



(51) МПК  
*C07D 213/64* (2006.01)  
*A61K 31/44* (2006.01)  
*A61K 31/135* (2006.01)  
*A61P 7/00* (2006.01)

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

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2007124201/04, 28.06.2007

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
 28.06.2007

(45) Опубликовано: 10.05.2009 Бюл. № 13

(56) Список документов, цитированных в отчете о  
 поиске: US 5792799, 11.08.1998. RU 2126388,  
 20.02.1999. US 5510369, 23.04.1996.

Адрес для переписки:  
 125502, Москва, ул. Лавочкина, 50-1, кв.24,  
 пат.пов. Н.Л.Цетович

(72) Автор(ы):

Синауридзе Елена Ивановна (RU),  
 Атауллаханов Фазоил Иноятвич (RU),  
 Бутылин Андрей Александрович (RU),  
 Сулимов Владимир Борисович (RU),  
 Романов Алексей Николаевич (RU),  
 Боголюбов Алексей Алексеевич (RU),  
 Кузнецов Юрий Владимирович (RU),  
 Грибкова Ирина Владимировна (RU),  
 Горбатенко Александр Сергеевич (RU),  
 Кондакова Ольга Анатольевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Общество с ограниченной  
 ответственностью "Бионика" (RU)

### (54) НОВЫЕ СОЕДИНЕНИЯ, ОБЛАДАЮЩИЕ ФУНКЦИЕЙ ИНГИБИТОРОВ ТРОМБИНА, И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ НА ИХ ОСНОВЕ

(57) Реферат:

Настоящее изобретение описывает новые химические соединения общей структурной формулы (I), его фармацевтически приемлемые соли или сольваты:  $A-B-C$  (I), где значение радикалов A, C, R<sub>9</sub> такие, как указано в формуле изобретения, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> независимо друг от друга представляют собой водород или C<sub>1-6</sub> алкил; B представляет собой -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-, где n принимает целые значения от 1 до 5; где R<sub>5</sub> выбирают из группы, содержащей водород, C<sub>1-6</sub> алкокси, CH<sub>2</sub>NR<sub>10</sub>R<sub>11</sub>, CH(CH<sub>3</sub>)NR<sub>10</sub>R<sub>11</sub> и другие значения, указанные в формуле изобретения, R<sub>6</sub> и R<sub>7</sub> независимо представляют собой водород, C<sub>1-6</sub> алкил; C<sub>1-6</sub> алкокси; галоген; R<sub>8</sub> представляет собой водород или C<sub>1-6</sub> алкил; R<sub>10</sub>, R<sub>12</sub> независимо друг от друга выбирают из группы, состоящей из водорода, C<sub>1-6</sub> алкила;

(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>COOR<sub>13</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>CON(R<sub>13</sub>)<sub>2</sub> и др. значения, указанные в формуле изобретения, где m принимает целые значения от 1 до 4, R<sub>13</sub> представляет собой водород или C<sub>1-6</sub> алкил, R<sub>11</sub> представляет собой C<sub>1-6</sub> алкил; Ar; Ag представляет собой фенил, пиридил, оксазол, тиазол, тиенил, фуранил, пиримидинил, пиридазинил, пирозинил, индолил, бензофуранил, бензотиофенил, замещенные от одного до пяти заместителей, выбранных из группы: водород, C<sub>1-6</sub> алкил, C<sub>1-6</sub> алкокси, галоген, N(R<sub>13</sub>)<sub>2</sub>, OH, NO<sub>2</sub>, CN, COOR<sub>13</sub>, CON(R<sub>13</sub>)<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>R<sub>13</sub>; применение этих соединений в качестве ингибиторов тромбина и фармацевтические композиции на их основе. Технический результат: получены новые соединения, которые могут быть полезны для лечения и профилактики тромбинзависимых тромбоэмболических событий, а также в научно-исследовательских целях. 3 н. и 2 з.п. ф-лы, 4 табл., 2 ил.



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,  
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.  
*C07D 213/64* (2006.01)  
*A61K 31/44* (2006.01)  
*A61K 31/135* (2006.01)  
*A61P 7/00* (2006.01)

**(12) ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: **2007124201/04, 28.06.2007**

(24) Effective date for property rights:  
**28.06.2007**

(45) Date of publication: **10.05.2009 Bull. 13**

Mail address:  
**125502, Moskva, ul. Lavochkina, 50-1, kv.24,  
pat.pov. N.L.Tsetovich**

(72) Inventor(s):  
**Sinauridze Elena Ivanovna (RU),  
Ataullakhanov Fazoil Inojatovich (RU),  
Butylin Andrej Aleksandrovich (RU),  
Sulimov Vladimir Borisovich (RU),  
Romanov Aleksej Nikolaevich (RU),  
Bogoljubov Aleksej Alekseevich (RU),  
Kuznetsov Jurij Vladimirovich (RU),  
Gribkova Irina Vladimirovna (RU),  
Gorbatenko Aleksandr Sergeevich (RU),  
Kondakova Ol'ga Anatol'evna (RU)**

(73) Proprietor(s):  
**Obshchestvo s ogranichennoj otvetstvennost'ju  
"Bionika" (RU)**

**(54) NEW COMPOUNDS WITH THROMBIN INHIBITING FUNCTION, AND BASED PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS**

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: invention describes new chemical compound of general structural formula (I), its pharmaceutically acceptable salts or solvates: A-B-C (I) where radicals A, C, R<sub>9</sub> are those as specified in the patent claim, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> independently represent hydrogen or C<sub>1-6</sub> alkyl; B stands for -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-, where n has an integral value within 1 to 5; where R<sub>5</sub> is chosen from the group containing hydrogen, C<sub>1-6</sub> alkoxy, CH<sub>2</sub>NR<sub>10</sub>R<sub>11</sub> CH(CH<sub>3</sub>)NR<sub>10</sub>R<sub>11</sub> and other values specified in the patent claim, R<sub>6</sub> and R<sub>7</sub> independently represent hydrogen, C<sub>1-6</sub> alkyl; C<sub>1-6</sub> alkoxy; halogen; R<sub>8</sub> represents hydrogen or C<sub>1-6</sub> alkyl; R<sub>10</sub>, R<sub>12</sub> are independently chosen from the group comprising

hydrogen, C<sub>1-6</sub> alkyl; (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> COOR<sub>13</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> CON(R<sub>13</sub>)<sub>2</sub> and other values specified in the patent claim where m has an integral value within 1 to 4, R<sub>13</sub> stands for hydrogen or C<sub>1-6</sub> alkyl, R<sub>11</sub> represents C<sub>1-6</sub> alkyl; Ar; Ar represents phenyl, pyridyl, oxazolyl, thiazolyl, thienyl, furanyl, pyrimidinyl, pyridazinyl, pyrazinyl, indolyl, benzofuranyl, banzothiophenyl substituted with one to five substitutes chosen from group: hydrogen, C<sub>1-6</sub> alkyl, C<sub>1-6</sub> alkoxy, halogen, N(R<sub>13</sub>)<sub>2</sub>, OH, NO<sub>2</sub>, CN, COOR<sub>13</sub>, CON(R<sub>13</sub>)<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>R<sub>13</sub>; application of these compounds as thrombin inhibitors and based pharmaceutical compositions.

EFFECT: new compounds can be useful in treatment and prevention of thrombin-dependent recurrent thromboembolism for research.

5 cl, 4 tbl, 6 ex, 2 dwg

Текст описания приведен в факсимильном виде.

Настоящее изобретение описывает новые химические соединения, применение этих соединений в качестве ингибиторов тромбина и фармацевтические композиции на их основе и может быть использовано для лечения и профилактики тромбинзависимых тромбоэмболических событий, а также в научно-исследовательских целях.

Тромбин – основной фермент системы свертывания крови, превращающий растворимый белок плазмы фибриноген в нерастворимый фибриновый сгусток. Существует хрупкое равновесие между процессом образования тромбина, вызывающим полимеризацию фибрина, и процессом ингибирования тромбина – т.е. процессом подавления его активности. Чрезмерное образование тромбина приводит к тромбозам.

Прямые ингибиторы тромбина называются ингибиторы, прочно связывающиеся непосредственно с активным центром этого фермента и не допускающие в активный центр природный субстрат – фибриноген. Это ведет к остановке катализируемого тромбином процесса образования фибрина из фибриногена и, как следствие, – предотвращению образования фибринового сгустка и замедлению или полному предотвращению свертывания крови. Следовательно, для проявления сильной антитромбиновой активности, прямые ингибиторы тромбина должны максимально прочно связываться с его активным центром. Для этого они должны удовлетворять нескольким требованиям, диктуемым строением активного центра молекулы тромбина.

Активный центр тромбина принято разделять на несколько полостей (карманов), предназначенных для размещения отдельных аминокислот его субстрата фибриногена вблизи места, где осуществляется амидолитический ферментативный акт. Карман S1 представляет собой узкую и глубокую полость, стенки которой образованы гидрофобными аминокислотными остатками, в то время как практически на дне этой полости существует источник отрицательного заряда, обусловленный наличием карбоксигруппы аминокислоты Asp 189. Карман S1 предназначен для связывания основных остатков аминокислот (лизина или аргинина) фибриногена в месте непосредственного разрыва пептидной связи (со стороны С-конца лизина или аргинина). При этом, длинный неразветвленный углеводородный остаток основной аминокислоты размещается по всей длине кармана S1, в то время как положительно заряженный основной фрагмент на конце углеводородного остатка образует солевой мостик с отрицательно заряженным аспартильным остатком на дне кармана S1. Таким образом,

карман S1 оптимальным образом предназначен для распознавания остатков основных аминокислот в полипептидной цепи фибриногена.

5 Непосредственно к карману S1 примыкает карман S2, также образованный неполярными аминокислотными остатками и служащий для распознавания небольших гидрофобных аминокислот (валин, изолейцин, лейцин), следующих в аминокислотной последовательности фибриногена за основной аминокислотой, размещаемой в кармане S1  
10 (с N-конца основной аминокислоты). Объем кармана S2 несколько меньше, чем S1 и он не содержит заряженных аминокислотных групп. Таким образом, карман S2 идеально подходит для связывания небольших углеводородных остатков неполярных алифатических аминокислот.

15 Рядом с карманом S2 на поверхности тромбина находится карман S3. Это также гидрофобный карман, однако, он весьма объемен и нечетко выражен, так как значительная его часть открыта и экспонирована непосредственно в растворитель. Карман  
20 S3 служит для размещения больших алифатических и ароматических гидрофобных аминокислотных остатков фибриногена, отстоящих на два или три звена от места разрыва пептидной цепи.

25 Прямой ингибитор тромбина должен оптимальным образом заполнять эти три кармана активного центра молекулы тромбина. Так, известный трипептидный ингибитор D-Phe-Pro-Arg по данным рентгеноструктурного анализа взаимодействует с активным центром тромбина следующим образом: аргининовый остаток занимает карман S1,  
30 пролиновый – S2, а D-фенилаланин размещается в кармане S3.

Для ингибирования уже образовавшегося в крови избыточного тромбина не всегда подходят те средства, которые на сегодняшний день применяются в клинике для борьбы с  
35 тромбозами. Наиболее широко врачи сегодня используют непрямые ингибиторы тромбина - нефракционированный гепарин и гепарины низкого молекулярного веса, а также препараты-антагонисты витамина К (варфарин). Все эти препараты не могут самостоятельно ингибировать образовавшийся в системе избыточный тромбин. Различные  
40 гепарины только ускоряют ингибирующее действие присутствующего в плазме природного ингибитора тромбина – антитромбина III (АТIII), поэтому, если его содержание в плазме пациента по каким-то причинам сильно снижено, гепарины оказывают слабое антикоагулянтное действие. Антагонисты витамина К снижают  
45 скорость свертывания за счет подавления синтезов в печени предшественников факторов, необходимых для свертывания. Очевидно, что этот путь достаточно медленный и не может быть использован в острых ситуациях, когда надо быстро подавить активность  
50 присутствующего в плазме тромбина.

Ограничения, существующие при терапии непрямыми коагулянтами, привели к интенсивным попыткам со стороны фармацевтических компаний разработать сильнодействующий селективный и прямой ингибитор тромбина. На сегодняшний день синтезировано достаточно большое число таких ингибиторов тромбина. Большая часть этих соединений, однако, не обладает всеми необходимыми лекарственному препарату свойствами. Работа ведется в области совершенствования таких фармакокинетических свойств, как продолжительность действия, низкая токсичность, растворимость в воде, оральная биодоступность, и т.д. Идеальный тромбиновый ингибитор должен быть эффективен также против связанного в сгустке тромбина. Он должен быть селективным для тромбина, чтобы не ингибировать протеазы, вовлеченные в фибринолиз, длительно существовать в крови, не подвергаясь действию ферментов и цитохрома P450 в печени, должен храниться в водной среде, не связываться (или слабо связываться) с белками крови, быть нетоксичным. К сожалению, подвергнув вещество предварительному тестированию, нельзя заранее предсказать, будет ли оно удовлетворять всем нужным требованиям. Несмотря на большое количество уже синтезированных эффективных низкомолекулярных ингибиторов тромбина, в клинике сегодня применяется только один из них - синтезированный в Японии аргатробан (патент США 5214052, 1993), который прошел все необходимые клинические испытания. Этот ингибитор, однако, тоже не является идеальным, т.к. имеет малую устойчивость в растворах ( $T_{1/2}$  в плазме для него составляет 36 минут). Таким образом, задача поиска новых эффективных и безопасных синтетических ингибиторов тромбина продолжает оставаться актуальной.

В патентной и технической литературе описано большое количество ингибиторов тромбина. Ниже приведен краткий обзор патентной и технической литературы по этой тематике.

В заявке на патент США № 2006/0014699 (Astra Zeneca AB), 2006г и патенте США № 5,795,896 (Astra Aktiebolag), 1998г описаны антитромботические фармацевтические композиции, содержащие ингибитор мелагатран.

Известны пирролидиновые ингибиторы тромбина, описанные в патенте США № 5,510,369 (Merck & Co), 1996г; пиридиновые ингибиторы тромбина, патент США № 5,792,779 (Merck & Co), 1998г;

Заявителем было проанализировано также большое количество научных статей, содержащих информацию о структурах известных ингибиторов, и о механизме взаимодействия ингибиторов с молекулой тромбина. Изученные публикации, которые представлены в таблице 1, покрывают практически все классы химических веществ, известных как ингибиторы тромбина. Представленный в таблице 1 список публикаций

весьма полный, хотя и не может называться исчерпывающим. В процессе дизайна собственных ингибиторов тромбина нами сознательно обходились структуры, заявленные в этих публикациях. В приведенных публикациях не обнаружено данных об ингибиторах тромбина, содержащих элементы, которыми характеризуются заявляемые новые соединения.

Техническая задача настоящего изобретения - это поиск новых соединений, которые являлись бы прямыми ингибиторами тромбина. Эти ингибиторы могут быть использованы для лечения острых тромботических состояний, возникающих в организме в результате различных патологий. Огромное число самых разнообразных патологических состояний организма связано с возникновением нарушений в системе гемостаза. Тромбоэмболические осложнения, возникающие при таких болезнях, как инфаркт миокарда, инсульт, тромбоз глубоких вен или легочной артерии, являются одной из основных причин смерти во всем мире. Не удивительно, что на протяжении большого количества лет ведется интенсивный поиск препаратов, которые могли бы служить в клинике эффективными и безопасными лекарствами. В первую очередь, это различные антитромботические агенты, обладающие антикоагулянтными свойствами.

В настоящем описании, если не определено иное, используются следующие определения:

**Активный центр** представляет собой участок белковой макромолекулы, играющий ключевую роль в биохимических взаимодействиях.

**Белок или Протеин** представляет собой белковую макромолекулу.

**Белок-мишень** представляет собой белковую макромолекулу, участвующую в процессе связывания.

**Лиганды** представляют собой коллекцию низкомолекулярных химических структур.

**Процесс связывания** - это образование Ван-дер-Ваальсового или ковалентного комплекса лиганда с активным центром белка-мишени.

**Скрининг** - это выявление из коллекции химических структур набора соединений, избирательно взаимодействующих с определенным участком белковой макромолекулы.

**Правильное позиционирование** - это позиционирование, когда лиганд находится в положении, соответствующем минимуму свободной энергии комплекса лиганда с белком.

**Избирательно взаимодействующий лиганд** - это лиганд, специфично связывающийся с данным белком-мишенью.

**Валидация** - это набор расчетов и методика сравнений, позволяющая судить о качестве работы системы, оценить насколько эффективно система отбирает из

произвольного набора лигандов те из них, которые хорошо связываются с заданным белком-мишенью.

**Реперный белок** представляет собой белок, используемый либо для корректировки параметров модельного расчета (скора) в соответствии с экспериментальными данными, либо в процессе валидации работы системы, либо для оценки специфичности связывания данного ингибитора.

**Специфично связывающийся лиганд** - это лиганд, связывающийся только с данным белком и не связывающийся с другими белками.

**Ингибитор** - это лиганд, связывающийся с активным центром заданного белка-мишени и блокирующий нормальный ход биохимических реакций.

**Докинг** - это позиционирование лиганда в активном центре белка.

**Скоринг** - это расчет для оценки свободной энергии связывания лиганд-белок.

**$\Delta G$  связывания** - результат расчета выигрыша свободной энергии при связывании лиганда с белком мишенью (с помощью программы SOL).

**$C_{1-6}$  алкил** представляет собой алкильную группу, содержащую неразветвленную или разветвленную углеводородную цепь, содержащую от 1 до 6 атомов углерода, например, метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, трет-бутил и так далее.

**$C_{1-6}$  алкокси** представляет собой алкоксильную группу, содержащую неразветвленную или разветвленную углеводородную цепь, содержащую от 1 до 6 атомов углерода, например, метокси, этокси, н-пропокси, изопропокси и так далее.

**Галоген** означает хлор, бром, иод или фтор.

**Фармацевтически приемлемая соль** - любая соль, образуемая активным соединением Формулы (I), если она не токсична и не препятствует адсорбции и фармакологическому действию активного соединения. Эта соль может быть получена действием на соединение Формулы (I) органического или неорганического основания, такого как гидроксид натрия, гидроксид калия, гидроксид аммония, метиламин, этиламин и тому подобных.

**Сольват** представляет собой кристаллическую форму активного соединения Формулы (I), в состав кристаллической решетки которой входят молекулы воды или иного растворителя, из которого кристаллизовалось активное соединение Формулы (I).

**Фармацевтически приемлемый носитель** означает, что носитель должен являться совместимым с другими ингредиентами композиции и не наносить вреда его реципиенту, то есть быть нетоксичным для клеток или млекопитающих в тех дозах и концентрациях, в которых его применяют. Часто фармацевтически приемлемый носитель представляет собой водный рН буферный раствор. Примеры физиологически приемлемых носителей

включают буферы, такие как растворы на основе фосфатов, цитратов или других солей органических кислот; антиоксиданты, включающие аскорбиновую кислоту; полипептиды с низким молекулярным весом (меньше 10 остатков); протеины, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глютамин, аспарагин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатообразующие агенты, такие как ЭДТА; сахарные спирты, такие как маннитол или сорбитол.

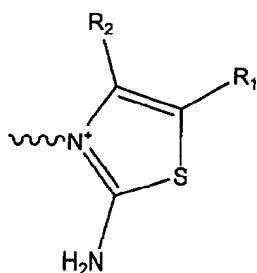
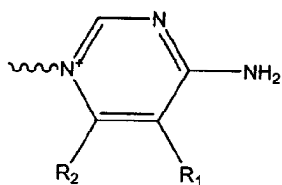
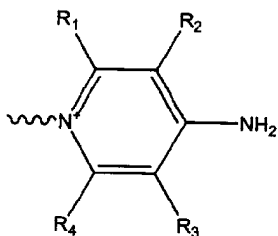
**Терапевтически эффективное количество** - это количество, необходимое для достижения нужной степени ингибирования тромбина в организме млекопитающего.

**Млекопитающее**, как используется здесь, включает в себя представителей отряда приматов (например, человек, человекообразные обезьяны, нечеловекообразные обезьяны, низшие обезьяны), отряда хищных (например, кошки, собаки, медведи), отряда грызунов (например, мышь, крыса, белка), отряда насекомых (например, землеройка, крот) и др.

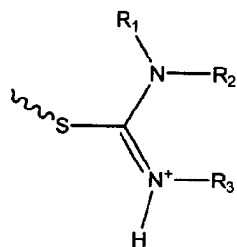
Техническая задача, поставленная заявителем, решается созданием соединения общей структурной формулы (I), включая его фармацевтически приемлемые соли или сольваты:



где C выбирают из группы, содержащей структуры:



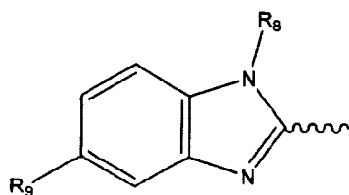
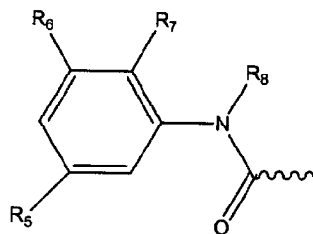
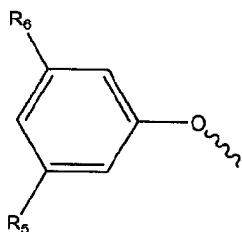
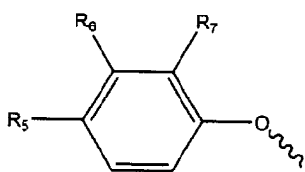




10 где  $R_1, R_2, R_3, R_4$  независимо друг от друга представляют собой водород или  $C_{1-6}$  алкил;

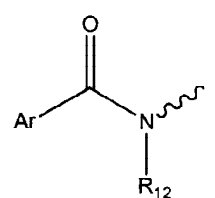
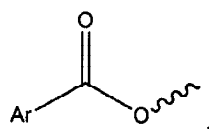
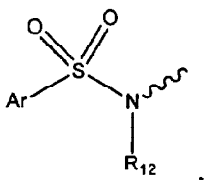
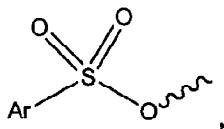
**B** представляет собой  $-(CH_2)_n-$ , где  $n$  принимает целые значения от 1 до 5;

**A** выбирают из группы, содержащей структуры:



35 где  $R_5$  выбирают из группы, содержащей водород,  $C_{1-6}$ -алкокси,  $CH_2NR_{10}R_{11}$ ,  $CH(CH_3)NR_{10}R_{11}$ ,

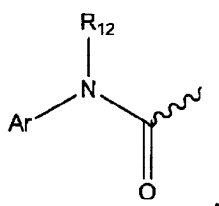
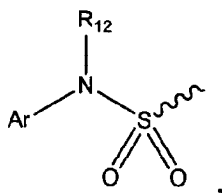
40



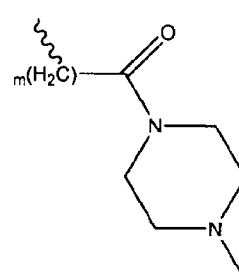
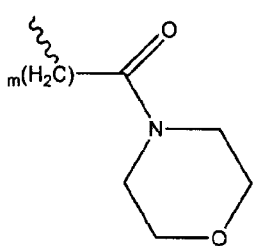
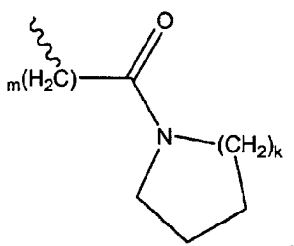
где R<sub>6</sub> и R<sub>7</sub> независимо представляют собой водород, C<sub>1-6</sub> алкил; C<sub>1-6</sub> алкокси; галоген;

R<sub>8</sub> представляет собой водород или C<sub>1-6</sub> алкил;

R<sub>9</sub> выбирают из следующей группы, состоящей из:



R<sub>10</sub>, R<sub>12</sub> независимо друг от друга выбирают из группы, состоящей из водорода, C<sub>1-6</sub> алкила; (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>COOR<sub>13</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>CON(R<sub>13</sub>)<sub>2</sub>,



где m принимает целые значения от 1 до 4,

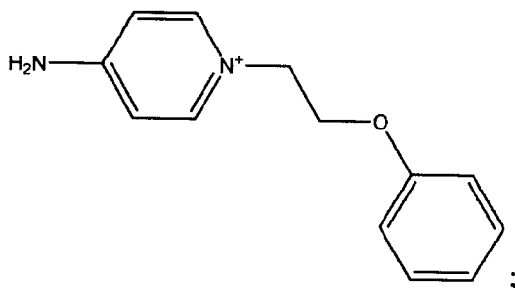
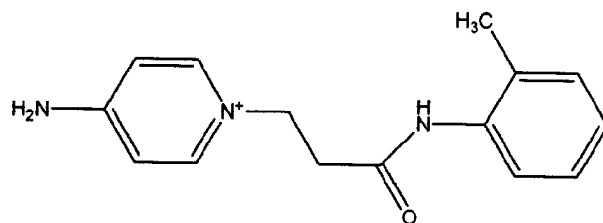
R<sub>13</sub> представляет собой водород или C<sub>1-6</sub> алкил,

R<sub>11</sub> представляет собой C<sub>1-6</sub> алкил; Ar;

Ar представляет собой фенил, пиридил, оксазолил, тиазолил, тиенил, фуранил, пиримидинил, пиридазинил, пиразинил, индолил, бензофуранил, бензотиофенил, имеющие от одного до пяти заместителей, выбранных из группы:

водород, C<sub>1-6</sub> алкил, C<sub>1-6</sub> алкокси, галоген, N(R<sub>13</sub>)<sub>2</sub>, OH, NO<sub>2</sub>, CN, COOR<sub>13</sub>, CON(R<sub>13</sub>)<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>R<sub>13</sub>.

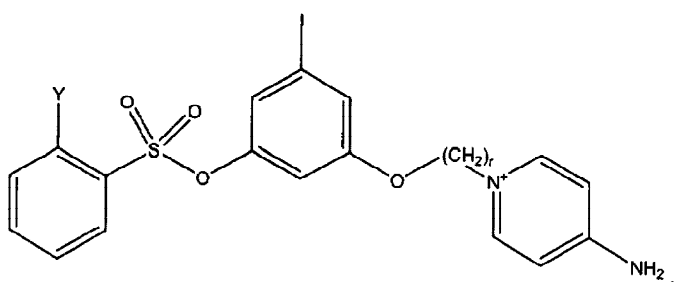
За исключением:



Исключенные соединения являются известными. 4-амино-1-[3-[(2-метилфенил)амино]-3-оксопропил] пиридиinium хлорид описан в Journal of Medicinal Chemistry, 17(7), 739-744, 1974 в статье Carbocyclic Derivatives related to indoramin (Карбоциклические производные, относящиеся к индорамину). 4-амино-1-(2-феноксиэтил)-пиридиinium бромид описан в Journal of Organic Chemistry, 26, 2740-7, 1961 в статье Application of sodium borohydride reduction to synthesis of substituted aminopiperidines, aminopiperazines, aminopyridines and hydrazines (Применение восстановления боргидридом натрия для синтеза замещенных аминопиперидинов, аминопиперазинов, аминопиридинов и гидразинов). Однако следует отметить, что в указанных источниках не описана возможность использования этих соединений в качестве ингибиторов тромбина.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения описаны следующие соединения по пункту 1, их фармацевтически приемлемые соли или сольваты:

а)

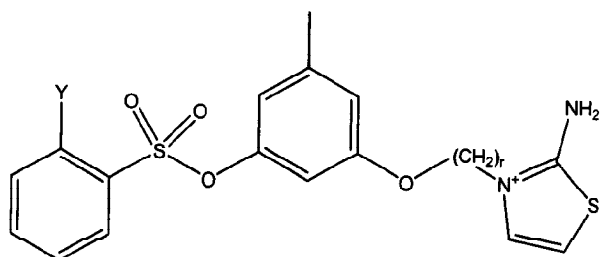


50

б)

5

10

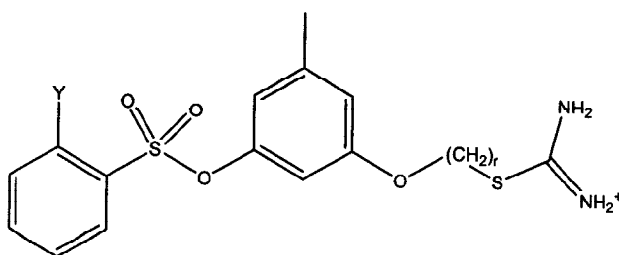


в)

15

20

25



где Y выбирают из группы, состоящей из водорода, галогена, COOR<sub>13</sub>, CON(R<sub>13</sub>)<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>R<sub>13</sub>;

30

г принимает целые значения от 2 до 5.

Заявителем было установлено, что соединения структурной формулы А-В-С, его фармацевтически приемлемые соли или сольваты, обладают способностью ингибировать тромбин.

35

Поэтому, практическим применением новых соединений, их фармацевтически приемлемых солей или сольватов может служить их использование в качестве ингибиторов тромбина.

40

45

50

Отбор соединений, представляющих интерес, с точки зрения практического применения в качестве ингибиторов тромбина, то есть обладающих значительным ингибирующим эффектом, осуществлялся следующим образом: производилось построение трехмерных моделей молекул, принадлежащих к виртуальной библиотеке, сфокусированной на структуры, описываемые общей структурной формулой (I). Затем производился докинг полученных структур в активный центр молекулы тромбина. По результатам докинга молекулярных структур потенциальных ингибиторов тромбина отбирались наиболее перспективные кандидаты, то есть те молекулы, которые

демонстрировали значение скоринг-функции (определяемой в процессе докинга) не хуже, чем  $-5.0$  ккал/моль. Для таких молекул визуально просматривались способы их позиционирования, предсказанные процедурой докинга. Если эти способы позиционирования удовлетворяли изложенной выше гипотезе связывания ингибиторов с активным центром тромбина, то такие молекулы считались «виртуальными хитами» и рассматривались в качестве кандидатов на синтез и экспериментальное определение ингибирующей активности. Окончательно решение о синтезе принималось, исходя из оценки его возможной сложности.

Ингибиторы тромбина, описанные в настоящем изобретении, оптимально соответствуют вышеизложенным требованиям эффективного взаимодействия с активным центром тромбина. Положительно заряженная химическая группа С ингибитора по формуле (I) располагается на дне кармана S1 и образует солевой мостик с аминокислотным остатком Asp 189. Химическая группа В занимает оставшееся место кармана S1, обеспечивая оптимальное гидрофобное взаимодействие со стенками кармана. Химическая группа А по формуле (I) располагается в кармане S2, в то время как перечисленные далее R-группы представляют собой гидрофобные фрагменты, размещаются в кармане S3 и линкеры, служащие для связи отдельных частей молекулы и экспонированные в растворитель. С точки зрения связывания с активным центром тромбина линкеры могут быть представлены как гидрофильными, так и гидрофобными молекулярными группами, однако для придания молекуле ингибитора благоприятных фармакокинетических свойств желательно частично уравновесить в целом гидрофобный характер молекулы ингибитора путем выбора гидрофильных линкеров. С этой же целью возможна модификация гидрофобных фрагментов, размещаемых в кармане S3 гидрофильными остатками, которые размещаются в кармане со стороны, экспонированной в растворитель. Представленные ингибиторы тромбина, в полной мере удовлетворяют перечисленным выше требованиям.

Доказательством этого факта служит выборочное позиционирование (докинг) описанных в настоящем изобретении ингибиторов тромбина в активный центр тромбина при помощи описываемой ниже процедуры. Докинг осуществлялся путем глобальной минимизации функции общей энергии молекулы ингибитора. Общая энергия ингибитора складывается из внутренней энергии напряжения ингибитора в конформации, отвечающей за связывание ингибитора с активным центром тромбина и энергии ингибитора в поле тромбина. Поле тромбина в свою очередь обуславливает электростатическое, Ван-дер-Ваальсово взаимодействие с молекулой ингибитора, а также целый ряд взаимодействий, происходящих из-за процессов сольватации и десольватации отдельных частей

молекулы тромбина и лиганда. Такие взаимодействия неоднократно описаны в литературе и знакомы тем, кто имеет опыт работы в данной отрасли. Процедура глобальной минимизации производится несколько раз путем применения генетического алгоритма. В результате работы программы минимизации получают геометрические положения ингибиторов тромбина в активном центре этого фермента и значения так называемой скоринг-функции, которая является оценкой свободной энергии образования комплекса ингибиторов тромбина, описанных в настоящем патенте и молекулы тромбина. Для ингибиторов, описанных в настоящем патенте, значение скоринг-функции всегда меньше -5 ккал/моль, что соответствует константам ингибирования в микромолярном диапазоне и ниже. Надежность предсказания с помощью скоринг-функции может быть проверена различными способами, известными специалистам в данной отрасли. В частности, так называемый коэффициент обогащения для ингибиторов тромбина, характеризующий способность выбирать заведомо активные ингибиторы тромбина среди случайных молекул на основании значения скоринг-функции, составляет 0.85, что является свидетельством достаточно надежного предсказания. Геометрические положения ингибиторов, описанных в настоящем патенте, полученные с помощью описанной выше процедуры докинга, также соответствуют оптимальным требованиям связывания ингибиторов тромбина с его активным центром, что приводит к проявлению присущей им ингибирующей активности по отношению к реакции амидолиза фибриногена, катализируемой тромбином.

Заявляемые соединения могут быть получены обычными способами, известными специалисту в области органической химии.

Огромное число самых разнообразных патологических состояний организма связано с возникновением нарушений в системе гемостаза. Тромбоэмболические осложнения, возникающие при таких болезнях, как инфаркт миокарда, инсульт, тромбоз глубоких вен или легочной артерии, являются одной из основных причин смерти во всем мире.

Настоящее изобретение также включает фармацевтическую композицию для лечения и профилактики тромбинзависимых тромбоэмболических событий, содержащую терапевтически эффективное количество соединения по пункту 1 или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, и фармацевтически приемлемый носитель.

Соединения по изобретению могут быть введены любым подходящим образом, который обеспечил бы их бионакопление в крови. Это может быть достигнуто парентеральными способами введения, включая внутривенные, внутримышечные, внутрикожные, подкожные и внутрибрюшинные инъекции. Могут быть использованы и

другие способы введения. Например, абсорбцией через желудочно-кишечный тракт, осуществляемой путем перорального введения соответствующих составов. Пероральное введение имеет преимущество за счет более легкого использования. Альтернативно, могут быть использованы способы введения через мышечную ткань - вагинальный и ректальный. Кроме того, соединения по изобретению могут быть введены через кожу (например, трансдермально) или ингаляцией. Понятно, что предпочтительный способ введения зависит от состояния, возраста и восприимчивости пациента.

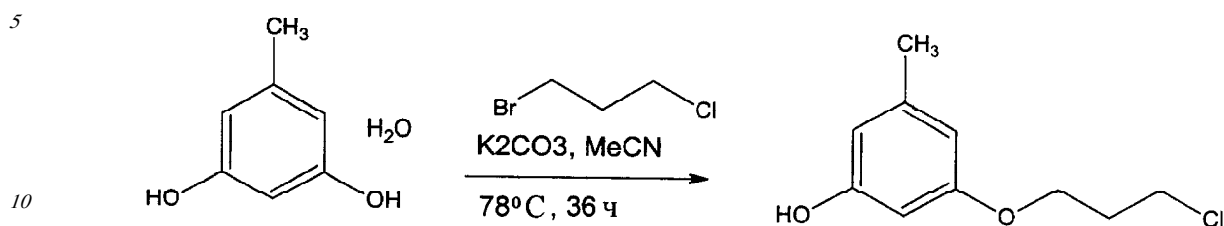
Для перорального введения фармацевтические композиции могут представлять собой, например, таблетки или капсулы с фармацевтически приемлимыми добавками, такими как, связующие агенты (например, пептизированный маисовый крахмал, поливинилпирролидинон или гидроксипропил метилцеллюлоза); наполнители (например, лактоза, микрокристаллическая целлюлоза, гидрофосфат кальция; стеарат магния, тальк или оксид кремния; картофельный крахмал или крахмальный гликолят натрия); или увлажнители (например, лаурилсульфат натрия). Таблетки могут быть покрыты оболочкой. Жидкие составы для орального введения могут быть выполнены в форме, например, растворов, сиропов или суспензий. Такие жидкие составы могут быть получены обычными средствами с фармацевтически приемлемыми добавками, такими как суспендирующие агенты (например, производные целлюлозы); эмульгаторы (например, лецитин), разбавители (очищенные растительные масла); и консерванты (например, метил или пропил-п-гидроксibenзоаты или сорбиновая кислота). Составы могут также содержать соответствующие буферные соли, ароматизаторы, красители и подсластители.

Активный ингредиент в таких составах составляет от 0.1 процента до 99.9 процента от массы композиции, предпочтительно от 5 до 90 процентов.

Токсичность представленных ингибиторов тромбина была определена, используя стандартные фармацевтические процедуры на экспериментальных животных для определения  $LD_{50}$  (доза, летальная для 50% популяции). Для предпочтительных соединений по изобретению  $LD_{50}$  оказалось больше 367 мк/кг, что соизмеримо с летальной дозой прошедшего клинические испытания аргатробана, имеющего  $LD_{50} = 475$  мк/кг.

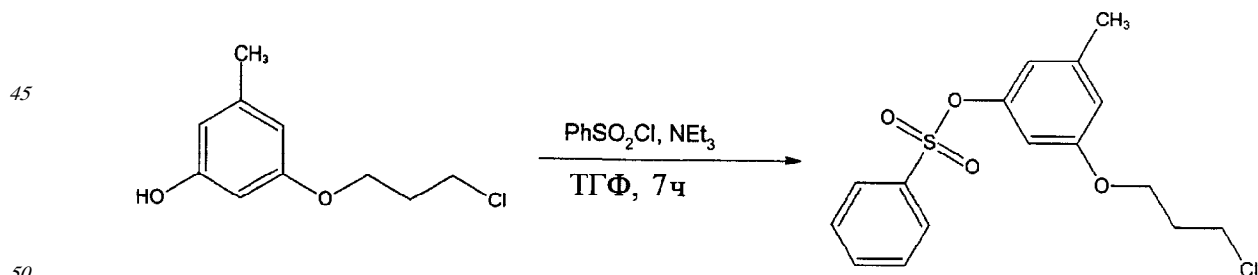
Для того чтобы предмет настоящего изобретения был более понятен, ниже приведены некоторые примеры синтеза новых соединений и веществ, являющихся полупродуктами при их синтезе, а также описаны методы исследования антитромбиновой активности предложенных новых соединений.

Примеры носят иллюстративный характер, причем сущность данного изобретения ни в коей мере не ограничивается представленными примерами.

**Пример 1****Синтез промежуточного продукта 3-(3-хлорпропокси)-5-метилфенола**

Смесь 3.8 г (27 ммоль) орцин гидрата, 4.8 г (30 ммоль) 1-бром-3-хлорпропана и 4.0 г  
 15 (29 ммоль) карбоната калия кипятили в 30 мл ацетонитрила при перемешивании в течение  
 36 часов. Затем реакционную смесь упарили, растворили в 20 мл эфира, промыли два раза  
 по 15мл насыщенным раствором карбоната калия, водный слой отбросили, эфирный слой  
 20 экстрагировали 3 раза по 15 мл 10% раствора гидроксида натрия. Эфирный слой  
 отбросили, водный осторожно подкислили конц. HCl и затем экстрагировали 3x15 мл  
 эфира. Эфирные экстракты объединили, промыли небольшим количеством насыщенного  
 25 раствора гидрокарбоната натрия и сушили безводным сульфатом натрия, разбавили  
 примерно 1/3 частью (по объему) гексана и профильтровали через слой силикагеля. После  
 упаривания получили 1.7 г желтого масла, представляющего из себя смесь состоящую из  
 ~ 70 % орцина (Rf 0.10), ~ 30% 3-(2-хлорпропокси)-5-метилфенола (Rf 0.26, выход ~ 1.2г  
 30 (22% на чистое вещество)).

Аналогичным образом из орцин гидрата и 1-бром-2-хлорэтана получен 3-(2-хлорэтокси)-  
 5-метилфенол (Rf 0.26, выход ~ 1.1г (20% на чистое вещество)), а из орцин гидрата и 1-  
 35 бром-4-хлорбутана получен 3-(4-хлорбутокси)-5-метилфенол.

**Пример 2****Синтез промежуточного продукта 3-(3-хлорпропокси)-5-метилфенилового эфира бензолсульфокислоты.**



К раствору 1.6 г смеси из предыдущего примера в 30 мл сухого ТГФ добавили 3 г (17 ммоль) бензолсульфохлорида и 2 г (20 ммоль) триэтиламина. Смесь перемешивали в течение 7 часов, отфильтровали осадок гидрохлорида триэтиламмония и упарили. Полученное масло растворили в 20 мл эфира, и несколько раз промыли 10 мл ~ 10-12% водным раствором аммиака для отделения избытка непрореагировавшего бензолсульфохлорида (контроль по ТСХ) и затем 10 мл ~ 20% соляной кислоты. После сушки безводным сульфатом натрия и упаривания получено 1.94 г желтого масла содержащего примерно равные количества 3-(3-хлорпропокси)-5-метилфенилового эфира бензолсульфо кислоты (Rf 0.36) и дибензоилсульфонового эфира орцина (Rf 0.25) по ТСХ.

Аналогичным образом из 3-(2-хлорэтокси)-5-метилфенола, 3-(3-хлорпропокси)-5-метилфенола, 3-(4-хлорбутокси)-5-метилфенол и соответствующих арилсульфохлоридов получены:

3-(3-хлорпропокси)-5-метилфениловый эфир 2-хлор бензолсульфо кислоты (77% на чистое вещество).

3-(3-хлорпропокси)-5-метилфениловый эфир 2-фтор бензолсульфо кислоты (88%).

3-(3-хлорпропокси)-5-метилфениловый эфир 2-карбметокси бензолсульфо кислоты (56%).

3-(2-хлорэтокси)-5-метилфениловый эфир бензолсульфо кислоты (72%).

3-(2-хлорэтокси)-5-метилфениловый эфир 2-хлор бензолсульфо кислоты (35%).

3-(2-хлорэтокси)-5-метилфениловый эфир 2-фтор бензолсульфо кислоты (34%).

3-(2-хлорэтокси)-5-метилфениловый эфир 2-карбметоксибензолсульфо кислоты (37%).

3-(4-хлорбутокси)-5-метилфениловый эфир бензолсульфо кислоты (45%).

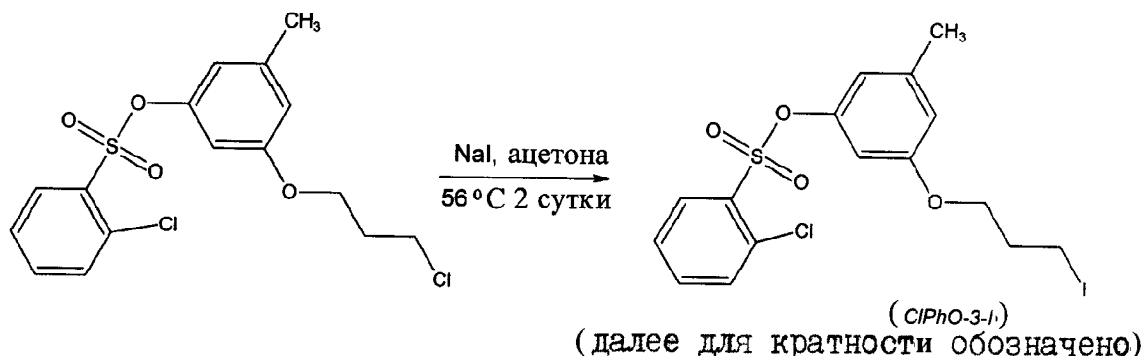
3-(4-хлорбутокси)-5-метилфениловый эфир 2-хлор бензолсульфо кислоты (27%).

3-(4-хлорбутокси)-5-метилфениловый эфир 2-фтор бензолсульфо кислоты (32%).

**3-(4-хлорбутокс)-5-метилфениловый эфир 2-карбметокси бензолсульфокислоты**  
(21%).

**Пример 3**

**Синтез промежуточного продукта 3-(3-иодпропокси)-5-метилфенилового эфира 2-хлорбензолсульфокислоты.**



К 2.6 г смеси из соодержащей **3-(3-хлорпропокси)-5-метилфениловый эфир 2-хлор бензолсульфокислоты**, полученной аналогично описанному выше примеру, в 30 мл сухого ацетона добавили 2 г (13ммоль) прокаленного иодида натрия и кипятили в течение 2 суток. Затем разбавили реакционную смесь 10 мл гексана и профильтровали и упарили. Полученное темно -желтое масло растворили в 20 мл смеси эфир-гексан (2:3), профильтровали через слой силикагеля и упарили. Получили 2.45 г светло-желтого масла, содержащего **3-(2-иодэтокс)-5-метилфениловый эфир бензолсульфокислоты** (Rf 0.35) и соответствующий дибензоилсульфоновый эфир орцина (Rf 0.25).

Аналогичным образом из соответствующих хлоридов получены:

**3-(3-иодпропокси)-5-метилфениловый эфир бензолсульфокислоты**

**3-(3-иодпропокси)-5-метилфениловый эфир 2-фтор бензолсульфокислоты**

**3-(3-иодпропокси)-5-метилфениловый эфир 2-карбметокси бензолсульфокислоты**

**3-(2-иодэтокс)-5-метилфениловый эфир бензолсульфокислоты**

**3-(2-иодэтокс)-5-метилфениловый эфир 2-хлор бензолсульфокислоты**

**3-(2-иодэтокс)-5-метилфениловый эфир 2-фтор бензолсульфокислоты**

**3-(2-иодэтокс)-5-метилфениловый эфир 2-карбметоксибензолсульфокислоты**

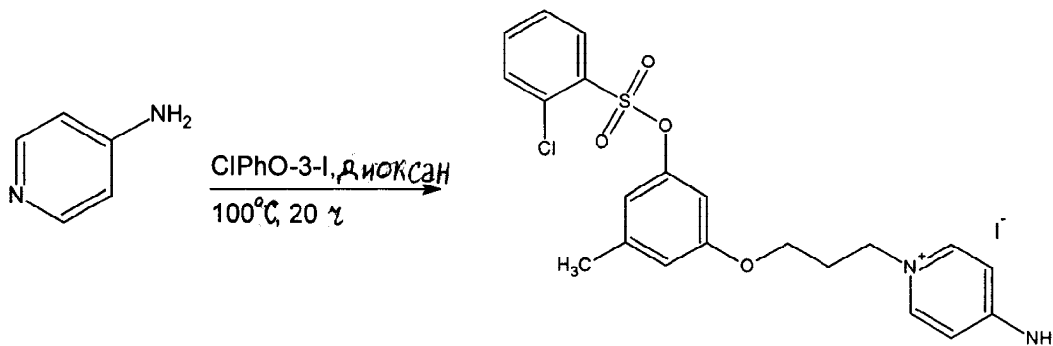
**3-(4-иодбутокс)-5-метилфениловый эфир бензолсульфокислоты**

**3-(4-иодбутокс)-5-метилфениловый эфир 2-хлор бензолсульфокислоты**

**3-(4-иодбутокс)-5-метилфениловый эфир 2-фтор бензолсульфокислоты**

**3-(4-иодбутокси)-5-метилфениловый эфир 2-карбметокси бензолсульфокислоты****Пример 4**

**Синтез 4-амино-1-(3-(3-метил-5-(2-хлорбензолсульфонилокси)фенокси)пропил)-пиридиний иодида (НС\_023s\_ЮС).**

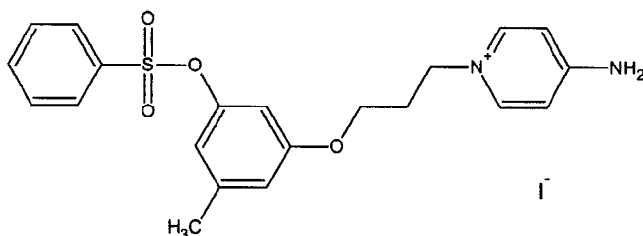


Смесь 0.55 г "сырого иодида" (из предыдущего примера) (в расчете на 70% содержание активного вещества) и 0.08 г (0.85 ммоль) 4-аминопиридина в 10 мл сухого диоксана кипятили в течение 20 часов. После того как смесь остыла, раствор упарили, полученное масло затирали с несколькими порциями эфира до затвердевания. Твердый остаток отфильтровали и дважды перекристаллизовывали из смеси диоксан-ацетонитрил (5:1), осадок соли отфильтровали, промыли эфиром.

После сушки в вакууме получено 0.35 г (65%) белой соли. ЯМР  $^1\text{H}$  (Bruker DRX500, 500 МГц, ДМСО- $d_6$ , м.д., J Гц): 2.21 с, 3H; 3.91 т, 2H, J=5.49; 2.18 м, 2H, J=6.10; 4.26 т, 2H, J=6.71; 6.40 с, 1H, 6.50 с, 1H, 6.68 с, 1H; 7.59 т, 1H, J=7.94, 7.83 т, 1H, J=7.94, 7.87 д, 1H, J=7.93, 7.95 д, 1H, J=7.93; 6.80 д, 2H, J=6.72, 8.17 д, 2H, J=6.72; 8.07 с, 2H.

Аналогичным образом из соответствующих иодидов и гетероциклических соединений, тиомочевин и производных тиомочвины были получены:

**4-амино-1-(3-(3-метил-5-(бензолсульфонилокси)фенокси)пропил)-пиридиний иодид (НС\_016s\_ЮС).**



Выход 78%.

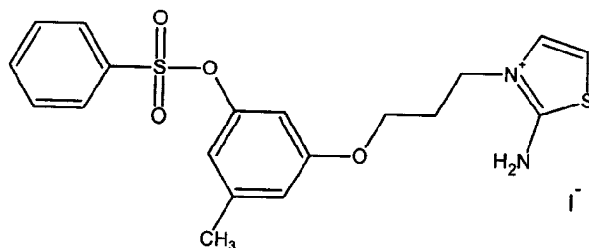
ЯМР  $^1\text{H}$  (Bruker DRX500, 500 МГц,  $\text{DMSO-}d_6$ , м.д.,  $J$  Гц): 2.20 с, 3H; 3.88 т, 2H,  $J=5.50$ ; 2.16 м, 2H,  $J=6.11$ ; 4.25 т, 2H,  $J=6.71$ ; 6.31 с, 1H, 6.44 с, 1H, 6.66 с, 1H; 7.68 т, 2H,  $J=7.94$ , 7.82 т, 1H,  $J=7.94$ , 7.87 д, 2H,  $J=7.32$ ; 6.81 д, 2H,  $J=6.72$ , 8.17 д, 2H,  $J=6.72$ ; 8.09 с, 2H

5

**2-амино-1-(3-(3-метил-5-(бензолсульфонилокси)фенокси)пропил)-тиазолий иодид (НС\_017s\_ИОС).**

10

15



Выход 65%.

20

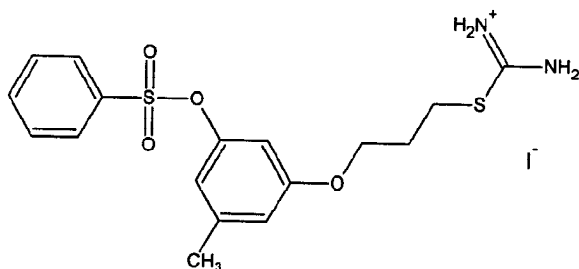
ЯМР  $^1\text{H}$  (Bruker DRX500, 500 МГц,  $\text{DMSO-}d_6$ , м.д.,  $J$  Гц): 2.21 с, 3H; 3.93 т, 2H,  $J=6.11$ ; 2.11 м, 2H,  $J=6.10$ ; 4.15 т, 2H,  $J=6.71$ ; 6.35 с, 1H, 6.44 с, 1H, 6.68 с, 1H; 7.69 т, 2H,  $J=7.33$ , 7.84 т, 1H,  $J=7.32$ , 7.88 д, 2H,  $J=7.93$ ; 7.02 д, 1H,  $J=4.27$ , 7.42 д, 1H,  $J=4.27$ ; 9.42 с, 2H

25

**3-(3-метил-5-(бензолсульфонилокси)фенокси)пропил-изотиоуроний иодид (НС\_018s\_ИОС).**

30

35



Выход 80%.

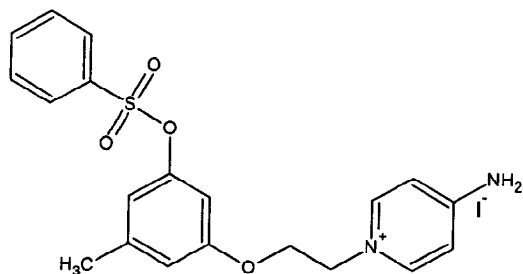
40

ЯМР  $^1\text{H}$  (Bruker DRX500, 500 МГц,  $\text{DMSO-}d_6$ , м.д.,  $J$  Гц): 2.21 с, 3H; 3.95 т, 2H,  $J=6.10$ ; 2.00 м, 2H,  $J=6.71$ ; 3.25 т, 2H,  $J=7.32$ ; 6.40 с, 1H, 6.25 с, 1H, 6.74 с, 1H; 7.69 т, 2H,  $J=7.94$ , 7.84 т, 1H,  $J=7.93$ , 7.89 д, 2H,  $J=7.33$ ; 9.03 с, 4H

45

**4-амино-1-(2-(3-метил-5-(бензолсульфонилокси)фенокси)этил)-пиридиний иодид (НС\_019s\_ИОС).**

50



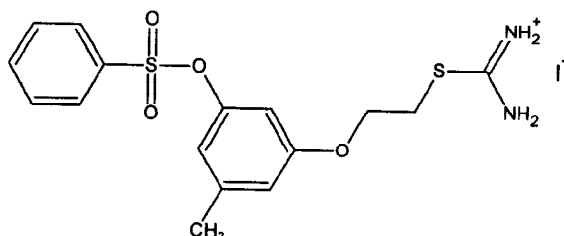
10 Выход 60%.

ЯМР  $^1\text{H}$  (Bruker DRX500, 500 МГц, ДМСО-*d*6, м.д., *J* Гц): 2.20 с, 3H; 4.24 т, 2H, *J*=4.88; 4.48 т, 2H, *J*=4.89; 6.39 с, 1H, 6.45 с, 1H, 6.73 с, 1H,; 7.68 т, 2H, *J*=7.93, 7.82 т, 1H, *J*=7.93, 7.87 д, 2H, *J*=7.32; 6.82 д, 2H, *J*=7.32, 8.18 д, 2H, *J*=7.33; 8.14 с, 2H

15

**2-(3-метил-5-(бензолсульфонилокси)фенокс)этил-изотиоуроний**  
**(HC\_020s\_IOC).**

**ИДИД**



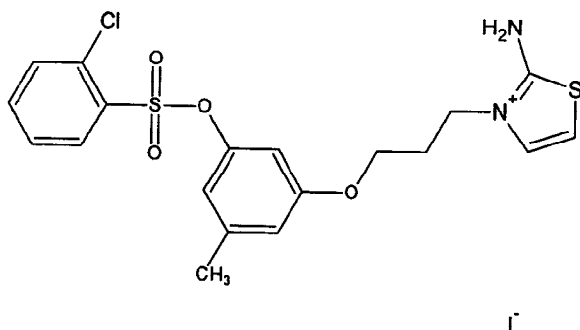
30 Выход 45%.

ЯМР  $^1\text{H}$  (Bruker DRX500, 500 МГц, ДМСО-*d*6, м.д., *J* Гц): 2.22 с, 3H; 4.11 т, 2H, *J*=5.49; 3.54 т, 2H, *J*=5.49; 6.41 с, 1H, 6.48 с, 1H, 6.76 с, 1H; 7.69 т, 2H, *J*=7.93, 7.84 т, 1H, *J*=7.93, 7.89 д, 2H, *J*=7.32; 9.10 с, 4H

35

**2-(3-метил-5-(2-хлорбензолсульфонилокси)фенокс)этил-изотиоуроний**  
**(HC\_024s\_IOC).**

**ИДИД**



50 Выход 53%.

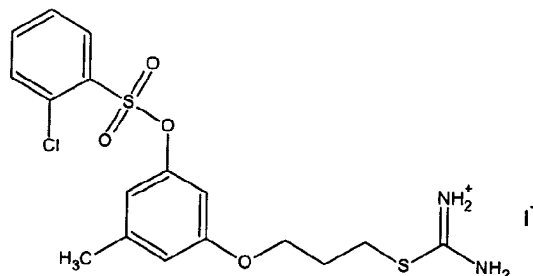
ЯМР  $^1\text{H}$  (Bruker DRX500, 500 МГц, ДМСО-*d*6, м.д., *J* Гц): 2.21 с, 3H; 3.95 т, 2H, *J*=5.50; 2.12 м, 2H, *J*=5.50; 4.15 т, 2H, *J*=6.10; 6.42 с, 1H, 6.51 с, 1H, 6.70 с, 1H; 7.59 т, 1H, *J*=7.32, 7.83 т, 1H, *J*=7.94, 7.88 д, 1H, *J*=7.94, 7.95 д, 1H, *J*=7.94; 7.01 д, 1H, *J*=4.27, 7.42 д, 1H, *J*=4.27; 9.39 с, 2H

5

**3-(3-метил-5-(2-хлорбензолсульфонилокси)фенокси)пропил-изотиоуроний иодид (НС\_026s\_ЮС).**

10

15



20

Выход 55%.

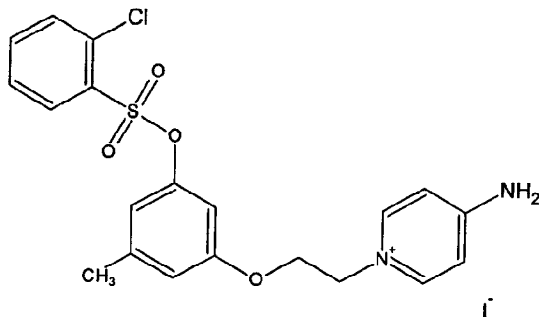
ЯМР  $^1\text{H}$  (Bruker DRX500, 500 МГц, ДМСО-*d*6, м.д., *J* Гц): 2.22 с, 3H; 3.97 т, 2H, *J*=6.10; 2.01 м, 2H, *J*=7.33, *J*=6.10; 4.26 т, 2H, *J*=7.33; 6.47 с, 1H, 6.51 с, 1H, 6.75 с, 1H; 7.60 т, 1H, *J*=7.93, 7.84 т, 1H, *J*=7.94, 7.88 д, 1H, *J*=7.93, 7.96 д, 1H, *J*=7.94; 8.95 с, 2H, 9.07 с, 2H

25

**4-амино-1-(2-(3-метил-5-(2-хлорбензолсульфонилокси)фенокси)этил)-пиридиний иодид (НС\_025s\_ЮС).**

30

35



40

Выход 58%.

ЯМР  $^1\text{H}$  (Bruker DRX500, 500 МГц, ДМСО-*d*6, м.д., *J* Гц): 2.20 с, 3H; 4.26 т, 2H, *J*=4.88; 4.49 т, 2H, *J*=4.88; 6.45 с, 1H, 6.51 с, 1H, 6.74 с, 1H; 7.58 т, 1H, *J*=7.93, 7.84 т, 1H, *J*=7.94, 7.88 д, 1H, *J*=7.93, 7.94 д, 1H, *J*=7.94; 6.82 д, 2H, *J*=7.32, 8.18 д, 2H, *J*=7.33; 8.14 с, 2H

45

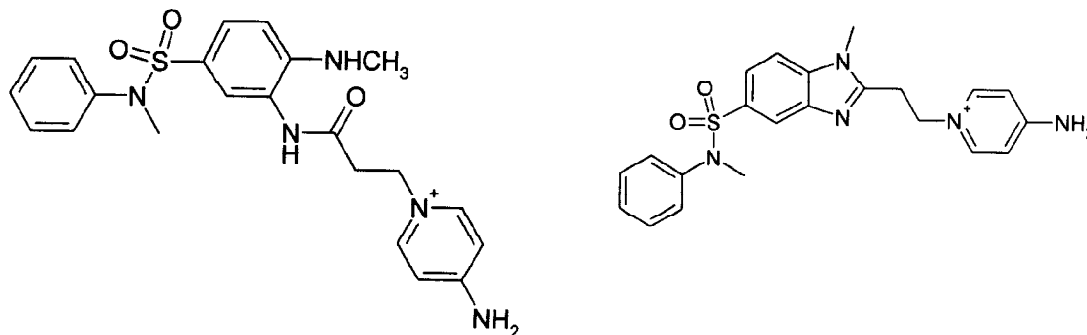
Аналогичным образом, по методикам, изложенным в примерах 1-4 с использованием различных арилсульфохлоридов и гетероциклизсульфохлоридов был получен целый ряд веществ, химические формулы которых, а также параметры масс-спектра и рассчитанная

50

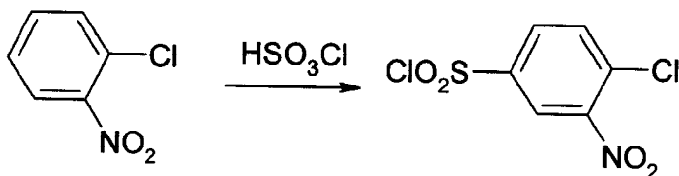
величина скоринг-функции приведены в таблице 2. Вещества могут быть получены в виде соответствующих иодидов, бромидов, хлоридов или иных солей.

### Пример 5

#### Синтез соединений

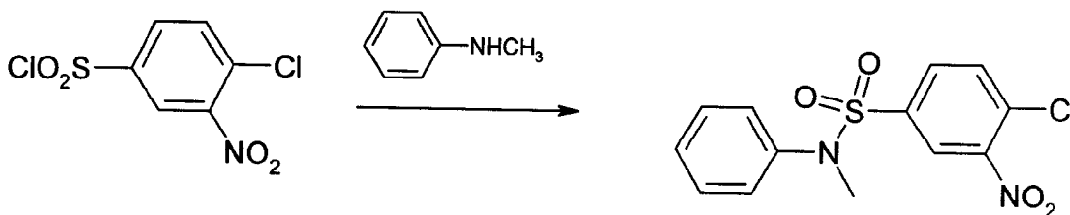


#### 1. 4-хлор-3-нитробензол-1-сульфонилхлорид



15 г о-нитрохлоранилина вносят в 30 мл хлорсульфоновой кислоты при перемешивании и нагревают 2 часа при 100°C, 2 часа при 110°C и 5 часов при 127°C. Реакционную массу охлаждают до комнатной температуры и выливают на 140 г колотого льда. Осадок отфильтровывают, промывают ледяной водой и сушат на воздухе. Получают 15 г 4-хлор-3-нитробензол-1-сульфонилхлорида.

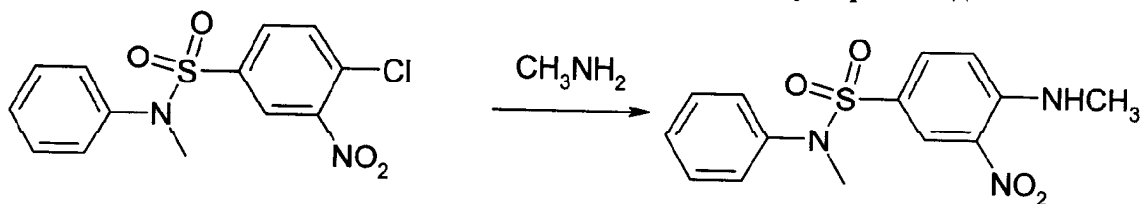
#### 2. 4-хлор-N-метил-3-нитро-N-фенилбензолсульфонамид



10,6 г (0,041 моль) 4-хлор-3-нитробензол-1-сульфонилхлорида растворяют в 50мл толуола, добавляют 4,14 г (0,041 моль) триэтиламина и при перемешивании вносят 4,4 г (0,041 моль) N-метиланилина. Реакционную смесь нагревают при 70-80°C в течение 1 часа, после охлаждения толуольный раствор дважды промывают 30 мл воды.

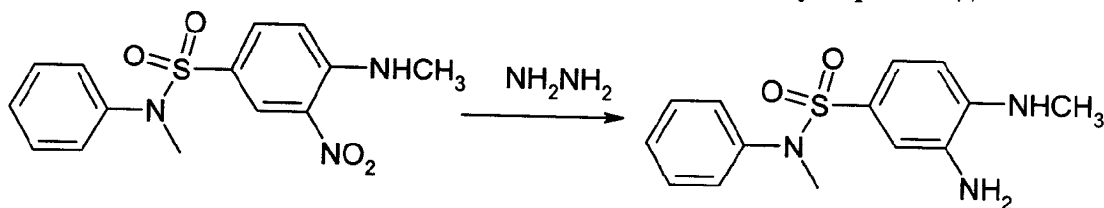
Реакционную массу концентрируют в вакууме и осадок перекристаллизовывают из этанола. Выход 4-хлор-N-метил-3-нитро-N-фенилбензолсульфонамида – 9,4 г (61%).

### 3. N-метил-4-(метиламино)-3-нитро-N-фенилбензолсульфонамид



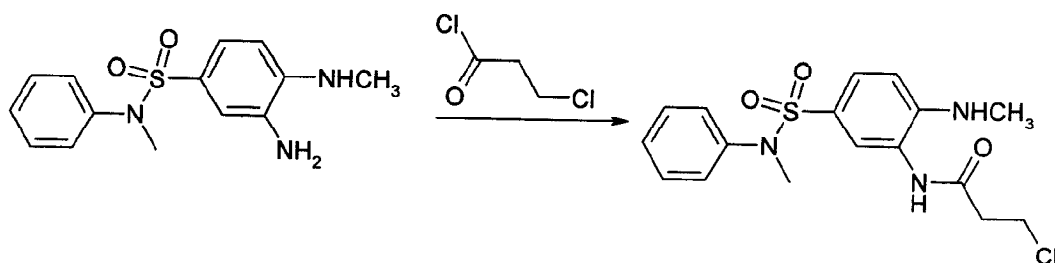
9,4 г (0,029 моль) 4-хлор-N-метил-3-нитро-N-фенилбензолсульфонамида растворяют в 50 мл этанола и добавляют 25мл 40% водного раствора метиламина. Реакционную смесь нагревают до 70°C и перемешивают при этой температуре в течение часа. После охлаждения реакционной массы осадок отфильтровывают, промывают этанолом и сушат при 60°C. Выход N-метил-4-(метиламино)-3-нитро-N-фенилбензолсульфонамида - 9.0 г (97%).

### 4. 3-амино-N-метил-4-(метиламино)-N-фенилбензолсульфонамид



9 г (0,028 моль) N-метил-4-(метиламино)-3-нитро-N-фенилбензолсульфонамида растворяют в 90 мл изопропилового спирта. Добавляют 11 мл гидразин-гидрата, 2 г активированного угля и раствор 0,5 г FeCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O в 10 мл спирта. Реакционную массу кипятят в течение 8 часов. Уголь отфильтровывают, фильтрат упаривают досуха. Получают 8,1 г (99%) 3-амино-N-метил-4-(метиламино)-N-фенилбензолсульфонамида

### 5. 3-хлор-N-(5-(N-метил-N-фенилсульфамойл)-2-(метиламино)фенил)пропанамид



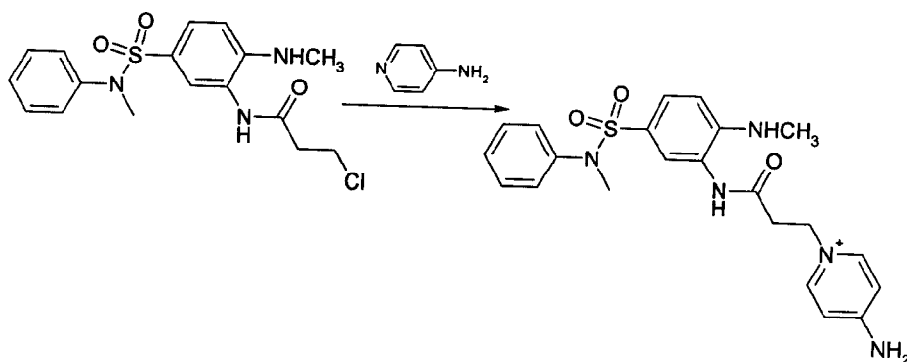
К раствору 5,4 г (0,018 моль) 3-амино-N-метил-4-(метиламино)-N-фенилбензолсульфонамида и 1,81 г (0,018 моль) триэтиламина в 16 мл диметилформамида



добавляют 2,32 г (0,018 моль) хлорпропионилхлорида при охлаждении на ледяной бане (~5°C). Реакционную массу перемешивают в течение 5-ти часов при комнатной температуре. Добавляют 14 мл воды и 5 мл ацетонитрила. Осадок отфильтровывают

через 4-5 часов.  
Выход 3-хлор-N-(5-(N-метил-N-фенилсульфамоил)-2-(метиламино)фенил)пропанамида – 3,1 г (45%).

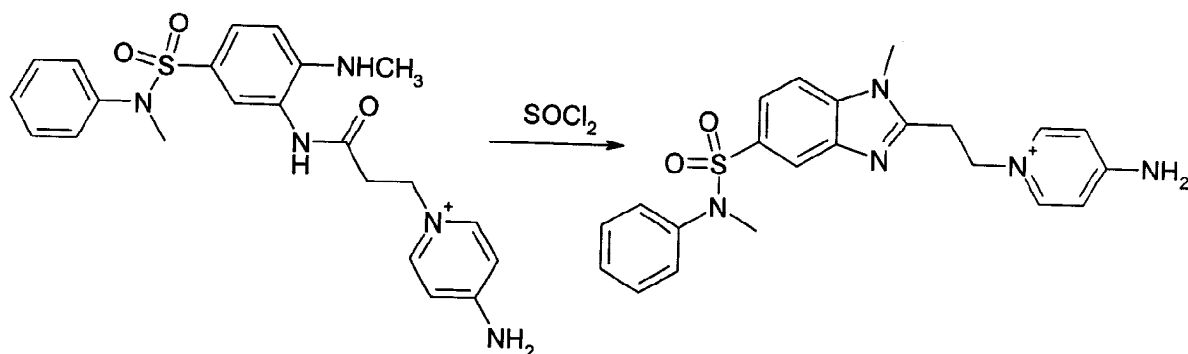
**6. 4-амино-1-(3-(5-(N-метил-N-фенилсульфамоил)-2-(метиламино)фениламино)-3-оксопропил)пиридинийхлорид.**



1 г (0,0026 моль) 3-хлор-N-(5-(N-метил-N-фенилсульфамоил)-2-(метиламино)фенил)пропанамида и 0,73 г (0,0078 моль) 4-аминопиридина кипятят в 50 мл безводного ацетона в течение 50 часов. Выделившийся осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из смеси ацетонитрил/этанол - 10/1.

Выход 4-амино-1-(3-(5-(N-метил-N-фенилсульфамоил)-2-(метиламино)фениламино)-3-оксопропил)пиридинийхлорида - 0,54 г (43%).

**7. 4-амино-1-(2-(1-метил-5-(N-метил-N-фенилсульфамоил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)этил)пиридинийхлорид.**



К суспензии 0,2 г (0,00042 моль) 4-амино-1-(3-(5-(N-метил-N-фенилсульфамоил)-2-(метиламино)фениламино)-3-оксопропил)пиридинийхлорида в 8 мл ацетонитрила добавляют 0,2 мл тионилхлорида и реакционную массу кипятят в течение 10 мин.

Оставляют при комнатной температуре на 24 часа. После выдержки реакционную массу разбавляют 8 мл диэтилового эфира, выделившийся осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из смеси ацетонитрил/этанол (абс) в соотношении 10/1. Выход 4-амино-1-(2-(1-метил-5-(N-метил-N-фенилсульфамойл)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)этил)пиридинийхлорида - 0,055 г (26%).

Аналогичным образом, по методикам, изложенным в примере 5 был получен ряд веществ, химические формулы которых, а также параметры масс-спектра и рассчитанная величина скоринг-функции приведены в таблице 3. Вещества могут быть получены в виде соответствующих иодидов, бромидов, хлоридов или иных солей.

### Пример 6

#### Изучение влияния тестируемых соединений на активность тромбина.

Влияние синтезированных веществ на активность тромбина исследовали, измеряя скорость гидролиза специфичных низкомолекулярных субстратов тромбином в водном буферном растворе в отсутствии и присутствии данных соединений. Одним из таких субстратов являлся хромогенный субстрат Хромозим ТН (СТН): N-(p-Tosyl)-Gly-Pro-Arg-pNA [Sonder SA, Fenton JW 2nd. Thrombin specificity with tripeptide chromogenic substrates: comparison of human and bovine thrombins with and without fibrinogenclotting activities. Clin. Chem., 1986, 32(6):934-937]. В качестве другого в части экспериментов использовали флюорогенный субстрат Boc-Ala-Pro-Arg-AMC (S), где Boc - остаток бутоксикарбонила, а AMC- остаток 7-амино-4-метилкумарина [Kawabata S, Miura T, Morita T, Kato H, Fujikawa K, Ivanaga S, Takada K, Kimura T, Sakakibara S. Highly sensitive peptide-4-methylcoumaryl-7-amide substrates for blood-clotting proteases and trypsin. Eur. J. Biochem., 1988, 172(1):17-25].

В лунки обычного 96-луночного планшета вносили буфер, содержащий 140 мМ NaCl, 20 мМ HEPES, 0.1% полиэтиленгликоль (Mв=6000), pH=8.0. Добавляли субстрат (конечная концентрация в лунке – 100 мкМ), тромбин (конечная концентрация – 190 пМ), а также исследуемое соединение (предполагаемый ингибитор тромбина) в различных концентрациях (от 0.002 мМ до 3.3 мМ). При использовании хромогенного субстрата за накоплением окрашенного продукта реакции - пара-нитроанилина - следили на спектрофотометрическом планшетном ридере Molecular Devices (ThermoMax, США), измеряя увеличение оптической плотности на длине волны 405 нм. В случае флюорогенного субстрата, в ходе гидролиза тромбин отщепляет от него аминометилкумарин, который в свободной форме сильно флюоресцирует ( $\lambda$  возбуждения

380 нм,  $\lambda$  испускания 440 нм). Кинетику реакции записывали на флюориметрическом планшетном ридере Titertek Fluoroskan (LabSystem, Финляндия).

5 Начальную скорость реакции определяли как тангенс угла наклона кинетической кривой на прямолинейном участке (первые 10-15 минут регистрации). За 100 % принимали скорость реакции без ингибитора. В качестве конечного результата использовали среднее арифметическое двух независимых измерений.

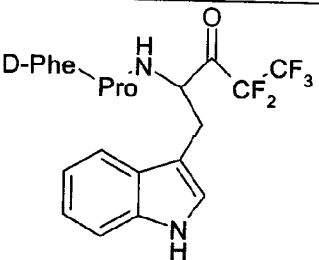
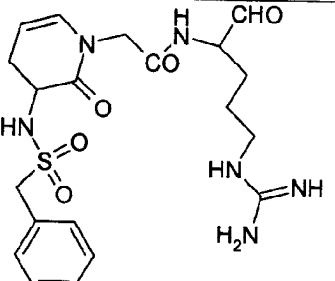
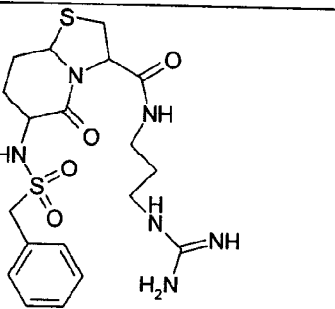
10 На фигуре 1 показаны примеры характерных кинетических кривых гидролиза хромогенного субстрата Хромозим ТН (СТН) под действием тромбина в присутствии различных концентраций соединения НС-019s-ИОС (см. Таблицу 4). В качестве контроля представлена кинетическая кривая гидролиза в отсутствие ингибитора.

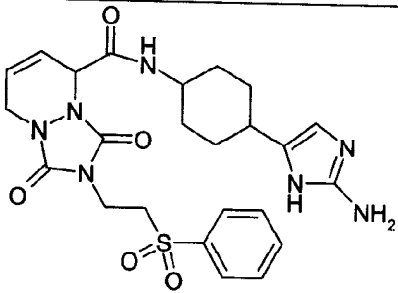
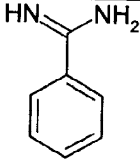
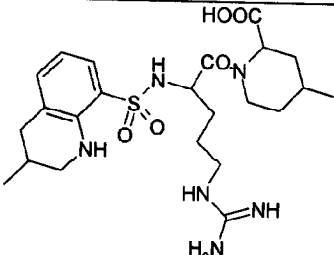
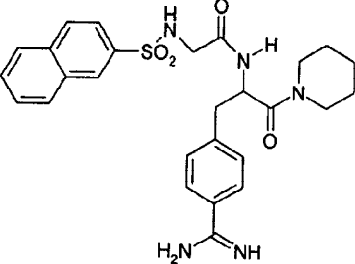
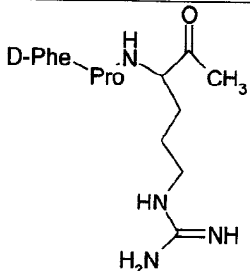
15 На фигуре 2 представлена зависимость степени ингибирования гидролиза СТН от концентрации в системе другого вновь синтезированного соединения (НС-018s-ИОС), являющегося высокоэффективным ингибитором тромбина (см. Таблицу 4).

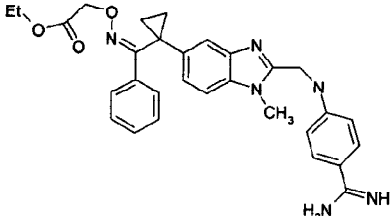
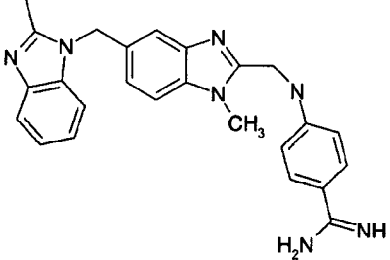
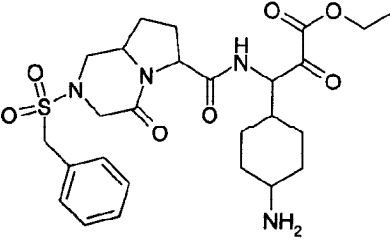
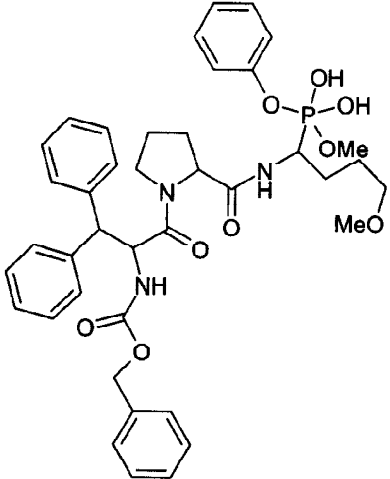
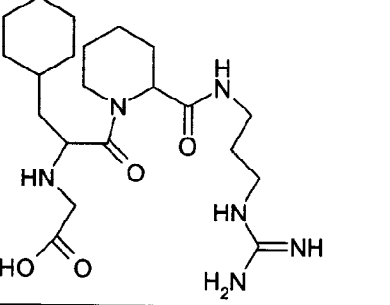
20 Данные по величинам ингибирующего действия ряда вновь синтезированных соединений на активность тромбина представлены в Таблице 4.

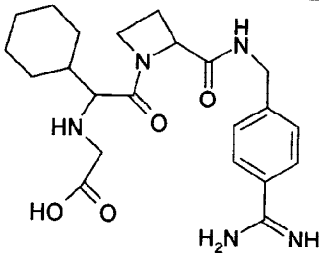
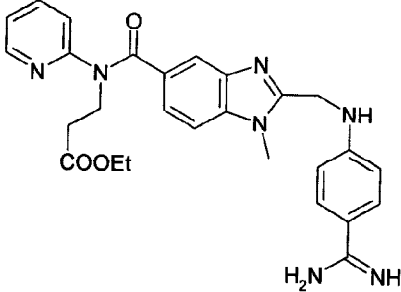
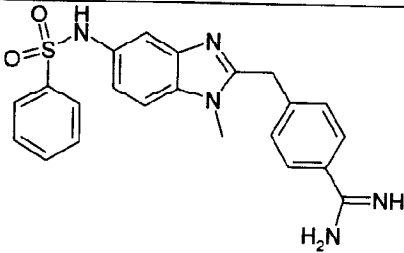
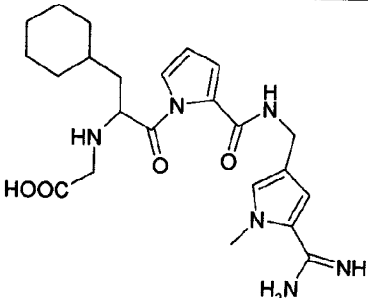
25 Таким образом, полученные результаты показали, что все вновь синтезированные соединения являются прямыми ингибиторами тромбина. Степень этого ингибирования для разных соединений различна, однако, большая часть новых соединений представляет собой высокоэффективные ингибиторы тромбина, которые могут составить основу фармацевтических композиций, применяемых для борьбы с тромбинзависимыми  
30 тромбоземболическими состояниями, а, кроме того, могут быть использованы в научно-исследовательской работе.

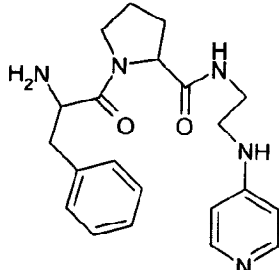
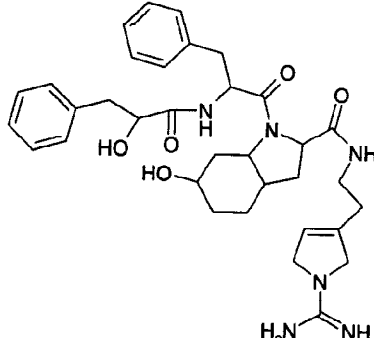
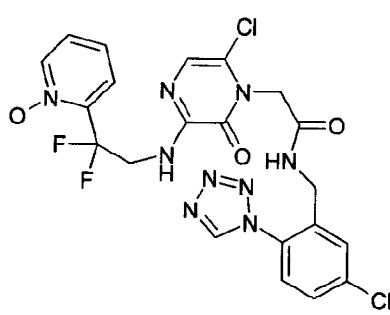
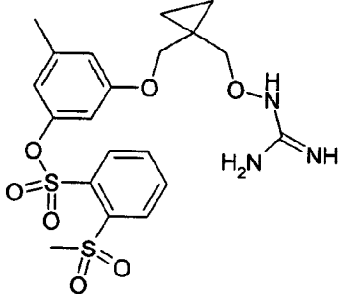
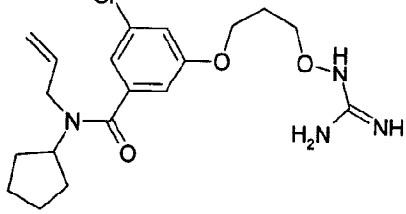
Таблица 1. Список основных статей, опубликованных по различным ингибиторам тромбина.

N	PDB компл.	Структура ингибитора	Статья	Комментарий
1	1AD8		<p><u>Malikavil, J. A., Burkhart, J. P., Schreuder, H. A., Broersma Jr., R. J., Tardif, C., Kutcher 3rd., Z., Mehdi, S., Schatzman, G. L., Neises, B., Paot, N. P.</u>: Molecular design and characterization of an alpha-thrombin inhibitor containing a novel P1 moiety. <i>Biochemistry</i> 36 pp. 1034 (1997)</p>	Ковалентный ингибитор
2	1AWF	Сложный природный стероид	<p><u>Weir, M. P., Bethell, S. S., Cleasby, A., Campbell, C. J., Dennis, R. J., Dix, C. J., Finch, H., Jhoti, H., Mooney, C. J., Patel, S., Tang, C. M., Ward, M., Wonacott, A. J., Wharton, C. W.</u>: Novel natural product 5,5-trans-lactone inhibitors of human alpha-thrombin: mechanism of action and structural studies. <i>Biochemistry</i> 37 pp. 6645 (1998)</p>	Ковалентный ингибитор
3	1AY6	Макроциклический пептид	<p><u>Maryanoff, B. E., Qiu, X., Padmanabhan, K. P., Tulinsky, A., Almond Jr., H. R., Andrade-Gordon, P., Greco, M. N., Kauffman, J. A., Nicolaou, K. C., Liu, A., et al.</u>: Molecular basis for the inhibition of human alpha-thrombin by the macrocyclic peptide cyclotheonamide A. <i>Proc Natl Acad Sci U S A</i> 90 pp. 8048 (1993)</p>	
4	1BA8		<p><u>Krishnan, R., Zhang, E., Hakansson, K., Arni, R. K., Tulinsky, A., Lim-Wilby, M. S., Levy, O. E., Semple, J. E., Brunck, T. K.</u>: Highly selective mechanism-based thrombin inhibitors: structures of thrombin and trypsin inhibited with rigid peptidyl aldehydes. <i>Biochemistry</i> 37 pp. 12094 (1998)</p>	Ковалентный ингибитор
5	1BHX		<p><u>Wagner, J., Kallen, J., Ehrhardt, C., Evenou, J. P., Wagner, D.</u>: Rational design, synthesis, and X-ray structure of selective noncovalent thrombin inhibitors. <i>J Med Chem</i> 41 pp. 3664 (1998)</p>	

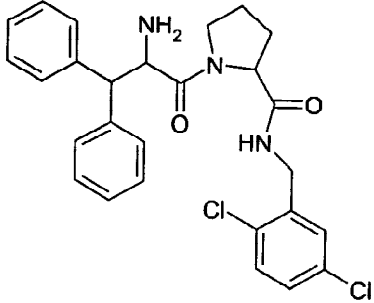
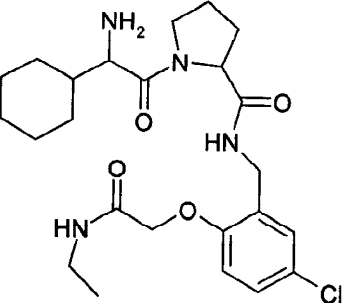
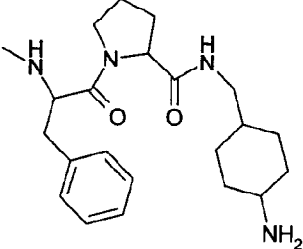
5	6	1D6W		<u>Krishnan, R., Mochalkin, I., Arni, R., Tulinsky, A.:</u> Structure of Thrombin Complexed with Selective Non-Electrophilic Inhibitors Having Cyclohexyl Moieties at P1 Acta Crystallogr., Sect.D 56 pp. 294 (2000)	
10	7	1DWB		<u>Banner, D. W., Hadvary, P.:</u> Crystallographic analysis at 3.0-A resolution of the binding to human thrombin of four active site-directed inhibitors. <i>J Biol Chem</i> 266 pp. 20085 (1991)	$K_d=343 \text{ nM}$
15	8	1DWC		<u>Banner, D. W., Hadvary, P.:</u> Crystallographic analysis at 3.0-A resolution of the binding to human thrombin of four active site-directed inhibitors. <i>J Biol Chem</i> 266 pp. 20085 (1991)	<b>MD-805 (MITSUBISHI INHIBITOR)</b>
20	9	1DWD		<u>Banner, D. W., Hadvary, P.:</u> Crystallographic analysis at 3.0-A resolution of the binding to human thrombin of four active site-directed inhibitors. <i>J Biol Chem</i> 266 pp. 20085 (1991)	<b>N=ALPHA=(2-NAPHTHYL-SULFONYL-GLYCYL)-PARA-AMINO-ALANYL-PIPERIDINE</b>
25	10	1DWE		<u>Banner, D. W., Hadvary, P.:</u> Crystallographic analysis at 3.0-A resolution of the binding to human thrombin of four active site-directed inhibitors. <i>J Biol Chem</i> 266 pp. 20085 (1991)	
30	11	1EOJ	Пептидный ингибитор	<u>Slon-Usakiewicz, J. J., Sivaraman, J., Li, Y., Cygler, M., Konishi, Y.:</u> Design of P1' and P3' Residues of Trivalent Thrombin Inhibitors and Their Crystal Structures <i>Biochemistry</i> 39 pp. 2384 (2000)	
35	12	1EOL	Пептидный ингибитор	<u>Slon-Usakiewicz, J. J., Sivaraman, J., Li, Y., Cygler, M., Konishi, Y.:</u> Design of P1' and P3' Residues of Trivalent Thrombin Inhibitors and Their Crystal Structures <i>Biochemistry</i> 39 pp. 2384 (2000)	

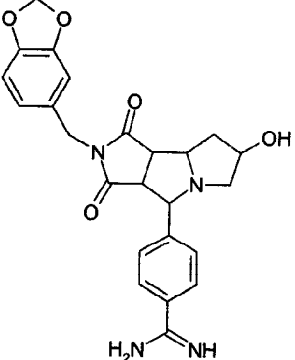
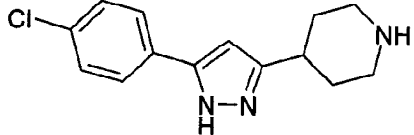
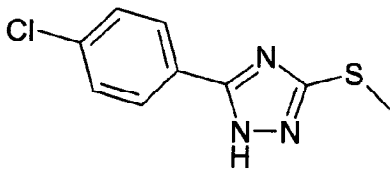
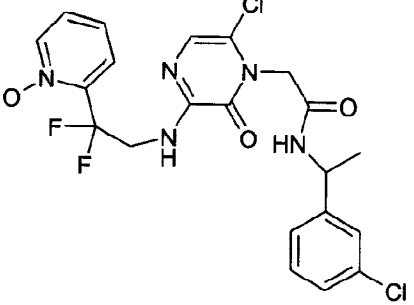
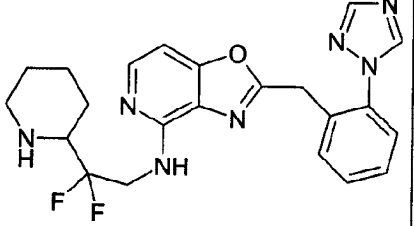
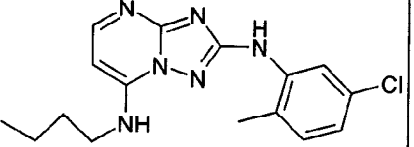
5	13	1G30		<p><u>Nar, H., Bauer, M., Schmid, A., Stassen, J., Wiene, W., Prieke, H. W., Kauffmann, I. K., Ries, U. J., Huel, N. H.:</u> Structural Basis for Inhibition Promiscuity of Dual Specific Thrombin and Factor Xa Blood Coagulation Inhibitors <i>Structure</i> 9 pp. 29 (2001)</p>
10	14	1G32		<p><u>Nar, H., Bauer, M., Schmid, A., Stassen, J., Wiene, W., Prieke, H. W., Kauffmann, I. K., Ries, U. J., Huel, N. H.:</u> Structural Basis for Inhibition Promiscuity of Dual Specific Thrombin and Factor Xa Blood Coagulation Inhibitors <i>Structure</i> 9 pp. 29 (2001)</p>
15	15	1G37		<p><u>Bachand, B., Tarazi, M., St-Denis, Y., Edmunds, J. J., Winocour, P. D., Leblond, L., Siddiqui, M. A.:</u> Potent and Selective Bicyclic Lactam Inhibitors of Thrombin. Part 4: Transition State Inhibitors <i>Bioorg. Med. Chem. Lett.</i> 11 pp. 287 (2001)</p>
25	16	1H8D 1H8I		<p><u>Skordalakes, E., Dodson, G. G., Green, D. S., Goodwin, C. A., Scully, M. F., Hudson, H. R., Kakkar, V. V., Deadman, J. J.:</u> Inhibition of Human Alpha-Thrombin by a Phosphonate Tripeptide Proceeds Via a Metastable Pentacoordinated Phosphorus Intermediate <i>J. Mol. Biol.</i> 311 pp. 549 (2001)</p>
40	17	1K21		<p><u>Dullweber, F., Stubbs, M. T., Musil, D., Sturzebecher, J., Klebe, G.:</u> Factorising Ligand Affinity: A Combined Thermodynamic and Crystallographic Study of Trypsin and Thrombin Inhibition <i>J. Mol. Biol.</i> 313 pp. 593 (2001)</p>

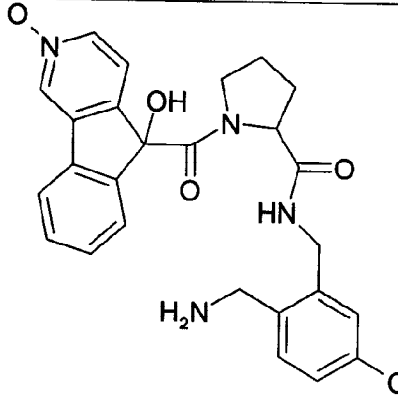
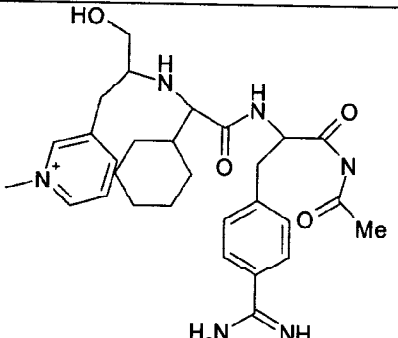
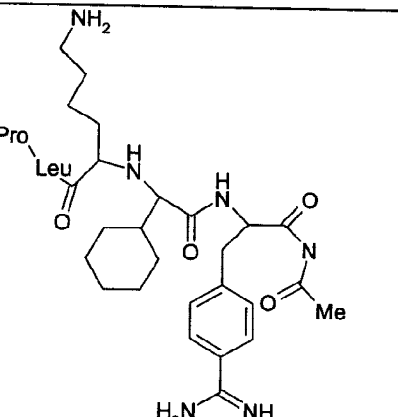
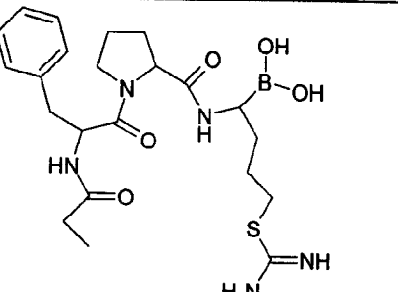
5	18	1K22		<u>Dullweber, F., Stubbs, M. T., Musil, D., Sturzebecher, J., Klebe, G.</u> : Factorising Ligand Affinity: A Combined Thermodynamic and Crystallographic Study of Trypsin and Thrombin Inhibition <i>J.Mol.Biol.</i> 313 pp. 593 (2001)
10	19	1KTS		<u>Huel, N. H., Nar, H., Priepe, H., Ries, U., Stassen, J.-M., Wiene, W.</u> : Structure-Based Design of Novel Potent Nonpeptide Thrombin Inhibitors <i>J.Med.Chem.</i> 45 pp. 1757 (2002)
15	20	1KTT		<u>Huel, N. H., Nar, H., Priepe, H., Ries, U., Stassen, J.-M., Wiene, W.</u> : Structure-Based Design of Novel Potent Nonpeptide Thrombin Inhibitors <i>J.Med.Chem.</i> 45 pp. 1757 (2002)
20	21	1NM6	Сложный макроцикл	<u>Nantermet, P. G., Barrow, J. C., Newton, C. L., Pellicore, J. M., Young, M., Lewis, S. D., Lucas, B. J., Krueger, J. A., Mcmasters, D. R., Yan, Y., Kuo, L. C., Vacca, J. P., Selnick, H. G.</u> : Design and Synthesis of Potent and Selective Macrocylic Thrombin Inhibitors <i>Bioorg.Med.Chem.Lett.</i> 13 pp. 2781 (2003)
25	22	1NT1	Сложный макроцикл	<u>Nantermet, P. G., Barrow, J. C., Newton, C. L., Pellicore, J. M., Young, M., Lewis, S. D., Lucas, B. J., Krueger, J. A., Mcmasters, D. R., Yan, Y., Kuo, L. C., Vacca, J. P., Selnick, H. G.</u> : Design and Synthesis of Potent and Selective Macrocylic Thrombin Inhibitors <i>Bioorg.Med.Chem.Lett.</i> 13 pp. 2781 (2003)
30	23	1NZQ		<u>Lange, U. E., Bauke, D., Hornberger, W., Mack, H., Seitz, W., Hoeffken, H. W.</u> : D-Phe-Pro-Arg Type Thrombin Inhibitors: Unexpected Selectivity by Modification of the P1 Moiety <i>Bioorg.Med.Chem.Lett.</i> 13 pp. 2029 (2003)

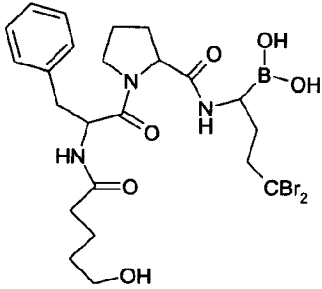
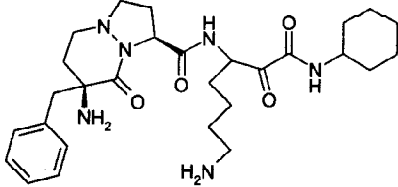
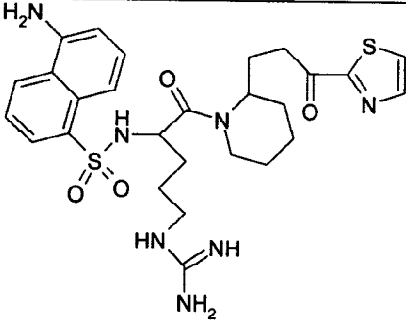
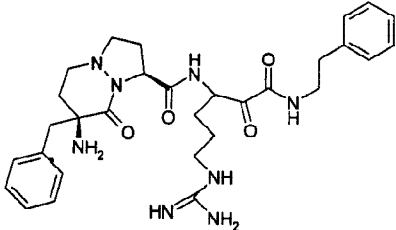
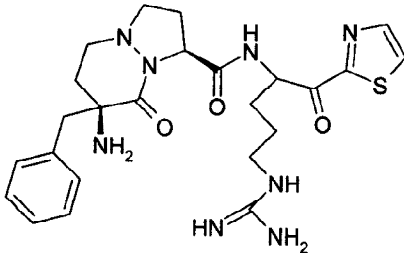
5 24	1QBV		<p><b>Bone, R., Lu, T., Illig, C. R., Soll, R. M., Spurlino, J. C.:</b> Structural Analysis of Thrombin Complexed with Potent Inhibitors Incorporating a Phenyl Group as a Peptide Mimetic and Aminopyridines as Guanidine Substitutes. <i>J. Med. Chem.</i> 41 pp. 2068 (1998)</p>	
10 15 25	1RIW		<p><b>Hanessian, S., Tremblay, M., Petersen, J. F. W.:</b> The N-Acyloxyiminium Ion Azapris Route to Octahydroindoles: Total Synthesis and Structural Confirmation of the Antithrombotic Marine Natural Product Oscillarin <i>J. Am. Chem. Soc.</i> 126 pp. 6064 (2004)</p>	Oscillarin (природный продукт)
20 25	1SL3		<p><b>Young, M. B., Barrow, J. C., Glass, K. L., Lundell, G. E., Newton, C. L., Pellicore, J. M., Rittle, K. E., Selnick, H. G., Stauffer, K. J., Vacca, J. P., Williams, P. D., Bohn, D., Clayton, F. C., Cook, J. J., Krueger, J. A., Kuo, L. C., Lewis, S. D., Lucas, B. J., Mcmasters, D. R., Miller-Stein, C., Pietrak, B. L.:</b> Discovery and Evaluation of Potent P1 Aryl Heterocycle-Based Thrombin Inhibitors <i>J. Med. Chem.</i> 47 pp. 2995 (2004)</p>	
30 35	1T4U		<p><b>Lu, T., Markotan, T., Coppo, E., Tomczuk, B., Crvslar, C., Eisennagel, S., Spurlino, J., Gremminger, L., Soll, R. M., Giardino, E. C., Bone, R.:</b> Oxyguanidines. Part 2: Discovery of a Novel Orally Active Thrombin Inhibitor Through Structure-Based Drug Design and Parallel Synthesis <i>Bioorg. Med. Chem. Lett.</i> 14 pp. 3727 (2004)</p>	
40 45	1T4V		<p><b>Lu, T., Markotan, T., Coppo, E., Tomczuk, B., Crvslar, C., Eisennagel, S., Spurlino, J., Gremminger, L., Soll, R. M., Giardino, E. C., Bone, R.:</b> Oxyguanidines. Part 2: Discovery of a Novel Orally Active Thrombin Inhibitor Through Structure-Based Drug Design and Parallel Synthesis <i>Bioorg. Med. Chem. Lett.</i> 14 pp. 3727 (2004)</p>	

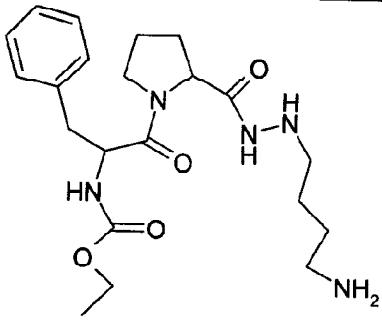
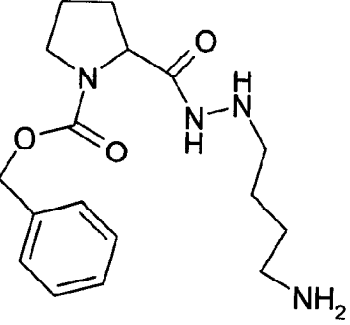
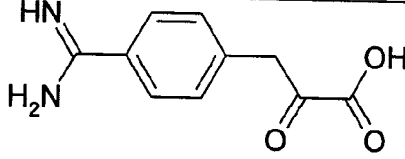
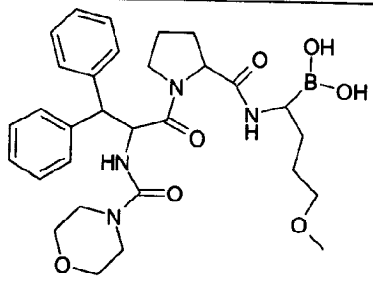
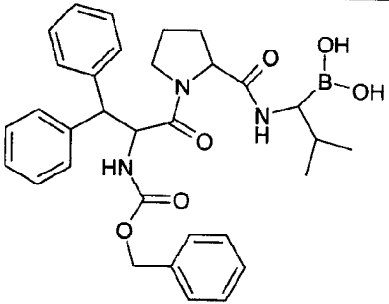


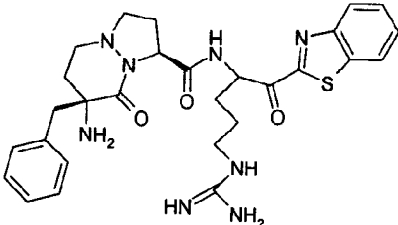
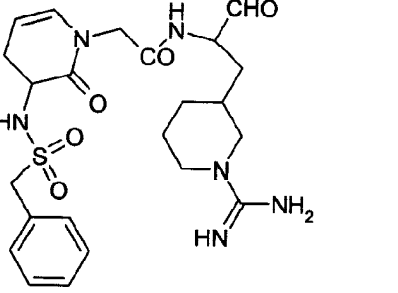
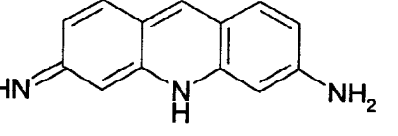
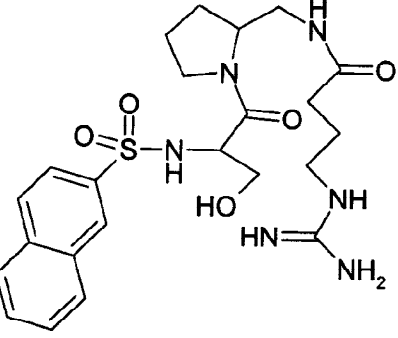
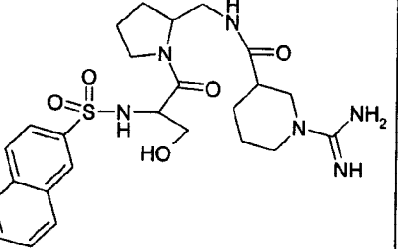
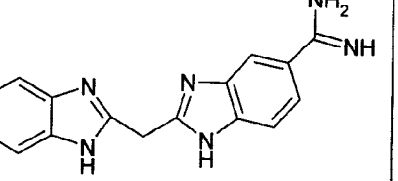
29	1TA2		<p><u>Tucker, T. J., Brady, S. F., Lumma, W. C., Lewis, S. D., Gardel, S. J., Naylor-Olsen, A. M., Yan, Y., Sisko, J. T., Stauffer, K. J., Lucas, B. Y., Lynch, J. J., Cook, J. J., Stranieri, M. T., Holahan, M. A., Lyle, E. A., Baskin, E. P., Chen, I-W., Dancheck, K. B., Krueger, J. A., Cooper, C. M., Vacca, J. P.</u>; Design and Synthesis of a Series of Potent and Orally Bioavailable Noncovalent Thrombin Inhibitors that Utilize Nonbasic Groups in the P1 Position <i>J.Med.Chem.</i> 41 pp. 3210 (1998)</p>
30	1TA6		<p><u>Tucker, T. J., Brady, S. F., Lumma, W. C., Lewis, S. D., Gardel, S. J., Naylor-Olsen, A. M., Yan, Y., Sisko, J. T., Stauffer, K. J., Lucas, B. Y., Lynch, J. J., Cook, J. J., Stranieri, M. T., Holahan, M. A., Lyle, E. A., Baskin, E. P., Chen, I-W., Dancheck, K. B., Krueger, J. A., Cooper, C. M., Vacca, J. P.</u>; Design and Synthesis of a Series of Potent and Orally Bioavailable Noncovalent Thrombin Inhibitors that Utilize Nonbasic Groups in the P1 Position <i>J.Med.Chem.</i> 41 pp. 3210 (1998)</p>
31	1TBQ	Пептидный ингибитор	<p><u>van de Locht, A., Lamba, D., Bauer, M., Huber, R., Friedrich, T., Kroger, B., Hoffken, W., Bode, W.</u>; Two heads are better than one: crystal structure of the insect derived double domain Kazal inhibitor rhodniin in complex with thrombin. <i>EMBO J</i> 14 pp. 5149 (1995)</p>
32	1TBR	Пептидный ингибитор	<p><u>van de Locht, A., Lamba, D., Bauer, M., Huber, R., Friedrich, T., Kroger, B., Hoffken, W., Bode, W.</u>; Two heads are better than one: crystal structure of the insect derived double domain Kazal inhibitor rhodniin in complex with thrombin. <i>EMBO J</i> 14 pp. 5149 (1995)</p>
33	1TOM		<p><u>Lyle, T. A., Chen, Z. G., Appleby, S. D., Freidinger, R. M., Gardell, S. J., Lewis, S. D., Li, Y., Lyle, E. A., Lynch, J. J., Mulichak, A. M., Ng, A. S., Naylor-Olsen, A. M., Sanders, W. M.</u>; Synthesis, evaluation, and crystallographic analysis of L-371,912: A potent and selective active-site thrombin inhibitor. <i>BIOORGANIC &amp; MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS</i> 7 pp. 67 (1997)</p>

5	34	1VZQ		<b>Schaerer, K., Morgenthaler, M., Seller, P., Diederich, F., Banner, D. W., Tschopp, T., Obst-Sander, U.:</b> Enantiomerically Pure Thrombin Inhibitors for Exploring the Molecular-Recognition Features of the Oxyanion Hole <i>Helv.Chim.Acta</i> 87 pp. 2517 (2004)	
10	35	1WAY		<b>Hartshorn, M. J., Murray, C. W., Cleasby, A., Frederickson, M., Tickle, I. J., Jhoti, H.:</b> Fragment-Based Lead Discovery Using X-Ray Crystallography <i>J.Med.Chem.</i> 48 pp. 403 (2005)	Аффинность – 400 мкМ
15	36	1WBG		<b>Hartshorn, M. J., Murray, C. W., Cleasby, A., Frederickson, M., Tickle, I. J., Jhoti, H.:</b> Fragment-Based Lead Discovery Using X-Ray Crystallography <i>J.Med.Chem.</i> 48 pp. 403 (2005)	Аффинность – 1 мМ
20	37	1Z71		<b>Nantermet, P. G., Burgey, C. S., Robinson, K. A., Pellicore, J. M., Newton, C. L., Deng, J. Z., Selnick, H. G., Lewis, S. D., Lucas, B. J., Krueger, J. A., Miller-Stein, C., White, R. B., Wong, B., McMasters, D. R., Wallace, A. A., Lynch Jr., J. J., Yan, Y., Chen, Z., Kuo, L., Gardell, S. J., Shafer, J. A., Vacca, J. P., Lyle, T. A.:</b> P(2) Pyridine N-Oxide Thrombin Inhibitors: A Novel Peptidomimetic Scaffold <i>Bioorg.Med.Chem.Lett.</i> 15 pp. 2771 (2005)	
25	38	1ZGI		<b>Deng, J. Z., McMasters, D. R., Rabbat, P. M., Williams, P. D., Coburn, C. A., Yan, Y., Kuo, L. C., Lewis, S. D., Lucas, B. J., Krueger, J. A., Strulovici, B., Vacca, J. P., Lyle, T. A., Burgey, C. S.:</b> Development of an Oxazolopyridine Series of Dual Thrombin/Factor Xa Inhibitors Via Structure-Guided Lead Optimization. <i>Bioorg.Med.Chem.Lett.</i> 15 pp. 4411 (2005)	
30	39	1ZGV		<b>Deng, J. Z., McMasters, D. R., Rabbat, P. M., Williams, P. D., Coburn, C. A., Yan, Y., Kuo, L. C., Lewis, S. D., Lucas, B. J., Krueger, J. A., Strulovici, B., Vacca, J. P., Lyle, T. A., Burgey, C. S.:</b> Development of an Oxazolopyridine Series of Dual Thrombin/Factor Xa Inhibitors Via Structure-Guided Lead Optimization. <i>Bioorg.Med.Chem.Lett.</i> 15 pp. 4411 (2005)	
35					
40					
45					
50					

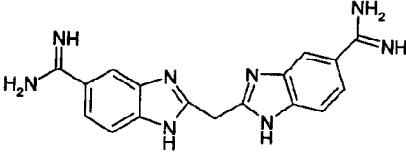
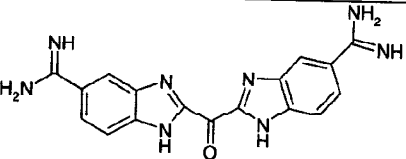
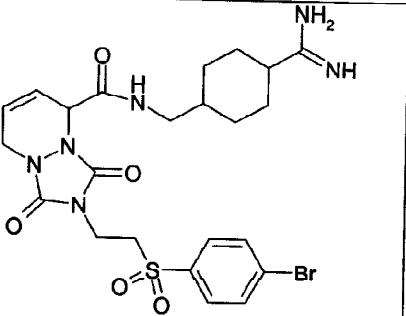
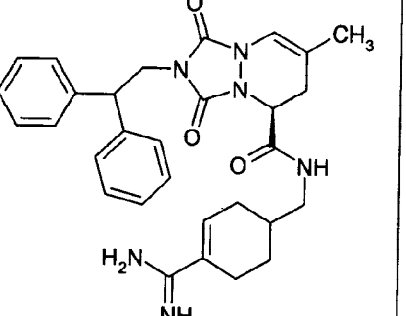
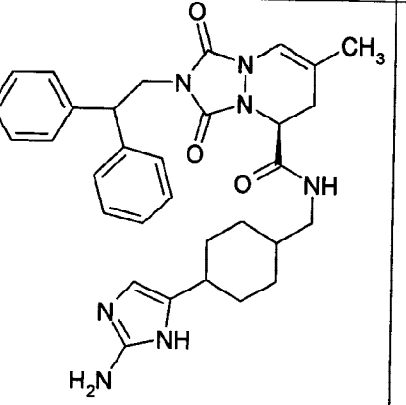
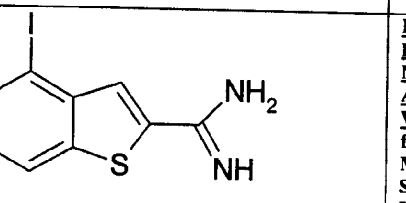
5 10 40	1ZRB		<p><u>Stauffer, K. J., Williams, P. D., Selnick, H. G., Nantermet, P. G., Newton, C. L., Homnick, C. F., Zrada, M. M., Lewis, S. D., Lucas, B. J., Krueger, J. A., Pietrak, B. L., Lyle, E. A., Singh, R., Miller-Stein, C., White, R. B., Wong, E., Wallace, A. A., Sitko, G. R., Cook, J. J., Holahan, M. A., Stranieri-Michener, M., Leon, Y. M.:</u> 9-Hydroxyazafluorenes and Their Use in Thrombin Inhibitors <i>J.Med.Chem.</i> 48 pp. 2282 (2005)</p>	
15 20 41	7KME		<p><u>Mochalkin, I., Tulinsky, A.:</u> Structures of thrombin retro-inhibited with SEL2711 and SEL2770 as they relate to factor Xa binding. <i>Acta Crystallogr D Biol Crystallogr</i> 55 pp. 785 (1999)</p>	
25 30 42	8KME		<p><u>Mochalkin, I., Tulinsky, A.:</u> Crystal Structures of Thrombin Retr- Inhibited with Sel2711 and Sel2770 as They Relate to Factor Xa Binding <i>To be Published</i></p>	
35 43	1A2C	Aeruginosin298A - пептид	<p><u>Steiner, J. L. R., Murakami, M., Tulinsky, A.:</u> Structure of thrombin inhibited by aeruginosin 298-A from a blue-green alga. <i>J Am Chem Soc</i> 120 pp. 597 (1998)</p>	
40 45 44	1A3B		<p><u>Zdanov, A., Wu, S., DiMaio, J., Konishi, Y., Li, Y., Wu, X., Edwards, B. F., Martin, P. D., Cygler, M.:</u> Crystal structure of the complex of human alpha-thrombin and nonhydrolyzable bifunctional inhibitors, hirutonin-2 and hirutonin-6. <i>Proteins</i> 17 pp. 252 (1993)</p>	Боролог 1 (Боролог 1)
50 45 45	1A3E		<p><u>Zdanov, A., Wu, S., DiMaio, J., Konishi, Y., Li, Y., Wu, X., Edwards, B. F., Martin, P. D., Cygler, M.:</u> Crystal structure of the complex of human alpha-thrombin and</p>	Боролог 2 (Боролог 2)

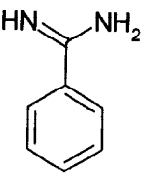
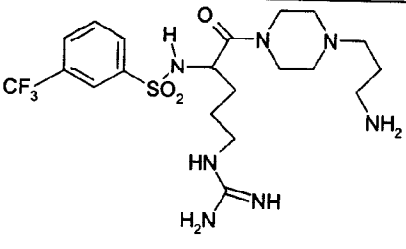
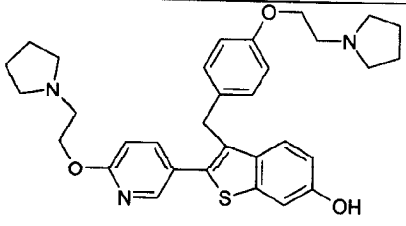
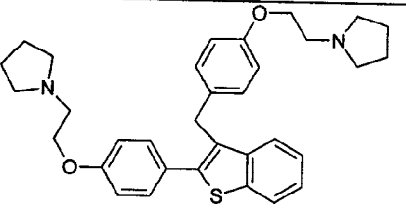
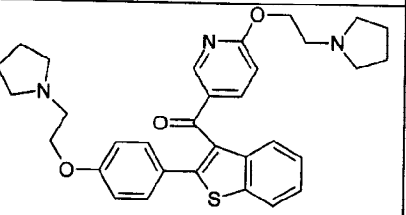
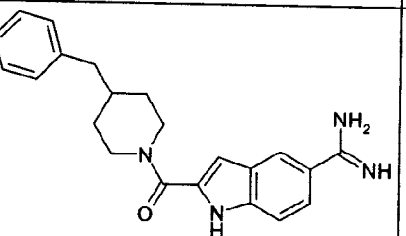
5			nonhydrolyzable bifunctional inhibitors, hirutonin-2 and hirutonin-6. <i>Proteins</i> 17 pp. 252 (1993)	
10	46	1A46		<u>St Charles, R., Matthews, J. H., Zhang, E. L., Tulinsky, A.</u> : Bound structures of novel P3-P1' beta-strand mimetic inhibitors of thrombin. <i>J Med Chem</i> 42 pp. 1376 (1999)
15	47	1A4W		<u>Matthews, J. H., Krishnan, R., Costanzo, M. J., Maryanoff, B. E., Tulinsky, A.</u> : Crystal structures of thrombin with thiazole-containing inhibitors: probes of the S1' binding site. <i>Biophys J</i> 71 pp. 2830 (1996)
20	48	1A5G		<u>St Charles, R., Matthews, J. H., Zhang, E. L., Tulinsky, A.</u> : Bound structures of novel P3-P1' beta-strand mimetic inhibitors of thrombin. <i>J Med Chem</i> 42 pp. 1376 (1999)
25	49	1A61		<u>St Charles, R., Matthews, J. H., Zhang, E. L., Tulinsky, A.</u> : Bound structures of novel P3-P1' beta-strand mimetic inhibitors of thrombin. <i>J Med Chem</i> 42 pp. 1376 (1999)
30	50	1ABI	D-Phe-Pro-Homoarginine - мостик из глицинов- гирудин	<u>Qiu, X., Padmanabhan, K. P., Carperos, V. E., Tulinsky, A., Kline, T., Maraganore, J. M., Fenton 2d. 2.</u> : Structure of the hirulog 3-thrombin complex and nature of the S' subsites of substrates and inhibitors. <i>Biochemistry</i> 31 pp. 11689 (1992)

5	51	1ABJ	D-Phe-Pro-arginine	<u>Oiu, X., Padmanabhan, K., Carperos, V. E., Tulinsky, A., Kline, T., Maraganore, J. M., Fenton 2d., 2.</u> : Structure of the hirulog 3-thrombin complex and nature of the S' subsites of substrates and inhibitors. <i>Biochemistry</i> 31 pp. 11689 (1992)	
10	52	1AE8		<u>De Simone, G., Balliano, G., Milla, P., Gallina, C., Giordano, C., Tarricone, C., Rizzi, M., Bolognesi, M., Ascenzi, P.</u> : Human alpha-thrombin inhibition by the highly selective compounds N-ethoxycarbonyl-D-Phe-Pro-alpha-azaLys p-nitrophenyl ester and N-carbobenzoxy-Pro-alpha-azaLys p-nitrophenyl ester: a kinetic, thermodynamic and X-ray crystallographic study. <i>J Mol Biol</i> 269 pp. 558 (1997)	
15	53	1AFE		<u>De Simone, G., Balliano, G., Milla, P., Gallina, C., Giordano, C., Tarricone, C., Rizzi, M., Bolognesi, M., Ascenzi, P.</u> : Human alpha-thrombin inhibition by the highly selective compounds N-ethoxycarbonyl-D-Phe-Pro-alpha-azaLys p-nitrophenyl ester and N-carbobenzoxy-Pro-alpha-azaLys p-nitrophenyl ester: a kinetic, thermodynamic and X-ray crystallographic study. <i>J Mol Biol</i> 269 pp. 558 (1997)	
20	54	1AHT		<u>Chen, Z., Li, Y., Mulichak, A. M., Lewis, S. D., Shafer, J. A.</u> : Crystal structure of human alpha-thrombin complexed with hirugen and p-amidinophenylpyruvate at 1.6 A resolution. <i>Arch Biochem Biophys</i> 322 pp. 198 (1995)	Ковалентный ингибитор
25	55	1AI8		<u>Bode, W., Turk, D., Karshikov, A.</u> : The refined 1.9-A X-ray crystal structure of D-Phe-Pro-Arg chloromethylketone-inhibited human alpha-thrombin: structure analysis, overall structure, electrostatic properties, detailed active-site geometry, and structure-function relationships. <i>Protein Sci</i> 1 pp. 426 (1992)	
30	56	1AIX		<u>Bode, W., Turk, D., Karshikov, A.</u> : The refined 1.9-A X-ray crystal structure of D-Phe-Pro-Arg chloromethylketone-inhibited human alpha-thrombin: structure analysis, overall structure, electrostatic properties, detailed active-site geometry, and structure-function relationships. <i>Protein Sci</i> 1 pp. 426 (1992)	
35					
40					
45					
50					

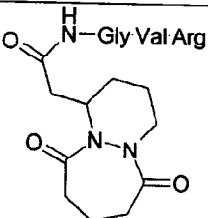
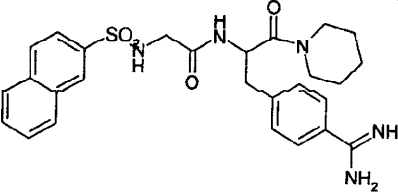
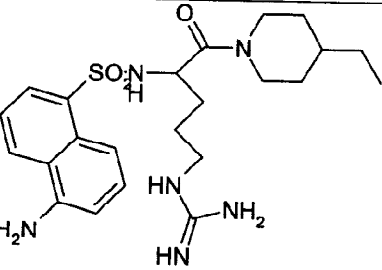
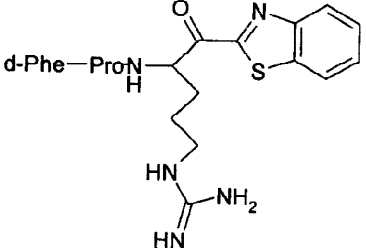
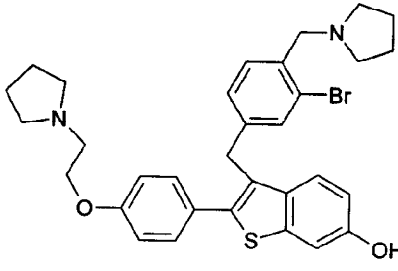
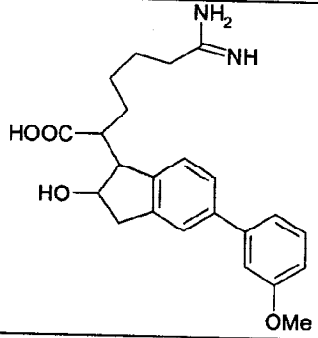
5	57	1B5G		<b>Charles, R. St., Matthews, J. H., Zhang, E., Tulinsky, A.:</b> Bound structures of novel P3-P1' beta-strand mimetic inhibitors of thrombin. <i>J Med Chem</i> 42 pp. 1376 (1999)	
10	58	1BB0		<b>Krishnan, R., Zhang, E., Hakansson, K., Arni, R. K., Tulinsky, A., Lim-Wilby, M. S., Lev, O. E., Semple, J. E., Brunck, T. K.:</b> Highly selective mechanism-based thrombin inhibitors: structures of thrombin and trypsin inhibited with rigid peptidyl aldehydes. <i>Biochemistry</i> 37 pp. 12094 (1998)	
15	59	1BCU		<b>Conti, E., Rivetti, C., Wonacott, A., Brick, P.:</b> X-ray and spectrophotometric studies of the binding of proflavin to the S1 specificity pocket of human alpha-thrombin. <i>FEBS Lett</i> 425 pp. 229 (1998)	Профлавин Микромолярная аффинность K <sub>d</sub> ~ 10 мкМ
20	60	1BMM		<b>Malley, M. F., Taberner, L., Chang, C. Y., Ohringer, S. L., Roberts, D. G., Das, J., Sack, J. S.:</b> Crystallographic determination of the structures of human alpha-thrombin complexed with BMS-186282 and BMS-189090. <i>Protein Sci</i> 5 pp. 221 (1996)	
25	61	1BMN		<b>Malley, M. F., Taberner, L., Chang, C. Y., Ohringer, S. L., Roberts, D. G., Das, J., Sack, J. S.:</b> Crystallographic determination of the structures of human alpha-thrombin complexed with BMS-186282 and BMS-189090. <i>Protein Sci</i> 5 pp. 221 (1996)	
30	62	1CIU		<b>Katz, B. A., Clark, J. M., Finan-Moore, J. S., Jenkins, T. E., Johnson, C. R., Ross, M. J., Luong, C., Moore, W. R., Stroud, R. M.:</b> Design of Potent Selective Zinc-Mediated Serine Protease Inhibitors <i>Nature</i> 391 pp. 608 (1998)	Есть цинк в активном сайте, координирован- ный лигандом. Он коингибитор
35					
40					
45					

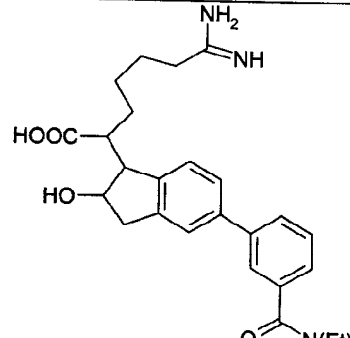
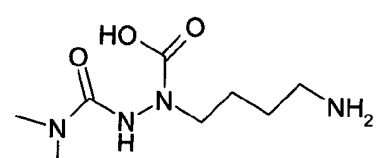
50

5	63	1C1V		<u>Katz, B. A., Clark, J. M., Finer-Moore, J. S., Jenkins, T. E., Johnson, C. R., Ross, M. J., Luong, C., Moore, W. R., Stroud, R. M.:</u> Design of Potent Selective Zinc- Mediated Serine Protease Inhibitors <i>Nature</i> 391 pp. 608 (1998)	Есть цинк в активном сайте, координирован- ный лигандом. Он коингибитор
10	64	1C1W		<u>Katz, B. A., Clark, J. M., Finer-Moore, J. S., Jenkins, T. E., Johnson, C. R., Ross, M. J., Luong, C., Moore, W. R., Stroud, R. M.:</u> Design of Potent Selective Zinc- Mediated Serine Protease Inhibitors <i>Nature</i> 391 pp. 608 (1998)	Есть цинк в активном сайте, координирован- ный лигандом. Он коингибитор
15	65	1C4U		<u>Krishnan, R., Mochalkin, I., Arni, R. K., Tulinsky, A.:</u> Structure of Thrombin Complexed with Selective Non-Electrophilic Inhibitors Having Cyclohexyl Moieties at P1 <i>Acta Crystallogr., Sect.D</i> 56 pp. 294 (2000)	
20	66	1C4V		<u>Krishnan, R., Mochalkin, I., Arni, R. K., Tulinsky, A.:</u> Structure of Thrombin Complexed with Selective Non-Electrophilic Inhibitors Having Cyclohexyl Moieties at P1 <i>Acta Crystallogr., Sect.D</i> 56 pp. 294 (2000)	
25	67	1C4Y		<u>Krishnan, R., Mochalkin, I., Arni, R. K., Tulinsky, A.:</u> Structure of Thrombin Complexed with Selective Non-Electrophilic Inhibitors Having Cyclohexyl Moieties at P1 <i>Acta Crystallogr., Sect.D</i> 56 pp. 294 (2000)	
30	68	1C5N		<u>Katz, B. A., Mackman, R., Luong, C., Radika, K., Martelli, A., Sprengeler, P. A., Wang, J., Chan, H., Wong, L.:</u> Structural Basis for Selectivity of a Small Molecule, S1-Binding, Submicromolar Inhibitor of Urokinase-Type Plasminogen Activator <i>Chem.Biol.</i> 7 pp. 299 (2000)	человеческий
35					
40					
45					
50					

5	69	1C5O		<u>Katz, B. A., Mackman, R., Luong, C., Radika, K., Martelli, A., Sprengeler, P. A., Wang, J., Chan, H., Wong, L.</u> : Structural Basis for Selectivity of a Small Molecule, S1-Binding, Submicromolar Inhibitor of Urokinase-Type Plasminogen Activator <i>Chem.Biol.</i> 7 pp. 299 (2000)	человеческий
10	70	1W7G		Salvagnini, C., Michaux, C., Remiche, J., Wouters, J., Charlier, P., Marchand-Brynaert, J. Thrombin Inhibitors Designed for Grafting on Biomaterials. <i>Org.Biomol.Chem.</i> v3 pp.4209, 2005	
15	71	1D3P		Chirgadze, N.Y., Sall, D.J., Briggs, S.L., Clawson, D.K., Zhang, M., Smith, G.F., Schevitz, R.W. The crystal structures of human alpha-thrombin complexed with active site-directed diamino benzo[b]thiophene derivatives: a binding mode for a structurally novel class of inhibitors. <i>Protein Sci.</i> v9 pp.29-36, 2000	
20	72	1D3Q		Chirgadze, N.Y., Sall, D.J., Briggs, S.L., Clawson, D.K., Zhang, M., Smith, G.F., Schevitz, R.W. The crystal structures of human alpha-thrombin complexed with active site-directed diamino benzo[b]thiophene derivatives: a binding mode for a structurally novel class of inhibitors. <i>Protein Sci.</i> v9 pp.29-36, 2000	
25	73	1D3T		Chirgadze, N.Y., Sall, D.J., Briggs, S.L., Clawson, D.K., Zhang, M., Smith, G.F., Schevitz, R.W. The crystal structures of human alpha-thrombin complexed with active site-directed diamino benzo[b]thiophene derivatives: a binding mode for a structurally novel class of inhibitors. <i>Protein Sci.</i> v9 pp.29-36, 2000	
30	74	1D4P		Chirgadze, N.Y., Sall, D.J., Klimkowski, V.J., Clawson, D.K., Briggs, S.L., Hermann, R., Smith, G.F., Gifford-Moore, D.S., Wery, J.P. The crystal structure of human alpha-thrombin complexed with LY178550, a nonpeptidyl, active site-directed inhibitor. <i>Protein Sci.</i> v6 pp.1412-1417, 1997	
35					
40					
45					



5	75	3HAT		Mathews, I.I., Tulinsky, A. Active Site Mimetic Inhibition of Thrombin To be Published	
10	76	1DWD		Banner, D.W., Hadvary, P. Crystallographic analysis at 3.0-A resolution of the binding to human thrombin of four active site-directed inhibitors. <i>J. Biol. Chem.</i> v266 pp.20085-20093, 1991	
15	77	1FPC		Mathews, I.I., Tulinsky, A. ACTIVE-SITE MIMETIC INHIBITION OF THROMBIN. <i>Acta Crystallogr D Biol Crystallogr</i> v51 pp.550-559, 1995	
20	78	1TBZ		Matthews, J.H., Krishnan, R., Costanzo, M.J., Maryanoff, B.E., Tulinsky, A. Crystal structures of thrombin with thiazole-containing inhibitors: probes of the S1' binding site. <i>Biophys. J.</i> v71 pp.2830-2839, 1996	
25	79	1D3D		Chirgadze, N.Y., Sall, D.J., Briggs, S.L., Clawson, D.K., Zhang, M., Smith, G.F., Schevitz, R.W. The crystal structures of human alpha-thrombin complexed with active site-directed diamino benzo[b]thiophene derivatives: a binding mode for a structurally novel class of inhibitors <i>Protein Sci.</i> v9 pp.29-36, 2000	
30	80	1QJ6		Jhoti, H., Cleasby, A., Reid, S., Thomas, P.J., Weir, M., Wonacott, A. Crystal structures of thrombin complexed to a novel series of synthetic inhibitors containing a 5,5-trans-lactone template. <i>Biochemistry</i> v38 pp.7969-7977, 1999	Ковалентный ингибитор?

5 81	1QJ7		<b>Jhoti, H., Cleasby, A., Reid, S., Thomas, P.J., Weir, M., Wonacott, A. Crystal structures of thrombin complexed to a novel series of synthetic inhibitors containing a 5,5-trans-lactone template. <i>Biochemistry</i> v38 pp.7969-7977, 1999</b>	Ковалентный ингибитор?
10 15 82	1UMA		<b>Nardini, M., Pesce, A., Rizzi, M., Casale, E., Ferraccioli, R., Balliano, G., Milla, P., Ascenzi, P., Bolognesi, M. Human alpha-thrombin inhibition by the active site titrant N alpha-(N,N-dimethylcarbamoyl)-alpha-azalysine p-nitrophenyl ester: a comparative kinetic and X-ray crystallographic study. <i>J.Mol.Biol.</i> v258 pp.851-859, 1996</b>	N,N-DIMETHYL CARBAMOYL-ALPHA-AZALYSINE

5

10

15

20

25

30

35

40

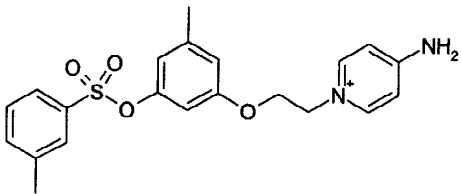
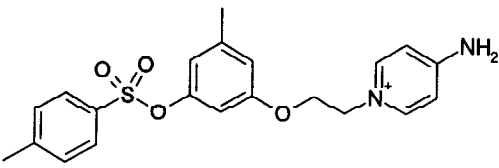
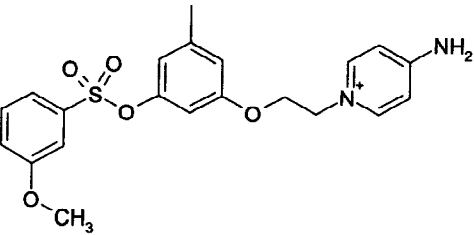
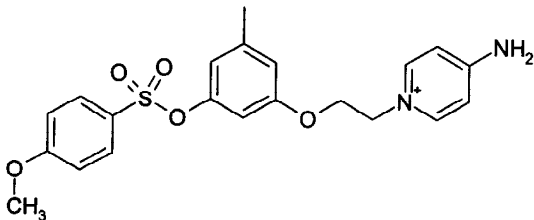
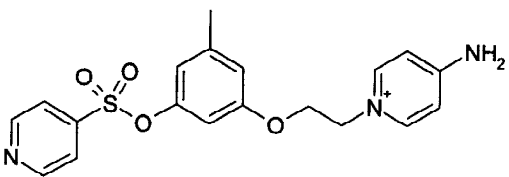
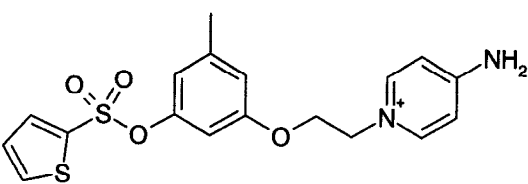
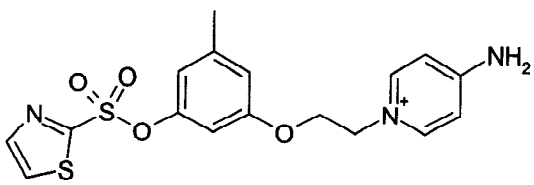
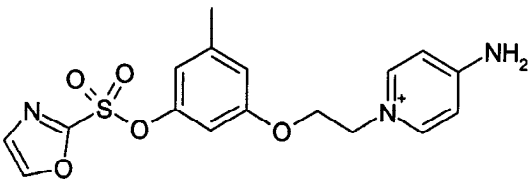
45

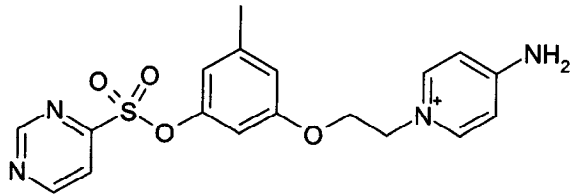
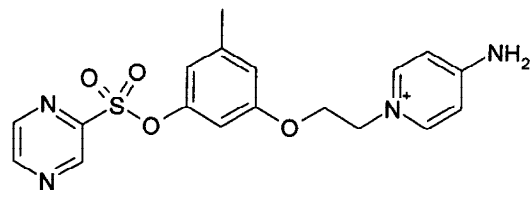
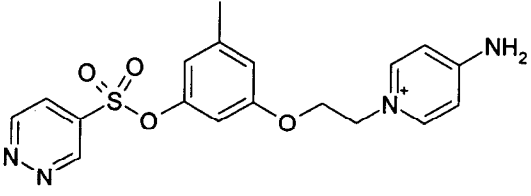
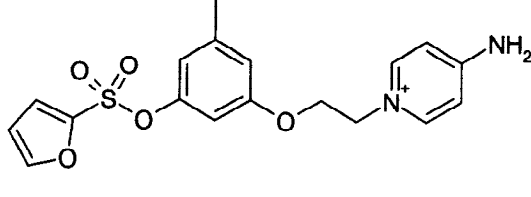
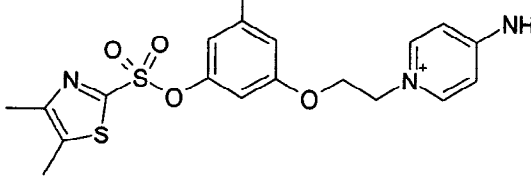
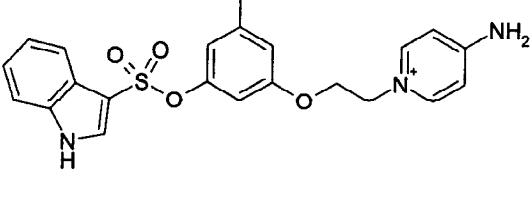
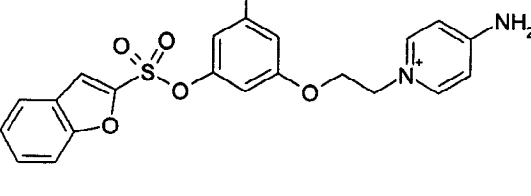
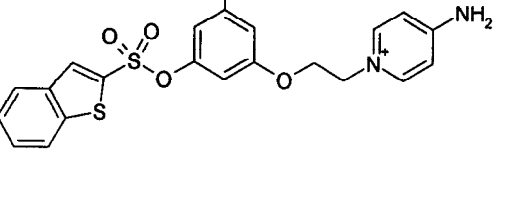
50

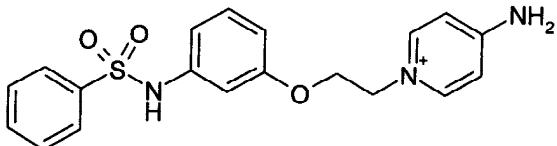
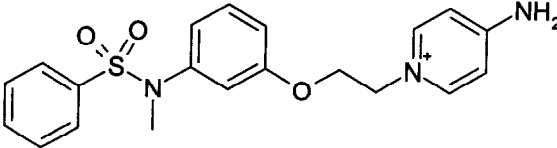
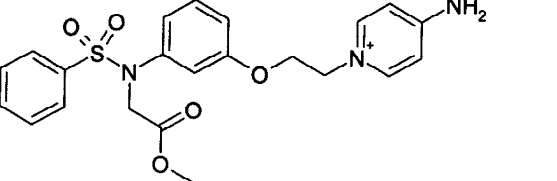
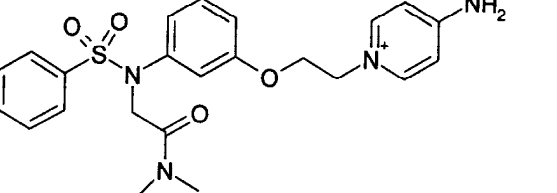
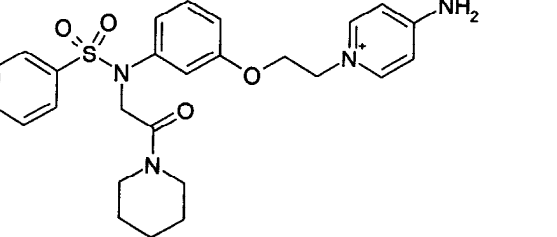
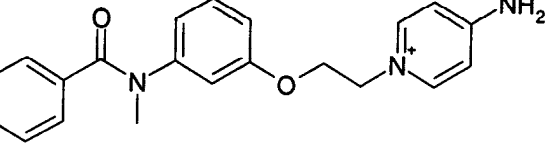
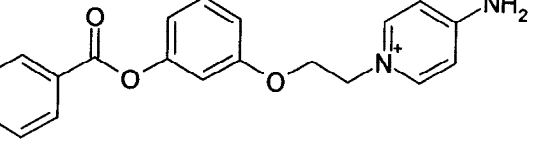
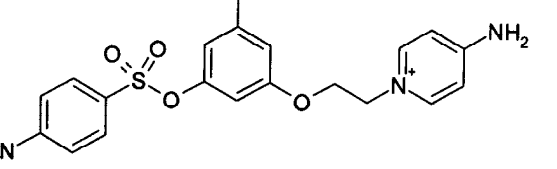
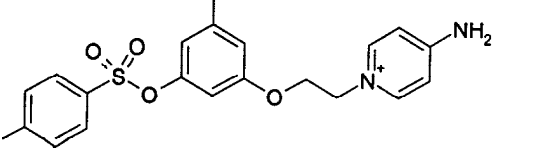
Таблица 2.

Ингибиторы тромбина, полученные по методам, описанным в примерах 1-4, параметры масс-спектра и рассчитанные значения скоринг-функции.

5	N	Химическая формула	Масса иона (M+1) <sup>+</sup>	Значение скоринг- функции ккал/моль
10	1		399	-6.51
15	2		413	-6.60
20	3		413	-6.42
25	4		383	-5.51
35	5		369	-5.86
40	6		463	-6.60
45	7		399	-6.81
50				

8			
5		399	-6.92
9		399	-6.75
10		415	-6.93
15		415	-7.02
20		386	-6.73
25		391	-6.92
30		392	-6.45
35		376	-6.21
40			
45			
50			

16		387	-6.45
5			
17		387	-6.51
10			
18		387	-6.43
15			
19		375	-6.67
20			
20		420	-6.93
25			
21		424	-7.23
30			
22		425	-7.12
35			
23		441	-7.43
40			
45			
50			

24		370	-7.01
5			
25		384	-7.04
10			
26		442	-7.12
15			
27		455	-7.15
20			
28		495	-7.21
25			
29		348	-6.23
35			
30		335	-6.13
40			
31		430	-6.56
45			
32		410	-6.71
50			

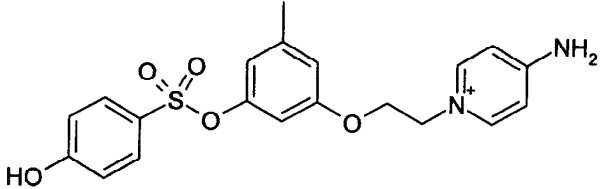
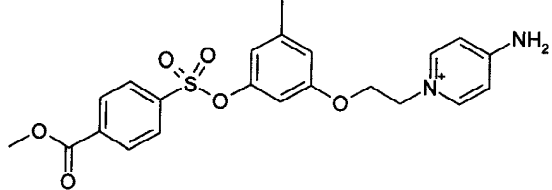
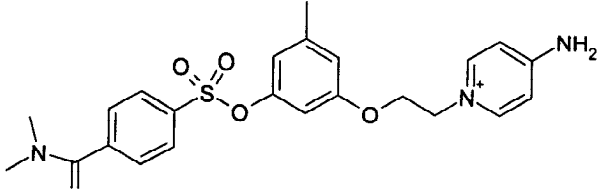
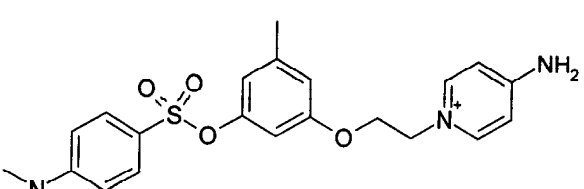
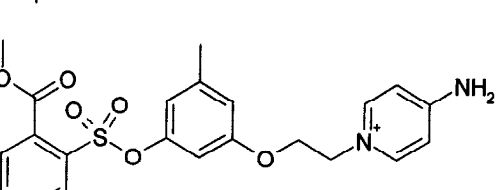
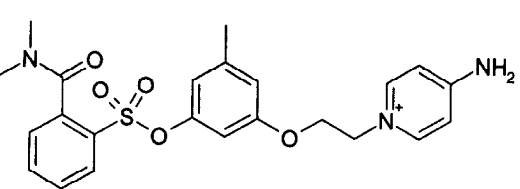
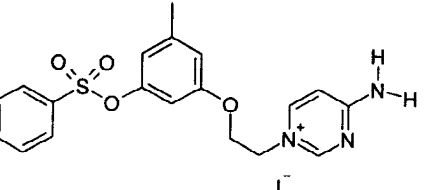
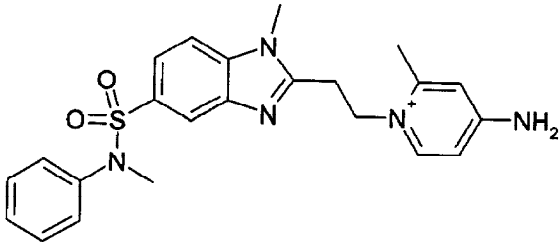
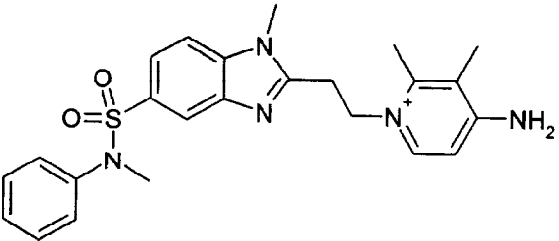
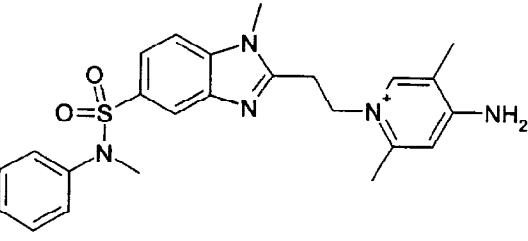
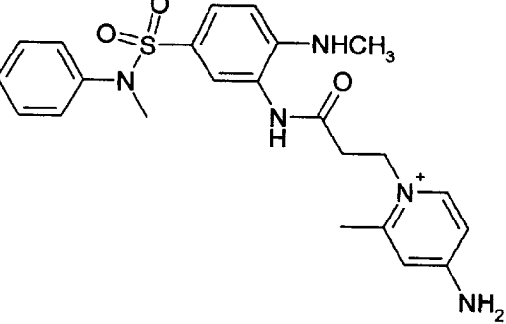
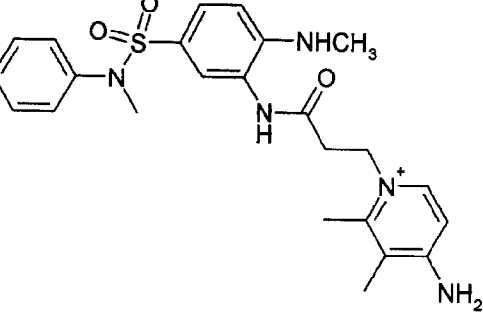
33		401	-6.33
34		443	-6.84
35		456	-6.82
36		428	-6.51
37		443	-6.92
38		456	-7.12
39		386	-5.45

Таблица 3.

Ингибиторы тромбина, полученные по методу, описанному в примере 5, параметры масс-спектра и рассчитанные значения скоринг-функции.

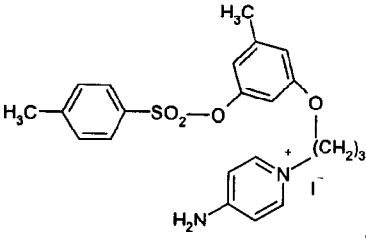
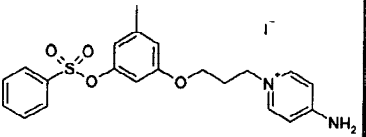
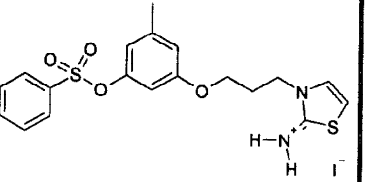
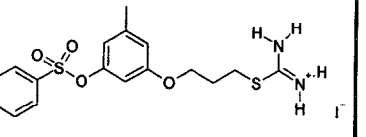
5	N	Химическая формула	Масса иона (M+1) <sup>+</sup>	Значение скоринг- функции ккал/моль
10	1		436	-6.63
20	2		450	-6.41
25	3		450	-6.45
35	4		454	-6.83
45	5		468	-6.54
50				



6		468	-6.42	
5				
10	7		386	-5.93
15				
20	8		400	-5.63
25				
30	9		404	-6.21
35				
40				
45				
50				

Таблица 4.

Примеры изменения скорости гидролиза тромбиновых субстратов в присутствии различных концентраций ряда вновь синтезированных соединений.

5 10	NN (Мол. вес)	Структурная формула соединения	Оценка $\Delta G$ связывания, ккал/моль	Концентрация соединения	Ингибирование скорости гидролиза, %
15	НС-013s-ИОС (МВ=540)		-6.83	0.01 мМ 0.02 мМ 0.05 мМ 0.1 мМ 0.25 мМ	11 20 45 65 84
20	НС-016s-ИОС (МВ=526)		-6.42	0.25 мМ 0.5 мМ	84 100
25	НС-017s-ИОС (МВ=532)		-5.94	100 нМ 200 нМ 0.5 мкМ 2 мкМ 5 мкМ 20 мкМ 50 мкМ 100 мкМ 200 мкМ	5 10 23 57 73 95 95 96 97
30	НС-018s-ИОС (МВ=508)		-5.89	20 нМ 40 нМ 100 нМ 200 нМ 0.5 мкМ 1 мкМ 2 мкМ 5 мкМ	16 33 49 64 93 98 100 100

5

10

15

20

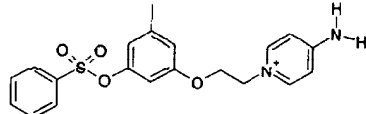
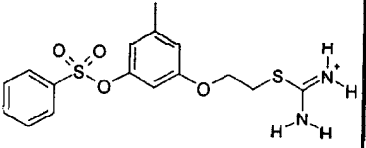
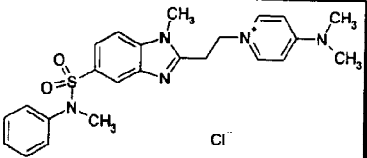
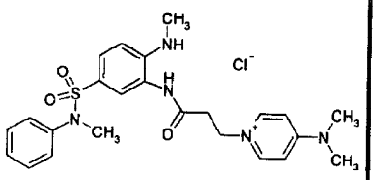
25

30

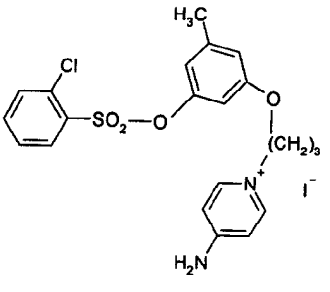
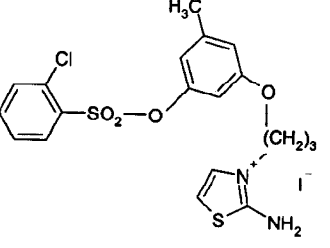
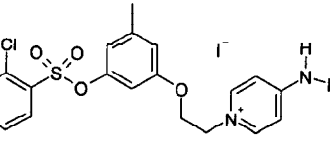
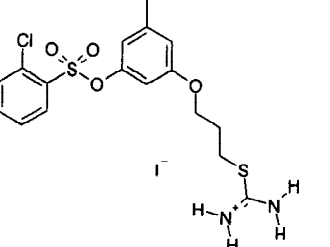
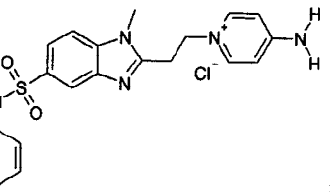
35

40

45

			10 мкМ 20 мкМ 50 мкМ 100 мкМ	100 100 100 100
HC-019s-IOC (M <sub>B</sub> =512)	 + I <sup>-</sup>	-6.56	2.5 нМ 5 нМ 12.5 нМ 25 нМ 50 нМ 125 нМ	55 88 90 88 95 94
HC-020s-IOC (M <sub>B</sub> =494)	 + I <sup>-</sup>	-6.12	5 нМ 12.5 нМ 25 нМ 50 нМ 125 нМ 250 нМ 500 нМ 1.25 мкМ 2.5 мкМ 5 мкМ	54 46 59 68 81 94 96 98 99 99
HC-021s-IOC (M <sub>B</sub> =504.05)	 Cl <sup>-</sup>	-5.18	25 мкМ 100 мкМ 250 мкМ 500 мкМ	5 8 4 4
HC-022s-IOC (M <sub>B</sub> =486.03)	 Cl <sup>-</sup>	-5.01	0.25 мкМ 0.5 мкМ 5 мкМ 25 мкМ 50 мкМ 130 мкМ 250 мкМ	21 18 27 34 40 36 51

50

5	HC-023s-IOC (MВ=560.5)		-6.61	0.7 мкМ 1.4 мкМ 3.4 мкМ 34 мкМ 68 мкМ 250 мкМ	13 34 50 86 99 100
10	HC-024s-IOC (MВ=534.5)		-5.54	0.3 мкМ 0.68 мкМ 1.35 мкМ 3.4 мкМ 10 мкМ	46 63 68 82 100
20	HC-025s-IOC (MВ=546.5)		-6.81	1.25 нМ 2.5 нМ 6.3 нМ 12.5 нМ 50 нМ 125 нМ	69 52 70 81 96 98
25	HC-026s-IOC (MВ=542.5)		-5.63	5 нМ 12.5 нМ 25 нМ 125 нМ	47 40 64 68
30	HC-027s-IOC (MВ=475)		-6.54	0.25 мкМ 0.5 мкМ 2.5 мкМ 5 мкМ 10 мкМ 25 мкМ 50 мкМ 100 мкМ 250 мкМ 500 мкМ	11 6 24 24 59 72 88 100 100 100

50

5	10	15	20	25	30	35	40	45	50													
HC_028s_IOC (MB=492)		-5.80	0.1 мкМ	15	0.25 мкМ	34	0.5 мкМ	46	1 мкМ	44	2.5 мкМ	63	5 мкМ	78	25 мкМ	95	50 мкМ	95	250 мкМ	100	500 мкМ	100
HC_029s_IOC (MB=544.5)		-5.85	50 нМ	8	100 нМ	14	250 нМ	16	0.5 мкМ	25	1 мкМ	54	2.5 мкМ	75	5 мкМ	81						
HC_030s_IOC (MB=518.5)		-6.07	20 нМ	5	50 нМ	18	2 мкМ	72	5 мкМ	88	10 мкМ	93										
HC_031s_IOC (MB=526.5)		-5.81	5 нМ	35	10 нМ	43	20 нМ	49	50 нМ	59	100 нМ	73	2 мкМ	99	5 мкМ	100						
HC_032s_IOC (MB=555.5)		-5.42	50 нМ	10	100 нМ	17	5 мкМ	48	10 мкМ	71												

5	HC_033s_IOC (МВ=541.5)		-5.61	4 нМ 10 нМ 20 нМ 40 нМ 100 нМ 200 нМ 4 мкМ	18 23 24 62 59 74 100
10					
15	HC_036s_IOC (МВ=526)		-6.6	2.5 нМ 5 нМ 25 нМ 50 нМ 2.5 мкМ	29 28 79 88 96
20					
25	HC_037s_IOC (МВ=530.35)		-6.49	2.5 нМ 5 нМ 25 нМ 50 нМ 2.5 мкМ	43 59 82 86 89
30					
35	HC_038s_IOC (МВ=526.39)		-6.75	5 нМ 25 нМ 50 нМ 2.5 мкМ	47 56 85 96
40					
45	HC_039s_IOC (МВ=546.81)		-7.03	2.5 нМ 5 нМ 25 нМ 50 нМ 2.5 мкМ	24 44 73 88 98
50					
	HC_040s_IOC (МВ=572.46)		-5.48	2.5 нМ 5 нМ 25 нМ 50 нМ 2.5 мкМ	4 19 66 75 100

5	HC_041s_IOC (M <sub>B</sub> =405.5)		-7.01	0.1 мкМ 0.25 мкМ 0.5 мкМ 1.75 мкМ 3.75 мкМ 25 мкМ 250 мкМ	56 62 75 88 90 95 99
10	HC_045s_IOC (M <sub>B</sub> =520.5)		-5.88	0.125 мкМ 0.25 мкМ 0.5 мкМ 1.25 мкМ 2.5 мкМ	10 18 42 66 87
15	HC_046s_IOC (M <sub>B</sub> =528.5)		-6.02	1.25 нМ 2.5 нМ 5 нМ 12.5 нМ 25 нМ	18 39 59 77 92
20	HC_047s_IOC (M <sub>B</sub> =513.35)		-5.45	10 нМ 25 нМ 50 нМ 0.25 мкМ 0.5 мкМ 1.85 мкМ 2.5 мкМ 5 мкМ	8 10 14 36 49 84 90
25					
30					
35					
40					

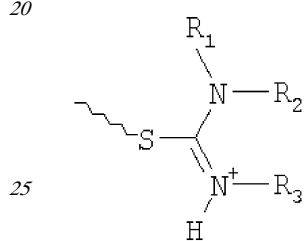
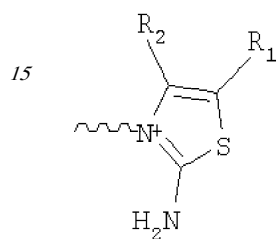
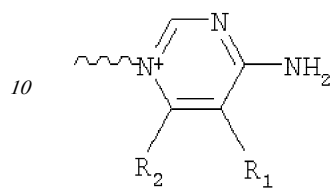
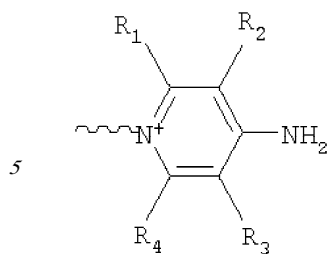
## Формула изобретения

1. Соединение общей структурной формулы (I), его фармацевтически приемлемые соли или сольваты:

45 А-В-С (I)

структуры: где С выбирают из группы, содержащей

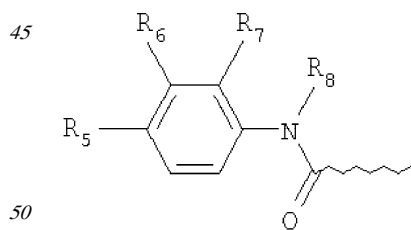
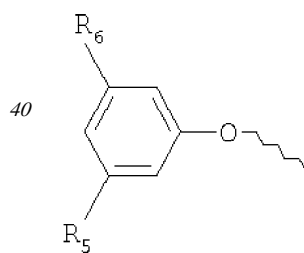
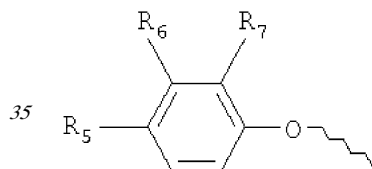
50



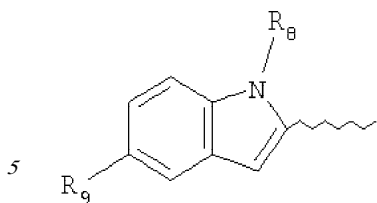
где  $R_1, R_2, R_3, R_4$  независимо друг от друга представляют собой водород или  $C_{1-6}$  алкил;

30  $W$  представляет собой  $-(CH_2)_n-$ , где  $n$  принимает целые значения от 1 до 5;

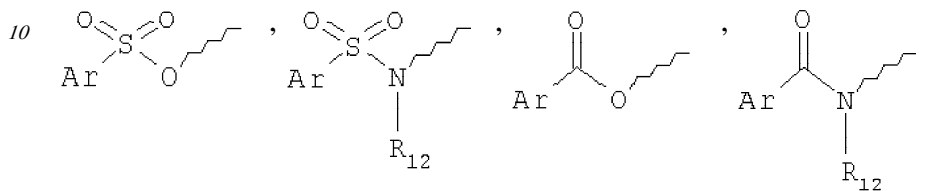
$A$  выбирают из группы, содержащей структуры:



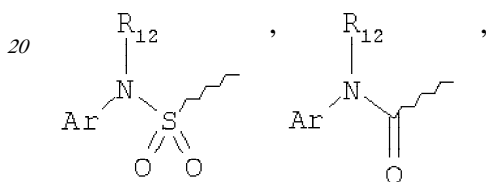




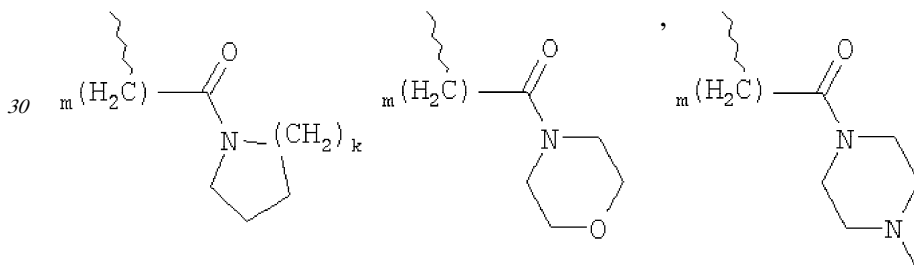
где  $R_5$  выбирают из группы, содержащей водород,  $C_{1-6}$ -алкокси,  $CH_2NR_{10}R_{11}$ ,  $CH(CH_3)NR_{10}R_{11}$ ,



15  $R_6$  и  $R_7$  независимо представляют собой водород,  $C_{1-6}$ -алкил;  $C_{1-6}$ -алкокси; галоген;  $R_8$  представляет собой водород или  $C_{1-6}$ -алкил;  $R_9$  выбирают из следующей группы, состоящей из:



25  $R_{10}$ ,  $R_{12}$  независимо друг от друга выбирают из группы, состоящей из водорода,  $C_{1-6}$ -алкила;  $(CH_2)_m COOR_{13}$ ,  $(CH_2)_m CON(R_{13})_2$ ,

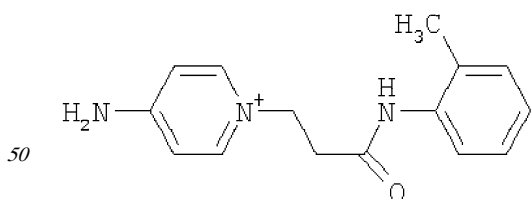


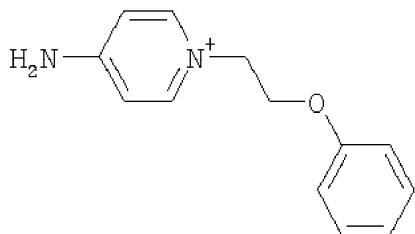
35 где  $m$  принимает целые значения от 1 до 4,  $R_{13}$  представляет собой водород или  $C_{1-6}$ -алкил,  $R_{11}$  представляет собой  $C_{1-6}$ -алкил; Ar;

40 Ar представляет собой фенил, пиридил, оксазолил, тиазолил, тиенил, фуранил, пиримидинил, пиридазинил, пирозинил, индолил, бензофуранил, бензотиофенил, замещенные от одного до пяти заместителей, выбранных из группы:

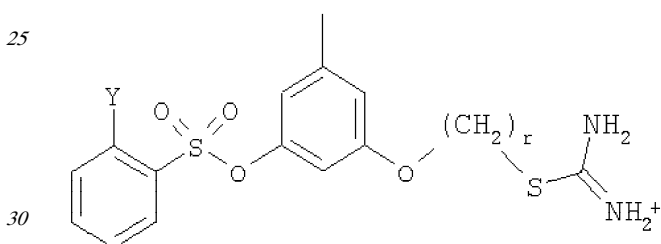
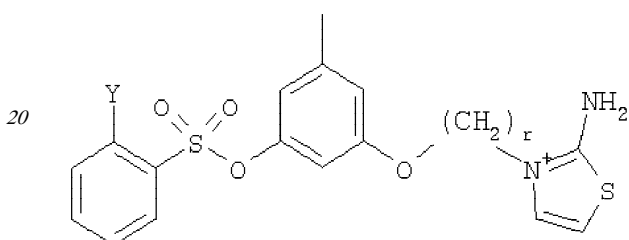
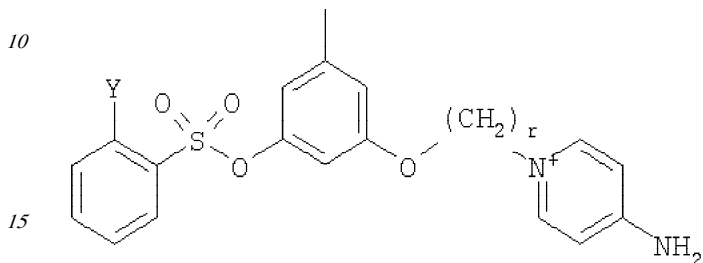
водород,  $C_{1-6}$ -алкил,  $C_{1-6}$ -алкокси, галоген,  $N(R_{13})_2$ , OH,  $NO_2$ , CN,  $COOR_{13}$ ,  $CON(R_{13})_2$ ,  $SO_2R_{13}$ ;

45 за исключением:





2. Соединение по п.1, его фармацевтически приемлемые соли или сольваты, а именно



где Y выбирают из группы, состоящей из водорода, галогена,  $\text{COOR}_{13}$ ,  $\text{CON}(\text{R}_{13})_2$ ,  $\text{SO}_2\text{R}_{13}$ ,

г принимает целые значения от 2 до 5.

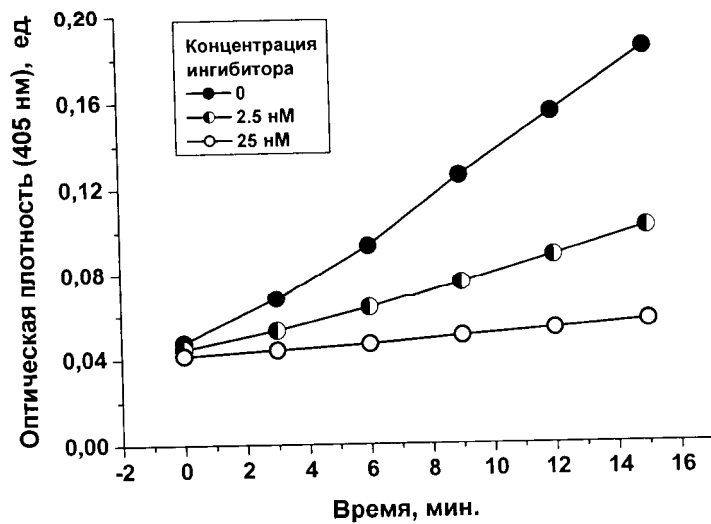
3. Соединение по п.1, его фармацевтически приемлемые соли или сольваты, характеризующиеся тем, что они обладают способностью ингибировать тромбин.

4. Применение соединения по п.1, его фармацевтически приемлемых солей или сольватов в качестве ингибиторов тромбина.

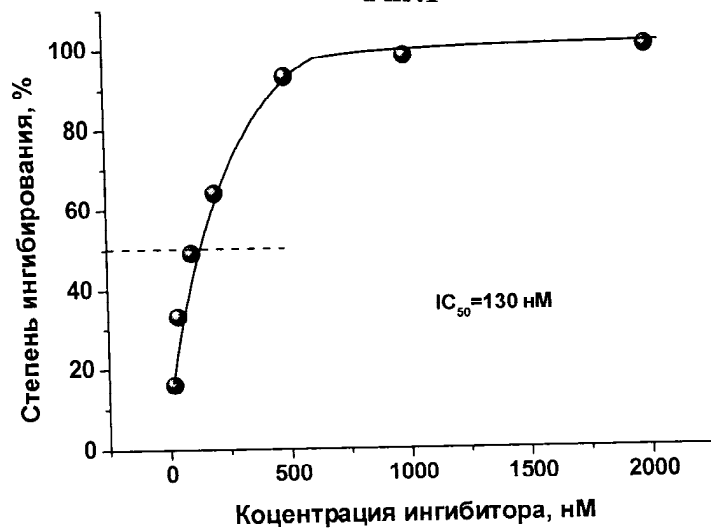
40 5. Фармацевтическая композиция для лечения и профилактики тромбинзависящих тромбоэмболических событий, содержащая терапевтически эффективное количество соединения по п.1, его фармацевтически приемлемых солей или сольватов и фармацевтически приемлемый носитель.

45

50



Фиг.1



Фиг.2