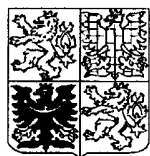


PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

287 885

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **1993 - 586**

(22) Přihlášeno: **05.04.1993**

(30) Právo přednosti:
24.04.1992 DE 1992/4213634

(40) Zveřejněno: **16.02.1994**
(Věstník č. 2/1994)

(47) Uděleno: **04.01.2001**

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: **14.03.2001**
(Věstník č. 3/2001)

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 K 5/08
C 07 K 5/10
C 07 D 233/80
C 07 D 233/72
A 61 K 38/04
A 61 K 31/4166
A 61 P 35/00
A 61 P 7/02

(73) Majitel patentu:

CASSELLA AKTIENGESELLSCHAFT,
Frankfurt am Main, DE;

(72) Původce vynálezu:

Zoller Gerhard dr., Schöneck, DE;
König Wolfgang dr., Hofheim, DE;
Knolle Jochen dr., Kriftel, DE;
Just Melitta dr., Langen, DE;
Jablonka Bernd dr., Bad Soden, DE;

(74) Zástupce:

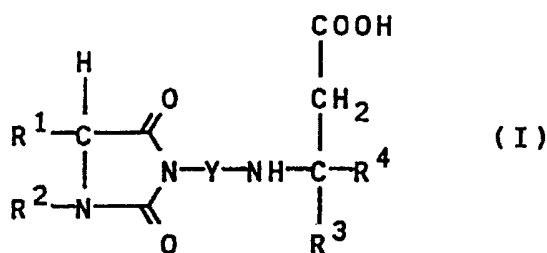
Všetečka Miloš JUDr. advokát, Hálkova 2, Praha 2,
12000;

(54) Název vynálezu:

**Deriváty 2,4-dioximidazolidinu, způsob jejich
výroby, jejich použití a farmaceutický
prostředek, tyto látky obsahující**

(57) Anotace:

Řešení se týká derivátů 2,4-dioximidazolidinu obecného
vzorce I, ve kterém mají substituenty specifický význam,
způsobu jejich výroby a jejich použití jako inhibitorů agregace
trombocytů, metastázování karcinomových buněk, jakož i
vazby osteoclastů na povrch kostí, a farmaceutického
prostředku, tyto látky obsahujícího.



CZ 287885 B6

Deriváty 2,4-dioxoimidazolidinu, způsob jejich výroby, jejich použití a farmaceutický prostředek, tyto látky obsahující

5 Oblast techniky

Vynález se týká derivátů 2,4-dioxoimidazolidinu, způsobu jejich výroby a jejich použití jako látek, protlačujících agregaci krevních destiček.

10

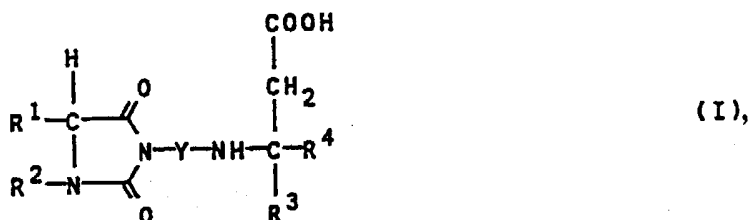
Dosavadní stav techniky

V EP-A 449 079, jakož i v DE-OS 41 26 277.8 jsou popsány deriváty hydantoinu s účinkem potlačování agregace trombocytů. Další výzkumné práce ukázaly, že také sloučeniny podle předloženého vynálezu jsou silnými inhibitory agregace krevních destiček.

15

Podstata vynálezu

20 Předmětem předloženého vynálezu jsou sloučeniny obecného vzorce I



ve kterém

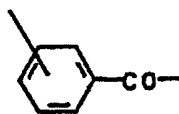
25

Y značí skupinu $-(CH_2)_m-CO-$, přičemž

m značí číslo 1 nebo 2,

30

nebo značí skupinu



35

R^1 značí skupinu $-CH_2-C_6H_4-NH-C(=NH)-NH_2$, skupinu $-CH_2-C_6H_4-C(=NH)-NH_2$, nebo skupinu $-CH_2-C_6H_4-CH_2-NH_2$,

R^2 značí vodíkový atom nebo methylovou skupinu,

R^3 značí vodíkový atom, a

40

R^4 značí skupinu $-CO-NH-R^5$, přičemž zbytek $-NH-R^5$ značí omega-aminoalkylamid esteru zbytku α -aminokyseliny ze skupiny, zahrnující Aad, Abu, Aca, Ach, Acp, Aib, Ala, delta-Ala, Alg, All, Ama, Apm, Apr, Arg, Asn, Asp, Asu, Aze, Azi, Bph, Can, Cit, Cys, (Cys)₂, Cyta, Daad, Dab, Dadd, Dap, Dapm, Dasu, Djen, Dpa, Dtc, Fel, Gln, Glu, Gly, hAla, hArg, hCys, hGln, hGlu, His, hIle, hLeu, hLys, hMet, hPhe, hPro, hSer, hThr, hTrp, hTyr, Hyl, Hyp, 3Hyp, Ile, Iva, Lant, Lcn, Leu, Lys, delta-Lys, Met, Min, nArg, Mle, Nva, Oly, Orn,

45

Pan, Pec, Pen, Phe, Phg, Pic, Pro, delta-Pro, Pse, Pya, Pyr, Pza, Sar, Sec, Sem, Ser, Thi, Thr, Thy, Thx, Tia, Tle, Tly, Trp, Trta, Tyr, Val, Tbg, Npg, Chg, Cha, Tia, kyselinu 2,2-difenylaminooctovou, kyselinu 2-(p-tolyl)-2-fenylaminooctovou a kyselinu 2-(p-chlor-fenyl)aminooctovou, přičemž alkyl obsahuje 2 až 8 uhlíkových atomů,

a jejich fyziologicky přijatelné soli.

Přírodní a nepřírodní aminokyseliny, pokud jsou opticky aktivní, mohou se vyskytovat v D-formě nebo L-formě.

Funkční skupiny aminokyselin se mohou vyskytovat v chráněné formě. Vhodné ochranné skupiny, jako jsou například ochranné skupiny urethanových skupin, karboxylových skupin a postranních řetězců, jsou popsány například v publikaci Hubbuch, Kontakte (Merck) 1979, Nr. 3, str. 14 až 23, a Büllsbach, Kontakte (Merck) 1980, Nr. 1, str. 23 až 35. Obzvláště je možno jmenovat:

Aloc, Pyoc, Fmoc, Tcboc, Z, Boc, Ddz, Bpoc, Adoc, Msc, Z(NO₂), Z(Hal_n), Bobz, Iboc, Adpoc, Mboc, Acn, terc.-butyl, OBzl, ONbz, OMBzl, Bzl, Mob, Pic a Trt.

Fyziologicky přijatelné soli sloučenin podle předloženého vynálezu obecného vzorce I jsou obzvláště farmaceuticky použitelné nebo netoxické soli.

Takovéto soli se například tvoří ze sloučenin obecného vzorce I, které obsahují kyselé skupiny, jako je například karboxyskupina, s alkalickými kovy nebo kovy alkalických zemin, jako je například sodík, draslík, hořčík a vápník, jakož i s fyziologicky přijatelnými organickými aminy, jako je například triethylamin a tris-(2-hydroxyethyl)-amin.

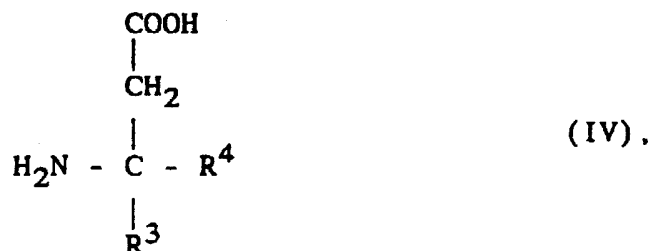
Sloučeniny obecného vzorce I, které obsahují bazické skupiny, jako je například guanidinová skupina nebo aminoskupina, tvoří s anorganickými kyselinami, jako je například kyselina chlorovodíková, kyselina sírová nebo kyselina fosforečná, a s organickými karboxylovými nebo sulfonovými kyselinami, jako je například kyselina octová, kyselina citronová, kyselina benzoová, kyselina maleinová, kyselina fumarová, kyselina vinná a kyselina p-toluensulfonová, odpovídající soli.

Výhodné jsou sloučeniny podle vynálezu obecného vzorce I, ve kterém skupina -NHR⁵ značí 4-aminobutylamid valinového, lysinového, fenylalaninového nebo fenylglycinového zbytku.

Sloučeniny podle předloženého vynálezu obecného vzorce I se mohou vyrobit fragmentovou kondenzací sloučeniny obecného vzorce III



se sloučeninou obecného vzorce IV



přičemž substituenty R^1 až R^4 a Y mají výše uvedený význam.

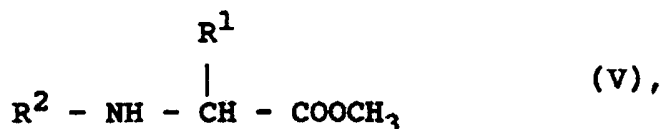
- 5 Pro kondenzaci sloučenin obecného vzorce III se sloučeninami obecného vzorce IV se výhodně používají o sobě známé metody chemie peptidů (viz například Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, Band 15/1 a 15/2, Stuttgart, 1974).

10 K tomu je ale zpravidla zapotřebí, aby byly aminoskupiny, obsažené v substituentech R^1 a R^4 , chráněné reverzibilními ochrannými skupinami. Totéž platí pro karboxylové skupiny sloučenin obecného vzorce IV, které se výhodně používají ve formě benzylesteru nebo terc.-butylesteru. Ochrana aminoskupin je zbytečná, když se generované aminoskupiny vyskytují jako nitroskupiny nebo kyanoskupiny a teprve po kopulaci se tvoří hydrogenací.

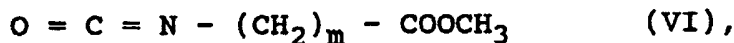
15 Po kopulaci se přítomné ochranné skupiny pomocí vhodných způsobu odštěpí. Například je možno nitroskupiny (ochrana guanidinu), benzyloxykarbonylové skupiny a benzylester odhydrogenovat. Ochranné skupiny typu terc.-butylu se odštěpí v kyselém prostředí, zatímco 9-fluorenylmethyloxykarbonylová skupina se odstraní pomocí sekundárních aminů.

20 Výchozí sloučeniny obecného vzorce III je možno získat následujícím způsobem.

Reakcí aminokyselin, N-alkylaminokyselin nebo výhodně jejich methylesterů, ethylesterů, benzylesterů nebo terc.-butylesterů, například sloučeniny obecného vzorce V

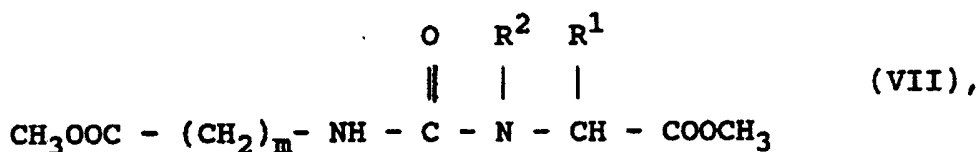


25 s esterem kyseliny izokyanátoalkankarboxylové, například se sloučeninou obecného vzorce VI

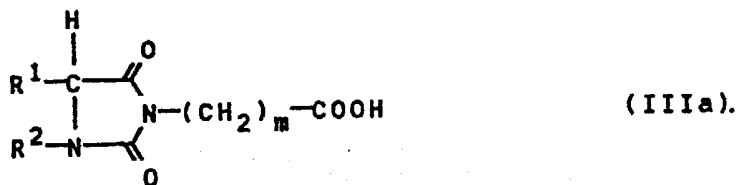


30 ve kterých mají R^1 a R^2 výše uvedený význam,

se získají deriváty močoviny, například sloučeniny obecného vzorce VII

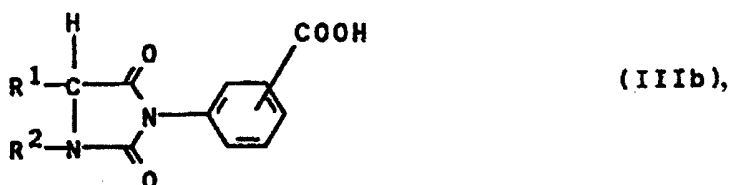


5 které se cyklizují zahřátím s kyselinou za zmýdelnění esterových funkcí na sloučeniny obecného vzorce IIIa



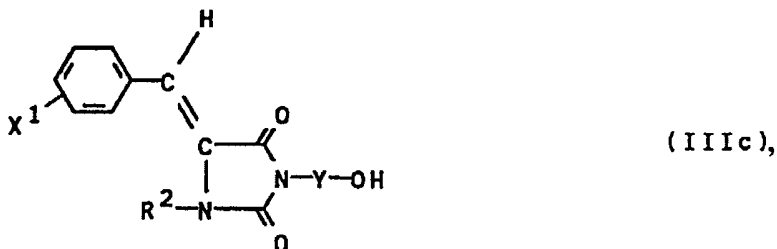
10 Během syntézy močoviny se mohou guanidinové skupiny blokovat ochrannými skupinami, jako je například NO_2 nebo Mtr. Stejně tak se musí vyskytovat aminoskupiny v postranním řetězci ve chráněné formě (například jako Boc-deriváty nebo Z-deriváty) nebo ještě jako NO_2 -funkce nebo kyanofunkce, které se později redukují na aminoskupiny, nebo v případě kyanoskupiny se tato může přeměnit na formamidinovou skupinu.

Sloučeniny obecného vzorce IIIb



15 se mohou získat analogicky, když se namísto esterů kyseliny izokyanátoalkankarboxylové použijí izokyanáty esterů kyseliny aminobenzoové.

Sloučeniny obecného vzorce IIIc



se mohou získat reakcí hydantoinů obecného vzorce VIII

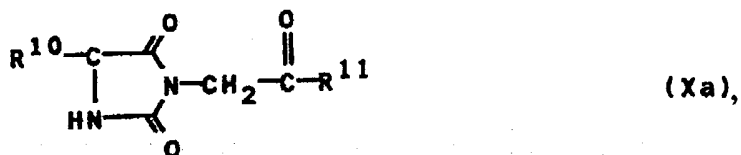


25 s aldehydy obecného vzorce IX



30 podle Gränachera a Landolta, Helv. Chim. Acta 10 (1927), 808.

Jinak vznikají hydantoiny obecného vzorce Xa

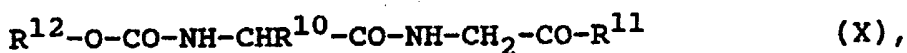


ve kterém

R^{10} značí libovolný postranní řetězec aminokyseliny a

R^{11} značí amid, aminokyselinový zbytek nebo peptidový zbytek,

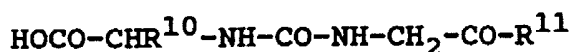
zcela všeobecně bazickým zpracováním alyloxykarbonylpeptidů nebo aralkyloxykarbonylpeptidů obecného vzorce X



ve kterém mají R^{10} a R^{11} výše uvedený význam a

R^{12} značí benzylovou skupinu nebo terc.-butylovou skupinu.

(J.S. Fruton a M. Bergmann, J. Biol. Chem. 145 /1942/ 253 – 265; C. A. Dekker, S. P. Taylor jr. a J. S. Fruton, J. Biol. Chem. 180 /1949/ 155 – 173; M. E. Cox, H. G. Carg, J. Hollowood, J. M. Hugo, P. M. Scopes a G. T. Young, J. Chem. Soc. /1965/ 6806 – 6813; W. Voelter a A. Altenburg, Liebigs Ann. Chem. /1983/ 1641 – 1655; B. Schwenzer, E. Weber a G. Losse, J. Prakt. Chem. 327 /1985/ 479 – 486). Při tom však racemizuje N-terminální aminokyselina a hydantoin hydrolyzuje na derivát močoviny vzorce



(W. Voelter a A. Altenburg, Liebigs Ann. Chem. /1983/ 1641 – 1655).

Šetrná metoda je naproti tomu cyklizace na hydantoiny, kdy se vychází ze sloučenin obecného vzorce X, zpracováním s tetrabutylamoniumfluoridem v tetrahydrofuranu za varu pod zpětným chladičem (J. Pless, J. Org. Chem. 39 /1974/ 2644 – 2646).

Další možnost šetrné cyklizace spočívá v trimethylsilylaci peptidové vazby mezi N-terminální aminokyselinou a následujícím glycinem pomocí bis-trimethylsilyltrifluoracetamidu v acetonitrilu (po dobu 4 hodin pod zpětným chladičem) (viz například J. S. Davies, R. K. Merritt a R. C. Treadgold, J. Chem. Soc. Perkin Trans. I /1982/ 2939 – 2947).

Guanylizace aminové funkce se může provádět pomocí následujících reagentů:

1. O-methylizothiomočovina (S. Weiss a H. Krommer, Chemiker Zeitung 98 /1974/ 617 – 618),

2. S-methylizothiomočovina (R. F. Borne, M. L. Forrester a I. W. Waters, J. Med. Chem. 20 /1977/ 711 – 776),

3. Nitro-S-methylizothiomočovina (L. S. Hafner a R. E. Evans, J. Org. Chem. 24 /1959/ 1157),

4. Kyselina formamidinosulfonová (K. Kim, Y. T. Lin a H. S. Mosher, *Tetrah. Lett.* 29 /1988/ 3183 – 3186),
- 5 5. 3,5-dimethyl-1-pyrazolyl-formamidinium-nitrát (F. L. Scott, D. G. O'Donovan a J. Reilly, *J. Amer. Chem. Soc.* 75 /1953/ 4053 – 4054).

Formamidiny se mohou vyrobit z odpovídajících kyanosloučenin navázáním alkoholů (například methylalkoholu nebo ethylalkoholu) v kyselém bezvodém médiu (například v dioxanu, methylalkoholu nebo ethylalkoholu) a následujícím zpracováním s amoniakem v alkoholech (jako je například izopropylalkohol, methylalkohol nebo ethylalkohol) (viz. G. Wagner, P. Richter a Ch. Gerbe, *Pharmazie* 29 /1974/ 12 – 55). Další metodou pro výrobu formamidinů je navázání sirovodíku na kyanoskupinu, načež následuje methylace vzniklého thioamidu a potom reakce s amoniakem (patent DDR č. 235 866).

15 Výchozí peptidy obecného vzorce IV se zpravidla konstruují postupně na C-terminálním konci. Peptidové vazby se mohou provádět pomocí metod vazby, známých z chemie peptidů.

20 Sloučeniny obecného vzorce I a jejich fyziologicky použitelné soli se tedy mohou aplikovat jako léčivo buď samotné, ve vzájemných směsích nebo ve formě farmaceutických přípravků, dovolujících enterální nebo parenterální podávání a které jako aktivní součást obsahují účinné množství alespoň jedné sloučeniny obecného vzorce I nebo její soli, vedle jednoho nebo několika obvyklých farmaceuticky použitelných nosičů nebo přídatných látek. Přípravky obsahují obvykle asi 0,5 až 90 % hmotnostních terapeuticky účinné sloučeniny.

25 Léčiva se mohou aplikovat orálně, například ve formě tablet, potažených tablet, dražé, tvrdých a měkkých želatinových kapslí, granulátů, roztoků, sirupů, emulzí, suspenzí, nebo aerosolových směsí. Aplikace může ale také probíhat rektálně, například ve formě čípků, nebo parenterálně, například ve formě injekčních roztoků nebo mikrokapslí, nebo perkutánně, například ve formě mastí nebi tinktur, nebo také nasálně, například ve formě nasálních sprejů.

35 Farmaceutické preparáty se mohou vyrobit o sobě známými způsoby za použití farmaceuticky inertních anorganických nebo organických nosičů. Pro výrobu pilulek, tablet, dražé a tvrdých želatinových kapslí se může například použít laktózy, kukuřičný škrob nebo jeho deriváty, mastek, kyselina stearová a její soli a podobně. Jako nosiče pro měkké želatinové kapsle a čípky je možno uvést například tuky, vosky, polotuhé a kapalné polyoly, přírodní nebo ztužené oleje a podobně. Jako nosiče pro výrobu roztoků a sirupů jsou vhodné například voda, polyoly, roztoky sacharózy, invertního cukru, glukózy a podobně. Jako nosiče pro výrobu injekčních roztoků jsou vhodné například voda, alkoholy, glycerol, polyoly rostlinné oleje a podobně. Jako nosiče pro mikrokapsle nebo implantáty jsou vhodné například směsné polymery z kyseliny glykolové a kyseliny mléčné.

45 Farmaceutické preparáty mohou obsahovat vedle účinných látek a nosičů také ještě přísady, jako jsou například plnidla, bubřidla, pojiva, mazadla, smáčedla, stabilizační látky, emulgátory, konzervační látky, sladidla, barviva, chuťové látky nebo aromatizační činidla, pufrovací substance, rozpouštědla nebo látky zprostředkující rozpouštění, urychlovače rozpouštění, odpeňovadla, látky tvořící soli, látky tvořící gely, zahušťovadla, činidla regulující tečení, sorpční prostředky, činidla pro dosažení depotního efektu nebo činidla, obzvláště soli, pro změnění osmotického tlaku, potahové prostředky, antioxidanty a podobně.

50 Farmaceutické preparáty mohou obsahovat také dvě nebo více sloučenin obecného vzorce I nebo jejich fyziologicky přijatelných solí a ještě jednu nebo několik jiných terapeuticky účinných látek.

Takovéto jiné terapeuticky účinné substance jsou například prostředky podporující prokrvení, jako je například dihydroergocristin, nicergolin, buphenin, kyselina nikotinová a její estery, pyridylkarbinol, bencyclan, cinnarizin, naftidrofuryl, raubasin a vincamin; pozitivně inotropní sloučeniny, jako je například digoxin, acetyldigoxin, metildigoxin a lanthano-glykosidy; koronární dilatátory, jako je například karbochromen; dipyridamol, nifedipin a perhexilin; antiaginosní sloučeniny, jako je například izosorbiddinitrát, izosorbidmononitrát, glycerolnitrát, molsidomin a verapamil; β -blokátory, jako je například propranolol, oxprenolol, atenolol, metoprolol a penbutolol. Kromě toho se dají uvedené sloučeniny kombinovat s jinými nootropně účinnými substancemi, jako je například piracetam, nebo se ZNS-aktivními substancemi, jako je například pirlindol, sulpirid a podobně.

Dávka se může pohybovat v širokém rozmezí a je třeba ji přizpůsobit vždy v každém jednotlivém případě individuálním okolnostem. Všeobecně bývá při orální aplikaci denní dávka asi 0,1 až 1 mg/kg, výhodně 0,3 až 0,5 mg/kg tělesné hmotnosti, dostatečná k dosažení požadovaných výsledků, při intravenózní aplikaci činí denní dávka všeobecně asi 0,01 až 0,3 mg/kg, výhodně 0,05 až 0,1 mg/kg tělesné hmotnosti. Denní dávka se normálně, obzvláště při aplikaci větších množství, rozděluje na větší počet, například 2, 3 nebo 4 dílčí dávky.

Popřípadě může být, vždy podle individuálních reakcí, potřebné uvedené denní dávky změnit jak směrem vzhůru, tak také dolů. Farmaceutické preparáty obsahují normálně 0,2 až 50 mg, výhodně 0,5 až 10 mg účinné látky obecného vzorce I nebo některé z její farmaceuticky akceptovatelné soli pro jednu dávku.

Sloučeniny podle předloženého vynálezu obecného vzorce I mají schopnost potlačovat adhezi buňka-buňka, která spočívá na interakci proteinů, obsahujících sekvenci Arg-Gly-Asp jako fibronectinu, fibrinogenu nebo Willebrandova faktoru s takzvanými integriny. Integriny jsou transmembránové glykoproteiny, receptory pro glykoproteiny buněčné matrice, obsahující Arg-Gly-Asp (E. Ruoslahti a M. D. Piersbacher, Science 238 /1987/ 491 – 497; D. R. Phillips, I. F. Charo, L. V. Parise a L. A. Fitzgarald, Blood 71 /1988/ 831 – 843). Kromě toho potlačují vazbu dalších adhezivních proteinů, jako je vitronectin, kollagen a laminin na odpovídající receptory na povrchu různých typů buněk.

Sloučeniny podle předloženého vynálezu obecného vzorce I potlačují agregaci trombocytů a dále metastázování karcinomových buněk, jakož i vazbu osteoclastů na povrch kostí.

Deriváty hydantoinu obecného vzorce I nacházejí akutní použití při nebezpečí trombózy a chronické při prevenci arteriosklerózy a trombózy, například při profylaxi a terapii onemocnění arteriálního krevního oběhu, jako je akutní infarkt myokardu, sekundární prevence infarktu myokardu, profylaxe reocclusie po lyzi a dilataci (PTCA) instabilní angina pectoris, transitorické ischemické ataky, mrtvice, koronární bypass-operace a profylaxe reocclusie bypassu, plicní embolie, periferní arteriální obstrukční onemocnění, dissezierující aneurysma; při terapii venózních a mikrocirkulačních oběhových onemocnění, jako je hluboká žilní trombóza, disseminované intravaskulární sraženiny, pooperační a poporodní trauma, chirurgické nebo infekční šoky, septicemie, pro terapii při onemocněních s hyperreagibilními trombocyty, trombotická a trombocytopenická purpura, preeklampsie, premenstruační syndrom, dialýza, nebo extrakorporální cirkulace. Další možné použití je během operací rakoviny a také profylaktické při rakovině. Dále se může potlačovat osteoporóza inhibicí vazby osteoclastů na povrch kostí.

Sloučeniny byly zkoušeny především na svůj inhibiční účinek při agregaci krevních destiček a na ulpívání fibronogenu na krevních destičkách. Měření se provádí na filtrovaných lidských trombocytech, zbavených plazmy. Aktivace trombocytů se provádí pomocí ADP nebo trombinu.

Příklady provedení vynálezu

Produkty byly identifikovány pomocí hmotových spekter a/nebo NMR-spekter.

5

Příklad 1

[5-(S)-(3-guanidinopropyl)-2,4-dioxo-imidazolidin-3-yl]acetyl-L-aspartyl-L-fenylalanin-(4-aminobutyl)-amidacetát

10

1a: Z-Phe-NH-(CH₂)₄-NH-Boc

Ve 100 ml dimethylformamidu se rozpustí 5,98 g (20 mmol) N-benzyloxykarbonyl-L-fenylalaninu a 4,49 g (20 mmol) hydrochloridu 4-(terc.-butyloxykarbonylamino)-butylaminu a roztok se na ledové lázni ochladí na teplotu 0 °C. Po přidavku 2,7 g (20 mmol) hydroxybenzotriazolu, 4,4 g (20 mmol) DCCI a 2,54 ml (20 mmol) N-ethylmorpholinu se reakční směs nechá míchat přes noc. Vysrážená močovina se potom odsaje a roztok se za vysokého vakua odpaří. Zbytek se vyjme do 200 ml ethylesteru kyseliny octové a organická fáze se extrahuje vodou, roztok hydrogenuhličitanu sodného a roztokem hydrogensíranu draselného a vysuší se pomocí bezvodého síranu hořečnatého. Po filtraci a zahuštění se získá 8,2 g (87 %) amorfního produktu.

20

1b: H-Phe-NH-(CH₂)₄-NH-Boc-hydrochlorid

8,2 g (17,5 mmol) Z-Phe-NH-(CH₂)₄-NH-Boc se rozpustí ve 300 ml methylalkoholu a smísí se s 1,5 Pd/C. Potom se zavádí vodík a hodnota pH se udržuje přidávkem methanolické kyseliny chlorovodíkové na 4. Po ukončení reakce se směs přefiltruje a filtrát se odpaří. Po rozetření s diethyletherem se získá 6,5 g (100 %) amorfního produktu.

25

1c: H-L-aspartyl (OtBu)-L-fenylalanin-NH-(CH₂)₄-NH-Boc-hydrochlorid

30

5,6 g (17,4 mmol) Z-Asp(OtBu)-OH a 6,5 g (17,5 mmol) H-Phe-NH-(CH₂)₄-NH-Boc-hydrochloridu se rozpustí ve 100 ml dimethylformamidu. Po přidavku 2,3 g (17 mmol) hydroxybenzotriazolu, 4,4 g (21,3 mmol) DCCI a 2,2 ml (17,3 mmol) N-ethylmorpholinu se nechá reakční směs míchat přes noc. Po ukončení reakce se reakční směs ve vakuu zahustí. Získaný zbytek se vyjme do ethylesteru kyseliny octové a organická fáze se extrahuje vodou a roztokem hydrogenuhličitanu sodného a vysuší se pomocí bezvodého síranu hořečnatého. Po filtraci a zahuštění se získá 9,7 g surového produktu, který se čistí chromatograficky.

35

Spojené frakce se potom hydrogenují postupem, popsáným v odstavci 1b. Zbytek po hydrogenaci se rozpustí v 50 ml ethylesteru kyseliny octové a precipituje se petroletherem. Získá se takto 4,9 g produktu.

40

FAB-MS 507,3 (M+H)⁺.

45 1d: [5-(S)-(3-guanidinopropyl)-2,4-dioxo-imidazolidin-3-yl]-acetyl-L-aspartyl(OtBu)-L-fenylalanin-(4-Boc-aminobutyl)-amid

50

V 5 ml dimethylformamidu se rozpustí 977 mg (1,8 mmol) H-L-aspartyl(OtBu)-L-fenylalanin-NH-(CH₂)₄-Boc-hydrochloridu a 500 mg kyseliny 5-(S)-(3-guanidinopropyl)-2,4-dioxo-imidazolidin-3-yl)-octové. K tomuto roztoku se přidá 243 mg (1,8 mmol) hydroxybenzotriazolu a 412 mg (2 mmol) DCCI a reakční směs se míchá přes noc. Po ukončení reakce se roztok zahustí a zbytek se bez dalšího zpracovávání chromatografuje na silikagelu (pohyblivá fáze : dichlormethan/methylalkohol/kyselina octová/voda = 85 : 10 : 2,5 : 2,5). Izoluje se takto 1,03 g (76 %) produktu.

55

FAB-MS 746,6 (M+H)⁺.

1e: [5-(S)-(3-guanidinopropyl)-2,4-dioxo-imidazolidin-3-yl]-acetyl-L-aspartyl-L-fenylalanin-(4-aminobutyl)-amid-acetát

5

1 g (1,38 mmol) [5-(S)-(3-guanidinopropyl)-2,4-dioxo-imidazolidin-3-yl]-acetyl-L-aspartyl (OtBu)-L-fenylalanin-(4-Boc-aminobutyl)-amidu se míchá v 15 ml 90% vodné kyseliny trifluoroctové po dobu jedné hodiny při teplotě místnosti. Potom se reakční roztok zahustí, získaný zbytek se vyjme do vody a zpracuje se iontoměničem IRA-93, až se dosáhne hodnoty pH 4. Roztok se mrazově vysuší a získaný zbytek (880 mg) se chromatografuje pomocí 1 ml kyseliny octové na Sephadexu LH20. Po zahuštění a mrazovém vysušení se získá 735 mg (90 %) produktu.

10

FAB-MS 590,1 (M+H)⁺.

15

Příklad 2

[5-(S)-(3-guanidinopropyl)-2,4-dioxo-imidazolidin-3-yl]-acetyl-L-aspartyl-L-fenylalanin-(6-aminohexyl)-amid-acetát

20

Uvedená sloučenina se vyrobí analogicky, jako je popsáno v příkladě 1.

FAB-MS 618,1 (M+H)⁺.

25

Příklad 3

[5-(S)-(3-guanidinopropyl)-2,4-dioxo-imidazolidin-3-yl]-acetyl-L-aspartyl-L-fenylalanin-(8-aminooktyl)-amid-acetát

30

Uvedená sloučenina se vyrobí analogicky, jako je popsáno v příkladě 1.

FAB-MS 646 (M+H)⁺.

35

Příklad 4

[5-(R,S)-(4-formamidinobenzyl)-2,4-dioxo-imidazolidin-3-yl]acetyl-L-aspartyl-L-fenylalanin-(4-aminobutyl)-amid-acetát

40

Uvedená sloučenina se vyrobí analogicky, jako je popsáno v příklad 1.

FAB-MS 623 (M+H)⁺.

45

Příklad 5

[5-(R,S)-(4-formamidinobenzyl)-2,4-dioxo-imidazolidin-3-yl]-acetyl-L-aspartyl-L-fenylalanin-(6-aminohexyl)-amid-acetát

50

Uvedená sloučenina se vyrobí analogicky, jako je popsáno v příklad 1.

FAB-MS 651 (M+H)⁺.

Příklad 6

[5-(R,S)-(4-formamidinobenzyl)-2,4-dioxo-imidazolidin-3-yl]-acetyl-L-aspartyl-L-fenylalanin-(8-aminooktyl)-amid-acetát

Uvedená sloučenina se vyrobí analogicky, jako je popsáno v příkladě 1.

FAB-MS 679 (M+H)⁺.

Příklad 7

[5-(R,S)-(4-formamidinobenzyl)-2,4-dioxo-imidazolidin-3-yl]acetyl-L-aspartyl-L-lysin-(4-aminobutyl)-amid

7a: H-aspartyl(OtBu)-L-lysin(Boc)-NH-(CH₂)₄-NH-Boc-hydrochlorid

K roztoku 5,3 g H-Lys(Boc)-NH-(CH₂)₄-NH-Boc-tosylátu, 2,91 g Z-Asp(OtBu)-OH a 1,21 g hydroxybenzotriazolu ve 20 ml dimethylformamidu se přidá při teplotě 0 °C 1,17 ml N-ethylmorpholinu a 1,98 g DDCI. Reakční směs se míchá po dobu jedné hodiny při teplotě 0 °C a po dobu 4 hodin při teplotě místnosti a potom se nechá stát přes noc při teplotě místnosti. Vytvořená sraženina se odsaje a filtrát se ve vakuu zahustí. Získaný zbytek se rozdělí mezi ethylester kyseliny octové a vodu. Organická fáze se extrahuje roztokem hydrogenuhličitanu sodného, roztokem hydrogensíranu draselného a vodou, vysuší se pomocí bezvodého síranu sodného a zahustí se. Získaný zbytek se rozetře s diethyletherem a odsaje se. Získaný produkt (5,2 g) se rozpustí ve 150 ml methylalkoholu a za udržování hodnoty pH pomocí autobyyrety s methanolicou kyselinou chlorovodíkovou se při pH 4 katalyticky hydrogenuje za použití Pd/C. Po ukončení reakce se katalyzátor odsaje a filtrát se zahustí.

Výtěžek: 412 g amorfnní látky;

$\alpha)_D^{24} = +3,9^\circ$ (c = 1, methylalkohol).

7b: [5-(R,S)-(4-formamidinobenzyl)-2,4-dioxo-imidazolidin-3-yl]-acetyl-L-aspartyl(OtBu)-L-lysin-(Boc)-4-(4-Boc-aminobutyl)-amid

K suspenzi 1,54 g kyseliny [5-(R,S)-(4-formamidinobenzyl)-2,4-dioxo-imidazolidin-3-yl]-octové, 3,1 g H-aspartyl(OtBu)-L-lysin(Boc)-NH-(CH₂)₄-NH-Boc-hydrochloridu a 675 mg hydroxybenzotriazolu ve 20 ml dimethylformamidu se při teplotě 0 °C přidá 1,1 g DCII. Reakční směs se míchá po dobu jedné hodiny při teplotě 0 °C a po dobu 4 hodin při teplotě místnosti a potom se nechá stát přes noc při teplotě místnosti. Vytvořená sraženina se odsaje a filtrát se ve vakuu zahustí. Pro vyčištění se substance chromatografuje na silikagelu za použití směsi methylenchlorid/methylalkohol/voda/kyselina octová = 8,5 : 1,5 : 0,2 : 0,2.

Výtěžek: 3,26 g amorfnní látky;

$\alpha)_D^{24} = -28,7^\circ$ (c = 1, methylalkohol).

7c: [5-(R,S)-(4-formamidinobenzyl)-2,4-dioxo-imidazolidin-3-yl]-acetyl-L-aspartyl-L-lysin-(4-aminobutyl)-amid-diacetát

3,15 g [5-(R,S)-(4-formamidinobenzyl)-2,4-dioxo-imidazolidin-3-yl]-acetyl-L-aspartyl-(OtBu)-L-lysin(Boc)-(4-Boc-aminobutyl)-amidu se rozpustí ve 30 ml 90% vodné kyseliny trifluoroctové. Po jedné hodině při teplotě místnosti se reakční směs ve vakuu zahustí a získaný

zbytek se rozdělí mezi vodu a diethylether. Vodná fáze (30 ml) se chromatografuje přes 50 ml Amberlitu IR 93 (acetátová forma) za použití vody jako pohyblivé fáze. Eluát se mrazově vysuší a získá se 2,42 g substance. Pro čištění se tato substance chromatografuje na Sephadexu LH20 (200 x 4 cm) za použití směsi kyseliny octové, n-butanolu a vody. Frakce s čistou látkou se zahustí, rozpustí se ve vodě a mrazově se vysuší.

Výtěžek: 2,27 g;

$\alpha)_D^{24} = +35,2^\circ$ (c = 1, voda).

Příklad 8

[5-(R,S)-(3-guanidinopropyl)-2,4-dioxo-imidazolidin-3-yl]acetyl-L-aspartyl-L-valin-(4-aminobutyl)-amid

Uvedená sloučenina se vyrobí analogicky, jako je popsáno v příklad 1.

FAB-MS 541 (M+H)⁺.

Příklad 9

[5-(R,S)-(4-formamidinobenzyl)-2,4-dioxo-imidazolidin-yl]acetyl-L-aspartyl-L-fenyl-glycin-(4-aminobutyl)-amid

Uvedená sloučenina se vyrobí analogicky, jako je popsáno v příkladě 1.

FAB-MS 608 (M+H)⁺.

Příklad A

Emulze se 3 mg účinné látky na 5 ml se může vyrobit podle následující receptury:

účinná látka	0,06 g
neutrální olej	q.s.
natriumkarboxymethylcelulóza	0,6 g
polyoxyethylenstearát	q.s.
čistý glycerol	0,6 až 2 g
aromatické látky	q.s.
voda (demineralizovaná nebo destilovaná)	do 100 ml.

Příklad B

Tablety se mohou vyrobit podle následující receptury:

5	účinná látka	2 mg
	laktóza	60 mg
	kukuřičný škrob	30 mg
	rozpustný škrob	4 mg
	stearát hořečnatý	<u>4 mg</u>
10		100 mg

Příklad C

- 15 Pro výrobu měkkých želatinových kapslí s 5 g účinné látky pro jednu kapsli je vhodné následující složení:

	účinná látka	5 mg
	směs triglyceridů z kokosového oleje	<u>150 mg</u>
20		155 mg

Příklad D

- 25 Pro výrobu dražé je vhodné následující složení:

	účinná látka	3 mg
	kukuřičný škrob	100 mg
	laktóza	55 mg
30	hydrogenfosforečnan vápenatý	30 mg
	rozpustný škrob	3 mg
	stearát hořečnatý	5 mg
	koloidní kyselina křemičitá	<u>4 mg</u>
35		200 mg

Příklad E

Dražé, obsahující účinnou látku podle vynálezu a jinou terapeuticky účinnou látku:

40	účinná látka	6 mg
	propanolol	40 mg
	mléčný cukr	90 mg
	kukuřičný škrob	90 mg
45	hydrogenfosforečnan vápenatý	34 mg
	rozpustný škrob	3 mg
	stearát hořečnatý	3 mg
	koloidní kyselina křemičitá	<u>4 mg</u>
		270 mg

Příklad F

Dražé, obsahující účinnou látku podle vynálezu a jinou terapeuticky účinnou látku:

5	účinná látka	5 mg
	pirindol	5 mg
	mléčný cukr	60 mg
	kukuřičný škrob	90 mg
	hydrogenfosforečnan vápenatý	30 mg
10	rozpuštěný škrob	3 mg
	stearát hořečnatý	3 mg
	koloidní kyselina křemičitá	4 mg
		<u>200 mg</u>

15

Příklad G

Kapsle, obsahující účinnou látku podle vynálezu a jinou terapeuticky účinnou látku:

20	účinná látka	5 mg
	nicergolin	5 mg
	kukuřičný škrob	<u>185 mg</u>
		195 mg

25

Příklad H

Injekční roztok s 1 mg účinné látky na 1 ml je možno vyrobit podle následující receptury:

30	účinná látka	1,0 mg
	polyethylenglykol 400	0,3 mg
	chlorid sodný	2,7 mg
	voda pro injekce	do 1 ml

35 Farmakologická data

Zkouší se inhibice vazby fibrinogenu na jeho receptor (glykoprotein IIb/IIIa) na intaktních, gelově filtrovaných lidských trombocytech vlivem sloučenin podle předloženého vynálezu. Udávána je hodnota K_i inhibice vazby ^{125}I -fibrinogenu po stimulaci ADP (10 μM).

40

Literatura: J. S. Bennett a G. Vilaire, J. Clin. Invest. 64, (1979), 1393 – 1401,
E. Kornecki a kol., J. Biol. Chem. 256 (1981) 5659 – 5701,
G. A. Marguerie a kol., J. Biol. Chem. 254 (1979), 5357 – 5363,
G. A. Marguerie a kol., J. Biol. Chem. 255 (1980), 154 – 161.

45

Výsledky jsou uvedeny v následující tabulce.

Příklad	K_i (μM), ADP-stimulováno
1	2,50
2	2,44
3	3,21
4	0,32
7	0,17

Jako funkční test se měří inhibice agregace filtrovaných lidských trombocytů po stimulaci pomocí ADP nebo trombinem, působením sloučenin podle předloženého vynálezu. Udávána je hodnota IC_{50} inhibice.

- 5 Literatura: G. A. Marguerie a kol., J. Biol. Chem. 254 (1979), 5375 – 5363.

Výsledky jsou uvedeny v následující tabulce.

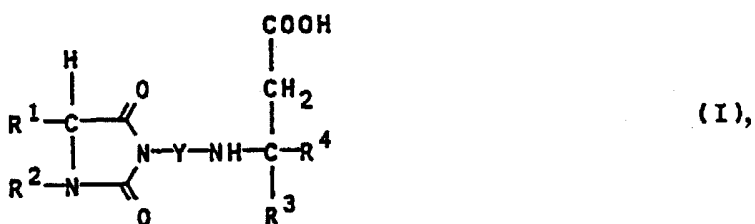
Příklad	IC_{50} (μM)	
	ADP–stimulováno	trombin–stimulováno
1	1,5	2,0
2	3,0	3,5
3	5,0	3,0
4	0,45	1,0
7	0,25	0,6

10

PATENTOVÉ NÁROKY

15

1. Deriváty 2,4-dioxoimidazolidinu obecného vzorce I



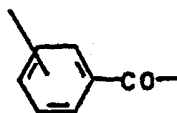
20 ve kterém

Y značí skupinu $-(CH_2)_m-CO-$, přičemž

m značí číslo 1 nebo 2,

25

nebo značí skupinu



30 R^1 značí skupinu $-CH_2-C_6H_4-NH-C(=NH)-NH_2$, skupinu $-CH_2-C_6H_4-C(=NH)-NH_2$, nebo skupinu $-CH_2-C_6H_4-CH_2-NH_2$,

R^2 značí vodíkový atom nebo methylovou skupinu,

35 R^3 značí vodíkový atom a

R^4 značí skupinu $-CO-NH-R^5$, přičemž zbytek $-NH-R^5$ značí omega-aminoalkylamid esteru zbytku α -aminokyseliny ze skupiny zahrnující Aad, Abu, Aca, Ach, Acp, Aib, Ala, delta-Ala, Alg, All, Ama, Apm, Apr, Arg, Asn, Asp, Asu, Aze, Azi, Bph, Can, Cit, Cys, (Cys)₂,

Cyta, Daad, Dab, Dadd, Dap, Dapm, Dasu, Djen, Dpa, Dtc, Fel, Gln, Glu, Gly, hAla, hArg, hCys, hGln, hGlu, His, hIle, hLeu, hLys, hMet, hPhe, hPro, hSer, hThr, hTrp, hTyr, Hyl, Hyp, 3Hyp, Ile, Iva, Lant, Lcn, Leu, Lys, delta-Lys, Met, Min, nArg, Mle, Nva, Oly, Orn, Pan, Pec, Pen, Phe, Phg, Pic, Pro, delta-Pro, Pse, Pya, Pyr, Pza, Sar, Sec, Sem, Ser, Thi, Thr, Thy, Thx, Tia, Tle, Tly, Trp, Trta, Tyr, Val, Tbg, Npg, Chg, Cha, Tia, kyselinu 2,2-difenylaminooctovou, kyselinu 2-(p-tolyl)-2-fenylaminooctovou a kyselinu 2-(p-chlor-fenyl)aminooctovou, přičemž alkyl obsahuje 2 až 8 uhlíkových atomů,

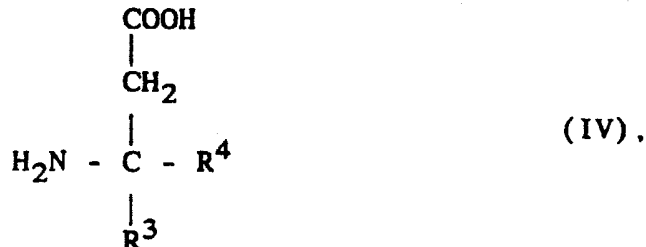
jakož i jejich fyziologicky přijatelné soli.

2. Deriváty 2,4-dioxoimidazolidinu podle nároku 1 obecného vzorce I, ve kterém skupina -NH-R^5 značí 4-aminobutylamid valinového, lysinového, fenylalaninového nebo fenylglycinového zbytku.

3. Způsob výroby derivátů 2,4-dioxoimidazolidinu podle nároků 1 a 2 obecného vzorce I, **vyznačující se tím**, že se provede fragmentová kondenzace sloučeniny obecného vzorce III



se sloučeninou obecného vzorce IV



přičemž substituenty R^1 až R^4 a Y mají výše uvedený význam.

4. Deriváty 2,4-dioxoimidazolidinu podle nároků 1 a 2 obecného vzorce I jako inhibitory agregace trombocytů, metastázování karcinomových buněk, jakož i vazby osteoclastů na povrch kostí.

5. Farmaceutický prostředek pro inhibici agregace trombocytů, metastázování karcinomových buněk, jakož i vazby osteoclastů na povrch kostí, **vyznačující se tím**, že jako účinnou látku obsahuje jeden nebo několik derivátů 2,4-dioxoimidazolidinu podle nároků 1 a 2 obecného vzorce I nebo jejich fyziologicky přijatelné soli společně s farmaceuticky přijatelnými nosiči a přísadami.

Konec dokumentu