве начальных точек для конструирования молекулярной модели. Например, для легкой цепи *mu* MAb 21.6 начальная точка для моделирования рамочных областей, областей CDR1 и CDR2, представляла собой человеческую легкую цепь RE1. Для области CDR3 начальной точкой являлась область CDR3 из легкой цепи другого человеческого антитела НуHEL-5. Разрешенные исходные структуры модифицировали для обеспечения отличий между действительными аминокислотами иммуноглобулиновых цепей или доменов, подлежащих моделированию, и аминокислотами в исходной структуре. Модифицированные структуры затем объединяли в составной иммуноглобулин. Наконец, модель выверяли путем минимизации энергии и путем подтверждения того, что все атомы находятся на подходящих расстояниях друг от друга и что длины и углы связей находятся в приемлемых с точки зрения химии пределах.

Как отмечено выше, гуманизованные антитела по изобретению содержат вариабельные каркасные области, происходящие, по существу, из человеческого иммуноглобулина, и определяющие комплементарность областей, происходящих, по существу, из мышинного иммуноглобулина *mu* MAb 21.6. После идентификации определяющих комплементарность областей (CDR) *mu* MAb 21.6 и подходящих человеческих акцепторных иммуноглобулинов следующей стадией является определение того, какие остатки из данных компонентов следует заместить для оптимизации свойств полученного в результате гуманизованного антитела, если это вообще требуется. В общем, замена человеческих аминокислотных остатков мышинными следует минимизировать, поскольку введение мышинных остатков повышает риск того, что антитело вызовет у людей ответ НАМА. Аминокислоты выбирают для замены, основываясь на их возможном влиянии на конформацию CDR и/или связывание ими антигена. Исследование таких возможных влияний осуществляется путем моделирования, оценки характеристик аминокислот в конкретных местоположениях, или путем эмпирического наблюдения влияния замены или мутагенеза конкретных аминокислот.

Когда аминокислота вариабельной каркасной области *mu* MAb 21.6 отличается от эквивалентной аминокислоты человеческой вариабельной каркасной области, аминокислоту человеческого каркаса обычно следует замещать эквивалентной мышинной аминокислотой, если обоснованно ожидается, что данная аминокислота: (1) нековалентно связывает антиген непосредственно (например, аминокислоты в положениях L49, L69 *mu* MAb 21.6), (2) прилегает к области CDR, является частью области CDR в альтернативном определении, предложенном Clothia et al. выше, или

иначе взаимодействует с областью CDR (например, находится примерно в 3Å от области CDR) (например, аминокислоты в положениях L45, L58, H27, H28, H29, H30 и H71 *tu* MAb 21.6), или (3) участвует в поверхности раздела V_L - V_H (например, аминокислоты в положении H44 *tu* MAb 21.6).

5 Другие кандидаты на замену представляют собой аминокислоты человеческого каркаса, которые являются необычными для человеческого иммуноглобулина в данном положении (например, аминокислоты в положениях L104, L105 и L107 *tu* MAb 21.6). Данные аминокислоты можно заменять аминокислотами из
10 эквивалентного положения более типичных человеческих иммуноглобулинов. Альтернативно, аминокислоты из эквивалентных положений мышинового MAb 21.6 могут вводиться в человеческие каркасные области, когда такие аминокислоты типичны для человеческого иммуноглобулина в эквивалентном положении.

15 Вообще, требуется замена всех или большей части аминокислот, отвечающих указанным выше критериям. Впрочем, время от времени имеется неопределенность в плане того, отвечает ли конкретная аминокислота указанным выше критериям, и продуцируют альтернативные варианты иммуноглобулина, причем один из них имеет эту конкретную замену, а другой - нет. Гуманизированные антитела обычно
20 содержат замену остатка каркаса человеческой легкой цепи соответствующим остатком *tu* MAb 21.6, по меньшей мере, в 1, 2 или 3 или, чаще, в 4 следующих положениях: L45, L49, L58 и L69. Гуманизированные антитела также обычно содержат замену остатка каркаса человеческой тяжелой цепи, по меньшей мере, в 1, 2, 3, 4 или 5, и иногда в 6 из следующих положений: H27, H28, H29, H30, H44 и H71.
25 Необязательно, H36 может также замещаться. В предпочтительных вариантах осуществления, в которых акцепторным иммуноглобулином человеческой легкой цепи является RE1, легкая цепь также содержит замены, по меньшей мере, в 1 или 2, и, чаще, 3 из следующих положений: L104, L105 и L107. Данные положения
30 замещены аминокислотой из эквивалентного положения человеческого иммуноглобулина, имеющего более типичные аминокислотные остатки. Подходящие аминокислоты для замены показаны в фиг.13 и 14.

Обычно области CDR в гуманизированных антителах, по существу, идентичны или, чаще, идентичны соответствующим областям CDR в антителе *tu* MAb 21.6.
35 Иногда, впрочем, желательно изменять один из остатков в области CDR. Например, в примере 4 идентифицировано аминокислотное сходство между CDR3 *tu* MAb 21.6 и лигандом VCAM-1. Данное наблюдение указывает на то, что сродство связывания гуманизированных антител должно улучшать перестройку областей CDR3 тяжелых
40 цепей для того, чтобы они напоминали VCAM-1 даже более близко. В соответствии с этим одна или несколько аминокислот из домена CDR3 может замещаться аминокислотами из связывающего домена VCAM-1. Хотя это обычно нежелательно, иногда возможно осуществление одной или нескольких консервативных аминокислотных замен остатков CDR без существенного воздействия на сродство
45 связывания полученного в результате гуманизированного иммуноглобулина.

В отличие от специфичных аминокислотных замен, обсуждаемых выше, каркасные области гуманизированных иммуноглобулинов обычно, по существу, идентичны и, чаще, идентичны каркасным областям человеческих антител, из которых они
50 происходят. Конечно, многие аминокислоты в каркасной области вносят малый вклад в специфичность или сродство антитела или вообще не влияют на них. Таким образом, многие индивидуальные консервативные замены каркасных остатков могут переноситься без существенного изменения специфичности или сродства

полученного гуманизированного иммуноглобулина. Однако, в целом, такие замены нежелательны.

5 Продукция вариабельных областей. После концептуального выбора CDR и каркасных компонентов гуманизированных иммуноглобулинов доступны различные способы для продукции таких иммуноглобулинов. Из-за вырожденности кода
каждую аминокислотную последовательность иммуноглобулина будут кодировать
различные последовательности нуклеиновой кислоты. Требуемые
последовательности нуклеиновой кислоты могут продуцироваться путем
10 твердофазного синтеза ДНК de novo или путем ПЦР-мутагенеза ранее полученного варианта требуемого полинуклеотида. Опосредованный олигонуклеотидами мутагенез является предпочтительным способом для получения вариантов замен, делеций и вставки в ДНК полипептида-мишени. См. Adelman et al., DNA 2: 183 (1983).
15 В кратком изложении, ДНК полипептида-мишени изменяется путем гибридизации олигонуклеотида, кодирующего требуемую мутацию, с одноцепочечной ДНК-матрицей. После гибридизации ДНК-полимераза используется для синтеза целой второй комплементарной цепи матрицы, которая включает в себя олигонуклеотидный праймер, и кодирует выбранное изменение ДНК полипептида-мишени.
20

Выбор константной области. Вариабельные сегменты гуманизированных антител, продуцированных, как описано выше, обычно связаны, по меньшей мере, с частью константной области иммуноглобулина (Fc), обычно, происходящей из
25 человеческого иммуноглобулина. Последовательности ДНК человеческой константной области могут быть выделены в соответствии с хорошо известными процедурами из разнообразных человеческих клеток, но предпочтительно из иммортализованных В-клеток (см. Kabat et al., выше, и WO 87/02671) (каждая из данных ссылок включена сюда полностью в качестве ссылки). Обычно антитело
30 содержит оба константных области легкой и тяжелой цепей. Константная область тяжелой цепи обычно включает в себя области СН1, шарнир, СН2, СН3 и СН4.

Гуманизированные антитела включают в себя антитела, имеющие константные области любых типов, включая IgM, IgG, IgD, IgA и IgE, и любого изотипа, включая IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Когда требуется, чтобы гуманизированное
35 антитело характеризовалось цитотоксической активностью, константный домен обычно представляет собой фиксирующий комплемент константный домен, и класс обычно представляет собой IgG1. Когда такая цитотоксическая активность нежелательна, константный домен может относиться к классу IgG2.
40 Гуманизированное антитело может включать в себя последовательности более одного класса или изотипа.

5.1.1.2. Другие антитела против VLA-4

Другие антитела против VLA-4 включают в себя в качестве неограничивающих примеров HP1/2, HP-2/1, HP2/4, L25, и P4C2. Данные антитела также могут вводиться
45 в количестве, эффективном для ингибирования демиелинизации и/или предотвращения ремиелинизации, и/или снижения паралича у пациента, что легко понять специалисту в данной области, как обсуждается здесь и как хорошо известно в данной области.

50 Часто моноклональные антитела, полученные у мышей, позже гуманизируют для предоставления иммунного ответа человека против мышинных антител (НАМА) у субъекта-человека, иммунизированного мышинным антителом. Это происходит за счет пересадки и видоизменения CDR. Таким образом, антитела обычно вначале

представляют собой мышинные моноклональные антитела, которые становятся гуманизированными путем пересадки и видоизменения CDR, как обсуждается для антитела 21.6.

5 Конкретно, гуманизированные антитела имеют специфичность в отношении VLA-4
и способны стимулировать ремиелинизацию, предотвращать демиелинизацию
и/или снижать паралич. Данные антитела происходят из источников (например,
обычно из мыши), в которых, по меньшей мере, один или несколько определяющих
10 комплементарность областей (CDR) переменных доменов происходят из
донорного, не относящегося к человеку антитела против VLA-4, и в которых могут
иметь место или отсутствовать минимальные изменения переменной каркасной
области тяжелой и/или легкой цепи акцепторного антитела для сохранения
специфичности связывания донорного антитела. Предпочтительно,
15 антигенсвязывающие области переменного домена тяжелой цепи с
пересаженными CDR содержат CDR, соответствующие положениям 31-35 (CDR1), 50-
65 (CDR2) и 95-102 (CDR3). В предпочтительном осуществлении, тяжелая цепь далее
включает в себя не относящиеся к человеку остатки в положениях каркаса 27-30
(нумерация Kabat). Тяжелая цепь может далее включать в себя не относящиеся к
20 человеку остатки в позиции каркаса 75 (нумерация Kabat). Тяжелая цепь может далее
включать в себя не относящиеся к человеку остатки в положении(-ях) каркаса 77-79
или 66-67 и 69-71 или 84-85 или 38 и 40 или 24 (нумерация Kabat). Предпочтительно,
антигенсвязывающие области переменного домена легкой цепи с
пересаженными CDR включают в себя CDR, соответствующие положениям 24-34
25 (CDR1), 50-56 (CDR2) и 89-97 (CDR3). В предпочтительном осуществлении легкая
цепь далее включает в себя не относящиеся к человеку остатки в положениях
каркаса 60 и 67 (нумерация Kabat). Данные обозначения остатков пронумерованы
согласно нумерации Kabat (Kabat et al., 5th ed. 4 vol. SEQUENCES OF PROTEINS OF
30 IMMUNOLOGICAL INTEREST, US Department of Health Human Services, NIH, USA
(1991)).

Синтез и гуманизация мышинового антитела HP1/2. HP1/2 представляет собой
другое антитело, направленное против VLA-4. Способ получения гуманизированной
35 версии данного антитела для применения у субъектов-людей описан здесь и далее
описан в патенте США № 6602503, перепорученном Biogen, Inc., и включен сюда
полностью в качестве ссылки. Последовательности гуманизированных антител
предоставлены следующим образом. Последовательность ДНК V_H HP1/2 и ее
транслированная аминокислотная последовательность представляют собой:

40

45

50

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

Сравнение между двумя последовательностями V_H HP1/2 и консенсусной
 последовательностью семейства ПС выявило, что необычные остатки находятся
 35 только в аминокислотных положениях 80, 98 и 121 (т.е. 79, 94 и 121 по
 нумерации Kabat). Хотя Тург-80 является инвариантным в подгруппе ПС, другие
 секвенированные мышинные V_H -области имеют другие ароматические аминокислоты
 в данном положении, но ни одна не содержит Trp. Большая часть человеческих и
 мышинных V_H имеют остаток аргинина в положении 94 по Kabat. Присутствие Asp-94
 40 в V_H HP1/2 исключительно редко; сообщается только об одном примере
 отрицательно заряженного остатка в данном положении. Пролин по положению 113
 по Kabat также является необычным, но имеется малая вероятность того, что он
 является значимым в конформации CDR из-за его расстояния от них. Аминокислоты,
 45 составляющие CDR1, обнаружены в трех других секвенированных мышинных V_H -
 областях. Однако CDR2 и CDR3 являются уникальными для HP1/2 и не обнаружены в
 каких-либо других описанных мышинных V_H .

Последовательность ДНК V_K HP1/2 и ее транскрибированная аминокислотная
 50 последовательность представляют собой следующее:

```

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

```

V_K HP1/2 является представителем семейства V по Kabat (Kabat et al., 5th ed., 4 vol.,
 30 SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, US Department of Health
 Human Services (1991)) и не содержит необычных остатков. Аминокислоты CDR1
 и CDR3 являются уникальными. Аминокислоты, составляющие CDR2, сообщались
 для одной из других мышинных V_K.

35 Конструирование антитела против VLA-4 с пересаженными CDR. Для
 конструирования антитела против VLA-4 с пересаженными CDR было необходимо
 определить, какие остатки мышинового HP1/2 составляют CDR легкой и тяжелой цепей.
 Три области гипервариабельности среди менее вариабельных каркасных
 последовательностей обнаружены на легкой и тяжелой цепях (Wu and Kabat, J. Exp.
 40 Med. 132: 211-250 (1970); Kabat et al., (1991)). В большинстве случаев данные
 гипервариабельные области соответствуют CDR, но могут простираются за них. CDR
 мышинных HP1/2 выявляли согласно Kabat et al., (1991) путем выравнивания с другими
 последовательностями V_H и V_K. CDR мышинового V_H HP1/2 идентифицировали и
 ставили в соответствие остаткам, идентифицированным в гуманизированных
 45 последовательностях V_H следующим образом:

CDR1	AA ₃₁ -AA ₃₅
CDR2	AA ₅₀ -AA ₆₆
CDR3	AA ₉₉ -AA ₁₁₀

50 Они соответствовали AA₃₁-AA₃₅, AA₅₀-AA₆₅ и AA₉₅-AA₁₀₂, соответственно, по
 нумерации Kabat. CDR мышинных V_K HP1/2 идентифицировали и ставили в
 соответствие остаткам, идентифицированным в гуманизированных
 последовательностях V_K, следующим образом:

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

5 Они соответствовали тем же номерам аминокислот по нумерации Kabat. Таким образом, только в пределах V_K, но не V_H, CDR соответствовали остаткам CDR по Kabat. Человеческие каркасы, выбранные в качестве акцептора для (донорных) CDR HP1/2, представляли собой NEWM и RE1 для тяжелых и легких цепей соответственно. Последовательности NEWM и RE1 опубликованы в Kabat et al. (1991).

10 ДНК и соответствующая аминокислотная последовательность варибельной области гуманизированной тяжелой цепи гуманизированного антитела HP1/2 представляют собой:

```

5' -atg gac tgg acc tgg agg gtc ttc tgc ttg ctg gct gta gca cca ggt
48
15 N-Met Asp Trp Thr Trp Arg Val Phe Cys Leu Leu Ala Val Ala Pro Gly
   1      5      10      15
   gcc cac tcc cag gtc caa ctg cag gag tcc ggt gct gaa gtt gtt aaa
96
   Ala His Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Ala Glu Val Val Lys
20      20      25      30
   ccg ggt tcc tcc gtt aaa ctg tcc tgc aaa gct tcc ggt ttc aac atc
144
   Pro Gly Ser Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile
      35      40      45
25 aaa gac acc tac atg cac tgg gtt aaa cag cgt ccg ggt cag ggt ctg
192
   Lys Asp Thr Tyr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu
      50      55      60
   gaa tgg atc ggt cgt atc gac ccg gct tcc ggt gac acc aaa tac gac
240
30 Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Ala Ser Gly Asp Thr Lys Tyr Asp
   65      70      75      80
   ccg aaa ttc cag gtt aaa gct acc atc acc gct gac gaa tcc acc tcc
288
   Pro Lys Phe Gln Val Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser
35      85      90      95
   acc gct tac ctg gaa ctg tcc tcc ctg cgt tcc gaa gac acc gct gtt
336
   Thr Ala Tyr Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
      100      105      110
40 tac tac tgc gct gac ggt atg tgg gtt tcc acc ggt tac gct ctg gac
384
   Tyr Tyr Cys Ala Asp Gly Met Trp Val Ser Thr Gly Tyr Ala Leu Asp
      115      120      125
   ttc tgg ggt cag ggt acc acg gtc acc gtc tcc tca ggt gag tcc-3'
45 Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Glu Ser-C
      130      135      140

```

ДНК и соответствующая аминокислотная последовательность варибельной области гуманизированной легкой цепи гуманизированного антитела HP1/2 представляют собой:

50

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

5
96 gtt cac tcc atc gtt atg acc cag tcc ccg gac tcc ctg gct gtt tcc
Val His Ser Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser
20 25 30

10
144 ctg ggt gaa cgt gtt acc atc aac tgc aaa gct tcc cag tcc gtt acc
Leu Gly Glu Arg Val Thr Ile Asn Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Thr
35 40 45

15
192 aac gac gtt gct tgg tac cag cag aaa ccg ggt cag tcc ccg aaa ctg
Asn Asp Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu
50 55 60

20
240 ctg atc tac tac gct tcc aac cgt tac acc ggt gtt ccg gac cgt ttc
Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe
65 70 75 80

20
288 tcc ggt tcc ggt tac ggt acc gac ttc acc ttc acc atc tcc tcc gtt

25
336 Ser Gly Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val
85 90 95

35
cag gct gaa gac gtt gct gtt tac tac tgc cag cag gac tac tcc tcc
336 Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Ser Ser
100 105 110
ccg tac acc ttc ggt ggt ggt acc aaa ctg gag atc taa ggatcctc-3'
383

30
Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile-C
115 120

В дополнение к легким и тяжелым цепям указанного выше гуманизованного антитела HP1/2 другие акцепторные области легких и тяжелых цепей могут также использоваться для вставки в донорные области HP1/2. Все следующие конструкции содержат Ser-75 (нумерация Kabat). Конструкция STAW далее содержит замену Gln на Thr в положении 77, Phe на Ala в положении 78, и Ser на Trp в положении 79 (нумерация Kabat). Последовательность ДНК V_H и ее транслированная аминокислотная последовательность приведены ниже:

40

45

50

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

Конструкция КАИТАС содержит дополнительные изменения Arg на Lys
 (положение 66), Val на Ala (положение 67), Met на Ile (положение 69), Leu на Thr
 35 (положение 70) и Val на Ala (положение 71) (нумерация Kabat). Последовательность
 ДНК V_H КАИТАС и ее транслированная аминокислотная последовательность
 приведены ниже:

40

45

50

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

5
 96 gcc cac tcc cag gtc caa ctg cag gag agc ggt cca ggt ctt gtg aga
 Ala His Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg
 20 25 30

10
 144 cct agc cag acc ctg agc ctg acc tgc acc gtg tct ggc ttc aac att
 Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Asn Ile
 35 40 45

15
 192 aaa gac acc tat atg cac tgg gtg aga cag cca cct gga cga ggt ctt
 Lys Asp Thr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu
 50 55 60

20
 240 gag tgg att gga agg att gat cct gcg agt ggc gat act aaa tat gac
 Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Ala Ser Gly Asp Thr Lys Tyr Asp
 65 70 75 80

25
 288 ccg aag ttc cag gtc aaa gcg aca att acg gca gac acc agc agc aac
 Pro Lys Phe Gln Val Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn
 85 90 95

30
 336 cag ttc agc ctg aga ctc agc agc gtg aca gcc gcc gac acc gcg gtc
 Gln Phe Ser Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val
 100 105 110

35
 384 tat tat tgt gca gac gga atg tgg gta tca acg gga tat gct ctg gac
 Tyr Tyr Cys Ala Asp Gly Met Trp Val Ser Thr Gly Tyr Ala Leu Asp
 115 120 125

429 ttc tgg ggc caa ggg acc acg gtc acc gtc tcc tca ggt gag tcc-3'

35 Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Glu Ser-C
 130 135 140

Конструкция SSE содержит дополнительные изменения Ala на Ser (положение 84) и Ala на Glu (положение 85) (нумерация Kabat). Последовательность ДНК V_H SSE и ее транслированная аминокислотная последовательность приведены ниже:

40

45

50

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

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

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

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

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

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

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

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

Конструкция KRS содержит дополнительные изменения Arg на Lys (положение 38) и Pro на Arg (положение 40) (нумерация Kabat). Последовательность ДНК V_H KRS и ее транслированная аминокислотная последовательность приведены ниже:

35 5' -atg gac tgg acc tgg agg gtc ttc tgc ttg ctg gct gta gca cca ggt
 48 N-Met Asp Trp Thr Trp Arg Val Phe Cys Leu Leu Ala Val Ala Pro Gly
 1 5 10 15

40

45

50

96 gcc cac tcc cag gtc caa ctg cag gag agc ggt cca ggt ctt gtg aga
 Ala His Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg
 20 25 30

5 144 cct agc cag acc ctg agc ctg acc tgc acc gtg tct ggc ttc aac att
 Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Asn Ile
 35 40 45

10 192 aaa gac acc tat atg cac tgg gtg aaa cag cga cct gga cga ggt ctt
 Lys Asp Thr Tyr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Arg Gly Leu
 50 55 60

15 240 gag tgg att gga agg att gat cct gcg agt ggc gat act aaa tat gac
 Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Ala Ser Gly Asp Thr Lys Tyr Asp
 65 70 75 80

288 ccg aag ttc cag gtc aga gtg aca atg ctg gta gac acc agc agc aac
 Pro Lys Phe Gln Val Arg Val Thr Met Leu Val Asp Thr Ser Ser Asn
 85 90 95

20 336 cag ttc agc ctg aga ctc agc agc gtg aca gcc gcc gac acc gcg gtc
 Gln Phe Ser Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val
 100 105 110

25 384 tat tat tgt gca gac gga atg tgg gta tca acg gga tat gct ctg gac
 Tyr Tyr Cys Ala Asp Gly Met Trp Val Ser Thr Gly Tyr Ala Leu Asp
 115 120 125

30 429 ttc tgg ggc caa ggg acc acg gtc acc gtc tcc tca ggt gag tcc-3'
 Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Glu Ser-C
 130 135 140

Конструкция AS содержит изменение Val на Ala в положении 24 (нумерация Kabat).
 Последовательность ДНК V_H AS и ее транслированная аминокислотная

35 последовательность приведены ниже:

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

40 96 gcc cac tcc cag gtc caa ctg cag gag agc ggt cca ggt ctt gtg aga
 Ala His Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg
 20 25 30

45 144 cct agc cag acc ctg agc ctg acc tgc acc gcg tct ggc ttc aac att
 Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile
 35 40 45

50

```

192   aaa gac acc tat atg cac tgg gtg aga cag cca cct gga cga ggt ctt
      Lys Asp Thr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu
      50                               55                               60

5    240   gag tgg att gga agg att gat cct gcg agt ggc gat act aaa tat gac
      Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Ala Ser Gly Asp Thr Lys Tyr Asp
      65                               70                               75                               80

10   288   ccg aag ttc cag gtc aga gtg aca atg ctg gta gac acc agc agc aac
      Pro Lys Phe Gln Val Arg Val Thr Met Leu Val Asp Thr Ser Ser Asn
      85                               90                               95

15   336   cag ttc agc ctg aga ctc agc agc gtg aca gcc gcc gac acc gcg gtc
      Gln Phe Ser Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val
      100                              105                              110

20   384   tat tat tgt gca gac gga atg tgg gta tca acg gga tat gct ctg gac
      Tyr Tyr Cys Ala Asp Gly Met Trp Val Ser Thr Gly Tyr Ala Leu Asp
      115                              120                              125

25   429   ttc tgg ggc caa ggg acc acg gtc acc gtc tcc tca ggt gag tcc-3'
      Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Glu Ser-C
      130                              135                              140

```

25 Гуманизированная легкая цепь, в основном, требует малого числа модификаций, если это вообще требуется. Однако, при получении гуманизированных антител против антител VLA-4, различные эмпирические изменения улучшали иммунологическую активность антитела против его лиганда. Например, гуманизированная тяжелая цепь с мутацией Ser с мышиной легкой цепью имела 30 эффективность, примерно в 2,5 раза меньшую, чем мышинное NP1/2. Та же гуманизированная тяжелая цепь с гуманизированной легкой цепью имела эффективность, меньшую примерно в 4 раза.

35 Гуманизированная конструкция V_K (VK1) включает в себя замену Ser на Asp в положении 60, и замену Ser на Tyr в положении 67. Последовательность ДНК и ее транслированная аминокислотная последовательность приведена ниже:

```

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

40   96   gtt cac tcc gac atc cag ctg acc cag agc cca agc agc ctg agc gcc
      Val His Ser Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala
      20          25          30

45   144   agc gtg ggt gac aga gtg acc atc acc tgt aag gcc agt cag agt gtg

```

50

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

Другая конструкция V_K (т.е. VK2) имеет последовательности DQMDY
 25 сохраненного исходного каркаса RE1. ДНК и соответствующая аминокислотная
 последовательность приведена ниже:

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

50

```

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

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

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

```

15 Третья конструкция V_K представляет собой $VK3$, которая имеет SVM вместо DQM на N-конце и изменения двух других изменений. ДНК и соответствующая аминокислотная последовательность представляют собой:

```

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

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

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

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

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

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

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

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

```

45 Подробности, касающиеся того, как получали каждую из этих легких и тяжелых цепей, предоставлены в патенте США № 6602503, который включен сюда полностью в качестве ссылки для всех целей. Различные комбинации указанных выше легких и тяжелых цепей могут быть получены на основе компьютерного моделирования, известное в данной области.

50 Дополнительные антитела, которые распознают и связывают альфа-4-интегрин, известны в данной области. Они включают в себя в качестве неограничивающих примеров GG5/3 (Keszthelyi et al., Neurology 47 (4): 1053-1059 (1996)), FW3-218-1 (ATCC

5 No.: HB-261; антитело IgG2b против овечьего альфа-4-интегрина), и R1-2 (ATCC No.: HB-227; антитело IgG2b, полученное от *Rattus norvegicus*). Независимо от того, получены ли антитела от мыши или других животных, каждая из последовательностей может быть подвергнута генной инженерии, так что они станут гуманизированными, на основе того, что известно в данной области и с помощью компьютерного моделирования. Гуманизированные антитела против альфа-4-интегрина могут оцениваться на их способность стимулировать ремиелинизацию, и/или ингибировать демиелинизацию, и/или снижать паралич, основываясь на описанных здесь анализах *in vitro* и *in vivo*.

5.2. Фрагменты антитела

Также для применения при лечении нарушений и состояний с участием демиелинизации рассматриваются фрагменты антител, которые связываются с альфа-4 или VCAM-1, так что они ингибируют взаимодействие VLA-4 и VCAM-1. Фрагменты антител включают в себя фрагменты Fab, F(ab')₂, scFv и Fv, которые могут использоваться в описанных здесь композициях.

Используемый здесь термин «Fab-фрагмент» относится к части молекулы антитела, содержащей единичную антигенсвязывающую область, которая состоит из части тяжелых и легких цепей молекулы.

Используемый здесь термин «F(ab')₂-фрагмент» относится к части молекулы антитела, содержащей оба антигенсвязывающих участка, и она состоит из легких цепей и части тяжелых цепей молекулы.

Используемый здесь термин «Fv-фрагмент» относится к части молекулы антитела, участвующей в распознавании и связывании антигена.

Используемый здесь термин «scFv» относится к одноцепочечным Fv-фрагментам (scFv). Данные scFv-фрагменты представляют собой рекомбинантные производные антител, которые состоят только из переменных доменов легких и тяжелых цепей антител, связанных гибким линкером. scFv-фрагменты антитела включают в себя V_H- и V_L-домены антитела, где данные домены присутствуют в единичной полипептидной цепи. В основном, Fv-полипептид далее включает в себя полипептидный линкер между V_H- и V_L-доменами, который позволяет scFv образовывать требуемую структуру для связывания антигена. Для обзора scFv см. Pluckthun in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, 269-315 (Rosenburg and Moore eds., Springer-Verlag, New York 1994).

Также к фрагментам антител относятся диатела. Термин «диатела» относится к малым фрагментам антител с двумя антигенсвязывающими участками, причем данные фрагменты включают в себя переменный домен тяжелой цепи (V_H), соединенный с переменным доменом легкой цепи (V_L) в одной полипептидной цепи (V_H-V_L). Путем использования линкера, который является слишком коротким для того, чтобы обеспечить образование пары между двумя доменами на одной цепи, домены принуждаются к образованию пары с комплементарными доменами другой цепи и к созданию двух антигенсвязывающих участков. Диатела более полно описаны, например, в EP 404097; WO93/11161; и Hollinger et al., 1993 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-8.

Фрагменты антител также включают в себя линейные антитела. Выражение «линейные антитела», когда оно используется в настоящей заявке, относится к антителам, которые описаны, например, в Zapata et al., 1995 Protein Eng. 8 (10): 1057-62. В кратком изложении, данные антитела представляют собой пару тандемных Fd-сегментов (V_H-C_H1-V_H-C_H1), которые образуют пару антигенсвязывающих областей.

Линейные антитела могут быть биспецифическими или моноспецифическими.

Расщепление папаином антител приводит к продукции двух идентичных антигенсвязывающих фрагментов, называемых «Fab»-фрагментами, каждый с одним антигенсвязывающим участком, и оставшегося «Fc»-фрагмента, название которого отражает его способность легко кристаллизоваться. Обработка пепсином дает F(ab')₂-фрагмент, который имеет два комбинирующих антиген участка и еще способен к перекрестному связыванию антигена.

Некоторые мышинные моноклональные антитела против VLA-4 были описаны ранее. См., например, патенты США № 6602503, 6033665 и 5840299, которые обсуждаются здесь далее, и которые включены сюда полностью в качестве ссылки; Sanchez-Madrid et al., 1986, Eur. J. Immunol. 16: 1343-9; Hemler et al., 1987, J. Biol. Chem. 262: 11478-85; Pulido et al., 1991, J. Biol. Chem., 266: 10241-45; Issekutz et al., 1991, J. Immunol., 147: 109 (TA-2MAb)). Данные моноклональные антитела против VLA-4 и другие антитела против VLA-4 (например, патент США № 5888507 - Biogen, Inc., и цитируемые в нем ссылки), способные распознавать альфа- и/или бета-цепь VLA-4, могут использоваться в способах лечения по настоящему изобретению. Антитела против VLA-4, которые распознают эпитопы альфа-4-цепи VLA-4, вовлеченной в связывание с лигандами VCAM-1 и фибронектином (т.е. антитела, которые могут связываться с VLA-4 в участке, вовлеченном в распознавание лиганда, и блокировать связывание VCAM-1 и фибронектина), являются предпочтительными. Такие антитела определены как В-эпитоп-специфические антитела (B1 или B2) (Pulido et al., 1991, выше) и также представляют собой антитела против VLA-4 по настоящему изобретению.

Полностью человеческие гомологи моноклональных антител против VLA-4 представляют собой другое предпочтительное связывающее средство, которое может блокировать или покрывать лиганды VLA-4 по способу изобретения. В их интактной форме они могут быть получены с использованием примированных *in vitro* человеческих спленоцитов, как описано Boerner et al., 1991, J. Immunol., 147: 86-95. Альтернативно, они могут быть получены посредством клонирования репертуара, как описано Persson et al., 1991, Proc.Nat.Acad. Sci. USA, 88: 2432-36, или в Huang et al., 1991, J. Immunol. Meth., 141: 227-236. В патенте США № 5798230 (25 августа 1998 г., «Способ получения человеческих моноклональных антител и их применение») описано получение человеческих моноклональных антител из человеческих В-клеток. По данному способу человеческие антитело-продуцирующие В-клетки иммортализируют путем инфекции вирусом Эпштейна-Барр или его производного, которое экспрессирует ядерный антиген вируса Эпштейна-Барр 2 (EBNA2). Функция EBNA2, которая требуется для иммортализации, впоследствии выключается, что приводит к повышению продукции антител. В данной области известны дополнительные способы.

Для другого способа получения полностью человеческих антител, см., например, патент США № 5789650, в котором описаны трансгенные животные, не являющиеся человеком, способные продуцировать гетерологичные антитела, и трансгенные животные, не являющиеся человеком, имеющие инактивированные эндогенные гены иммуноглобулинов. Эндогенные гены иммуноглобулинов супрессированы антисмысловыми полинуклеотидами и/или антисывороткой, направленной против эндогенных иммуноглобулинов. Гетерологичные антитела кодируются генами иммуноглобулинов, в норме не обнаруженными в геноме данных видов не относящихся к человеку животных. Один или несколько трансгенов, содержащих

последовательности не аранжированных тяжелых цепей гетерологичных человеческих иммуноглобулинов, вводят животным, не относящимся к человеку, с образованием таким образом трансгенного животного, способного функционально аранжировать трансгенные иммуноглобулиновые последовательности и
5 продуцировать репертуар антител различных изотипов, кодируемых человеческими иммуноглобулиновыми генами. Такие гетерологичные человеческие антитела продуцируют в В-клетках, которые затем иммортализируют, например, путем слияния с иммортализирующей клеточной линией, такой как миелома, или путем манипуляции с
10 такими В-клетками другими способами, для сохранения способности клеточной линии к продукции гомолога моноклонального, гетерологичного, полностью человеческого антитела. Большие неиммунизированные человеческие библиотеки фагового дисплея также могут использоваться для выделения высоко аффинных антител, которые могут далее разрабатываться в качестве терапевтических средств
15 для человека с использованием стандартной фаговой технологии.

После ранних способов получения истинных «химерных антител» (т.е. в которых целые константные и целые переменные области происходят из различных источников) был описан новый подход в EP 0239400 (Winter et al.), в котором
20 антитела изменены путем замены (в пределах переменной области) их определяющих комплементарность областей (CDR) одного вида на таковые из другого вида. Данный способ может использоваться, например, для замены CDR из доменов переменной области тяжелых и легких цепей человеческих Ig альтернативными CDR из доменов мышиной переменной области. Данные
25 измененные переменные области Ig могут впоследствии комбинироваться с человеческими константными областями Ig с получением антител, которые являются по составу полностью человеческими, за исключением замещенных мышиных CDR. Такие замещенные CDR антитела, как предполагается, с меньшей вероятностью
30 вызывают иммунный ответ у людей по сравнению с истинными химерными антителами, поскольку антитела с замещенными CDR содержат значительно меньше не относящихся к человеку компонентов. Способ гуманизации моноклональных антител путем «пересадки» CDR назван «видоизменением» (Riechmann et al., 1988, Nature 332: 323-7; и Verhoeven et al., 1988, Science 239: 1534-6).

35 5.3. Очистка антител

При использовании рекомбинантных способов антитело может продуцироваться внутриклеточно, в периплазматическом пространстве, или непосредственно секретируются в среду. Если антитело продуцируется внутриклеточно, на первой
40 стадии удаляют дебрис частиц, а также клетки хозяина или лизированные фрагменты, например, путем центрифугирования или ультрафильтрации. Carter et al., Bio/Technology 10: 163-7 (1992) описывают процедуру выделения антител, которые секретируются в периплазматическое пространство E. coli. В кратком изложении клеточную массу оттаивают в присутствии ацетата натрия (pH 3,5), EDTA,
45 фенилметилсульфонилфторида (PMSF) примерно в течение 30 мин. Клеточный дебрис удаляют центрифугированием. В случаях, когда антитело секретирруется в среду, надосадочную жидкость от каждой экспрессирующей системы, в основном, вначале концентрируют с использованием коммерчески доступного фильтра для
50 концентрирования белков, например устройство ультрафильтрации Amicon или Millipore Pellicon. Ингибитор протеаз, такой как PMSF, может быть включен на любой из предшествующих стадий для ингибирования протеолиза, и антибиотики могут вводиться для предотвращения роста случайных контаминантов.

Композиция антител, полученная из клеток, предпочтительно подвергается, по меньшей мере, одной стадии очистки перед LPHC. Примеры подходящих стадий очистки включают в себя хроматографию на гидроксипатитах, гель-электрофорез, диализ и аффинную хроматографию, при том, что аффинная хроматография является 5 предпочтительным способом очистки. Пригодность белка А в качестве аффинного лиганда зависит от вида и изотипа какого-либо иммуноглобулинового Fc, присутствующего в антителе. Белок А может использоваться для очистки антител, которая основана на человеческих тяжелых цепях $\gamma 1$, $\gamma 2$ или $\gamma 4$ (Lindmark et al., 1983 J. Immunol. Meth. 62: 1-13). Белок G рекомендуется для всех мышинных изотипов и для 10 человеческого $\gamma 3$ (Guss et al., 1986 EMBO J. 5: 1567-75). Матрикс, к которому привязан аффинный лиганд, чаще всего представляет собой агарозу, но доступны и другие матриксы. Механически стабильные матриксы, такие как стекло с контролируемым порами, или поли(стиролдивинил)бензол, обеспечивают большую 15 скорость потока и меньшее время процессинга, чем те, которые достигаются при использовании агарозы. Когда антитело включает в себя C_{H3}-домен, для очистки может использоваться смола Bakerbond ABX™ (J. T. Baker, Phillipsburg, Нью-Джерси). Другие способы очистки белков, такие как фракционирование на ионообменной 20 колонке, осаждение этанолом, обращенно-фазовая ВЭЖХ, хроматография на силикагеле, хроматография на гепарин-SEPHAROSE™, хроматография на анионо- или катионообменной смоле (например, полиаспартатная колонка), хроматофокусирование, SDS-PAGE и осаждение сульфатом аммония, также доступны в зависимости от того, какое антитело получают.

После какой(-их)-либо стадии(-й) предварительной очистки смесь, включающую в себя интересующее антитело и примесь(-и), подвергают LPHC. Часто подлежащая 25 очистке композиция антител присутствует в буфере от предыдущей стадии очистки. Однако может быть необходимо добавлять буфер к композиции антитела перед стадией LPHC. Многие буферы доступны и могут быть выбраны путем рутинного 30 экспериментирования. pH смеси, включающей в себя подлежащее очистке антитело и, по меньшей мере, одну примесь в буфере для загрузки, доводят до pH, примерно равной 2,5-4,5 с использованием кислоты или основания, в зависимости от исходного pH. Предпочтительно, буфер для загрузки имеет низкую концентрацию 35 соли (т.е. менее 0,25 М соли).

Смесь загружают на колонку HC. Колонки HC обычно содержат основной матрикс (например, перекрестно-связанную агарозу или синтетический 40 сополимерный материал), к которому присоединены гидрофобные лиганды (например, алкильные или арильные группы). Предпочтительная колонка HC содержит агарозную смолу, замещенную фенильными группами (например, колонка фенил-SEPHAROSE™). Многие HC колонки доступны коммерчески. Неограничивающие примеры включают в себя колонку фенил-SEPHAROSE 6 FAST 45 FLOW™ с низкой или высокой замещенностью (Pharmacia LKB Biotechnology, AB, Швеция); высокопроизводительную колонку с фенил-SEPHAROSE™ (Pharmacia LKB Biotechnology, AB, Швеция); высокопроизводительную колонку с октил-SEPHAROSE™ (Pharmacia LKB Biotechnology, AB, Швеция); колонки FRACTOGEL™ EMD-пропил или FRACTOGEL™ EMD-фенил (E. Merck, Германия); 50 основы MACRO-PREP™-метил или MACRO-PREP™-трет-бутил (Bio-Rad, Калифорния); колонку WP HI-пропил (C₃)™ (J. T. Baker, Нью-Джерси); и колонки TOYOPEARL™-эфир, -фенил, или -бутил (TosoHaas, Пенсильвания).

Антитело элюируют из колонки с использованием буфера для элюции, который

обычно совпадает с буфером для загрузки. Буфер для элюции может быть выбран путем рутинного экспериментирования. рН буфера для элюции составляет примерно 2,5-4,5, и он имеет низкую концентрацию соли (т.е. менее чем примерно 0,25М соли). Было обнаружено, что нет необходимости применения солевого градиента для элюции интересующего антитела; требуемый продукт получают в потоке путем сбора фракции, которая значимо не связывается с колонкой.

Стадия LPHC предоставляет путь для отделения антитела с правильным фолдом и дисульфидными мостиками от нежелательных примесей (например, неправильно ассоциированных легких и тяжелых фрагментов). В частности, данный способ предоставляет средство для существенного удаления примесей, которые характеризуются здесь как фрагменты антител с правильным фолдом (правильной укладкой), легкие и тяжелые цепи которых не ассоциированы дисульфидными связями.

Диагностические или терапевтические препараты очищенного белка могут быть получены путем предоставления композиции антител в виде физиологически приемлемого носителя, примеры которых представлены ниже.

Для удаления примесей (например, антитела без фолда и некорректно ассоциированных легких и тяжелых фрагментов) из колонки НИС, так что ее можно будет повторно использовать, композиция, включающая в себя мочевины (например, 6,0 М мочевины, 1% буфер MES, рН 6,0, 4 мМ сульфат аммония), может пропускаться через колонку. Другие способы известны в данной области.

5.4. Иммуноглобулиновые препараты

Антитела и иммуноглобулины, оказывающие требуемое терапевтическое действие, могут вводиться субъекту в физиологически приемлемом носителе. Антитела могут вводиться различными способами, включающими в качестве неограничивающих примеров парентеральное введение, включая подкожный, субдуральный, внутривенный, внутримышечный, интратекальный, внутрибрюшинный, интрацеребральный, внутриартериальный пути введения или путь введения в очаг повреждения, локализованное введение (например, хирургический компресс или хирургический суппозиторий), и легочное введение (например, аэрозоли, ингаляция или порошок), а также то, что описано ниже.

В зависимости от способа введения иммуноглобулины могут образовывать препарат различными путями. Концентрация терапевтически активного иммуноглобулина в препарате (т.е. препарат, достаточный для ингибирования демиелинизации и/или стимуляции ремиелинизации) может варьировать примерно от 1 мг/мл до 1 г/мл. Предпочтительно, композиция иммуноглобулинов при введении нуждающемуся в этом субъекту достигает концентрации иммуноглобулина в крови субъекта, примерно равной 10 нг/мл или более.

Предпочтительно, из иммуноглобулина получают препарат для парентерального введения в подходящем инертном носителе, таком как стерильный физиологический солевой раствор. Например, концентрация иммуноглобулина в растворе носителя обычно составляет примерно 1-100 мг/мл. Вводимая доза определяется путем введения. Предпочтительные пути введения включают в себя парентеральное или внутривенное введение.

При парентеральном введении антитела по изобретению могут вводиться в виде дозировок для инъекций раствора или суспензии вещества в физиологически приемлемом растворителе с фармацевтическим носителем, который может

представлять собой стерильную жидкость, такую как вода и масла, с добавлением поверхностно-активного вещества или без него, и другие фармацевтические препараты, такие как препараты нефтяного, животного, растительного или синтетического происхождения, например арахисовое масло, соевое масло и минеральное масло. В общем, предпочтительными жидкими носителями, особенно в растворах для инъекций, являются гликоли, такие как пропиленгликоль или полиэтиленгликоль. Антитела по данному изобретению могут вводиться в виде инъекции депо или препарата для имплантации, которые могут быть получены таким способом, что будет обеспечиваться замедленное высвобождение активного ингредиента. Предпочтительная композиция включает в себя моноклональное антитело в концентрации 5 мг/мл, полученное в водном буфере, состоящем из 50 мМ L-гистидина, 150 мМ NaCl, с рН, доведенным до 6,0 с использованием HCl.

Терапевтически эффективная доза представляет собой дозу, эффективную для продукции значимого снижения демиелинизации и заметного повышения ремиелинизации. Предпочтительно, данного количества достаточно для продукции статистически значимого количества ремиелинизации у субъекта.

Согласно значимой характеристике изобретения иммуноглобулин, который распознает и связывает VLA-4, может вводиться отдельно, или в комбинации с противовоспалительным средством, которое обычно используют для лечения состояний и заболеваний, ассоциированных с демиелинизацией. Введение противовоспалительных средств может происходить перед, одновременно или после введения иммуноглобулина.

Терапевтически эффективное количество ремиелизирующего антитела или иммуноглобулина, например натализумаба, может оцениваться путем сравнения с установленными эффективными дозами для известных антител, вместе с данными, полученными для натализумаба в моделях *in vivo* и *in vitro*. Предпочтительно, данные происходят из исследований ингибирования демиелинизации. Как известно в данной области, поправки для дозы могут быть необходимы вследствие дегенерации или метаболизма иммуноглобулина, системной доставки по сравнению с локализованной, а также из-за возраста, массы тела, общего здоровья, пола, диеты, времени введения, взаимодействия лекарственных средств и тяжести состояния субъекта, которому вводился иммуноглобулин. Такие поправки могут быть сделаны, и подходящие дозы могут быть определены специалистом в данной области путем рутинного экспериментирования.

Терапевтические препараты иммуноглобулина подготавливали для хранения путем смешивания иммуноглобулина, имеющего требуемую степень чистоты, с необязательными физиологически приемлемыми носителями, наполнителями или стабилизаторами (Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th ed., A. Osol, Ed., 1980, и более современные издания), в виде лиофилизованного комка или водных растворов. Подходящие для иммуноглобулинов носители, наполнители или стабилизаторы являются нетоксичными, не терапевтическими и/или неиммуногенными для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях, и включают в себя такие буферы, как фосфат, цитрат, и другие органические кислоты; антиоксиданты, включающие в себя аскорбиновую кислоту; полипептиды низкой молекулярной массы (менее чем примерно 10 остатков); белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такой как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу,

маннозу или декстрины; хелатирующие средства, такие как EDTA; сахарные спирты, такие как манит и сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие как Tween, Pluronic или полиэтиленгликоль (ПЭГ). Конкретные неограничивающие примеры молекул носителя включают в себя гликозаминогликаны (например, гепарин-сульфат), гиалуроновую кислоту, кератан-сульфат, хондроитин-4-сульфат, хондроитин-6-сульфат, гепаран-сульфат, и дерматин-сульфат, перлекан и пентополисульфат.

Фармацевтические композиции, включающие в себя иммуноглобулины, могут также включать в себя, если требуется, фармацевтически приемлемые, нетоксичные носители или растворители, которые представляют собой несущие средства, обычно используемые для составленных фармацевтических композиций для введения животным и людям. Растворитель выбран так, что не влияет на биологическую активность комбинации. Неограничивающие примеры включают дистиллированную воду, физиологический фосфатно-солевой буфер, раствор Рингера, раствор декстрозы и раствор Хэнкса.

Средства по изобретению могут состояться в препараты для инъекций путем растворения, суспендирования или эмульгирования их в водном или неводном растворителе, таком как растительное или другие сходные масла, синтетические глицериды алифатических кислот, сложные эфиры высших алифатических кислот или пропиленгликоля. Препараты могут также содержать общепринятые добавки, такие как солюбилизаторы, изотонические средства, суспендирующие средства, эмульгирующие средства, стабилизаторы и консерванты.

Иммуноглобулины также могут использоваться в аэрозольном препарате, подлежащем введению через ингаляцию или легочную доставку. Средства по настоящему изобретению могут входить в состав приемлемой жидкости, представляющей собой сжатый под давлением газ, такой как дихлордифторметан, пропан, азот и тому подобное.

Иммуноглобулин также может захватываться в микрокапсулы, полученные, например, способами коацервации или путем межфазной полимеризации (например, микрокапсулы из полиметилцеллюлозы или желатина и микрокапсулы из полиметакрилата), в коллоидных системах доставки лекарственных средств (например, липосомы, альбуминовые микросферы, микроэмульсии, наночастицы и нанокапсулы), или в макроэмульсиях. Такие способы описаны в Remington's Pharmaceutical Sciences, см. выше.

Иммуноглобулин, подлежащий использованию для введения *in vivo*, должен быть стерильным. Это обычно выполняют путем фильтрации через стерильные мембраны для фильтрации, перед или после лиофилизации и восстановления. Иммуноглобулин обычно хранят в лиофилизованном виде или в растворе.

Терапевтические иммуноглобулиновые композиции, в основном, помещают в контейнер, имеющий стерильный порт доступа, например сумку для внутривенного раствора или пузырек, имеющий пробку, которую можно протыкать иглой для подкожных инъекций или сходным острым инструментом.

Подходящие примеры препаратов с замедленным высвобождением включают в себя полупроницаемые матриксы твердых гидрофобных полимеров, содержащих белок, причем данные матриксы находятся в виде оформленных предметов, например пленок или микрокапсул. Примеры матриксов с замедленным высвобождением включают в себя полиэферы, гидрогели (например, поли(2-гидроксиэтилметакрилат), как описано Langer et al., J. Biomed. Mater. Res. 15: 167-277

(1981) и Langer, Chem. Tech. 12: 98-105 (1982) или поли(виниловый спирт)), полиактиды (патент США № 3773919), сополимеры L-глутаминовой кислоты и гамма-этил-L-глутамат (Sidman et al., Biopolymers 22: 547-556, 1983), недеградирующий этиленвинилацетат (Langer et al., выше), деградируемые сополимеры молочной кислоты и гликолевой кислоты, такие как LUPRON DEPOT™ (т.е. инъеклируемые микросферы, составленные из сополимера молочной кислоты и гликолевой кислоты лейпролидацетат), и поли-D-(-)-3-гидроксимасляную кислоту (EP 133988).

При том, что полимеры, такие как этиленвинилацетат и молочная кислота - гликолевая кислота, обеспечивают высвобождение молекул в течение 100 суток, некоторые гидрогели высвобождают в течение более кратких периодов времени. Когда инкапсулированные антитела остаются в организме в течение длительного времени, они могут денатурировать или агрегировать в результате воздействия увлажнения при 37°C, что приводит к потере биологической активности и, возможно, изменяет иммуногенность. Рациональные стратегии могут быть предложены для стабилизации иммуноглобулинов в зависимости от используемых механизмов. Например, если обнаружено, что механизм агрегации осуществляется посредством образования внутримолекулярных S-S-связей посредством обмена тио-дисульфидов, стабилизация может быть достигнута путем модификации сульфгидрильных остатков, лиофилизации из кислых растворов, контроля содержания влаги, использования подходящих добавок, разработки конкретных полимерных матричных композиций, и тому подобного.

Композиции иммуноглобулинов с замедленным высвобождением также включают в себя захваченные липосомами иммуноглобулины. Липосомы, содержащие иммуноглобулины, получают, по существу, известными способами. См., например, Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82: 3688-92 (1985); Hwang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4030-4 (1980); патент США № 4485045; 4544545; 6139869; и 6027726. Обычно липосомы имеют малый размер (примерно от 200 до 800 Ангстрем), однослойного типа, в которых содержание липидов составляет выше 30 молекулярных процентов (мол.%) холестерина; выбранное отношение подбирают для оптимального лечения иммуноглобулинов.

Имуноглобулины по данному изобретению могут вводиться в форме замедленного высвобождения, например в виде инъекции депо, препарата для имплантации, или осмотического насоса, которые могут быть получены таким способом, что будет обеспечиваться замедленное высвобождение активного ингредиента. Имплантаты для препаратов замедленного высвобождения хорошо известны в данной области. Имплантаты могут быть получены, в качестве неограничивающих примеров, в виде микросфер, пластин, с биodeградируемыми или небiodeградируемыми полимерами. Например, полимеры молочной кислоты и/или гликолевой кислоты образуют легко разрушающийся полимер, который хорошо переносится организмом-хозяином. Имплантат помещают вблизи участка отложений белка (например, участка образования амилоидных отложений, ассоциированного с нейродегенеративными нарушениями), так что местная концентрация активного средства повышается в данном участке относительно остального организма.

Кроме того, иммуноглобулины, которые предотвращают демиелинизацию и/или индуцируют ремиелинизацию, могут предоставляться введением субъекту полинуклеотида, кодирующего все антитело или его часть (например,

одноцепочечный Fv). Полинуклеотид вводят субъекту в подходящем носителе для обеспечения экспрессии иммуноглобулина субъекту в терапевтически эффективном количестве.

5 Типичная ежедневная дозировка может изменяться для диапазонов иммуноглобулинов примерно от 1 мкг/кг до 10 мг/кг или более, в зависимости от указанных здесь факторов. Обычно врач вводит иммуноглобулины до достижения той дозировки, которая обеспечивает требуемый эффект. Прогресс данного лечения легко мониторируется путем общепринятых анализов.

10 В препарате «стабильного» антитела или фрагмента антитела белок по существу сохраняет его физическую стабильность, и/или химическую стабильность, и/или биологическую активность после хранения. Различные аналитические способы для получения стабильности белка доступны в данной области, и их обзор дан, например, в Peptide and Protein Drug Delivery, 247-301, (Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N. Y., Pubs.1991) и A. Jones, Adv. Drug Delivery Rev. 10: 29-90 (1993).
15 Стабильность можно измерять при выбранной температуре в течение выбранного периода времени. Предпочтительно, препарат стабилен при комнатной температуре (примерно 30°C) или при 40°C, по меньшей мере, в течение 1 месяца, и/или стабилен примерно при 2-8°C, по меньшей мере, в течение 1-2 лет. Более того, препарат, предпочтительно, стабилен после его замораживания (например, до -70°C) и оттаивания.

Белок «сохраняет свою физическую стабильность» в фармацевтическом препарате, если он не показывает признаков агрегации, осаждения и/или
25 денатурации после физической оценки цвета и/или чистоты, или по измерениям рассеяния УФ света, или путем гель-фильтрации.

Белок «сохраняет свою химическую стабильность» в фармацевтическом препарате, если химическая стабильность в данное время такая, что белок считается
30 сохранившим свою биологическую активность, как определено выше. Химическая стабильность может оцениваться путем детекции и количественного анализа химически измененных форм белка. Химическое изменение может включать в себя изменение размера (например, появление обломков), которое может оцениваться, например, путем гель-фильтрации, SDS-PAGE и/или времяпролетной масс-
35 спектрометрии с десорбцией-ионизацией с помощью матрицы (MALDI/TOF MS). Другие типы химического изменения включают в себя изменение заряда (например, которое происходит в результате дезамидирования), что может оцениваться, например, путем ионообменной хроматографии.

40 Иммуноглобулин «сохраняет свою биологическую активность» в фармацевтическом препарате, если биологическая активность иммуноглобулина в данное время находится примерно в пределах 10% (в пределах ошибок анализа) от биологической активности, проявляемой во время получения фармацевтического препарата, определенной, например, путем анализа связывания антигена.

45 5.5. Пути введения иммуноглобулиновых композиций

Как кратко обсуждается выше, фармацевтические композиции, обсуждаемые
50 выше, могут вводиться для профилактики и/или лечения рассеянного склероза или других связанных с демиелинизацией нарушений. В терапевтических применениях композиции вводят пациенту, у которого подозревают такое заболевание, как рассеянный склероз, или уже страдающему от этого заболевания, в количестве, достаточном для стимуляции ремиелинизации. Количество, соответствующее для осуществления этого, определяется как терапевтически или фармацевтически

эффективное количество.

Фармацевтические композиции вводят путем парентерального, местного, внутривенного, перорального или подкожного, внутримышечного, местного введения, такого как с использованием аэрозоля, или трансдермально, для профилактики и/или лечения. Хотя белковые вещества по изобретению могут переносить прохождение через кишечник после перорального введения (п.о.), подкожное (п.к.), внутривенное (в.в.), внутримышечное (в.м.), внутрибрюшинное введение путем инъекции депо или путем препарата-имплантата являются предпочтительными.

Фармацевтические композиции могут вводиться в разнообразных единичных дозированных формах в зависимости от способа введения. Например, единичные дозированные формы для перорального введения включают в себя порошок, таблетки, пилюли, капсулы и облатки.

Эффективные дозы композиций по настоящему изобретению для лечения указанных выше состояний варьируют в зависимости от многих различных факторов, включая средства введения, участок-мишень, физиологическое состояние пациента и другие вводимые лекарственные средства. Таким образом, дозировки для лечения следует титровать для оптимизации безопасности и эффективности. Данные композиции могут вводиться млекопитающим для ветеринарного использования у людей способом, сходным со способом введения других терапевтических средств, т.е. в физиологически приемлемом носителе. В общем, дозировка введения варьирует примерно от 0,0001 до 100 мг/кг и, чаще, от 0,01 до 0,5 мг/кг массы тела хозяина.

В предпочтительном режиме лечения антитело введено путем внутривенной инфузии или подкожной инъекции в дозе от 1 до 5 мг антитела на килограмм массы тела пациента. Дозу повторяли с интервалом от 2 до 8 недель. В пределах данного интервала предпочтительный режим лечения составляет 3 мг антитела на килограмм массы тела, что повторяется с 4-недельным интервалом.

6. Комбинации лекарственных средств

Как констатировалось ранее, ни одно из описанных ранее лекарственных средств или комбинаций лекарственных средств не было идентифицировано, как то, которое останавливает прогрессирующую потерю неврологической функции для демиелинизирующих заболеваний. Существовали некоторые лекарственные средства, которые подавляли опосредованное иммунной системой воспаление, и могли также снижать частоту рецидива рассеянного склероза. Эти и другие лекарственные средства, использованные для лечения симптомов, ассоциированных с рассеянным склерозом и ассоциированными с демиелинизацией состояниями, также рассматриваются для применения в комбинации с описанными здесь соединениями и композициями. Выбор одного или нескольких средств, подлежащих использованию в смеси и/или комбинации с соединениями и композициями, описанными здесь, зависит от ведения заболевания. Например, при РС ведение заболевания может подразделяться на две группы: (1) лечение, построенное для прерывания процесса заболевания, и (2) симптоматическое лечение. Различные комбинации лекарственных средств могут использоваться в категории (D). Например, описанные здесь соединения и композиции могут вводиться с иммуносупрессирующими средствами для дальнейшего ингибирования притока иммунных клеток и осуществляемой за счет этого демиелинизирующей активности. Например, могут использоваться иммуносупрессоры, такие как кортикостероиды.

Ремиелинизирующие средства (например, антитела против анти-альфа-4-

интегрин, низкомолекулярные антагонисты альфа-4-интегрин и тому подобное) могут комбинироваться с другими соединениями или композициями, используемыми для лечения, ослабления или смягчения симптомов, ассоциированных с демиелинизирующими состояниями или заболеваниями.

5 Другие средства, используемые для лечения, ослабления или смягчения симптомов, ассоциированных с демиелинизирующими состояниями или заболеваниями, включая рассеянный склероз, включают в себя в качестве неограничивающих примеров: миорелаксанты (например, диазепам, циклобензаприн, клоназепам, клонидин, примидон и тому подобное), антихолинергические соединения (например, пропантелин, дицикломин и тому подобное), стимуляторы центральной нервной системы (например, пемолин), нестероидные противовоспалительные средства (NSAID, такие как ибупрофен, напроксен и кетопрофен), интерфероны, иммуноглобулины, глатирамер (Coraхone®), митоксантрон (Novantrone®), мизопростол, ингибиторы фактора некроза опухоли-альфа (например, пирфенидон, инфлюксимаб и тому подобное) и кортикостероиды (например, глюкокортикоиды и минералокортикоиды).

10 Обычные средства для лечения рассеянного склероза включают в себя интерферон бета-1b (Betaseron®), интерферон-бета-1a (Avonex®), интерферон бета-1a в большой дозировке (Rebif®), глатирамер (Coraхone®), иммуноглобулин, митоксантрон (Novantrone®), кортикостероиды (например, преднизон, метилпреднизолон, дексаметазон и тому подобное). Также могут использоваться другие кортикостероиды, и включают в себя в качестве неограничивающих примеров кортизол, кортизон, флуоидокортизон, преднизолон, 6α-метилпреднизолон, триамцинолон и бетаметазон.

20 Дозированные формы средств для применения в комбинации с описанными здесь соединениями и композициями варьируют в зависимости от субъекта и используемой комбинации лекарственных средств. Например, интерфероны обычно вводят следующим образом: интерферон бета-1a (Avonex®) вводят по 30 мкг один раз в неделю; интерферон бета-1a вводят примерно в количестве 22 мкг или 44 мкг три раза в неделю; и интерферон бета-1b (Betaseron®) вводят по 250 мкг через день (Durelli et al., Lancet 359: 1453-60, 2002). Обычно интерфероны вводят при рецидиве или перемежающемся рассеянном склерозе. Так, в комбинации с описанными здесь ремиелинизирующими средствами предпочтительные интервалы интерферонов могут включать в себя примерно от 0,1 мкг до 250 мкг, и более предпочтительно примерно от 0,5 мкг до 50 мкг, в зависимости от способа, которым вводится средство в сочетании с другими описанными здесь ремиелинизирующими соединениями и композициями.

35 Нестероидные противовоспалительные средства (NSAID), рассматриваемые для применения по изобретению, включают в качестве неограничивающих примеров селективные ингибиторы COX и селективные ингибиторы COX-2. Неселективные ингибиторы COX включают в себя в качестве неограничивающих примеров производные салициловой кислоты (например, аспирин, салицилаты натрия, трисалицилат холина-магния, сальсалат, дифлунизал, сульфасалазин, и олсалазин), производные пара-аминофенола (например, ацетаминофен), индол и инденуксусные кислоты (например, толметин, диклофенак и кеторолак), гетероарилуксусные кислоты (например, абупрофен, напроксен, флурбипрофен, кетопрофен, фенпрофен и оксапрозин), антраниловые кислоты или фенаматы (например, меклофенамовая кислота и меклофенамовая кислота), еноловые кислоты (например, оксикамы, такие

как пероксидам и мелоксикам), и алканоны (например, набуметон). Селективные ингибиторы СОХ-2 включают в себя диарилзамещенные фураны (например, рофекоксиб), диарилзамещенные пиразолы (например, целекоксиб), индолуксусные кислоты (например, этодолак), и сульфонанилиды (например, нимезулид). NS часто вводят в комбинации с интерфероном для уменьшения гриппоподобных симптомов, испытываемых пациентами, получающими, например, Avonex®. Обычные NS включают в себя напроксен, ибупрофен и кетопрофен. Парацетамол также часто вводят пациентам. См., Reess et al., 2002 *Mult. Scler.* 8: 15-8.

Глатирамер-ацетат (GA, Copaxone®) представляет собой синтетическую молекулу, которая ингибирует активацию реакционноспособных в отношении основного белка миелина Т-клеток и индуцирует Т-клеточный репертуар, характеризующийся противовоспалительными эффектами. Более того, глатирамер может достигать центральной нервной системы (ЦНС), тогда как интерферон-бета этого не может (Dhib-Jalbut, 2002 *Neurology* 58: 53-9; Weinstock-Guttman et al., 2000 *Drugs* 59: 401-10).

Митоксантрон представляет собой синтетическое средство на основе антрацендиона, которое, как было показано, эффективно в плане лечения вторичного прогрессирующего рассеянного склероза (ВП-РС). Однако применение данного лекарственного средства опять же ограничено его кумулятивной кардиотоксичностью (Weinstock-Guttman et al., 2000).

Фактор некроза опухолей-альфа (TNF- α) может являться ключевым цитокином демиелинизации (Walker et al., 2001 *Mult.Scler.* 7: 305-12). Таким образом, применение средств-антагонистов функции TNF- α или ингибиторов его синтеза может использоваться в комбинации с описанными здесь средствами и соединениями. Они могут включать в себя антитела против TNF- α (например, инфликсимаб), а также такие средства, как пирфенидон. Пирфенидон представляет собой непептидное лекарственное средство, которое, как было показано, снижает синтез TNF- α и блокирует рецепторы TNF- α . *Id.*

Долгое время основой лечения при большинстве демиелинизирующих состояний и заболеваний было применение АКТГ, глюкокортикоидов и кортикоидных стероидов. Данные средства применяют по причине их противоотечного и противовоспалительного действия. АКТГ обычно вводят субъекту в количестве 80 ед., вводимых внутривенно в 500 мл 5% декстрозы и воды в течение 6-8 часов в течение 3 суток. Также его можно вводить в количестве 40 ед./мл внутримышечно в дозе 40 ед. каждые 12 часов в течение 7 суток, с дозой, которая затем снижается каждые 3 суток. См., S. Hauser, "Multiple sclerosis and other demyelinating diseases," in Garrison's Principles of Internal Medicine 2287-95 (13th ed., Isselbacher et al., ed. 1994). Метилпреднизолон обычно вводят медленно в 500 мл D5W в течение 6 часов, предпочтительно, утром. Обычные дозировки включают в себя 1000 мг ежедневно в течение 3 суток, 500 мг ежедневно в течение 3 суток, и 250 мг ежедневно в течение 3 суток. *Id.* Также обычно вводят комбинацию метилпреднизолон-преднизон. Обычно вводят внутривенно 1000 мг метилпреднизолон в течение 3 суток, после чего вводят перорально преднизон в дозе 1 мг/кг в сутки в течение 14 суток. Таким образом, для применения в комбинации с описанными здесь соединениями и композициями, стероиды могут вводиться в количествах, изменяющихся примерно от 1 до 1000 мг/кг примерно в течение 1-14 суток, по необходимости.

Побочными эффектами демиелинизирующих состояний, таких как РС, являются

усталость и снижение когнитивной функции. Средства, такие как амантадина гидрохлорид и пемолин, часто используют для лечения усталости, ассоциированной с РС (Geisler et al., 1996 Arch. Neurol. 53: 185-8).

5 Преимущество таких комбинированных способов лечения в том, что оно может уменьшать специфичные для класса и для средства побочные эффекты, в настоящее время связываемые с некоторыми лекарственными средствами. Специфичные для класса побочные эффекты от интерферона-бета включают лихорадку, озноб, миалгии, артралгии и другие гриппоподобные симптомы, которые начинаются 10 через 2-6 часа после инъекции и обычно разрешаются после 24 часов после инъекции. Время от времени интерферон-бета также индуцирует преходящее ухудшение ранее существующих симптомов РС. Специфичные побочные эффекты для средства включают в себя реакции в участке инъекции, характерные для интерферона бета-1b. Ведение таких эффектов может осуществляться путем подбора 15 дозы и времени введения, предписания подходящих комбинаций ацетаминофена, нестероидных противовоспалительных лекарственных средств (NSAID) и стероидов. См. Munschauer et al., 1997 Clin. Ther. 19: 883-93.

20 Таким образом, комбинации лекарственных средств, в которых может уменьшаться количество конкретного лекарственного средства, могут снижать неблагоприятные побочные эффекты, испытываемые пациентом.

При введении в комбинации низкомолекулярные ремиелинизирующие средства могут вводиться в том же препарате, что и другие соединения или композиции, или в 25 отдельном препарате. При введении в комбинации ремиелинизирующие иммуноглобулины, в основном, вводят в препаратах, отдельных от других соединений и композиций. При введении в комбинациях ремиелинизирующие средства могут вводиться перед, после или одновременно с другими соединениями и композициями, используемыми для лечения, ослабления или смягчения симптомов.

30 **7. Режимы дозировки для постоянного введения**

Режим постоянного лечения по настоящему изобретению обеспечивает введение средства против альфа-4-интегрина (например, малой молекулы или иммуноглобулина) на уровне, который поддерживает насыщение рецепторов, достаточное для подавления патологического воспаления у нуждающегося в этом 35 пациента. Способы по изобретению определяют введение один раз в каждые две недели, или один раз в месяц, или один раз каждые два месяца, с повторяющимися дозировками, которые проходят в течение периода, равного, по меньшей мере, шести месяцам, и, более предпочтительно, одному году или более. Способы по изобретению включают в себя достижение и поддержание у пациента-человека 40 уровня насыщения рецептора димера, содержащего альфа-4-интегрин (например, VLA-4), в интервале примерно от 65% до 100%, более предпочтительно, от 75% до 100%, и, даже более предпочтительно, от 80 до 100%. Уровни насыщения данных рецепторов поддерживаются на таких уровнях постоянно (например, в течение 45 периода 6 месяцев или около того) для обеспечения продолжительного подавления патологического воспаления.

В конкретном осуществлении ремиелинизирующее средство представляет собой антитело, предпочтительно, гуманизированное и человеческое антитело, и 50 дозирование осуществляют на ежемесячной основе. В другом конкретном осуществлении ремиелинизирующее средство представляет собой соединение формулы I, IA, IB, IC, II, ПА или ПВ, как определено выше. Уровни насыщения рецептора могут подлежать мониторингу для определения эффективности режима

дозирования, и физиологические маркеры измеряют для подтверждения успеха режима дозирования. В качестве подтверждения, можно проводить мониторинг сывороточных уровней антитела для идентификации клиренса антитела и для определения потенциального влияния полужизни на эффективность лечения.

5 Для лечения средством по изобретению уровень дозировки изменяется примерно от 0,0001 до 100 мг/кг, и, чаще, от 0,01 до 5 мг/кг массы тела хозяина. Например, дозировки могут составлять 1 мг/кг массы тела или 10 мг/кг массы тела. Дозировка и частота изменяется в зависимости полужизни средства в организме пациента.

10 Дозировка и частота введения может изменяться в зависимости от того, проводится ли профилактика или лечение. Для иммунологического введения каждая дозированная инъекция составляет, в основном, от 2,0 до 8,0 мг/кг дозировки. Для введения соединения каждая дозированная инъекция составляет, в основном, от 1,0 до 50,0 мг/кг дозировки. Согласно предоставленному здесь учению можно
15 проводить мониторинг эффективных дозровок путем получения от пациента образцов жидкости. Для этого, в основном, получают образец сыворотки крови или цереброспинальной жидкости, и определяют насыщение интегриновых рецепторов с использованием способов, хорошо известных в данной области. В идеале, образец
20 отбирают перед первым введением дозы; последующие образцы отбирают и измеряют перед и/или после каждого лечения.

В качестве альтернативы постоянному введению, включающему в себя повторяющиеся отдельные дозы, ремиелинизирующее средство может вводиться в
25 виде препарата для замедленного высвобождения, обеспечивающего такую дозировку, что уровень насыщения рецепторов остается достаточным для подавления воспаления. Например, системы контролируемого высвобождения могут использоваться для постоянного введения ремиелинизирующего средства в объеме изобретения. Обсуждение подходящих дозированных форм с контролируемым
30 высвобождением можно обнаружить в Lesczek Krowczynski, EXTENDED-RELEASED DOSAGE FORMS, 1987 (CRC Press, Inc.).

Различные технологии контролируемого высвобождения покрывают очень широкий спектр лекарственных дозированных форм. Технологии контролируемого высвобождения включают в себя, в качестве неограничивающих примеров,
35 физические системы и химические системы. Физические системы включают в себя в качестве неограничивающих примеров резервуарные системы с контролирующими скорость мембранами, такие как системы микроинкапсуляции, макроинкапсуляции и мембранные системы; резервуарные системы без контролирующих скорость
40 мембран, такие как полые волокна, ультрамикropористый триацетат целлюлозы, и пористые полимерные субстраты и пены; монолитные системы, включающие в себя системы, физически растворенные в непористых, полимерных или эластомерных матриксах (например, неразрушающихся, разрушающихся, с доступом для агентов
45 окружающей среды, и подлежащих деградации), и материалы, физически растворенные в непористых, полимерных или эластомерных матриксах (например, неразрушающихся, разрушающихся, с доступом для агентов окружающей среды, и подлежащих деградации); ламинированные структуры, включающие в себя резервуарные слои, химически сходные или не сходные с внешними контрольными
50 слоями; и другие физические способы, такие как осмотические насосы, или адсорбцию на ионообменные смолы.

Химические системы включают в себя в качестве неограничивающих примеров химическую эрозию полимерных матриксов (например, гетерогенную или

гомогенную эрозию), или биологическую эрозию полимерного матрикса (например, гетерогенную или гомогенную). Дополнительное обсуждение категорий систем для контролируемого высвобождения можно найти в Agis F. Kydonieus, CONTROLLED RELEASE TECHNOLOGIES: METHODS, THEORY, AND APPLICATIONS, 1980 (CRC Press, Inc.).

Способы по изобретению могут использоваться для лечения пациента, который страдает от заболевания, в котором участвует хроническое воспаление, или оно является причиной заболевания, или для профилактики пациента при риске конкретного заболевания. Режим дозировки, необходимый для профилактики или лечения, может варьировать, и его требуется разрабатывать для конкретного применения и подлежащего лечению заболевания.

В некоторых способах два или большее число средств (например, моноклональные антитела с другой специфичностью связывания, описанное здесь моноклональное антитело и соединение) вводят одновременно, и в данном случае дозировка каждого вводимого средства снижается в указанных интервалах. Комбинированные способы лечения могут также проводиться в случае, когда средства вводят пациенту последовательно с требуемыми временными интервалами между периодами введения. Интервалы могут также быть нерегулярными и управляться измерением уровня насыщения рецепторов или другими признаками патологического процесса.

Специалистам в данной области легко понять, что уровни дозы могут изменяться как функция конкретного средства, тяжести симптомов и чувствительности субъектов к побочным эффектам. Некоторые из конкретных средств являются более сильнодействующими, чем другие. Предпочтительные дозировки для данного средства легко определяются специалистами в данной области различными способами. Предпочтительным способом является измерение физиологического сильнодействия данного средства.

В профилактических применениях фармацевтические композиции вводят постоянно субъекту, подверженному конкретному заболеванию, или, иначе говоря, при риске данного заболевания, в количестве, достаточном для устранения или снижения риска или задержки начала заболевания. Такое количество определяется как профилактически эффективная доза. У пациентов с рассеянным склерозом в ремиссии риск может оцениваться путем ЯМР-изображений или, в некоторых случаях, путем предсимптомных признаков у наблюдаемых пациентов.

Эффективные режимы дозировки композиций по настоящему изобретению для лечения описанных выше состояний изменяются в зависимости от различных факторов, включающих в себя средство введения, участок-мишень, физиологическое состояние пациента и другие вводимые лекарственные средства. Таким образом, дозировки для лечения следует титровать для оптимизации безопасности и эффективности. В общем, дозировка введения варьирует примерно от 0,0001 до 100 мг/кг, чаще, от 0,01 до 50 мг/кг, и, еще чаще, от 0,1 до 30 мг/кг массы тела хозяина.

Ремиелинизирующие средства по изобретению могут использоваться с эффективными количествами других терапевтических средств против острого и хронического воспаления. Такие средства включают в себя другие антагонисты молекул адгезии (например, другие интегрины, селектины и члены иммуноглобулинового семейства (Ig) (см. Springer, Nature (1990) 346: 425-433; Osborn (1990) Cell 62: 3; и Hynes (1992) Cell 9: 11)). Интегрины представляют собой гетеродимерные трансмембранные гликопротеины, состоящие α -цепи (120-180 кДа)

и β -цепи (90-110 кДа), в общем, имеющие более короткие цитоплазматические домены. Например, три важных интегрина LFA-1, Mac-1 и P150,95 имеют разные альфа-субъединицы, обозначенные CD11a, CD11b и CD11c, и общую бета-субъединицу, обозначенную CD18. LFA-1 ($\alpha_L\beta_2$) экспрессируется на лимфоцитах, гранулоцитах и моноцитах, и связывается преимущественно с противоположным рецептором семейства Ig, называемым ICAM-1, и с родственными лигандами. ICAM-1 экспрессируется на многих клетках, включая лейкоциты и эндотелиальные клетки, и положительно регулируется на сосудистом эндотелии цитокинами, такими как TNF и IL-1. Mac-1 ($\alpha_M\beta_2$) распространен на нейтрофилах и моноцитах, и также связывается с ICAM-1. Третий β_2 -интегрин, P150,95 ($\alpha_X\beta_2$) также обнаружен на нейтрофилах и моноцитах. Селектины состоят из L-селектина, E-селектина и P-селектина.

Другие противовоспалительные средства, которые могут использоваться в комбинации с ремиелинизирующими средствами, включают в себя антитела и другие антагонисты или цитокины, такие как интерлейкины от IL-1 до IL-13, факторы некроза опухоли α и β (TNF- α и TNF- β), интерфероны α , β и γ , фактор роста опухоли бета (TGF- β), колониестимулирующий фактор (CSF) и гранулоцитарно-моноцитарный стимулирующий фактор (GM-CSF). Другие противовоспалительные средства включают в себя антитела и другие антагонисты хемокинов, таких как MCP-1, MIP-1a, MIP-1 β , RANTES, экзотаксин и IL-8. Другие противовоспалительные средства включают в себя NS, стероиды и другие низкомолекулярные ингибиторы воспаления. Расчет времени и последовательность введения, препараты, пути введения и эффективные концентрации средств для комбинированного лечения соответствуют описанным выше для гуманизированных антител против альфа-4-интегрина, низкомолекулярных соединений против альфа-4-интегрина и комбинаций лекарственных средств.

8. Реагенты для тестирования

Реагенты могут тестироваться *in vitro* и *in vivo*. Как известно в данной области, существуют многие модели *in vitro* для тестирования того, связывается ли реагент с альфа-4-субъединицей. Тестирование того, характеризуется ли данный реагент активностью *in vivo* по стимуляции ремиелинизации и ингибированию демиелинизации, могут проводиться с использованием модели экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита (EAE) на животных. EAE представляет собой воспалительное состояние центральной нервной системы со сходством с рассеянным склерозом (Paterson, IN TEXTBOOK OF IMMUNOPATHOLOGY, eds. Miescher and Mueller-Eberhard, 179-213, Grune and Stratton, N. Y. 1976).

EAE может индуцироваться у крыс путем единственной внутрибрюшинной инъекции CD4-позитивного клона Т-клеток, специфичного в отношении основного белка миелина. Воспаление инициируется в пределах 4-12 часов; эндогенные моноциты и лимфоциты инфильтрируют воспаленные сосуды в стволе головного мозга и костном мозгу, что ведет к параличу хвоста и задних конечностей на 4 или 5 сутки.

Срезы головного мозга с EAE можно тестировать на их способность поддерживать прикрепление лимфоцитов с использованием, например, анализа связывания *in vitro*, описанного в Stamer and Woodruff, J. Exp. Med. 144: 828-833 (1976).

Реагенты против рецепторов адгезии лейкоцитов могут оцениваться на ингибиторную активность в анализе срезов *in vitro*, описанном в примере 4. Как показано ниже в таблицах 12 и 13, прикрепление клеток U937 (клеточная линия

моноцитов человека) была полностью блокирована антителами против человеческого интегрина VLA-4. Ремиелинизирующие антитела продуцировали значительно больший блокирующий эффект по сравнению с антителами против других молекул адгезии.

5 Неожиданным оказалось то, что антитела, которые селективно ингибировали активность связывания фибронектина α_4 -интегрином (P4G9 и HP1/7), усиливали прикрепление U937 к сосудам ЕАЕ. Данные результаты указывают на то, что
10 активность по связыванию фибронектина α_4 -интегрином не прямо вовлечена в адгезию U937 к сосудам ЕАЕ *in vitro*. Таблицы 12 и 13 также показывают, что антитела против многих других рецепторов адгезии лимфоцитов не имели эффекта на связывание U937 или лимфоцитов с сосудами ЕАЕ.

15 Благодаря результатам *in vitro*, в которых используются описанные выше реагенты $\alpha_4\beta_1$, действие данных антител на прогрессирование ЕАЕ также может тестироваться *in vivo* путем измерения задержки начала паралича или снижения тяжести паралича. Протективный эффект одного из антител, использованных по
20 настоящему изобретению HP2/1, предоставлен в примере 4.

25 Дополнительные реагенты, эффективные в отношении ингибирования связывания лейкоцитов с эндотелиальными клетками головного мозга и поэтому потенциально ингибирующие демиелинизацию и стимулирующие ремиелинизацию, могут идентифицироваться с использованием анализов адгезии. С использованием HP2/1 или изопропилового эфира N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-
30 O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина в качестве контроля, можно, например, проводить скрининг других антител или реагентов на их способность ингибировать связывание лимфоцитов с известным лигандом $\alpha_4\beta_1$ -интегрин. Могут идентифицироваться некоторые дополнительные реагенты, которые ингибируют адгезию путем направленного действия на субъединицу α_4 рецептора клеточной
35 поверхности лейкоцитов VLA-4.

Моноклональные антитела, которые могут использоваться в способах и композициях по настоящему изобретению, включают в себя, например, HP2/1, TY21.6, TY21.12 и L25, обсуждаемые в патенте США № 6033665, который включен
40 сюда полностью в качестве ссылки. Данные антитела взаимодействуют с цепью VLA-4 и блокируют связывание с VCAM-1, фибронектином и воспалительными эндотелиальными клетками головного мозга, но не влияют на активность других представителей семейства интегринов β_1 .

45 Другие реагенты, которые избирательно взаимодействуют с мишенью VLA-4/VCAM-1, также могут использоваться. Например, антитело, которое взаимодействует с доменом VLA-4, связывающим VCAM-1 (α_4), в сцеплении с цепью β_1 , которое блокирует только миграцию лимфоцитов в участки воспаления, такие, как существующие в головном мозге во время рассеянного склероза, могут использоваться для стимуляции ремиелинизации. Данный реагент, кроме того, не
50 будет воздействовать на взаимодействия матрикса (опосредованные всеми представителями интегринов β_1), и не будет воздействовать на нормальный кишечный иммунитет (опосредованный $\alpha_4\beta_7$). Продукция данного и других таких реагентов также доступна для специалистов в данной области.

9. Примеры

Следующие примеры приведены для предоставления специалистам в данной области полного раскрытия и описания того, как осуществлять и применять настоящее изобретение, и они не предназначены для ограничения объема того, что

авторы изобретения считают своим изобретением, и не подразумевается, что описанные ниже эксперименты представляют собой все или единственные проведенные эксперименты. Предприняты усилия по обеспечению точности используемых чисел (например, количеств, температуры и т.д.), но следует принимать в расчет некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Кроме указанных иначе случаев, части представляют собой массовые части, молекулярная масса представляет собой средневесовую молекулярную массу, температура выражена в градусах Цельсия, и давление является атмосферным или около того.

9.1. Синтез соединений

В приведенных ниже примерах, если сокращение не определено выше, оно имеет общепринятое значение. Кроме того, все температуры выражены в градусах Цельсия (кроме обозначенных иначе случаев). Следующие способы использовали для получения соединений, приведенных ниже, как указано.

Способ 1

Процедура N-тозилирования

N-Тозилирование подходящей аминокислоты проводили по способу Cupps, Boutin and Rapoport J. Org Chem. 1985, 50, 3972.

Способ 2

Процедура получения метилового сложного эфира

Метилвые эфиры аминокислот получали с использованием способа Brenner and Huber Helv. Chim. Acta 1953, 36, 1109.

Способ 3

Способ присоединения BOP

Требуемый сложный эфир дипептида получали взаимодействием подходящей N-защищенной аминокислоты (1 эквивалент) с соответствующим эфиром аминокислоты или гидрохлоридом эфира аминокислоты (1 эквивалент), бензотриазол-1-илокси-трис(диметиламино)фосфония гексафторфосфатом [BOP] (2,0 эквивалента), триэтиламино (1,1 эквивалента) и DMF. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Неочищенный продукт очищали путем хроматографии на испарительной колонке с получением сложного эфира дипептида.

Способ 4

Процедура гидрирования I

Гидрирование проводили с использованием 10% палладия на углеводе (10% по массе) в метаноле при давлении 30 фунтов на кв.дюйм в течение ночи. Смесь фильтровали через прокладку целита, и фильтрат концентрировали с получением требуемого аминсоединения.

Способ 5

Процедура гидролиза I

К охлажденному (0°C) раствору подходящего сложного эфира в THF/H₂O (2:1, 5-10 мл) добавляли LiOH (или NaOH) (0,95 эквивалента). Температуру поддерживали на 0°C, и взаимодействие завершали в течение 1-3 часов. Реакционную смесь экстрагировали этилацетатом, и водную фазу лиофилизировали с получением требуемой соли карбоксилата.

Способ 6

Процедура гидролиза сложного эфира II

К охлажденному (0°C) раствору подходящего сложного эфира в THF/H₂O (2:1, 5-10 мл) добавляли LiOH (1,1 эквивалента). Температуру поддерживали на 0°C, и

взаимодействие завершали в течение 1-3 часов. Реакционную смесь концентрировали, и остаток переносили в H₂O, и pH доводили до 2-3 водной HCl. Продукт экстрагировали этилацетатом, и объединенную органическую фазу промывали солевым раствором, сушили над MgSO₄, фильтровали и концентрировали с получением требуемой кислоты.

Способ 7

Процедура гидролиза сложного эфира III

Подходящий сложный эфир растворяли в диоксане/H₂O (1:1), и добавляли 0,9 эквивалента 0,5н NaOH. Реакционную смесь перемешивали в течение 3-16 часов, и затем концентрировали. Полученный остаток растворяли в H₂O и экстрагировали этилацетатом. Водную фазу лиофилизировали с получением требуемой натриевой соли карбоксилата.

Способ 8

Процедура сульфонилирования I

К защищенному подходящим образом аналогу аминокислоты (11,2 ммоль), растворенному в метилхлориде (25 мл) и охлажденному до -78°C, добавляли требуемый сульфонилхлорид (12 ммоль) с последующим добавлением по каплям пиридина (2 мл). Раствору позволяли нагреться до комнатной температуры, и перемешивали его в течение 48 ч. Реакционный раствор переносили в делительную воронку объемом 250 мл с метилхлоридом (100 мл), и экстрагировали 1н HCl (50 мл×3), солевым раствором (50 мл), и водой (100 мл). Органическую фазу сушили (MgSO₄), и растворитель концентрировали с получением требуемого продукта.

Способ 9

Процедура восстановительного аминирования

Восстановительное аминирование Tos-Pro-p-NH₂-Phe подходящим альдегидом проводили с использованием уксусной кислоты, триацетоксиборгидрида натрия, метилхлориде, и объединенную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Неочищенный продукт очищали путем хроматографии на испарительной колонке.

Способ 10

Процедура удаления ВОС

Безводный газ хлороводород (HCl) барботировали через раствор подходящего эфира Вос-аминокислоты в метаноле при 0°C в течение 15 минут, и реакционную смесь перемешивали в течение трех часов. Раствор концентрировали до консистенции сиропа, и растворяли в Et₂O и опять концентрировали. Данную процедуру повторяли, и полученное в результате твердое вещество помещали в глубокий вакуум на период ночи.

Способ 11

Процедура гидролиза трет-бутилового сложного эфира I

Трет-бутиловый сложный эфир растворяли в CH₂Cl₂ и обрабатывали TFA. Взаимодействие завершали через 1-3 ч, после чего реакционную смесь концентрировали, и остаток растворяли в H₂O и лиофилизировали с выходом требуемой кислоты.

Способ 12

Процедура присоединения EDC I

С раствором N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролина (1 эквивалент) в CH₂Cl₂ (5-20 мл) смешивали подходящий гидрохлорид эфира аминокислоты (1 эквивалент), N-

метилморфолин (1,1-2,2 эквивалента) и 1-гидроксибензотриазол (2 эквивалента), помещали смесь на ледяную баню и добавляли 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимид (1,1 эквивалента). Реакционной смеси позволяли достичь комнатной температуры, и перемешивали ее в течение ночи. Реакционную смесь выливали в H₂O, и органическую фазу промывали насыщенным раствором NaHCO₃, соевым раствором, сушили (MgSO₄ или Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали путем колоночной хроматографии.

Способ 13

Процедура присоединения EDC II

С раствором подходящей N-защищенной аминокислоты (1 эквивалент) в DMF (5-20 мл) смешивали подходящий гидрохлорид эфира аминокислоты (1 эквивалент), Et₃N-(1,1 эквивалента) и 1-гидроксибензотриазол (2 эквивалента), помещали смесь на ледяную баню и добавляли 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимид (1,1 эквивалента). Реакционной смеси позволяли достичь комнатной температуры, и перемешивали ее в течение ночи. Реакционную смесь распределяли между EtOAc и H₂O, и органическую фазу промывали 0,2н лимонной кислотой, H₂O, насыщенным раствором NaHCO₃, соевым раствором, сушили (MgSO₄ или Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали путем колоночной хроматографии или препаративной TLC.

Способ 14

Процедура сульфонирования II

Подходящий сульфонилхлорид растворяли в CH₂Cl₂ и помещали на ледяную баню. Добавляли L-Pro-L-Phe-OMe·HCl (1 эквивалент) и Et₃N-(1,1 эквивалента), и реакционной смеси позволяли нагреться до комнатной температуры, и перемешивали ее в течение ночи в атмосфере азота. Реакционную смесь концентрировали, и остаток распределяли между EtOAc и H₂O, и органическую фазу промывали насыщенным NaHCO₃, соевым раствором, сушили (MgSO₄ или Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали путем колоночной хроматографии или препаративной TLC.

Способ 15

Процедура сульфонирования III

К раствору L-Pro-L-4-(3-диметиламинопропилокси)-Phe-OMe [полученного с использованием процедуры, описанной в способе 10] (1 эквивалент) в CH₂Cl₂ добавляли Et₃N- (5 эквивалентов) с последующим добавлением подходящего сульфонилхлорида (1,1 эквивалента). Реакционной смеси позволяли нагреться до комнатной температуры, и перемешивали ее в течение ночи в атмосфере азота. Реакционную смесь концентрировали, растворяли в EtOAc, промывали насыщенным раствором NaHCO₃ и 0,2н лимонной кислотой. Водную фазу подщелачивали твердым NaHCO₃, и продукт экстрагировали EtOAc. Органическую фазу промывали соевым раствором, сушили (MgSO₄ или Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали. Неочищенный метиловый сложный эфир очищали путем препаративной TLC. Соответствующую кислоту получали с использованием процедуры, описанной в способе 7.

Способ 16

Процедура гидрирования II

К раствору азлактона в метаноле (10-15 мл) добавляли NaOAc (1 эквивалент) и 10%-ный Pd/C. Данную смесь помещали в гидрогенизатор при давлении 40 фунтов на кв. дюйм H₂. Через 8-16 часов реакционную смесь фильтровали через прокладку

целита, и фильтрат концентрировали с выходом метилового сложного эфира дегидропептида. Данный эфир растворяли в диоксане/ H_2O (5-10 мл), и к нему добавляли 0,5н NaOH (1,05 эквивалента). После перемешивания в течение 1-3 часов реакционную смесь концентрировали, и остаток перерастворяли в H_2O и промывали EtOAc. Водную фазу подкисляли 0,2н HCl, и продукт экстрагировали EtOAc. Объединенную органическую фазу промывали соевым раствором (1×5 мл), сушили ($MgSO_4$ или Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали с выходом кислоты, представляющей собой смесь диастереоизомеров примерно 1:1.

Способ 17

Процедура гидролиза трет-бутилового сложного эфира II

Трет-бутиловый сложный эфир растворяли в CH_2Cl_2 (5 мл) и обрабатывали TFA (5 мл). Взаимодействие завершали через 1-3 ч, после чего реакционную смесь концентрировали, и остаток растворяли в H_2O и концентрировали. Остаток перерастворяли в H_2O и лиофилизировали с выходом требуемого продукта.

Пример 1

Синтез этилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали по процедуре, в общих чертах описанной для получения в примере 4, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

1H ЯМР (CD_3) $_2SO$: δ = 8,33 (д, 1H), 7,70 (д, 2H), 7,41 (д, 2H), 7,24 (д, 2H), 7,00 (д, 2H), 4,52-4,44 (м, 1H), 4,09-4,00 (м, 3H), 3,53 (ушир.с, 2H), 3,38-3,31 (м, 3H), 3,11-3,01 (м, 3H), 2,39 (с, 3H), 2,32 (ушир.с, 4H), 2,19 (с, 3H), 1,61-1,50 (м, 3H), 1,43-1,38 (м, 1H), 1,13 (т, 3H).

^{13}C ЯМР (CD_3) $_2SO$: δ = 171,1, 171,1, 153,9, 149,8, 143,6, 134,1, 133,9, 130,0, 129,8, 127,4, 121,5, 61,2, 60,7, 54,2, 54,1, 53,3, 49,0, 45,7, 44,0, 43,4, 35,8, 30,5, 23,8, 21,0, 14,0.

Пример 2

Синтез этилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

В пузырьке для проведения взаимодействия объединяли 7,00 г (15,2 ммоль, 1,0 экв.) Ts-Pro-Tyr(H)-OEt и 1,86 г (15,2 ммоль, 1,0 экв.) DMAP. Затем добавляли метиленхлорид (50 мл), триэтиламин (2,12 мл - 1,54 г, 15,2 ммоль, 1,0 экв.), и диметилкарбамилхлорид (1,68 мл - 1,96 г, 18,2 ммоль, 1,2 экв.). Пузырек плотно закупоривали, и реакционный раствор перемешивали при вращении с получением гомогенного раствора. Реакционный раствор затем нагревали до 40°C. Через 48 ч TLC полученного в результате бесцветного раствора указывала на полное преобразование. Пропись реакционного раствора была следующей: добавить в реакционную смесь 50 мл EtOAc и 50 мл гексана, и промыть реакционную смесь 3×50 мл 0,5 мл гексана, и промыть 3×50 мл 0,5М лимонной кислоты, 2×50 мл воды, 2×50 мл 10% K_2CO_3 , и 1×50 мл насыщенного раствора NaCl. Сушить с использованием $MgSO_4$. Фильтровать. Упарить до получения 8,00 г (99%) указанного в заголовке соединения в виде чистого масла, которое затвердевает при стоянии. Перекристаллизовать из 5:3:2 гептан/EtOAc/ CH_2Cl_2 .

Данные ЯМР были следующими:

1H ЯМР (CD_3) $_2SO$: δ = 8,32 (д, 1H), 7,70 (д, 2H), 7,41 (д, 2H), 7,23 (д, 2H), 7,00 (д, 2H), 4,52-4,44 (м, 1H), 4,09-4,02 (м, 3H), 3,37-3,31 (м, 1H), 3,11-2,96 (м, 3H), 3,00 (с, 3H),

2,87 (с, 3H), 2,39 (с, 3H), 1,61-1,50 (м, 3H), 1,43-1,38 (м, 1H), 1,13 (т, 3H).

^{13}C ЯМР ($\text{CD}_3)_2\text{SO}$: $\delta = 171,1, 171,1, 154,0, 150,0, 143,6, 133,9, 133,9, 130,0, 129,8, 127,4, 121,5, 61,2, 60,6, 53,3, 49,0, 36,3, 36,1, 35,8, 30,5, 23,8, 21,0, 14,0$.

Пример 3

Синтез изопропилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали по процедуре, в общих чертах описанной для получения в примере 4, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,72$ (д, 2H), 7,36 (д, 1H), 7,33 (д, 2H), 7,16 (д, 2H), 7,03 (д, 2H), 5,07 (септ., 1H), 4,78 (дт, 1H), 4,08-4,05 (м, 1H), 3,67 (ушир.с, 2H), 3,57 (ушир.с, 2H), 3,41-3,35 (м, 1H), 3,24 (дд, 1H), 3,15-3,07 (м, 1H), 3,04 (дд, 1H), 3,46-2,43 (м, 7H), 2,34 (с, 3H), 2,05-2,02 (м, 1H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 170,9, 170,4, 153,6, 150,5, 144,3, 133,2, 133,1, 130,2, 130,0, 127,9, 121,7, 69,5, 62,2, 54,7, 53,4, 49,6, 46,1, 44,3, 43,7, 37,2, 29,7, 24,1, 21,6, 21,6, 21,4$.

Пример 4

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Объединить 41,2 г (84,34 ммоль, 1,0 экв.) Ts-Pro-Tyr(H)-OtBu и 17,0 г (84,34 ммоль, 1,0 экв.) 4-нитрофенилхлорформиата. Добавить 700 мл CH_2Cl_2 . Запечатать пленкой.

Присоединить линию подачи N_2 . Погрузить колбу в смесь 4:1 вода/EtOH + взвесь сухого льда, и перемешивать до охлаждения -15°C . Добавить 29,38 мл (21,33 г, 210,81 ммоль, 2,5 экв.) Et_3N через пять минут при перемешивании. Перемешивать при температуре от -10 до -15°C в течение 1 ч. Добавить 9,35 мл (8,45 г, 84,34 ммоль, 1,0 экв.) N-метилпиперазина через 3 минуты при перемешивании. Перемешивать в течение ночи после нагревания до комнатной температуры. Разбавить 700 мл гексана. Промывать повторно 10%-ным K_2CO_3 до исчезновения в водном слое желтого цвета (4-нитрофенол). Промывать насыщенным раствором NaCl. Сушить над безводным MgSO_4 . Фильтровать. Упарить. Растворить в 500 мл EtOH и упарить для удаления Et_3N . Повторить один раз. Растворить в 400 мл EtOH и добавить 600 мл воды при перемешивании для осаждения твердого вещества или масла. В случае масла, энергично перемешивать до затвердевания. Отделить твердое вещество путем фильтрации. Повторить растворение, осаждение и фильтрацию один раз. Промыть водой для удаления следов желтого цвета. Поместить в глубокий вакуум для констатации выходов по массе указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,72$ (д, 2H), 7,33 (д, 3H), 7,17 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 4,71 (кв., 1H), 4,09-4,06 (м, 1H), 3,67 (ушир.с, 2H), 3,57 (ушир.с, 2H), 3,41-3,34 (м, 1H), 3,22 (дд, 1H), 3,16-3,09 (м, 1H), 3,03 (дд, 1H), 2,46-2,43 (м, 7H), 2,34 (с, 3H), 2,05-2,02 (м, 1H), 1,57-1,43 (м, 3H), 1,47 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 171,8, 169,9, 153,6, 150,4, 144,3, 133,4, 133,1, 130,3, 130,0, 127,9, 121,6, 82,6, 62,3, 54,5, 53,8, 49,6, 46,1, 44,3, 43,7, 37,3, 29,7, 27,8, 24,1, 21,4$.

Пример 5

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 1 с использованием процедуры, описанной в способе 7.

Данные ЯМР были следующими:

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

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

Пример 6

Синтез н-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали по процедуре, в общих чертах описанной для получения в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

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

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

Пример 7

Синтез циклопентилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали по процедуре, в общих чертах описанной для получения в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

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

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

Пример 8

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали по процедуре, в общих чертах описанной для получения в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

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

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

Пример 9

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 2 с использованием процедуры, описанной в способе 7.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3) $_2\text{SO}$: $\delta = 8,13$ (д, 1H), 7,70 (д, 2H), 7,41 (д, 2H), 7,23 (д, 2H), 6,99 (д, 2H), 4,51-4,44 (м, 1H), 4,11-4,09 (м, 1H), 3,40-3,34 (м, 2H), 3,11-2,94 (м, 3H), 3,00 (с, 3H), 2,87 (с, 3H), 2,39 (с, 3H), 1,59-1,36 (м, 4H).

^{13}C ЯМР (CD_3) $_2\text{SO}$: $\delta = 172,7$, 171,2, 153,6, 150,2, 143,8, 134,3, 134,0, 130,2, 130,0, 127,6, 121,6, 61,3, 53,2, 49,0, 36,3, 36,1, 35,9, 30,4, 23,8, 21,0.

Пример 10

Синтез этилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-3-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали по процедуре, в общих чертах описанной для получения в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,74$ (м, 2H), 7,70-7,36 (м, 4H), 7,24-7,14 (м, 3H), 6,93-4,90 (м, 1H), 4,78-4,27 (м, 3H), 4,05-3,55 (м, 5H), 3,48-3,43 (м, 0,5H), 3,37-3,30 (м, 3H), 3,02-3,08 (ушир.с, 3H), 2,99 (ушир.с, 3H), 2,45 (с, 1,5H), 2,43 (с, 1,5H), 2,12 (м, 1H), 1,98, 1,80 (м, 0,5M), 1,62-1,44 (м, 2,5H), 1,29 (т, 1,5H), 1,24 (т, 1,5H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 171,1$, 171,0, 170,9, 154,9, 154,8, 151,8, 151,6, 144,4, 144,3, 137,6, 137,1, 133,1, 132,9, 130,0, 129,9, 129,5, 129,2, 127,9, 127,9, 126,5, 126,1, 122,9, 122,7, 120,7, 120,5.

Пример 11

Синтез изопропилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали по процедуре, в общих чертах описанной для получения в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,76$ (д, 2H), 7,35 (д, 2H), 7,22 (д, 2H), 7,01 (м, 3H), 5,05 (м, 1H), 4,85 (м, 1H), 4,57 (д, 1H), 4,38 (д, 1H), 3,86 (с, 1H), 3,19-3,00 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,01 (с, 3H), 2,45 (с, 3H), 1,24 (т, 6H), 1,16 (с, 3H), 1,09 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 170,3$, 168,4, 154,9, 150,6, 144,8, 132,9, 132,8, 130,3, 130,0, 128,2, 121,7, 73,4, 69,5, 54,5, 53,2, 50,4, 37,7, 36,5, 36,3, 29,0, 23,8, 21,5, 21,4.

Пример 12

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали по процедуре, в общих чертах описанной для получения в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,75$ (д, 2H), 7,34 (д, 2H), 7,23 (д, 2H), 7,05-6,98 (м, 3H), 4,76 (м, 1H), 4,56 (д, 1H), 4,40 (д, 1H), 3,85 (с, 1H), 3,09-3,00 (м, 8H), 2,44 (с, 3H), 1,43 (с, 3H), 1,16 (с, 3H), 1,09 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 169,8$, 168,3, 154,9, 150,6, 144,8, 133,2, 132,9, 130,4, 130,0, 128,2, 121,6, 82,6, 73,4, 54,6, 53,8, 50,4, 37,8, 36,5, 36,3, 29,0, 27,7, 23,8, 21,5.

Пример 13

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 11 с использованием процедуры, описанной в способе 7.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,76$ (д, 2H), 7,35 (д, 2H), 7,25 (д, 2H), 7,14 (д, 1H), 7,02 (д, 2H), 5,17 (ушир.с, 1H), 4,89 (м, 1H), 4,56 (д, 1H), 4,40 (д, 1H), 3,90 (с, 1H), 3,30-3,00 (м, 8H), 2,43 (с, 3H), 1,09 (с, 6H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 172,7$, 169,3, 155,2, 150,6, 144,9, 133,1, 132,7, 130,5, 130,1, 128,1, 121,9, 73,3, 54,5, 53,3, 50,5, 36,9, 36,6, 36,4, 29,0, 23,7, 21,5.

Пример 14

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-[(1,1-диоксо)тиаморфолин-3-карбонил]-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

L-Тиаморфолин-5-карбоновую кислоту получали способом Larsson and Carlson (Acta Chemica Scan. 1994, 48, 517-525). N-(толуол-4-сульфонил)-L-тиаморфолин-5-карбоновую кислоту получали с использованием процедуры, описанной в способе 1 и затем ее присоединяли к трет-бутилтирозину в DMF в присутствии BOP и NMM, с получением после водной обработки и хроматографии на испарительной колонке трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-[тиаморфолин-3-карбонил]-L-4-фенилаланина.

Образование 4-(N,N-диметилкарбамилокси)-группы осуществляли по приведенному выше примеру 2, и окисление тиаморфолино-группы до 1,1-диоксотиаморфолино-группы осуществляли по Larsson and Carlson (Acta Chemica Scan. 1994, 48, 522).

Данные ЯМР были следующими:

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

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

Пример 15

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-[1,1-диоксо)тиаморфолин-3-карбонил]-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 14 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

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

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

Пример 16

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали по процедуре, в общих чертах описанной для получения в примере 4, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,74 (д, 2H), 7,33 (д, 2H), 7,25 (д, 2H), 7,20-7,00 (м, 3H), 4,74 (м, 1H), 4,55 (д, 1H), 4,38 (д, 1H), 3,83 (с, 1H), 3,66 (ушир.м, 2H), 3,57 (ушир.м, 2H), 3,08-3,05 (м, 2H), 2,45-2,42 (м, 7H), 2,33 (с, 3H), 1,42 (с, 9H), 1,15 (с, 3H), 1,08 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 169,7, 168,2, 153,6, 150,3, 144,7, 133,3, 132,7, 130,4, 129,9, 128,1, 121,5, 82,6, 73,4, 54,5, 53,7, 50,4, 46,0, 44,2, 43,6, 37,7, 28,9, 27,7, 23,8, 21,4.

Пример 17

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 16 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 8,31 (д, 1H), 7,72 (д, 2H), 7,42-7,35 (м, 4H), 7,08 (д, 2H), 4,90-4,68 (м, 1H), 4,64-4,61 (м, 1H), 4,47-4,44 (м, 1H), 4,01 (с, 1H), 3,36-3,32 (ушир.м, 4H), 3,27-3,25 (м, 1H), 3,22-3,10 (м, 1H), 2,94 (с, 3H), 2,43 (с, 3H), 1,14(с, 3H), 1,07 (с, 3H).

Пример 18

Синтез изопропилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)саркозил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали по процедуре, в общих чертах описанной для получения в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,66 (д, 2H), 7,34 (д, 2H), 7,18 (д, 2H), 7,07 (д, 2H), 6,98 (д, 1H), 5,03 (м, 1H), 4,81 (м, 1H), 3,69 (д, 1H), 3,49 (д, 1H), 3,08 (м, 2H), 3,04 (с, 3H), 2,99 (с, 3H), 2,63 (с, 3H), 2,43 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 167,4, 154,9, 150,8, 144,4, 132,6, 130,2, 130,1, 127,7, 122,0, 110,9, 69,5, 57,3, 53,9, 53,0, 37,1, 36,6, 21,6, 21,4.

Пример 19

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)саркозил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали по процедуре, в общих чертах описанной для получения в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,67 (д, 2H), 7,34 (д, 2H), 7,19 (д, 2H), 7,03 (д, 2H), 6,98 (д, 1H), 4,76 (м, 1H), 3,67 (кв., 1H), 3,06 (м, 2H), 3,16 (с, 3H), 2,99 (с, 3H), 2,64 (с, 3H), 2,43 (с, 3H), 1,42 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 170,0, 137,2, 154,9, 150,7, 144,3, 133,2, 132,9, 130,3, 130,0, 127,7, 121,9, 82,6, 83,9, 53,3, 37,2, 36,6, 36,4, 27,9, 21,4.

Пример 20

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)саркозил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 18 с использованием процедуры, описанной в способе 7.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,41 (д, 2H), 7,10 (д, 2H), 6,98 (д, 2H), 6,75 (д, 2H), 4,42 (м, 1H), 3,43 (м, 2H), 3,04 (м, 2H), 2,80 (с, 3H), 2,69 (с, 3H), 2,33 (с, 3H), 2,14 (с, 3H).

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

Пример 21

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметиламиносульфонилокси)фенилаланина

Замена диметилсульфамоилхлорида на диметилкарбамилхлорид и действия по способу получения в примере 2 приводили к получению указанного в заголовке соединения.

Данные ЯМР были следующими:

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

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

Пример 22

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметиламиносульфонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 21 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

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

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

Пример 23

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-саркозил-L-(4-морфолинкарбамиллокси)фенилаланина

Замена саркозина на L-пролин в получении Ts-Pro-Tyr(H)-O-трет-бутилового эфира, и замена 4-морфолинкарбонилхлорид на диметилкарбамилхлорид, и действия по способу получения в примере 2 приводили к получению указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества.

Данные ЯМР были следующими:

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

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

Пример 24

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)саркозил-L-4-(изонипекотоилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 23 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

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

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

Пример 25

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-[(1,1-диоксо)тиаморфолин-3-карбонил]-L-4-(морфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина

5 Замена 4-морфолинкарбонилхлорида на диметилкарбамилхлорид и действия по способам получения в примере 2 и 14 приводят к получению указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества.

Данные ЯМР были следующими:

10 ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,76 (д, 1H), 7,68 (д, 1H), 7,37 (м, 2H), 7,14 (м, 2H), 7,05 (м, 1H), 6,97 (д, 1H), 6,80 (д, 0,5H), 6,57 (д, 0,5H), 5,09 (м, 0,5H), 4,91 (м, 0,5H), 4,75 (м, 0,5H), 4,62 (м, 0,5H), 4,25 (м, 0,5H), 4,09 (м, 2H), 3,79 (м, 4H), 3,65 (м, 4H), 2,91 (с, 3H), 2,44 (с, 3H), 1,69 (с, 4H), 1,44 (с, 5H).

15 ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 170,0, 169,8, 164,8, 164,4, 153,7, 150,4, 145,6, 145,4, 135,4, 135,3, 132,9, 130,8, 130,7, 130,5, 130,4, 127,5, 127,2, 122,1, 121,8, 83,01, 82,8, 66,4, 56,1, 56,1, 53,7, 53,6, 49,5, 49,3, 48,6, 44,7, 43,9, 42,0, 41,6, 36,9, 36,3, 27,8, 21,5.

Пример 26

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-[(1,1-диоксо)тиаморфолин-3-карбонил]-L-4-(морфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина

20 Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 25 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

25 ¹H ЯМР (CD₃OD): δ = 7,67 (м, 2H), 7,32 (м, 2H), 7,08 (м, 2H), 6,93 (м, 2H), 5,09 (м, 1H), 4,54 (м, 1H), 4,19 (м, 0,5H), 4,02 (м, 0,5H), 3,81 (м, 0,5H), 3,66 (м, 8H), 2,99 (м, 7H), 2,32 (с, 3H).

30 ¹³C ЯМР (CD₃OD): δ = 174,0, 168,0, 155,7, 151,9, 151,8, 146,6, 146,4, 137,5, 135,5, 135,3, 131,7, 131,6, 131,6, 128,8, 123,3, 122,9, 67,6, 57,3, 57,1, 54,8, 51,1, 50,9, 50,6, 46,0, 45,3, 45,2, 43,0, 37,4, 37,0, 21,5.

Пример 27

Синтез трет-бутилового эфира N-(4-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

35 Указанное в заголовке соединение получали по процедуре, в общих чертах описанной для получения в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

40 ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 7,87-7,83 (м, 2H), 7,26-7,13 (м, 5H), 4,74-4,69 (м, 1H), 4,05 (м, 1H), 3,36 (м, 1H), 3,24-3,17 (м, 1H), 3,11-3,01 (м, 4H), 2,97 (с, 3H), 2,05-2,02 (м, 1H), 1,60-1,47 (м, 3H), 1,46 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 170,6, 170,0, 165,7, 154,9, 150,6, 133,2, 132,4, 130,7, 130,2, 121,7, 116,7, 82,7, 62,3, 53,7, 49,6, 37,2, 36,6, 36,4, 29,9, 27,9, 24,2.

Пример 28

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)саркозил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

50 Указанное в заголовке соединение получали по процедуре, в общих чертах описанной для получения в примере 4, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 8,17 (д, 1H), 7,59 (д, 2H), 7,26 (д, 2H), 7,13 (д, 2H), 7,00 (д, 2H),

4,66 (м, 1H), 3,60 (м, 6H), 3,04 (м, 2H), 2,56 (с, 3H), 2,40 (м, 7H), 2,34 (с, 3H), 1,41 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 169,7, 167,0, 153,4, 150,2, 144,0, 133,0, 132,9, 130,1, 129,8, 127,4, 121,6, 82,2, 54,3, 53,5, 53,1, 45,8, 44,2, 43,5, 36,9, 27,6, 21,2.$

Пример 29

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксо-5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Продукт по примеру 12 окисляли способом Larsson and Carlson (Acta Chemica Scan. 1994, 48, 517-525), с выходом указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,73$ (д, 2H), 7,36 (д, 2H), 7,21 (д, 2H), 7,06-6,95 (м, 3H), 4,79 (м, 1H), 4,38 (дд, 2H), 4,10 (с, 1H), 3,18-2,95 (м, 8H), 2,43 (с, 3H), 1,45 (с, 9H), 1,33 (с, 3H), 1,08 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 169,8, 166,2, 154,9, 120,7, 145,8, 133,0, 131,9, 130,2, 128,5, 121,9, 82,9, 68,0, 60,9, 59,3, 53,9, 37,5, 36,6, 36,3, 27,7, 21,6, 19,3, 18,5.$

Пример 30

Синтез N-(1-метилимидазолил-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 106 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 8,07$ (д, 1H), 7,75 (с, 1H), 7,71 (с, 1H), 7,25 (д, 2H), 7,01 (д, 2H), 4,71-4,66 (м, 1H), 4,28-4,24 (м, 1H), 3,77 (с, 3H), 3,42-3,05 (м, 3H), 3,09 (с, 3H), 2,96 (с, 3H), 1,84-1,69 (м, 2H), 1,61-1,54 (м, 2H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 174,4, 174,1, 156,9, 151,9, 141,8, 137,7, 135,6, 131,6, 127,6, 122,9, 63,7, 54,7, 50,8, 37,4, 36,8, 36,7, 34,3, 31,6, 25,4.$

Препаративный пример А

Синтез трет-бутилового эфира 2-(сахарин-2-ил)пропионоил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Трет-бутиловый эфир N-(бензизотиазолон)-L-аланил-L-тирозина получали путем исходного соединения гидрида натрия (промытого от минерального масла) в THF, охлажденном до 0°C , и раствора трет-бутилового эфира N-(2-метоксикарбонил)сульфонил-L-аланин-L-тирозина в THF, который добавляли по каплям. Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение одного часа и затем при комнатной температуре в течение двух часов. Реакционную смесь экстрагировали EtOAc и 0,2н HCl, объединенные слои EtOAc последовательно промывали 0,2н HCl, насыщенным раствором NaHCO_3 , и насыщенным раствором NaCl. Органический слой сушили над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали. Остаток фильтровали посредством хроматографии на силикагеле с получением трет-бутилового эфира N-(бензизотиазолон)-L-аланил-L-тирозина.

Затем получали указанное в заголовке соединение, следуя процедуре, описанной в примере 2.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц) (1:1 смесь диастереоизомеров) $\delta = 8,15$ (м, 2H); 8,5 (м, 3H); 7,20 (м, 2H); 6,95 (м, 2H); 4,75 (м, 1H); 4,30 (м, 1H); 3,05 (с, 3H); 2,95 (м, 2H); 2,90 (с, 3H); 1,75 и 1,65 (два д, 3H); 1,30 и 1,35 (два с, 9H).

Пример 31

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксо-5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 29 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,75$ (м, 3H), 7,29 (м, 4H), 7,08 (д, 2H), 4,95 (м, 1H), 4,46-4,20 (м, 3H), 3,17 (с, 3H), 3,30-3,10 (м, 2H), 3,02 (с, 3H), 2,43 (с, 3H), 1,15 (с, 3H), 0,88 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 127,2$, 167,5, 155,8, 150,3, 145,4, 133,6, 132,6, 130,8, 130,2, 128,3, 121,9, 67,9, 65,8, 60,8, 53,9, 36,8, 36,6, 35,8, 21,6, 18,8, 15,0.

Пример 32

Синтез N-(4-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 27 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,88$ -7,84 (м, 2H), 7,54 (д, 1H), 7,26-7,18 (м, 4H), 7,01 (д, 2H), 6,92 (с, 3H), 4,88-4,83 (м, 1H), 4,14-4,11 (м, 1H), 3,39-3,29 (м, 2H), 3,13 (м, 2H), 3,00 (с, 3H), 2,99 (с, 3H), 1,92-1,89 (м, 1H), 1,59-1,43 (м, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 173,1$, 172,4, 165,6, 155,5, 150,4, 133,2, 131,9, 130,6, 130,3, 121,8, 116,6, 61,9, 53,1, 49,6, 36,6, 36,3, 30,2, 23,9.

Пример 33

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-D-пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-ил)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали по процедуре, в общих чертах описанной для получения в примере 4, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,72$ (д, 2H), 7,33 (д, 3H), 7,17 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 4,71 (кв., 1H), 4,09-4,06 (м, 1H), 3,67 (ушир.с, 2H), 3,57 (ушир.с, 2H), 3,41-3,34 (м, 1H), 3,22 (дд, 1H), 3,16-3,09 (м, 1H), 3,03 (дд, 1H), 2,46-2,43 (м, 7H), 2,05-2,02 (м, 1H), 1,57-1,43 (м, 3H), 1,47 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 170,8$, 169,9, 153,6, 150,4, 144,3, 133,4, 133,1, 130,3, 130,0, 127,9, 121,6, 82,6, 62,3, 54,5, 53,8, 49,6, 46,1, 44,3, 43,7, 37,3, 29,7, 27,8, 24,1, 21,4.

Пример 34

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-N-метил-L-аланил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали по процедуре, в общих чертах описанной для получения в примере 4, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,68$ (д, 2H), 7,31 (д, 2H), 7,17 (д, 2H), 7,04 (д, 2H), 6,86 (д, 1H), 4,65 (м, 1H), 4,47 (кв., 1H), 3,71-3,53 (м, 4H), 3,24-2,92 (м, 2H), 2,50-2,40 (м, 10H), 2,35 (с, 3H), 1,45 (с, 9H), 0,92 (д, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 170,1$, 169,9, 153,6, 150,4, 143,9, 135,6, 133,3, 130,2, 129,9, 127,2, 121,8, 82,4, 55,4, 54,6, 53,6, 46,0, 44,2, 43,7, 37,2, 29,6, 27,8, 21,4, 11,5.

Пример 35

Синтез трет-бутилового эфира N-(4-нитробензолсульфонил)-L-пролил-L-4-

(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали по процедуре, в общих чертах описанной для получения в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов.

5 Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 8,38-8,34$ (м, 2H), 8,05-8,00 (м, 2H), 7,16-2,12 (м, 2H), 7,03-6,94 (м, 3H), 4,74-4,68 (м, 1H), 4,15-4,14 (м, 1H), 3,41-3,32 (м, 1H), 3,23-3,14 (м, 2H), 3,08 (с, 3H), 3,03 (м, 1H), 2,98 (с, 3H), 2,05 (м, 1H), 1,66-1,48 (м, 3H), 1,47 (с, 9H).

10 ^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 170,0, 169,9, 154,8, 150,6, 150,4, 142,4, 132,9, 130,2, 129,0, 124,5, 121,6, 82,7, 62,2, 53,4, 49,4, 37,0, 36,5, 36,2, 30,1, 27,7, 24,1.$

Пример 36

15 **Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-[(1,1-диоксо)тиаморфолин-3-карбонил]-L-4-(N,N-диметиламиносульфонилокси)фенилаланина**

Указанное в заголовке соединение получали по процедуре, в общих чертах описанной для получения в примере 21, и с заменой подходящих исходных материалов.

20 Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,73$ (д, 1H), 7,67 (д, 1H), 7,35 (м, 2H), 7,27 (м, 2H), 6,88 (д, 1H), 6,66 (д, 1H), 5,08 (м, 0,5H), 4,97 (м, 0,5H), 4,71 (м, 0,5H), 4,61 (м, 0,5H), 4,25 (м, 0,5H), 4,03 (м, 1H), 3,21-3,04 (м, 4H), 2,89 (с, 3H), 2,83 (с, 3H), 2,78 (м, 3H), 2,42 (с, 3H), 1,44 (с, 4,5H), 1,38 (с, 4,5H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 169,8, 169,6, 164,9, 164,5, 149,3, 149,1, 145,6, 145,4, 135,4, 135,0, 134,6, 130,9, 130,6, 130,5, 127,4, 127,2, 122,0, 121,8, 83,0, 83,0, 56,0, 53,7, 49,2, 49,1, 48,5, 41,9, 41,4, 38,6, 36,8, 36,2, 27,7, 21,5.$

Пример 37

30 **Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонилсаркозил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина**

Замена тиоморфолина на N-метилпиперазин и действия по способу получения в примере 4 приводили к получению указанного в заголовке соединения.

35 Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,65$ (д, 2H), 7,33 (д, 2H), 7,20 (д, 2H), 7,04 (д, 2H), 4,76 (м, 1H), 3,89 (м, 4H), 3,68 (д, 1H), 3,48 (д, 1H), 3,10 (м, 2H), 2,66 (м, 7H), 2,41 (с, 3H), 1,43 (с, 9H).

40 ^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 169,9, 167,2, 153,5, 150,3, 144,3, 133,1, 130,3, 130,0, 127,6, 121,8, 82,5, 53,8, 53,3, 47,0, 36,4, 37,2, 36,6, 27,8, 27,3, 27,0, 21,4.$

Пример 38

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-N-метилаланил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

45 Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 34 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,65$ (д, 2H), 7,34 (д, 2H), 7,27 (д, 2H), 7,09 (д, 2H), 4,64-4,50 (м, 2H), 4,48-4,23 (м, 2H), 3,60-2,96 (м, 3H), 2,92 (с, 3H), 2,55 (с, 3H), 2,40 (с, 3H), 0,93 (д, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 174,3, 173,1, 154,9, 151,6, 145,5, 137,0, 136,1, 131,6, 131,2, 128,5, 123,1, 56,4, 54,8, 54,0, 43,8, 37,3, 30,2, 21,5, 13,2.$

Пример 39

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(1,1-диоксотiomорфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 81 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): $\delta = 8,03$ (м, 1H), 7,73 (д, 2H), 7,41 (д, 2H), 7,28 (д, 2H), 7,08 (д, 2H), 4,70-4,65 (м, 1H), 4,12-4,00 (м, 5H), 3,38-3,36 (м, 1H), 3,31-3,06 (м, 7H), 2,43 (с, 3H), 1,77-1,48 (м, 5H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): $\delta = 168,4$, 159,1, 130,0, 129,1, 125,6, 125,1, 123,0, 116,9, 57,2, 48,8, 46,3, 44,5, 31,5, 25,6, 19,3, 15,4.

Пример 40

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 81 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): $\delta = 7,73$ (д, 2H), 7,41 (д, 2H), 7,27 (д, 2H), 7,04 (д, 2H), 4,68-4,65 (м, 1H), 4,10-4,07 (м, 1H), 3,90 (т, 2H), 3,77 (т, 2H), 3,38-3,11 (м, 4H), 2,66 (м, 4H), 2,43 (с, 3H), 1,80-1,48 (м, 5H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): $\delta = 168,4$, 168,2, 149,4, 145,7, 139,8, 129,7, 129,0, 125,6, 125,1, 123,1, 116,9, 57,2, 48,8, 44,6, 42,1, 36,0, 31,4, 25,7, 22,1, 21,8, 19,3, 15,4.

Пример 41

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(изонипекотоилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 80 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): $\delta = 8,08$ (м, 1H), 7,73 (д, 2H), 7,41 (д, 2H), 7,27 (д, 2H), 7,03 (д, 2H), 4,71 (м, 1H), 4,11-4,08 (м, 1H), 3,61 (т, 2H), 3,47-3,38 (м, 3H), 3,31-3,11 (м, 4H), 2,43 (с, 3H), 1,77-1,47 (м, 10H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): $\delta = 168,3$, 168,1, 158,8, 149,6, 145,9, 139,8, 129,5, 129,0, 125,6, 125,1, 123,1, 116,9, 57,2, 48,6, 44,6, 40,6, 40,1, 36,0, 31,4, 25,7, 20,9, 20,6, 19,3.

Пример 42

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(пирролидин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 83 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): $\delta = 8,08$ (м, 1H), 7,73 (д, 2H), 7,41 (д, 2H), 7,04 (д, 2H), 7,27 (д, 2H), 4,72-4,68 (м, 1H), 4,11-4,08 (м, 1H), 3,57-3,53 (т, 2H), 3,43-3,28 (м, 3H), 3,25-3,06 (м, 4H), 2,43 (с, 3H), 1,99-1,80 (м, 4H), 1,78-1,49 (м, 5H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): $\delta = 168,2$, 158,3, 149,2, 145,8, 139,8, 129,4, 129,1, 125,6, 125,1, 123,1, 116,9, 57,2, 48,7, 44,5, 41,5, 31,4, 25,7, 20,6, 19,8, 19,3, 15,4.

Пример 43

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(морфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 108 с

использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): $\delta = 7,73$ (д, 2H), 7,41 (д, 2H), 7,27 (д, 2H), 7,04 (д, 2H), 4,95-4,93 (м, 1H), 4,10-4,07 (м, 1H), 3,71-3,65 (м, 6H), 3,50 (т, 2H), 3,40-3,10 (м, 4H), 2,43 (с, 3H), 1,78-1,48 (м, 4H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): $\delta = 168,4$, 168,2, 149,6, 145,7, 139,8, 129,1, 125,6, 125,1, 123,1, 116,8, 61,5, 57,2, 44,5, 36,0, 31,4, 25,6, 19,3, 15,4.

Пример 44

Синтез неопентилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Изопропоксид титана (0,3 эквивалента) добавляли к Tos-Pro-Tyr-этиловому эфиру (1 эквивалент) и к избытку неопентилового спирта. Смесь нагревали до кипения с обратным холодильником в атмосфере аргона в течение ночи. Избыток неопентилового спирта удаляли при пониженном давлении, и остаток очищали путем хроматографии на испарительной колонке (силикагель, гексан:EtOAc 2:1) с получением неопентилового сложного эфира в виде белого твердого вещества (0,9 г, 85%). Указанное в заголовке соединение получали по процедуре, описанной в примере 4.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (DMCO-d_6 , 400 МГц) $\delta = 8,29$ (д, 1H, $J=7,91$ Гц); 7,68 (д, 2H, $J=8,45$ Гц); 7,40 (д, 2H, $J=8,34$ Гц); 7,24 (д, 2H, $J=8,57$ Гц); 7,00 (д, 2H, $J=8,57$ Гц); 4,56 (м, 1H); 4,07 (м, 1H); 3,73 (с, 2H); 3,55 (ушир.с, 2H); 3,40 (м, 3H); 3,10 (м, 3H); 2,40 (с, 3H); 2,35 (ушир.с, 4H); 2,20 (с, 3H); 1,55 (м, 3H); 1,37 (м, 1H); 0,85 (с, 9H).

Пример 45

Синтез неопентилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Изопропоксид титана (0,3 эквивалента) добавляли к Tos-Pro-Tyr-этиловому эфиру (1 эквивалент) и к избытку неопентилового спирта. Смесь нагревали до кипения с обратным холодильником в атмосфере аргона в течение ночи. Избыток неопентилового спирта удаляли при пониженном давлении, и остаток очищали путем хроматографии на испарительной колонке (силикагель, гексан:EtOAc 2:1) с получением неопентилового сложного эфира в виде белого твердого вещества (0,9 г, 85%). Указанное в заголовке соединение получали по процедуре, описанной в примере 2.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (DMCO-d_6 , 400 МГц) $\delta = 8,28$ (д, 1H, $J=8,13$ Гц); 7,68 (д, 2H, $J=8,4$ Гц); 7,40 (д, 2H, $J=7,9$ Гц); 7,23 (д, 2H, $J=8,56$ Гц); 6,99 (д, 2H, $J=8,35$ Гц); 4,57 (м, 3H); 2,40 (с, 3H); 1,55 (м, 3H); 1,38 (м, 1H); 0,85 (с, 9H).

Пример 46

Синтез трет-бутилового эфира 2-(сахарин-2-ил)пропионил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной в препаративном примере А и примере 4.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (DMCO-d_6 , 400 МГц) (1:1 смесь диастереоизомеров) $\delta = 8,31$ (м, 1H); 8,26 (м, 1H); 8,03 (м, 3H); 7,20 (м, 2H); 7,00 (м, 2H); 4,73 (м, 1H); 4,30 (м, 1H); 3,58 (ушир.с, 2H); 3,40 (ушир.с, 2H); 3,02 (м, 1H); 2,95 (м, 1H); 2,35 (ушир.с, 4H); 2,20 (с, 3H); 2,75

и 2,65 (два д, 3H); 1,35 и 1,32 (два с, 9H).

Пример 47

Синтез 2-(сахарин-2-ил)пропионоил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта препаративного примера А с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц) (1:1 смесь диастереоизомеров) δ = 12,75 (ушир.с, 1H); 8,28 (м, 2H); 8,05 (м, 3H); 7,20 (м, 2H); 7,00 и 9,95 (два д, 2H); 4,75 (м, 1H); 4,40 (м, 1H); 3,10 (м, 1H); 3,05 (с, 3H); 2,95 (м, 1H); 2,90 (с, 3H); 2,75 и 2,60 (два д, 3H).

Пример 48

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-N-метилаланил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали по процедуре для синтеза в примере 2 с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,68 (д, 2H), 7,31 (д, 2H), 7,17 (д, 2H), 7,04 (д, 2H), 6,87 (д, 2H), 4,67 (м, 1H), 4,48 (кв., 1H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 3,14-2,92 (м, 2H), 2,46 (с, 3H), 2,43 (с, 3H), 1,45 (с, 9H), 0,92 (д, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl₃): δ = 170,2, 169,9, 154,9, 150,6, 143,9, 135,6, 133,2, 130,2, 130,0, 127,3, 121,9, 82,5, 55,5, 53,7, 37,2, 36,6, 36,4, 29,7, 27,8, 21,4, 11,5.

Пример 49

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-(тиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

L-Тиаморфолин-3-карбоновую кислоту получали способом Larsson and Carlson (Acta Chemica Scan. 1994, 48, 517-525). N-(толуол-4-сульфонил)-L-тиаморфолин-3-

карбоновую кислоту получали с использованием процедуры, описанной в способе 1.

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре для синтеза в примере 2 с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,69 (д, 2H), 7,31 (д, 2H), 7,16 (д, 2H), 6,98 (д, 2H), 6,86 (д, 1H), 4,71 (м, 1H), 4,62 (м, 1H), 3,94 (м, 1H), 3,31 (м, 1H), 3,09 (м, 4H), 2,98 (с, 3H), 2,67 (м, 1H), 2,50 (м, 1H), 2,40 (с, 3H), 2,31 (м, 1H), 2,10 (м, 1H), 1,49 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl₃): δ = 169,9, 167,4, 154,8, 150,6, 144,2, 136,8, 132,8, 130,4, 130,2, 127,3, 121,8, 82,6, 55,2, 54,0, 43,3, 36,5, 36,3, 27,8, 25,2, 24,6, 21,4.

Пример 50

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)саркозил-L-4-(1,1-диоксотиморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 121 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD₃OD): δ = 7,67 (д, 2H), 7,40 (д, 2H), 7,27 (д, 2H), 7,09 (д, 2H), 4,61 (м, 1H), 4,12 (м, 2H), 3,99 (м, 2H), 3,60 (м, 2H), 3,23 (м, 8H), 2,58 (с, 3H), 2,42 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CD₃OD): δ = 174,2, 170,3, 155,0, 151,6, 145,6, 136,1, 135,2, 131,5, 131,1, 128,9, 123,0, 54,6, 54,0, 52,4, 52,2, 44,4, 44,0, 37,4, 36,8, 21,4.

Пример 51

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-

диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 49, следуя процедуре, описанной Larsson and Carlson (Acta Chemica Scan. 1994, 48, 522).

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,76 (д, 2H), 7,37 (д, 2H), 7,08 (д, 2H), 6,98 (д, 2H), 6,56 (д, 1H), 4,95 (м, 1H), 4,62 (м, 1H), 3,99 (м, 2H), 3,25 (м, 1H), 3,07 (с, 3H), 2,97 (м, 8H), 2,44 (с, 3H), 1,48 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 170,0, 164,8, 154,9, 150,7, 145,4, 135,3, 132,6, 130,7, 130,3, 127,5, 122,3, 82,8, 56,1, 53,6, 49,5, 48,6, 41,6, 36,6, 36,4, 27,9, 21,6.

Пример 52

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(морфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 71.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,75 (д, 2H), 7,36 (д, 2H), 7,12 (д, 2H), 6,98 (д, 2H), 6,58 (д, 1H), 4,93 (м, 1H), 4,63 (м, 1H), 4,09 (м, 2H), 3,72 (м, 4H), 3,63 (м, 2H), 3,51 (м, 2H), 3,24 (м, 1H), 2,96 (м, 4H), 2,43 (с, 3H), 1,46 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 170,0, 164,8, 153,7, 150,4, 145,4, 135,2, 132,9, 130,7, 130,4, 127,5, 122,1, 82,9, 66,4, 56,1, 53,6, 49,4, 48,5, 44,7, 43,9, 41,6, 36,3, 27,8, 21,6.

Пример 53

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-N-метилаланил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 48 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,68 (д, 2H), 7,31 (д, 2H), 7,20 (д, 2H), 7,11-7,04 (м, 3H), 6,35 (ушир.с, 1H), 4,81 (м, 1H), 4,52 (кв., 1H), 3,35-2,98 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 2,45 (с, 3H), 2,43 (с, 3H), 0,91 (д, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 173,7, 170,8, 155,2, 150,6, 144,0, 135,4, 133,2, 130,2, 130,0, 127,3, 122,1, 55,5, 53,2, 36,6, 36,5, 36,4, 29,8, 21,4, 11,6.

Пример 54

Синтез трет-бутилового эфира N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(тиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

L-Тиаморфолин-3-карбоновую кислоту получали по способу Larsson and Carlson (Acta Chemica Scan. 1994, 48, 517-525). N-(толуол-4-сульфонил)-L-тиаморфолин-3-карбоновую кислоту получали с использованием процедуры, описанной в способе 1.

Указанное в заголовке соединение получали по процедуре для синтеза в примере 2.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,87-7,82 (м, 2H), 7,20 (т, 2H), 7,16 (д, 2H), 7,00 (д, 2H), 6,76 (д, 1H), 4,74 (т, 1H), 4,65 (кв., 1H), 3,92 (д, 1H), 3,32 (дд, 1H), 3,17-3,00 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 2,99 (с, 3H), 2,76-2,66 (м, 1H), 2,62 (дд, 1H), 2,46 (дт, 1H), 2,22 (д, 1H), 1,49 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 170,0, 167,2, 165,5, 154,8, 150,7, 135,8, 132,7, 130,5, 130,1, 121,9, 116,9, 82,8, 55,3, 53,9, 43,4, 36,6, 36,4, 36,3, 27,9, 25,8, 25,0.

Пример 55

Синтез трет-бутилового эфира N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 54, следуя процедуре, описанной Larsson and Carlson (Acta Chemica Scan. 1994, 48, 522).

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,92-7,88$ (м, 2H), 7,24 (т, 2H), 7,09 (д, 2H), 6,97 (д, 2H), 6,41 (д, 1H), 4,96 (д, 1H), 4,62 (д, 1H), 4,03 (д, 1H), 3,26 (дд, 1H), 3,13-2,92 (м, 6H), 3,09 (с, 3H), 2,97 (с, 3H), 1,49 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 170,1, 165,9, 164,5, 154,9, 150,7, 134,0, 132,4, 130,5, 130,4, 122,2, 117,3, 83,0, 56,1, 53,4, 50,0, 49,1, 41,7, 36,6, 36,3, 36,1, 27,9$.

Пример 56

Синтез трет-бутилового эфира N-(пиридин-3-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

N-Бензил-L-пролин присоединяли к трет-бутиловому эфиру L-тирозина с использованием процедуры, описанной в способе 12. Трет-бутиловый эфир N-бензил-L-пролил-L-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2. Трет-бутиловый эфир L-пролил-L-(4-N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина получали из продукта предыдущего взаимодействия с использованием процедуры, описанной в способе 4. Указанное в заголовке соединение получали с использованием процедуры, описанной для получения 3-пиридинсульфонилхлорида (см. Crowell et al., J. Med. Chem., 1989, 32, 2436-2442) и продукта последнего взаимодействия.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 9,95$ (д, 1H), 8,83 (дд, 1H), 8,14-8,10 (м, 1H), 7,51-7,47 (м, 1H), 7,16-7,13 (м, 3H), 7,02-6,99 (м, 2H), 4,72-4,69 (м, 1H), 4,09-4,06 (м, 1H), 3,41-3,39 (м, 1H), 3,23-3,17 (м, 1H), 3,13-2,98 (м, 1H), 3,07 (с, 3H), 2,97 (с, 3H), 2,04 (м, 1H), 1,59-1,47 (м, 3H), 1,45 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 170,1, 169,9, 154,8, 153,9, 150,5, 148,4, 135,5, 133,0, 130,1, 123,9, 121,6, 82,6, 52,2, 53,6, 49,5, 37,1, 36,5, 36,3, 29,9, 27,8, 24,0$.

Препаративный пример В

Синтез трет-бутилового эфира N-(пиримидин-2-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали путем замены 2-пиримидинсульфонилхлорида (см. Skulnick et al., J. Med. Chem., 1997, 40, 1149-1164) и следуя способу для получения в примере 56.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 8,28$ (д, 2H), 7,39 (д, 1H), 7,02 (д, 2H), 6,88 (д, 2H), 6,54 (м, 1H), 4,76-4,69 (м, 1H), 4,57-4,55 (м, 1H), 3,64 (м, 1H), 3,55-3,52 (м, 1H), 3,09-3,03 (м, 1H), 3,08 (с, 3H), 2,99-2,95 (м, 1H), 2,98 (с, 3H), 2,32 (м, 1H), 2,01-1,97 (м, 3H), 1,37 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 172,1, 170,4, 160,6, 157,7, 154,8, 150,3, 133,0, 130,1, 121,3, 110,5, 82,0, 60,7, 53,3, 47,5, 37,1, 36,5, 36,3, 28,9, 27,7, 24,1$.

Пример 57

Синтез N-(4-нитробензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 35 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 8,36 (д, 2H), 8,02 (д, 2H), 7,42 (д, 1H), 7,20 (д, 2H), 7,01 (д, 2H), 4,86 (м, 1H), 4,18-4,15 (м, 1H), 3,46-3,43 (м, 1H), 3,32-3,26 (м, 1H), 3,19-3,11 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,01 (с, 3H), 1,91 (м, 1H), 1,65-1,54 (м, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 172,9, 171,7, 155,5, 150,4, 150,4, 142,1, 133,2, 130,5, 129,1, 124,6, 121,8, 61,9, 52,9, 49,6, 36,6, 36,3, 36,3, 30,6, 24,1.

Пример 58

Синтез трет-бутилового эфира N-(4-цианобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали по процедуре, описанной для получения в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,94 (д, 2H), 7,82 (д, 2H), 7,13 (д, 2H), 7,05-6,99 (м, 3H), 4,71-4,66 (м, 1H), 4,12-4,09 (м, 1H), 3,36-3,35 (м, 1H), 3,22-3,11 (м, 2H), 3,07 (с, 3H), 3,06-3,01 (м, 1H), 2,97 (с, 3H), 2,05 (м, 1H), 1,63-1,37 (м, 3H), 1,46 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 170,1, 169,9, 154,8, 150,6, 140,8, 133,1, 132,9, 130,2, 128,4, 121,7, 117,1, 116,9, 82,7, 62,2, 53,4, 49,4, 37,0, 36,5, 36,3, 30,1, 27,8, 24,1.

Пример 59

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметиламиносульфонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 36 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CD₃OD): δ = 7,79 (м, 2H), 7,44 (м, 2H), 7,27 (м, 2H), 7,17 (м, 2H), 5,21 (м, 1H), 4,64 (м, 1H), 4,14 (м, 1H), 3,61 (м, 2H), 3,24 (м, 2H), 3,08 (м, 2H), 2,89 (с, 6H), 2,80 (м, 2H), 2,43 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 173,9, 168,1, 168,0, 150,8, 150,8, 146,7, 146,5, 137,6, 137,5, 137,1, 136,9, 132,2, 132,1, 131,7, 131,6, 128,8, 123,3, 123,1, 57,3, 54,8, 51,0, 50,8, 50,5, 47,9, 47,8, 43,2, 43,0, 39,0, 39,0, 37,4, 37,0, 21,5.

Пример 60

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 51 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,79 (д, 2H), 7,43 (д, 2H), 7,20 (д, 2H), 7,00 (д, 2H), 5,21 (м, 1H), 4,65 (м, 1H), 4,12 (м, 1H), 3,75 (м, 1H), 3,29 (м, 3H), 3,08 (с, 3H), 3,00 (м, 1H), 3,00 (м, 1H), 2,97 (с, 3H), 2,80 (м, 3H), 2,44 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 165,1, 159,0, 147,9, 143,1, 137,6, 128,6, 126,1, 122,7, 122,6, 119,8, 114,3, 48,3, 45,8, 41,6, 34,0, 28,0, 27,8, 27,7, 12,5.

Пример 61

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксо)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина, полученного по приведенным здесь примерам, следуя процедуре, описанной по Larsson and Carlson (Acta Chemica Scan. 1994, 48, 522).

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,77 (д, 2H), 7,38 (д, 2H), 7,18 (м, 3H), 7,09 (д, 2H), 4,83-4,57 (м, 3H), 3,77-3,60 (м, 2H), 3,36-3,23 (м, 1H), 3,15-3,00 (м, 7H), 2,85-2,73 (м, 1H), 2,46 (с, 3H), 1,50 (с, 9H).

Пример 62

Синтез трет-бутилового эфира N-(4-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали по процедуре, в общих чертах описанной для получения в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,96 (д, 2H), 7,80 (д, 2H), 7,26-7,13 (м, 3H), 7,01 (д, 2H), 4,72-4,70 (м, 1H), 4,11-4,08 (м, 1H), 3,40-3,37 (м, 1H), 3,25-3,10 (м, 2H), 3,07 (с, 3H), 3,04-3,02 (м, 1H), 2,98 (с, 3H), 2,06 (м, 1H), 2,06-2,04 (м, 1H), 1,61-1,52 (м, 3H), 1,46 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 170,3, 169,9, 154,9, 150,6, 139,9, 134,9, 133,1, 130,2, 128,4, 126,5, 121,7, 82,7, 62,3, 5,35, 49,6, 37,2, 36,6, 36,3, 30,0, 27,8, 24,1.

Пример 63

Синтез N-(1-метилпиразолил-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 117 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 8,84 (ушир.с, 1H), 7,93 (с, 1H), 7,79 (с, 1H), 7,68-7,65 (м, 1H), 7,18 (д, 2H), 6,99 (д, 2H), 4,88-4,81 (м, 1H), 4,08-4,06 (м, 1H), 3,92 (с, 3H), 3,45-3,40 (м, 1H), 3,34-3,27 (м, 1H), 3,11-3,01 (м, 5H), 2,97 (с, 3H), 1,82 (м, 1H), 1,66-1,57 (м, 2H), 1,45 (м, 1H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 173,1, 172,9, 159,1, 158,6, 150,4, 138,8, 133,4, 133,2, 130,3, 121,9, 117,3, 62,0, 53,1, 49,7, 39,4, 36,6, 36,5, 36,4, 30,4, 23,9.

Пример 64

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксо)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта в примере 61 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 8,34 (д, 1H), 7,70 (д, 2H), 7,33 (д, 2H), 7,14 (д, 2H), 7,01 (д, 2H), 5,07 (м, 1H), 4,93 (м, 1H), 4,43 (д, 1H), 4,01 (д, 1H), 3,68 (м, 1H), 3,37 (м, 1H), 3,17 (с, 3H), 3,14 (м, 1H), 3,09 (с, 3H), 2,54 (м, 1H), 2,43 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 171,5, 166,4, 156,4, 150,5, 145,5, 134,2, 134,1, 131,4, 130,3, 128,1, 121,8, 64,3, 59,2, 53,7, 50,5, 36,9, 36,5, 35,8, 21,6.

Пример 65

Синтез N-(4-фторбензолсульфонил)-L-тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 84 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,83 (м, 2H), 7,73 (д, 1H), 7,16 (м, 4H), 6,99 (д, 2H), 5,57 (ушир.с, 1H), 4,87 (м, 1H), 4,76 (м, 1H), 4,53 (д, 1H), 4,10 (д, 1H), 3,34 (м, 1H), 3,22 (д, 2H), 3,12 (с, 3H), 3,04 (с, 3H), 2,43 (м, 1H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 172,1, 168,7, 155,7, 150,5, 133,6, 133,1, 130,8, 130,7, 121,7, 116,9, 116,6, 65,3, 53,3, 51,3, 36,8, 36,4, 36,1, 33,4.$

Пример 66

Синтез трет-бутилового эфира N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали по процедуре, в общих чертах описанной для получения в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,91$ (м, 2H), 7,26 (м, 4H), 7,02 (д, 2H), 6,96 (д, 1H), 4,75 (м, 1H), 4,55 (д, 1H), 4,42 (д, 1H), 3,86 (с, 1H), 3,08 (с, 3H), 3,05 (м, 2H), 3,00 (с, 3H), 1,43 (с, 9H), 1,17 (с, 3H), 1,16 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 169,9, 168,1, 167,6, 164,2, 154,9, 150,6, 133,1, 132,2, 131,0, 130,9, 130,4, 121,7, 116,9, 116,6, 82,7, 73,5, 54,7, 53,7, 50,5, 37,8, 36,6, 36,4, 29,1, 27,8, 23,8.$

Пример 67

Синтез трет-бутилового эфира N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(1,1-диоксотиаморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 68.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,91-7,87$ (м, 2H), 7,27-7,25 (м, 2H), 7,15 (д, 2H), 6,51 (д, 1H), 4,93-4,90 (м, 1H), 4,64-4,58 (м, 1H), 4,14-3,99 (м, 7H), 3,28-2,90 (м, 10H), 1,47 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 170,1, 167,6, 164,5, 153,1, 149,8, 133,9, 133,4, 130,7, 130,5, 121,7, 117,4, 117,1, 83,1, 56,1, 53,4, 51,6, 49,9, 48,9, 43,1, 41,6, 36,2, 27,8.$

Пример 68

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(1,1-диоксотиаморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина

Замена тиоморфолина на N-метилпиперазин, и действие по способу получения в примере 4, и окисление сульфидной группы в тиоморфолиновом кольце по Larsson and Carlson (Acta Chemica Scand. 1994, 48, 522) приводили к получению указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,75$ (д, 2H), 7,35 (д, 2H), 7,17 (д, 2H), 6,99 (д, 2H), 6,65 (д, 1H), 4,92-4,90 (м, 1H), 4,63-4,60 (м, 1H), 4,15-3,95 (м, 7H), 3,30-3,23 (м, 1H), 3,14 (т, 4H), 3,07-2,80 (м, 6H), 2,45 (с, 3H), 1,48 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 169,9, 164,8, 153,1, 149,8, 145,5, 135,1, 133,6, 130,7, 127,5, 121,8, 82,9, 60,3, 56,1, 53,7, 51,8, 49,3, 48,4, 43,1, 42,7, 41,5, 36,3, 27,8, 21,5.$

Пример 69

Синтез трет-бутилового эфира N-(4-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной в примере 37, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,88-7,83$ (м, 2H), 7,26-7,15 (м, 5H), 7,01 (д, 2H), 4,74-4,67 (м, 1H), 4,08-4,05 (м, 1H), 3,91-3,80 (м, 4H), 3,41-3,35 (м, 1H), 3,24-3,00 (м, 3H), 2,70-2,65 (т,

4H), 2,06-2,04 (м, 1H), 1,60-1,46 (м, 12H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 170,5, 169,8, 153,4, 150,2, 133,5, 130,7, 130,5, 130,3, 121,6, 116,8, 116,5, 82,6, 62,2, 53,6, 49,6, 47,0, 46,4, 37,2, 29,8, 27,8, 27,3, 27,0, 24,1.$

Пример 70

Синтез N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 66 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,90$ (м, 2H), 7,30-7,14 (м, 5H), 7,02 (д, 2H), 5,83 (ушир.с, 1H), 4,90 (м, 1H), 4,57 (д, 1H), 4,40 (д, 1H), 3,96 (с, 1H), 3,09 (с, 3H), 3,28-3,02 (м, 2H), 3,00 (с, 3H), 1,13 (с, 6H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 173,2, 169,2, 164,2, 163,9, 155,3, 150,6, 133,1, 132,0, 131,0, 130,9, 130,6, 122,0, 117,0, 116,7, 73,3, 54,6, 53,3, 50,5, 37,0, 36,7, 36,4, 29,0, 23,7.$

Пример 71

Синтез трет-бутилового эфира N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(морфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина

Замена 4-морфолинкарбамилхлорида на диметилкарбамилхлорид и действия по способу получения, описанному в примере 2, приводили к получению указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,91$ -7,87 (м, 2H), 7,26-7,20 (м, 2H), 7,11 (д, 2H), 6,98 (д, 2H), 6,43 (д, 1H), 4,95-4,92 (м, 1H), 4,62-4,60 (м, 1H), 4,05-4,00 (м, 2H), 3,74 (т, 4H), 3,66-3,52 (м, 4H), 3,30-2,92 (м, 6H), 1,48 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 170,1, 164,5, 150,4, 134,6, 132,7, 130,5, 122,0, 117,4, 117,1, 83,1, 66,5, 56,1, 53,4, 49,9, 49,0, 44,7, 44,0, 41,6, 36,2, 27,8.$

Пример 72

Синтез трет-бутилового эфира N-(4-трифторметоксибензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали по процедуре, описанной для получения в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,89$ (д, 2H), 7,35 (д, 2H), 7,25-7,13 (м, 3H), 7,01 (д, 2H), 4,70 (м, 1H), 4,09-4,06 (м, 1H), 3,39-3,36 (м, 1H), 3,24-3,01 (м, 5H), 2,98 (с, 3H), 2,05 (м, 1H), 1,62-1,47 (м, 3H), 1,46 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 170,4, 169,9, 154,9, 152,7, 150,6, 134,6, 113,2, 130,2, 130,1, 121,7, 120,2, 82,7, 62,2, 53,6, 49,6, 37,2, 36,6, 36,3, 29,9, 27,8, 24,1.$

Пример 73

Синтез изопропилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Действия по способу получения, описанному в примере 2, и окисление сульфидной группы в тиоморфолиновом кольце по Larsson and Carlson (Acta Chemica Scan. 1994, 48, 522) приводили к получению указанного в заголовке соединения.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,70$ (д, 2H), 7,31 (д, 2H), 7,04 (д, 2H), 6,93 (д, 2H), 6,59 (д, 1H), 5,01 (м, 2H), 4,65 (м, 1H), 4,01 (д, 1H), 3,90 (д, 1H), 3,25 (м, 1H), 3,00 (с, 3H), 2,82 (м,

8H), 2,37 (с, 3H), 1,22 (с, 3H), 1,20 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 170,3, 165,0, 154,6, 150,5, 145,1, 135,2, 132,3, 130,4, 130,0, 127,2, 122,1, 69,5, 55,9, 53,1, 49,1, 48,5, 41,4, 36,3, 36,1, 35,9, 21,4.$

Пример 74

Синтез трет-бутилового эфира N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксо-5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 66, следуя процедуре, описанной Larsson and Carlson (Acta Chemica Scand. 1994, 48, 522).

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,88$ (м, 2H), 7,24 (м, 4H), 7,05 (д, 2H), 6,95 (д, 1H), 4,80 (м, 1H), 4,40 (м, 2H), 4,10 (с, 1H), 3,17-3,03 (м, 2H), 3,10 (с, 3H), 3,01 (с, 3H), 1,47 (с, 9H), 1,36 (с, 3H), 1,11 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 169,8, 168,6, 166,0, 154,5, 150,8, 139,7, 133,0, 131,5, 131,4, 130,3, 122,0, 117,1, 116,8, 83,0, 68,0, 60,9, 59,3, 53,8, 37,4, 36,6, 36,4, 27,8, 18,9, 18,8.$

Пример 75

Синтез изопропилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксо-5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 11, следуя процедуре, описанной Larsson and Carlson (Acta Chemica Scand. 1994, 48, 522).

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,75$ (д, 2H), 7,38 (д, 2H), 7,21 (д, 2H), 7,03 (м, 3H), 5,08 (м, 1H), 4,89 (м, 1H), 4,38 (м, 2H), 4,10 (с, 1H), 3,22-3,04 (м, 2H), 3,10 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 2,43 (с, 3H), 1,26 (м, 9H), 1,09 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 170,3, 166,3, 150,8, 145,9, 132,8, 131,9, 130,3, 128,6, 122,0, 69,8, 68,0, 60,9, 59,4, 53,4, 37,4, 36,6, 36,4, 21,6, 21,5, 19,2, 18,6.$

Пример 76

Синтез N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 74 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 171,7, 167,9, 137,3, 164,5, 155,9, 150,4, 133,6, 131,8, 131,3, 131,2, 130,8, 121,9, 117,1, 116,8, 67,8, 60,9, 59,9, 53,8, 36,8, 36,6, 36,0, 19,1, 19,0.$

Пример 77

Синтез N-(пиримидин-2-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта препаративного примера В с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 8,45$ (ушир.м, 2H), 8,22 (ушир.с, 1H), 7,55 (д, 1H), 7,11 (д, 2H), 6,95 (д, 2H), 6,81 (м, 1H), 4,80-4,74 (м, 2H), 3,70 (м, 1H), 3,55 (м, 1H), 3,20-3,08 (м, 4H), 2,98 (с, 3H), 2,89-2,76 (м, 1H), 2,13-1,96 (м, 3H), 1,60 (м, 1H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 190,0, 173,6, 171,0, 155,2, 153,9, 150,6, 133,2, 130,1, 121,9, 110,3, 62,0, 55,1, 48,2, 36,6, 36,6, 36,3, 30,2, 23,4.$

Пример 78

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(4-метилпиперазин-1-

илкарбонилокси)фенилаланина

Действия по способу получения, описанному в примере 4, и окисление сульфидной группы в тиоморфолиновом кольце по Larsson and Carlson (Acta Chemica Scan. 1994, 48, 522) приводили к получению указанного в заголовке соединения.

5 Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,76$ (д, 2H), 7,37 (д, 2H), 7,12 (д, 2H), 6,96 (д, 2H), 6,57 (д, 1H), 4,95 (м, 1H), 4,62 (м, 1H), 4,03 (м, 2H), 3,67 (м, 4H), 3,25 (м, 1H), 2,89 (м, 4H), 2,45 (м, 6H), 2,35 (с, 3H), 1,48 (с, 9H).

10 ^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 170,0$, 164,8, 153,7, 150,5, 145,4, 135,3, 132,8, 130,7, 130,4, 127,5, 122,2, 82,9, 56,2, 54,6, 54,5, 53,6, 49,5, 48,6, 46,0, 44,2, 43,7, 41,6, 36,3, 27,9, 21,6.

Пример 79

15 **Синтез N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксо)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина**

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 85 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

20 ^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 4,98$ (м, 1H), 4,90 (м, 1H), 4,44 (д, 1H), 4,03 (д, 1H), 3,67 (м, 1H), 3,37 (м, 1H), 3,25-3,02 (м, 1H), 3,20 (с, 3H), 3,11 (с, 3H), 2,68 (м, 1H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 171,7$, 167,9, 166,3, 164,4, 157,0, 156,4, 150,5, 139,6, 134,0, 133,1, 131,3, 131,1, 130,9, 121,9, 117,2, 116,9, 64,1, 58,8, 53,7, 50,6, 36,9, 36,5, 35,6.

Пример 80

25 **Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(изонипекотоилокси)фенилаланина**

Замена пиперазина на N-метилпиперазин и действия по способам получения, описанным в примере 4, приводили к получению указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества.

30 Данные ЯМР были следующими:

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,70$ (д, 2H), 7,32-7,26 (м, 2H), 7,14 (д, 2H), 7,01 (д, 2H), 4,72-4,68 (м, 1H), 4,07-4,05 (м, 1H), 3,60-3,49 (м, 4H), 3,37-3,31 (м, 1H), 3,22-2,98 (м, 3H), 2,42 (с, 3H), 2,02 (м, 2H), 1,61-1,55 (м, 6H), 1,50-1,45 (м, 13H).

35 ^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 177,3$, 170,7, 169,8, 150,6, 144,3, 133,1, 130,1, 129,9, 127,9, 121,6, 110,8, 82,5, 62,2, 57,2, 53,7, 49,5, 44,9, 37,2, 29,7, 27,8, 25,7, 24,1, 21,4.

Пример 81

40 **Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(1,1-диоксотиапролин-4-илкарбонилокси)фенилаланина**

Продукт примера 82 окисляли способом Larsson and Carlson (Acta Chemica Scand. 1994, 48, 517-525), с выходом указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества.

Данные ЯМР были следующими:

45 ^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,69$ (д, 2H), 7,33-7,29 (м, 3H), 7,20 (д, 2H), 7,00 (д, 2H), 4,71-4,66 (м, 1H), 4,13-4,04 (м, 5H), 3,37-3,32 (м, 1H), 3,21-3,00 (м, 7H), 2,41 (с, 3H), 2,05-2,01 (м, 1H), 1,52-1,44 (м, 12H).

50 ^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 170,7$, 169,7, 149,8, 144,3, 134,4, 133,3, 130,6, 130,0, 127,9, 121,4, 82,7, 62,4, 54,0, 52,1, 49,7, 43,2, 37,6, 29,7, 28,1, 24,4, 21,7.

Пример 82

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина

Замена тиоморфолина на N-метилпиперазин, и действия по способам получения, описанным в примере 4, приводили к получению указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества.

Данные ЯМР были следующими:

⁵ ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 7,70 (д, 2H), 7,31-7,26 (м, 2H), 7,16 (д, 2H), 7,00 (д, 2H), 4,72-4,66 (м, 1H), 4,07-4,04 (м, 1H), 3,89-3,79 (м, 4H), 3,37-3,32 (м, 1H), 3,22-2,99 (м, 3H), 2,67 (т, 4H), 2,42 (с, 3H), 2,02 (м, 2H), 1,50-1,45 (м, 12H).

¹⁰ ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 177,2, 170,7, 169,8, 153,5, 150,2, 144,3, 133,6, 132,9, 130,3, 129,9, 127,9, 121,5, 82,5, 62,4, 53,7, 49,5, 47,0, 46,4, 37,2, 29,6, 27,8, 27,3, 24,1, 21,4.

Пример 83

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(пирролидин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

¹⁵ Замена пирролидинкарбонилхлорида на диметилкарбамилхлорид и действия по способам получения, описанным в примере 2, приводили к получению указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества.

Данные ЯМР были следующими:

²⁰ ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,71 (д, 2H), 7,32 (д, 2H), 7,15 (д, 2H), 7,04 (д, 2H), 4,73-4,67 (м, 1H), 4,07-4,04 (м, 1H), 3,53 (т, 2H), 3,45 (т, 2H), 3,36-3,32 (м, 1H), 3,24-2,98 (м, 3H), 2,42 (с, 3H), 2,03-1,88 (м, 5H), 1,75 (с, 1H), 1,52-1,24 (м, 12H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 170,7, 169,8, 153,1, 150,4, 144,3, 133,1, 130,1, 129,9, 127,9, 121,6, 110,8, 99,8, 82,5, 62,2, 53,7, 49,5, 46,3, 37,2, 29,7, 27,8, 25,6, 24,8, 24,0, 21,4.

²⁵ Пример 84

Синтез трет-бутилового эфира N-(4-фторбензолсульфонил)-L-тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедурам, описанным для получения в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов.

³⁰ Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,87 (м, 2H), 7,28-7,13 (м, 5H), 7,02 (д, 2H), 4,70-4,60 (м, 2H), 4,58 (д, 1H), 4,06 (д, 1H), 3,38-3,01 (м, 3H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 2,58 (м, 1H), 1,47 (с, 9H).

³⁵ ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 169,7, 167,8, 154,9, 150,7, 132,7, 130,9, 130,7, 130,4, 121,8, 117,1, 116,8, 82,9, 65,1, 53,9, 51,4, 36,8, 36,6, 36,4, 33,1, 27,9.

Пример 85

Синтез трет-бутилового эфира N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксо)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

⁴⁰ Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 84, следуя процедуре окисления по Larsson and Carlson (Acta Chemica Scan. 1994, 48, 517-525).

Данные ЯМР были следующими:

⁴⁵ ¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,90 (м, 2H), 7,30-7,04 (м, 7H), 4,83-4,58 (м, 3H), 3,66 (м, 2H), 3,32-3,24 (м, 1H), 3,09-2,85 (м, 2H), 3,10 (с, 3H), 3,01 (с, 3H), 1,50 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 173,1, 169,8, 168,0, 165,6, 154,9, 150,9, 132,6, 131,1, 131,0, 130,3, 122,3, 117,3, 117,0, 83,2, 62,8, 57,8, 53,9, 49,0, 36,8, 36,6, 36,4, 27,9.

Пример 86

Синтез трет-бутилового эфира N-(2,5-дихлортиофен-3-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

⁵⁰ Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,14$ (д, 2H), 7,09 (с, 1H), 7,07 (д, 1H), 7,01 (д, 2H), 4,73-4,66 (м, 1H), 4,32-4,28 (м, 1H), 3,42-3,17 (м, 3H), 3,08 (с, 3H), 3,06-3,01 (м, 1H), 2,98 (с, 3H), 2,17-2,04 (м, 1H), 1,84-1,60 (м, 2H), 1,60-1,46 (м, 1H), 1,45 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 170,2$, 169,9, 154,9, 150,6, 133,4, 133,1, 131,2, 130,2, 127,9, 127,0, 121,7, 82,7, 62,2, 53,6, 49,3, 37,2, 36,6, 36,4, 30,1, 27,8, 24,2.

Пример 87

Синтез трет-бутилового эфира N-(4-ацетамидобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 8,58$ (с, 1H), 7,70-7,67 (м, 4H), 7,32 (д, 1H), 7,14 (д, 2H), 7,01 (д, 2H), 4,68 (м, 1H), 3,99 (м, 1H), 3,37-3,34 (м, 1H), 3,23-3,16 (м, 1H), 3,11-3,01 (м, 1H), 3,08 (с, 3H), 2,98 (с, 3H), 2,13 (с, 3H), 1,97-1,94 (м, 1H), 1,55-1,47 (м, 3H), 1,44 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 171,1$, 169,9, 169,4, 155,0, 150,6, 143,3, 133,3, 130,2, 130,0, 128,9, 121,7, 119,4, 82,7, 62,2, 53,8, 49,6, 37,2, 36,6, 36,4, 29,9, 27,8, 24,4, 24,1.

Пример 88

Синтез трет-бутилового эфира N-(4-трет-бутилбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, в общих чертах описанной для получения в примере 73, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,81$ (д, 2H), 7,59 (д, 2H), 7,07 (д, 2H), 6,97 (д, 2H), 6,46 (д, 1H), 4,95 (м, 1H), 4,62 (м, 1H), 4,06 (м, 2H), 3,23 (м, 1H), 3,07 (м, 4H), 2,97 (м, 4H), 2,81 (м, 4H), 1,55 (с, 9H), 1,37 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 170,0$, 164,9, 158,2, 154,8, 150,6, 135,0, 132,6, 130,2, 127,4, 126,9, 122,2, 82,7, 56,1, 53,5, 49,7, 48,8, 41,5, 36,5, 36,3, 36,1, 35,2, 30,8, 27,8.

Пример 89

Синтез N-(пиридин-3-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 56 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): $\delta = 8,95$ (с, 1H), 8,83 (д, 1H), 8,28-8,24 (м, 1H), 7,73-7,69 (м, 1H), 7,30 (д, 2H), 7,05 (д, 2H), 4,68-4,63 (м, 1H), 4,29-4,25 (м, 1H), 3,47-3,41 (м, 1H), 3,38-3,22 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,06-3,02 (м, 1H), 2,96 (с, 3H), 1,92-1,66 (м, 4H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): $\delta = 174,2$, 173,9, 160,6, 160,0, 156,9, 152,9, 152,0, 147,9, 139,1, 136,9, 135,7, 131,6, 126,5, 123,1, 63,1, 54,8, 50,4, 37,5, 36,8, 36,7, 32,2, 25,5.

Пример 90

Синтез трет-бутилового эфира N-(2-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

L-Тиаморфолин-3-карбоновую кислоту получали по способу Larsson and Carlson (Acta Chemica Scan. 1994, 48, 517-525). N-(2-фторбензол-4-сульфонил)-L-тиаморфолин-3-карбоновую кислоту получали с использованием процедуры, описанной в способе 1. Указанное в заголовке соединение получали по процедурам,

приведенным выше, с использованием подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,92$ (м, 1H), 7,69 (м, 1H), 7,34 (м, 2H), 7,16 (м, 2H), 6,99 (м, 2H), 6,60 (д, 1H), 5,01 (м, 1H), 4,64 (м, 1H), 4,03 (м, 2H), 3,29 (м, 1H), 3,06 (м, 6H), 2,90 (м, 7H), 1,49 (д, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 169,9$, 164,8, 160,3, 156,9, 154,9, 150,7, 136,6, 136,4, 132,7, 131,0, 130,3, 128,8, 126,4, 126,2, 125,1, 122,2, 118,1, 117,8, 82,7, 56,3, 56,7, 50,2, 49,5, 41,8, 36,5, 36,3, 27,8.

Пример 91

Синтез трет-бутилового эфира N-(3-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

L-Тиаморфолин-5-карбоновую кислоту получали по способу Larsson and Carlson (Acta Chemica Scan. 1994, 48, 517-525). N-(3-фторбензол-4-сульфонил)-L-тиаморфолин-5-карбоновую кислоту получали с использованием процедуры, описанной в способе 1. Указанное в заголовке соединение получали по процедурам, приведенным выше, с использованием подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,66$ (м, 1H), 7,58 (м, 2H), 7,34 (м, 1H), 7,07 (д, 1H), 6,92 (д, 1H), 6,42 (д, 1H), 5,00 (м, 1H), 4,58 (м, 1H), 4,02 (м, 2H), 3,22 (м, 1H), 3,05 (с, 3H), 2,98 (м, 6H), 1,45 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 170,0$, 164,5, 164,4, 161,0, 154,9, 150,6, 140,3, 140,2, 132,5, 131,9, 131,8, 130,2, 123,2, 123,1, 122,2, 121,4, 121,2, 115,0, 114,7, 82,9, 56,1, 53,4, 49,9, 49,1, 41,7, 36,5, 36,3, 36,0, 27,8.

Пример 92

Синтез трет-бутилового эфира N-(2,4-дифторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

L-Тиаморфолин-5-карбоновую кислоту получали по способу Larsson and Carlson (Acta Chemica Scand. 1994, 48, 517-525). N-(2,4-Дифторбензол-4-сульфонил)-L-тиаморфолин-5-карбоновую кислоту получали с использованием процедуры, описанной в способе 1. Указанное в заголовке соединение получали по процедурам, приведенным выше, с использованием подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,93$ (м, 1H), 7,15 (м, 2H), 7,04 (м, 4H), 6,53 (д, 1H), 4,97 (м, 1H), 4,64 (м, 1H), 4,05 (м, 2H), 3,21 (м, 3H), 3,17 (с, 3H), 2,97 (м, 5H), 1,43 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 170,0$, 164,6, 154,9, 150,7, 132,6, 132,6, 130,3, 122,6, 122,1, 112,6, 112,3, 107,0, 106,7, 106,3, 82,8, 56,3, 53,5, 50,5, 49,8, 42,0, 36,5, 36,3, 27,8.

Пример 93

Синтез N-(4-ацетамидобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 87 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): $\delta = 8,05$ (д, 1H), 7,78 (м, 4H), 7,26 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 4,94 (м, 1H), 4,72-4,67 (м, 1H), 4,13-4,09 (м, 1H), 3,40-3,36 (м, 1H), 3,30-3,05 (м, 3H), 3,08 (с, 3H), 2,97 (с, 3H), 2,15 (с, 3H), 1,81-1,51 (м, 4H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): $\delta = 174,3$, 174,2, 172,3, 156,9, 152,0, 144,9, 135,5, 132,4, 131,6, 130,2, 122,9, 120,7, 63,2, 54,7, 50,6, 37,5, 36,8, 36,7, 31,7, 25,4, 24,0.

Пример 94

Синтез N-(4-трифторметоксибензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 72 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): $\delta = 7,93$ (д, 2H), 7,48 (д, 2H), 7,28 (д, 2H), 7,03 (д, 2H), 4,72-4,68 (м, 1H), 4,17-4,13 (м, 1H), 3,45-3,42 (м, 1H), 3,28-3,11 (м, 2H), 3,14-3,07 (м, 1H), 3,09 (с, 3H), 2,97 (с, 3H), 1,85-1,69 (м, 3H), 1,59 (м, 1H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): $\delta = 174,2$, 174,1, 157,0, 153,9, 152,0, 137,3, 135,6, 131,7, 131,5, 123,0, 122,5, 121,8, 63,1, 54,7, 50,6, 37,4, 36,8, 36,6, 31,9, 25,4.

Пример 95

Синтез трет-бутилового эфира N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали с использованием процедуры, описанной в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,90$ (м, 2H), 7,22 (м, 4H), 7,00 (м, 3H), 5,08 (м, 1H), 4,84 (м, 1H), 4,56 (д, 1H), 4,42 (д, 1H), 3,88 (с, 1H), 3,15-2,99 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,26-1,16 (м, 12H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 170,4$, 168,2, 167,5, 164,1, 154,9, 150,7, 132,8, 132,2, 132,1, 131,0, 130,8, 130,3, 121,8, 116,9, 116,6, 73,5, 69,6, 54,6, 53,2, 50,5, 37,6, 36,6, 36,3, 29,1, 23,8, 21,6, 21,5.

Пример 96

Синтез N-(4-цианобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 58 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): $\delta = 8,14$ (д, 1H), 7,94-7,89 (м, 4H), 7,29 (д, 2H), 7,03 (д, 2H), 4,70-4,66 (м, 1H), 4,21-4,17 (м, 1H), 3,47-3,40 (м, 1H), 3,31-3,21 (м, 2H), 3,11-3,04 (м, 1H), 3,09 (с, 3H), 2,97 (с, 3H), 1,87-1,72 (м, 3H), 1,70-1,61 (м, 1H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): $\delta = 174,2$, 173,9, 157,0, 152,0, 142,9, 135,7, 134,5, 131,7, 129,7, 123,0, 118,6, 111,8, 63,0, 54,7, 50,5, 37,4, 36,8, 36,7, 32,0, 25,4.

Пример 97

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-(3,3-диметил)пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали с использованием процедуры, описанной для получения в примере 98.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,76$ (д, 1H), 7,75 (д, 1H), 7,35 (д, 1H), 7,34 (д, 1H), 7,33 (д, 1H), 7,20 (д, 1H), 7,10 (д, 1H), 7,03 (д, 1H), 6,91 (д, 0,5H), 6,08 (д, 0,5H), 4,86 (ддд, 0,5H), 4,77 (кв., 0,5H), 3,61-3,47 (м, 2H), 3,27-3,02 (м, 3H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 2,45 (с, 1,5H), 2,43 (с, 1,5H), 1,75-1,68 (м, 0,5H), 1,61-1,51 (м, 0,5H), 1,45 (с, 4,5H), 1,40 (с, 4,5H), 1,48-1,25 (м, 3H), 0,95 (с, 1,5H), 0,80 (с, 1,5H), 0,61 (с, 1,5H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 170,4$, 170,1, 170,0, 169,6, 155,0, 154,9, 150,7, 150,6, 144,3, 144,2, 133,4, 133,1, 132,8, 132,6, 130,7, 130,2, 129,9, 129,8, 128,0, 121,8, 121,7, 82,6, 82,2,

71,5, 71,2, 53,6, 52,7, 47,3, 47,2, 42,7, 42,5, 38,2, 38,1, 37,7, 37,5, 36,6, 36,3, 27,8, 27,8, 27,2, 23,4, 23,2, 21,5.

Пример 98

Синтез изопропилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-(3,3-диметил)пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

3,3-Диметилпролин (см. Sharma и Lubell, J. Org. Chem. 1996, 61, 202-209)

подвергали N-тозилрованию с использованием процедуры, описанной в способе 1.

Указанное в заголовке соединение затем получали с использованием процедуры,

описанной для получения в примере 2.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,76$ (д, 1H), 7,74 (д, 1H), 7,36 (д, 1H), 7,33 (д, 2H), 7,19 (д, 1H), 7,10 (д, 1H), 7,03 (д, 1H), 6,91 (д, 0,5H), 6,89 (д, 0,5H), 5,06 (септ., 0,5H), 4,96 (септ., 0,5H), 4,98-4,83 (м, 1H), 3,59-3,48 (м, 2H), 3,31-3,03 (м, 3H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 2,45 (с, 1,5H), 2,43 (с, 1,5H), 1,75-1,66 (м, 0,5), 1,62-1,52 (м, 0,5H), 1,34-1,22 (т, 3H), 1,27 (с, 1,5H), 1,25 (с, 1,5H), 1,22 (с, 1,5H), 1,20 (с, 1,5H), 0,95 (с, 1,5H), 0,78 (с, 1,5H), 0,60 (с, 1,5H), 0,57 (с, 1,5H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 170,8$, 170,6, 170,0, 169,7, 154,9, 150,8, 150,6, 144,4, 144,2, 133,2, 132,5, 132,5, 130,7, 130,2, 129,9, 129,8, 128,0, 122,0, 121,8, 71,5, 17,2, 69,5, 69,3, 53,0, 52,2, 47,3, 47,2, 42,8, 42,5, 38,2, 38,1, 37,6, 37,2, 36,6, 36,3, 27,1, 23,4, 23,2, 21,6, 21,6, 21,5, 21,5.

Другие соединения, полученные способами, описанными выше, включали те,

которые были приведены ниже в примерах 99-137 в таблице II. Кроме того,

примеры 101, 109, 111, 117, 132 и 137, находящиеся в таблице II, проиллюстрированы следующим образом.

Пример 101

Синтез изопропилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-4-(N,N-диметилкарбамилокси)-L-фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, в общих чертах описанной для получения в примере 2.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР ($(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): $\delta = 8,28$ (д, 1H), 7,70 (д, 2H), 7,41 (д, 2H), 7,23 (д, 2H), 6,99 (д, 2H), 4,86 (септ., 1H), 4,47 (м, 1H), 4,40 (м, 1H), 4,10 (м, 1H), 4,07 (м, 1H), 3,38 (м, 1H), 3,30 (м, 1H), 3,09 (м, 3H), 2,95 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 2,88 (с, 3H), 2,39 (с, 3H), 1,63 (м, 3H), 1,51 (м, 3H), 1,44 (м, 1H), 1,39 (м, 1H), 1,16 (д, 3H), 1,11 (д, 3H).

^{13}C ЯМР ($(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): $\delta = 171,3$, 170,8, 154,2, 150,2, 143,7, 134,1, 130,2, 130, 127,6, 121,6, 68,2, 61,2, 53,5, 49, 36,3, 36,1, 35,7, 30,5, 23,8, 21,4, 21,4, 21.

Пример 109

Синтез N-(бензилсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-(4-N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 111 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Физические данные были следующими:

MS(FAB)(M+H)⁺ 550.

Рассчитано для: $\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_7\text{S}_2$; C, 54,62; H, 5,68; N 7,64.

Обнаружено: C 54,51; H 5,60; N 7,63.

Пример 111

Синтез трет-бутилового эфира N-(бензилсульфонил)-L-(5,5-

диметил)тиапролил-L-(4-N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, в общих чертах описанной для получения в примере 2 и путем замены подходящих исходных материалов.

5 Физические данные были следующими:

MS[M+H]⁺ 550.

Рассчитано для: C₂₉H₃₉N₃O₇S₂; C, 57,52; H, 6,45; N, 6,94.

Найдено: C, 57,32; H, 6,52; N, 6,81.

10 Пример 117

Синтез трет-бутилового эфира N-(метилпиразол-4-сульфонил)-L-пролил-L-(4-N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

15 Замена N-метилпиразолсульфонилхлорида (см. Dickson, патент США 3665009 (23 мая 1972 г.) и действия по способу получения, описанному в примере 56, приводили к получению указанного в заголовке соединения.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,83 (с, 1H), 7,76 (с, 1H), 7,26 (м, 1H), 7,15 (м, 2H), 7,00 (м, 2H), 4,69 (м, 1H), 3,95 (м, 1H), 3,93 (с, 3H), 3,38 (м, 1H), 3,23-3,11 (м, 1H), 3,10-2,99 (м, 4H), 2,99 (с, 3H), 2,05 (м, 1H), 1,66-1,46 (м, 3H), 1,44 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 170,7, 169,9, 154,9, 150,6, 138,9, 133,2, 132,5, 130,2, 121,7, 117,9, 82,6, 62,4, 53,7, 49,7, 39,6, 37,7, 36,6, 36,4, 29,9, 27,9, 24,2.

Пример 132

25 **Синтез трет-бутилового эфира N-(4-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(1,1-диоксотiomорфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина**

Замена тиаморфолина на N-метилпиперазин и действия по способу получения, описанному в примере 4 и 14, приводили к получению указанного в заголовке соединения.

30 Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,87-7,82 (м, 2H), 7,28-7,17 (м, 5H), 7,01 (д, 2H), 4,71-4,69 (м, 1H), 4,14-4,05 (м, 5H), 3,39-3,36 (м, 1H), 3,23-3,01 (м, 7H), 2,05-2,03 (м, 1H), 1,58-1,44 (м, 12H).

35 ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 170,4, 169,8, 153,0, 149,7, 134,2, 130,6, 130,5, 121,3, 116,8, 116,5, 82,6, 62,1, 53,6, 51,8, 49,5, 43,1, 42,7, 37,2, 29,7, 27,8, 24,2.

Пример 137

40 **Синтез изопропилового эфира N-(метилпиразол-4-сульфонил)-L-пролил-L-(4-N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина**

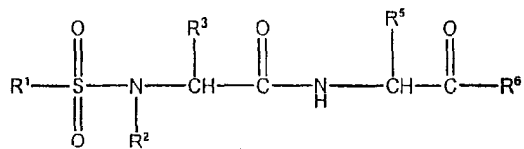
Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 117.

Данные ЯМР были следующими:

45 ¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,83 (с, 1H), 7,76 (с, 1H), 7,27 (д, 1H), 7,13 (д, 2H), 7,01 (д, 2H), 5,06-5,02 (м, 1H), 4,80-4,73 (м, 1H), 3,97-3,94 (м, 1H), 3,93 (с, 3H), 3,44-3,37 (м, 1H), 3,25-3,19 (м, 1H), 3,09-3,00 (м, 5H), 2,97 (с, 3H), 2,06-2,02 (м, 1H), 1,66-1,48 (м, 3H), 1,23 (д, 6H).

50 ¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,8, 170,5, 154,9, 150,6, 138,9, 132,9, 32,5, 130,2, 121,7, 117,8, 69,5, 62,3, 53,2, 49,7, 39,6, 37,1, 36,6, 36,3, 29,9, 24,1, 21,6, 21,5.

Таблица 4



5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

R ¹	R ²	R ³	R ⁵	R ⁶	№ эксп.
<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(4-метилпиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-O- <i>n</i> -бутил	99
<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(4-метилпиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-O=циклопентил	
<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂	101
<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(пиперидин-4-ил)C(O)O-] бензил-	-OCH ₂ CH ₃	102
φ-CH ₂ -	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(1-метилпиперидин-4-ил)C(O)O-] бензил-	-OCH ₂ CH ₃	103
φ-CH ₂ -	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(4-метилпиперазин-1-ил)C(O)O-] бензил-	-ОН	104
<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(1-Вос-4-фенилпиперидин-4-ил)-C(O)O-] бензил-	-OCH ₂ CH ₃	105
1-метилимидазол-4-ил	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	106
<i>l</i> -NH ₂ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	107
<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(морфолин-4-ил)C(O)O-] бензил-	-OC(CH ₃) ₃	108
φ-CH ₂ -	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН	109
<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -NH-CH ₂ - (L-пиперазинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН	110
φ-CH ₂ -	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5- диметилтиазолидин-4-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	111
<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-NH-адамантил	112
<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-NHCH ₂ C(O)OH	113
<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NS(O) ₂ O-]бензил-	-OCH ₃	114
<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -NH-CH ₂ - (L-пиперазинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	115
<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -(Cbz)NHCH ₂ - [L-4-N-(Cbz)-пиперазинил]		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	116

5	1-метилпиразол-4-ил	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	117
	3-пиридил	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН	118
	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(1-Вос-пиперазин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃	119
10	<i>l</i> -CH ₃ -φ	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(морфолин-4-ил)-C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃	120
	<i>l</i> -CH ₃ -φ	-CH ₃	Н	<i>l</i> -[(тиоморфолин-4-ил сульффон)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	121
	<i>l</i> -CH ₃ -φ	-CH ₃	Н	<i>l</i> -[(тиоморфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-ОН	122
15	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	2,4-диоксо-тетрагидрофуран-3-ил (3,4-енол)	123
	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(пиперазин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-ОН	124
20	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(1-Вос-пиперазин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	125
	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(пиперазин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃	126
25	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(4-ацетилпиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃	127
	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(4-метансульфонилпиперазин-1-ил)-C(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₃	128
30	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		3-нитро-4-[(морфолин-4-ил)-C(O)O-]бензил-	-ОН	129
	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(1-Вос-пиперазин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-ОН	130
35	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	-CH ₃	-C(CH ₃) ₃	<i>l</i> -[(4-метилпиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	131
	<i>l</i> -F-φ	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(1,1-диоксотииоморфолин-4-ил)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	132
40	<i>l</i> -F-φ	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(морфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	133
	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₂ - (L-1,1-диоксотииоморфолин-3-ил)		<i>l</i> -[(морфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-ОН	134
45	1-метилпиразол-4-ил	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(4-метилпиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	135
	морфолин-4-ил	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃	136
50	1-метилпиразол-4-ил	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂	137

Дополнительные соединения, полученные способами, описанными выше,

включают в себя следующее.

Пример 138

Синтез трет-бутилового эфира N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

5 N-Метилпиразолсульфонилхлорид получали добавлением N-метилпиразола к охлажденной (0°C) хлорсульфоновой кислоты. Реакционной смеси позволяли нагреться до комнатной температуры, и затем нагревали до 100°C, и оставляли в течение ночи под струей N₂. Затем реакционную смесь охлаждали до комнатной
10 температуры и охлаждали до 0°C. К данному раствору добавляли тионилхлорид (2,5 экв.), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин, затем нагревали ее до 70°C в течение двух часов. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, и затем охлаждали на ледяной бане. Воду со льдом
15 медленно добавляли в реакционную смесь для осаждения белого твердого вещества, которое собирали путем фильтрации. Требуемый сульфонилхлорид промывали холодной водой и гексаном.

Затем указанное в заголовке соединение получали по процедуре, в общих чертах описанной для получения в примере 2, с заменой подходящих исходных материалов,
20 т.пл. 169-170°C.

Пример 139

Синтез N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

25 Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 138 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ = 7,94 (с, 1H); 7,79 (с, 1H); 7,25 (д, 2H, J=8,8 Гц); 7,0 (д, 2H, J=8,8 Гц); 5,15 (ушир.с, 1H); 4,80 (м, 1H); 4,54 (д, 1H, J=9, Гц); 4,39 (д, 1H, J=9,3 Гц); 3,93 (с, 3H); 3,88 (с, 1H); 3,23-3,02 (м, 2H); 3,07 (с, 3H); 2,98 (с, 3H); 1,27 (с, 3H); 1,14 (с, 3H).
30

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ = 173,86, 169,05, 155,23, 150,47, 139,21, 133,59, 133,15, 130,53, 121,84, 117,57, 73,58, 54,71, 53,75, 50,42, 39,60, 37,18, 36,60, 36,36, 35,11, 28,97, 23,95.

Пример 140

35 **Синтез этилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-(1,4-диокса-8-аза-спиро[4.5]декан-8-ил) карбонилокси)фенилаланина**

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, в общих чертах описанной для примера 4, с заменой подходящих исходных материалов.

Физические данные были следующими:

40 MS(+ESI): 630 [M+H]⁺
Анализ для C₃₁H₃₉N₃O₉S·0,2 CH₂Cl₂: Рассчитано: С, 57,94; Н, 6,14; N, 6,50.
Найдено: С, 57,73; Н, 5,90; N, 6,47.

Пример 141

45 **Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-(1,4-диокса-8-аза-спиро[4.5]-декан-8-ил)карбонилокси)фенилаланина**

Продукт примера 140 гидролизовали с использованием процедуры, описанной в способе 5, но с использованием метанола в качестве растворителя и проведением взаимодействия при 25°C в течение 24 ч. Затем растворитель упаривали, остаток помещали в H₂O, промывали метиленхлоридом и лиофилизировали с получением
50 указанного в заголовке соединения.

Физические данные были следующими:

MS (+ESI): 619 [M+H]⁺.

Анализ для $C_{29}H_{35}N_3O_9SLi \cdot 1,5H_2O$: Рассчитано: С, 53,37; Н, 6,02; N, 6,44.

Найдено: С, 53,40; Н, 5,58; N, 6,48.

Пример 142

5 **Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-ацетилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина**

Продукт примера 127 гидролизовали с использованием процедуры, описанной в способе 5, но с применением метанола в качестве растворителя и запуском взаимодействия при 25°C на 24 ч. Затем растворитель упаривали, остаток помещали в H_2O , промывали метиленхлоридом и лиофилизировали с получением указанного в заголовке соединения.

Физические данные были следующими:

MS (+ESI): 587 [M+H]⁺.

15 Анализ для $C_{28}H_{33}N_4O_8SLi \cdot 3H_2O$: Рассчитано: С, 52,01; Н, 6,08; N, 8,66.

Найдено: С, 52,03; Н, 5,36; N, 8,04.

Пример 143

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-метансульфонилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

20 Продукт примера 128 гидролизовали с использованием процедуры, описанной в примере 142.

Физические данные были следующими:

MS (+ESI): 623 [M+H]⁺.

25 Анализ для $C_{27}H_{33}N_4O_9S_2Li \cdot 2H_2O$: Рассчитано: С, 48,79; Н, 5,61; N, 8,43.

Найдено: С, 48,66; Н, 5,14; N, 8,04.

Пример 144

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-фенилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

30 Этиловый эфир указанного в заголовке соединения получали, следуя процедуре, в общих чертах описанной в примере 4, с заменой подходящих исходных материалов. Затем этиловый эфир гидролизовали с использованием процедуры, описанной в примере 142.

35 Физические данные были следующими:

MS(-ESI): 619 [M-H]⁻.

Анализ для $C_{32}H_{36}N_4O_7SLi \cdot 2H_2O$: Рассчитано: С, 58,00; Н, 5,93; N, 8,45.

Найдено: С, 57,65; Н, 5,49; N, 8,13.

Пример 145

40 **Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина**

Продукт примера 125 (0,7 г, 1 ммоль) растворяли в метиленхлориде (9 мл).

45 Раствор охлаждали до 0°C и добавляли трифторуксусную кислоту (1,0 мл), и полученный в результате прозрачный раствор перемешивали в течение 4 ч.

Реакционный раствор затем разбавляли дополнительным количеством метиленхлорида (50 мл), промывали насыщенным раствором бикарбоната натрия (3×50 мл), сушили (K_2CO_3), и удаляли раствор с получением белого твердого вещества (0,465 г). Хроматография на испарительной колонке (9:1 CH_2Cl_2 :EtOH)

50 данного материала приводила к получению прозрачного масла, которое промывали несколько раз гексаном с получением белого твердого вещества (0,289 г, 48%).

Физические данные были следующими:

MS (+ESI): 601,7 [M+1]⁺.

Анализ для $C_{30}H_{40}N_4O_7S \cdot 0,25 CH_2Cl_2$: Рассчитано: С, 58,42; Н, 6,56; N, 9,01.

Найдено: С, 58,79; Н, 6,51; N, 8,74.

Пример 146

Синтез 2-(сахарин-2-ил)пропионил-L-4-(4'-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 46 с использованием процедуры, описанной в способе 11, т.пл. = 117-122°C (с вспениванием).

Физические данные были следующими:

Анализ для $C_{25}H_{28}N_4O_8S \cdot 1,5 H_2O$: Рассчитано: С, 52,53; Н, 5,47; N, 9,80.

Найдено: С, 52,26; Н, 5,36; N, 9,23.

Пример 147

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-метансульфонилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, в общих чертах описанной в примере 128, с заменой подходящих исходных материалов.

Физические данные были следующими:

MS (+ESI): 696 $[M+NH_4]^+$.

Анализ для $C_{31}H_{42}N_4O_9S_2 \cdot 0,5 CH_2Cl_2$: Рассчитано: С, 51,62; Н, 6,00; N, 7,76.

Найдено: С, 51,55; Н, 6,21; N, 7,60.

Пример 148

Синтез N'-трет-бутоксикарбонил-2-амино-2-метилпропилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

$(BOC)_2O$ (96 мг, 0,44 ммоль) добавляли к раствору продукта примера 9 (200 мг, 0,4 ммоль), N-Вос-2-амино-2-метил-1-пропанола (965 мг, 0,5 ммоль) и каталитического количества DMAP в THF (92 мл), содержащем пиридин (50 мкл). Смесь

перемешивали при комнатной температуре в атмосфере аргона в течение 48 ч. Смесь выливали в 1н HCl и экстрагировали этилацетатом. Органическую фазу промывали (1н HCl), сушили ($MgSO_4$), и растворитель удаляли при пониженном давлении.

Остаток очищали посредством хроматографии на испарительной колонке (EtOAc: гексан 2:1) с получением требуемого соединения в виде аморфной белой пены (150 мг, 55%).

Физические данные были следующими:

MS: $[M+H]^+$ 675.

MS(+ESI): $[M+NH_4]^+$ 692 (100%).

Пример 149

Синтез 2-(морфолин-4-ил)этилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, в общих чертах описанной в примере 148, с заменой 2-морфолиноэтанола на N-Вос-2-амино-2-метил-1-пропанола.

Физические данные были следующими:

Анализ для $C_{30}H_{40}N_4O_8S \cdot 0,5H_2O$: Рассчитано: С, 57,58; Н, 6,60; N, 8,95.

Найдено: С, 57,26; Н, 6,29; N, 8,82.

Пример 150

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-ацетилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, в общих чертах

описанной в примере 127, с заменой подходящих исходных материалов.

Физические данные были следующими:

MS (+ESI): 660,4 [M+NH₄]⁺.

Анализ для C₃₂N₄₂N₄O₈S·0,15 CH₂Cl₂: Рассчитано: С, 58,91; Н, 6,50; N, 8,55.

Найдено: С, 58,64; Н, 6,36; N, 8,40.

Пример 151

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-гидроксипиперидин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, в общих чертах описанной в примере 4, с заменой 4-пиперидинола на N-метилпиперазин.

Физические данные были следующими:

Анализ для C₃₁H₄₁N₃O₈S·0,6H₂O·0,22EtOAc: Рассчитано: С, 59,28; Н, 6,86; N, 6,51.

Найдено: С, 58,92; Н, 6,37; N, 6,47.

Пример 152

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-(2'-(морфолин-4'-ил)этил)карбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, в общих чертах описанной в примере 4, с заменой 4-(2-аминоэтил)морфолина на N-метилпиперазин.

Физические данные были следующими:

Анализ для C₃₂H₄₄N₄O₈S·0,25 H₂O: Рассчитано: С, 59,20; Н, 6,91; N, 8,63.

Найдено: С, 59,01; Н, 6,54; N, 8,38.

Пример 153

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-(1,4-диокса-8-аза-спиро[4.5]декан-8-ил)карбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, в общих чертах описанной в примере 4 с заменой подходящих исходных материалов.

Физические данные были следующими:

MS(-ESI): 656 [M-H]⁻.

Анализ для C₃₃H₄₃N₃O₉S·0,1 CH₂Cl₂: Рассчитано: С, 59,67; Н, 6,54; N, 6,31.

Найдено: С, 59,83; Н, 6,63; N, 6,66.

Пример 154

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-(2'-гидроксиэтил)-N-метилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, в общих чертах описанной в примере 4, с заменой 2-(метиламино)этанола на N-метилпиперазин.

Физические данные были следующими:

Анализ для C₂₉H₃₉N₃O₈S·0,5 H₂O: Рассчитано: С, 58,18; Н, 6,73; N, 7,02.

Найдено: С, 57,95; Н, 6,5; N, 6,9.

Пример 155

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-формилоксипиперидин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали путем обработки продукта примера 151 муравьиной кислотой в течение ночи при перемешивании. Указанное в заголовке соединение получали в виде белой пены (130 мг, 94%), с последующим удалением избытка муравьиной кислоты.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц) δ 12,8 (с, 1H); 8,23 (с, 1H); 8,09 (д, 1H); 7,69 (д, 2H), 7,4 (д, 2H); 7,23 (д, 2H), 7,02 (д, 2H); 5,00 (м, 1H); 4,45 (м, 1H); 4,10 (м, 1H); 3,6-3,8

(ушир., 2H); 3,4 (ушир.с, 1H); 3,25 (м, 2H); 3,10 (м, 2H); 2,95 (м, 1H); 2,35 (с, 3H); 1,95 (м, 2H); 1,56-1,75 (м, 5H); 1,4 (м, 1H).

ИК (KBr, cm^{-1}) 3400, 2950, 1720, 1680, 1510, 1430, 1325, 1250, 1150, 1010, 650, 75, 540.

MS((+)ESI, m/z (%)) 605 (100 [M+NH, 1⁺]).

Анализ для $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_9\text{S}\cdot 0,66 \text{H}_2\text{O}$: Рассчитано: С, 56,09; Н, 5,77; N, 7,01.

Найдено: С, 56,14; Н, 5,83; N, 6,78.

Пример 156

Синтез изопропилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-гидроксипиперидин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, в общих чертах описанной в примере 4 с заменой подходящих исходных материалов, т.пл. 64-67°C (при вспенивании).

Физические данные были следующими:

Анализ для $\text{C}_{30}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_8\text{S}\cdot 0,75 \text{H}_2\text{O}\cdot 0,1 \text{EtOAc}$: Рассчитано: С, 58,51; Н, 6,67; N, 6,73.

Найдено: С, 58,55; Н, 6,09; N, 6,78.

Пример 157

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-(2-гидроксиэтил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Карбонат получали путем обработки Tos-Pro-Tуг-трет-бутилового эфира 4-нитрофенилхлорформиадом, с последующим добавлением N-(2-гидроксиэтил)пиперазин (триэтиламин, метиленхлорид, охлаждение до 0°C, при последующем помешивании в течение ночи при комнатной температуре).

Неочищенный продукт очищали путем хроматографии на испарительной колонке (силикагель, 95:5 EtOAc:EtOH) с получением белого твердого вещества, т.пл. 158-160°C (0,387 г, 58%).

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц) δ 8,15 (д, 1H, J=7,90 Гц); 7,70 (д, 2H, J=6,59 Гц); 7,40 (д, 2H, J=7,90 Гц); 7,23 (д, 2H, J=8,56 Гц); 7,00 (д, 2H, J=8,56 Гц); 4,42 (м, 1H); 4,38 (м, 1H); 4,08 (м, 1H); 3,51 (м, 4H); 3,34 (м, 3H); 3,09 (м, 1H); 2,99 (м, 2H); 2,43 (м, 6H); 2,39 (с, 3H); 1,59 (м, 3H); 1,39 (м, 1H); 1,35 (с, 9H).

ИК (KBr, cm^{-1}) 3505, 3400, 2990, 2930, 2890, 1730, 1700, 1670, 1510, 1430, 1350, 1220, 1200, 1160, 670, 590, 545.

MS((-)ESI, m/z (%)) 643 (98 [M-NH₄]).

Анализ для $\text{C}_{32}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}$: Рассчитано: С, 59,61; Н, 6,88; N, 8,69.

Найдено: С, 59,06; Н, 6,95; N, 8,43.

Пример 158

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-(2'-формилоксиэтил)-N-метилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали путем обработки продукта примера 154 муравьиновой кислотой в течение ночи при перемешивании. Указанное в заголовке соединение получали в виде белой пены (110 мг, 77%), с последующим удалением избытка муравьиной кислоты.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц) δ 12,8 (с, 1H); 8,25 (д, 1H); 8,08 (д, 1H); 7,69 (д, 2H), 7,40 (д, 2H); 7,22 (д, 2H), 6,98 (дд, 2H); 4,47 (м, 1H); 4,35 (м, 1H); 4,27 (м, 1H); 4,10 (м, 1H); 3,65 (м, 1H); 3,55 (м, 1H); 2,85-3,15 (перекрываемый м, 7H); 2,40 (с, 3H); 1,55 (м, 3H); 1,40 (м, 1H).

ИК (KBr, cm^{-1}) 3420, 2910, 1725, 1510, 1400, 1340, 1270, 1150, 675, 590, 550.

MS(+) ESI, $m/z(\%)$) 579 (100 [M+NH₄, 1⁺).

Анализ для C₂₆H₃₁N₃O₉S·0,66 H₂O: Рассчитано: С, 54,45; Н, 5,68; N, 7,33.

Найдено: С, 54,41; Н, 5,60; N, 7,24.

Пример 159

Синтез изопропилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-(2'-гидроксиэтил)-N-метилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, в общих чертах описанной в примере 4 с заменой подходящих исходных материалов, т.пл. 49-52°C.

Физические данные были следующими:

Анализ для C₂₈H₃₇N₃O₈S·0,5 H₂O: Рассчитано: С, 57,52; Н, 6,55; N, 7,19.

Найдено: С, 57,56; Н, 6,38; N, 7,14.

Пример 160

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-4-(N-(метоксикарбонилметил)карбамилокси)фенилаланина

Карбонат получали путем обработки Tos-Pro-Tug-трет-бутилового эфира 4-нитрофенилхлорформиадом, с последующим добавлением метилового эфира глицина (триэтиламин, метиленхлорид, охлаждение до 0°C, с последующим перемешиванием при комнатной температуре в течение ночи). Неочищенный продукт очищали путем хроматографии на испарительной колонке (силикагель, 3:2 EtOAc:гексан) с получением белой пены (0,640 г, 35%).

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц) δ 8,15 (д, 1H, J=8,12 Гц); 8,12 (д, 2H, J=6,15 Гц); 7,73 (д, 2H, J=8,34 Гц); 7,40 (д, 2H, J=7,90 Гц); 7,24 (д, 2H, J=8,56 Гц); 6,98 (д, 2H, J=8,34 Гц); 4,25 (м, 1H); 4,07 (м, 1H); 3,83 (д, 2H, J=6,15 Гц); 3,64 (с, 3H); 3,32 (м, 1H); 3,02 (м, 3H); 2,39 (с, 3H); 1,56 (м, 3H); 1,41 (м, 1H); 1,35 (с, 9H).

ИК (KBr, cm^{-1}) 3400, 2990, 1745, 1680, 1500, 1370, 1350, 1200, 1160, 670, 600.

MS(+) ESI, $m/z(\%)$) 621 (100[M+NH₄]⁺).

Анализ для C₂₉H₃₇N₃O₉S: Рассчитано: С, 57,70; Н, 6,18; N, 6,96.

Найдено: С, 57,63; Н, 6,11; N, 6,74.

Пример 161

Синтез изопропилового эфира N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, в общих чертах описанной в примере 138, с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,91 (с, 1H), 7,81 (с, 1H), 7,21 (д, 2H, J=8,2 Гц), 7,03 (м, 3H); 5,03 (м, 1H), 4,84 (м, 1H), 4,55 (д, 1H), 4,42 (д, 1H), 3,96 (с, 3H), 3,83 (с, 1H), 3,18-3,01 (м, 2H), 3,10 (с, 3H), 3,01 (с, 3H), 1,28 (с, 3H), 1,24 (м, 6H), 1,17 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,43, 166,31, 154,92, 150,68, 132,91, 132,88, 130,34, 121,78, 117,69, 73,76, 69,61, 54,79, 53,2, 50,52, 39,61, 37,62, 36,58, 36,35, 28,96, 24,02, 21,57, 21,49.

Пример 162

Синтез изопропилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-метоксипиперидин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, в общих чертах описанной в примере 156, с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц) δ 8,10 (д, 1H); 7,72 (д, 2H); 7,41 (д, 2H); 7,24 (д, 2H); 7,02 (д, 2H); 4,92 (м, 1H); 4,45 (м, 1H); 4,10 (м, 1H); 3,8 (ушир.с, 1H); 3,65 (ушир.с, 1H); 3,40 (м, 2H); 3,25 (с, 3H); 2,95-3,15 (перекрываемый м, 5H); 2,40 (с, 3H); 1,85 (ушир., 2H); 1,4-1,6 (м, 6H); 1,18 (д, 3H); 1,12 (д, 3H).

ИК (KBr, см⁻¹) 3400, 2950, 1720, 1520, 1425, 1340, 1210, 1160, 1100, 625, 590, 540.

MS(+) ESI, m/z(%) 633 [M+NH]⁺.

Пример 163

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-метоксипиперидин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 162 с использованием процедуры, описанной в способе 5.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц) δ 12,8 (с, 1H); 8,10 (д, 1H); 7,72 (д, 2H); 7,41 (д, 2H); 7,24 (д, 2H); 7,02 (д, 2H); 4,45 (м, 1H); 4,10 (м, 1H); 3,8 (ушир.с, 1H); 3,65 (ушир.с, 1H); 3,40 (м, 2H); 3,25 (с, 3H); 2,95-3,15 (перекрываемый м, 5H); 2,40 (с, 3H); 1,85 (ушир., 2H); 1,4-1,6 (м, 6H).

ИК (KBr, см⁻¹) 3400, 2950, 1720, 1520, 1425, 1340, 1210, 1160, 1100, 625, 590, 540.

MS (-) ESI, m/z(%) 572 (100[M-H]⁻).

Анализ для C₂₈H₃₅N₃O₈S·0,33EtOAc·1H₂O: Рассчитано: С, 56,73; Н, 6,44; N, 6,77.

Найдено: С, 56,96; Н, 6,01; N, 6,76.

Пример 164

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-4-оксопролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Дихлорметан (7 мл) охлаждали до -60°C (баня хлороформ/сухой лед). Добавляли оксалилхлорид (0,15 мл). Продукт из примера 165 (870 мг) и сухой ДМСО (0,26 мл) растворяли в дихлорметане (8 мл), и медленно добавляли к указанному выше раствору. Реакционную смесь перемешивали при -60°C в течение 30 минут в сухих условиях. Добавляли триэтиламин (1,05 мл). Через 5 минут удаляли баню сухого льда. Реакционную смесь перемешивали в течение 1 часа при комнатной температуре. Растворитель упаривали в вакууме. Этилацетат (30 мл) добавляли к остатку. Смесь промывали раствором лимонной кислоты (5%, 2×30 мл) и насыщенным раствором NaHCO₃ (2×30 мл); и, наконец, солевым раствором. Раствор сушили над MgSO₄. Растворитель упаривали в вакууме, и остаток наносили на силикагелевую колонку с получением 440 мг требуемого продукта, т.пл.: 78-80°C.

Пример 165

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-транс-4-гидроксипролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-транс-4-гидроксипролил-L-4-(гидрокси)фенилаланина (1,60 г) и диметилкарбамилхлорид (0,30 мл) растворяли в DMF при 0°C на ледяной бане. К раствору добавляли порошок карбоната калия (2,03 г). Через 5 минут ледяную баню удаляли. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 6 часов. Твердое вещество фильтровали. К раствору добавляли этилацетат (40 мл). Раствор 2 раза промывали раствором лимонной кислоты (5%, 40 мл) и 1 раз - насыщенным раствором NaHCO₃ (40 мл). Затем раствор промывали солевым раствором и сушили с использованием MgSO₄. Растворитель упаривали в вакууме с получением 1,07 г указанного в заголовке соединения, т.пл.: 170-172°C.

Пример 166

Синтез трет-бутилового эфира N-(3-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Трет-бутиловый эфир N-(3-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-
 (гидрокси)фенилаланина (700 мг) и диметилкарбамилхлорид (0,2 мл) растворяли
 в DMF (15 мл) при 0°C на ледяной бане. К раствору добавляли порошок карбоната
 калия (1,375 г). Через 5 минут ледяную баню удаляли. Реакционную смесь
 перемешивали при комнатной температуре в течение 6 часов. Твердое вещество
 фильтровали. К раствору добавляли этилацетат (20 мл). Раствор промывали
 раствором лимонной кислоты (5%, 30 мл, 2×) и насыщенным раствором NaHCO₃.
 Затем раствор промывали соевым раствором и сушили с использованием MgSO₄.
 Растворитель упаривали в вакууме с получением 890 мг указанного в заголовке
 соединения, т.пл.: 107-109°C.

Пример 167

Синтез трет-бутилового эфира N-(морфолиносulьфонил)-L-пролил-L-(4-N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

N-(Морфолиносulьфонил)-L-пролин получали с использованием процедуры,
 описанной Cheeseright et al., J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1 1994, 12, 1595-1600. Указанное
 в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в
 примере 2.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,13 (д, 2H), 7,03 (д, 2H), 6,92 (д, 1H), 4,71 (кв., 1H), 4,25 (т, 1H),
 3,67 (т, 4H), 3,39 (дт, 1H), 3,28-3,19 (м, 1H), 3,23 (т, 4H), 3,18 (дд, 1H), 3,08 (дд, 1H), 3,09
 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 2,16-2,08 (м, 2H), 1,98-1,86 (м, 1H), 1,78-1,66 (м, 1H), 1,45 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 171,2, 170,4, 154,8, 150,7, 132,9, 130,3, 121,7, 82,7, 66,3, 62,6,
 53,3, 49,6, 46,2, 37,0, 36,6, 36,3, 30,5, 27,8, 24,7.

Пример 168

Синтез N-(морфолиносulьфонил)-L-пролил-L-(4-N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 167 с
 использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CD₃OD): δ 8,04 (д, 1H), 7,25 (д, 2H), 7,01 (д, 2H), 4,71-4,64 (м, 1H), 4,22 (дд,
 1H), 3,62-3,50 (м, 4H), 3,43-3,31 (м, 2H), 3,24 (дд, 1H), 3,11 (т, 4H), 3,09 (с, 3H), 3,03 (дд,
 1H), 2,97 (с, 3H), 2,22-2,11 (м, 1H), 1,98-1,80 (м, 3H).

¹³C ЯМР (CD₃OD): δ 174,65, 174,58, 174,00, 156,60, 151,70, 135,30, 131,20, 122,70,
 67,10, 63,10, 54,59, 54,50, 50,6, 47,10, 37,10, 36,50, 36,40, 32,0, 25,60.

Пример 169

Синтез трет-бутилового эфира N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксопираморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедурам, описанным для
 получения в примерах 14 и 117.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,93 (с, 1H), 7,80 (с, 1H), 7,12 (д, 2H), 6,98 (д, 2H), 6,44 (д,
 1H), 4,95 (м, 1H), 4,66 (м, 1H), 4,04 (м, 2H), 3,98 (с, 3H), 3,19 (м, 2H), 3,06 (м, 6H),
 2,98 (м, 4H), 1,42 (м, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,58, 164,75, 154,91, 150,75, 139,33, 132,73, 132,43, 130,43,

122,18, 119,66, 83,07, 56,02, 53,23, 50,03, 49,03, 41,49, 39,63, 36,56, 36,31, 36,16, 27,87.

Пример 170

Синтез N-(2-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 90 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

^1H ЯМР (CD_3OD): δ 7,90 (м, 1H), 7,72 (м, 1H), 7,56 (д, 1H), 7,37 (м, 2H), 7,20 (д, 2H), 7,07 (д, 2H), 5,18 (м, 1H), 4,59 (м, 1H), 4,26 (м, 1H), 3,76 (м, 2H), 3,36 (м, 1H), 3,21 (м, 2H), 3,08 (м, 6H), 2,96 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ 173,85, 168,04, 162,06, 158,69, 156,92, 152,06, 137,69, 135,05, 131,83, 131,59, 129,77, 128,44, 128,26, 126,21, 123,17, 119,04, 118,75, 57,04, 54,99, 52,08, 51,66, 43,36, 37,24, 36,83, 36,66.

Пример 171

Синтез N-(2,4-дифторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 92 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ 8,88 (м, 1/2H), 8,14 (м, 1/2H), 7,90 (м, 1H), 7,64 (м, 1H), 7,20 (м, 2H), 7,10 (м, 1H), 7,03 (м, 2H), 5,16 (м, 1H), 4,63 (м, 1H), 4,28 (м, 1H), 3,75 (м, 2H), 3,41 (м, 1H), 3,15 (м, 5H), 3,02 (м, 4H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ 173,91, 168,04, 156,93, 152,05, 135,15, 133,81, 133,67, 131,60, 123,13, 113,48, 113,18, 107,38, 107,02, 57,02, 55,02, 52,29, 51,84, 43,45, 37,34, 36,83, 36,66.

Пример 172

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-(тиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 49 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,67 (д, 2H), 7,32 (д, 2H), 7,21 (д, 2H), 7,10 (д, 1H), 7,00 (д, 2H), 5,40 (ушир.с, >1H), 4,85 (м, 2H), 3,95 (м, 1H), 3,41 (м, 1H), 3,07 (м, 6H), 2,98 (м, 4H), 2,62 (м, 1H), 2,41 (м, 5H), 2,13 (м, 1H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 173,40, 168,49, 155,26, 144,44, 136,88, 132,95, 130,51, 130,30, 127,28, 122,08, 55,34, 53,45, 43,43, 36,62, 36,38, 35,85, 25,25, 24,54, 21,43.

Пример 173

Синтез изопропилового эфира N-(пиридин-3-сульфонил)-L-(5,5-диметилтиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, в общих чертах описанной для получения в примере 56 с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 9,13 (м, 1H), 8,90 (м, 1H), 8,19 (м, 1H), 7,56 (м, 1H), 7,23 (д, 2H), 7,04 (д, 2H), 6,93 (д, 1H), 5,07 (м, 1H), 4,85 (м, 1H), 4,62 (д, 1H), 4,48 (д, 1H), 3,92 (с, 1H), 3,20-3,05 (м, 2H), 3,12 (с, 3H), 3,03 (с, 3H), 1,32-1,16 (м, 12H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,30, 167,75, 154,19, 150,67, 148,59, 135,72, 132,94, 132,72, 130,27, 123,91, 121,78, 73,62, 69,64, 54,69, 53,12, 50,48, 37,50, 36,53, 36,29, 29,05, 23,73, 21,54, 21,46.

Пример 174

Синтез N-(3-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 91 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ 7,68 (м, 3H), 7,44 (м, 1H), 7,20 (м, 2H), 7,01 (м, 2H), 5,21 (м, 1H), 4,60 (м, 1H), 4,20 (м, 1H), 3,75 (м, 1H), 3,43 (м, 1H), 3,21 (м, 3H), 3,02 (м, 4H), 2,96 (м, 4H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ 173,98, 167,98, 165,89, 162,56, 156,94, 152,06, 142,70, 142,61, 135,11, 133,30, 133,19, 131,57, 124,71, 123,25, 122,21, 121,93, 116,05, 115,71, 57,27, 54,87, 54,79, 51,29, 51,06, 43,24, 37,11, 36,83.

Пример 175

Синтез N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 169 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ 8,11 (с, 1H), 7,83 (с, 1H), 7,36 (д, 1H), 7,24 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 5,16 (м, 1H), 4,69 (м, 1H), 4,19 (м, 1H), 3,90 (с, 3H), 3,81 (м, 2H), 3,33 (м, 3H), 3,10 (с, 3H), 3,02 (м, 4H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ 174,07, 168,11, 156,93, 152,08, 140,12, 135,05, 134,90, 131,67, 123,28, 121,82, 57,33, 54,77, 50,83, 50,64, 42,94, 39,80, 37,02, 36,84, 36,76.

Пример 176

Синтез N-(4-трет-бутилбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 88 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ 7,70 (д, 2H), 7,53 (д, 2H), 7,04 (д, 2H), 6,87 (д, 2H), 5,09 (м, 1H), 4,48 (м, 1H), 3,99 (м, 1H), 3,60 (м, 1H), 2,90 (м, 5H), 2,80 (м, 5H), 1,15 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ 173,95, 168,09, 159,33, 156,88, 152,09, 137,52, 135,03, 131,54, 128,68, 128,15, 123,32, 57,27, 54,81, 50,75, 43,04, 36,97, 36,82, 36,65, 36,16, 31,35.

Пример 177

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-(3,3-диметил)пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 97 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,77 (д, 1H), 7,75 (д, 1H), 7,42-7,33 (м, 3,5H), 7,27 (д, 1H), 7,19 (д, 0,5H), 7,10 (д, 1H), 7,03 (д, 1H), 5,07-5,00 (м, 0,5H), 4,94-4,87 (м, 0,5), 3,67 (д, 1H), 3,58-3,52 (м, 1H), 3,35-3,25 (м, 1H), 3,19-3,08 (м, 2H), 3,11 (с, 3H), 3,02 (с, 3H), 2,45 (с, 1,5 H), 2,43 (с, 1,5H), 1,70-1,57 (м, 1H), 1,34-1,27 (м, 1H), 0,94 (с, 1,5H), 0,75 (с, 1,5H), 0,54 (с, 6H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 174,6, 174,4, 171,8, 171,4, 155,7, 150,5, 150,4, 144,5, 144,4, 133,5, 132,6, 130,9, 130,6, 130,0, 129,9, 128,0, 127,9, 122,2, 122,0, 71,2, 70,9, 53,3, 52,2, 47,3, 47,1, 43,0, 42,7, 38,1, 37,9, 36,6, 36,4, 27,0, 26,8, 23,3, 23,0.

Пример 178

Синтез N-(2,5-дихлортиофен-3-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 86 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ 8,10 (д, 1H), 7,25 (д, 2H), 7,20 (с, 1H), 7,0 (д, 2H), 4,65 (м, 1H), 4,35 (м, 1H), 3,55-3,35 (м, 2H), 3,30-3,20 (м, 2H), 3,15-3,00 (м, 4H), 2,95 (с, 3H), 2,05-1,80 (м, 2H), 1,80-1,65 (м, 2H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ 174,2, 173,9, 156,9, 151,9, 135,9, 135,5, 132,3, 131,6, 128,9, 128,6, 122,9, 63,1, 54,8, 54,7, 50,3, 37,4, 36,8, 36,7, 32,1, 25,5.

Пример 179

Синтез N-(4-метоксибензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 180 с использованием процедуры, описанной в способе 7.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ 7,78 (д, 2H), 7,27 (д, 2H), 7,09 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 4,71-4,67 (м, 1H), 4,10-4,06 (м, 1H), 3,88 (с, 3H), 3,41-3,31 (м, 1H), 3,28-3,07 (м, 6H), 2,97 (с, 3H), 1,81-1,50 (м, 4H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ 168,3, 168,2, 159,2, 150,9, 145,9, 129,5, 125,6, 125,3, 123,5, 116,9, 109,6, 57,2, 50,2, 48,7, 44,6, 31,4, 30,8, 30,6, 25,7, 19,3.

Пример 180

Синтез изопропилового эфира N-(4-метоксибензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали с использованием процедуры, описанной в примере 2, с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,76 (д, 2H), 7,34 (д, 1H), 7,14 (д, 2H), 7,03-6,97 (м, 4H), 5,08-5,04 (м, 1H), 4,77 (м, 1H), 4,05-4,03 (м, 1H), 3,86 (с, 3H), 3,37-3,34 (м, 1H), 3,26-3,19 (м, 1H), 3,10-3,01 (м, 4H), 2,98 (с, 3H), 2,02 (м, 1H), 1,56-1,46 (м, 3H), 1,25 (д, 6H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,8, 170,3, 163,4, 154,8, 150,5, 132,9, 130,1, 129,9, 127,6, 121,6, 114,3, 69,4, 62,1, 55,4, 53,2, 49,5, 37,1, 36,5, 36,2, 29,7, 24,0, 21,5, 21,4.

Пример 181

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1-оксотiomорфолин-3-карбонил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 182 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ 7,90 (м, 1H), 7,78 (м, 2H), 7,40 (м, 2H), 7,26 (м, 2H), 7,03 (м, 2H), 5,14 (м, 1H), 4,64 (м, 2H), 3,81 (м, 1H), 3,71 (м, 2H), 3,19 (м, 1H), 3,14 (м, 3H), 3,02 (м, 4H), 2,84 (м, 1H), 2,60 (м, 1H), 2,42 (м, 4H), 2,21 (м, 1H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ 174,22, 173,93, 169,59, 156,88, 152,08, 152,05, 146,44, 146,26, 137,75, 137,63, 135,61, 134,96, 131,79, 131,64, 131,55, 131,39, 128,75, 128,66, 123,35, 123,06, 57,03, 54,88, 54,66, 51,64, 42,69, 42,51, 40,34, 37,12, 36,83, 36,66, 32,76, 21,51.

Пример 182

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1-оксотiomорфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 49. Окисление группы тиоморфолина до группы 1-оксотиоморфолин проводили по Larsson and Carlson (Acta Chemica Scan. 1994, 48, 517-525).

5 Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,72 (м, 2H), 7,69 (м, 2H), 7,31 (м, 2H), 7,11 (м, 2H), 7,07 (м, 2H), 6,96 (м, 2H), 4,79 (м, 1H), 4,54 (м, 1H), 3,80 (м, 4H), 3,04 (4H), 2,92 (м, 3H), 2,64 (м, 1H), 2,43 (м, 4H), 1,44 (с, 3H), 1,36 (с, 6H).

10 ^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 169,8, 166,5, 166,3 154,6, 150,5, 150,4, 144,9, 144,4, 135,7, 135,3, 132,8, 130,5, 130,1, 29,9, 127,4, 126,9, 122,1, 121,4, 82,6, 82,2, 55,6, 53,9, 53,1, 50,6, 48,1, 47,8, 41,7, 40,5, 38,3, 36,4, 36,1, 31,1, 27,5, 21,2.

Пример 183

15 **Синтез изопропилового эфира N-(3,4-дифторбензолсульфонил)-L-пролил-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина**

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2 с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

20 ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,72-7,60 (м, 2H), 7,87-7,37 (м, 1H), 7,13-7,11 (м, 3H), 7,01 (д, 2H), 5,08-5,04 (м, 1H), 4,81-4,74 (м, 1H), 4,09-4,06 (м, 1H), 3,39-3,35 (м, 1H), 3,26-3,19 (м, 1H), 3,12-2,97 (м, 8H), 2,06-2,03 (м, 1H), 1,66-1,57 (м, 3H), 1,26 (д, 6H).

25 ^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,50, 170,40, 154,90, 153,60, 150,70, 150,30, 133,30, 132,90, 130,10, 125,00, 121,80, 121,80, 118,50, 112,80, 69,60, 62,20, 53,20, 49,60, 37,10, 36,60, 36,30, 30,10, 24,20, 21,59, 21,56.

Пример 184

30 **Синтез N-(3,4-дифторбензолсульфонил)-L-пролил-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина**

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 183 с использованием процедуры, описанной в способе 7.

Данные ЯМР были следующими:

35 ^1H ЯМР (CD_3OD): δ 8,10 (д, 1H), 7,84-7,77 (м, 1H), 7,69-7,65 (м, 1H), 7,53-7,45 (м, 1H), 7,28 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 4,72-4,68 (м, 1H), 4,19-4,16 (м, 1H), 3,43-3,39 (м, 1H), 3,31-3,21 (м, 2H), 3,13-3,05 (м, 4H), 2,97 (с, 3H), 1,86-1,61 (м, 4H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ 174,2, 174,1, 164,7, 156,9, 154,9, 152,0, 151,6, 135,8, 135,6, 131,6, 129,7, 122,9, 119,7, 118,8, 63,1, 54,7, 50,5, 37,4, 36,8, 36,6, 31,9, 25,5.

40 Пример 185

Синтез трет-бутилового эфира N-(3,4-дифторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали с использованием процедуры, описанной в примере 92, с заменой подходящих исходных материалов.

45 Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,71 (м, 2H), 7,33 (м, 1H), 7,07 (д, 2H), 6,91 (д, 2H), 6,36 (д, 1H), 4,95 (м, 1H), 4,61 (м, 1H), 4,03 (м, 2H), 3,16 (м, 2H), 3,13 (м, 4H), 3,07 (м, 1H), 2,93 (с, 9H), 1,43 (с, 9H).

50 ^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,07, 169,45, 164,42, 155,06, 155,44, 154,81, 152,21, 152,17, 150,58, 148,81, 148,64, 134,90, 134,85, 132,41, 130,29, 124,82, 124,71, 124,66, 121,97, 119,07, 118,76, 117,52, 117,23, 82,92, 55,98, 53,20, 50,10, 49,40, 41,76, 36,41, 36,16, 35,99, 27,64.

Пример 186

Синтез N-(3,4-дифторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 185 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ 6,22 (м, 1H), 6,03 (м, 1H), 5,84 (м, 1H), 5,58 (м, 2H), 5,38 (м, 2H), 3,33 (м, 1H), 3,01 (м, 1H), 2,57 (м, 1H), 2,14 (м, 1H), 1,91 (м, 1H), 1,66 (м, 3H), 1,44 (с, 3H), 1,35 (м, 3H), 1,32 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ 173,97, 167,89, 156,94, 153,53, 152,07, 150,00, 137,48, 135,17, 131,63, 126,54, 126,43, 123,20, 120,21, 119,96, 118,84, 118,57, 57,25, 54,82, 51,29, 49,86, 43,29, 37,21, 36,85, 36,67.

Пример 187

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали с использованием процедуры, описанной в примере 82, с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,64 (д, 2H), 7,33 (д, 2H), 7,25 (д, 2H), 7,08-6,97 (м, 3H), 4,76 (м, 1H), 4,57 (д, 1H), 4,38 (д, 1H), 3,83 (с, 1H), 3,95-3,78 (м, 4H), 3,09 (м, 2H), 2,69 (м, 4H), 2,43 (с, 3H), 1,44 (с, 9H), 1,16 (с, 3H), 1,08 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 169,78, 168,36, 153,53, 150,28, 144,84, 133,53, 132,76, 130,51, 130,03, 128,19, 121,58, 82,69, 73,42, 54,56, 53,78, 50,46, 47,05, 46,40, 37,80, 29,06, 27,76, 27,37, 27,04, 23,86, 21,52.

Пример 188

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 187 с использованием процедур, описанных в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,77 (д, 2H), 7,37 (д, 2H), 7,28 (д, 2H), 7,22 (д, 1H), 7,03 (д, 2H), 5,35 (ушир.с, 1H), 4,91 (м, 1H), 4,60 (д, 1H), 4,39 (д, 1H), 3,91 (с, 1H), 3,96-3,28 (м, 4H), 3,30-3,07 (м, 2H), 2,67 (м, 4H), 2,45 (с, 3H), 1,10 (с, 3H), 1,08 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 173,09, 169,45, 153,81, 150,28, 145,02, 133,42, 132,61, 130,60, 130,12, 128,13, 121,86, 73,28, 54,51, 53,31, 50,48, 47,08, 46,47, 36,97, 28,97, 27,35, 27,03, 23,70, 21,52.

Пример 189

Синтез этилового эфира N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 117, с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,89 (с, 1H), 7,81 (с, 1H), 7,19 (д, 2H), 7,00 (м, 3H), 4,87 (м, 1H), 4,54 (д, 1H), 4,42 (д, 1H), 4,18 (кв., 2H), 3,95 (с, 3H), 3,81 (с, 1H), 3,11 (м, 2H), 3,08 (с, 3H), 2,99 (с, 3H), 1,30 (с, 3H), 1,25 (т, 3H), 1,16 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,98, 168,34, 154,91, 150,71, 139,62, 132,88, 130,28, 121,85, 117,71, 73,77, 61,66, 54,80, 53,16, 50,53, 39,64, 37,63, 36,60, 36,36, 28,98, 24,00, 13,92.

Пример 190

Синтез N-(пиридин-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 191 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 9,09 (с, 1H), 8,82 (м, 1H), 8,20 (м, 1H), 7,56 (м, 1H), 7,23 (д, 2H), 7,07 (д, 1H), 5,58 (ушир.с, 1H), 4,83 (м, 1H), 4,56 (м, 2H), 4,07 (с, 1H), 3,14 (м, 2H), 3,07 (с, 3H), 2,99 (с, 3H), 1,26 (с, 3H), 1,18 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 173,04, 168,29, 155,16, 153,39, 150,60, 147,96, 136,43, 133,91, 133,06, 130,66, 130,50, 124,65, 122,14, 121,91, 73,43, 54,58, 53,21, 50,38, 37,18, 36,64, 36,38, 29,25, 23,64.

Пример 191

Синтез трет-бутилового эфира N-(пиридин-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 56, и с заменой подходящих исходных материалов.

Физические данные были следующими:

MS: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 593

Анализ для $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_7\text{S}_2 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$: Рассчитано: C, 53,88; H, 6,07; N, 9,27.

Найдено: C, 53,98; H, 6,07; N, 9,27.

Пример 192

Синтез изопропилового эфира N-(пиридин-2-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Замена 2-пиридинсульфонилхлорида (см. Corey et al., J. Org. Chem. 1989, 54, 389-393) и действия по способу получения, описанному в примере 56, приводили к получению указанного в заголовке соединения.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 8,59 (д, 1H), 8,00-7,89 (м, 2H), 7,78 (д, 1H), 7,53-7,49 (м, 1H), 7,16 (д, 2H), 7,01 (д, 2H), 5,05-4,99 (м, 1H), 4,85-4,78 (м, 1H), 4,60-4,57 (м, 1H), 3,44-3,35 (м, 2H), 3,25-3,19 (м, 1H), 3,07 (с, 3H), 3,06-3,01 (м, 1H), 2,97 (с, 3H), 2,19-2,13 (м, 1H), 1,88-1,71 (м, 2H), 1,55 (м, 1H), 1,22-1,19 (м, 6H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,90, 170,30, 156,20, 154,80, 150,50, 150,00, 138,00, 133,10, 130,10, 127,00, 123,40, 121,60, 69,20, 62,80, 53,30, 49,60, 37,20, 36,40, 36,20, 29,80, 24,30, 21,42, 21,40.

Пример 193

Синтез N-(пиридин-2-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 192 с использованием процедуры, описанной в способе 7.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ 8,67 (д, 1H), 8,27 (д, 1H), 8,07-8,02 (м, 1H), 7,96-7,91 (м, 1H), 7,65-7,61 (м, 1H), 7,27 (д, 2H), 7,01 (д, 2H), 4,72-4,69 (м, 1H), 4,58-4,54 (м, 1H), 3,44-3,37 (м, 2H), 3,28-3,24 (м, 1H), 3,13-3,05 (м, 4H), 2,96 (с, 3H), 1,94-1,89 (м, 2H), 1,70-1,63 (м, 2H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ 174,5, 174,4, 174,2, 157,7, 156,9, 151,9, 139,9, 135,6, 131,6, 128,8, 124,7, 122,9, 64,1, 54,8, 54,7, 50,9, 37,5, 36,8, 36,7, 31,9, 25,6.

Пример 194

Синтез изопропилового эфира N-(пиридин-2-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 192, с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 8,64-8,62 (м, 1H), 7,98-7,92 (м, 2H), 7,56-7,51 (м, 1H), 7,28-7,21 (м, 3H), 7,01 (д, 2H), 5,01-4,97 (м, 1H), 4,88-4,85 (м, 2H), 4,80 (д, 1H), 4,63 (д, 1H), 4,19 (с, 1H), 3,11-3,07 (м, 5H), 2,98 (с, 3H), 1,28 (с, 3H), 1,26-1,18 (м, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,3, 168,4, 155,5, 154,9, 150,7, 150,4, 138,2, 133,0, 130,4, 127,5, 123,5, 121,8, 73,5, 69,5, 54,7, 53,3, 51,0, 37,6, 36,6, 36,4, 29,3, 23,9, 21,52, 21,50.

Пример 195

Синтез N-(пиридин-2-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 194 с использованием процедуры, описанной в способе 7.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ 8,70-8,69 (м, 1H), 8,07-8,01 (м, 1H), 7,92-7,89 (м, 1H), 7,67-7,63 (м, 1H), 4,77-4,67 (м, 3H), 4,30 (с, 1H), 3,23-3,06 (м, 5H), 2,97 (с, 3H), 1,27-1,18 (м, 6H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ 174,1, 171,2, 157,0, 151,9, 151,6, 139,9, 135,7, 131,8, 131,7, 129,0, 124,6, 122,9, 74,3, 61,6, 55,7, 54,9, 51,9, 37,6, 36,8, 36,7, 30,1, 24,9.

Пример 196

Синтез изопропилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-(тиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 49 с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,67 (д, 2H), 7,30 (д, 2H), 7,12 (д, 2H), 6,97 (д, 2H), 6,86 (д, 1H), 5,05 (м, 1H), 4,70 (м, 2H), 3,90 (м, 1H), 3,31 (м, 1H), 3,06 (м, 4H), 2,97 (с, 3H), 2,68 (м, 1H), 2,50 (м, 1H), 2,44 (с, 3H), 2,29 (м, 1H), 2,13 (м, 1H), 1,24 (с, 3H), 1,22 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,35, 167,55, 155,00, 150,61, 144,20, 136,80, 132,51, 130,24, 130,14, 127,20, 121,82, 69,48, 55,14, 53,55, 43,26, 36,43, 36,16, 25,21, 24,56, 21,48, 21,31.

Пример 197

Синтез изопропилового эфира N(3-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2, с заменой подходящего исходного материала.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,68 (д, 1H), 7,61-7,52 (м, 2H), 7,36 (дт, 1H), 7,21 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 6,94 (д, 1H), 5,05 (септ., 1H), 4,85 (кв., 1H), 4,59 (д, 1H), 4,41 (д, 1H), 3,88 (с, 1H), 3,17-3,03 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,25 (д, 3H), 1,23 (д, 3H), 1,16 (с, 3H), 1,12 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,3, 168,1, 162,6, 154,9, 150,7, 137,9, 132,8, 131,3, 130,4, 123,9, 121,8, 121,0, 115,4, 73,5, 69,6, 54,5, 53,2, 50,5, 37,6, 36,6, 36,3, 29,0, 23,7, 21,6, 21,5.

Пример 198

Синтез изопропилового эфира N-(2-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2, с заменой подходящего исходного материала.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,92-7,87 (м, 1H), 7,67-7,59 (м, 1H), 7,33-7,24 (м, 2H), 7,21 (д, 2H), 7,03 (д, 2H), 6,93 (д, 1H), 5,03 (септ., 1H), 4,83 (кв., 1H), 4,67 (д, 1H), 4,63 (д, 1H), 4,03 (с, 1H), 3,16-3,03 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,31 (с, 3H), 1,24 (д, 3H), 1,22 (д, 3H), 1,19 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 168,1, 159,2, 154,9, 150,7, 136,0, 132,9, 132,0, 130,3, 124,6, 121,8, 117,6, 73,3, 69,6, 54,8, 53,2, 50,3, 37,6, 36,6, 36,3, 29,1, 23,9, 21,6, 21,5.

Пример 199

Синтез изопропилового эфира N-(3,4-дифторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2, с заменой подходящего исходного материала.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,77-7,71 (м, 1H), 7,70-7,65 (м, 1H), 7,40-7,31 (м, 1H), 7,20 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 6,87 (д, 1H), 5,05 (септ., 1H), 4,88-4,82 (м, 1H), 4,55 (д, 1H), 4,44 (д, 1H), 3,91 (с, 1H), 3,17-3,03 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,25 (д, 3H), 1,23 (д, 3H), 1,23 (с, 3H), 1,18 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,4, 167,9, 154,9, 150,7, 133,1, 132,7, 130,4, 124,4, 121,8, 118,5, 118,0, 73,6, 69,7, 54,6, 53,1, 50,5, 37,6, 36,6, 36,3, 29,2, 23,7, 21,6, 21,5.

Пример 200

Синтез изопропилового эфира N-(3,5-дифторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2, с заменой подходящего исходного материала.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,77-7,71 (м, 1H), 7,70-7,65 (м, 1H), 7,40-7,31 (м, 1H), 7,20 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 6,87 (д, 1H), 5,05 (септ., 1H), 4,88-4,82 (м, 1H), 4,55 (д, 1H), 4,44 (д, 1H), 3,91 (с, 1H), 3,17-3,03 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,25 (д, 3H), 1,23 (д, 3H), 1,23 (с, 3H), 1,18 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,4, 167,9, 154,9, 150,7, 133,1, 132,7, 130,4, 124,4, 121,8, 118,5, 118,0, 73,6, 69,7, 54,6, 53,1, 50,5, 37,6, 36,6, 36,3, 29,2, 23,7, 21,6, 21,5.

Пример 201

Синтез изопропилового эфира N-(2,4-дифторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2 с заменой подходящего исходного материала.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,94-7,86 (м, 1H), 7,20 (д, 2H), 7,03 (д, 2H), 7,02-6,95 (м, 2H), 6,88 (д, 1H), 5,03 (септ., 1H), 4,82 (кв., 1H), 4,67 (д, 1H), 4,61 (д, 1H), 4,01 (с, 1H), 3,16-3,03 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,36 (с, 3H), 1,23 (д, 3H), 1,21 (д, 3H), 1,20 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 167,9, 154,9, 150,7, 133,7, 132,8, 130,3, 121,8, 112,1, 106,1, 73,4, 69,6, 54,9, 53,2, 50,4, 37,6, 36,6, 36,3, 29,1, 23,9, 21,6, 21,5.

Пример 202

Синтез изопропилового эфира N-(4-хлорбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2, с заменой подходящего исходного материала.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,82 (д, 2H), 7,53 (д, 2H), 7,21 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 6,93 (д, 1H), 5,05 (септ., 1H), 4,89-4,82 (м, 1H), 4,55 (д, 1H), 4,41 (д, 1H), 3,87 (с, 1H), 3,17-3,03 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,25 (д, 3H), 1,23 (д, 3H), 1,16 (с, 6H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 168,1, 154,9, 150,7, 140,4, 134,5, 132,8, 130,4, 129,7, 129,5, 121,8, 73,5, 69,6, 54,6, 53,1, 50,5, 37,6, 36,6, 36,3, 29,1, 23,8, 21,6, 21,0.

Пример 203

Синтез изопропилового эфира N-(3-хлорбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2, с заменой подходящего исходного материала.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,88 (т, 1H), 7,78-7,75 (м, 1H), 7,64-7,61 (м, 1H), 7,51 (т, 1H), 7,21 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 6,92 (д, 1H), 5,05 (септ., 1H), 4,89-4,82 (м, 1H), 4,58 (д, 1H), 4,40 (д, 1H), 3,88 (с, 1H), 3,18-3,03 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,25 (д, 3H), 1,23 (д, 3H), 1,16 (с, 3H), 1,14 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 168,0, 154,9, 150,7, 137,7, 135,7, 133,9, 132,8, 130,7, 130,3, 127,9, 126,2, 121,8, 73,6, 69,96, 54,5, 53,2, 50,5, 37,6, 36,6, 36,3, 29,1, 23,7, 21,6, 21,5.

Пример 204

Синтез изопропилового эфира N-(2-хлорбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2, с заменой подходящего исходного материала.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 8,08 (дд, 1H), 7,54-7,52 (м, 2H), 7,45-7,39 (м, 1H), 7,19 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 6,79 (д, 1H), 5,00 (септ., 1H), 4,78 (д, 1H), 4,75-4,68 (м, 1H), 4,69 (д, 1H), 4,19 (с, 1H), 3,09 (с, 3H), 3,06 (д, 2H), 3,00 (с, 3H), 1,38 (с, 3H), 1,23 (с, 3H), 1,23 (д, 3H), 1,19 (д, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 168,1, 154,9, 150,7, 135,6, 134,4, 132,8, 132,7, 132,4, 130,3, 127,3, 121,8, 73,3, 69,5, 54,7, 53,3, 50,4, 37,6, 36,6, 36,3, 29,6, 23,7, 21,6, 21,5.

Пример 205

Синтез изопропилового эфира N-(3,4-дихлорбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2, с заменой подходящего исходного материала.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,97 (д, 1H), 7,70 (дд, 1H), 7,63 (д, 1H), 7,20 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 6,86 (д, 1H), 5,05 (септ., 1H), 4,89-4,82 (м, 1H), 4,55 (д, 1H), 4,43 (д, 1H), 3,92 (с, 1H), 3,17-3,03 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,26 (д, 3H), 1,22 (д, 3H), 1,23 (с, 3H), 1,18 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 167,9, 154,9, 150,7, 138,7, 136,1, 134,2, 132,7, 131,4, 130,3, 129,8, 127,1, 121,8, 73,6, 69,7, 54,6, 53,1, 50,5, 37,5, 36,6, 36,3, 29,2, 23,7, 21,6, 21,5.

Пример 206

Синтез изопропилового эфира N-(3,5-дихлорбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2, с заменой подходящего исходного материала.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,76 (д, 2H), 7,62 (т, 1H), 7,20 (д, 2H), 7,03 (д, 2H), 6,85 (д, 1H), 5,05 (септ., 1H), 4,89-4,82 (м, 1H), 4,57 (д, 1H), 4,42 (д, 1H), 3,92 (с, 1H), 3,18-3,04 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,25 (д, 3H), 1,23 (д, 3H), 1,27 (с, 3H), 1,18 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 167,8, 154,9, 150,7, 139,1, 136,5, 133,7, 132,7, 130,3, 126,2, 121,8, 73,7, 69,7, 54,6, 53,1, 50,5, 37,5, 36,6, 36,3, 29,2, 23,7, 21,6, 21,5.

Пример 207

Синтез трет-бутилового эфира N-(3-хлорбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали с использованием процедуры, описанной в примере 92, с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,85 (м, 1H), 7,76 (м, 1H), 7,63 (м, 1H), 7,53 (м, 1H), 7,06 (д, 2H), 6,96 (д, 2H), 6,37 (м, 1H), 5,01 (м, 1H), 4,62 (м, 1H), 4,01 (м, 2H), 3,26 (м, 1H), 3,06 (с, 3H), 2,96 (м, 7H), 1,49 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,0, 164,5, 154,9, 150,6, 140,0, 136,1, 134,2, 132,5, 131,3, 130,2, 127,4, 125,5, 122,2, 82,8, 56,0, 53,3, 49,9, 49,2, 41,7, 36,5, 36,3, 36,0, 27,8.

Пример 208

Синтез трет-бутилового эфира N-(3,4-дихлорбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали с использованием процедуры, описанной в примере 92, с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,91 (м, 1H), 7,66 (м, 2H), 7,06 (д, 2H), 6,94 (д, 2H), 6,33 (м, 1H), 4,98 (м, 1H), 4,60 (м, 1H), 3,49 (м, 3H), 3,12 (м, 2H), 3,04 (с, 3H), 3,00 (м, 2H), 2,94 (с, 3H), 1,44 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,0, 164,3, 154,8, 150,6, 138,8, 137,9, 134,3, 132,4, 132,0, 130,3, 129,2, 126,4, 122,1, 83,0, 55,5, 53,1, 50,2, 49,5, 41,8, 36,5, 36,2, 36,0, 27,7.

Пример 209

Синтез изопропилового эфира N-(4-метоксибензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2, с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,81 (д, 2H), 7,22 (д, 2H), 7,06-6,99 (м, 5H), 5,04 (септ., 1H), 4,89-4,82 (м, 1H), 4,56 (д, 1H), 4,39 (д), 3,88 (с, 3H), 3,83 (с, 1H), 3,17-3,03 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,25 (д, 3H), 1,22 (д, 3H), 1,15 (с, 3H), 1,12 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 168,5, 163,8, 154,9, 150,7, 132,9, 130,4, 130,3, 127,4, 121,7, 114,5, 73,5, 69,5, 55,6, 54,6, 53,2, 50,5, 37,7, 36,6, 36,3, 29,1, 23,9, 21,6, 21,5.

Пример 210

Синтез изопропилового эфира N-(3-метоксибензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2, с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,47-7,45 (м, 2H), 7,37-7,36 (м, 1H), 7,21 (д, 2H), 7,19-7,15 (м, 1H), 7,04-6,98 (м, 3H), 5,04 (септ., 1H), 4,88-4,82 (м, 1H), 4,58 (д, 1H), 4,40 (д, 1H), 3,89 (с, 1H), 3,87 (с, 3H), 3,17-3,03 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,25 (д, 3H), 1,23 (д, 3H), 1,15 (с, 3H), 1,08 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 168,3, 160,2, 154,9, 150,7, 136,9, 132,9, 130,5, 130,4, 121,7, 120,2, 120,0, 112,6, 73,4, 69,6, 55,7, 54,5, 53,2, 50,4, 37,7, 36,6, 36,3, 29,1, 23,7, 21,6, 21,5.

Пример 211

Синтез изопропилового эфира N-(2-метоксибензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2, с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,92 (дд, 1H), 7,54 (дд, 1H), 7,21 (д, 2H), 7,07-7,00 (м, 4H), 6,96 (д, 1H), 5,01 (септ., 1H), 4,83-4,76 (м, 1H), 4,73 (д, 1H), 4,61 (д, 1H), 4,17 (с, 1H), 3,93 (с, 3H), 3,14-3,03 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,36 (с, 3H), 1,22 (д, 3H), 1,21 (с, 3H), 1,19 (д, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 168,7, 157,7, 154,9, 150,6, 135,4, 133,0, 132,5, 130,3, 125,2, 121,7, 120,5, 112,6, 73,3, 69,5, 56,0, 54,8, 53,3, 50,4, 37,7, 36,6, 36,3, 29,2, 24,1, 21,6, 21,5.

Пример 212

Синтез изопропилового эфира N-(3,4-диметоксибензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2, с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,50 (дд, 1H), 7,31 (д, 1H), 7,21 (д, 2H), 7,05-7,01 (м, 3H), 6,97 (д, 1H), 5,04 (септ., 1H), 4,89-4,82 (м, 1H), 4,56 (д, 1H), 4,40 (д, 1H), 3,95 (с, 3H), 3,94 (с, 3H), 3,89 (с, 1H), 3,17-3,03 (м, 2H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,25 (д, 3H), 1,22 (д, 3H), 1,16 (с, 3H), 1,14 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,3, 168,5, 154,9, 153,5, 150,7, 149,4, 132,9, 130,4, 127,6, 122,3, 121,7, 110,6, 110,3, 73,5, 69,6, 56,3, 56,1, 54,6, 53,2, 50,5, 37,7, 36,6, 36,3, 29,2, 23,8, 21,6, 21,5.

Пример 213

Синтез изопропилового эфира N-(2,4-дифторбензолсульфонил)-L-(тиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 49, с заменой подходящего исходного материала.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,89 (м, 1H), 7,16 (м, 2H), 6,97 (м, 4H), 6,77 (д, 1H), 4,72 (м, 1H), 4,60 (м, 1H), 3,92 (м, 1H), 3,29 (м, 1H), 3,09 (м, 5H), 2,93 (с, 3H), 2,70 (м, 2H), 2,55 (м, 1H), 2,10 (м, 1H), 1,42 (с, 9H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,0, 168,0, 167,7, 137,1, 164,4, 164,3, 161,1, 160,9, 157,7, 157,5, 154,8, 150,5, 132,7, 132,6, 132,4, 130,4, 124,0, 123,8, 121,7, 112,2, 111,9, 106,5, 106,1, 105,8, 82,6, 55,4, 53,9, 43,5, 36,4, 36,2, 27,7, 26,8, 25,5.

Пример 214

Синтез N-(3,4-дихлорбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 208 с

использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ 8,04 (м, 1H), 7,68 (м, 2H), 7,52 (м, 1H), 7,21 (д, 2H), 7,02 (д, 2H), 5,22 (м, 1H), 4,63 (м, 1H), 4,22 (м, 1H), 3,71 (м, 1H), 3,57 (м, 1H), 3,30 (м, 3H), 3,08 (с, 3H), 3,02 (м, 3H), 2,97 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ 174,0, 168,0, 156,9, 152,1, 140,7, 139,3, 135,2, 133,2, 131,6, 130,7, 128,3, 123,2, 57,2, 54,9, 54,6, 51,7, 51,4, 43,3, 37,3, 36,9, 36,7.

Пример 215

Синтез N-(3-хлорбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 207 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ 7,94 (м, 1H), 7,77 (м, 2H), 7,58 (м, 1H), 7,46 (д, 1H), 7,19 (д, 2H), 7,07 (д, 2H), 5,23 (м, 1H), 4,63 (м, 1H), 4,20 (м, 1H), 3,71 (м, 1H), 3,43 (м, 1H), 3,26 (м, 4H), 3,17 (с, 3H), 2,95 (м, 5H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ 168,0, 152,1, 142,5, 136,8, 135,0, 132,7, 131,6, 128,6, 127,1, 123,3, 57,2, 54,9, 51,4, 51,2, 43,2, 37,2, 36,8, 36,7.

Пример 216

Синтез трет-бутилового эфира N-(3-хлор-4-фторбензолсульфонил)-L-(1,1-диоксотиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали с использованием процедуры, описанной в примере 92 с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ 7,93 (д), 7,90 (м), 7,29 (с), 7,27 (д), 7,04 (д), 4,60 (м), 4,46 (д), 3,90-3,40 (м), 3,10 (с), 2,98 (с), 1,43 (с).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ 171,5, 166,5, 156,9, 151,9, 135,2, 131,3, 129,9, 127,9, 127,8, 123,1, 117,8, 117,5, 101,4, 83,7, 57,9, 56,0, 42,9, 37,3, 36,9, 36,7, 28,1.

Пример 217

Синтез трет-бутилового эфира N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(тиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедурам, описанным для получения в примерах 49 и 117.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,77 (с), 7,63 (с), 7,08 (д), 6,93 (д), 6,76 (д), 6,71 (д), 5,50 (д), 5,22 (с), 4,82 (т), 4,61 (кв.), 3,83 (с), 3,25 (дт), 3,04 (м), 2,90 (с), 2,05 (дд), 1,34 (с).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 169,3, 166,8, 154,7, 150,4, 138,4, 132,4, 132,2, 130,2, 121,4, 118,3, 105,4, 82,5, 55,2, 53,6, 53,3, 39,5, 38,3, 36,6, 36,3, 36,1, 27,6, 23,5.

Пример 218

Синтез трет-бутилового эфира N-(3,4-дифторбензолсульфонил)-L-(тиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 49 с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ 7,88 (м, 1H), 7,70 (м, 1H), 7,57 (м, 1H), 7,23 (д, 2H), 7,03 (д, 2H), 6,83 (д, 1H), 5,63 (дд, 1H), 5,07 (т, 1H), 4,58 (м, 1H), 3,22-3,00 (м, 3H), 3,09 (с, 3H), 2,98 (с, 3H), 2,07 (дд, 1H), 1,44 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ 171,3, 169,3, 156,9, 152,0, 135,0, 131,6, 126,5, 122,9, 120,2, 119,9, 119,4, 118,7, 118,4, 106,4, 83,6, 56,5, 55,6, 37,1, 36,8, 36,6, 28,1, 25,2.

Пример 219

Синтез изопропилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиопролил-L-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали с использованием процедуры, описанной в примере 82, с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 9,09 (с, 1H), 8,88 (м, 1H), 8,16 (м, 1H), 7,50 (м, 1H), 7,22 (д, 2H), 7,01 (д, 2H), 6,91 (д, 1H), 5,05 (м, 1H), 4,85 (м, 1H), 4,60 (д, 1H), 4,46 (д, 1H), 3,89 (с, 1H), 3,93-3,83 (м, 4H), 3,11 (м, 2H), 2,69 (м, 4H), 1,29-1,16 (м, 12H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,3, 167,8, 154,3, 153,5, 150,4, 148,7, 135,8, 133,1, 132,9, 130,4, 124,0, 121,8, 73,7, 69,7, 54,7, 53,2, 50,5, 47,1, 46,4, 37,6, 29,1, 27,4, 27,0, 23,8, 21,6, 21,5.

Пример 220

Синтез N-(3,4-дифторбензолсульфонил)-L-(тиаморфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 218 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,89 (с, 1H), 7,57-7,46 (м, 2H), 7,35 (д, 1H), 7,32-7,22 (м, 1H), 7,09 (д, 2H), 6,91 (д, 2H), 6,64 (д, 1H), 5,50 (д, 1H), 4,89 (с, 1H), 4,88-4,79 (м, 1H), 3,17-3,02 (м, 3H), 3,02 (с, 3H), 2,93 (с, 3H), 1,75 (дд, 1H):

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 173,6, 167,7, 155,5, 152,0, 151,8, 150,1, 148,4, 132,8, 130,4, 124,6, 121,5, 118,7, 118,5, 117,5, 117,3, 117,1, 106,9, 54,9, 53,0, 36,4, 36,2, 36,0, 23,4.

Пример 221

Синтез изопропилового эфира N-(2,5-дихлортиофен-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2 с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,18 (д, 2H), 7,11 (с, 1H), 7,00 (д, 2H), 6,87 (д, 1H), 5,03-4,99 (м, 1H), 4,84-4,81 (м, 1H), 4,65-4,56 (м, 2H), 4,07 (с, 1H), 3,10-3,01 (м, 5H), 2,98 (с, 3H), 1,37 (с, 3H), 1,22 (с, 3H), 1,21 (с, 3H), 1,18 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,3, 167,7, 154,9, 150,7, 132,9, 132,8, 131,9, 130,3, 128,0, 127,0, 121,8, 73,4, 69,6, 54,8, 53,2, 50,5, 37,5, 36,6, 36,3, 29,1, 23,8, 21,6, 21,5.

Пример 222

Синтез изопропилового эфира N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали с использованием процедуры, описанной в примере 82, с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,89 (с, 1H), 7,80 (с, 1H), 7,21 (д, 2H), 7,01 (м, 3H), 5,03 (м, 1H), 4,83 (м, 1H), 4,54 (д, 1H), 4,40 (д, 1H), 3,95 (с, 3H), 3,86 (м, 4H), 3,80 (с, 1H), 3,09 (м, 2H), 2,68 (м, 4H), 1,28 (с, 3H), 1,22 (м, 6H), 1,16 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,4, 168,3, 153,5, 150,4, 139,3, 133,3, 132,9, 130,4, 121,7, 117,6, 73,8, 69,7, 54,8, 53,2, 50,5, 47,1, 46,4, 39,6, 37,6, 29,0, 27,4, 27,1, 24,0, 21,6, 21,5.

Пример 223

Синтез изопропилового эфира N-(8-хинолинсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2, с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 9,01-8,99 (м, 1H), 8,56-8,53 (м, 1H), 8,27-8,23 (м, 1H), 8,07-8,04 (м, 1H), 7,66-7,61 (м, 2H), 7,55-7,51 (м, 1H), 7,17 (д, 2H), 7,01 (д, 2H), 5,27-5,23 (м, 1H), 5,07-4,98 (м, 1H), 4,84-4,76 (м, 1H), 3,34-3,20 (м, 3H), 3,06-2,98 (м, 4H), 2,97 (с, 3H), 2,15-2,09 (м, 1H), 1,64-1,51 (м, 3H), 1,23 (д, 6H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 172,0, 170,5; 154,9, 151,5, 150,6, 143,9, 136,8, 135,6, 134,9, 134,1, 133,3, 130,2, 129,2, 125,6, 122,3, 121,7, 69,3, 62,8, 53,5, 48,7, 37,3, 36,5, 36,3, 29,7, 24,3, 21,6, 21,6.

Пример 224

Синтез N-(8-хинолинсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 223 с использованием процедуры, описанной в способе 7.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ 9,03-9,01 (м, 1H), 8,49-8,42 (м, 2H), 8,23-8,20 (м, 1H), 8,09-8,07 (м, 1H), 7,73-7,61 (м, 2H), 7,25 (д, 2H), 7,00 (д, 2H), 5,30-5,27 (м, 1H), 4,73-4,69 (м, 1H), 3,38-3,21 (м, 3H), 3,09-3,02 (м, 4H), 2,95 (с, 3H), 1,86 (м, 1H), 1,78-1,73 (м, 1H), 1,58-1,50 (м, 2H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ 175,3, 174,2, 164,7, 156,9, 152,9, 145,2, 138,5, 136,9, 135,8, 135,6, 131,6, 130,9, 126,9, 123,8, 122,9, 63,9, 54,7, 50,0, 37,5, 36,8, 36,7, 31,6, 25,5.

Пример 225

Синтез изопропилового эфира N-(8-хинолинсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2, с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 9,05-9,03 (м, 1H), 8,53-8,49 (м, 1H), 8,26-8,22 (м, 1H), 8,08-8,05 (м, 1H), 7,65-7,60 (м, 1H), 7,56-7,52 (м, 1H), 7,19 (д, 2H), 7,06 (д, 1H), 7,00 (д, 2H), 5,17 (д, 1H), 4,94 (м, 1H), 7,74-4,78 (м, 2H), 4,66 (с, 1H), 3,08-2,99 (м, 8H), 1,20-1,16 (м, 12H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,2, 168,9, 154,9, 151,5, 150,6, 144,2, 136,7, 134,4, 134,4, 133,1, 130,3, 129,2, 125,5, 122,3, 121,7, 73,2, 69,3, 54,8, 53,3, 50,6, 37,6, 36,6, 36,3, 29,2, 24,1, 21,5, 21,4.

Пример 226

Синтез N-(8-хинолинсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 225 с использованием процедуры, описанной в способе 7.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ 9,06-9,04 (м, 1H), 8,45-8,39 (м, 2H), 8,23-8,14 (м, 1H), 7,72-7,61 (м, 2H), 7,32 (д, 2H), 7,03 (д, 2H), 5,12 (д, 1H), 4,87 (д, 1H), 4,69-4,64 (м, 2H), 3,28-3,02 (м, 5H), 2,98 (с, 2H), 1,18 (с, 3H), 1,08 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ 174,1, 171,8, 157,1, 152,9, 152,0, 145,5, 138,4, 137,3, 135,8, 135,6, 135,1, 131,8, 130,9, 126,8, 123,8, 122,9, 73,7, 55,9, 54,8, 51,7, 37,6, 36,8, 36,7, 30,2, 25,0.

Пример 227

Синтез изопропилового эфира N-(3-сульфонамидо-4-хлор-бензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 8,45 (д, 1H), 7,91 (д, 1H), 7,67 (д, 1H), 7,13 (д, 2H), 7,06 (д, 1H), 7,01 (д, 2H), 5,90 (ушир.с, 2H), 5,06-5,02 (м, 1H), 4,79-4,72 (м, 1H), 4,14-4,10 (м, 1H), 3,42-3,39 (м, 1H), 3,25-3,14 (м, 2H), 3,07 (с, 3H), 3,04-2,97 (м, 1H), 2,96 (с, 3H), 1,98-1,96 (м, 1H), 1,72-1,62 (м, 3H), 1,28-1,25 (м, 6H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,8, 170,7, 155,1, 150,6, 141,4, 136,9, 136,1, 132,9, 132,8, 131,9, 130,3, 128,7, 121,9, 69,8, 62,1, 53,3, 49,6, 36,9, 36,6, 36,4, 30,4, 24,3, 21,6, 21,6.

Пример 228

Синтез изопропилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-(1-оксотiomорфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 182, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,77 (д, 2H), 7,72 (д, 2H), 7,33 (м, 2H), 7,20 (м, 2H), 7,12 (д, 2H), 7,01 (м, 2H), 5,10 (м, 1H), 5,01 (м, 1H), 4,84 (м, 1H), 4,75 (м, 1H), 3,80 (м, 3H), 3,05 (м, 4H), 2,96 (м, 3H), 2,74 (м, 1H), 2,42 (м, 4H), 1,30-1,20 (м, 6H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,6, 170,4, 166,8, 166,7, 154,9, 150,7, 150,6, 145,1, 144,8, 135,8, 135,5, 132,7, 130,6, 130,4, 130,3, 130,0, 127,7, 127,1, 122,4, 121,8, 69,8, 69,4, 55,8, 53,7, 52,9, 50,8, 48,2, 47,9, 42,0, 41,2, 38,4, 36,6, 36,5, 36,3, 31,2, 21,5, 21,5.

Пример 229

Синтез трет-бутилового эфира N-(2,4-дифторбензолсульфонил)-L-(1-оксотiomорфолин-3-карбонил)-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 182, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,91 (м, 1H), 7,30 (м, 2H), 6,97 (м, 4H), 4,71 (м, 1H), 4,55 (м, 1H), 3,90 (м, 2H), 3,77 (м, 1H), 3,11 (м, 4H), 2,85 (м, 3H), 2,80 (м, 1H), 2,60 (м, 2H), 1,46 (с, 9H), 1,39 (с, 9H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,0, 168,0, 167,9, 166,4, 166,2, 164,6, 164,4, 162,7, 161,4, 161,2, 157,9, 157,8, 154,8, 150,6, 150,4, 132,8, 132,5, 132,4, 130,9, 130,4, 130,1, 123,3, 123,1, 122,2, 121,6, 121,1, 122,6, 122,2, 111,9, 106,6, 106,3, 105,9, 82,8, 82,3, 55,8, 54,1, 53,2, 51,6, 49,2, 48,7, 43,1, 42,3, 38,7, 36,5, 36,2, 31,8, 27,7.

Пример 230

Синтез 2,2-диметилпропилового эфира N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Продукт из примера 161 (1 г, 0,72 ммоль) растворяли в неопентиловом спирте (5 мл). Добавляли изопропоксид титана (IV) (260 мг, 0,9 ммоль), и смесь нагревали при 100°C в атмосфере инертного газа в течение 48 ч. Избыток неопентилового спирта удаляли при пониженном давлении, и остаток очищали путем хроматографии на испарительной колонке (силикагель, 1% MeOH в CHCl_3) с получением указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества (1,02 г, 97%).

Физические данные были следующими:

MS(+) ESI[M+H]⁺ 610; [M+NH₄]⁺ 627 (100%).

Анализ для C₂₉H₃₉N₅O₇S: Рассчитано: С, 53,18; Н, 6,45; N, 11,49.

Найдено: С, 53,46; Н, 6,38; N, 11,06.

Пример 231

Синтез 2,2-диметилпропилового эфира N-(пиридин-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Продукт примера 173 подвергали процедуре трансэстерификации, описанной для получения в примере 230. Соединение очищали путем хроматографии на испарительной колонке (силикагель, 1% MeOH в CHCl₃) с последующей перекристаллизацией из этилацетата с получением указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества (720 мг, 47%).

Физические данные были следующими:

Анализ для C₂₈H₃₈N₄O₇S₂: Рассчитано: С, 55,43; Н, 6,31; N, 9,23.

Найдено: С, 55,37; Н, 6,32; N, 9,22.

Пример 232

Синтез циклопропилметилового эфира N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Продукт примера 161 подвергали процедуре трансэстерификации, описанной для получения в примере 230. Указанное в заголовке соединение получали в виде белого твердого вещества после хроматографии на испарительной колонке (силикагель, 1% MeOH в CHCl₃) (860 мг, 70%). Физические данные были следующими:

Анализ для C₂₆H₃₅N₅O₇S₂: Рассчитано: С, 52,6; Н, 5,94; N, 11,8.

Найдено: С, 52,49; Н, 5,93; N, 11,62.

Пример 233

Синтез метилового эфира N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 161, и с заменой подходящих исходных материалов.

Физические данные были следующими:

MS (+) ESI[M+H]⁺ 554; [M+NH₄]⁺ 571 (100%).

Анализ для C₂₃H₃₁N₅O₇S₂·0,2EtOAc: Рассчитано: С, 50,04; Н, 5,75; N, 12,26.

Найдено: С, 50,12; Н, 5,69; N, 12,19.

Пример 234

Синтез этилового эфира N-(пиридин-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Продукт примера 173 подвергали процедуре трансэстерификации, описанной для получения в примере 230. Соединение очищали путем хроматографии на испарительной колонке (силикагель, 2% MeOH в CHCl₃), с последующей перекристаллизацией из этилацетата с получением указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества (1,2 г, 61%).

Физические данные были следующими:

Анализ для C₂₅H₃₂N₄O₇S₂: Рассчитано: С, 53,18; Н, 5,71; N, 9,92.

Найдено: С, 53,14; Н, 5,72; N, 9,57.

Пример 235

Синтез циклопропилметилового эфира N-(пиридин-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Продукт примера 173 подвергали процедуре трансэстерификации, описанной для получения в примере 230. Соединение выделяли в виде белого твердого вещества

после хроматографии на испарительной колонке (силикагель, 2% MeOH в CHCl₃) и перекристаллизации из EtOAc/гексан (1 г, 65%).

Физические данные были следующими:

Анализ для C₂₇H₃₄N₄O₄S₂: Рассчитано: С, 54,9; Н, 5,8; N, 9,48.

Найдено: С, 54,77; Н, 5,65; N, 9,46.

Пример 236

Синтез 2-метоксифенилового эфира N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

К раствору соединения примера 139 (1,79 г, 3,31 ммоль), 2-метоксифенола (0,45 г, 3,64 ммоль) и ВОР (1,61 г, 3,64 ммоль) в метиленхлориде (25 мл) при 0°C добавляли триэтиламин (0,7 мл, 4,97 ммоль). Затем реакционную смесь медленно нагревали до 25°C, после чего ее перемешивали в атмосфере азота в течение 24 ч.

Взаимодействие останавливали добавлением 100 мл насыщенного солевого раствора и экстрагировали EtOAc. Органический экстракт последовательно промывали 2н HCl (3 раза), насыщенным раствором бикарбоната натрия (3×) и насыщенным соевым раствором (2×), сушили над MgSO₄, и упаривали до 2,1 г неочищенного продукта.

После хроматографии на испарительной колонке (элюант: 96:4

метиленхлорид:EtOAc) получали 1,85 г белого вещества, которое после растирания с гексаном давало 1,68 г (79%) белых кристаллов, т.пл. 72-75°C.

Физические данные были следующими:

Анализ для C₂₉H₃₅N₅O₈S₂: Рассчитано: С, 59,94; Н, 5,46; N, 10,85.

Найдено: С, 53,45; Н, 5,62; N, 10,31.

Пример 237

Синтез n-бутилового эфира N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Раствор соединения примера 139 (2 г) в n-бутаноле (50 мл) насыщали при охлаждении на льду газообразным HCl. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 36 ч, упаривали в вакууме почти до сухости, затем распределяли между 5% NaHCO₃ и хлороформом. Органический слой сушили и упаривали в вакууме с предоставлением 900 мг указанного в заголовке соединения.

Физические данные были следующими:

MS: [(+)ESI], [M+H]⁺ 596.

Пример 238

Синтез n-пропилового эфира N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Раствор N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина (2 г) в 2-пропаноле (50 мл) насыщали при охлаждении на льду газообразным HCl. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 36 часов, упаривали в вакууме почти до сухости, затем распределяли между 5% NaHCO₃ и хлороформом. Органический слой сушили и упаривали в вакууме с предоставлением 1500 мг указанного в заголовке соединения.

Физические данные были следующими:

MS: [(+) ESI], [M+H]⁺ 582.

Пример 239

Синтез 2,2-диметилпропионил оксиметилового эфира N-(1-метилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Иодид калия (324 мг) однократно добавляли к смеси соединения примера 139 (1,08

г), хлорметилпивалата (294 мг) и порошкообразного K_2CO_3 (222 мг) в DMF (5 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, распределяли между водой (12 мл) и этилацетатом (60 мл). Отделенный органический слой промывали ледяным 0,1н тиосульфатом натрия, водой и соевым раствором, затем сушили над $MgSO_4$, фильтровали и упаривали в вакууме с выходом 750 мг указанного в заголовке соединения.

Физические данные были следующими:

MS:[(+ESI), $[M+H]^+$ 654.

Пример 240

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-фенилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, в общих чертах описанной в примере 4, с заменой подходящих исходных материалов. Получали белое твердое вещество, т.пл. 60-65°C.

Физические данные были следующими:

MS(+ESI) 694,3 $[M+NH_4]^+$.

Анализ для $C_{36}H_{44}N_4O_7S \cdot 0,5C_4H_8O_2$: Рассчитано: С, 63,31; Н, 6,71; N, 7,77.

Найдено: С, 63,12; Н, 6,58; N, 7,69.

Пример 241

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4'-этоксикарбонил)пиперидин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Карбамат получали путем обработки Tos-Pro-Туг-трет-бутиловый эфира 4-нитрофенилхлороформиатом, с последующим добавлением этилизонипекотината (триэтиламин, метиленхлорид, охлаждение до 0°C, последующее перемешивание при комнатной температуре в течение ночи). Неочищенный продукт очищали путем хроматографии на испарительной колонке (силикагель, 95:5 EtoAc:Et₃N) с образованием белого твердого вещества (0,78 г, 39%).

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц) δ 8,15 (д, 1H, J=7,68 Гц); 7,70 (д, 2H, J=8,34 Гц); 7,40 (д, 2H, J=7,90 Гц); 7,22 (д, 2H, J=8,56 Гц); 7,00 (д, 2H, J=8,56 Гц); 4,37 (м, 1H), 4,07 (кв., 2H, J=7,14, 14,08 Гц); 4,03 (м, 2H); 3,90 (м, 1H); 3,34 (м, 1H); 3,09 (м, 2H); 3,00 (м, 3H); 2,59 (м, 1H); 2,39 (с, 3H); 1,87 (м, 2H); 1,58 (м, 5H); 1,41 (м, 1H); 1,35 (с, 9H); 1,18 (т, 3H, 7,14 Гц).

ИК (KBr, см⁻¹): 3410, 2990, 2950, 1725, 1680, 1510, 1430, 1355, 1220, 1200, 1170, 1000, 675, 595.

MS((+ESI, m/z(%)) 689 (100 $[M+NH_4]^+$); 691 (37 $[M+NH_4]^+$).

Анализ для $C_{34}H_{45}N_3O_9S$: Рассчитано: С, 60,79; Н, 6,75; N, 6,25.

Найдено: С, 60,59; Н, 6,67; N, 6,22.

Пример 242

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-(4'-(2'-аминоэтил)морфолино)карбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 152 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц) δ 12,75 (с, 1H); 8,08 (д, 1H); 7,68 (д, 2H); 7,60 (т, 1H); 7,39 (д, 2H); 7,21 (д, 2H); 6,97 (д, 2H); 4,46 (м, 1H); 4,08 (м, 1H); 3,56 (м, 4H); 3,26 (м, 3H); 3,09 (м, 2H); 2,94 (м, 1H); 2,49 (с, 6H); 2,48 (с, 3H); 1,5(м, 3H); 1,38 (м, 1H).

ИК (KBr, cm^{-1}) 3400, 2975, 1725, 1650, 1500, 1350, 1150, 650, 575, 550.

MS((-)ESI, $m/z(\%)$) 587 (100 [M-H]⁺).

Анализ $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}\cdot\text{HCOOH}\cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$: Рассчитано: С, 54,11; Н, 6,11; N, 8,70.

Найдено: С, 53,96; Н, 6,02; N, 8,68.

Пример 243

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-[4-(карбоксо)пиперидин-1-илкарбонилокси]фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 241 с использованием процедур, описанных в способах 6 и 11.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц) δ 12,50 (ушир.с, 2H); 8,08 (д, 1H, J=7,90 Гц); 7,69 (д, 2H, J=8,34 Гц); 7,39 (д, 2H, J=7,90 Гц); 7,22 (д, 2H, J=8,56 Гц); 6,99 (д, 2H, J=8,56 Гц); 4,46 (м, 1H); 4,09 (м, 1H); 4,00 (м, 1H); 3,90 (м, 1H); 3,30 (м, 1H); 3,09 (м, 3H); 2,95 (м, 2H); 2,49 (м, 1H); 2,38 (с, 3H); 1,86 (м, 2H); 1,36-1,61 (м, 6H).

ИК (KBr, cm^{-1}) 3400, 2960, 1720, 1535, 1430, 1350, 1200, 1160, 670, 590, 550.

MS(+)ESI, $m/z(\%)$) 605 (100[M+NH₄]⁺).

Анализ для $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_9\text{S}\cdot\text{H}_2\text{O}$: Рассчитано: С, 55,53; Н, 5,65; N, 6,94.

Найдено: С, 55,23; Н, 5,82; N, 6,59.

Пример 244

Синтез изопропилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-бис-(2-гидроксиэтил)карбамилокси)фенилаланина

Карбамат получали путем обработки Tos-Pro-Tyr-iPr эфира 4-нитрофенилхлорформиадом, с последующим добавлением диэтанолamina (триэтиламин, метиленхлорид, охлаждение до 0°C, последующее перемешивание при комнатной температуре в течение ночи). Неочищенный продукт очищали путем хроматографии на испарительной колонке (силикагель, 98:2 EtoAc:EtOH) с образованием белой пены (0,180 г, 28%).

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц) δ 8,26 (д, 1H, J=7,90 Гц); 7,69 (д, 2H, J=8,12 Гц); 7,40 (д, 2H, J=8,12 Гц); 7,23 (д, 2H, J=8,56 Гц); 6,99 (д, 2H, J=8,56 Гц); 4,87 (м, 1H); 4,83 (т, 1H, J=5,49 Гц); 4,76 (т, 1H, J=5,49 Гц); 4,42 (м, 1H); 4,08 (м, 1H); 3,58 (м, 2H); 3,51 (м, 2H); 3,44 (м, 2H); 3,34 (м, 3H); 2,99-3,09 (м, 3H); 2,39 (с, 3H); 1,59 (м, 3H); 1,41 (м, 1H); 1,16 (д, 3H, J=6,15 Гц); 1,12 (д, 3H, J=6,15 Гц).

ИК (KBr, cm^{-1}) 3420, 2940, 1725, 1535, 1670, 1520, 1460, 1410, 1350, 1220, 1160, 1110, 670, 600, 550.

MS(+)ESI, $m/z(\%)$) 606 (15 [M+H]⁺); 623 (100[M+NH₂]⁺).

Анализ $\text{C}_{29}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_9\text{S}\cdot\text{H}_2\text{O}$: Рассчитано: С, 56,66; Н, 6,56; N, 6,84.

Найдено: С, 56,66; Н, 6,41; N, 6,72.

Пример 245

Синтез изопропилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-[3-(гидроксиметил)пиперидин-1-илкарбонилокси]фенилаланина

Карбамат получали путем обработки Tos-Pro-Tyr-iPr эфира 4-нитрофенилхлорформиадом, с последующим добавлением 3-пиперидинметанола (триэтиламин, метиленхлорид, охлаждение до 0°C, последующее перемешивание при комнатной температуре в течение ночи). Неочищенный продукт очищали путем хроматографии на испарительной колонке (силикагель, 3:2 EtoAc:EtOH) с образованием белой пены (0,519 г, 67%).

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц) δ 8,26 (д, 1H, J=7,90 Гц); 7,69 (д, 2H, J=8,12 Гц); 7,40 (д, 2H, J=8,12 Гц); 7,22 (д, 2H, J=8,56 Гц); 6,98 (д, 2H, J=8,34 Гц); 4,85 (м, 1H); 4,57 (ушир.с, 1H); 4,42 (м, 1H); 3,99-4,09 (м, 3H); 3,85 (м, 1H); 3,31 (м, 1H); 3,22 (м, 1H); 2,91-3,10 (м, 4H); 2,80 (м, 1H); 2,55 (м, 1H); 2,39 (с, 3H); 1,51-1,72 (м, 6H); 1,42 (м, 2H); 1,16 (д, 3H, J=6,15 Гц); 1,11 (д, 3H, J=6,15 Гц).

ИК (KBr, см⁻¹) 3400, 2990, 2940, 2880, 1725, 1520, 1430, 1350, 1220, 1165, 1100, 660, 600, 550.

MS((-)ESI, m/z(%)) 614 (30 [M-H]).

Анализ C₃₁H₄₁N₃O₈S: Рассчитано: C, 60,47; H, 6,71; N, 6,82.

Найдено: C, 59,83; H, 6,61; N, 6,59.

Пример 246

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-трифторметансульфонилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, в общих чертах описанной в примере 128, и с заменой подходящих исходных материалов.

Физические данные были следующими:

MS (+ESI): 733 [M+H]⁺.

Анализ C₃₁H₃₉F₃N₄O₉S₂·0,10 C₄H₈O₂: Рассчитано: C, 50,20; H, 5,40; N, 7,55.

Найдено: C, 50,25; H, 5,46; N, 7,07.

Пример 247

Синтез трет-бутилового эфира N-(4-(N-фенилмочевина)бензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Смесь по примеру 107 (250 мг, 0,51 ммоль), фенилизоцианат (62 мг, 0,56 ммоль) и триэтиламин (76 мкл, 0,56 ммоль) нагревали с обратным холодильником в атмосфере аргона. Кипячение с обратным холодильником продолжали в течение ночи. Растворитель удаляли при сниженном давлении, и остаток очищали путем хроматографии на испарительной колонке (силикагель, гексан:EtOAc 1:1, затем EtOAc) с получением указанного в заголовке соединения в качестве беловатой пены (160 мг, 46%), т.пл. 112-115°C.

Физические данные были следующими:

MS (+ESI) [M+NH₄]⁺ 697 (100%).

Пример 248

Синтез изопропилового эфира N-(2-трифторацетил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-7-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,70-7,66 (м, 2H), 7,35-7,30 (м, 1H), 7,27-7,21 (м, 1H), 7,14-7,10 (м, 2H), 7,01 (д, 2H), 5,09-4,95 (м, 1H), 4,89-4,75 (м, 2H), 4,14-4,07 (м, 1H), 3,93-3,85 (м, 2H), 3,35-3,20 (м, 2H), 3,13-2,97 (м, 9H), 2,05-2,01 (м, 1H), 1,63-1,50 (м, 3H), 1,20 (д, 6H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,7, 170,6, 170,5, 156,3, 155,8, 154,9, 150,6, 140,1, 139,2, 135,1, 135,1, 13,2, 133,0, 133,0, 132,9, 130,2, 130,1, 129,9, 126,9, 126,4, 126,3, 125,8, 121,7, 118,3, 114,5, 69,6, 62,1, 62,0, 53,2, 49,6, 46,6, 46,5, 45,1, 42,7, 40,9, 37,1, 36,6, 36,3, 30,1, 30,0, 29,2, 27,8, 24,2, 24,2, 21,6, 21,6.

Пример 249

Синтез изопропилового эфира N-(1-метилпиразол-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Замена N-метилпиразол-3-сульфонилхлорида (см. заявку на выдачу Европейского патента, 095925) и действия по способу получения, описанному в примере 56, приводили к получению указанного в заголовке соединения.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7,45 (д, 1H), 7,21 (д, 2H), 7,09 (д, 1H), 7,01 (д, 2H), 6,71 (д, 1H), 5,03-4,98 (м, 1H), 4,87-4,84 (м, 1H), 4,60-4,59 (м, 2H), 4,05 (с, 1H), 3,97 (с, 3H), 3,12-3,01 (м, 5H), 2,98 (с, 3H), 1,22-1,15 (м, 12H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,3, 168,3, 154,9, 150,7, 146,7, 133,0, 131,9, 130,3, 121,7, 108,9, 73,5, 69,5, 54,7, 53,3, 50,7, 39,9, 37,7, 36,6, 36,3, 28,8, 24,1, 21,5, 21,5.

Пример 250

Синтез N-(1-метилпиразол-3-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 249 с использованием процедуры, описанной в способе 7.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ 8,25 (д, 1H), 7,76 (д, 1H), 7,32 (д, 2H), 7,01 (д, 2H), 6,70 (д, 1H), 4,74-4,71 (м, 1H), 4,68 (д, 1H), 4,56 (д, 1H), 4,12 (с, 1H), 3,97 (с, 3H), 3,24-3,07 (м, 5H), 2,97 (с, 3H), 1,14 (с, 3H), 1,13 (с, 3H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ 174,1, 171,4, 157,0, 151,9, 148,2, 135,7, 134,2, 131,8, 122,9, 109,6, 74,4, 55,6, 55,0, 51,5, 40,0, 37,6, 36,8, 36,7, 29,6, 24,8.

Пример 251

Синтез изопропилового эфира N-(пиридин-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, в общих чертах описанной для получения в примере 56, в которой N-оксид 4-пиридинсульфонилхлорида использовали вместо 3-пиридинсульфонилхлорида (см. Marsais и соавторы, J.Org.Chem. 1987, 52, 1133-1136). Дезоксигенацию N-оксида проводили с использованием процедуры Aoyagi и сотрудников, Synthesis 1997, 891.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): δ 8,89-8,87 (м, 2H), 7,72-7,70 (м, 2H), 7,19 (д, 2H), 7,01 (д, 2H), 6,79 (д, 1H), 5,05-5,01 (м, 1H), 4,85-4,82 (м, 1H), 4,58 (д, 1H), 4,45 (д, 1H), 3,91 (с, 1H), 3,11-3,02 (м, 5H), 2,99 (с, 3H), 1,28-1,16 (м, 12H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): δ 170,3, 167,7, 154,9, 151,5, 150,7, 144,2, 132,7, 130,3, 121,8, 120,9, 73,6, 69,7, 54,6, 53,1, 50,4, 37,5, 36,6, 36,3, 29,1, 23,6, 21,6, 21,5.

Пример 252

Синтез N-(пиридин-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 251 с использованием процедуры, описанной в способе 7.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): δ 8,78 (д, 2H), 7,42 (д, 1H), 7,69 (д, 2H), 7,35 (д, 2H), 7,06 (д, 2H), 4,69-4,61 (м, 3H), 4,16 (с, 1H), 3,25-3,19 (м, 1H), 3,13-3,05 (м, 4H), 2,97 (с, 3H), 1,25 (с, 6H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): δ 174,1, 170,5, 157,0, 152,2, 152,0, 147,2, 135,8, 131,8, 123,1, 122,7, 73,9, 55,6, 54,9, 54,4, 37,5, 36,8, 36,7, 30,1, 24,8.

Пример 253

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N-метил-N-(2-диметиламиноэтил)карбамилокси)фенилаланина

5 Раствор исходной кислоты (500 мг), трет-бутилового эфира (2S)-2-амино-3-{4-[(2-диметиламиноэтил)метилкарбамилокси]фенил}пропионовой кислоты (730 мг), HOBt (235 мг) и 4-метилморфолина (0,87 мл) в DMF (10 мл) перемешивали на ледяной бане при 0°C. Гидрохлорид 1-[3-(диметиламино)пропил]-3-этилкарбодиимида (360 мг)
10 добавляли к раствору. Ледяную баню удаляли через 10 минут. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. Добавляли этилацетат (20 мг). Раствор промывали 2 раза насыщенным раствором NaHCO₃ (30 мл), затем промывали солевым раствором. Раствор сушили посредством MgSO₄.
15 Растворитель упаривали в вакууме, и остаток подвергали хроматографии на испарительной колонке с силикагелем с получением 385 мг указанного в заголовке соединения.

Физические данные были следующими:

MS: [(+)ESI], [M+H]⁺ 663.

20 Пример 254

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-метил-N-(2-диметиламиноэтил)карбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для
25 получения в примере 253, и с заменой подходящих исходных материалов.

Физические данные были следующими:

MS:[(+)ESI], [M+H]⁺ 617.

Пример 255

30 **Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапропил-L-4-(N-метил-N-(2-диметиламиноэтил)карбамилокси)фенилаланина**

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 253 с
использованием процедуры, описанной в способе 11.

Физические данные были следующими:

35 MS: [(+)ESI], [M+H]⁺ 607.

Пример 256

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N-метил-N-(2-диметиламиноэтил)карбамилокси)фенилаланина

40 Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 254 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Физические данные были следующими:

MS: [(+)ESI], [M+H]⁺ 561.

Пример 257

45 **Синтез трет-бутилового эфира N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина**

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для
50 получения в примере 4, и с заменой подходящих исходных материалов, т.пл.: 64-67°C.

Физические данные были следующими:

MS: [M+H]⁺ 699.

Анализ для C₃₁H₄₀ClFN₄O₇S₂·H₂O: Рассчитано: C, 51,90; H, 5,9; N, 7,8.

Найдено: C, 51,53; H, 5,50; N, 7,62.

Пример 259

Синтез N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 258 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Физические данные были следующими:

MS: [M+1] 603.

Анализ для $C_{24}H_{27}FN_3O_7S_2$: Рассчитано: C, 49,02; H, 4,63; N, 7,15.

Найдено: C, 49,25; H, 4,89; N, 6,73.

Пример 260

Синтез трет-бутилового эфира N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 82, и с заменой подходящих исходных материалов, т.пл. 111-114°C.

Физические данные были следующими:

MS: +ESI [M+NH₄]⁺ 719.

Анализ для $C_{30}H_{37}ClFN_3O_7S$: Рассчитано: C, 50,02; H, 5,46; N, 5,8.

Найдено: C, 50,23; H, 5,10; N, 5,50.

Пример 261

Синтез изопропилового эфира N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 82, и с заменой подходящих исходных материалов, т.пл. 77-81°C.

Физические данные были следующими:

MS: [M+NH₄]⁺ 705.

Анализ для $C_{29}H_{35}ClFN_3O_7S_3$: Рассчитано: C, 50,61; H, 5,13; N, 6,1.

Найдено: C, 50,33; H, 5,07; N, 5,94.

Пример 262

Синтез изопропилового эфира N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов, т.пл. 65-69°C.

Физические данные были следующими:

MS: [M+NH₄]⁺ 647.

Анализ для $C_{27}H_{33}ClFN_3O_7S_2$: Рассчитано: C, 51,46; H, 5,28; N, 6,4.

Найдено: C, 51,29; H, 5,19; N, 6,50.

Пример 263

Синтез изопропилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов, т.пл. 68-72°C.

Физические данные были следующими:

MS: [M+H]⁺ 626.

Анализ для $C_{28}H_{36}ClN_3O_7S_2$: Рассчитано: C, 53,77; H, 5,80; N, 6,71.

Найдено: C, 53,26; H, 5,8; N, 6,63.

Пример 264

Синтез изопропилового эфира N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 4, и с заменой подходящих исходных материалов.

Физические данные были следующими:

MS: $[M+H]^+$ 685.

Анализ для $C_{30}H_{38}ClN_4O_7$: Рассчитано: C, 52,59; H, 5,59; N, 8,18.

Найдено: C, 52,09; H, 5,48; N, 7,77.

Пример 265

Синтез изопропилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-3-хлор-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов.

Физические данные были следующими:

MS: $[M+H]^+$ 580.

Анализ для $C_{27}H_{34}ClN_3O_7S \cdot 0,5H_2O$: Рассчитано: C, 55,04; H, 6,00; N, 7,13.

Найдено: C, 55,06; H, 5,71; N, 6,93.

Пример 266

Синтез изопропилового эфира N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(4-(2'-пиридил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 4, и с заменой подходящих исходных материалов.

Физические данные были следующими:

MS: $[M+H]^+$ 748.

Анализ для $C_{34}H_{39}ClFN_5O_7S_2$: Рассчитано: C, 54,57; H, 5,25; N, 9,3.

Найдено: C, 54,26; H, 5,10; N, 9,07.

Пример 267

Синтез трет-бутилового эфира N-(4-фторбензолсульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-3-хлор-4-(4-(2'-пиридил)-пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 4 и с заменой подходящих исходных материалов, т.пл. 80-86°C.

Физические данные были следующими:

MS: $[M+H]^+$ 762.

Анализ для $C_{35}H_{41}ClFN_5O_7S_2$: Рассчитано: C, 55,14; H, 5,42; N, 9,19.

Найдено: C, 54,67; H, 5,40; N, 8,69.

Пример 268

Синтез изопропилового эфира N-(4-нитробензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов.

Физические данные были следующими:

Анализ для $C_{26}H_{32}N_4O_9S$: Рассчитано: C, 54,16; H, 5,59; N, 9,72.

Найдено: C, 53,69; H, 5,24; N, 9,52.

Пример 269

Синтез изопропилового эфира N-(4-аминобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-

(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 268 с использованием процедуры, описанной в способе 4.

Физические данные были следующими:

Анализ для $C_{26}H_{34}N_4O_7S$: Рассчитано: С, 57,13; Н, 6,27; N, 10,25.

Найдено: С, 56,30; Н, 6,12; N, 10,05.

Пример 270

Синтез изопропилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 82, и с заменой подходящих исходных материалов.

Физические данные были следующими:

Анализ для $C_{29}H_{37}N_3O_7S_2$: Рассчитано: С, 57,69; Н, 6,18; N, 6,96.

Найдено: С, 57,36; Н, 5,99; N, 6,76.

Пример 271

Синтез изопропилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-фенилкарбамилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 4, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц) δ 8,62 (с, 1H); 8,11 (д, 1H); 7,73 (д, 2H); 7,45 (м, 4H); 7,26 (м, 3H); 7,04 (м, 2H); 6,95 (м, 1H); 6,25 (д, 1H); 4,90 (м, 1H); 4,50 (м, 1H); 4,11 (м, 1H); 3,6 (ушир., 4H); 3,4 (ушир., 4H); 3,10 (м, 2H); 3,00 (м, 1H); 2,40 (с, 3H); 1,60 (м, 3H); 1,40 (м, 1H); 1,18 (д, 3H); 1,12 (д, 3H).

ИК (KBr, cm^{-1}) 3400-3500 (ушир.), 2950, 2900, 1725, 1650, 1540, 1450, 1240, 1210, 1000, 760, 675, 580, 540.

MS ((+) ESI, m/z(%)) 706 (100 [M+H]⁺).

Анализ для $C_{36}H_{43}N_5O_8S \cdot 0,35EtOAc$: Рассчитано: С, 60,98; Н, 6,27; N, 9,51.

Найдено: С, 50,31; Н, 6,16; N, 9,33.

Пример 272

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(4-фенилкарбамилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 271 с использованием процедуры, описанной в способе 7.

Данные ЯМР были следующими:

1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц) δ 12,8 (с, 1H); 8,62 (с, 1H); 8,11 (д, 1H); 7,73 (д, 2H), 7,45 (м, 4H); 7,26 (м, 3H); 7,04 (м, 2H); 6,95 (м, 1H); 6,25 (д, 1H); 4,50 (м, 1H); 4,11 (м, 1H); 3,6 (ушир., 4H); 3,4 (ушир., 4H); 3,10 (м, 2H); 3,00 (м, 1H); 2,40 (с, 3H); 1,60 (м, 3H); 1,40 (м, 1H).

ИК (KBr, cm^{-1}) 3400, 1725, 1650, 1540, 1450, 1240, 1210, 1000, 760, 675, 580, 540.

MS ((-) ESI, m/z(%)) 662 (100 [M-H]⁺).

Пример 273

Синтез изопропилового эфира N-(1-н-бутилпиразол-4-сульфонил)-L-(5,5-диметил)тиапролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 137, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (CDCl₃): δ 7,89 (с, 1H), 7,83 (с, 1H), 7,21 (д, 2H), 7,06 (д, 1H), 7,02 (д, 2H), 5,04 (септ., 1H), 4,89-4,82 (м, 1H), 4,57 (д, 1H), 4,41 (д, 1H), 4,16 (т, 2H), 3,78 (с, 1H), 3,14 (дд, 1H), 3,06 (дд, 1H), 3,09 (с, 3H), 3,00 (с, 3H), 1,85 (пент., 2H), 1,36-1,23 (м, 2H), 1,27 (с, 3H), 1,24 (д, 3H), 1,21 (д, 3H), 1,16 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl₃): δ 170,4, 168,3, 154,9, 150,7, 139,2, 131,8, 130,3, 121,8, 117,0, 73,8, 69,6, 54,8, 53,2, 52,7, 50,6, 37,7, 36,6, 36,3, 31,8, 28,9, 24,0, 21,6, 21,5, 19,4, 13,3.

Пример 274

Синтез изопропилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(пиридин-4-илкарбонил)пиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 4, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц) δ 8,69 (дд, 2H), 8,28 (д, 1H); 7,71 (д, 2H); 7,43 (м, 4H); 7,26 (д, 2H); 7,04 (д, 2H); 4,86 (м, 1H); 4,42 (м, 1H); 4,05 (м, 1H); 3,4-3,8 (ушир.м, 9H); 3,05 (м, 3H); 2,40 (с, 3H); 1,60 (м, 3H); 1,40 (м, 1H); 1,18 (д, 3H); 1,15 (д, 3H).

ИК (KBr, см⁻¹) 3400, 1725, 1650, 1510, 1200, 1160, 1100, 1010, 650, 600, 550.

MS(+ESI, m/z(%)) 692 (100[M+H]⁺).

Анализ для C₃₅H₄₁N₅O₉S·0,75H₂O: Рассчитано: С, 59,60; Н, 6,07; N, 9,93.

Найдено: С, 59,45; Н, 5,86; N, 9,88.

Пример 275

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-4-оксипролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 164, с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Физические данные были следующими:

MS[(-ESI) [M-H)] 516.

Пример 276

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-транс-4-гидроксипролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 165 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Физические данные были следующими:

MS [(-ESI)[M-H)] 518.

Пример 277

Синтез изопропилового эфира N-(4-цианобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов, т.пл. 166-167°C.

Пример 278

Синтез N-(4-аминобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 107 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Физические данные были следующими:

Анализ для C₂₃H₂₈N₄O₇S: Рассчитано: С, 47,34; Н, 4,84; N, 9,60.

Найдено: С, 47,57; Н, 5,20; N, 8,75.

Пример 279

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-4-оксопролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Ацетонитрил (3 мл) охлаждали до -40°C (CH_3CN /сухой лед). Добавляли оксалилхлорид (0,10 мл). Трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-4-гидроксипролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина (300 мг) и сухой ДМСО (0,008 мл) растворяли в ацетонитриле (4 мл) и добавляли к указанному выше раствору. Реакционную смесь перемешивали при -40°C в течение получаса при сухих условиях. Триэтиламин (0,33 мл) добавляли к раствору. Баню с сухим льдом удаляли через 5 минут. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Растворитель упаривали в вакууме, и добавляли этилацетат (15 мл). Смесь промывали водой (3×), затем промывали солевым раствором. Раствор сушили в течение ночи над MgSO_4 . Растворитель упаривали в вакууме, и остаток наносили на колонку с силикагелем с получением 150 мг указанного в заголовке соединения, т.пл. $84-85^{\circ}\text{C}$.

Пример 280

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-[3-(гидроксиметил)пиперидин-1-илкарбонилокси]фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 4, и с заменой подходящих исходных материалов, т.пл. $84-85^{\circ}\text{C}$.

Пример 281

Синтез изопропилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4,4-дифтор)пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов.

Физические данные были следующими:

MS: [(+) ESI], $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ 599.

Пример 282

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4,4-дифтор)пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 281 с использованием процедуры, описанной в способе 7.

Физические данные были следующими:

MS: [(+)ESI], $[\text{M}+\text{NH}_4]$ 557.

Пример 283

Синтез изопропилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-(4-бензоилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 4, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (DMSO-d_6 , 400 МГц) δ 8,27 (д, 1H); 7,69 (д, 2H); 7,45 (м, 7H); 7,24 (д, 2H); 7,02 (д, 2H); 4,86 (м, 1H); 4,42 (м, 1H); 4,07 (м, 1H); 3,65 (ушир.с, 4H); 3,45 (ушир.с, 4H); 3,35 (м, 1H); 3,05 (м, 3H); 2,38 (с, 3H); 1,60 (м, 3H); 1,40 (м, 1H); 1,18 (д, 3H); 1,11 (д, 3H).

ИК (KBr , cm^{-1}) 3400, 1725, 1675, 1625, 1510, 1425, 1350, 1250, 1175, 1110, 1010, 700, 660, 590, 550.

MS ((+) ESI, m/z (%)) 708 (100 $[\text{M}+\text{NH}_2]^+$).

Анализ для $\text{C}_{36}\text{H}_{42}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}\cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$: Рассчитано: С, 61,79; Н, 6,19; N, 8,01.

Найдено: С, 61,64; Н, 6,10; N, 7,72.

Пример 284

Синтез изопропилового эфира N-(1-метил-1H-имидазол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Карбамат получали путем обработки 1-метилимидазол-4-сульфонил-Pro-Try-iPr эфира 4-нитрофенилхлорформиатом, с последующим добавлением диметиламин (триэтиламин, метиленхлорид, 0°C, перемешивание при комнатной температуре в течение ночи). Неочищенный продукт очищали путем хроматографии на испарительной колонке (силикагель, 95:3:2 EtOAc:EtOH:Et₃N), с последующей перекристаллизацией из EtOAc. Получали белое твердое вещество, т.пл. 162-164°C (8,7 г, 66%).

Физические данные были следующими:

Анализ для C₂₄H₃₃N₅O₇S: Рассчитано: С, 53,82; Н, 6,21; N, 13,08.

Найдено: С, 53,47; Н, 6,13; N, 12,96.

Пример 286

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 285 с использованием процедуры, описанной в способе 11, т.пл. 116-118°C.

Пример 287

Синтез изопропилового эфира N-(4-цианобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 4, и с заменой подходящих исходных материалов, т.пл. 70-71°C.

Пример 288

Синтез метилового эфира N-(4-амидинобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Метанол (сухой) охлаждали до 0°C. HCl барботировали в раствор в течение 15 минут с получением насыщенного раствора. Добавляли соединение примера 277, и реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 30 минут, затем при комнатной температуре в течение 24 часов. Растворитель упаривали. Добавляли NH₃ в метаноле (2M, 5 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 часов. Растворитель упаривали. Остаток очищали путем обращенно-фазовой ВЭЖХ в CH₃CN:H₂O (20:80). Со временем задержки, равным 12,45 минут, продукт выделяли и сушили вымораживанием с предоставлением указанного в заголовке соединения.

Данные ЯМР были следующими:

¹H-ЯМР (в ДМСО): мультиплет на 1,47-1,55 м.д.(1H), 1,63-1,72 м.д.(3H), синглет на 2,87 м.д.(3H), синглет на 3,02 м.д.(3H), мультиплет на 3,05-3,10 м.д.(2H), мультиплет на 3,17-3,22 м.д.(1H), мультиплет на 3,37-3,42 м.д.(1H), синглет на 3,62 м.д.(3H), мультиплет на 4,21-4,23 м.д.(1H), квартет на 4,48-4,56 м.д.(1H), дублет на 7,00-7,03 м.д.(2H), дублет на 7,23-7,26 м.д.(2H), уширенный пик на 7,20-7,50 м.д., дублет на 8,02-8,03 м.д.(4H), дублет на 8,48-8,52 м.д.(1H).

Пример 289

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-4-гидроксипролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 4, и с заменой подходящих исходных материалов, т.пл. 80-82°C.

Пример 290

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-4-гидроксипролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина

Трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-4-гидроксипролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина (160 мг) растворяли в муравьиной кислоте (7 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре 6 часов. Растворитель упаривали, и остаток очищали с использованием обращенно-фазовой ВЭЖХ в смеси 20:80 CH₃CN/вода. Со временем задержки, равным 5,85 минут, получали 50 мг указанного в заголовке соединения, т.пл. 170-172°C.

Пример 291

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-(4-бензоилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 283 с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц) δ 12,8 (с, 1H); 8,27 (д, 1H); 7,69 (д, 2H); 7,45 (м, 7H); 7,24 (д, 2H); 7,02 (д, 2H); 4,42 (м, 1H); 4,07 (м, 1H); 3,65 (ушир.с, 4H); 3,45 (ушир.с, 4H); 3,35 (м, 1H); 3,05 (м, 3H); 2,38 (с, 3H); 1,60 (м, 3H); 1,40 (м, 1H).

ИК (KBr, см⁻¹) 3400, 1725, 1675, 1625, 1510, 1425, 1350, 1260, 1175, 1110, 1010, 700, 660, 590, 550.

MS ((+)ESI, m/z(%)) 666 (100[M+NH₄]⁺).

Анализ для C₃₃H₃₆N₄O₈S·0,66H₂O: Рассчитано: С, 60,00; Н, 5,69; N, 8,48

Найдено: С, 60,36; Н, 5,70; N, 7,81.

Пример 292

Синтез метилового эфира N-(4-амидинобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примерах 287 и 288.

Физические данные были следующими:

MS:[(+)]ESI [M+H] 604.

Пример 293

Синтез N-(3-фторбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбонилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 166 с использованием процедуры, описанной в способе 11, т.пл. 82-83°C.

Пример 294

Синтез изопропилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-[N-метил-N-(2-(N'-метил-N'-толуолсульфониламино)этил)карбамилокси]фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 4, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц) δ 8,27 (д, 1H); 7,71 (д, 2H); 7,69 (д, 2H); 7,40 (м, 4H); 7,24 (д, 2H); 6,99 (д, 2H); 4,86 (м, 1H); 4,43 (м, 1H); 4,06 (м, 1H); 3,51 (м, 1H); 3,2-3,35 (м, 3H); 2,9-3,2 (перекрываемый м, 7H); 2,67 (д, 3H); 2,38 (с, 6H); 1,60 (м, 3H); 1,40 (м, 1H); 1,20 (д, 3H); 1,15 (д, 3H).

ИК (KBr, см⁻¹) 3400, 2975, 2950, 1725, 1680, 1510, 1450, 1400, 1280, 1225, 1150, 1110, 800, 730, 675, 575, 550.

MS((+) ESI, m/z(%)) 760 (100 [M+NH₄]⁺).

Анализ для C₃₆H₄₆N₄O₉S₂: Рассчитано: С, 58,20; Н, 6,24; N, 7,54.

Найдено: С, 57,90; Н, 6,30; N, 7,34.

Пример 295

Синтез изопропилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-4-[N-(2-(N'-фениламинокарбонилокси)этил)карбамилокси]фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной для получения в примере 4, и с заменой подходящих исходных материалов.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц) δ 9,67 (с, 1H); 8,27 (д, 1H); 7,72 (д, 2H); 7,47 (д, 2H); 7,42 (д, 2H); 7,24 (м, 4H); 6,98 (м, 3H); 4,87 (м, 1H); 4,45 (м, 1H); 4,18 (м, 2H); 4,05 (м, 1H); 3,4 (м, 3H); 3,05 (м, 3H); 2,40 (с, 3H); 1,6 (м, 3H); 1,40 (м, 1H); 1,2 (д, 3H); 1,15 (д, 3H).

ИК (KBr, см⁻¹) 3350, 2950, 1725, 1675, 1600, 1550, 1500, 1325, 1200, 1150, 1100, 650, 575, 525.

MS ((+)ESI, m/z(%)) 698 (100 [M+NH₄]⁺).

Анализ для C₃₄H₄₀N₄O₉S·0,21EtOAc·0,5H₂O: Рассчитано: С, 59,08; Н, 6,07; N, 7,91.

Найдено: С, 59,08; Н, 6,02; N, 7,80.

Пример 296

Синтез изопропилового эфира N-(4-фторбензолсульфонил)-L-4-(транс-гидрокси)пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов.

Физические данные были следующими:

MS: [(+)ESI], [M+NH₄] 583.

Пример 297

Синтез трет-бутилового эфира N-(4-фторбензолсульфонил)-L-4-(транс-гидрокси)пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной в примере 2, и с заменой подходящих исходных материалов.

Физические данные были следующими:

MS: [(+)ESI], [M+NH₄] 597.

Пример 298

Синтез N-(4-амидинобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из продукта примера 288 с использованием процедуры, описанной в способе 5, т.пл. 130-132°C.

Пример 299

Синтез бис-{4-[(2S)-2-трет-бутоксикарбонил-2-((4R)-5,5-диметил-3-(толуол-4-сульфонил)тиазолидин-4-карбоксамидо)этил]фенилового} эфира пиперазин-1,4-дикарбоновой кислоты

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедуре, описанной в примере 4, кроме того, что использовали 0,5 эквивалента пиперазина.

Физические данные были следующими:

Анализ для C₅₈H₇₄N₆O₁₄S₄: Рассчитано: С, 57,69; Н, 6,18; N, 6,96.

Найдено: С, 58,01; Н, 6,07; N, 6,68.

Пример 300

Синтез бис-{4-[(2S)-2-карбокси-2-((4R)-5,5-диметил-3-(толуол-4-сульфонил)тиазолидин-4-карбоксамидо)этил]фенилового} эфира пиперазин-1,4-дикарбоновой кислоты

Указанное в заголовке соединение получали путем гидролиза ди-трет-бутилового эфира из примера 299 муравьиной кислотой с получением белой пены (300 мг, количественно).

Физические данные были следующими:

Анализ для C₅₀H₅₈N₆O₁₄S₄: Рассчитано: С, 54,83; Н, 5,34; N, 7,67.

Найдено: С, 55,10; Н, 5,57; N, 7,37.

Другие соединения формул I и Ia, полученные описанными выше способами, включают в себя указанные ниже в примерах 301-370 в таблице 5.

Таблица 5

№ эксп.	R ¹	R ²	R ³	R ⁵	R ⁶
301	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH ₂ -NH-CH ₂ - (L-пиперазинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
302	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)		<i>m</i> -[(2-(гидроксиэтил)пирролидин-1-ил-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
303	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)		<i>m</i> -[(2-(гидроксиэтил)пирролидин-1-ил-C(O)O-]бензил-	-OH
304	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(2-(CH ₃ OC(O)-)пирролидин-1-ил)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
305	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)		3-хлор-4-[(тиоморфолин-4-ил)-C(O)O-]бензил-	-OH
306	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)		<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)-C(O)O-]бензил-	-OH
307	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)		<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
308	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH(OH)CH ₂ - (L-4-гидрокси-пирролидинил)		<i>m</i> -[(тиоморфолин-4-ил)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
309	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-O(CH ₂ CH ₂ O) ₂ CH ₃
310	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)		<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
311	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)		3-фтор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
312	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ N-SO ₂ CH ₃ -CH ₂ - (L-4-метансульфонил-пиперазинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃

5	313	R ¹ /R ² =1,1-диоксо-2,3-дигидро-3,3-диметил-1,2-бензизотиазол-2-ил-		H	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
	314	R ¹ /R ² =N-2,10-камфорсультамил-		H	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
10	315	R ¹ /R ² = N-2,10-камфорсультамил-		H	<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
	316	R ¹ /R ² =N-2,10-камфорсультамил-		H	3-хлор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]-бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
15	317	<i>l</i> -Вг-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	318	<i>l</i> -Вг-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
20	319	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH(OH)-CH ₂ - (L-4-гидроксипирролидинил)		<i>l</i> -[(4-метилпиперазин-1-ил)-C(O)O-]бензил-	-ОН
	320	<i>l</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)		<i>l</i> -[(4-пиримидин-2-ил)пиперазин-1-ил)-C(O)O-]бензил-	-ОН
25	321	<i>l</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)		<i>l</i> -[4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	322	<i>l</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S- (тиазолидин-2-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
30	323	<i>l</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S- (тиазолидин-2-ил)		<i>l</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	324	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -C(O)-CH ₂ - (L-4-оксопирролидинил)		<i>l</i> -[(тиоморфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-ОН
35	325	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -C(O)-CH ₂ - (L-4-оксопирролидинил)		<i>l</i> -[(4-метилпиперазин-1-ил)-C(O)O-]бензил-	-ОН
	326	<i>l</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S- (тиазолидин-2-ил)		<i>l</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)-C(O)O-]бензил-	-ОН
40	327	<i>l</i> -NO ₂ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	328	<i>l</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S- (тиазолидин-2-ил)		<i>l</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
45	329	<i>l</i> -Вг-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)		<i>l</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)-C(O)O-]бензил-	-ОН
	330	<i>l</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>l</i> -[(4-(φNHCS)-)пиперазин-1-ил)-C(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
50	331	<i>l</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S- (тиазолидин-2-ил)		<i>l</i> -[(4-CH ₃ -гомипиперазин-1-ил)-C(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃

	332	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH(-OSO ₂ CH ₃)-CH ₂ - (L-4-метансульфосипрролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
5	333	<i>m</i> -H ₂ NC(O)-φ-	R ² /R ³ =цикл 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
	334	<i>m</i> -H ₂ NC(O)-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(тиоморфолин-4-ил)C(O)O-]бензил-	-ОН
10	335	<i>m</i> -H ₂ NC(=N)- φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(тиоморфолин-4-ил)C(O)]-]бензил-	-ОН
	336	<i>m</i> -NO ₂ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)-C(O)O-] бензил-	-ОН
15	337	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ - цикл -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)		3-хлор-4-[(4-пиридин-2-ил)пиперазин-1- ил)C(O)O-]-бензил-	-OCH ₂ CH ₃
	338	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)		3-хлор-4-[(4-пиридин-2-ил)пиперазин-1- ил)C(O)O-]-бензил-	-ОН
20	339	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -CH ₂ -S- (тиазолидин-2-ил)		<i>m</i> -[(4-CH ₃ -гомопиперазин-1-ил)-C(O)O-]-бензил-	-ОН
	340	1- метилпиразо л-4-ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)		3-хлор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
25	341	1-метил- имидазол-4- ил-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-] бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	342	1-метил- имидазол-4- ил-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-] бензил-	-OC(CH ₃) ₃
30	343	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-] бензил-	-ОН
	344	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-] бензил-	-OC(CH ₃) ₃
35	345	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-] бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	346	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-] бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
40	347	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)		<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-] бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	348	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл -CH ₂ CH ₂ N(-SO ₂ -CH ₃)CH ₂ - (4-метансульфонилпиперазин-2-ил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
45	349	<i>m</i> -CH ₃ -φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH(-OSO ₂ -CH ₃)CH ₂ - (L-4-метансульфокси-пирролидинил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН
	350	CH ₃ -	-CH ₂ -φ	Н	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	351	<i>m</i> -Br-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)		<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-] бензил-	-OC(CH ₃) ₃
50	352	<i>m</i> -CF ₃ O-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)		<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-ОН

	353	<i>m</i> -CF ₃ O-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OC(CH ₃) ₃
5	354	<i>m</i> -CF ₃ O-φ-	R ² /R ³ =цикл, CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-] бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	355	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-] бензил-	-ОН
10	356	<i>m</i> -F-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ CH(OH)CH ₂ - (L-4-гидрокси-пирролидинил)	<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-] бензил-	-ОН
	357	<i>m</i> -CF ₃ O-φ-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-] бензил-	-ОН
15	358	1-метил- имидазол-4- ил-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	3-хлор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]-бензил-	-ОН
	359	1-метил- имидазол-4- ил-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	3-хлор-4-[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]-бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
20	360	1-метил- имидазол-4- ил-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)-C(O)O-] бензил-	-ОН
	361	1-метил- имидазол-4- ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-] бензил-	-ОН
25	362	1-метил- пиразол-4-ил-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-] бензил-	-ОН
	363	1-метил- пиразол-4-ил-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-] бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
30	364	1-метил- пиразол-4-ил-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-] бензил-	-OC(CH ₃) ₃
	365	1-метил- пиразол-4-ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)C(O)O-] бензил-	-OC(CH ₃) ₃
35	366	1-метил- пиразол-4-ил-	R ² /R ³ =цикл, 3 атома углерода (L-пирролидинил)	3-хлор-4-[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1- ил)C(O)O-]-бензил-	-OCH(CH ₃) ₂
	367	1-метил- пиразол-4-ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[(CH ₃) ₂ NC(O)O-]бензил-	-OCH ₂ CH ₂ Oφ
40	368	1-метил- пиразол-4-ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)	3-хлор-4-[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1- ил)C(O)O-]-бензил-	-ОН
	369	1-метил- пиразол-4-ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)	3-хлор-4-[(4-(пиридин-2-ил)пиперазин-1- ил)C(O)O-]-бензил-	-OCH ₂ CH ₃
45	370	1,5- диметил-3- хлор- пиразол-4-ил-	R ² /R ³ =цикл, -CH ₂ -S-C(CH ₃) ₂ - (L-5,5-диметилтиазолидин-4-ил)	<i>m</i> -[4-[5-CF ₃ -пиридин-2-ил)пиперазин-1-ил)- C(O)O-]-бензил-	-ОН

Кроме того, примеры 319, 324, 325, 332, 333, 334, 335 и 349 из таблицы 5 иллюстрируются следующим образом.

Пример 319

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4-гидрокси)пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Исходный трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4-гидрокси)пролил-L-

4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина (300 мг) растворяли в муравьиной кислоте (15 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 72 часов. Растворитель упаривали, и остаток очищали с использованием обращенно-фазовой ВЭЖХ, 20-80% CH₃CN/вода. Со временем задержки, равным 10,75 минут, получали 82 мг указанного в заголовке соединения, т.пл. 128-130°C.

Пример 324

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4-оксо)пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина

Исходный трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4-оксо)пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина (130 мг) растворяли в муравьиной кислоте (7 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 6 часов. Растворитель упаривали в вакууме с образованием 150 мг требуемого продукта, т.пл. 111-112°C.

Пример 325

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4-оксо)пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина

Исходный трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4-оксо)пролил-L-4-(4-метилпиперазин-1-илкарбонилокси)фенилаланина (150 мг) растворяли в муравьиной кислоте (7 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 6 часов. Растворитель упаривали в вакууме, и остаток очищали с использованием обращенно-фазовой ВЭЖХ, 20-80% CH₃CN/вода. Время задержки составляло 10,34 минуты. Продукт сушили вымораживанием с получением 82 мг указанного в заголовке соединения, т.пл. 99-101°C.

Пример 332

Синтез трет-бутилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4-метансульфонилокси)пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Исходный трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4-гидрокси)пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина (300 мг) и метилсульфонилхлорид растворяли в THF (7 мл) при 0°C на ледяной бане. Добавляли триэтиламин (0,21 мл). Ледяную баню удаляли через 10 минут. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 часов. Добавляли этилацетат (20 мл). Смесь промывали лимонной кислотой (5%, 20 мл, 2x), и промывали насыщенным раствором NaHCO₃ (20 мл), затем соевым раствором. Раствор сушили над MgSO₄. Растворитель упаривали, и остаток наносили на колонку с силикагелем. Растворитель упаривали в вакууме с получением 300 мг требуемого продукта, т.пл. 73-74°C.

Пример 333

Синтез N-(4-аминобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина

Исходный метиловый эфир N-(4-аминобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина (300 мг) и раствор LiOH (2M, 0,6 мл) добавляли в метанол (6 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 7 часов. Растворитель упаривали в вакууме, и остаток очищали с использованием обращенно-фазовой ВЭЖХ, 20-80% CH₃CN/вода. Со временем задержки, равным 12,11 минут, получали 27 мг требуемого продукта, т.пл. 130-132°C.

Пример 334

Синтез N-(4-аминокарбонилбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(тиоморфолин-4-

илкарбонилокси)фенилаланина

Исходный метиловый эфир N-(4-аминокарбонилбензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина (300 мг) и раствор LiOH (2М, 0,5 мл) добавляли в метанол (6 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 8 часов. Растворитель упаривали в вакууме, и остаток очищали с использованием обращенно-фазовой ВЭЖХ, 20-80% CH₃CN/вода. Со временем задержки, равным 12,69 минут, получали 20 мг требуемого продукта, т.пл. 123-125°C.

Пример 335**Синтез N-(4-амидинобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина**

Исходный метиловый эфир N-(4-амидинобензолсульфонил)-L-пролил-L-4-(тиоморфолин-4-илкарбонилокси)фенилаланина (300 мг) и раствор LiOH (2М, 0,5 мл) добавляли в метанол (6 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 8 часов. Растворитель упаривали в вакууме, и остаток очищали с использованием обращенно-фазовой ВЭЖХ, 20-80% CH₃CN/вода. Со временем задержки, равным 11,78 минут, получали 25 мг требуемого продукта, т.пл. 123-125°C.

Пример 349**Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4-метансульфонилокси)пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина**

Исходный трет-бутиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-(4-метансульфонилокси)пролил-L-4-(N,N-диметилкарбамилокси)фенилаланина (200 мг) растворяли в муравьиной кислоте (5 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 6 часов. Растворитель упаривали в вакууме с предоставлением требуемого продукта (195 мг), т.пл. 83-84°C.

Пример 371**Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-4-(α-метилбензилокси)-L-фенилаланина**

Метиловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-тирозина (785 мг, 1,89 ммоль) растворяли в DMF (20 мл) при комнатной температуре. К этому раствору добавляли K₂CO₃ (1,1 экв., 281 мг) и 1-бромэтилбензол (1,1 экв., 284 мкл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 часов. Добавляли этилацетат (100 мл), и органический слой несколько раз промывали соевым раствором (5×50 мл). Органический слой сушили над MgSO₄. После фильтрации и упаривания растворителей при пониженном давлении выделяли масло. Неочищенный материал очищали путем элюции на силикагеле (EtOAc/гексан (1:4)). Требуемый материал выделяли с 32%-ным выходом (330 мг, 0,6 ммоль). Затем метиловый эфир (330 мг, 0,6 ммоль) преобразовывали в соответствующую кислоту обработкой NaOH (1,1 экв., 27 мг), в MeOH:H₂O (1:1) (15 мл), в течение 4 часов при комнатной температуре. Добавляли EtOAc, а также воду. Водный слой собирали и подкисляли 1н HCl до pH 2,5, и повторно экстрагировали EtOAc. Органический слой сушили над MgSO₄. После фильтрации и упаривания растворителей при пониженном давлении выделяли пену с количественным выходом.

Данные ЯМР были следующими:

¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃): δ = 7,71 (ушир.д, 2H), 7,34 (м, 7H), 7,20 (м, 1H), 7,01 (м, 2H), 6,80 (д, 2H, J=8,37 Гц), 5,27 (м, 1H), 4,75 (м, 1H), 4,04 (м, 1H), 3,23-2,93 (м, 4H), 2,42 (с, 3H), 1,85 (м, 1H), 1,60 (д, 3H, J=6,09 Гц), 1,36-1,26 (м, 3H).

^{13}C ЯМР (75 МГц, CDCl_3): $\delta = 174,74, 172,22, 157,53, 145,00, 143,77, 133,42, 130,76, 130,58, 129,14, 128,60, 128,48, 127,94, 126,15, 116,57, 76,39, 62,73, 53,90, 50,09, 37,09, 25,07, 24,52, 22,17$.

Масс-спектрокопия: (FAB) 537 (M+H).

Пример 372

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-4-(2-карбоксифенокси)-L-фенилаланина

Метилловый эфир N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-L-тирозина (2,14 г, 5,16 ммоль) добавляли к суспензии гидроксида натрия, 60% в масле (1,1 экв., 228 мг) в ксилоле (50 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 5 минут и добавляли комплекс бромид-диметилсульфид одновалентной меди (1,4 экв., 1,48 г). Реакционную смесь перемешивали при 23°C в течение 0,5 ч. К ней добавляли 2-иодбензоат натрия (1,5 экв., 8,06 ммоль), и реакционную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 12 часов. Добавляли EtOAc (100 мл), и органический слой промывали NH_4Cl , 10% HCl, и соевым раствором, затем сушили над MgSO_4 .

Неочищенный материал элюировали путем колоночной хроматографии (силикагель) с использованием $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (9:1), и выделяли в виде масла. Кислоту получали путем обработки NaOH (1,1 экв.), в $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (1:1), в течение 4 часов при комнатной температуре. Двукислоту выделяли в виде пены.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3): $\delta = 7,71$ (м, 2H), 7,29 (м, 4H), 7,19 (м, 4H), 6,72 (м, 1H), 4,84 (м, 1H), 4,13 (м, 1H), 3,39 (м, 1H), 3,11 (м, 3H), 2,43 (с, 3H), 1,89 (м, 1H), 1,48 (м, 3H).

^{13}C ЯМР (75 МГц, CDCl_3): $\delta = 172,67, 157,84, 155,89, 155,04, 145,17, 133,61, 133,19, 133,08, 131,69, 131,02, 130,64, 128,42, 127,87, 124,24, 120,04, 119,61, 116,12, 62,81, 50,31, 37,28, 30,69, 24,81, 22,15$.

Масс-спектрокопия: (FAB) 553 (M+H).

Пример 373

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-O-(бензил)-L-тирозина

N-(толуол-4-сульфонил)-L-Pro-OH обрабатывали $(\text{COCl})_2$ и DMF в CH_2Cl_2 с образованием после упаривания N-(толуол-4-сульфонил)-L-Pro-Cl. Данный продукт обрабатывали L-Тур(Вп)-ОН и NaOH в THF и H_2O , с получением после подкисления, экстракции, сушки посредством MgSO_4 и упаривания указанного в заголовке соединения в виде прозрачного масла.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (DMCO-d_6 , 300 МГц) $\delta = 8,04$ (д, J=8,2, 1H), 7,70 (д, J=8,1, 2H), 7,42-7,21 (м, 6H), 7,15 (д, J=8,5, 2H), 6,90 (д, J=8,5, 2H), 5,04 (с, 2H), 4,49-4,42 (м, 1H), 4,13-4,09 (м, 1H), 3,33-3,27 (м, 2H), 3,10-2,89 (м, 3H), 2,38 (с, 3H), 1,60-1,35 (м, 4H).

^{13}C ЯМР (DMCO-d_6 , 75 МГц): $\delta = 172,63, 170,8, 157,0, 143,6, 137,2, 133,8, 130,3, 129,8, 129,4, 128,9, 128,4, 127,6, 125,3, 114,4, 69,1, 61,3, 53,4, 49,0, 35,8, 30,4, 23,8, 21,0$.

Масс-спектрокопия: (+FAB, 3-нитробензиловый спирт) 523 (M+H).

Пример 374

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-4-(1-Н,2-оксо-3-метилтетрагидропиримидин-1-ил)-L-фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из соответствующего трет-бутилового эфира с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta = 7,73$ (д, 2H), 7,58 (д, 1H), 7,34 (д, 2H), 7,21 (д, 2H), 7,17 (д, 2H),

4,79 (кв., 1H), 4,15-4,11 (м, 1H), 3,68-3,63 (м, 2H), 3,48-3,39 (м, 3H), 3,27 (дд, 1H), 3,17 (дд, 1H), 3,15-3,07 (м, 1H), 2,99 (с, 3H), 2,43 (с, 3H), 2,16-2,08 (м, 2H), 2,00-1,98 (м, 1H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 173,4, 172,2, 164,2, 156,4, 144,4, 142,5, 134,1, 133,0, 130,2, 130,0, 127,9, 126,2, 62,1, 53,4, 49,5, 48,9, 47,9, 36,5, 35,9, 30,2, 24,2, 22,0, 21,4.$

Пример 375

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-4-(2-метоксифенил)-L-фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из соответствующего трет-бутилового эфира с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CD_3OD): $\delta = 7,70$ (м, 2H), 7,36 (м, 4H), 7,22 (м, 4H), 6,98 (м, 2H), 4,75 (м, 1H), 4,10 (м, 1H), 3,71 (с, 3H), 3,29 (м, 2H), 3,11 (м, 2H), 2,39 (с, 3H), 1,75 (м, 1H), 1,53 (м, 3H).

^{13}C ЯМР (CD_3OD): $\delta = 174,4, 174,2, 158,1, 145,9, 138,9, 136,7, 135,1, 131,2, 130,9, 130,8, 130,2, 129,9, 129,1, 122,0, 112,6, 63,3, 55,9, 54,6, 50,5, 37,9, 31,5, 25,2, 21,4.$

Пример 376

Синтез N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-4-(2-метоксифенил)-L-фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали из соответствующего трет-бутилового эфира с использованием процедуры, описанной в способе 11.

Данные ЯМР были следующими:

^1H ЯМР (CDCl_3): $\delta 8,41$ (д, 1H), 8,21 (с, 1H), 8,03 (д, 1H), 7,98 (с, 1H), 7,74 (д, 2H), 7,39 (д, 1H), 7,33 (д, 2H), 4,72-4,68 (м, 1H), 4,17-4,13 (м, 1H), 3,54-3,34 (м, 3H), 3,20-3,12 (м, 1H), 2,82 (с, 6H), 2,43 (с, 3H), 2,09-2,04 (м, 1H), 1,79-1,59 (м, 3H).

^{13}C ЯМР (CDCl_3): $\delta = 173,7, 171,8, 154,5, 147,2, 144,4, 137,8, 135,5, 133,2, 130,1, 127,9, 126,4, 62,2, 53,0, 49,5, 38,5, 36,0, 30,3, 24,4, 21,4.$

Пример 377

Синтез бензилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-4-(2,4,5-триоксо-3-(3-хлорфенил)тетрагидроимидазол-1-ил)-L-фенилаланина

Соединение получали путем обработки изопропилового эфира N-(толуол-4-сульфонил)-L-пролил-4-[(3-хлорфенилуреидо)-тетрагидроимидазол-1-ил]-L-фенилаланина оксалилхлоридом в метиленхлориде. Неочищенный продукт очищали путем хроматографии на испарительной колонке (силикагель, 3:2 гексан:EtOAc) с получением белого твердого вещества (0,410 г, 50%).

MS(+) ESI, m/z (%) 746 (100 $[\text{M}+\text{H}]^+$) (746/748 1Cl)

Пример 378

Синтез N-(фенилсульфонил)-D-пролил-L-4-(2,6-диметоксифенил)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали путем присоединения 2,6-диметоксифенилбороновой кислоты к производным 4'-иодфенилаланина с предоставлением диметоксибифенилаланинов, таких как указанное в заголовке соединение, следуя процедурам, в общих чертах описанным в Nagmann et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2001; 11 (20): 2709-2713; Kamenecka et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2002; 12 (16): 2205-2208; и Doherty et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2003; 13 (11): 1891-1895.

Пример 379

Синтез N-(3,5-дихлорфенил-сульфонил)-D-пролил-L-4-[4-(метилкарбониламинобутил)-2,5-диоксоимидазолидин-1-ил]фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали, следуя процедурам, в общих чертах описанным в WO 01/54690.

Пример 380

Синтез N-(2,6-дихлорфенилкарбонил)-L-4-(2,6-диметоксифенил)фенилаланина

Указанное в заголовке соединение получали путем присоединения 2,6-диметоксифенилбороновой кислоты к производным 4'-иодфенилаланина с предоставлением диметоксибифенилаланинов, таких как указанное в заголовке соединение, следуя процедурам, в общих чертах описанным в WO 99/36393 и Sircar et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2002; 10 (6):2051-2066.

Пример 381

Синтез изопропилового эфира N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина

3-Пиридинсульфонилхлорид

Свободное основание указанного в заголовке соединения можно получить из 3-пиридинсульфоновой кислоты (Aldrich) по опубликованной процедуре: Corey et al., J. Org. Chem. 1989, 54(2): 389. Альтернативно, гидрохлорид указанного в заголовке соединения можно получить из 3-пиридинсульфоновой кислоты (Aldrich) по опубликованным процедурам: Crowell et al., J. Med. Chem. 1989, 32 (11): 2436; Karaman et al., J. Am. Chem. Soc. 1992, 114 (12): 4889.

L-3,3-Диметил-4-тиапролин

Указанное в заголовке соединение можно получить из L-пеницилламина (Aldrich) по опубликованным процедурам: Samanen et al., J. Med. Chem. 1989, 32(2): 466; Nagasawa et al., J. Med. Chem. 1984, 27(5): 591.

N-(3-Пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролин

Буфер с pH, равным 7,4, получали растворением двухзамещенного фосфата натрия (43,2 г, 0,304 моль) и однозамещенного фосфата калия (11,8 г, 0,0870 моль) в H₂O, с получением объема 1,0 л. К раствору L-3,3-диметил-4-тиапролина (25,4 г, 0,157 моль) в 700 мл буфера с pH=7,4, охлажденному до 0°C, добавляли при перемешивании раствор 3-пиридинсульфонилхлорида (28,0 г, 0,157 моль) в 300 мл CH₂Cl₂. Смесь перемешивали в течение 24 ч при нагревании до комнатной температуры и подкисляли до pH, равного 2, добавлением 3M H₂SO₄, с осаждением желтого твердого вещества. Желтое твердое вещество выделяли фильтрацией обеих фаз, и слой CH₂Cl₂ отделяли и упаривали с получением дополнительного желтого твердого вещества. Объединенное желтое твердое вещество перемешивали в течение 1 ч в 700 мл H₂O для растворения ассоциированных неограниченных солей, и опять выделяли фильтрацией. Два водных слоя объединяли и экстрагировали EtOAc (3×500 мл). Слои EtOAc промывали солевым раствором, обрабатывали сульфатом натрия, фильтровали и упаривали с получением дополнительного желтого твердого вещества. Все аликвоты желтого твердого вещества объединяли с получением 36,1 г (76%) N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролина.

Изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-L-тирозина

Гидрохлорид 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида (4,83 г, 0,0253 моль) добавляли к охлажденному до 0°C раствору N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролина (6,37 г, 0,0211 моль), гидрохлорида изопропилового эфира L-тирозина (5,48 г, 0,0211 моль), 1-гидроксibenзотриазола (5,69 г, 0,0421 моль) и 4-метилморфолина (2,32 мл, 2,13 г, 0,0211 моль), который был получен в 125 мл DMF. Смесь перемешивали в течение 16 ч при нагревании до комнатной температуры, и добавляли 200 мл EtOAc и 200 мл H₂O. Смесь встряхивали, и отделяли водный слой, и органический слой промывали 0,2M уксусной кислотой (2×100 мл), H₂O (2×100 мл),

насыщенным раствором NaHCO_3 (2×100 мл), H_2O (2×100 мл) и соевым раствором (2×100 мл). Органический слой обрабатывали сульфатом натрия, фильтровали и упаривали с получением 9,40 г (86%) изопропилового эфира N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-L-тирозина в виде желтой пены.

¹H ЯМР (CDCl_3 , 300 МГц): δ 9,08 (ушир.с, 1H), 8,86 (ушир.с, 1H), 8,16 (дт, $J_d=8,1$ Гц, $J_t=2,0$ Гц, 1H), 7,51 (дд, $J=8,0$ Гц, $J=4,6$), 7,07 (д, $J=8,1$ Гц, 2H), 6,87 (д, $J=3,1$ Гц, 1H), 6,74 (д, $J=8,1$ Гц, 2H), 5,96 (ушир.с, 1H), 5,06 (септ., $J=6,3$, 1H), 4,83 (дт, $J_d=6,0$ Гц, $J_t=7,8$ Гц, 1H), 4,57 (д, $J=9,3$ Гц, 1H), 4,46 (д, $J=9,3$ Гц, 1H), 3,91 (с, 1H), 3,09 (дд, $J=14,1$ Гц, $J=5,4$ Гц, 1H), 2,98 (дд, $J=14,1$ Гц, $J=7,5$ Гц, 1H), 1,25 (т, $J=6,6$ Гц, 6H), 1,18 (с, 3H), 1,13 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl_3 , 75 МГц): δ 170,5, 168,0, 155,2, 154,2, 148,6, 135,9, 130,7, 127,6, 124,1, 115,5, 105,5, 73,7, 69,7, 54,7, 53,4, 50,5, 37,5, 29,2, 23,7, 21,62, 21,55.

Изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина

Изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-L-тирозина (1,51 г, 2,89 ммоль) и 4-нитрофенилхлорформиат (0,58 г, 2,89 ммоль) растворяли в 40 мл CH_2Cl_2 , и раствор перемешивали в течение 15 мин при охлаждении во взвеси сухого льда в 4:1 $\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$ при температуре -15°C . К раствору добавляли Et_3N (1,00 мл, 0,73 г, 7,23 ммоль) при перемешивании в течение 2 мин, и раствор перемешивали в течение 1 ч при -15°C . К полученной в результате суспензии добавляли 1-метилпиперазин (0,32 мл, 0,289 г, 2,89 ммоль) при перемешивании в течение 1 мин, и смесь перемешивали в течение 16 ч при нагревании до комнатной температуры. Смесь разбавляли 40 мл гексана, и промывали 10% (мас./об.) K_2CO_3 (4×50 мл) до исчезновения в водном слое желтой окраски (4-нитрофенол).

Органический слой промывали соевым раствором (75 мл), обрабатывали сульфатом натрия, фильтровали и упаривали с получением светло-желтого остатка. Остаток очищали хроматографией на силикагеле с использованием 70:25:5 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}/\text{EtOH}$ с получением 1,53 г (84%) изопропилового эфира N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозин в виде бесцветной пены.

¹H ЯМР (CDCl_3 , 300 МГц): δ 9,09 (д, $J=2,1$ Гц, 1H), 8,87 (дд, $J=4,9$ Гц, $J=1,6$ Гц, 1H), 8,16 (дт, $J_d=8,4$ Гц, $J_t=2,0$ Гц, 1H), 7,51 (дд, $J=8,2$ Гц, $J=4,9$ Гц, 1H), 7,21 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 7,02 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 6,89 (д, $J=7,8$ Гц, 1H), 5,05 (септ., $J=6,4$ Гц, 1H), 4,84 (кв., $J=7,0$ Гц, 1H), 6,59 (д, $J=9,9$ Гц, 1H), 4,47 (д, $J=9,9$ Гц, 1H), 3,90 (с, 1H), 3,67 (ушир.с, 2H), 3,58 (ушир.с, 2H), 3,18-3,03 (м, 2H), 2,45 (т, $J=10,2$ Гц, 4H), 2,34 (с, 3H), 1,26 (д, $J=6,0$ Гц, 3H), 1,23 (д, $J=6,6$ Гц, 3H), 1,20 (с, 3H), 1,17 (с, 3H).

¹³C ЯМР (CDCl_3 , 75 МГц): δ 170,4, 167,8, 154,3, 153,7, 150,6, 148,7, 135,8, 133,1, 133,0, 130,4, 133,0, 121,8, 73,7, 69,7, 54,8, 54,6, 54,5, 50,5, 46,1, 44,3, 43,8, 37,6, 29,1, 23,8, 21,6, 21,5.

9.2. Скрининг средств *in vivo* и *in vitro*

Пример А

Анализ *in vitro* для определения связывания соединений-кандидатов с VLA-4

Для определения связывания соединений-кандидатов с интегрином $\alpha_4\beta_1$

применяли анализ *in vitro*. Связывающиеся в данном анализе соединения можно применять для определения уровней VCAM-1 в биологических образцах посредством традиционных анализов (например, анализах конкурентного связывания). Данный анализ чувствителен к таким низким величинам IC_{50} как приблизительно 1 нМ.

Активность интегрин $\alpha_4\beta_1$ измеряли взаимодействием растворимой VCAM-1 с клетками Jurkat (например, №№ TIB 152, TIB 153 и CRL 8163 в Американской коллекции типовых культур), линии человеческих Т-клеток, экспрессирующих высокие уровни интегрин $\alpha_4\beta_1$. VCAM-1 взаимодействует с клеточной 5 поверхностью зависимым от интегрин $\alpha_4\beta_1$ образом (Yednock et al., J. Bio.Chem., 1995, 270:28740).

Рекомбинантная растворимая VCAM-1 экспрессировалась в виде химерного гибридного белка, содержащего на N-концевом участке семь внеклеточных 10 доменов VCAM-1 и на C-концевом участке константную область тяжелой цепи человеческого IgG₁. Гибридный белок VCAM-1 получали и очищали способом, описанным Yednock, выше.

Клетки Jurkat культивировали в RPMI 1640, дополненной 10% эмбриональной телячьей сывороткой, пенициллином, стрептомицином и глутамином, как 15 описано Yednock, выше.

Клетки Jurkat инкубировали с 1,5 мМ MnCl₂ и 5 мкг/мл антител 15/7 в течение 30 минут на льду. Mn²⁺ активирует рецептор, усиливая связывание лиганда, а 15/7 20 представляет собой моноклональное антитело, узнающее активированную/связанную с лигандом конформацию интегрин $\alpha_4\beta_1$ и запирающее молекулу в данной конформации, таким образом, стабилизируя взаимодействие VCAM-1/интегрин $\alpha_4\beta_1$. Yednock et al., выше. Другими исследователями (Luque et al., 1996, J. Bio. Chem., 271: 11067) получены подобные 25 антителу 15/7 антитела и их можно применять в этом анализе.

Затем клетки инкубировали в течение 30 минут при комнатной температуре с соединениями-кандидатами в разных концентрациях, находящихся в диапазоне от 66 мкг/мл до 0,01 мкг/мл, с применением стандартного пятикратного 30 последовательного разведения. Затем к клеткам Jurkat добавляли 15 мкл растворимого рекомбинантного гибридного белка VCAM-1 и инкубировали 30 минут на льду (Yednock et al., выше).

Затем клетки дважды отмывали, ресуспендировали с конъюгированными с PE козьими F(ab')₂ к Fc IgG мыши (Immunotech, Westbrook, ME) в соотношении 1:200 и 35 инкубировали в темноте 30 минут во льду. Клетки дважды отмывали и анализировали стандартным способом на активируемом флуоресценцией клеточном сортере ("FACS"), описанным Yednock et al., выше.

Соединения с величиной IC₅₀ меньшей, чем приблизительно 15 мкМ, обладают аффинностью связывания с $\alpha_4\beta_1$.

При тестировании в данной анализе каждое из соединений примеров 1-381 (или соответствующие карбоновые кислоты эфирных соединений, т.е. пролекарственные средства) обладало равной 15 мкМ или меньшей величиной IC₅₀.

Пример В

Анализ насыщения *in vitro* для определения связывания соединений-кандидатов с $\alpha_4\beta_1$

Ниже описан анализ *in vitro* для определения уровней соединения в плазме, необходимых для его активности в описанной в следующем примере модели экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита ("EAE") или в других моделях 50 *in vivo*.

Клетки Jurkat в стадии логарифмического роста отмывают и ресуспендируют в нормальной плазме животных, содержащей 20 мкг/мл антитела 15/7 (описаного в примере выше).

Клетки Jurkat двукратно разводят или в образцах нормальной плазмы, содержащих известные количества соединения-кандидата в различных концентрациях, находящихся в диапазоне от 66 мкг/мл до 0,01 мкг/мл, с применением стандартного 12-точечного серийного разведения для стандартной кривой, или в образцах плазмы, полученной из периферической крови животных, подвергнутых лечению соединением-кандидатом.

Затем клетки инкубируют 30 минут при комнатной температуре, дважды отмывают в фосфатно-солевом буфере ("PBS"), содержащем 2% эмбриональной телячьей сыворотки и по 1 мМ хлорида кальция и хлорида магния (среда для анализа), для удаления несвязавшегося антитела 15/7.

Затем к клеткам добавляют связанные с фикоэритрином козы F(ab')₂ к Fc IgG мыши в соотношении 1:200 (Immunotech, Westbrook, ME), у которых предотвращали любую неспецифическую перекрестную реактивность посредством совместной инкубации с 5% сывороткой изучаемых видов животных, и инкубируют 30 минут в темноте при 4°C.

Клетки дважды отмывают средой для анализа и ресуспендируют в ней же. После этого их анализируют с применением стандартного анализа на активируемом флуоресценцией клеточном сортере, как описано у Yednock et al., J Bio. Chem., 1995, 270: 28740.

Данные отображают в виде графика зависимости флуоресценции от дозы, например, обычным образом в виде кривой доза-ответ. Уровни доз, приводящие к верхнему плато кривой, представляют собой уровни, необходимые для достижения эффективности в модели *in vivo*.

Данный анализ также можно применять для определения плазматических уровней, необходимых для насыщения сайтов связывания других интегринов, таких как интегрин $\alpha_9\beta_1$, который является наиболее близкородственным интегрину $\alpha_4\beta_1$ (Palmer et al., 1993, J.Cell Bio., 123: 1289).

Таким образом, для измерения связывания интегрин $\alpha_9\beta_1$ описанный выше анализ можно проводить, применяя вместо клеток Jurkat линию клеток карциномы толстой кишки человека SW 480 (ATTC № CCL228), трансфицированную кДНК, кодирующей интегрин α_9 (Yokosaki et al., 1994, J Bio. Chem., 269: 26691). В качестве контроля можно применять клетки SW 480, экспрессирующие другие субъединицы α и β_1 .

С применением данного анализа, для соединений по настоящему изобретению, тестируемых в данном анализе, устанавливали плазматические уровни, необходимые для достижения эффективности в моделях для $\alpha_4\beta_1$ и $\alpha_9\beta_1$ *in vivo*.

Таким образом, в еще одном аспекте данное изобретение относится к лечению заболевания у пациента, относящегося к млекопитающим, где заболевание опосредовано $\alpha_9\beta_1$ и где способ включает в себя введение указанному выше пациенту терапевтически эффективного количества соединения по данному изобретению. Такие соединения предпочтительно вводят в фармацевтической композиции, описанной здесь выше. Эффективное суточное дозирование зависит от возраста, веса, состояния пациента, где факторы может легко установить лечащий врач. Однако в предпочтительном осуществлении соединения вводят в количестве приблизительно от 20 до 500 мкг/кг в сутки.

Пример 1

Уменьшение клинических симптомов экспериментального аллергического энцефаломиелимита с применением изопропилового эфира N-[N-(3-

пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина

Экспериментальный аллергический энцефаломиелит представляет собой экспериментально индуцированное, опосредованное клетками, аутоиммунное воспалительное нарушение центральной нервной системы (ЦНС), являющееся моделью рассеянного склероза на животных. Как правило, инфильтраты состоят из лимфоцитов и макрофагов, хотя иногда наблюдают полиморфоядерные клетки (Traugott et al., 1985 Cell. Immunol. 91: 240-54; Traugott et al., 1986 Cell. Immunol. 99: 395-410). ЕАЕ активно индуцировали у восприимчивых животных инъекцией антигенов гомогенизированной ЦНС с полным адьювантом Фрейнда (ПАФ). Кроме того, ЕАЕ можно пассивно перенести активированными специфичными к миелину Т-клетками от активно иммунизированного животного (Paterson, 1960, J Exp. Med. 111: 119-36). Восприимчивость к заболеванию зависит не только от индуцирующего антигена и применяемого вида животного, но также и от возраста, пола и коммерческого источника животных (Tsunoda et al., 1996, J. Neuropath. Exp. Neurol. 55: 673-86).

Так же как при РС, клинически ЕАЕ может проявляться в нескольких различных формах. В некоторых моделях на животных развивается острое, монофазное заболевание с последующим спонтанным выздоровлением. Однако в других моделях у животных развивается хроническое рецидивирующее заболевание, характеризующееся периодически повторяющимися клиническими атаками, периодами восстановления между ними (Tsunoda et al., 1996). Хроническую прогрессирующую форму ЕАЕ у взрослых морских свинок Хартли можно вызвать способом иммунизации посредством всей ЦНС в адьюванте (Wisniewski et al., 1983, J. Neuropath. & Exp. Neurol. 42: 243-55; Karlik et al., 1986, Neurology 36: 1112-4; Karlik et al., 1993, Magn. Reson. Med. 30: 326-31), при применении которого животные демонстрируют прогрессирующее ухудшение клинических симптомов без периодов восстановления или ремиссии. Гистологически, большие сливающиеся очаги демиелинизации сопровождаются постоянной инфильтрацией ЦНС моноклеарными клетками.

Материалы и методы: животные и индукция ЕАЕ.

Самок морских свинок Хартли (Charles River Canada, St. Constant, Quebec) содержали в среде с контролируемым освещением и не ограничивали в пище и воде. ЕАЕ индуцировали у 50 животных (200-250 г) внутрикожной инъекцией 0,6 мл смеси гомогенизированной изологичной ткани ЦНС и полного адьюванта Фрейнда в соотношении 1:1 с добавлением 10 мг/мл *Mycobacterium tuberculosis* (Difco) в затылочную область. Животных ежедневно оценивали слепым способом с применением следующей 4-балльной клинической шкалы: 0 = патологии нет; 0,5 = потеря массы в течение более чем одних последовательных суток; 1 = атаксия и сниженный установочный рефлекс; 2 = парез задних конечностей, недержание мочи, уплотнение каловых масс; 3 = паралич; 4 = окончательный паралич.

Режимы лечения. Изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина представляет собой низкомолекулярное соединение, с высокой аффинностью связывающееся с интегрином α_4 человека и морской свинки (IC_{50} для ингибирования клеточной адгезии к VСAM = 1 нм). Заболевание у животного считали хроническим на 40 сутки после иммунизации, и, таким образом, лечение начинали в этот период и продолжали 10, 20, 30 или 40 суток. Животным вводили 0,5 мл физиологического

раствора (растворитель для изопропилового эфира N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина; n=20) или 30 мг/кг изопропилового эфира N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозин (n=25) два раза в сутки.

При таком режиме дозирования поддерживали постоянные уровни насыщения рецепторов изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина (>10 нМ). Одной подгруппе животных вводили изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина в течение 30 суток, после чего лечение прекращали, а животных содержали дополнительные 10 суток (n=5). Лечение всех животных проводили подкожным способом.

Умерщвление подопытных животных и гистологический анализ. Животных с хроническим ЕАЕ, не подвергавшихся лечению (n=5), и контрольную группу без ЕАЕ (n=5) умерщвляли на 40 суток. Далее после каждого интервала лечения длительностью 10 суток умерщвляли по 5 животных из каждой группы (0,25 мл фенобарбитала натрия), образцы крови собирали для анализа FACS (см. ниже), головной мозг и спинной мозг разрезали и разделяли на части. Использовали три спинномозговых части, соответствующих поясничной, грудной и шейной областям спинного мозга. Головной мозг разрезали на пять поперечных срезов. Первые три проксимальных среза объединяли в один блок, а два дистальных в другой. Ткани фиксировали в 10% формалине и помещали в парафин. Срезы толщиной пять мкм окрашивали гематоксилин-эозином (Г-Э) или солохром-R-цианином (SCR) и относили с применением слепого метода в каждую из четырех категорий: (1) менингеальное воспаление, (2) периваскулярная инфильтрация, (3) энцефалит или (4) миелит и демиелинизация (таблица 6). Общий патологический балл представляет собой сумму баллов (из возможных 20) всех 5 срезов ЦНС каждого животного.

Таблица 6
Шкала патологических очков

М:	Воспалительная реакция в мозговых оболочках
0:	изменений нет
1:	периваскулярная инфильтрация и/или инфильтрация мозговой оболочки мононуклеарными клетками, вовлечены 1-3 сосуда
2:	вовлечены 4-6 сосудов
3:	вовлечены более 6 сосудов
4:	плотная инфильтрация мозговых оболочек с вовлечением почти всех или всех кровеносных сосудов
Р:	Периваскулярная инфильтрация паренхимы
0:	изменений нет
1:	1-3 паренхимных сосуда с инфильтрованными пространствами Вирхова-Робина
2:	вовлечены 4-6 сосудов
3:	вовлечены более 6 сосудов
4:	вовлечены фактически все или почти все сосуды
Е:	Энцефалит или миелит
0:	проникновения в нейральную паренхиму нет; клетки микроглии или воспалительные клетки проникают в нейральную паренхиму
1:	немного единичных клеток
2:	проникновение клеток из нескольких периваскулярных пространств
3:	вовлечение большой области нейральной паренхимы
4:	срез практически полностью инфильтрирован
Д:	Демиелинизация, ремиелинизация или миелиновый дебрис
0:	демиелинизации нет
1:	единственный очаг демиелинизации или миелиновый дебрис под мягкой мозговой оболочкой

2:	несколько небольших очагов демиелинизации
3:	одна большая сливная область демиелинизации
4:	несколько больших сливных областей демиелинизации

5 Чтобы оценить наблюдаемые в спинном мозге отклонения от нормы, срезы, окрашенные Г-Э, делили на 12 репрезентативных круглых областей. В каждой области количество клеток в поле зрения $0,12 \text{ мм}^2$ считали с применением программного обеспечения для анализа изображений Sigma Scan Pro image analysis software (SPSS Inc.) и вычисляли среднее количество клеток во всех 12 областях для
10 всего спинного мозга (36 полей зрения для каждого животного). Необходимо отметить что, так как подсчитывали все клеточные ядра, множество клеток в дополнение к инфильтратам может включать в себя нейроны и глиальные клетки. Таким образом, количество клеток у животных без ЕАЕ служило исходным уровнем.

15 Способ количественной обратной транскрипции-ПЦР IL-2, IL-10 и MCP-1. РНК выделяли из 30 мг замороженного спинного мозга морской свинки, с применением коммерческого набора для выделения тотальной РНК S.N.A.P.TM (простое получение нуклеиновой кислоты) (Invitrogen) в соответствии с рекомендациями производителя, модифицированный добавлением второй стадии обработки ДНКазой с последующей
20 дополнительной очисткой на колонке S.N.A.P. Посредством добавления вторичной обработки ДНКазой, авторы изобретения обнаружили, что загрязнения ДНК для данных образцов и анализов последовательно не наблюдали, что измеряли с применением анализа ОТ-ПЦР с отрицательным контролем обратной
25 транскриптазы.

Последовательности праймеров/зондов и концентрации IL-2, IL-10 и MCP-1, а также использованные стандартные РНК, приведены в таблице 7. ОТ-ПЦР ставили в трех экземплярах с применением ABI PRISM® 7700 Sequence Detection System. В 50 мкл реакционной смеси содержится от 10 до 800 нг тотальной РНК и праймеры и
30 зонды в указанных выше концентрациях в реакционном буфере, содержащем 6,67% глицерина (Amresco); 5,5 mM MgCl₂; 300 мкМ дАТФ, дЦТФ, дГТФ и дУТФ; 100 нМ зонда; 1,25 единиц ДНК-полимеразы AmpliTaq Gold® (Applied Biosystems); 1× буфер TaqMan® Buffer A (набор реагентов TaqMan® PCR Core reagents kit, Applied
35 Biosystems), 20 единиц ингибитора РНКазы (Roche); 1,25 единиц обратной транскриптазы вируса мышиной лейкемии (MuLV) (Applied Biosystems). Обратную транскрипцию РНК проводили при 48°C в течение 30 минут с последующей денатурацией при 95°C в течение 10 минут. Проводили 40 температурных циклов ПЦР, состоящих из 95°C в течение 15 сек, затем 60°C в течение 1 минуты. Каждый
40 планшет включал стандартную кривую, с применением стандартных РНК, перечисленных в таблице 7, и два дополнительных контрольных образца: 1) образец РНК положительного контроля, использованный во всех планшетах, 2) контроль без матрицы (NTC).

45

Таблица 7	
Среднее количество клеток в спинном мозге	
Группа, подвергавшаяся лечению	Среднее количество клеток/ $0,12 \text{ мм}^2$
Без ЕАЕ	61 ± 3,2
D40 контроль	107 ± 6,1
50 D50 физиологический раствор	138 ± 8,3
D60 физиологический раствор	137 ± 8,3
D70 физиологический раствор	143 ± 6,7
D80 физиологический раствор	113 ± 4,8

D50	изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина	97 ± 3,9
D60	изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина	86 ± 4,2
D70	изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина	89 ± 8
D80	изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина	70 ± 4

Коэффициент корреляции стандартных кривых всегда составлял более чем 0,99. Коэффициенты вариации для образцов-триплетов составлял менее чем 0,2. Так как РНК, применяемая для построения стандартных кривых, представляет собой гетерогенную смесь РНК, содержащую постоянное, но неизвестное количество мРНК-мишени, подсчитанное количество является относительным.

Анализ FACS. На 80 сутки после иммунизации у животных без ЕАЕ, у животных с введением физиологического раствора, с введением изопропилового эфира N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина и у животных на 10 сутки после прекращения лечения изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина собирали образцы крови в гепарине. При проведении всех процедур образцы содержали при 4°C. 150 мкл образца подвергали воздействию первых антител в течение 30 минут, дважды промывали, после чего инкубировали с козьими конъюгированными с PE Fc к IgG мыши в присутствии 5% сыворотки морской свинки (Beckman Coulter № PN EM055 1). Эритроциты лизировали лизирующим раствором Becton-Dickinson и образцы исследовали на проточном цитометре FACScan (Becton Dickinson, Mountain View, CA), выделяя различные популяции клеток при помощи светорассеяния.

Статистический анализ. Статистическую обработку проводили с применением программного обеспечения SigmaStat v2 (SPSS Inc.). Клинические баллы оценивали с применением критерия суммы рангов Манна-Уитни, тогда как патологические баллы оценивали посредством двустороннего ANOVA. Количественные нарушения сравнивали с применением рангового ANOVA по Крускалу-Уоллису. В каждом случае значимым полагали $p < 0,05$. Линейную регрессию проводили на среднем количестве клеток спинного мозга.

РЕЗУЛЬТАТЫ: Уменьшение клинических симптомов. Клинические признаки заболевания у животных начинали проявляться на 9 сутки после иммунизации и продолжали проявляться до 40-х суток. В данной точке заболевание рассматривали как хроническое. Период лечения начинали на 40 сутки, и он длился минимум от 10 суток и максимум до 40 суток. Несмотря на то, что у получавших физиологический раствор животных вплоть до конца заболевания продолжали прогрессировать клинические симптомы, у животных, получавших изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина, с 2-3 суток после первой обработки, начинало происходить уменьшение клинических симптомов (фиг. 1А). У некоторых животных с установленным клиническим баллом до начала лечения в размере 2 изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина уменьшал парез, и животные могли в течение периода лечения пользоваться своими задними конечностями (т.е. возврат к клиническому баллу 1). В зависимости от продолжительности лечения некоторые животные с предварительно установленными признаками заболевания во время получения изопропилового эфира N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-

тиапролил]-О-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина выглядели полностью здоровыми. В течение периода лечения средние клинические баллы подвергавшихся лечению изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-О-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина животных являлись

5 значимо меньшими, чем средние клинические баллы получавших физиологический раствор животных ($p < 0,001$, критерий суммы рангов Манна-Уитни).

У подвергавшейся лечению изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-О-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина группы

10 выявляли небольшое кратковременное усиление признаков, происходившее во временном интервале с центром на 54 сутки после иммунизации (фиг.1А). У двух животных выявляли умеренное колебание степени клинических симптомов; они колебались от полного отсутствия клинических признаков (балл 0) до очень слабой атаксии (балл 1). Однако ни одно из животных, не поддающихся терапии, так как

15 авторы изобретения ранее исследовали с антителами к интегринам α_4 , не являлось животным, прекратившим отвечать на терапию в основном вследствие отторжения морскими свинками мышиноного или гуманизированного антитела. Дополнительных проблем (таких как воспаление участка инъекции) при лечении животных в течение

20 продолжительных периодов времени изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-О-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина не возникало.

В одной подгруппе животных изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-О-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина вводили в

25 течение 30 суток и затем отменяли, а животным в течение последних 10 суток эксперимента проводили инъекции физиологического раствора. При отмене изопропилового эфира N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-О-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина возобновлялось прогрессирующее

30 клинических признаков, подобно клиническому течению у животных, получавших в течение курса лечения физиологический раствор (фиг.1В). В течение периода между 70 и 80 сутками после иммунизации средний клинический балл у животных после лечения изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-О-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина являлся значимо

35 большим, чем у животных, получавших изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-О-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина на всем протяжении периода лечения ($p < 0,05$, критерий суммы рангов Манна-Уитни). Таким образом, изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-О-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина успешно вводили в течение периода вплоть до 40 суток без

40 каких-либо неблагоприятных побочных эффектов, и он поддерживал уменьшение клинических признаков, ассоциированных с хроническим прогрессирующим ЕАЕ.

РЕЗУЛЬТАТЫ: Уменьшение патологических отклонений.

Патологические отклонения оценивали на окрашенных Г-Э и SCR срезах

45 головного и спинного мозга. На фиг.2 рисунки с левой стороны представляют собой срезы, окрашенные SCR, окрашивающим миелин синим цветом ($\times 40$). Рисунки с правой стороны представляют собой окрашенные Г-Э срезы, сделанные из задней

50 срединной области соответствующей фотографии SCR, при большом увеличении ($\times 250$) (фиг.2). Срезы, представленные на рисунках А и В фиг.2 получены от здоровой морской свинки и на них не видно ни воспаления, ни демиелинизации. На 40-е сутки после иммунизации у животных с хроническим заболеванием

наблюдали сильное менингеальное и периваскулярное воспаление, а также один или несколько больших расположенных под мягкой оболочкой мозга очагов демиелинизации (фиг.2С). Плотность инфильтрирующих клеток являлась заметно увеличенной (фиг.2D). При прогрессировании заболевания наблюдаемые патологические отклонения становились более сильными. На 60-е сутки после иммунизации у контрольных животных, 20 суток получавших физиологический раствор, наблюдали сильную менингеальную инфильтрацию, большие области миелита и фокальную демиелинизацию (фиг.2E, F). На 80-е сутки после иммунизации практически все спинальные срезы являлись инфильтрированными и демиелинизированными, включая в себя инвазию некоторых областей серого вещества (фиг.2I, J). Напротив, у животных, 20 суток получавших лечение изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина, на 60-е сутки после иммунизации наблюдали значительно меньшие области демиелинизации и очень небольшую менингеальную и периваскулярную клеточную инвазию (фиг.2G, H). После 40 суток лечения изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина восстановление от патологии все еще оказывалось большим; у животных почти не наблюдали ни менингеальной, ни периваскулярной инфильтрации, а миелин оставался интактным (фиг.2K, L).

Всего для каждого животного слепым методом подсчитывали баллы для пяти областей, а объединенный патологический балл представлял собой общий балл для всех пяти срезов в каждой из четырех категорий (менингеальное воспаление, периваскулярная инфильтрация, миелит и демиелинизация; фиг.3). В течение периода лечения у получавших изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина животных наблюдали значимое уменьшение среднего патологического балла во всех четырех категориях по отношению к получавшим физиологический раствор животным ($p < 0,001$, двусторонний ANOVA). Когда отменяли изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина и животных содержали в течение 10 суток без лечения, средний объединенный патологический балл во всех четырех категориях являлся значимо большим, чем у животных, которым продолжали вводить низкомолекулярное соединение в течение периода лечения (фиг.3; $p < 0,05$, ранговый ANOVA по Крускалу-Уоллису с тестом SNK).

РЕЗУЛЬТАТЫ: Количественный анализ патологических отклонений.
Уменьшение патологических отклонений, количественно определенное выше, количественно подтверждали в спинном мозге. Среднее количество клеток подсчитывали в 12 репрезентативных областях площадью $0,12 \text{ мм}^2$ на окрашенных Г-Э срезах поясничного, грудного и шейного отделов спинного мозга и объединяли для проверки всего спинного мозга (фиг.4). У всех животных с ЕАЕ, не подвергавшихся лечению, наблюдали значимо большее количество клеток, чем у животных без ЕАЕ, что означало, что клеточная инфильтрация, как и ожидалось, в течение заболевания увеличивается ($p < 0,001$, двусторонний ANOVA). Уже после 10 суток лечения изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина наблюдали значимое уменьшение количества клеток и оно сохранялось на протяжении 20, 30 и 40 суток лечения по отношению к животным, получавшим физиологический раствор ($p < 0,001$,

двусторонний ANOVA). Кроме того, у животных, подвергавшихся лечению изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина в течение 20, 30 или 40 суток, среднее количество клеток являлось значимо меньшим, чем у контрольных животных с хроническим течением заболевания ($p < 0,05$, ранговый ANOVA по Крускалу-Уоллису с тестом SNK), а после 40 суток лечения изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина среднее количество клеток в спинном мозге не отличалось от среднего количества клеток в спинном мозге животных без ЕАЕ. Линейная регрессия данных средних демонстрирует прогрессирующее уменьшение воспалительных клеток в спинном мозге ($r^2 = 0,90$). На основе наклона данной линии авторы смогли подсчитать скорость уменьшения клеток в размере 8 клеток/мм²/сутки. После отмены изопропилового эфира N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина у животных, которым дополнительные 10 суток вводили физиологический раствор, снова наблюдали значимое увеличение среднего количества клеток ($p < 0,05$, ранговый ANOVA с тестом SNK).

РЕЗУЛЬТАТЫ: Количественный ПЦР. Количественный ПЦР проводили на поясничных срезах спинного мозга для оценки уровней IL-2, IL-10 и MCP-1, и его результаты подтверждали уже обсуждавшееся уменьшение патологических признаков. У животных с вводимым физиологическим раствором количество IL-2 в течение хронической фазы заболевания увеличивалось. Напротив, у животных, получавших изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина, детектируемого уровня РНК IL-2 не выявляли. После отмены изопропилового эфира N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина количество IL-2 в спинном мозге возвращалось к уровням, сравнимым с животными, получавшими физиологический раствор. В отношении IL-10 и MCP-1 наблюдали подобные результаты. Доказано значимое уменьшение уровней РНК цитокинов в течение лечения с последующим возвратом к высоким уровням после отмены ингибитора (фиг.5).

РЕЗУЛЬТАТЫ: Анализ FACS. Как определено посредством анализа FACS, лечение животных с ЕАЕ изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина приводило к сильному увеличению содержания в циркулирующей крови лимфоцитов с обнаруживаемым интегрином α_4 по сравнению с животными, получавшими физиологический раствор. Данные результаты позволяют предположить, что активированные периферической иммунизацией лимфоциты не могли проникнуть в ЦНС в присутствие изопропилового эфира N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина и накапливались в циркулирующей крови (фиг.6 и 7А). В согласии с данным предположением, когда отменяли изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина и опять начиналось воспаление ЦНС, содержание в циркулирующей крови лимфоцитов с обнаруживаемым интегрином α_4 возвращалось к уровням животных с вводимым физиологическим раствором (фиг.7А). Различимых субпопуляций моноцитов с высоким и низким уровнем интегрин α_4 не выявляли, однако общая экспрессия интегрин α_4 на циркулирующих моноцитах у животных с ЕАЕ увеличивалась

(фиг.7В). Изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина не влиял на данное увеличение, дополнительно указывая на то, что данное лечение не ингибирует периферический иммунный ответ.

5 Пример 2

Самопроизвольная ремиелинизация после длительного ингибирования интегрин α_4 при хроническом ЕАЕ

Для определения возможности супрессирования самопроизвольного восстановления миелина при экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите присутствием воспалительных клеток изучали модель блокирования вхождения иммунных клеток в центральную нервную систему посредством ингибирования блоков интегрин альфа-4 бета-1 ($\alpha_4\beta_1$) (VLA-4). Парализованных морских свинок на развернутой, демиелинизирующей стадии ЕАЕ обрабатывали специфическим ингибитором $\alpha_4\beta_1$, изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина (Piraino et al., J. Neuroimmunol. 2002, 131: 147-159), и авторы настоящего изобретения обнаружили, что: (1) в 87% очагов обнаружены доказательства ремиелинизации после 40 суток обработки; (2) в 50% всех очагов повреждения произошло восстановление миелина и (3) у 50% животных восстановилась моторная функция. У животных, обработанных носителем, значимого восстановления или возвращения моторной функции не наблюдали. Данные результаты указывают, что длительное ингибирование воспаления ЦНС в отсутствие восстановления миелина-мишени может содействовать механизмам самопроизвольной ремиелинизации.

Методы

Животные и индукция заболевания. Самок морских свинок Хартли (200-250 г, Charles River Canada, St. Constant, Quebec) содержали в среде с контролируемым освещением и температурой и не ограничивали в пище и воде. ЕАЕ индуцировали внутрикожной инъекцией 0,6 мл смеси гомогенизированной изологичной ткани ЦНС и полного адьюванта Фрейнда (Difco, Detroit, MI) в соотношении 1:1 с добавлением 10 мг/мл *Mycobacterium tuberculosis* (Difco) в затылочную область. Признаки заболевания у животных начинали выявлять на 9 сутки и рассматривали заболевание как хроническое на 40 сутки после иммунизации. Животных ежедневно взвешивали и оценивали слепым способом с применением следующей 4-балльной клинической шкалы: 0 = патологии нет; 0,5 = потеря массы в течение более чем одних последовательных суток; 1 = атаксия и сниженный установочный рефлекс; 2 = парез задних конечностей, недержание мочи, уплотнение каловых масс; 3 = паралич; 4 = окончательный паралич.

Критерии для лечения. Животных для лечения выбирали на основании тяжести заболевания исходя из двух критериев: (1) животные должны были находиться в хронической стадии заболевания (т.е., по меньшей мере, 40 суток после иммунизации) и (2) животные до начала периода лечения должны были достигнуть клинического балла 2 (т.е. пареза задних конечностей). В последнем эксперименте авторов изобретения с данной хронической прогрессирующей моделью ЕАЕ у 95% хронически больных животных с клиническим баллом 2 в спинном мозге выявляли от умеренной до тяжелой демиелинизации с диапазоном от нескольких небольших очагов демиелинизации до одного или нескольких больших сливающихся очагов. Строгое соблюдение данных критериев обеспечивало наилучшую возможность для потери миелина до начала периода лечения.

Режимы лечения. Животных, удовлетворявших обоим критериям для лечения, лечили в течение периодов 10, 20, 30 или 40 суток. Изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина представляет собой низкомолекулярное соединение (молекулярная масса ~500 Да), с высокой аффинностью связывающееся с интегрином α_4 человека и морской свинки (IC_{50} для ингибирования клеточной адгезии к VCAM-1 высокой плотности в присутствии 100% = 1-10 нм). Животные в период лечения дважды в сутки получали или физиологический раствор (n=16) или изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина (30 мг/кг, n=12). При таком режиме дозирования все время поддерживали уровни насыщения рецепторов изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина (>10 нм). Оба средства вводили подкожно. Кроме того, группу животных умерщвляли в сутки достижения клинического балла 2 для получения контроля "d0" исходного уровня.

Сбор и обработка тканей. После умерщвления (0,25 мл фенобарбитала натрия) у животных отбирали кровь и проводили вскрытие и получение срезов ЦНС.

Использовали три среза спинного мозга, соответствующих поясничной, грудной и шейной областям спинного мозга. Ткани фиксировали в 10% формалине и помещали в парафин. Поперечные срезы толщиной пять мкм окрашивали солюхром-R-цианином - качественным красителем на миелин, и проверяли посредством световой микроскопии на наличие доказательств демиелинизации (отсутствие синего окрашивания) и ремиелинизации (области голубого окрашивания в очагах повреждения).

Из каждого поясничного, грудного и шейного среза часть спинного мозга величиной 5 мм из дистального конца фиксировали в 2,5% глутаральдегиде при 4°C. Затем из центра каждого поперечного среза из дорсальной и вентральной частей получали 0,5 мм срезы. Данные срезы затем фиксировали в тетроксиде осмия и помещали в эпоксидную смолу. Окрашенные толуидиновым синим поперечные срезы размером один микрон проверяли посредством световой микроскопии на наличие доказательств демиелинизации и ремиелинизации. Из областей, содержащих очаги повреждения, делали дополнительные срезы для электронной микроскопии и данные срезы окрашивали перманганатом калия и раствором уранилацетата в этаноле и анализировали на микроскопе Philips EM 300.

Гистологический анализ. Количественный анализ патологии спинного мозга провели с применением способа, модифицированного McGavern et al., J. Neurosci. Res. 1999, 58: 492-504. Изображения в среднем 12 поперечных срезов на животное получали при 40x увеличении с применением цифровой камеры Nikon Coolpix 995. Для подсчета общей области повреждения и ремиелинизированной области в каждом поперечном срезе (в произвольных единицах измерения) применяли программное обеспечение для анализа изображений Sigma Scan Pro (SPSS Inc.). Данные области суммировали с получением общей оценки для всего спинного мозга, а область ремиелинизации выражали как процент от общей области повреждения.

Результаты и обсуждение. Основная цель данного исследования представляла собой определение того, может ли длительное ингибирование миграции иммунных клеток в ЦНС обеспечить самопроизвольную ремиелинизацию существующих очагов повреждения в спинном мозге. Модель ЕАЕ у морских свинок демонстрирует неремиттирующее, прогрессирующее заболевание после иммунизации гомогенатом

всей ЦНС (Wisniewski et al., J. Neuropath. Exp. Neurol. 1983, 42: 243-255; Karlik et al., 1986, Neurology 36: 1112-4; Karlik et al., 1993, Magn. Res. Med. 30:326-331). Острый паралич начинался приблизительно после 10 суток со значительной демиелинизацией на 20 сутки (Karlik et al., 1986, Neurology 36: 1112-4; Karlik et al., 1993, Magn. Res. Med. 30 326-331). Через 40 суток у 95% животных с полным двусторонним параличом задних конечностей на всем протяжении стволовой части головного мозга и спинного мозга наблюдали от умеренной до тяжелой демиелинизации. Важно отметить, что у животных на данной стадии заболевания никогда не наблюдали ни рецидивов или ремиссий, ни самопроизвольного восстановления. В настоящем исследовании лечение начинали только тогда, когда животные достигали данной стадии - по меньшей мере, через 40 суток после иммунизации, и у них выявляли полный двусторонний паралич задних конечностей (клинический балл 2). Затем животным в течение периодов 10, 20, 30 или 40 суток вводили или низкомолекулярный ингибитор интегрин $\alpha_4\beta_1$, изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина, или носитель (физиологический раствор). На фиг.8 представлены полученные посредством световой микроскопии репрезентативные фотографии окрашенных солюхром-R-цианином срезов спинного мозга (фиг.8А-F). У контрольных животных (сутки лечения "0") у каждого животного наблюдали доказательства обширной демиелинизации; как правило, очаги повреждения выглядели лишенными интактного миелина с плотной инфильтрацией иммунными клетками с пенистыми макрофагами, содержащими на своем лидирующем крае фагоцитированный миелиновый дебрис (фиг.8А, 8В). При наиболее коротком периоде лечения (10 суток) у животных, получавших физиологический раствор и изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина, продолжали наблюдать большие очаги демиелинизации в спинном мозге с минимальными свидетельствами "бледного миелина". Напротив, после 20 суток терапии изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина во многих очагах повреждения наблюдали диффузное голубое окрашивание, аналогичное описанным классическим тeneвым очагам, указывающим на ремиелинизацию у пациентов с РС (фиг.8D). Очаги у контрольных животных, получавших физиологический раствор, оставались лишенными миелина (фиг.8С). На 40 сутки лечения между двумя группами, подвергаемыми лечению, наблюдали поразительные отличия в общем присутствии миелина. Большинство очагов повреждения у подвергаемых лечению изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина животных присутствовали в качестве тeneвых очагов (фиг.8F), тогда как в очагах повреждения у контрольных животных наблюдали очень мало, если вообще наблюдали, голубого окрашивания (фиг.8E).

Для лучшего определения изменения гистологического признака образцы ткани проверяли при высоком разрешении посредством световой и электронной микроскопии (фиг.9). У животных, 30 суток получавших физиологический раствор, на окрашенных толудиновым синим полутонких срезах наблюдали области нормального миелина (фиг.9А), а также области тяжелой демиелинизации и потери аксонов (фиг.9В). Небольшие переходные зоны между данными двумя областями содержали плохо защищенные аксоны относительно малого диаметра (фиг.9В), что может представлять собой недавно демиелинизированные аксоны с попыткой

восстановления. Также в очагах повреждения и в нормально миелинизированных областях часто наблюдали наличие аксонов, претерпевших уоллерово перерождение. У получавших изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина животных (фиг.9C) области слабо миелинизированных аксонов значительно увеличивались и аксоны имели тенденцию к большему диаметру, означая более общий репаративный ответ, часто во всей поврежденной области. Электронная микроскопия подтвердила данные наблюдения. Плотные оболочки миелина вокруг аксонов большого диаметра, представляющие собой "нормально" скомпонованный миелин, показаны на фиг.9D. У животных, 40 суток получавших физиологический раствор, в очагах повреждения наблюдали малое количество миелина, где большие аксоны являлись полностью демиелинизированными (фиг.9E). Напротив, лечение изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина приводило к появлению нескольких тонких слоев миелина вокруг аксонов большого диаметра, представляя собой стадию ремиелинизации (фиг.9F). Следовательно, представляется, что длительное введение изопропилового эфира N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина обеспечивает самопроизвольную ремиелинизацию в спинном мозге животных с хроническим прогрессирующим ЕАЕ.

Для количественного анализа эффекта изопропилового эфира N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина определяли долю очагов с наличием ремиелинизации. Количество очагов повреждения с бледным миелином делили на общее количество очагов повреждения в поперечных срезах спинного мозга, взятых на всем его протяжении от каждого животного (фиг.10) (для ознакомления со способом см. Warrington et al., 2000, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 97: 6820-5). После 20, 30 и 40 суток введения физиологического раствора средняя доля очагов с ремиелинизацией составляла от 10 до 20%; значимого изменения частоты возникновения бледного миелина у данных животных с течением времени не наблюдали (фиг.10A). Напротив, после 20 суток введения изопропилового эфира N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина по сравнению с животными, получавшими солевой раствор, в спинном мозге увеличивалась частота теневого очагов, достигая 68%; после 30 и 40 суток доля составляла 77% и 87%, соответственно ($p < 0,001$, двусторонний ANOVA с тестом Тьюки). Данные величины значимо выше, чем величины в начале лечения (сутки 0 и сутки 10) ($p < 0,05$, двусторонний ANOVA с тестом Тьюки), указывая на то, что соединение увеличивало частоту случаев ремиелинизации зависимым от времени образом. Так как доля очагов с признаками ремиелинизации после 20 суток значимо не увеличивалась, представляется, что ремиелинизация в основном начинается синхронно между сутками лечения 10 и 20 (фиг.10A).

Также измеряли общую степень ремиелинизации очагов в спинном мозге. На фиг.10B представлен репрезентативный срез спинного мозга с большим демиелинизированным очагом повреждения в переднем роге. Для каждого животного определяли общую область повреждения посредством определения всех очагов повреждения во всех срезах спинного мозга и суммирования областей. Подобным образом посредством определения областей бледного миелина измеряли общую площадь ремиелинизации. На фиг.10C-F нанесена зависимость общей

площади повреждения в зависимости от доли ремиелинизации. У получавших физиологический раствор животных любые признаки восстановления в очагах наблюдали редко, со средними, находящимися в диапазоне от 2 до 11%, и значимых отличий от периода обработки 40 суток не выявляли (фиг.10С-F). Напротив, после 20, 30 или 40 суток лечения изопропиловым эфиром N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина в большинстве выявленных очагов повреждения наблюдали различную степень ремиелинизации в диапазоне от 2 до 100% в большинстве очагов (средняя область ремиелинизации составляла приблизительно 50%) (фиг.10D-5). ($p < 0,001$, двусторонний ANOVA с тестом Тьюки). Следовательно, хотя у всех животных на всем протяжении лечения в течение 40 суток наблюдали очаги повреждения, изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина увеличивает частоту и долю ремиелинизации. Кроме того, наличие ремиелинизации у получавших изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина животных согласуется с наблюдаемым восстановлением моторной функции. Начальная точка для лечения представляла собой клинический балл 2, что означает полный двусторонний паралич задних конечностей. У 50% получавших изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина животных паралич уменьшался до клинического балла 1, означая, что у животных значительным образом восстановилось использование их задних конечностей ($p < 0,05$, критерий суммы рангов Манна-Уитни). У контрольных животных никогда не наблюдали восстановления функции.

По определению, самопроизвольная ремиелинизация представляет собой восстановление миелина в отсутствие терапевтического воздействия, специально предназначенного для стимуляции ремиелинизации (Miller et al., 1995, *Microsc. Res. Tech.* 32: 230-245). Самопроизвольное восстановление документально доказано в моделях демиелинизации на животных, включающих в себя острое токсическое повреждение, как при применении купризона, лизолецитина или бромистого этидия (Dubois-Dalcq et al., 1990, *Bioessays* 12: 569-576) и в моделях вирусного энцефалита (Miller et al., 1995, *Microsc. Res. Tech.* 32: 230-245) или в моделях с общей иммуносупрессией или уменьшением количества иммунных клеток (Rodriguez et al., 1992, *Neurol.* 42: 348-57 и Murray et al. 2001, *Brain* 124: 1403-16). В данных примерах ремиелинизация может завершиться в течение нескольких недель. Изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина представляет собой низкомолекулярное соединение, препятствующее активности интегрина $\alpha_4\beta_1$ на иммунных клетках и разработанное в качестве ограничивающего заболевание средства для предотвращения инфильтрации воспалительных клеток в головной мозг, а не как средство для непосредственной активации восстановления миелина (Piraino et al., 2002, *J Neuroimmunol.* 131: 147-159). Так как модель СР-ЕАЕ на морских свинках представляет собой неэпизодическое заболевание, для которого, как правило, не показано восстановления, выявление того, что ограничивающее заболевание средство может самостоятельно активировать спонтанную ремиелинизацию, существенно. Данные результаты указывают на то, что воспалительное окружение самостоятельно подавляет или нарушает нормальные механизмы восстановления и может в конечном счете приводить к их исчерпанию. Хотя у животных, получавших

физиологический раствор, существуют признаки ремиелинизации, она не достигает значимых уровней и никогда не сопровождается клинической ремиссией. Таким образом, представляется, что посредством подавления инфильтрации иммунных клеток изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-
5 тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина предотвращает разрушение вновь сформированного миелина и обеспечивает восстановление.

На самом деле индуцированной ремиелинизации в ЦНС можно достичь рядом способов, включающих в себя введение гликолипидов миелина (Raine et al., 1978, Acta. Neuropathol. (Berl). 43: 43-53; Traugott et al., 1982, J. Neurol. Sci. 56: 65-73), ЦНС-специфичной антисыворотки, очищенных иммуноглобулинов (Warrington et al., 2001, J. Allergy Clin. Immunol. 108: 121-5) или ростовых факторов (Yao et al., 1995, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 92: 6190-4). Также недавно показано, что ремиелинизацию могут активировать полученные из сыворотки человеческие моноклональные
15 антитела (IgM), вероятно, посредством прямой стимуляции олигодендроцитов (Warrington et al., 2000, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 97: 6820-6825; Bieber et al., 2002, Glia 37: 241-9; Mitsunaga et al., 2002, FASEB J. 16: 1325-1327). В моделях с дефицитом трансплантация эмбриональных нервных стволовых клеток и нервных стволовых клеток взрослого также приводит к образованию олигодендроцитов и синтезу нового миелина (Halfpenny et al., 2002, Lancet Neurol. 1: 31-40). Хотя данные исследования показали, что ЦНС способна к восстановлению, важно отметить, что терапевтически индуцированная ремиелинизация не
20 останавливает текущее заболевание. Например, недавно выявили, что путь Notch вовлечен в качестве ингибитора миелинизации при РС, отражая взаимодействие между олигодендроцитами, глиальными клетками и текущим воспалением (John et al., 2002, Nat. Med. 8: 1115-21). При воспалительном нарушении, таком как РС, ЦНС все еще могла бы являться уязвимой для повреждения.

Ремиелинизирующие антитела, такие как натализумаб, приводят к обратному ходу патологии при заболевании ЕАЕ посредством ингибирования происходящего в ином случае непрерывно притока новых воспалительных клеток. Клетки, которые уже
30 вошли в ЦНС, уничтожаются посредством нормальных механизмов апоптоза (Hyduk et al., 1998, J. Neuropath. Exp. Neurol. 57: 602-614). Согласно с данными наблюдениями, показано, что при увеличенной длительности лечения изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина прогрессивно уменьшает инфильтраты иммунных клеток и ассоциированные с ними медиаторы воспаления (Piraino et al.,
35 2002, J. Neuroimmunol. 131: 147-159). В контролируемых испытаниях для ремиттирующего РС натализумаб показал, что лечение в течение шестимесячного периода приводит к уменьшению воспалительных очагов повреждения головного мозга и уменьшению рецидивов по сравнению с субъектами, подвергавшимся лечению плацебо. Лечение в период испытания переносилось хорошо, и у
40 получавших натализумаб пациентов наблюдали улучшенное восприятие самочувствия (Miller et al., 2003, New Engl. J. Med. 348: 15-23). Таким образом, такие средства как лечение антителами к интегрину α_4 и такие соединения, как изопропиловый эфир N-[N-(3-пиридинсульфонил)-L-3,3-диметил-4-тиапролил]-O-[1-метилпиперазин-4-илкарбонил]-L-тирозина, служат не только как ограничивающий
50 заболевание фактор, но также как и средство, обеспечивающее восстановление ЦНС.

Хотя настоящее изобретение описано по отношению к конкретным вариантам его осуществления, специалистам в данной области необходимо понимать, что можно

провести различные изменения и можно заменять различными эквивалентами без отклонения от настоящей сущности и объема изобретения. Кроме того, для адаптации к конкретной ситуации, веществу, композиции веществ, процессу, стадии или стадиям процесса, к цели, сущности и объему настоящего изобретения можно провести множество модификаций. Подразумевается, что все такие модификации входят в объем изобретения.

Пример 3

Конструирование гуманизованного антитела 21.6

Гибридные легкие и тяжелые цепи конструировали посредством связывания клонированных посредством ПЦР кДНК областей V_L и V_H мышиноного 21.6 с человеческими константными областями. 5'- и 3'- концы последовательностей мышиноной кДНК модифицировали с применением специально разработанных праймеров для ПЦР. Праймеры для ПЦР для 5'-конца (таблица 8), гибридирующие с последовательностями ДНК, кодирующими начальные участки лидирующих последовательностей, разрабатывали для создания последовательностей ДНК, необходимых для эффективной трансляции (Kozak, J. Mol. Biol. 196: 947-950 (1987)) и для создания участков рестрикции *HindIII* для клонирования в экспрессирующий вектор. Праймеры для 3'-конца (таблица 8), гибридирующие с последовательностями ДНК, кодирующими концы областей J, разрабатывали для создания последовательностей ДНК, необходимых для срачивания с константными областями и для создания участка *BamHI* для клонирования в экспрессирующий вектор. Продукты амплификации ПЦР расщепляли *HindIII* и *BamHI*, клонировали в вектор pUC19 и определяли последовательность для подтверждения отсутствия ошибок в течение амплификации ПЦР. Затем адаптированные переменные области мышиноного 21.6 субклонировали в экспрессирующие векторы для клеток млекопитающих, содержащие человеческие константные области или каппа, или гамма-1.

Таблица 8
Праймеры для ПЦР для конструирования гибридного антитела 21.6

A. <u>Варибельная область легкой цепи</u>													
1. Праймер для реконструкции 5'-конца (37-членный)													
5'	C	AGA	<u>AAGCTT</u>	GCC	GCC	ACC	ATG	AGA	CCG	TCT	ATT	CAG	3'
			<i>HindIII</i>	Kozak			M	R	P	S	I	Q	
				Консенсус									
				Последовательность									
2. Праймер для реконструкции 3'-конца (35-членный)													
5'	CC		<u>GAGGATCCA</u>	CTC	ACG	TTT	GAT	TTC	CAG	CTT	GGT		3'
			<i>BamHI</i>	Донорный участок для срачивания									
B. <u>Варибельная область тяжелой цепи</u>													
1. Праймер для реконструкции 5'-конца (37-членный)													
5'	C	AGA	<u>AAGCTT</u>	GCC	GCC	ACC	ATG	AAA	TGC	AGC	TGG	GTC	3'
			<i>HindIII</i>	Kozak			M	K	C	S	W	V	
				Консенсус									
				Последовательность									
2. Праймер для реконструкции 3'-конца (33-членный)													
5'	CC		<u>GAGGATCCA</u>	CTC	ACC	TGA	GGA	GAC	GGT	GAC	T		3'
			<i>BamHI</i>	Донорный участок для срачивания									

Моделирование структуры переменных областей мышиноного 21.6. Строили молекулярную модель областей V_L и V_H мышиноного антитела 21.6. Модель строили на рабочей станции Silicon Graphics IRIS 4D, работающей под управлением

операционной системы UNIX и с применением пакета молекулярного моделирования QUANTA (Polygen Corp., USA). Структура FR области V_L мышинового 21.6 основывалась на разрешенной структуре человеческого иммуноглобулина Бенса-Джонса RE1 (Epp et al., Biochemistry 14: 4943-4952 (1975)).

5 Структура FR области V_H мышинового 21.6 основывалась на разрешенной структуре мышинового антитела Gloop2. Идентичные остатки в FR сохраняли; неидентичные остатки заменяли с применением средств QUANTA. CDR1 и CDR2 области V_L мышинового 21.6 идентифицировали как принадлежащие каноническим структурным

10 группам 2 и 1 соответственно (Chothia et al., J. Mol. Biol. 196: 901-917 (1987)). Так как CDR1 и CDR2 из RE1 принадлежат тем же каноническим группам, CDR1 и CDR2 области V_L мышинового 21.6 моделировали на основе структур CDR1 и CDR2 из RE1. Для CDR3 области V_L мышинового 21.6 соответствия какой-либо канонической

15 структурной группе для CDR3 областей V_L не выявили. Однако поиск в базе данных выявил, что CDR3 в области V_L мышинового 21.6 сходен с CDR3 в области V_L мышинового НуHEL-5 V_L (Sheriff et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 8075-8079 (1987)). Таким образом, CDR3 области V_L мышинового 21.6 моделировали на основе

20 структуры CDR3 в области V_L мышинового НуHEL-5. CDR1 и CDR2 области V_H мышинового 21.6 идентифицировали как принадлежащие каноническим структурным группам 1 и 2 соответственно. CDR1 области V_H мышинового 21.6 моделировали на основе CDR1 области V_H Gloop2, который более всего обладает сходными с канонической группой 1 для CDR1 областей V_H членами. CDR2 области V_H

25 мышинового 21.6 моделировали на основе CDR2 мышинового НуHEL-5 (Sheriff et al., выше), который также является представителем канонической группы 2 CDR2 для областей V_H . Для CDR3 областей V_H не существует канонических структур. Однако CDR3 в области V_H мышинового 21.6 являлся сходным с CDR3 в области V_H мышинового R19.9 (Lascombe et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 607-611 (1989)) и его

30 моделировали на основе данного CDR3 посредством удаления дополнительного серинового остатка, присутствующего на вершине петли CDR3 области V_H мышинового R19.9 и отжига и оптимизации разрыва. Наконец, модель подвергали методу наискорейшего спуска и минимизации энергии сопряженных градиентов с

35 применением возможностей CHARMM (Brooks et al., J. Comp. Chem. 4: 187-217 (1983)), как это осуществлено в QUANTA, для уменьшения неблагоприятных атомных контактов и для оптимизации взаимодействий Ван-дер-Ваальса и электростатических взаимодействий.

40 Разработка видоизмененных переменных областей человеческого 21.6 - отбор гомологичных человеческих антител для каркасной последовательности. Посредством сравнения аминокислотных последовательностей идентифицировали человеческие переменные области, для FR которых показан наибольший процент идентичности с мышинным 21.6. В таблицах 10 и 11 приводится сравнение

45 переменных областей мышинового 21.6 со всеми известными переменными областями, а затем со всеми известными человеческими переменными областями. Область V_L мышинового 21.6 идентифицировали как принадлежащую подгруппе 5 мышинной области V_L каппа, как определено Kabat. Идентифицировали отдельные мышинные области V_L каппа, обладающие до 93,4% идентичности с областью V_L

50 каппа мышинового 21.6 (38C13V'CL и PC613'CL). Область V_L мышинового 21.6 являлась наиболее сходной с человеческой областью V_L каппа подгруппы 1, как определено Kabat. Идентифицировали отдельные человеческие области V_L каппа,

обладающие до 72,4% идентичности с областью V_L каппа мышинового 21.6.

Каркасные области (FR) одной из наиболее сходных человеческих переменных областей, RE1, применяли для разработки видоизмененной области V_L человеческого 21.6. Область V_H мышинового 21.6 идентифицировали как принадлежащую подгруппе 2с мышинной области V_H , как определено Kabat.

Идентифицировали отдельные мышинные переменные области тяжелых цепей, обладающие до 93,3% идентичности с областью V_H мышинового 21.6 (17.2.25'CL и 87.92.6'CL). Область V_H мышинового 21.6 являлась наиболее сходной с человеческими областями V_H подгруппы 1, как определено Kabat, выше.

Идентифицировали отдельные человеческие области V_H , обладающие до 64,7% идентичности с областью V_H мышинового 21.6. FR одной из наиболее сходных человеческих переменных областей, 21/28'CL, применяли для разработки видоизмененной области V_H человеческого 21.6.

Замены аминокислот в каркасных областях.

(А) Легкая цепь. Следующей стадией в процессе разработки видоизмененной области V_L человеческого 21.6 являлось связывание CDR из области V_L мышинового 21.6 с FR человеческого RE1 (Palm et al., *Physiol. Chem*, 356: 167-191 (1975)).

В первой версии видоизмененной области V_L человеческого 21.6 (La) в человеческих FR проводили семь изменений (таблица 10, фиг.13). В положениях 104, 105 и 107 в FR4 аминокислоты из RE1 заменяли более обычными аминокислотами человеческой области J из другой человеческой легкой цепи каппа (Riechmann et al., *Nature* 332: 323-327 (1988)).

В положении 45 в FR2 обычно присутствующий в RE1 лизин заменили на аргинин, находящийся в данном положении в области V_L мышинового 21.6. Аминокислотный остаток в данном положении полагали важным в поддержании петли CDR2 области V_L мышинового 21.6.

В положении 49 в FR2 обычно присутствующий в RE1 тирозин заменили на гистидин, находящийся в данном положении в области V_L мышинового 21.6. В модели обнаружили, что гистидин в данном положении в области V_L мышинового 21.6 расположен в середине участка связывания и, возможно, может вступать в прямой контакт с антигеном во время связывания антитело-антиген.

В положении 58 в FR3 обычно присутствующий в RE1 валин заменили на изолейцин, находящийся в данном положении в области V_L мышинового 21.6. Аминокислотный остаток в данном положении полагали важным в поддержании петли CDR2 области V_L мышинового 21.6.

В положении 69 в FR3 обычно присутствующий в RE1 треонин заменяли на аргинин, находящийся в данном положении в области V_L мышинового 21.6. В модели обнаружили, что аргинин в данном положении в области V_L мышинового 21.6 расположен рядом с петлей CDR1 области V_L мышинового 21.6 и, возможно, может вступать в прямой контакт с антигеном во время связывания антитело-антиген.

Вторую версию видоизмененной области V_L человеческого 21.6 (обозначенную Lb) разрабатывали как содержащую те же замены, что и выше, за исключением того, что не производили изменений в положении 49 в FR2 RE1 (фиг.13).

(В) Тяжелая цепь. Следующей стадией процесса разработки видоизмененной области V_H человеческого 21.6 являлось связывание CDR из области V_H мышинового 21.6 с FR из 21/28'CL (Dersimonian et al., *J. Immunol.* 139: 2496-2501 (1987)). В первой версии видоизмененной области V человеческого 21.6 (Ha) проводили пять

изменений в человеческих каркасных областях (таблица 11, фиг.14). Пять изменений в человеческих FR находились в положениях 27, 28, 29, 30 и 71.

В положениях 27, 28, 29 и 30 в FR1 аминокислоты, присутствующие в человеческом 21/28'CL, заменяли на аминокислоты, расположенные в данных положениях в области V_H мышинового 21.6. Хотя данные положения разрабатывали как расположенные в FR1 (Kabat et al., выше), положения с 26 по 30 представляют собой часть структурной петли, формирующей петлю CDR1 области V_H .

Следовательно, возможно, что аминокислоты в данных положениях непосредственно вовлечены в связывание антигена. В самом деле, положения с 27 по 30 представляют собой часть канонической структуры CDR1 области V_H , как определено Chothia et al., выше.

В положении 71 в FR3 присутствующий в человеческом 21/28'CL аргинин заменяли на аланин, находящийся в данном положении в области V_H мышинового 21.6.

Положение 71 представляет собой часть канонической структуры для CDR2 области V_H , как определено Chothia et al., выше. Из модели переменных областей мышинового 21.6 представляется, что аланин в положении 71 важен для поддержания петли CDR2 области V_H . Замена аланина на аргинин в данном положении, очень вероятно, могла бы нарушить укладку петли CDR2.

Вторая версия (Hb) видоизмененной области V_H человеческого 21.6 содержала пять описанных выше для версии Ha замен и одну дополнительную замену в FR2.

В положении 44 в FR2 присутствующий в человеческом 21/28'CL аргинин заменяли на глицин, находящийся в данном положении в области V_H мышинового 21.6. На основе опубликованной информации об укладке областей V_L - V_H и модели переменных областей мышинового 21.6 полагали, что аминокислотный остаток в положении 44 может являться важным в укладке областей V_L - V_H .

Версию Hc видоизмененной области V человеческого 21.6 разрабатывали, чтобы сделать петлю CDR3 выглядящей более похожей на человеческую VCAM-1. И мышинное антитело 21.6 и человеческая VCAM-1 связываются с интегрином $\alpha_4\beta_1$.

Петля CDR3 области V_H антител является наиболее разнообразной из шести петель CDR и, как правило, является наиболее важным отдельным компонентом антитела во взаимодействиях антитело-антиген (Chothia et al., выше; Hoogenboom & Winter, J. Mol. Biol. 227: 381-388 (1992); Barbas et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 4457-4461 (1992)). Между CDR3 области V_H мышинового 21.6 и аминокислотами с 86 по 94 человеческой VCAM-1 выявили некоторое сходство последовательностей, особенно между последовательностью YGN (тирозин-глицин-аспарагин) в петле CDR3 и последовательностью FGN (т.е. фенилаланин-глицин-аспарагин) в VCAM-1. Полагали, что данные последовательности родственны последовательностям RGD (т.е. аргинин-глицин-аспарагиновая кислота), важным в событиях адгезии у различных клеток (Main et al., Cell 71: 671-678 (1992)). Поэтому в положении 98 в CDR3 находящийся в области V_H мышинового 21.6 тирозин заменяли на фенилаланин, находящийся в последовательности человеческого VCAM-1.

Также рассматривали возможную замену в положении 36 в FR2. Цепь V_H мышинового 21.6 содержит необычный цистеиновый остаток в положении 36 в FR2. В данном положении в FR2 обычно в родственных последовательностях мыши и человека находится триптофан (таблица 11). Хотя цистеиновые остатки часто важны для конформации антитела, модель переменных областей мышинового 21.6 не указывала на то, что данный цистеиновый остаток прямо или косвенно вовлечен в связывание антитела так, что присутствующий в FR2 области V_H

человеческого 21/28'CL триптофан не замещали во всех трех версиях гуманизированного антитела 21.6.

5 Конструирование видоизмененных человеческих антител 21.6. Первую версию видоизмененной области V_L человеческого 21.6 (resh21.6VL_a) конструировали из перекрывающихся фрагментов ПЦР, по существу, как описано у Daugherty et al.,
 10 Nucleic Acids Res. 19: 2471-2476 (1991). Область V_L мышинового 21.6, адаптированную, как описано выше, и вставленную в pUC19, применяли в качестве матрицы. Синтезировали четыре пары праймеров, APCR1-vla1, vla2-vla3, vla4-vla5 и vla6-vla7
 15 (таблица 9). Смежные пары перекрывались, по меньшей мере, по 21 основанию. Праймер APCR1 комплементарен к вектору pUC19. Соответствующие пары праймеров (0,2 мкмоль) смешивали с 10 нг матричной ДНК и 1 единицей ДНК-полимеразы AmpliTaq (Perkin Elmer Cetus) в 50 мкл буфера для ПЦР, содержащего 10
 20 mM Tris-HCl (pH 8,3), 50 mM KCl, 200 мкМ dNTP и 1,5 mM MgCl₂. Каждую реакцию проводили 25 циклов. После начального плавления при 94°C в течение 5 мин проводили циклические реакции при 94°C в течение 1 мин, 55°C в течение 1 мин и 72°C в течение 2 мин, а в конце инкубировали при 72°C в течение дополнительных 10 мин. Время нагрева между стадией отжига и удлинения праймеров составляло 2,5 мин. Продукты четырех реакций (A, B, C и D) из первого раунда реакций ПЦР экстрагировали фенолом и осаждали этанолом.

Таблица 9

Праймеры ПЦР для конструирования видоизмененных переменных областей человеческого 21.6

25	A. Вариабельная область легкой цепи
	1. Праймеры для синтеза версии "а"
	21.6VL _a 1 (39-членный):
	5' GAT GGT GAC TCT ATC TCC TAC AGA TGC AGA CAG TGA GGA 3'
	21.6VL _a 2 (32-членный):
30	5' CTG TAG GAG ATA GAG TCA CCA TCA CTT GCA AG 3'
	21.6VL _a 3 (39-членный):
	5' AGG AGC TTT TCC AGG TGT CTG TTG GTA CCA AGC CAT ATA 3'
	21.6VL _a 4 (41-членный):
	5' ACC AAC AGA CAC CTG GAA AAG CTC CTA GGC TGC TCA TAC AT 3'
35	21.6VL _a 5 (40-членный):
	5' GCA GGC TGC TGA TGG TGA AAG TAT AAT CTC TCC CAG ACC C 3'
	21.6VL _a 6 (42-членный):
	5' ACT TTC ACC ATC AGC AGC CTG CAG CCT GAA GAT ATT GCA ACT 3'
40	21.6VL _a 7 (59-членный):
	5' CCG AGG ATC CAC TCA CGT TTG ATT TCC ACC TTG GTG CCT TGA CCG AAC GTC CAC AGA TT 3'
	5' CCG AGG ATC CAC TCA CGT TTG ATT TCC ACC TTG GTG CCT TGA CCG AAC GTC CAC AGA TT 3'
	2. Праймеры для синтеза версии "b"
	21.6VL _b 1 (33-членный): изменения H-49 на Y-49
	5' GGA AAA GCT CCT AGG CTG CTC ATA TAT TAC ACA 3'
45	21.6VL _b 2 (38-членный): изменения ACC-101 на ACA-101 для разрушения участка <i>StyI</i>
	5' CCG AGG ATC CAC TCA CGT TTG ATT TCC ACC TTT GTG CC 3'
	B. Вариабельная область тяжелой цепи
	1. Праймеры для синтеза версии "а"
50	21.6VH _a 1 (51-членный):
	5' AAC CCA GTG TAT ATA GGT GTC TTT AAT GTT GAA ACC GCT AGC TTT ACA GCT 3'
	21.6VH _a 2 (67-членный):
	5' AAA GAC ACC TAT ATA CAC TGG GTT AGA CAG GCC CCT GGC CAA AGG CTG GAG TGG ATG GGA AGG ATT G 3'
	21.6VH _a 3 (26-членный):

	5' GAC CCG GCC CTG GAA CTT CGG GTC AT 3'
	21.6VHa4 (66-членный): 5' GAC CCG AAG TTC CAG GGC CGG GTC ACC ATC ACC GCA GAC ACC TCT GCC AGC ACC GCC TAC ATG GAA 3'
5	21.6VHa5 (64-членный): 5' CCA TAG CAT AGA CCC CGT AGT TAC CAT AAT ATC CCT CTC TGG CGC AGT AGT AGA CTG CAG TGT C 3'
	21.6VHa6 (63-членный): 5' GGT AAC TAC GGG GTC TAT GCT ATG GAC TAC TGG GGT CAA GGA ACC CTT GTC ACC GTC TCC TCA 3'
10	2. <u>Праймеры для синтеза версии "b"</u> 21.6VHb (37-членный): изменения R-44 на G-44 5' CCA GGG CCG GGTCAC CAT CAC CAG AGA CAC CTC TGC C 3'
	3. <u>Праймеры для синтеза версии "c"</u> 21.6VHc (27-членный): изменения Y-98 на F-98 5' CAG GCC CCT GGC CAA GGG CTG GAG TGG 3'
15	C. Вариабельные области и легкой, и тяжелой цепей Праймеры, гибридизующиеся с фланкирующими вектор pUC19 ДНК APCR1 (17-членный, смысловой праймер) 5' TAC GCA AAC CGC CTC TC 3'
20	APCR4 (18-членный, антисмысловый праймер) 5' GAG TGC ACC ATA TGC GGT 3'

Продукты ПЦР А и В и С и D связывали во втором раунде реакций ПЦР. Продукты ПЦР А и В и С и D (по 50 нг каждый) добавляли к 50 мкл реакционной смеси ПЦР (как описано выше) и амплифицировали 20 циклов, как описано выше, за исключением того, что температуру отжига повышали до 60°C. Продукты данных реакций обозначали Е и F. Пары применяемых для ПЦР праймеров представляли собой APCR1-vla3 и vla4-vla7 соответственно. Продукты ПЦР Е и F экстрагировали фенолом и осаждали этанолом, а затем собирали в третьем раунде реакций ПЦР на основе их собственной комплементарности в двустадийной реакции, сходной с реакцией, описанной выше, с применением APCR1 и vla7 в качестве терминальных праймеров. Полностью собранный фрагмент, представляющий собой полную видоизмененную область V_L человеческого 21.6, включая лидирующую последовательность, расщепляли *HindIII* и *BamHI* и клонировали в pUC19 для определения последовательности. Клон с правильной последовательностью обозначали как resh21.6VL_a.

Вторую версию видоизмененной области V_L человеческого 21.6 (Lb) конструировали с применением праймеров для ПЦР для получения небольших модификаций в первой версии видоизмененной области V_L человеческого 21.6 (La) посредством способа Kamman et al., Nucl. Acids Res. 17: 5404 (1989). Синтезировали два набора праймеров (таблица 9). Каждую реакцию ПЦР по существу проводили при тех же условиях, что описаны выше. В первой реакции ПЦР мутагенный праймер, 21.6VLb₂, применяли для разрушения участка *StyI* (Thr-ACC-97 на Thr-ACA-97) с получением resh21.6VL_{a2}. Затем во второй реакции ПЦР применяли мутагенный праймер 21.6VLb₁ (His-49 на Tyr-49) с pUC-resh21.6VL_{a2} в качестве матричной ДНК. Продукт ПЦР расщепляли *StyI* и *BamHI* и субклонировали в pUC-resh21.6VL_{a2}, расщепленную теми же рестрикционными ферментами. Клон с правильной последовательностью обозначили как pUC-resh21.6VL_b.

Версию "a" видоизмененной области V_H человеческого 21.6 конструировали с применением тех же способов ПЦР, какие описаны для конструирования версии "a"

видоизмененной области V_L человеческого 21.6 (таблица 9). Фрагменты ДНК после рестрикции с применением *HindIII-BamHI*, кодирующие версию "g" видоизмененной области V_H человеческого 425 (Kettleborough et al., выше) и версию "b" видоизмененной области V_H человеческого AUK12-20, субклонировали в векторы pUC19 с получением pUC-resh425g и pUC-reshAUK12-20b, соответственно (версию "b" AUK12-20 получали мутагенезом посредством ПЦР фрагмента V_H a425, описанного Kettleborough et al., выше и она кодирует аминокислотную последовательность:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFT SY Υ ИH WVRQAPGQGLEWVG
YIDPFNGGTSYNQKFKG KVTMTVDTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR
GGN-RFAY WGQGTLVTVSS

(пробелы разделяют области FR и CDR)).

Плазмиды pUC-resh425g и pUC-reshAUK12-20b, а также вектор pUC, содержащий область V_H мышиноного 21.6, модифицированный для применения в конструкции гибридной тяжелой цепи 21.6 (pUC-chim21.6 V_H), применяли в качестве матричных ДНК в последующих реакциях ПЦР. Праймеры для ПЦР разработали и синтезировали для конструкции видоизмененной области V_H человеческого 21.6 версии "a" (Table 9). Продукт ПЦР А получали с применением в качестве матричной ДНК pUC-reshAUK12-20b и APCR1-vha1 в качестве пары праймеров для ПЦР. Продукты ПЦР В и D получали с применением в качестве матричной ДНК pUC-chim21.6 V_H и vha2-vha3 и vha6-APCR4 в качестве пар праймеров для ПЦР, соответственно. Наконец, продукт ПЦР С получали с применением в качестве матричной ДНК pUC-resh425g и vla4-vla5 в качестве пары праймеров для ПЦР. Конечный продукт ПЦР субклонировали в pUC19 в виде полученного с применением *HindIII-BamHI* фрагмента для определения последовательности ДНК. Клон с правильной последовательностью ДНК обозначили как pUC-resh21.6 V_H a. Последовательность ДНК и аминокислотная последовательность первой версии видоизмененной вариабельной области 21.6 представлены на фиг.15.

Остальные версии видоизмененной области V_H человеческого 21.6, по существу, конструировали, как описано выше для конструирования версии "b" видоизмененной области V_L человеческого 21.6. Синтезировали два набора праймеров (Table 9). Для второй (Hb) и третьей (Hc) версий в реакциях ПЦР с pUC-resh21.6 V_H a в качестве матричной ДНК применяли мутагенные праймеры 21.6 V_H b (Arg-44 на Gly-44) и 21.6 V_H c (Tyr-98 на Phe-98) соответственно. Продукты ПЦР V_H b и V_H c расщепляли рестрикционными ферментами и субклонировали в вектор pUC pUC-resh21.6 V_H a в качестве полученных с применением *MscI-BamHI* и *PstI-BamHI* фрагментов, соответственно, с получением pUC-resh21.6 V_H b и pUC-resh21.6 V_H c.

Первую версию видоизмененной области V_H человеческого 21.6 (Ha) конструировали способом, сходным со способом для конструирования первой версии видоизмененной области V_L человеческого 21.6 (La). Однако в данном случае праймеры для ПЦР применяли с тремя различными матричными ДНК: областью V_H мышиноного 21.6, как уже адаптированного для экспрессии гибридной тяжелой цепи 21.6, версии "g" области V_H гуманизованного 425 (Kettleborough et al., выше) и области V_H версии "b" гуманизованного AUK12-20 (таблица 9).

Последовательность ДНК и аминокислотная последовательность первой версии видоизмененной вариабельной области тяжелой цепи гуманизованного 21.6 представлены на фиг.16. Вторую и третью версии области V_H

гуманизированного 21.6 (Hb и Hc) конструировали с применением праймеров для ПЦР для получения небольших мутаций в первой версии области V_H гуманизированного 21.6 (Ha) (таблица 9).

5

Таблица 10

Выравнивание аминокислотных последовательностей, обеспечивающее конструирование видоизмененных областей легких цепей человеческого 21.6

10	Kabat	№	FR или мышиное CDR 21.6	мышинная каппа 5 (фиг.17A)	человеческая каппа 1 (фиг.17B)	человеческое RE1	RH V _L 21.6	комментарий
	1	1	FR1	D	D	D	D	
	2	2		I	I	I	I	
	3	3		Q	Q	Q	Q	Q
	4	4		M	M	M	M	M
15	5	5		T	T	T	T	T
	6	6		Q	Q	Q	Q	Q
	7	7		S	S	S	S	S
	8	8		P	P	P	P	P
	9	9		S	S	S	S	S
	10	10		S	S	S	S	S
20	11	11		L	L	L	L	L
	12	12		S	S	S	S	S
	13	13		A	A	A	A	A
	14	14		S	S	S	S	S
	15	15		L	L	V	V	V
	16	16		G	G	G	G	G
25	17	17		G	D	D	D	D
	18	18		K	R	R	R	R

30

35

40

45

50

Выравнивание аминокислотных последовательностей, обеспечивающее конструирование
видоизмененных областей легких цепей человеческого 21.6

5	Kabat	№	FR или CDR	мышинное 21.6	мышинная каппа 5 (фиг.17A)	человеческая каппа 1 (фиг.17B)	челове- ческое RE1	RH V _L 21.6	комментарий
	19	19		V	V	V	V	V	
	20	20		T	T	T	T	T	
	21	21		I	I	I	I	I	
10	22	22		T	T	T	T	T	
	23	23	FR1	C	C	C	C	C	
	24	24	CDR1	K	R	R	Q	K	
	25	25		T	A	A	A	T*	
	26	26		S	S	S	S	S	
	27	27		Q	Q	Q	Q	Q*	
15	27A			-	D	S	-	-	
	27B			-	-	L	-	-	
	27C			-	-	V	-	-	
	27D			-	-	X	-	-	
	27E			-	-	X	-	-	
	27F			-	-	-	-	-	
20	28	28		D	D	S	D	D*	
	29	29		I	I	I	I	I*	
	30	30		N	S	S	I	N*	
	31	31		K	N	N	K	K*	
	32	32		Y	Y	Y	Y	Y*	
	33	33		M	L	L	L	M*	
25	34	34	CDR1	A	N	A	N	A	
	35	35	FR2	W	W	W	W	W	
	36	36		Y	Y	Y	Y	Y	
	37	37		Q	Q	Q	Q	Q	
	38	38		H	Q	Q	Q	Q	
	39	39		K	K	K	T	T	К в CAMPATH-1H
30	40	40		P	P	P	P	P	
	41	41		G	G	G	G	G	
	42	42		K	G	K	K	K	
	43	43		R	S	A	A	A	в других версиях рассматривали как R
35	44	44		P	P	P	P	P	
	45	45		R	K	K	K	R	поддерживает петлю L2, в других версиях рассматривали как K
	46	46		L	L	L	L	L	
	47	47		L	L	L	L	L	
40	48	48		I	I	I	I	I*	
	49	49		H	Y	Y	Y	H	в середине участка связывания, способность взаимодействовать с антигеном, в других версиях рассматривали как Y
45	50	50	CDR2	Y	Y	A	E	Y*	
	51	51		T	A	A	A	T*	
	52	52		S	S	S	S	S*	
	53	53		A	R	S	N	A	
	54	54		L	L	L	L	L	

50

Выравнивание аминокислотных последовательностей, обеспечивающее конструирование
видоизмененных областей легких цепей человеческого 21.6

5	Kabat	№	FR или CDR	мышинное 21.6	мышинная каппа 5 (фиг.17A)	человеческая каппа 1 (фиг.17B)	челове- ческое RE1	RH V _L 21.6	комментарий
	55	55		Q	H	E	Q	Q	
	56	56	CDR2	P	S	S	A	P	
	57	57	FR3	G	G	G	G	G	
10	58	58		I	V	V	V	I	вероятно поддерживает L2, в других версиях рассматривали как V
	59	59		P	P	P	P	P	
	60	60		S	S	S	S	S	
	61	61		R	R	R	R	R	
15	62	62		F	F	F	F	F	
	63	63		S	S	S	S	S	
	64	64		G	G	G	G	G*	
	65	65		S	S	S	S	S	
	66	66		G	G	G	G	G	
	67	67		S	S	S	S	S	
20	68	68		G	G	G	G	G	
	69	69		R	T	T	T	R	расположен рядом с L1, на поверхности рядом с участком связывания
	70	70		D	D	D	D	D	
	71	71		Y	Y	F	Y	Y*	F в CAMPATH-1H
25	72	72		S	S	T	T	T	
	73	73		F	L	L	P	F	
	74	74		N	T	T	T	T	
	75	75		I	I	I	I	I	
	76	76		S	S	S	S	S	
	77	77		N	N	S	S	S	
30	78	78		L	L	L	L	L	
	79	79		E	E	Q	Q	Q	
	80	80		P	Q	P	P	P	
	81	81		E	E	E	E	E	
	82	82		D	D	D	D	D	
	83	83		I	I	F	I	I	
35	84	84		A	A	A	A	A	
	85	85		T	T	T	T	T	
	86	86		Y	Y	Y	Y	Y	
	87	87		Y	F	Y	Y	Y	
	88	88	FR3	C	C	C	C	C	
	89	89	CDR3	L	Q	Q	Q	L	
40	90	90		Q	Q	Q	Q	Q*	
	91	91		Y	G	Y	Y	Y*	
	92	92		D	N	N	Q	D*	
	93	93		N	T	S	S	N*	
	94	94		L	L	L	L	L*	
	95	95		-	P	P	P	-	
45	95A			-	P	E	-	-	
	95B			-	-	-	-	-	
	95C			-	-	-	-	-	
	95D			-	-	-	-	-	
50									

Выравнивание аминокислотных последовательностей, обеспечивающее конструирование
видоизмененных областей легких цепей человеческого 21.6

5	Kabat	№	FR или мышиное CDR 21.6	мышинная каппа 5 (фиг.17A)	человеческая каппа 1 (фиг.17B)	челове-ческое RE1	RH V _L 21.6	комментарий	
	95E			-	-	-	-		
	95F			-	-	-	-		
	96	95		W	R	W	Y	W*	
	97	96	CDR3	T	T	T	T	T	
10	98	97	FR4	F	F	F	F	F	
	99	98		G	G	G	G	G	
	100	99		G	G	Q	Q	Q	
	101	100		G	G	G	G	G	
	102	101		T	T	T	T	T	
	103	102		K	K	K	K	K	
15	104	103		L	L	V	L	V	как у САМРАТН-1Н
	105	104		E	E	E	Q	E	как у САМРАТН-1Н
	106	105		I	I	I	I	I	
	106A			-	-	-	-	-	
	107	106	FR4	K	K	K	T	K	как у САМРАТН-1Н

Условные обозначения: (Kabat) нумерация по Kabat et al., выше; (№)

20 последовательная нумерация, как применяли при молекулярном моделировании; (мышинное 21.6) аминокислотная последовательность области V_L из мышинного антитела 21.6; (мышинная каппа 5) консенсусная последовательность мышинных областей V_L каппа из подгруппы 5 (Kabat et al., выше); (человеческая каппа 1) консенсусная последовательность человеческих областей V_L из подгруппы 1 (Kabat et al., выше); (человеческое RE1) аминокислотная последовательность человеческой области V_L (Palm et al., Physiol. Chem. 356: 167-191 (1975)); (RH V_L 21.6) аминокислотная последовательность версии L1 видоизмененной области V_L человеческого 21.6; (*) остатки, представляющие собой часть канонических структур для петель CDR (Chothia et al., выше); (подчеркнуто) остатки в человеческих FR, где заменен аминокислотный остаток.

ТАБЛИЦА 11

Выравнивание аминокислотных последовательностей, обеспечивающее конструирование
видоизмененных областей тяжелых цепей человеческого 21.6

35	Kabat	№	FR или мышиное CDR 21.6	мышинная 2с (фиг.18A)	человеческая 1 (фиг. 18B)	человеческое 21/28'CL	RH V _H 21.6	комментарий
	1	1	FR1	E	Q	Q	Q	
	2	2		V	V	V	V	
	3	3		Q	Q	Q	Q	
40	4	4		L	L	L	L	
	5	5		Q	Q	V	V	
	6	6		Q	Q	Q	Q	
	7	7		S	S	S	S	
	8	8		G	G	G	G	
	9	9		A	A	A	A	
	10	10		E	E	E	E	
45	11	11		L	L	V	V	
	12	12		V	V	K	K	
	13	13		K	K	K	K	
	14	14		P	P	P	P	
	15	15		G	G	G	G	
	16	16		A	A	A	A	

50

Выравнивание аминокислотных последовательностей, обеспечивающее конструирование
видоизмененных областей тяжелых цепей человеческого 21.6

5	Kabat	№	FR или мышиное CDR 21.6	мышинная 2с (фиг.18А)	человеческая 1 (фиг. 18В)	человеческое 21/28'CL	RH V _H 21.6	комментарий	
	17	17		S	S	S	S		
	18	18		V	V	V	V		
	19	19		K	K	K	K		
	20	20		L	L	V	V		
10	21	21		S	S	S	S		
	22	22		C	C	C	C		
	23	23		T	T	K	K		
	24	24		A	A	A	A		
	25	25		S	S	S	S		
	26	26		G	G	G	G*		
	27	27		F	F	Y	F*	каноническая структура H1, в других версиях рассматривали как Y	
15		28		N	N	T	T	N*	каноническая структура H1, на поверхности
		29		I	I	F	F	I*	каноническая структура H1, в других версиях рассматривали как F
20		30	FR1	K	K	T	T	K*	каноническая структура H1, на поверхности
		31	CDR1	D	D	S	S	D*	
		32		T	T	Y	Y	T*	
		33		Y	Y	A	A	Y	
		34		I	M	I	M	I*	
25		35		H	H	S	H	H	
	35A			-	-	-	-	-	
	35B		CDR1	-	-	-	-	-	
	36	36	FR2	C	W	W	W	W	скрытый остаток без явной специфической роли C
	37	37		V	V	V	V	V	
30		38		K	K	R	R	R	
		39		Q	Q	Q	Q	Q	
		40		R	R	A	A	A	
		41		P	P	P	P	P	
		42		E	E	G	G	G	
		43		Q	Q	Q	Q	Q	
35		44		G	G	G	R	R	укладка V _L - V _H , в других версиях рассматривали как G
		45		L	L	L	L	L	
		46		E	E	E	E	E	
		47		W	W	W	W	W	
		48		I	I	M	M	M	
40		49	FR2	G	G	G	G	G	
		50	CDR2	R	R	W	W	R	
		51		I	I	I	I	I	
		52		D	D	N	N	D	
	52A	53		P	P	P	A	P*	
	52B			-	-	-	-	-	

45

50

Выравнивание аминокислотных последовательностей, обеспечивающее конструирование
 видоизмененных областей тяжелых цепей человеческого 21.6

5	Kabat	№	FR или CDR	мышинное 21.6	мышинная 2с (фиг.18А)	человеческая 1 (фиг. 18В)	человеческое 21/28'CL	RH V _H 21.6	комментарий
	52C			-	-	-	-	-	
	53	54		A	A	G	G	A*	
	54	55		N	N	N	N	N*	
	55	56		G	G	G	G	G*	
	56	57		Y	N	D	N	Y	
10	57	58		T	T	T	T	T	
	58	59		K	K	N	K	K	
	59	60		Y	Y	Y	Y	Y	
	60	61		D	D	A	S	D	
	61	62		P	P	Q	Q	P	
	62	63		K	K	K	K	K	
15	63	64		F	F	F	F	F	
	64	65		Q	Q	Q	Q	Q	
	65	66	CDR2	G	G	G	G	G	
	66	67	FR3	K	K	R	R	R	
	67	68		A	A	V	V	V	
	68	69		T	T	T	T	T	
	69	70		I	I	I	I	I	
20	70	71		T	T	T	T	T	
	71	72		A	A	A	R	A*	каноническая структура H2, поддерживается H2
	72	73		D	D	D	D	D	
	73	74		T	T	T	T	T	
	74	75		S	S	S	S	S	
25	75	76		S	S	T	A	A	
	76	77		N	N	S	S	S	
	77	78		T	T	T	T	T	
	78	79		A	A	A	A	A	
	79	80		Y	Y	Y	Y	Y	
	80	81		L	L	M	M	M	
30	81	82		Q	Q	E	E	E	
	82	83		L	L	L	L	L	
	82A	84		S	S	S	S	S	
	82B	85		S	S	S	S	S	
	82C	86		L	L	L	L	L	
	83	87		T	T	R	R	R	
	84	88		S	S	S	S	S	
35	85	89		E	E	E	E	E	
	86	90		D	D	D	D	D	
	87	91		T	T	T	T	T	
	88	92		A	A	A	A	A	
	89	93		V	V	V	V	V	
	90	94		Y	Y	Y	Y	Y	
40	91	95		F	Y	Y	Y	Y	
	92	96		C	C	C	C	C	
	93	97		A	A	A	A	A	
	94	98	FR3	R	R	R	R	A	
	95	99	CDR3	E	G	A	G	E	
	96	100		G	Y	P	G	G	

45

50

Выравнивание аминокислотных последовательностей, обеспечивающее конструирование
видоизмененных областей тяжелых цепей человеческого 21.6

5	Kabat	№	FR или CDR	мышинное 21.6	мышинная 2с (фиг.18А)	человеческая 1 (фиг. 18В)	человеческое 21/28'CL	RH V _H 21.6	комментарий
	97	101		Y	Y	G	Y	Y	
	98	102		Y	Y	Y	Y	Y	
	99	103		G	Y	G	G	G	
	100	104		N	D	S	S	N	
10	100A	105		Y	S	G	G	Y	
	100B	106		G	X	G	S	G	
	100C	107		V	V	o	-	V	
	100D	108		Y	G	C	-	Y	
	100E	109		A	Y	Y	-	A	
	100F	110		M	Y	R	M		
	100G			-	A	O	-	-	
15	100H			-	M	D	-	-	
	100I			-	-	Y	-	-	
	100J			-	-	-	-	-	
	100K			-	-	F	-	-	
	101	111		D	D	D	N	D	
	102	112	CDR3	Y	Y	Y	Y	Y	
20	103	113	FR4	W	W	W	W	W	
	104	114		G	G	G	G	G	
	105	115		Q	Q	Q	Q	Q	
	106	116		G	G	G	G	G	
	107	117		T	T	T	T	T	
	108	118		S	X	L	L	L	
25	109	119		V	V	V	V	V	
	110	120		T	T	T	T	T	
	111	121		V	V	V	V	V	
	112	122		S	S	S	S	S	
	113	123	FR4	S	S	S	S	S	

Условные обозначения: (Kabat) нумерация по Kabat et al., выше; (№)

- 30 последовательная нумерация, как применяли при молекулярном моделировании; (мышинное 21.6) аминокислотная последовательность области V_H из мышинного антитела 21.6; (мышинная 2с) консенсусная последовательность мышинных областей V_H из подгруппы 2с (Kabat et al., выше); (человеческая 1) консенсусная
- 35 последовательность человеческих областей V_H из подгруппы 1 (Kabat et al., выше); (человеческое 21/28'CL) аминокислотная последовательность человеческой области V_H (Dersimonian et al., J. Immunol., 139: 2496-2501 (1987)); (RH V_H 21.6) аминокислотная последовательность версии H1 видоизмененной области V_H человеческого 21.6; (*) остатки, представляющие собой часть канонических структур
- 40 для петель CD (Chothia et al., выше); (подчеркнуто) остатки в человеческих FR, где заменен аминокислотный остаток.

Пример 4

Модель ЕАЕ воспаления в головном мозге

- 45 А. Анализ *in vitro* связывания лимфоцитов с воспаленным эндотелием на срезах головного мозга с ЕАЕ. После описанной у Yednock et al., Nature 356: 63-66 (1992) процедуры головной мозг у крыс с ЕАЕ удаляли на 5 сутки заболевания (первые сутки паралича хвоста/задних конечностей). Головной мозг быстро замораживали, делали срезы и покрывали суспензиями лимфоидных клеток (способ описан выше
- 50 для головного мозга, в который вводили путем инъекции опухолевые клетки). Человеческие клетки U937 селективно связывались с воспаленными сосудами в мозге крыс с ЕАЕ. Предварительная обработка клеток U937 антителом к VLA-4, HP2/1, полностью ингибировала их связывание с воспаленными сосудами в прилегающем

срезы головного мозга с ЕАЕ.

Как показано в таблице 12, связывание человеческих клеток U937 с воспаленными сосудами в головном мозге с ЕАЕ ингибировалось реагентами против VLA-4 (антитело к α_4 , HP2/1 и антитело к β_2 , АПВ2), но не антителами к другим многочисленным рецепторам адгезии. Два антитела, селективно ингибирующих активность VLA-4 в отношении связывания фибронектина (FN), не влияют на связывание U937 с сосудами при ЕАЕ (P4G9 и HP1/7). В таблице 13 показано, что связывание недавно выделенных человеческих лимфоцитов и моноцитов, а также недавно выделенных крысиных или мышинных лимфоцитов с воспаленными при ЕАЕ сосудами также селективно ингибировалось антителами к VLA-4. Анализ проводили, как описано выше, а степень связывания определяли количественно с применением референсной популяции клеток.

			Таблица 12
Обработка клеток U937	Клон сосудов	Относительное связывание с ЕАЕ (% от контроля)	
Антитело к интегрину β_1	АПВ2	8±3	
Антитело к интегрину α_3	A043	111±5	
Антитело к интегрину α_4	HP2/1 (ингибирует связывание FN и VCAM-1)	3±1	
Антитело к интегрину α_4	P4G9 (селективно ингибирует связывание FN)	151±7	
Антитело к интегрину α_4	HP1/7 (селективно ингибирует связывание FN)	338±1	
Антитело к интегрину α_5	F1D6	104±6	
Антитело к интегрину α_6	GoH3	88±11	
Антитела к интегринам α_4 и α_5	F4G9 и P106 (совместно)	138±8	
Антитела к интегринам α_3 , α_4 и α_6	A043, P1D5 и GoH3 (совместно)	112±3	
Антитело к CD44	Homos-3	107±4	
Антитело к L-селектину	TQ-1	96±4	
Антитело к интегрину β_2	P4H9	77±1	
Антитело к интегрину β_2	TS1/18	98±5	
Антитело к интегрину β_2	P4H9 (тестировали при 25°C)	100±10	
Антитело к интегрину β_2	TS1/18 (тестировали при 25°C)	114±2	
Антитело к интегрину α_4	HP2/1 (тестировали при 25°C)	5±1	
Антитело к LFA-1	IOT1G	123±2	
Антитело к Mac-1	LM2/1	107±3	

				Таблица 13
				Обработка свежесыведенных лейкоцитов или моноцитов
Специфичность антитела	Клон	Тип клеток	Относительно связывание с сосудами при ЕАЕ (% от контроля)	
Антитело к интегрину β_1	АПВ2	человеческие лимфоциты	7±2	

5	Антитело к интегрину α_4	HP2/1	человеческие лимфоциты	0±0
	Антитело к интегрину α_4	HP2/1	человеческие лимфоциты	1±1
	Антитело к интегрину α_4	HP2/1	крысиные лимфоциты	18±7
	Антитело к интегрину α_4	R1-2	мышинные лимфоциты	43±2
10	Антитело к CD2	OX-34	крысиные лимфоциты	100±10
	Антитело к L-селектину	MEL-14	мышинные лимфоциты	92±4
	Рецептор хоминга в пейеровы бляшки	18.2.6	крысиные лимфоциты	117±12
	Антитело к LFA-1	OX-52	крысиные лимфоциты	87±1
15	Антитело к CD45	OX-1	крысиные лимфоциты	90±3
	Антитело к Thy 1.1	OX-7	крысиные лимфоциты	87±3
	Антитело к CD4	OX-35	крысиные лимфоциты	107±8
	Антитело к поверхности моноцитов/T-клеток	OX-44	крысиные лимфоциты	102±8

В. Эффект от введения антитела к VLA-4 *in vivo*. Крысам вводили антитело к VLA-4 (внутрибрюшинное введение) для определения эффекта антитела в развитии ЕАЕ. Для таблицы 14 ниже, в каждом эксперименте, на 0 сутки вводили Т-клеточный клон. На 2 сутки животным делали внутрибрюшинную инъекцию PBS, указанного количества очищенного антитела к интегрину α_4 или указанного количества очищенного контрольного антитела. Все антитела представляли собой мышинные IgG₁. Заболевание определяли по полному параличу хвоста или хвоста и задних конечностей. У тех животных, у которых развивалось заболевание, паралич начинался на сутки 4 или 5, достигал максимума на сутки 5 или 6, а затем монотонно уменьшался. Два дополнительных эксперимента дали сопоставимые результаты. При измерении на сутки 3, 4 и 7 (сутки 3 представляют собой одни сутки после введения антитела и одни сутки перед наиболее ранним началом паралича) циркулирующие уровни и различные количества белых клеток крови у животных, обработанных HP2/1, и у контрольных животных с вводимым PBS не различались. Оптовые партии HP2/1 приобретали в АМАС; МОРС - в Sigma; OX-1 и OX-7 - в Bioproducts for Science.

У некоторых больных ЕАЕ крыс и здоровых крыс, обработанных антителом к интегрину α_4 из экспериментов 2 и 3, на 6 сутки удаляли головной мозг. Наблюдали обширную инфильтрацию в головном мозге больных ЕАЕ животных, тогда как у крыс, обработанных антителом к интегрину α_4 , лейкоциты выявить не могли.

				Таблица 14
<u>Эксперимент 1</u>				
	Количество животных с параличом			
Лечение	Сутки 5	Сутки 6	Сутки 7	
Без антитела	4/5	5/6	4/6	
HP2/1 (1,2 мг)	0/6	0/6	0/6	
МОРС (1,2 мг)	6/6	6/6	5/6	
<u>Эксперимент 2</u>				
	Количество животных с параличом			
Лечение	Сутки 4	Сутки 5	Сутки 6	
Без антитела	4/5	5/6	5/5	
HP2/1 (1,0 мг)	0/6	0/6	2/4	
OX-1 (1,0 мг)	5/5	5/5	5/5	

ОХ-7 (1,0 мг)	5/6	5/5	5/5
Эксперимент 3			
	Количество животных с параличом		
Лечение	Сутки 4	Сутки 5	Сутки 6
Без антитела	6/6	6/6	6/6
НР2/1 (1,0 мг)	1/1	2/5	2/5
ОХ-1 (1,0 мг)	1/5	2/5	1/5
ОХ-7 (1,0 мг)	0/6	0/6	2/6

10 Пример 5

Получение дополнительных антител к VLA-4

А. Иммунизация и протокол скрининга. Индуцировали TY21.6 и 21.12 к В-клеточной линии Ramos (полученной из ATCC). 10⁷ клеток Ramos, гомогенизированных в полном адьюванте Фрейнда, инъецировали мыши Balb/c (внутрибрюшинное введение). Через четырнадцать суток животных индуцировали еще 10⁷ клеток Ramos (гомогенизированных в неполном адьюванте Фрейнда, вводимых внутрибрюшинно). Через дополнительные 14 суток животным инъецировали 2×10⁶ живых клеток Ramos (внутривенное введение). Через трое суток после последней индукции удаляли селезенку, выделяли спленоциты, сливали с миеломой SP/2 и размещали примерно в 2000 лунок. Проводили скрининг супернатантов на их способность ингибировать связывание В-клеточной линии Ramos с трансфицированными VCAM-1 L-клетками.

Трансфицированные VCAM-1 L-клетки получали с применением стандартных способов: кДНК VCAM-1 выделяли посредством ПЦР; праймеры синтезировали на основе опубликованной последовательности, а РНК выделяли из стимулированных TNF человеческих эндотелиальных клеток из пупочной вены (HUVEC). Выделенные кДНК трансфицировали в мышинные L-клетки и выделяли клоны, экспрессирующие высокие уровни мРНК VCAM-1. Для анализа адгезии L-клетки с VCAM-1 помещали в 96-луночные планшеты, и позволяли им расти до достижения конfluence. Клетки U937 флуоресцентно метили PKH26 (Zynaxis Cell Science, Inc., Malvern, Pa.), предварительно в течение 30 минут на льду обрабатывали супернатантами гибридом (200000 клеток/образец) и добавляли в отдельные лунки с VCAM-1. Адгезии позволяли происходить в течение 30 минут при комнатной температуре, затем лунки отмывали для удаления несвязавшихся клеток, а оставшиеся клетки лизировали 40 мкл 0,1% Triton. 20 мкл экстракта анализировали на планшет-ридере Pandex для определения уровня флуоресценции (т.е. количества связавшихся клеток). Уровень связывания определяли по проценту флуоресценции относительно флуоресценции, связанной с общим количеством добавленных клеток/лунку (т.е. 200000 клеток U937). Две отдельных гибридомы идентифицировали как мощные блокаторы связывания Ramos с VCAM-1 и стабилизировали их как клоны. Антитела обозначали как TY21.6 и TY21.12.

Определили, что оба антитела вступают в реакцию с интегрином α_4 , так как антитела осаждали две белковые полосы из лизата лимфоцитов, меченых на клеточной поверхности. Данные белки обладали молекулярной массой 150 и 130 кДа, соответствующей известным молекулярным массам интегриновых цепей α_4 и β_1 , соответственно. В параллельном образце коммерчески доступным, хорошо охарактеризованным антителом к человеческому интегину α_4 (антитело НР2/1) осаждались идентичные полосы. Других белковых полос не выявили. Данные

результаты указывают на то, что 21.6 и 21.12 взаимодействуют с интегриновым комплексом $\alpha_4\beta_1$.

Антитела TY21.6 и 21.12 дополнительно охарактеризовывали посредством анализа FACS, с применением стандартных способов окрашивания клеток посредством непрямой иммунофлуоресценции. Оба антитела взаимодействовали с человеческой В-клеточной линией, JY (экспрессирующей интегрин α_4 , но только очень низкие уровни β_1). Оба антитела не взаимодействовали с человеческими клетками K562 или с человеческими нейтрофилами (экспрессирующие β_1 , но очень низкие уровни интегрин α_4). Наконец, оба антитела реагировали с мышинными L-клетками, трансфицированными человеческим интегрином $\alpha_4\beta_1$ (полученными, как описано выше, для трансфицированных VCAM-1 L-клеток с применением T-клеточной линии Jurkat в качестве матричной РНК), но не с L-клетками, трансфицированными контролем. Идентичный профиль реактивности получен с применением HP2/1, тогда как хорошо охарактеризованное антитело к интегрина β_1 (АПВ2) не взаимодействовало с JY, но взаимодействовало с K562 и нейтрофилами. Таким образом, TY21.6 и TY21.12 избирательно взаимодействуют с интегрином α_4 .

В. Функциональная характеристика TY21.6, TY21.12 и L25. Все три антитела, TY21.6, TY21.12 и L-25 (Clayberger et al., J. Immunol. 138: 1510-1514 (1987)), эффективно ингибируют связывание человеческих лимфоцитов со стимулированными TNF крысиными ЕС из головного мозга. Первичные крысиные ЕС из головного мозга или клоны крысиных ЕС из головного мозга (описанные выше) помещали в 96-луночные планшеты для тканевых культур. В некоторых лунках ЕС стимулировали TNF (как описано выше) в течение 4-24 часов. Клетки Jurkat, U937 или Ramos метили флуоресцентной меткой (как описано выше), предварительно обрабатывали указанным антителом, а затем добавляли к отдельным лункам (200000 клеток/лунку; лунки в трех параллелях/обработка антителом). Уровень связывания определяли, как описано выше, для анализа связывания VCAM-1 в 96 лунках. Результаты обобщены в таблице 15.

Эксперимент 1		Эксперимент 2				
1° крысиные ЕС из головного мозга	U937	% связавшихся введенных клеток	Клон RBEC	Антитело	% связавшихся введенных Jurkat	% связавшихся введенных Ramos
0	без а/г	7±1	0	без а/г	3±1	2±1
TNF α	без а/г	36±5	TNF α	без а/г	66±3	40±1
TNF α	HP2/1	13±2	TNF α	HP2/1	6±1	2±1
TNF α	21.6	7±1	TNF α	TY21.6	8±2	1±1
TNF α	21.12	5±2	TNF α	TY21.12	8±1	1±0
			TNF α	L25	12±3	2±1

Обнаружили, что все три антитела ингибируют связывание человеческих лимфоцитов с трансфицированными VCAM-1 L-клетками (анализ, как описано выше), как представлено в таблице 16.

Антитело	% связавшихся введенных Ramos	% связавшихся введенных U937
нет	45±13	60±6
HP2/1	0±0	3±2
L25	9±2	11±2
TY21.6	1±1	0±1
TY21.12	0±0	1±0

Как показано в таблице 17, все три антитела ингибируют связывание клеток с воспаленными сосудами в срезах головного мозга при ЕАЕ (анализ проводили как описано выше).

5

Таблица 17	
Обработка U937	Связывание
Без антитела	100±10
TY21.6	0±1
TY21.12	0±1
L25	1±1
HP2/1	3±1

10

15

20

25

Некоторые антитела к интегрину α_4 (такие как HP2/4; Pulido et al., J. Biol. Chem. 266: 10241-10245 (1991)) индуцируют самоагрегацию лимфоцитов. Основа данной агрегации плохо понятна. В той же статье сообщалось, что L25 индуцирует агрегацию лимфоцитов. Однако авторы не могли воспроизвести данные наблюдения. В исполнении авторов изобретения L25, TY21.6 и 21.12 не индуцировали агрегацию клеток при непосредственном сравнении с HP2/4. Агрегацию индуцировали посредством смешивания 100000 клеток U937 с супернатантом с антителом (конечное разделение 1:5) в лунках 96-луночного планшета для тканевых культур (конечный объем 100 мкл/лунку). Агрегации позволяли происходить в течение от 30 минут до 4 часов и оценивали визуально на основе системы произвольного рейтинга +/-, по сравнению с контролем без антитела. Результаты представлены в

30

Таблица 18	
Индуцирующее антитело	Степень агрегации U937
нет	-
HP2/1	-
L25	-
TY21.6	-
TY21.12	-
HP2/4	+++

35

40

Некоторые антитела к интегрину α_4 ингибируют агрегацию, индуцированную антителом к интегрину α_4 HP2/4, HP2/1, TY21.6 и TY21.12 блокируют индуцированную HP2/4 агрегацию клеток, тогда как L25 нет. Данный анализ проводили, как описано выше, за исключением того, что клетки U937 перед добавлением индуцирующего агрегацию антитела, HP2/4 (конечная концентрация супернатанта гибридомы HP2/4 составляла 1:20), в течение 30 минут на льду предварительно обрабатывали блокирующими антителами (супернатант, разбавленный в отношении 1:5 или очищенное антитело в концентрации 5 мкг/мл).

45

Таблица 19	
Предварительная обработка U937	Степень агрегации индуцируемой HP2/4
нет	+++
HP2/1	-
L25	+++
TY21.6	-
TY21.12	+/-

50

Кроме VCAM-1 интегрин $\alpha_4\beta_1$ опосредует связывание клеток с доменом CS-1 FN.

Некоторые антитела к интегрину α_4 ингибируют связывание с FN, как в случае с L25, TY21.6 и TY21.12; все три антитела эффективны так же как и HP2/1. Данный анализ проводили, как описано у Pulido et al. (1991), выше. Результаты обобщены в таблице 20.

5

Таблица 20						
Покрытие планшета	BSA	FN	FN	FN	FN	FN
Jurkat	нет	нет	HP2/1	21.6	21.12	L25
Обработка						
% связывания добавленного материала	2±1	77±6	42±7	43±6	34±2	21±1
(% ингибирования)	-	-	(47)	(45)	(55)	(60)

10

Данная заявка притязает на приоритет предварительных заявок на выдачу патента США № 60/442713 и 60/500316, поданных 24 января 2003 г. и 5 сентября 2003 г., соответственно. Полное содержание указанных выше заявок и все цитируемые в них ссылки, выданные патенты и опубликованные заявки на выдачу патентов, включены сюда полностью в качестве ссылки.

15

Ссылки

20

Следующие публикации, патенты и заявки на выдачу патента цитируются в настоящей заявке в виде чисел, показанных надстрочным индексом:

1. Hemler and Takada, *European Patent Application Publication No.* 330,506, published August 30, 1989

25

2. Elices, et al., *Cell*, 60:577-584 (1990)

3. Springer, *Nature*, 346:425-434 (1990)

4. Osborn, *Cell*, 62:3-6 (1990)

5. Vedder, et al., *Surgery*, 106:509 (1989)

6. Pretolani, et al., *J. Exp. Med.*, 180:795 (1994)

30

7. Abraham, et al., *J. clin. Invest.*, 93:776 (1994)

8. Mulligan, et al., *J. Immunology*, 150:2407 (1993)

9. Cybulsky, et al., *Science*, 251:788 (1991)

10. Li, et al., *Arterioscler. Thromb.*, 13:197 (1993)

35

11. Sasseville, et al., *Am. J. Path.*, 144:27 (1994)

12. Yang, et al., *Proc. Nat. Acad. Science (USA)*, 90:10494 (1993)

13. Burkly, et al., *Diabetes*, 43:529 (1994)

14. Baron, et al., *Clin. Invest.*, 93:1700 (1994)

15. Hamann, et al., *J. Immunology*, 152:3238 (1994)

40

16. Yednock, et al., *Nature*, 356:63 (1992)

17. Baron, et al., *J. Exp. Med.*, 177:57 (1993)

18. van Dinther-Janssen, et al., *J. Immunology*, 142:4207 (1991)

19. van Dinther-Janssen, et al., *Annals. Rheumatic Dis.*, 52:672 (1993)

45

20. Elices, et al., *J. Clin. Invest.*, 93:405 (1994)

21. Postigo, et al., *J. Clin. Invest.*, 89:1445 (1991)

22. Paul, et al., *Transpl. Proceed.*, 25:813 (1993)

23. Okarhara, et al., *Can. Res.*, 54:3233 (1994)

24. Paavonen, et al., *Int. J. Can.*, 58:298 (1994)

50

25. Schadendorf, et al., *J. Path.*, 170:429 (1993)

26. Bao, et al., *Diff.*, 52:239 (1993)

27. Lauri, et al., *British J. Cancer*, 68:862 (1993)

28. Kawaguchi, et al., *Japanese J. Cancer Res.*, 83:1304 (1992)

29. Kogan, et al., *U.S. Patent No. 5,510,332*, issued April 23, 1996

30. International Patent Appl. Publication No. WO 96/01644

Все указанные выше публикации, патенты и заявки на выдачу патента включены сюда полностью в качестве ссылки в той степени, как если каждая отдельная публикация, патент или заявка на выдачу патента была бы конкретно и отдельно отмечена как включенная полностью в качестве ссылки.

Формула изобретения

1. Применение ремиелинизирующего средства для получения лекарственного средства в количестве, стимулирующем ремиелинизацию нервных клеток млекопитающего, для лечения демиелинизирующего заболевания, где лекарственное средство вводят постоянно нуждающемуся в этом млекопитающему;

постоянное введение ремиелинизирующего средства представляет собой еженедельное или ежемесячное введение в течение периода, по меньшей мере, равного шести месяцам; и

ремиелинизирующее средство представляет собой антитело или его иммунологически активный фрагмент, связывающийся с альфа-4-интегрином, и, в частности, антитело представляет собой моноклональное антитело натализумаб или его иммунологически активный фрагмент.

2. Применение по п.1, в котором млекопитающее является человеком.

3. Применение по п.2, в котором человек страдает от состояния, которое демиелинизирует клетки, и где указанное заболевание представляет собой рассеянный склероз, врожденное метаболическое заболевание, невропатию с аномальной миелинизацией, демиелинизацию, индуцированную лекарственными средствами, демиелинизацию, индуцированную облучением, наследственное демиелинизирующее состояние, индуцированное прионами демиелинизирующее состояние, демиелинизацию, индуцированную энцефалитом или повреждение спинного мозга.

4. Применение по п.3, в котором человек страдает от рассеянного склероза.

5. Применение по п.1, в котором натализумаб или его иммунологически активный фрагмент вводят внутривенно или подкожно.

6. Применение по п.1 или 5, в котором иммунологически активный фрагмент антитела представляет собой Fab, scFv, или F(ab')₂.

7. Применение по п.5, в котором натализумаб или его иммунологически активный фрагмент вводят млекопитающему внутривенно, и в котором введение приводит к эффективным концентрациям натализумаба в крови указанного млекопитающего, равным, по меньшей мере, 1 нг/мл.

8. Применение по п.7, в котором эффективная концентрация натализумаба или его иммунологически активного фрагмента в крови составляет примерно 1 нг/мл.

9. Применение по п.1, в котором постоянное введение ремиелинизирующего средства осуществляется еженедельно или ежемесячно в течение периода, по меньшей мере, равного одному году.

10. Применение по любому из пп.1-4, в котором совместно с ремиелинизирующим средством млекопитающему вводится противовоспалительное средство.

11. Применение по п.10, в котором противовоспалительное средство представляет собой интерферон, глатирамер-ацетат или нестероидное противовоспалительное лекарственное средство.

12. Применение по п.11, в котором интерферон представляет собой интерферон бета-1b или интерферон бета-1a.

13. Применение по п.11, в котором нестероидное противовоспалительное средство представляет собой аспирин, салицилат натрия, трисалицилат холина-магния, сальсалат, дифлунизал, сульфасалазин, олсалазин, производные пара-аминофенола, индол, инденуксусную кислоту, гетероарилуксусную кислоту, антраниловую кислоту, еноловую кислоту, алканоны, диарилзамещенный фуранон, диарилзамещенные пиразолы, индолуксусные кислоты или сульфонанилид.

14. Способ стимуляции ремиелинизации нервных клеток у млекопитающего, включающий постоянное введение нуждающемуся в этом млекопитающему ремиелинизирующего средства в эффективном ремиелинизирующем количестве, в котором:

постоянное введение ремиелинизирующего средства представляет собой еженедельное или ежемесячное введение в течение периода, по меньшей мере, равного шести месяцам; и

ремиелинизирующее средство представляет собой антитело или его иммунологически активный фрагмент, связывающийся с альфа-4-интегрином, и, в частности, антитело представляет собой моноклональное антитело натализумаб или его иммунологически активный фрагмент.

15. Способ по п.14, в котором млекопитающее является человеком.

16. Способ по п.15, в котором человек страдает от состояния, которое демиелинизирует клетки, и где указанное заболевание представляет собой рассеянный склероз, врожденное метаболическое заболевание, невропатию с аномальной миелинизацией, демиелинизацию, индуцированную лекарственными средствами, демиелинизацию, индуцированную облучением, наследственное демиелинизирующее состояние, индуцированное прионами демиелинизирующее состояние, демиелинизацию, индуцированную энцефалитом или повреждение спинного мозга.

17. Способ по п.16, в котором человек страдает от рассеянного склероза.

18. Способ по п.14, в котором натализумаб или его иммунологически активный фрагмент вводят внутривенно или подкожно.

19. Способ по п.14 или 18, в котором иммунологически активный фрагмент антитела представляет собой Fab, scFv или F(ab')₂.

20. Способ по п.18, в котором натализумаб или его иммунологически активный фрагмент вводят млекопитающему внутривенно, и в котором введение приводит к эффективной концентрации натализумаба или его иммунологически активного фрагмента в крови указанного млекопитающего, равной, по меньшей мере, 1 нг/мл.

21. Способ по п.20, в котором эффективная концентрация натализумаба или его иммунологически активного фрагмента в крови составляет примерно 10 нг/мл или выше.

22. Способ по п.14, в котором постоянное введение ремиелинизирующего средства осуществляется еженедельно или ежемесячно в течение периода, по меньшей мере, равного одному году.

23. Способ по п.14, в котором совместно с ремиелинизирующим средством млекопитающему вводится противовоспалительное средство.

24. Способ по п.23, в котором противовоспалительное средство представляет собой интерферон, глатирамер-ацетат или нестероидное противовоспалительное лекарственное средство.

25. Способ по п.24, в котором интерферон представляет собой интерферон бета-1b или интерферон бета-1a.

26. Способ по п.24, в котором нестероидное противовоспалительное средство представляет собой аспирин, салицилат натрия, трисалицилат холина-магния, сальсалат, дифлунизал, сульфасалазин, олсалазин, производные пара-аминофенола, индол, инденуксусную кислоту, гетероарилуксусную кислоту, антраниловую кислоту, еноловую кислоту, алканоны, диарилзамещенный фуранон, диарилзамещенные пиразолы, индолуксусные кислоты или сульфонанилид.

10

15

20

25

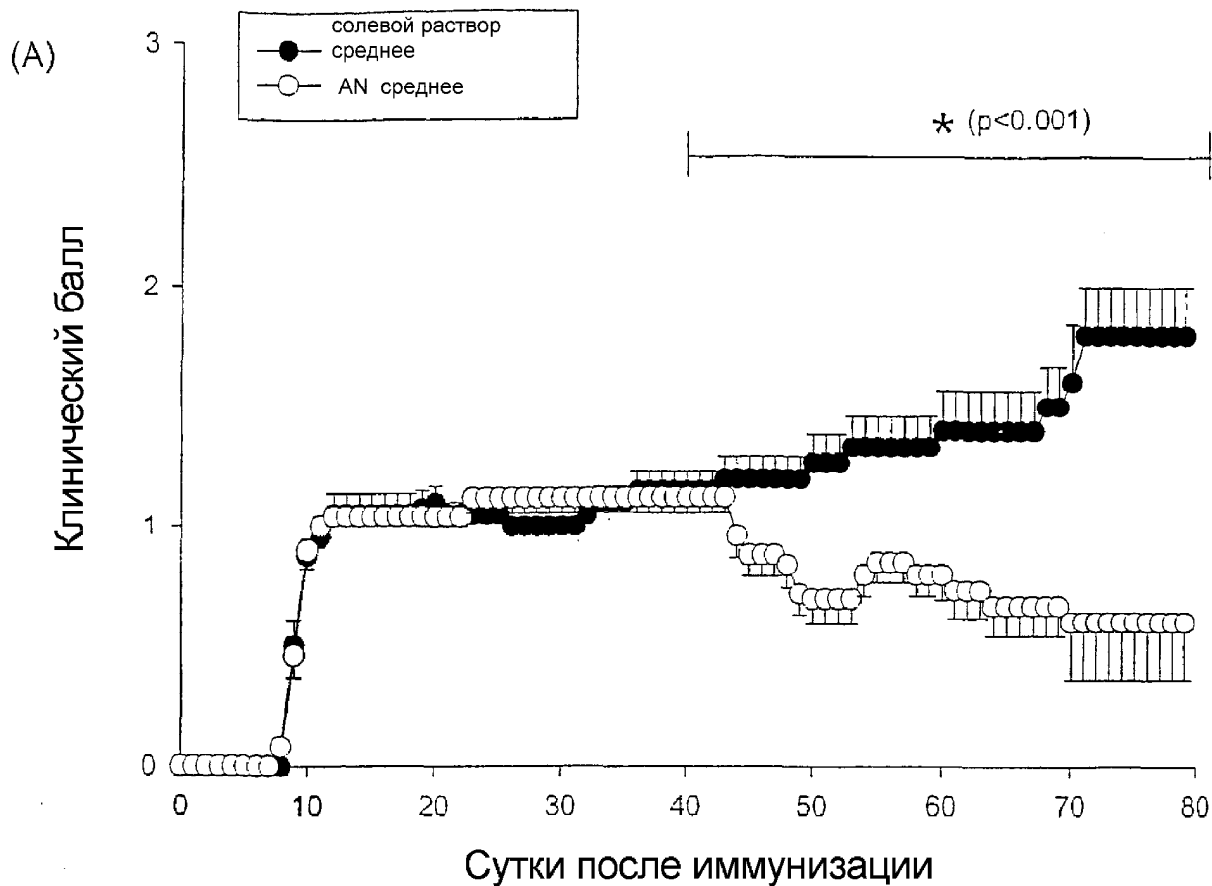
30

35

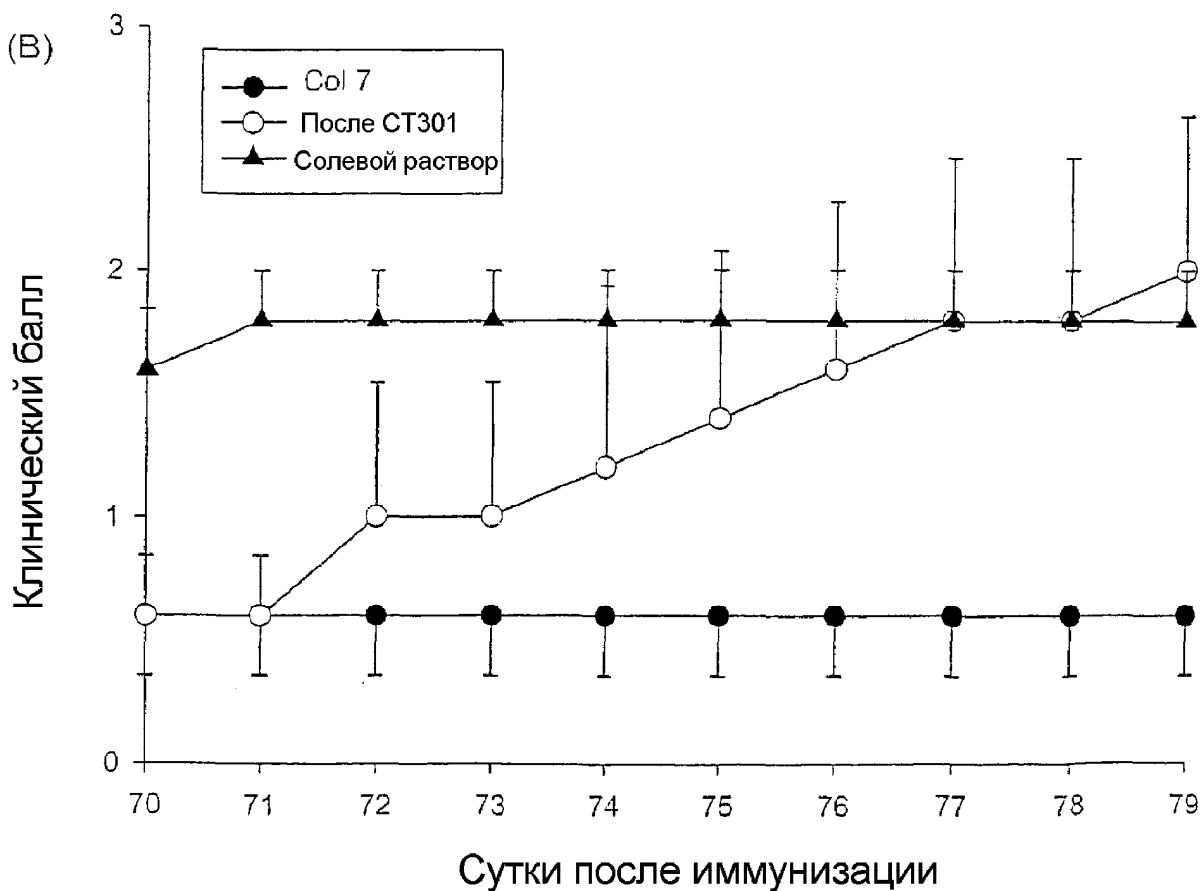
40

45

50



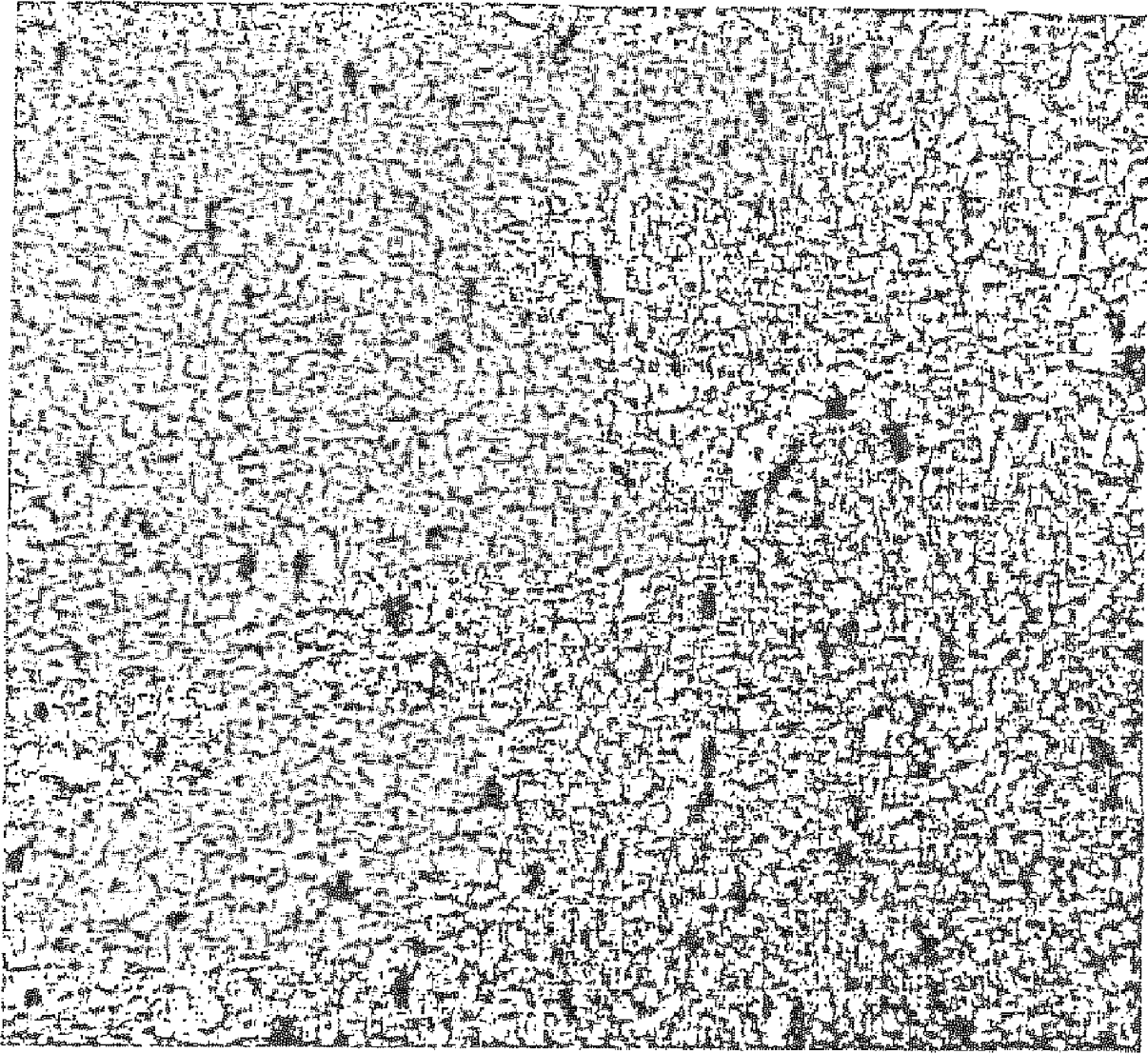
Фиг. 1А



Фиг. 1В



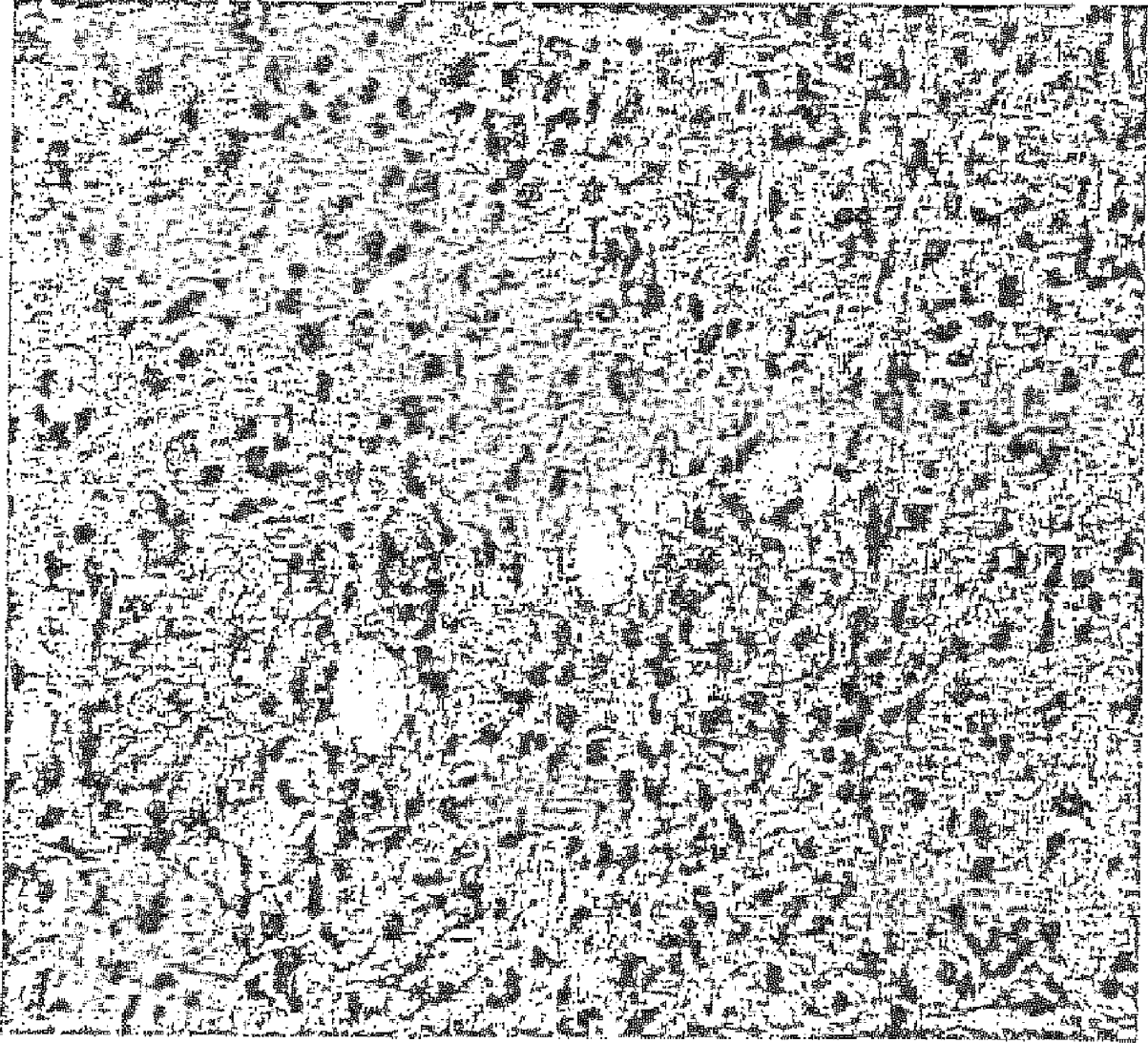
Фиг. 2А



Фиг. 2В



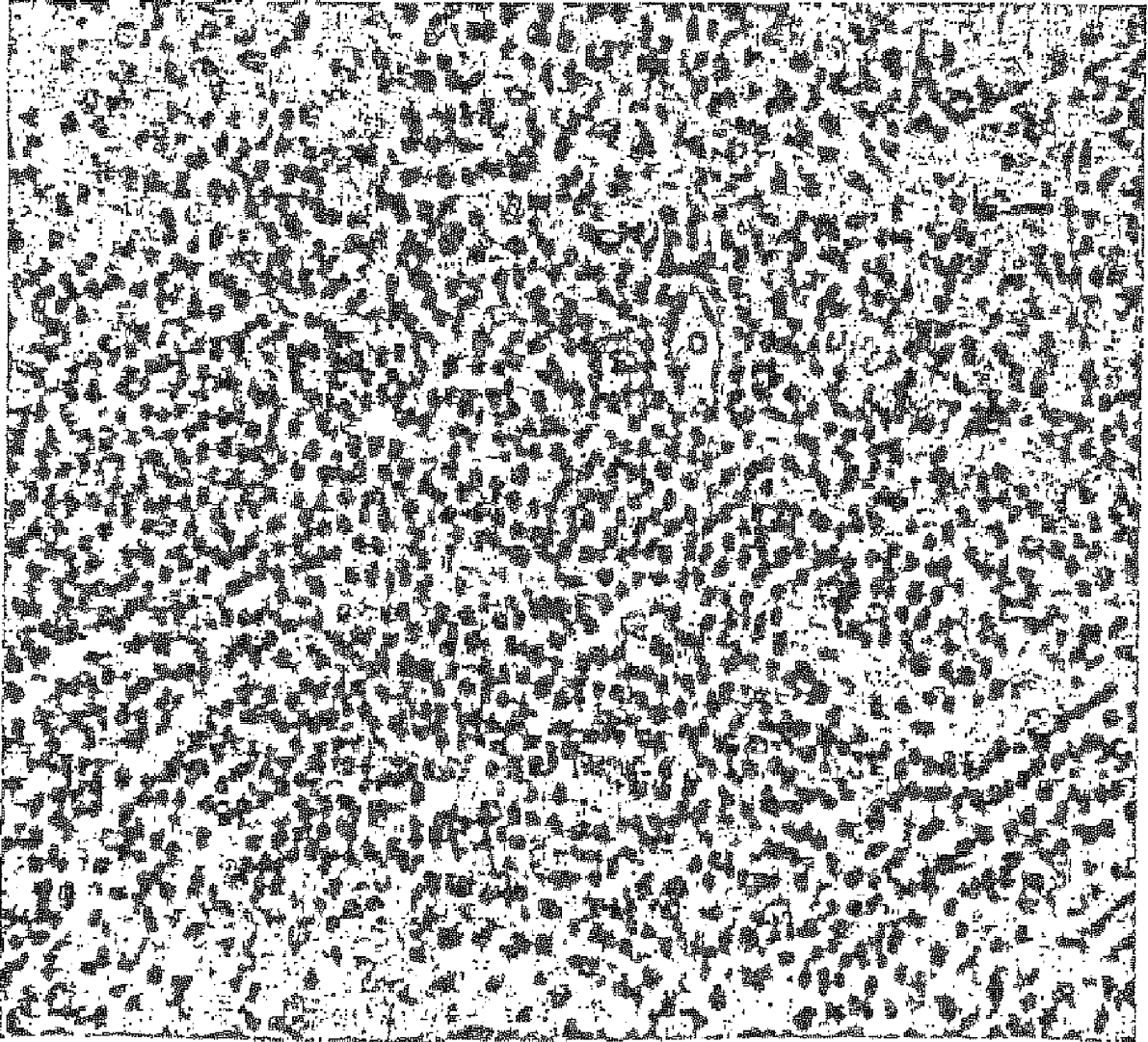
Фиг. 2С



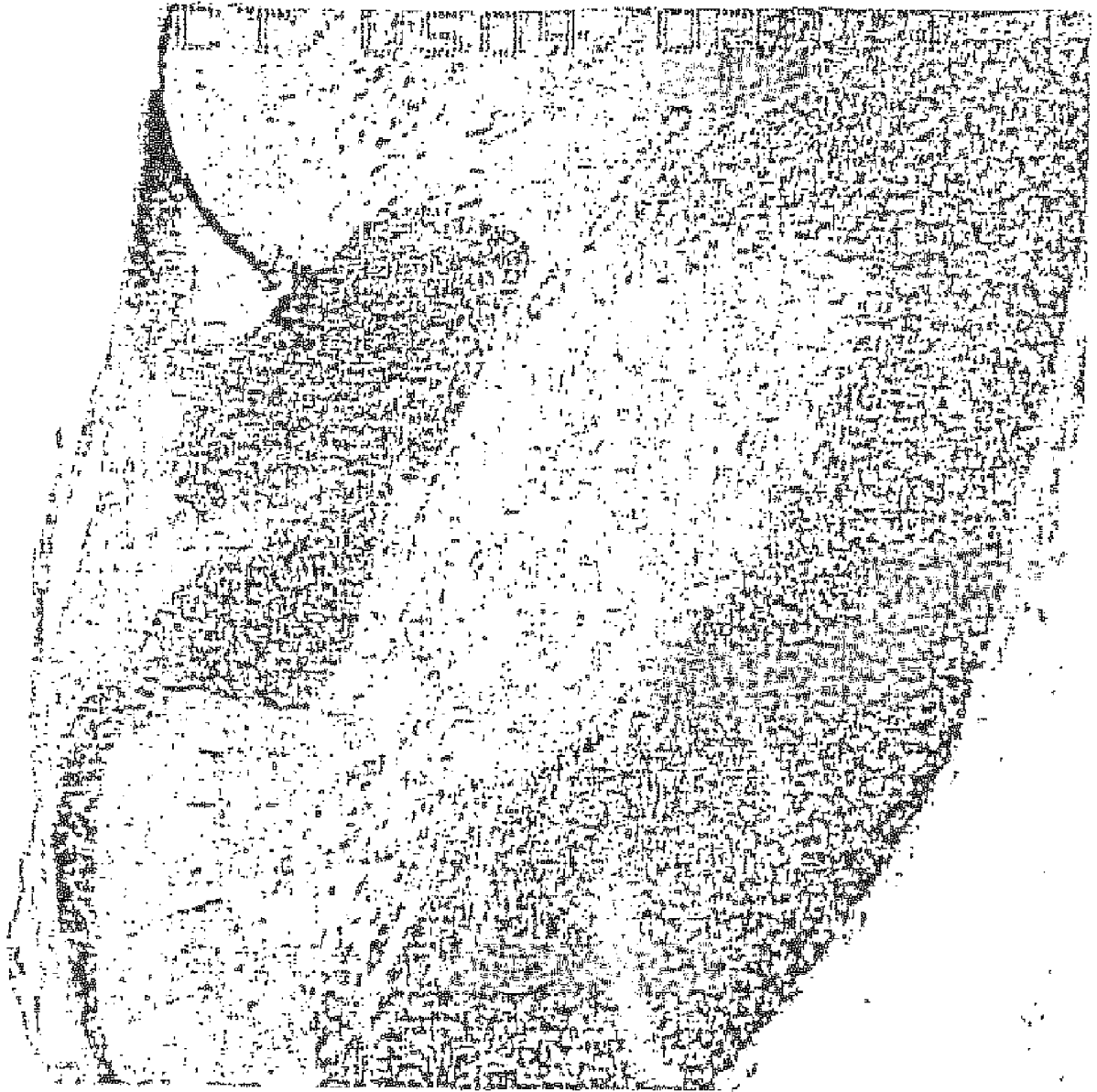
Фиг. 2D



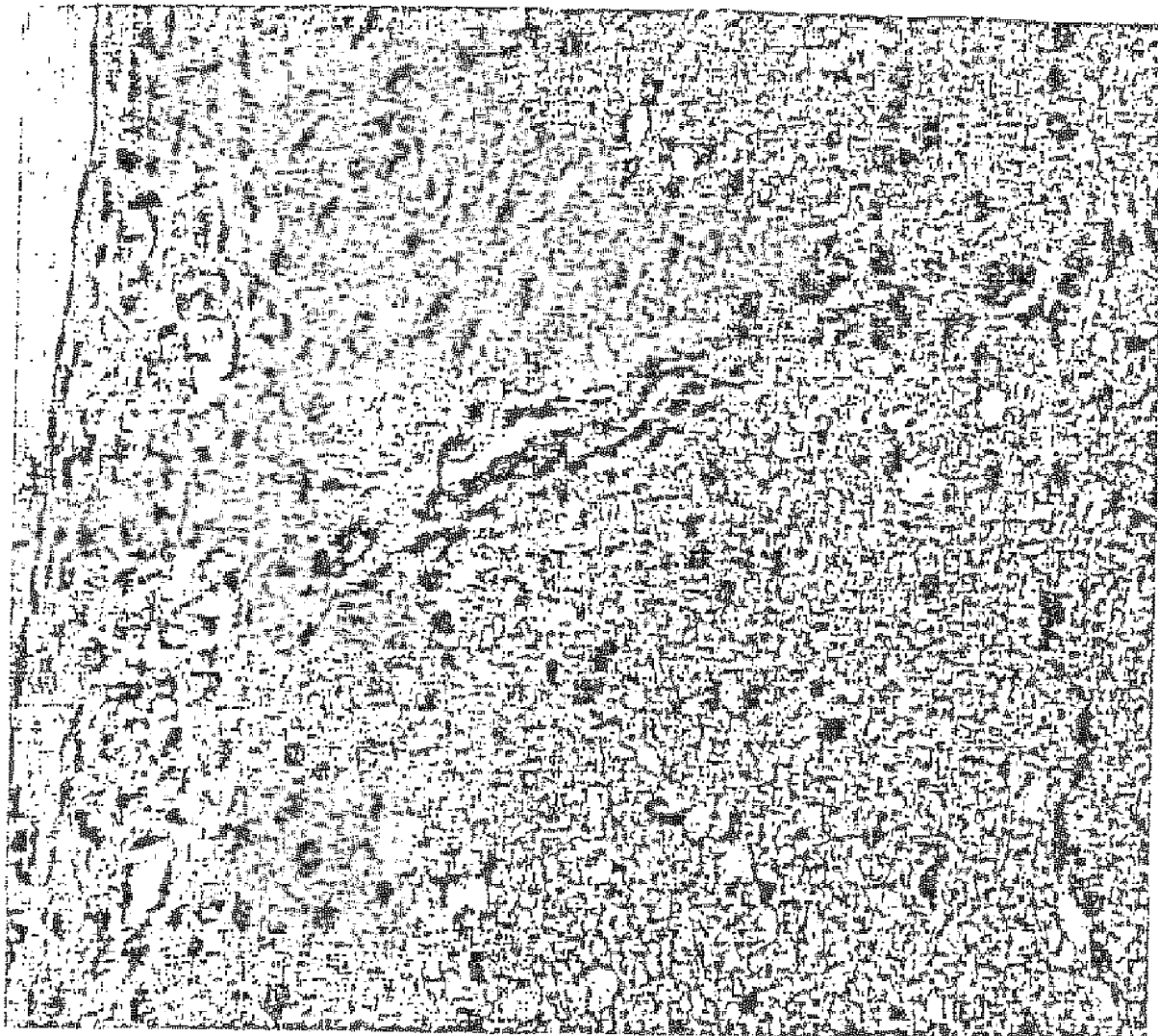
Фиг. 2Е



Фиг. 2F



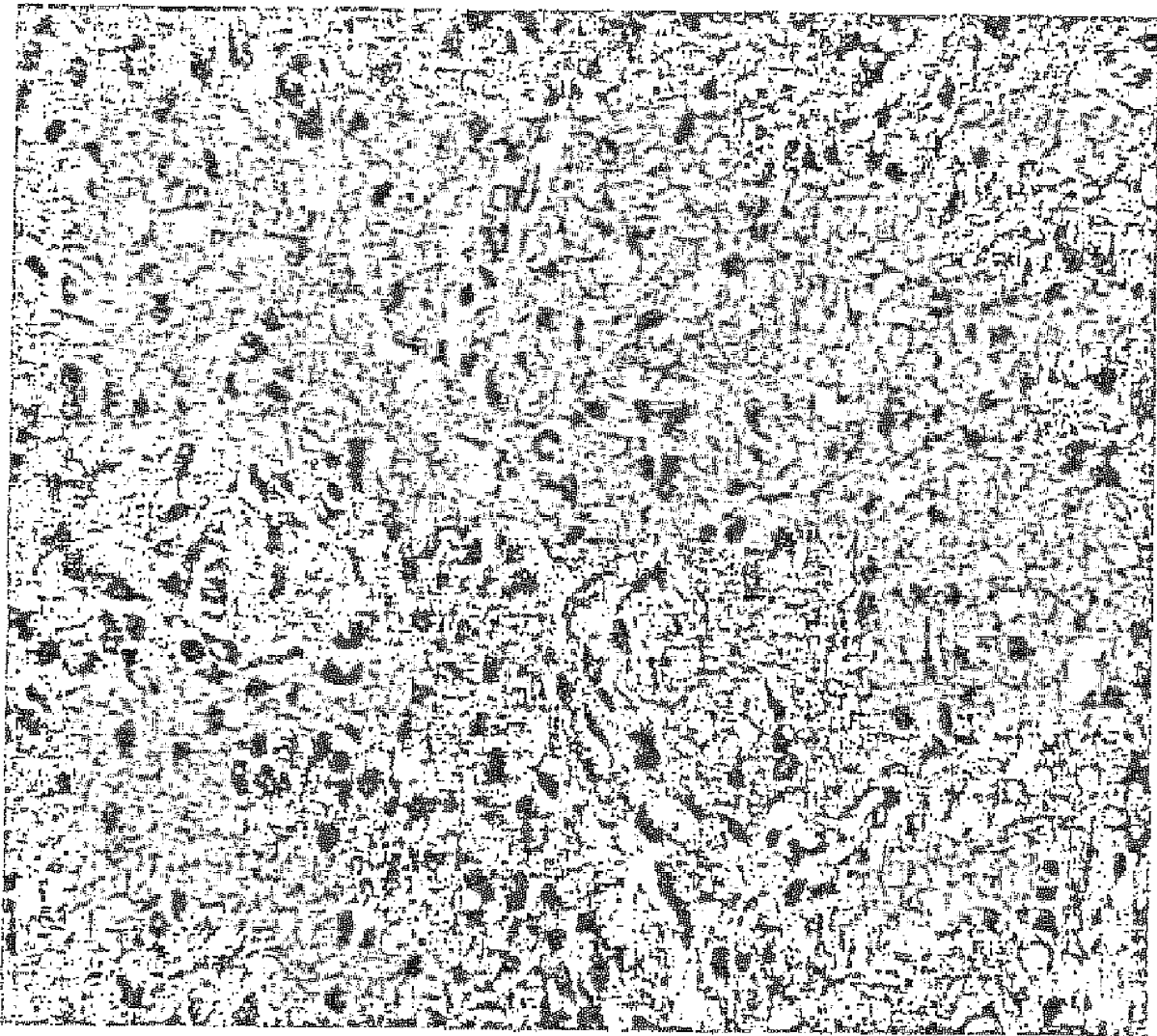
ФИГ. 2G



Фиг. 2H



Фиг. 21



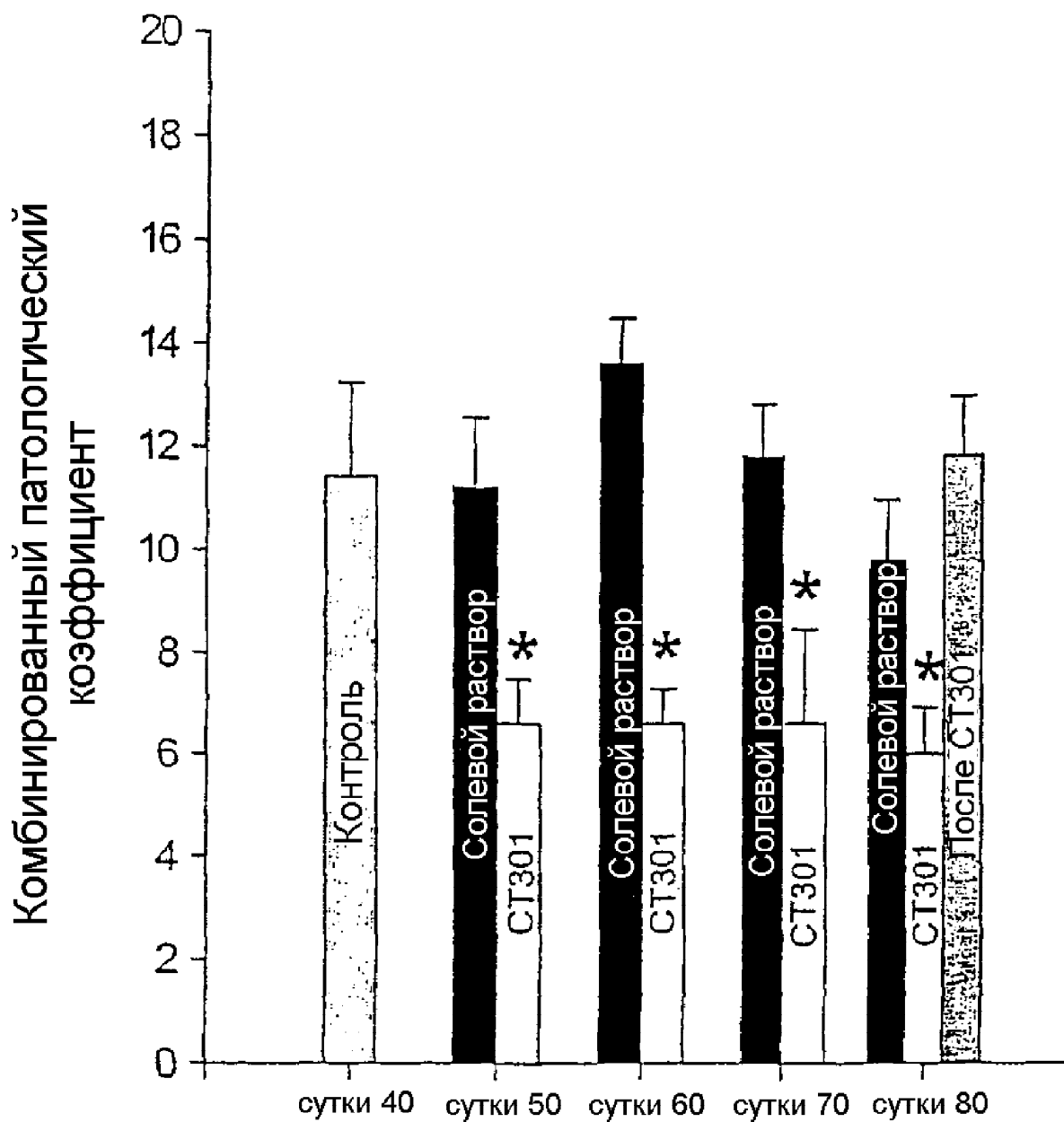
Фиг. 2J



Фиг. 2К

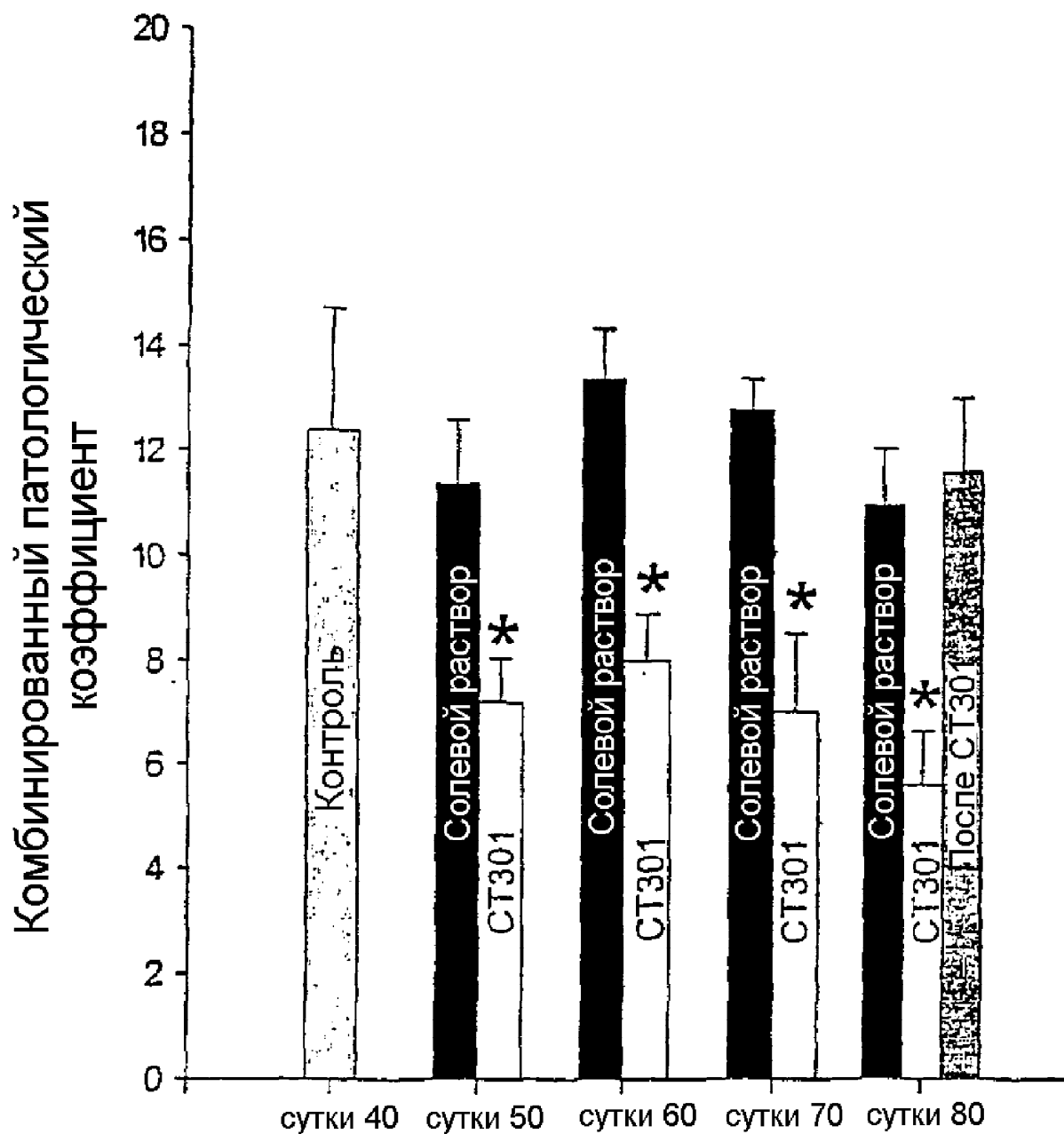


Фиг. 2L



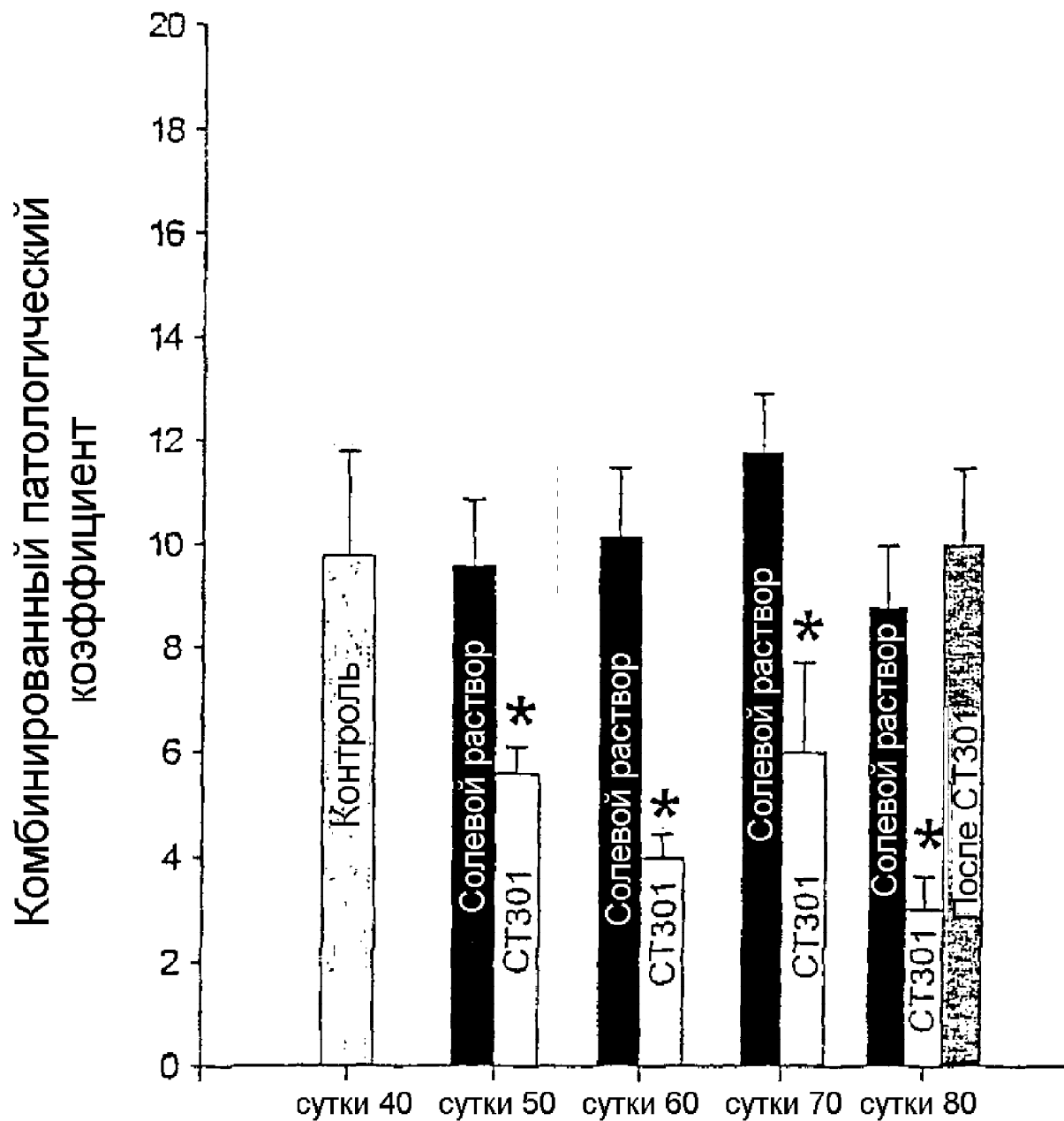
Менингеальное воспаление

Фиг. 3А



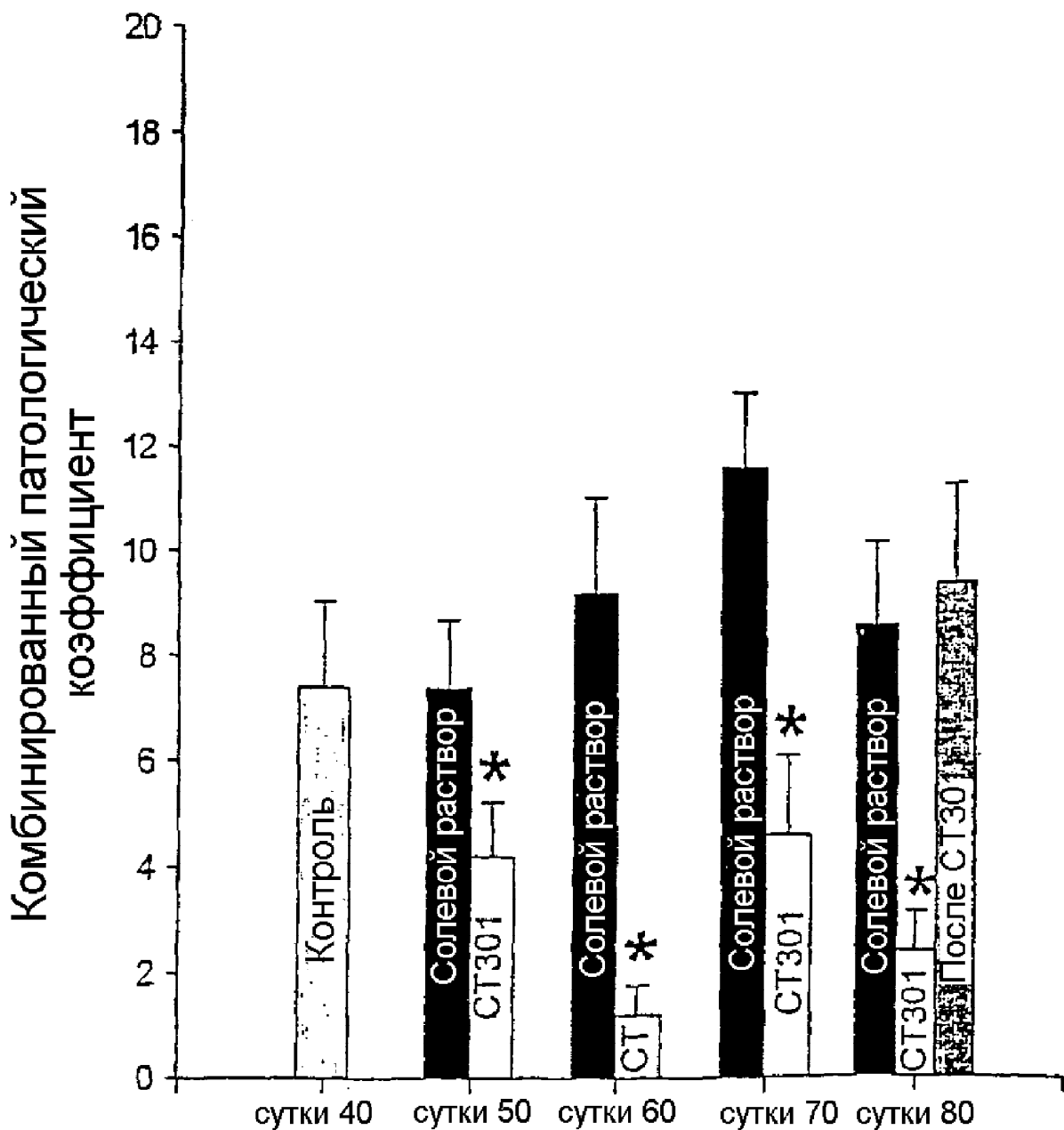
Периваскулярное воспаление

Фиг. 3В



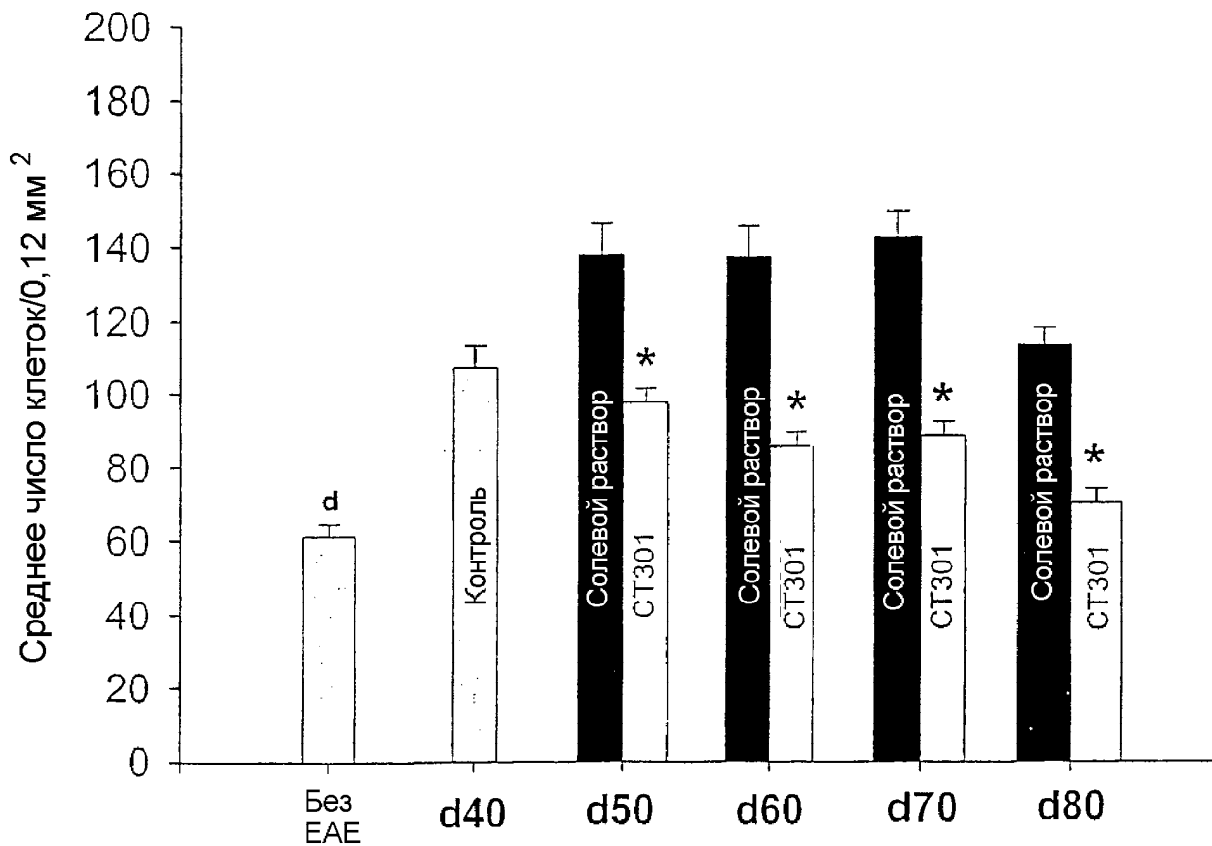
Энцефалит

Фиг. 3С

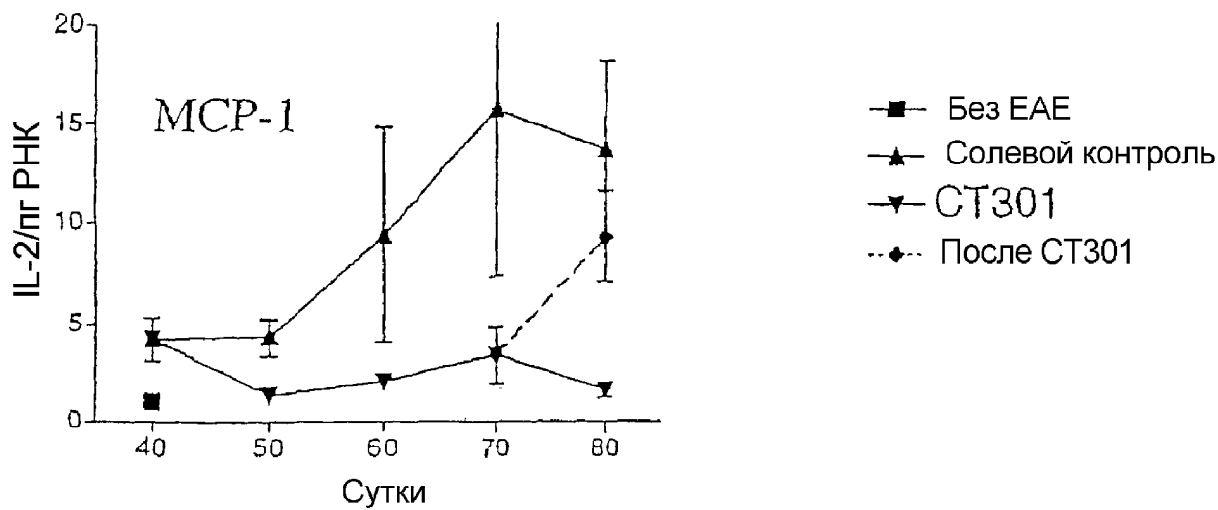


Демиелинизация

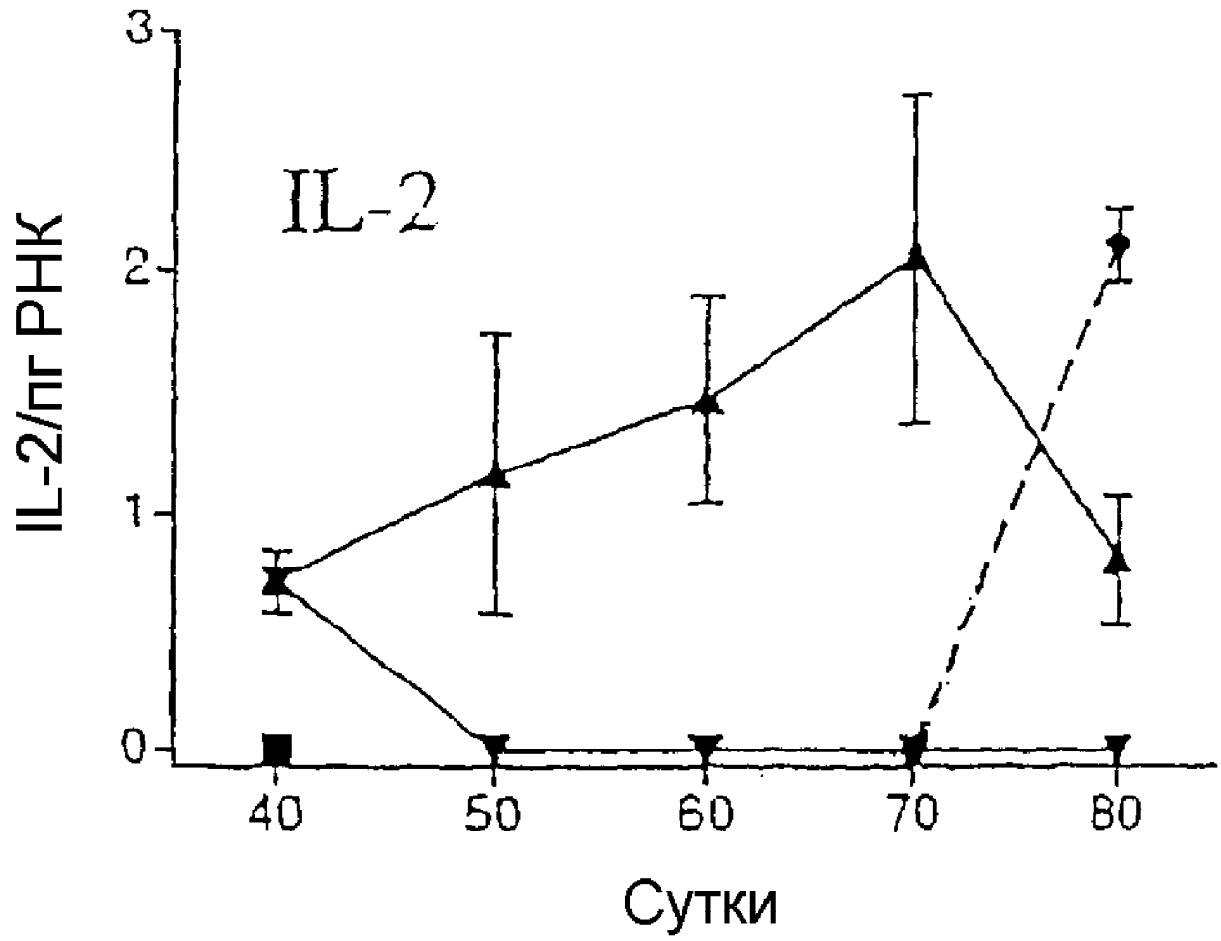
Фиг. 3D



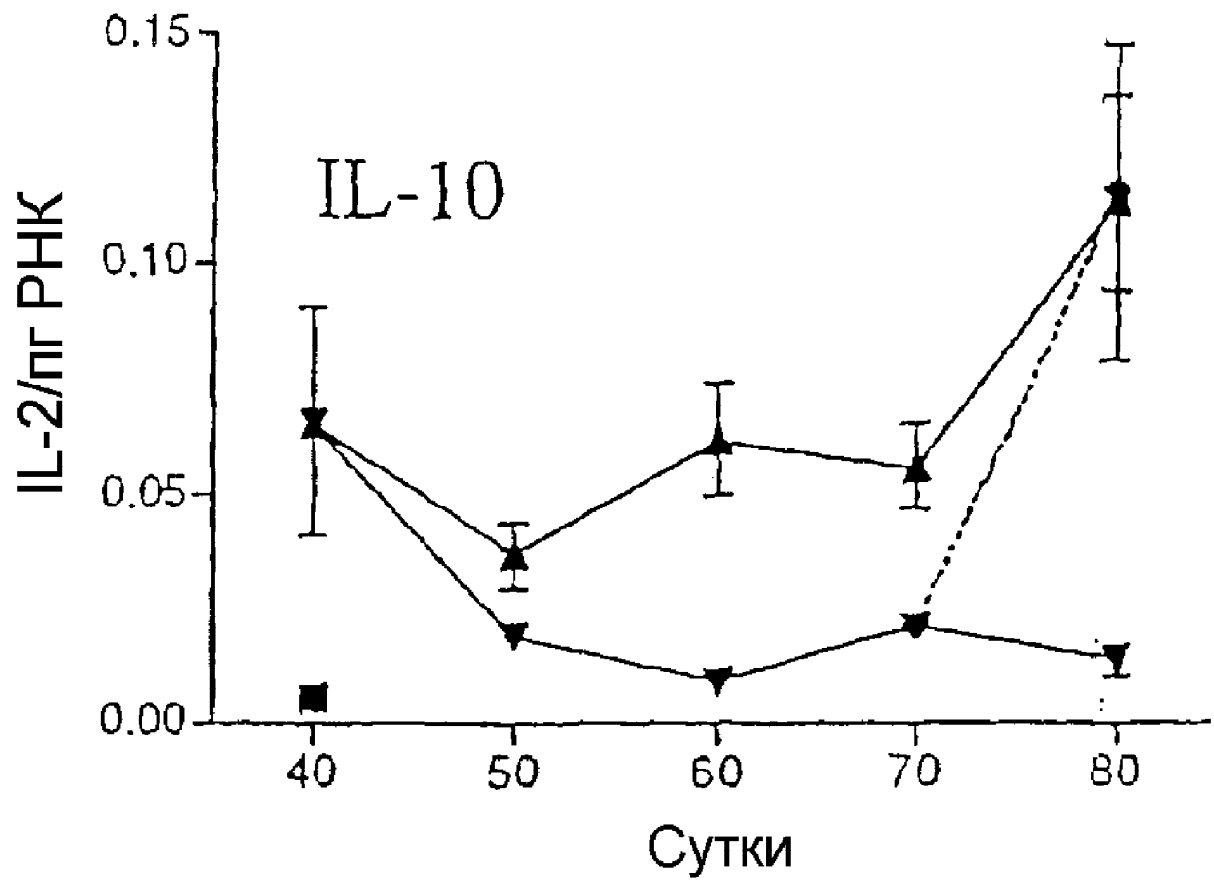
Фиг. 4



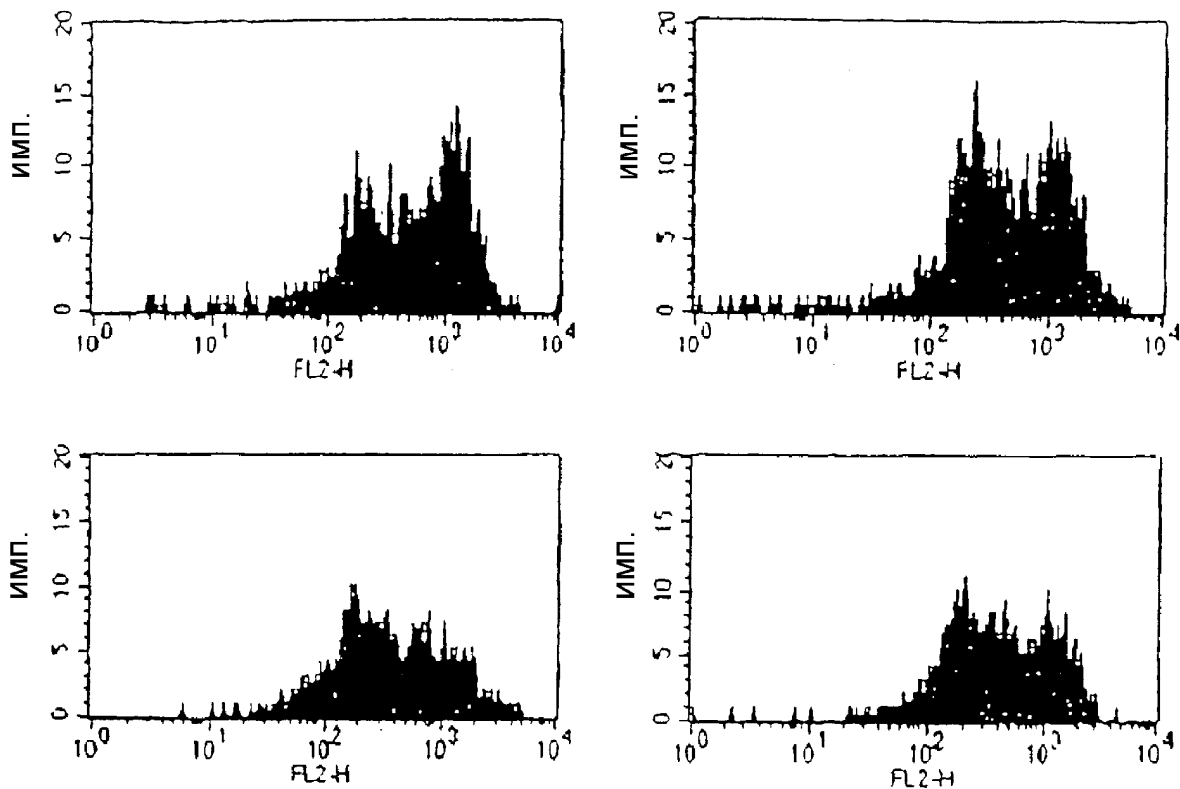
Фиг. 5А



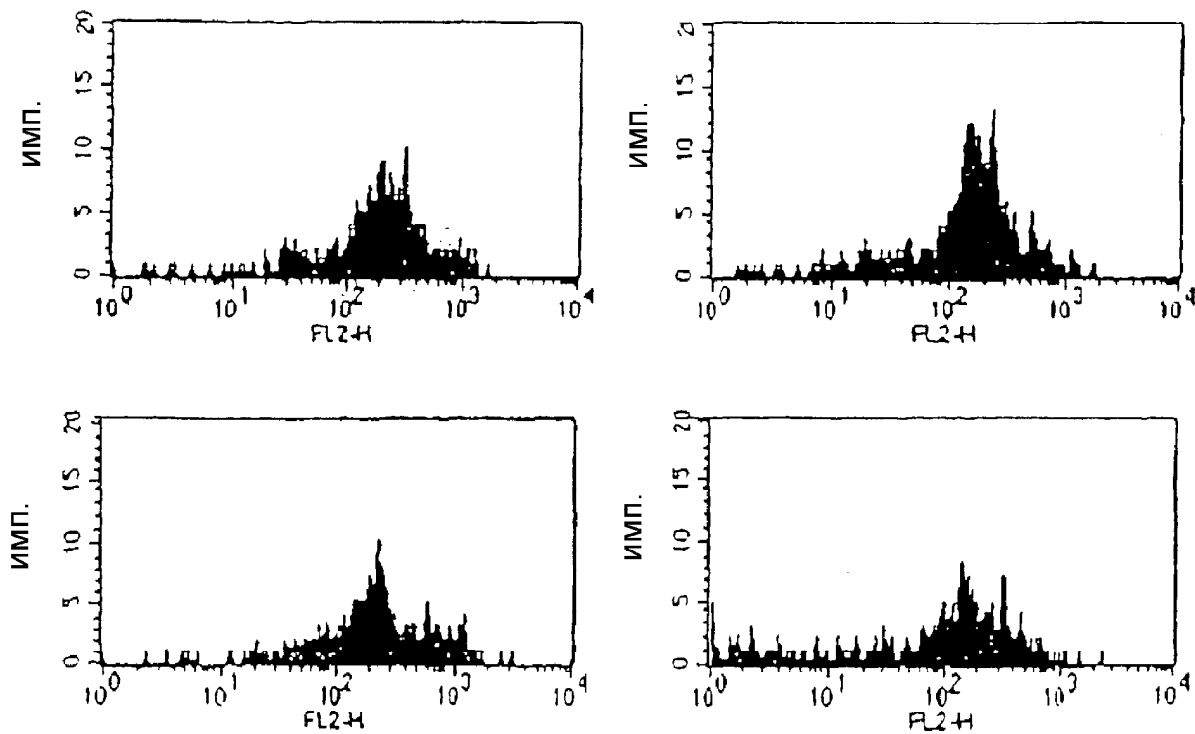
Фиг. 5В



Фиг. 5С

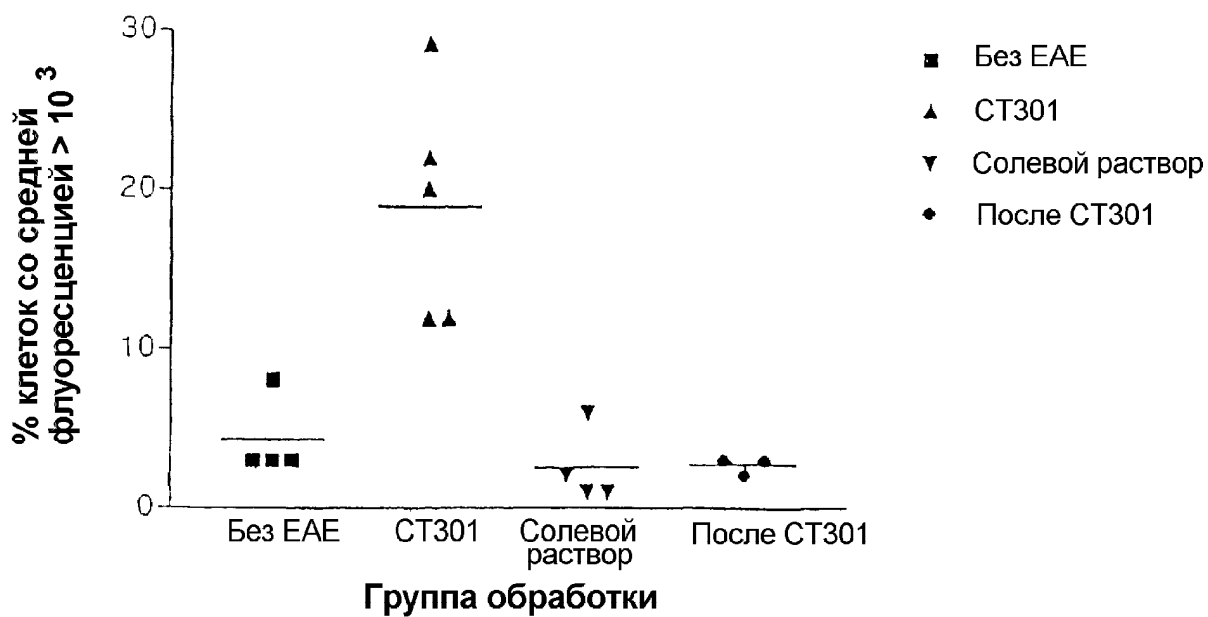


Солевой раствор



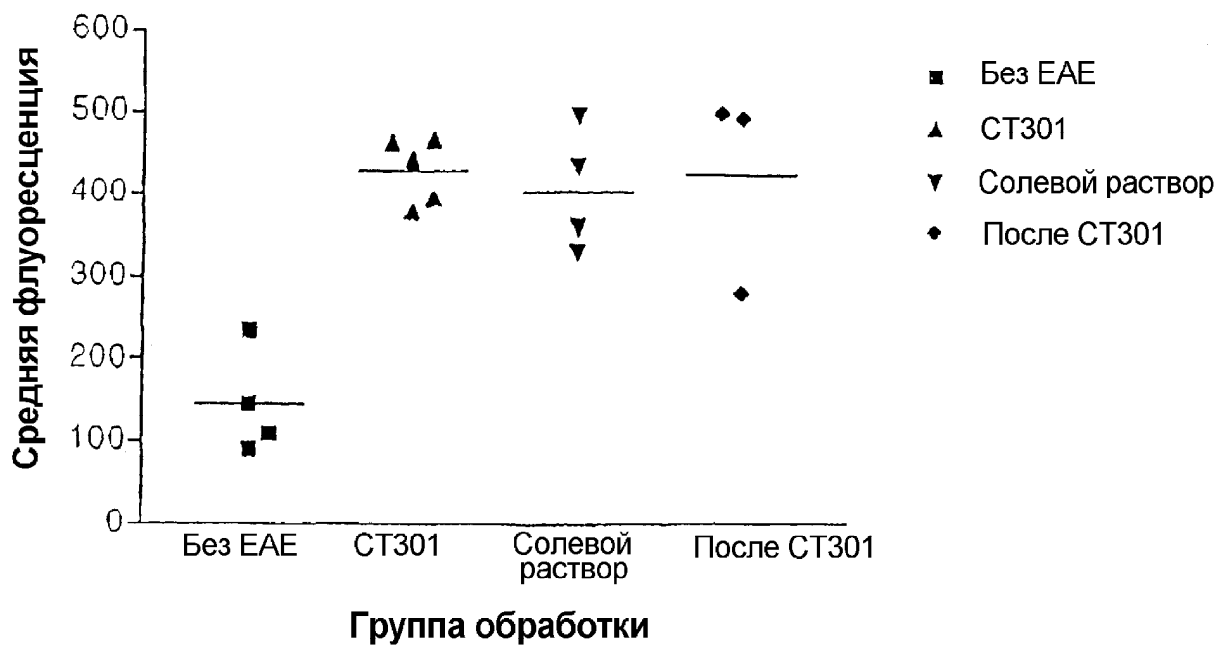
ФИГ. 6

Процент лимфоцитов крови с высоким уровнем $\alpha 4$ -интегрина

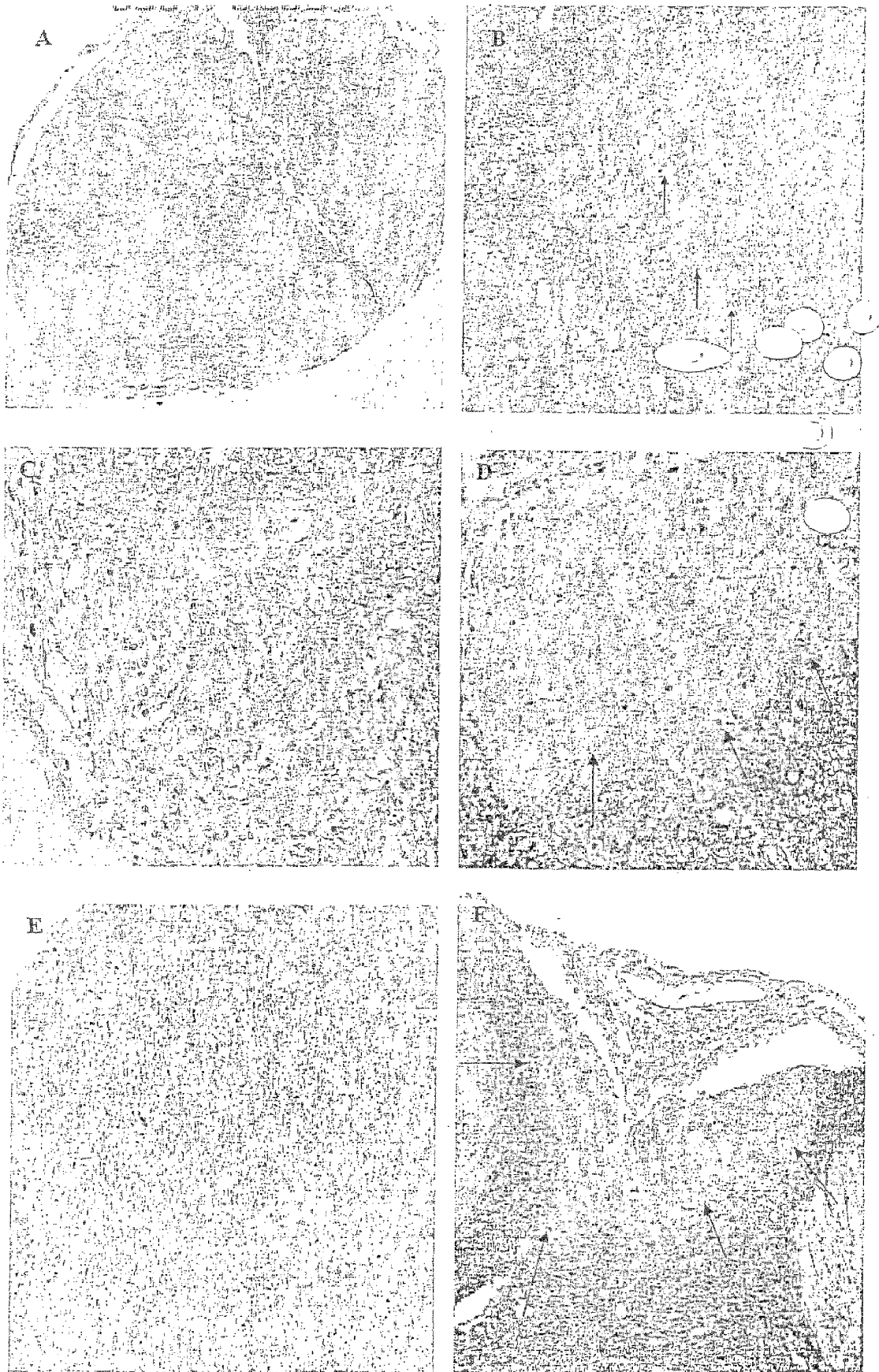


Фиг. 7А

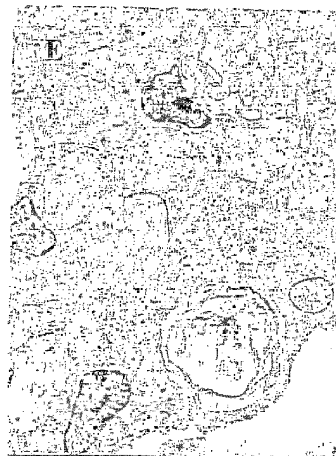
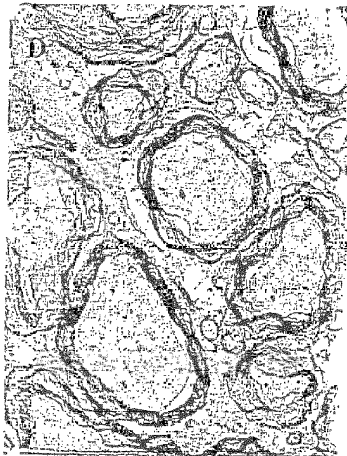
Экспрессия $\alpha 4$ -интегрина на моноцитах крови



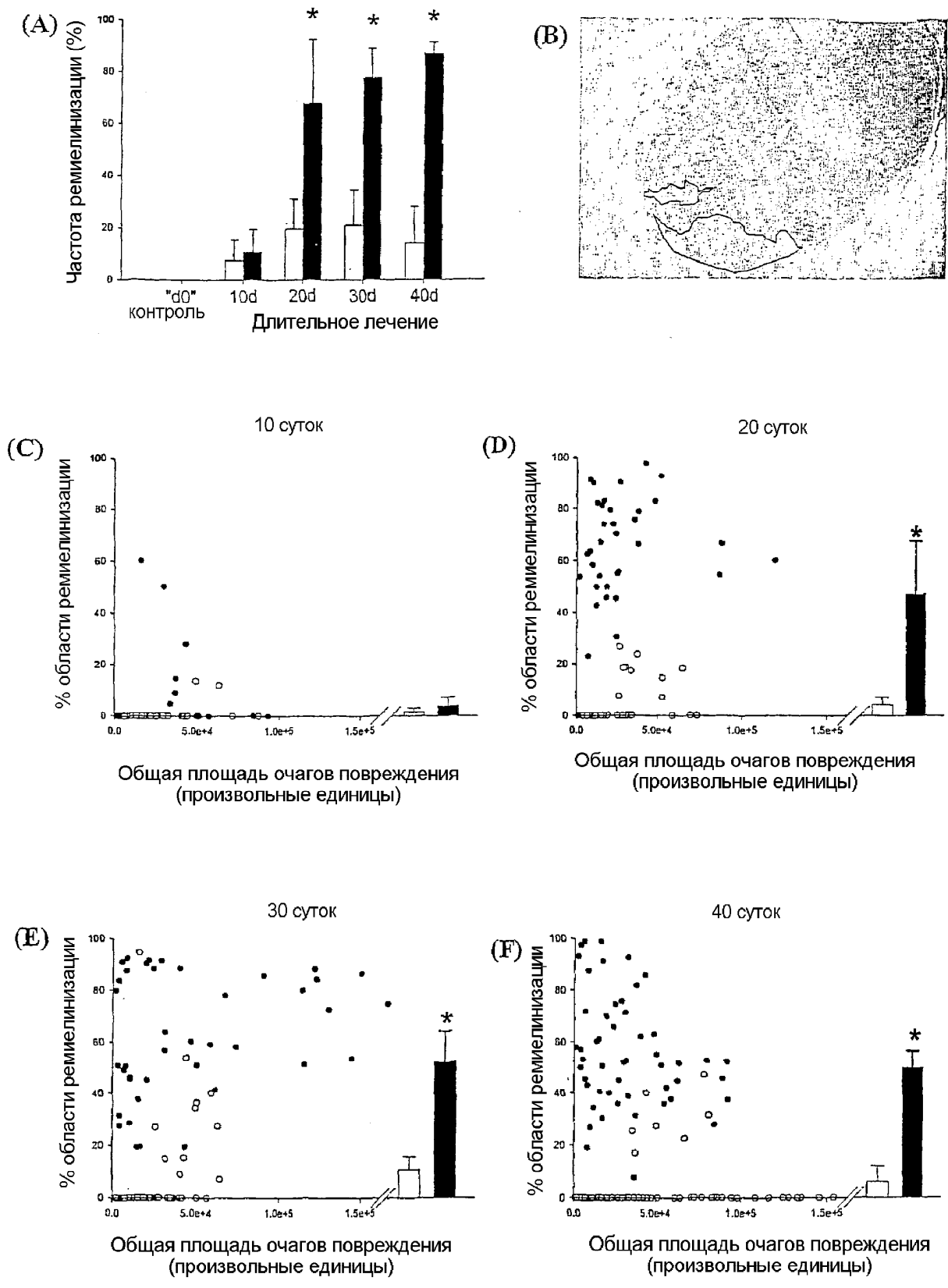
Фиг. 7В



Фиг. 8



ФИГ. 9



Фиг.10

atgaggggccccctgctcagatTTTTGGATTCTTGGTCAGGAGACGTTGT
 1 -----
 tactccccggggacgagtcctaaaaacctaagaaccagtcctctgcaaca

agaaatgagaccgtctattcagttcctggggctcttgttgttctggcttcattgg
 49 -----
 tctttactctggcagataagtcagggacccccgagaacaacaagaccgaagtacc

[M R P S I Q F L G L L L F W L H G

Лидерная последовательность

tgctcagtggtgacatccagatgacacagtcctccatcctcactgtctgcatctct
 103 -----
 accgagtcacactgttaggtctactgtgtcagaggtaggagtgacagacgtagaga

A Q C][D I Q M T Q S P S S L S A S L
 FR1

gggaggcaaaagtcaccatcacttgcaagacaagccaagacattaacaagtatat
 157 -----
 cctccgcttcagtggttagtgaacgctctgttcgggttctgcaattgttcatata

G G K V T I T C][K T S Q D I N K Y M
 CDR1

ggcttggtagcaacaacaagcctggaaaacgctcctaggctgctcatacattacac
 211 -----
 ccgaaccatgggttgtgttcggaccttttgaggatccgacgagtatgtaatgtg

A][W Y Q H K P G K R P R L L I H][Y T
 FR2

atctgcattacagccaggcatcccatcaagggttcagtggaagtgggtctgggag
 265 -----
 tagacgtaatgtcgggtccgtagggtagttccaagtcaccttcacccagaccctc

S A L Q P][G I P S R F S G S G S G R
 CDR2

Фиг. 11А

319 agattattccttcaacatcagcaacctggagcctgaagatattgcaacttatta

 tctaataagggaagttgtagtcggtggacctcggacttctataacgttgaataat
 D Y S F N I S N L E P E D I A T Y Y
 FR3

373 ttgtctacagtatgataatctgtggacgttcgggtggaggcaccaagctggaaat

 aacagatgtcatactattagacacctgcaagccacctccggtggttcgaccttta
 C}[L Q Y D N L W T][F G G G T K L E I
 CDR3 FR4

427 caaacgggctgatgctgcaccaactgtatccatctcccaccatccaccggga

 gtttgcccgaactacgacgtggttgacataggtagaagggtggtaggtgggccc
 K}

AGG-5'
 tcc
 481 ---
 agg

Фиг. 11В

atgaaatgcagctgggtcatgttcttcctgatggcagtggttacaggg
 1 -----
 tactttacgtcgaccagtagacaagaaggactaccgtcaccaatgtccc

[M K C S W V M F F L M A V V T G

Лидерная последовательность

gtcaattcagaggttcagctgcagcagtcctggggcagagcttgtgaagccaggg
 49 -----
 cagttaagtctccaagtcgacgtcgtcagacccccgtctcgaacaccttcgggtccc

V N S][E V Q L Q Q S G A E L V K P G
 FR1

gcctcagtcgaagttgtccctgcacagcttctggcttcaacattaaagacacctat
 103 -----
 cggagtcagttcaacaggacgtgtcgaagaccgaagttgtaatttctgtggata

A S V K L S C T A S G F N I K][D T Y
 CDR1

atacactgtgtgaagcagaggcctgaacagggcctggagtgattggaaggatt
 157 -----
 tatgtgacacacttcgtctccggacttgtcccggacctcacctaaccttcctaa

I H][C V K Q R P E Q G L E W I G][R I
 FR2

gatcctgcgaatggttataactaaatatgaccocgaagttccagggcaaggccact
 211 -----
 ctaggacgcttaccaatatgatttatactgggcttcaagggtcccgttccgggtga

D P A N G Y T K Y D P K F Q G][K A T
 CDR2

ataacagctgacacatcctccaacacagcctacctgcagctcagcagcctgaca
 265 -----
 tattgtcgactgtgtaggagggttgtgtcggatggacgtcgagtcgtcggactgt

I T A D T S S N T A Y L Q L S S L T
 FR3

Фиг. 12А

319 tctgaggacactgccgtctatctctgtgctagagagggatattatggtaactac

 agactcctgtgacggcagataaagacacgatctctccctataataccattgatg
 S E D T A V Y F C A R] [E G Y Y G N Y
 CDR3

373 ggggtctatgctatggactactggggccaaggaacctcagtcaccgtctcctca

 cccagatacगतacctgatgaccccagttccttggagtcagtggcagaggagt
 G V Y A M D Y] [W G Q C T S V T V S S]

427 gccaaaacgacacccccatctgtctatccactggcccgggatcc

 cggttttgctgtgggggtagacagataggtgaccgggcccctagg
 S S]

Фиг. 12В

	FR1	CDR1	FR2	CDR2
	1 2	3	4	5
	12345678901234567890123	45678901234	567890123456789	0123456
	*	*****	*	***
21.6	DIQMTQSPSSLSASLGKVTITC	KTSQDINKYMA	WYQHKPGKRPRLLIH	YTSALQP
REI	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITC	QASQDIIKYLN	WYQQTTPGKAPKLLIY	EASNLQA
La	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITC	KTSQDINKYMA	WYQQTTPGKAPRLLIH	YTSALQP
Lb	-----	-----	-----R-----	-----

	FR3	CDR3	FR4
	6 7 8	9	10
	78901234567890123456789012345678	901234567	8901234567
	* *	*****	
21.6	GIPSRFSGSGSGRDYSFNISNLEPEDIATYYC	LQYDNL-WT	FGGGTKLEIK
REI	GVPSRFSGSGSGTDYFTFTISSLQPEDIATYYC	QQYQSLPYT	FGQGTKLQIT
La	GIPSRFSGSGSGRDYFTFTISSLQPEDIATYYC	LQYDNL-WT	FGQGTKVEIK
Lb	-I-----R-----	-----	-----VE-K

Фиг. 13

	FR1			CDR1	FR2			CDR2
	1	2	3		4	5	6	
	123456789012345678901234567890	12345678901234567890	1234567890	12345	67890123456789	012A3456789012345		
			*****	*** *		****		
21.6	EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIK			DTYIH	CVKQRPEQGLEWIG	RIDPANGYTKYDPKFOG		
2*CL	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT			SYAMH	WVRQAPGORLEWMG	WINAGNGNTKYSOKFOG		
Ha	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGFNIK			DTYIH	WVRQAPGORLEWMB	RIDPANGYTKYDPKFOG		
Hb	-----			-----FNIK	-----G-----	-----		
Hc	-----			-----FNIK	-----	-----		

	FR3			CDR3	FR4	
	7	8	9	10	11	
	67890123456789012ABC345678901234			567890ABCDEF12	34567890123	
	*			*		
21.6	KATITADTSSNTAYLQLSSLTSEDVAVYFCAR			EGYYGNYGVYAMDY	WGQGTSVTVSS	
2*CL	RVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCAR			GGYYGSGS----NY	WGQGLVTVSS	
Ha	RVTITADTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCAR			EGYYGNYGVYAMDY	WGQGLVTVSS	
Hb	-----A-----			-----	-----	
Hc	-----A-----			-----F-----	-----	

Фиг. 14

HindIII Последовательность Kozak

```

aagcttgccccaccatgagaccgtctattcagttccctggggctcttggtgttc
1 -----
ttcgaacggcggtggtactctggcagataagtcaaggacccccgagaacaacaag

[M R P S I Q F L G L L L F
Лидерная последовательность

tggcttcatggtgctcagtggtgacatccagatgacacagttccatcctcactg
55 -----
accgaagtaccacgagtcacactgtaggtctactgtgtcagaggtaggagtgac

W L H G A Q C][D I Q M T Q S P S S L
FR1

tctgcatctGTAggaGATAGAgtcaccatcacttgcaagacaagccaagacatt
109 -----
agacgtagaCATcctCTATCTcagtggtagtgaaacggttctgttcggttctgtaa

S A S V G D R V T I T C][K T S Q D I
CDR1

aacaagtatatggcttggtagccaaCAGACAacctggaaaGCTcctaggctgctc
163 -----
ttgttcataataccgaaccatggttGTCTGTggaccttttCGAggatccgacgag

N K Y M A][W Y Q Q T P G K A P R L L
FR2

atacattacacatctgcattacagccaggcatcccatcaagggtcagtggaagt
217 -----
tatgtaatgtgtagacgtaaatgtcgggtccgtagggtagttccaagtcaccttca

I H][Y T S A L Q P][G I P S R F S G S
CDR2

gggtctgggagagattatACTttcACCatcagcAGCctgCAGcctgaagatatt
271 -----
cccagaccctctctaataTGAaagTGGtagtcgTCGgacGTCggacttctataa

G S F R D Y T F T I S S L Q P E D I
FR3

```

Фиг. 15А

325 gcaacttattattgtctacagtatgataaatctgtggacgttcggtCAAggcacc

 cgttgaataataacagatgtcatactattagacacctgcaagccaGTTccgtgg
 A T Y Y C][L Q Y D N L W T][F G Q G T
 CDR3 FR4

Донорный участок сплайсинга BamHI
 aagGTGgaaatcaaacctgagtgatcc
 379 -----
 ttcCACcttttagtttgcactcacctagg
 K V E I K]

Фиг. 15B

HindIII Последовательность Kozak
 AAGCTTGCCGCCACCATGGACTGGACCTGGCGCGTGTTTTGCCTGCTCGCCGTG
 1 -----
 TTCGAACGGCGGTGGTACCTGACCTGGACCGCGCACAAAACGGACGAGCGGCAC
 [M D W T W R V F C L L A V

Лидерная последовательность

GCTCCTGGGGCCACAGCCAGGTGCAACTAGTGCAGTCCGGGCCCGAAGTGAAG
 55 -----
 CGAGGACCCCGGGTGTCCGGTCCACGTTGATCACGTCAGGCCGCGGCTTCACTTC
 A P G A H S][Q V Q L V Q S G A E V K

AAACCCGGTGCTTCCGTGAAAGTCAGCTGTAAAGCTAGCGGTttcaacattaaa
 109 -----
 TTTGGGCCACGAAGGCACTTTCAGTCGACATTTTCGATCGCCAaagttgtaattt
 K P G A S V K V S C K A S G F N I K][
 FR1

gacacctatatacacTGGGTTAGACAGGCCCCCTGGCCAAaGGCTgGAGTGGATg
 163 -----
 ctgtggatatatgtgACCCAATCTGTCCGGgGaCCGGTtCCGAcCTCACCTAC
 D T Y I H][W V R Q A P G Q R L E W M
 CDR1 FR2

Фиг. 16A

217 GGaaggattgatcctgcgaatgggtataactaaatatgacccggaagtcccagggc

 CCttcctaactaggacgcttaccaatatgatttataactgggcttcaaggtcccg
 G)[R I D P A N G Y T K Y D P K F Q G][
 CDR2

271 cgggtcACCCatcACCGcaGACACCTCTgccagcACCGCCTACATGGAACTGTCC

 gcccagTGGtagTGGcgtCTGTGGAGAcggtcgtTGGCGGATGTACCTTGACAGG
 R V T I T A D T S A S T A Y M E L S
 FR3

325 AGCCTGCGCTCCGAGGACACTGCAGTCTACTACTGCGCCagagagggatattat

 TCGGACGCGAGGCTCCTGTGACGTCAGATGATGACGCGGtctctccctataata
 S L R S E D T A V Y Y C A R][E G Y Y

379 ggtaactacgggggtctatgctatgGACTAcTGGGGtCAaGGaACCCTTGTCACC

 ccattgatgccccagatacgatacCTGATgACCCCaGTtCCtTGGGAACAGTGG
 G N Y G V Y A M D Y][W G Q G T L V T
 CDR3 FR4

Донорный участок сплайсинга BamHI
 433 GTctccTCAGGTGAGTGGATCC

 CAGaggAGTCCACTCACCTAGG
 V S S]

Фиг. 16В

(i) ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ:

- (A) ДЛИНА: 109 аминокислот
- (B) ТИП: аминокислотная
- (C) ЧИСЛО ЦЕПЕЙ: одна
- (D) ТОПОЛОГИЯ: линейная

(ii) ТИП МОЛЕКУЛЫ: белок

N - Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Asp Ile Ser Asn
 Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gly Ser Pro Lys Leu Leu
 Ile Tyr Tyr Ala Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu
 Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro
 Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys - C

Фиг. 17А

(i) ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ:

- (A) ДЛИНА: 114 аминокислот
 (B) ТИП: аминокислотная
 (C) ЧИСЛО ЦЕПЕЙ: одна
 (D) ТОПОЛОГИЯ: линейная

(ii) ТИП МОЛЕКУЛЫ: белок

N - Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ser Leu Val Xaa
 Xaa Ser Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val
 Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
 Tyr Asn Ser Leu Pro Glu Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
 Ile Lys - C

Фиг. 17В

(i) ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ:

- (A) ДЛИНА: 125 аминокислот
 (B) ТИП: аминокислотная
 (C) ЧИСЛО ЦЕПЕЙ: одна
 (D) ТОПОЛОГИЯ: линейная

(ii) ТИП МОЛЕКУЛЫ: белок

N - Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
 Tyr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Asp Pro Lys Phe
 Gln Gly Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
 Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 Ala Arg Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Asp Ser Xaa Val Gly Tyr Tyr Ala Met
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Xaa Val Thr Val Ser Ser - C

Фиг. 18А

(i) ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ:

- (A) ДЛИНА: 129 аминокислот
 (B) ТИП: аминокислотная
 (C) ЧИСЛО ЦЕПЕЙ: одна
 (D) ТОПОЛОГИЯ: линейная

(ii) ТИП МОЛЕКУЛЫ: белок

N - Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 Gly Trp Ile Asn Pro Tyr Gly Asn Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys
 Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala
 Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 Cys Ala Arg Ala Pro Gly Tyr Gly Ser Gly Gly Gly Cys Tyr Arg Gly Asp
 Tyr Xaa Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser - C

Фиг. 18В