

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

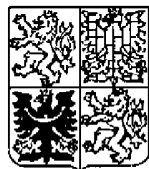
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

3203-98

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLŮVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **02. 04. 97**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **06.04.96**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **96/19613933**

(33) Země priority: **DE**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **13. 01. 99**
(Věstník č. 1/99)

(86) PCT číslo: **PCT/EP97/01657**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 97/38009**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

C 07 K 7/64
C 07 K 14/75
A 61 K 38/12

(71) Přihlašovatel:

MERCK PATENT & GMBH, Darmstadt, DE;

(72) Původce:

Jonczyk Alfred, Darmstadt, DE;

Goodman Simon, Darmstadt, DE;

Diefenbach Beate, Darmstadt, DE;

Koppitz Marcus, Garching, DE;

Kesler Horst, Garching, DE;

(74) Zástupce:

Hořejš Milan Dr. Ing., Národní 32, Praha 1,
11000;

jde o zbytky opticky aktivních aminokyselin nebo derivátů aminokyselin jsou zahrnuty jak D tak také L formy a deriváty, zvláště b-ester asparagové kyseliny nebo N-guanidinacylderiváty asparaginu, prodrogy a jejich fyziologicky vhodné soli působí jako integrinové inhibitory a mohou se používat zvláště pro profylaxi a ošetřování nemocí krevního oběhu, angiolenních nemocí, mikrobiálních infekcí a v terapii nádorů.

(54) Název přihlášky vynálezu:

Derivát cyklopeptidu, způsob jeho přípravy a farmaceutický prostředek, který ho obsahuje

(57) Anotace:

Derivát cyklopeptidu obecného vzorce I, cyklo-/Arg-Gly-Asp-X-Y/ /I/, kde znamená X Cha, Nal, Phe, 2-R¹-Phe, 4-R¹-Phe, homo-Phe, Phg, Thi, Trp, Tyr nebo derivát Txr, přičemž je OH popřípadě etherifikován C₁₋₁₈alkylem, a zbytky aminokyselin jsou popřípadě derivatizovány, R¹ NH₂, NO₂, J, Br, Cl, F, C₁₋₁₈alkyl, Ar, Ar-O nebo ³H, Y Gly, přičemž je popřípadě .alfa.-N substituován skupinou R² a/nebo .alfa.-C je popřípadě substituován skupinou R³ a/nebo R⁴ za podmínky, že Gly je alespoň jednou shora uvedeným způsobem substituován, Ar fenyl popřípadě s 1 nebo se 2 substituenty ze souboru NH₂, NO₂, J, Br, Cl, F, C₁₋₆alkyl a ³H, R², R³ a R⁴ na sobě nezávisle C₁₋₁₈alkyl, nebo také R² a R³ nebo R³ a R⁴ vždy spolu dohromady také rozvětvený nebo nerozvětvený C₃₋₁₈alkylen, takže buď .alfa.-N a .alfa.-C spolu a alkenylovým řetězcem nebo .alfa.-C samotný s alkenylovým řetězcem vytváří kruh, přičemž pokud

cyklo - (Arg-Gly-Asp-X-Y)

CZ 3203-98 A3

05.10.98

PV 3203-98

~~60159~~

01-2107-98-Ho

Derivát cyklopeptidu, způsob jeho přípravy a farmaceutický prostředek, který ho obsahuje.

Oblast techniky

Vynález se týká derivátů cyklopeptidu jako inhibitoru integrinu, způsobu jeho přípravy a farmaceutického prostředku, který ho obsahuje. Sloučeniny podle vynálezu jsou vhodné zvláště pro profylaxi a ošetřování nemocí krevního oběhu, angienních nemocí, mikrobiálních infekcí a nádorů.

Dosavadní stav techniky

Podobné deriváty cyklických peptidů jako podle vynálezu jsou popsány v evropském patentovém spise číslo EP O 406428 a v FEBS Lett. 291, str. 50 až 54, 1991).

Úkolem vynálezu je vyvinout nové sloučeniny s hodnotnými vlastnostmi, které by se zvláště hodily pro výrobu léčiv.

Podstata vynálezu

Podstatou vynálezu je derivát cyklopeptidu obecného vzorce I



kde znamená

X Cha, Nal, Phe, 2-R¹-Phe, 3-R¹-Phe, 4-R¹-Phe, homo-Phe, Phg, Thi, Trp, Tyr nebo derivát Tyr, přičemž je hydroxylová skupinu popřípadě etherifikována alkylovou skupinou s 1 až 18 atomy uhlíku, a zbytky aminokyselin jsou popřípadě derivatizovány,

R¹ skupinu NH₂, nitroskupinu, atom jodu, bromu, chloru

nebo fluoru, alkylovou skupinu s 1 až 18 atomy uhlíku, Ar, Ar-O nebo ^3H ,

Y Gly, přičemž je popřípadě α -atom dusíku substituován skupinou R^2 a/nebo α -atom uhlíku je popřípadě substituován skupinou R^3 a/nebo R^4 za podmínky, že Gly je alespoň jednou shora uvedeným způsobem substituován,

Ar fenylovou skupinu popřípadě s jedním nebo se dvěma substituenty ze souboru zahrnujícího skupinu NH_2 , nitroskupinu, atom jodu, bromu, chloru nebo fluoru, alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku a ^3H ,

R^2 , R^3

a R^4 na sobě nezávisle alkylovou skupinu s 1 až 18 atomy uhlíku

nebo také

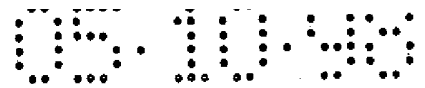
R^2 a R^3

nebo

R^3 a R^4 vždy spolu dohromady také rozvětvenou nebo nerozvětvenou alkylenovou skupinu s 3 až 18 atomy uhlíku, takže buď α -atom dusíku a α -atom uhlíku spolu s alkylenovým řetězcem nebo α -atom uhlíku samotný s alkylenovým řetězcem vytváří kruh,

přičemž pokud jde o zbytky opticky aktivních aminokyselin nebo derivátů aminokyselin jsou zahrnuty jak D tak také L formy a deriváty, zvláště β -ester asparagové kyseliny nebo N-guanidinacylderiváty asparaginu, prodrogy a jejich fyziologicky vhodné soli.

S překvapením se zjistilo, že sloučeniny obecného vzorce I a jejich soli mají velmi hodnotné vlastnosti. Především působí jako inhibitory integrinu, přičemž především inhibují



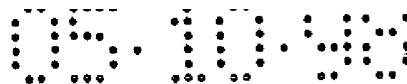
vzájemné působení β_3 - nebo β_5 -integrinových receptorů s ligandy. Obzvláštní účinnost vykazují sloučeniny obecného vzorce I v případě integrinů $\alpha v\beta_3$, $\alpha v\beta_5$ a $\alpha_{11}\beta_3$ a avšak také v případě receptorů $\alpha v\beta_1$, $\alpha v\beta_6$, $\alpha v\beta_8$. Toto působení lze doložit například způsobem, který popsal J. W. Smith a kol. (J. Biol. Chem. 265, str. 12267 až 12271, 1990). Přídavně vykazují sloučeniny obecného vzorce I protizánětlivé působení.

P.C. Brooks, R.A. Clark a D.A. Cheresh (Science 264, str. 569 až 571, 1994) uvádějí, že vývoj angiogeneze závisí na vzájemném působení vaskulárního integrinu a extracelulárních matricových proteinů.

Možnost použití cyklického peptidu podle vynálezu k inhibici tohoto vzájemného působení a tím navození apoptosy (programované umírání buněk) angiogenních vaskulárních buněk působením cyklického peptidu popsal P.C. Brooks, A.M. Montgomery, M. Rosenfeld, R.A. Reisfeld, T.-Hu, G. Klier a D.A. Cheresh (Cell 79, str. 1157 až 1164, 1994).

Sloučeniny obecného vzorce I, které blokují interakci integrinových receptorů a ligandů, jako fibrinogen k fibrinogennímu receptoru (glykoprotein IIb/IIIa), zabraňují jakožto GPIIb/IIIa antagonisty, rozšiřování nádorových buněk metastázováním. Je to doloženo následujícím pozorováním:

K rozšiřování nádorových buněk z lokalizovaného nádoru do vaskulárního systému dochází vytvářením mikroagátů (mikrothrombů) jako následek vzájemného působení nádorových buněk a krevních destiček. Nádorové buňky se zastiňují jako výsledek protekce podpořené mikroagregáty a nejsou od buněk imunitního systému rozpoznány. Mikroagregáty se usazují na stěnách cév, tím usnadňují další penetraci nádorových buněk do tkáně. Jeli-kož je vytváření mikrotrombů zprostředkováváno vázáním fibrinogenu na fibrinogenní receptory na aktivovaných krevních



destičkách, mohou být GPIIa/IIIb antagonisty považovány za účinné inhibitory metastáz.

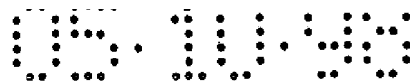
Sloučeniny obecného vzorce I se mohou používat jakožto antimikrobiálně působící látky při operacích, při kterých se používá biologického materiálu, implantátů, kateteru nebo srdečních stimulátorů. Přitom tyto sloučeniny působí antisepticky. Účinnost antimikrobiální aktivity se může doložit způsobem, který popsal P. Valentin-Weigund a kol. (Infection and Immunity, str. 2851 až 2855, 1988).

Jelikož sloučeniny obecného vzorce I představují inhibitory vazby fibrinogenu a tím ligandy receptorů fibrinogenu na krevní destičky, jsou použitelné jako dagnostika k detekci a k lokalizaci thrombů ve vaskulárním systému in vivo, pokud jsou substituovány radioaktivním nebo UV detektovatelným zbytkem.

Sloučeniny obecného vzorce I jakožto inhibitory vazby fibrinogenu se mohou také používat jako účinné pomocné prostředky ke studiu metabolismu krevních destiček při různých aktivačních stadiích nebo v intracelulárních signálových mechanismech receptorů fibrinogenu. Detekovatelná jednotka zabudovatelného "značení" například isotopového značení ^3H dovoluje po vázání na receptor zkoumat uvedené mechanismy.

Sloučeniny obecného vzorce I mají také vlastnost vazby přírodních nebo umělých ligandů na integriny, zvláště na integriny $\alpha\text{v}\beta_3$, $\alpha\text{v}\beta_5$ a $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ avšak také inhibovat $\alpha\text{v}\beta_1$, $\alpha\text{v}\beta_6$, $\alpha\text{v}\beta_8$.

Kromě toho mají se zřetelem na známý stav techniky tu přednost, že se α -N-alkylací nebo α -C-alkylací γ -aminokyselinového zbytku dosahuje metabolické stability a zvýšené rozpustnosti tuků. Redukcí možných vodíkových můstků, jelikož N-



alkyl nemůže být například žádným H-donorem pro C=O, se zlepšuje penetrační schopnost membrán, takže se může dosáhnout zvýšená orální resorbovatelnost a kromě toho se zvyšuje vazba plasmového proteinu.

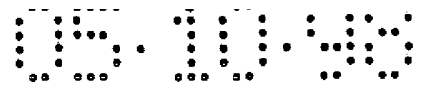
α -N-Alkylace nebo α -C-alkylace Y-aminokyselinového stavebního kamene zvyšuje inhibiční mocnost sloučenin obecného vzorce I a zvyšuje selektivitu inhibice se zřetelem na určité integriny. Obzvláště se ovlivňuje N-alkylovými skupinami selektivita.

Sloučeniny obecného vzorce I se mohou používat jakožto léčivově účinné látky v humanní a veterinární medicíně zvláště k profylaxi a k ošetřování nemocí krevního oběhu, thrombosity, infarktu srdce, arteriosklerosy, zánětů, apoplexie, anginy pectoris, nádorových onemocnění, osteolytických nemocí, jako je zvláště osteoporosa, nemocí podmíněných angiogenezí, jako jsou například diabetické retinopathie oka, oftalmických onemocnění, svalové degenerace, myopatie, okulární histoplasmosy, reumatické arthritidy, osteoarthritis, rubeotického glaukomu, avšak také vředovité kolitidy, Crohnovy nemoci, rozptýlené sklerózy, lupenky a restenozy po angioplastii. Sloučenin obecného vzorce I se dále může používat ke zlepšení a k podpoře procesů hojení ran při mikrobiální infekci a při akutním selhání ledvin.

Tato působení se mohou doložit způsoby známými z literatury (například P.C. Brooks a kol., Cell 79, str. 1157 až 1164, 1994 nebo Science 264, str. 569 až 571).

Uváděné zkratky zbytků aminokyselin znamenají zbytky následujících aminokyselin:

Abu	4-aminomáselná kyselina
Acha	α -aminocyklohexankarboxylová kyselina



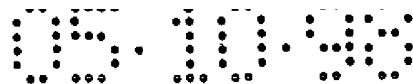
Acpa	α -aminocyklopentankarboxylová kyselina
Aha	6-aminohexanová kyselina,
Ahds	16-aminohexadekanová kyselina,
Aib	3-aminoisomáselná kyselina
Ala	alanin
Aos	8-aminooktanová kyselina
Asn	asparagin
Asp	asparagová kyselina
Asp(OR)	asparagová kyselina (β -ester)
Arg	arginin
N-Ac-Arg	N-guanidinoacylarginin
Cha	3-cyklohexylalanin
Dab	2,4-diaminomáselná kyselina
Dap	2,3-diaminopropionová kyselina
Deg	diethylglycin
Gln	glutamin
Glu	glutaminová kyselina
Gly	glycin
hPro	pipekolinová kyselina
His	histidin
Ile	isoleucin
Leu	leucin
Lys	lysin
Nal	3-(2-naftyl)alanin
Nhdg	N-hexadecylglycin
Nle	norleucin
Phe	fenylalanin
homoPhe	homo-fenylalanin
4-Hal-Phe	4-halogenfenylalanin
Phg	fenylglycin
Pro	prolin
Sar	sarkosin (N-methylglycin)
Tia	3-(2-thienyl)alanin
Tic	tetrahydroisochinolin-3-karboxylová kyselina
Thr	threonin

Tle	terc.-leucin (Ca-terc.-butylglycin)
Trp	tryptofan
Tyr	tyrosin
Val	valin

Kromě toho se ještě používají zkratky, které mají následující význam:

BOC	terc.-butoxykarbonyl
Bzl	benzyl
DCCl	dicyklohexylkarbodiimid
DMF	dimethylformamid
EDCl	N-ethyl-N'-(3-dimethylaminopropyl)karbodiimid x HCl
Et	ethyl
Fmoc	9-fluorenylmethoxykarbonyl
HOBt	1-hydroxybenzotriazol
Me	methyl
Mtr	4-methoxy-2,3,6-trimethylfenylsulfonyl
NMe	N-methylovaná α -aminoskupina
OBu	terc.-butylester
OMe	methylester
OEt	ethylester
POA	fenoxyacetyl
TBTU	2-(1-H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium-tetrafluorborát
TFA	trifluoroctová kyselina

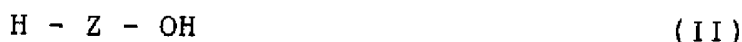
Shora uvedené aminokyseliny mohou být v několika enantiomerních formách, všechny tyto formy a také jejich směsi (například DL formy) vynález zahrnuje, například jako integrální formu sloučenin obecného vzorce I podle vynálezu. Kromě toho mohou být aminokyseliny, například jako integrální část sloučenin obecného vzorce I, chráněny o sobě známými chránícími skupinami.



Vynález zahrnuje také takové peptidy, jejichž aminokyselínový podíl je částečně nebo plně derivatizován. "Derivatizací" se rozumí, že jsou zahrnuty také tak zvané "prodrogy", jako jsou například N-guanidinoacylderiváty Arg, β-ester Asp, N epsilon-alkanoylové, -aminoalkanoylové, -merkptoalkanoylové deriváty lysinu. Kromě toho mohou být aminokyselinové zbytky částečně C-alfa-alkylovány nebo například pro diagnostické účely značeny isotopy. Zahrnuty jsou dále sloučeniny obecného vzorce I, které jsou v postranních řetězcích stavebních kamenů X a Y přídatně derivatizovány aminoskupinami, karboxylovými skupinami nebo merkptoskupinami, jelikož takové deriváty jsou důležitými výchozími látkami pro výrobu výšemolekulárních konjugátů, například pro účely imunizace a pro přípravu protilátek. Kromě toho je možné používat funkčních skupin v postranním řetězci určitých aminokyselinových zbytků nebo derivatizovaných aminokyselinových zbytků pro imobilizaci peptidů na polymerních materiálech pro výrobu afinitních chromatografických sloupců nebo se využívají funkční skupiny k derivatizaci s diagnostickými pomocnými reagensy jako jsou fluoreskující substituenty.

Způsob přípravy derivátu cyklopeptidu obecného vzorce I, kde jednotlivé symboly mají shora uvedený význam, nebo jeho soli spočívá podle vynálezu v tom, že se uvolňuje ze svých funkčních derivátů zpracováním solvolizačním nebo hydrogenolyzačním činidlem,

nebo se peptid obecného vzorce II



kde znamená

- Z -Arg-Gly-Asp-X-Y-
- Gly-Asp-X-Y-Arg-
- Asp-X-Y-Arg-Gly-

-X-Y-Arg-Gly-Asp- nebo

-Y-Arg-Gly-Asp-X-

nebo reaktivní derivát tohoto peptidu zpracovává cyklizačním činidlem,

nebo se cyklopeptid, který odpovídá obecnému vzorci I, má však jednu nebo několik volných aminoskupin, kyselinových skupin a/nebo aktivovaných α -C-atomů, derivatizuje alkylací, acylací nebo esterifikací,

a/nebo se zásaditá nebo kyselá sloučenina obecného vzorce I zpracováním kyselinou nebo zásadou převádí na svoji sůl.

Shora uvedené symboly X a Y mají význam uvedený u obecných vzorců I a II, pokud není jinak vysloveně uvedeno. Používaná písmena pro jednotlivé zbytky nejsou v žádném vztahu s jednopísmenným kódem pro aminokyseliny.

Ve shora uvedených vzorcích se míní alkylem především skupina methylová, ethylová, isopropylová, n-butylová, sek.-butylová, terc.-butylová. Dále však alkyl znamená také s výhodou skupinu n-pentylovou, isopentylovou, neopentylovou, n-hexylovou, n-heptylovou, n-oktylovou, n-nonylovou, n-decylovou nebo n-hexadecylovou.

Symbol X znamená s výhodou skupinu Phe, avšak také s výhodou skupinu D-Phe a také s výhodou skupinu Phe(4-Hal) zvláště (Phe(4-F) nebo Phe(4-Cl)) jakož také homo-Phe nebo Phg, přičemž D-formy jsou stejně výhodné.

Symbol Y znamená s výhodou hydrofobní aminokyselinový zbytek, zvláště Gly, Ala, Val, Leu, Ile nebo Ile.

Vynález se týká zvláště sloučenin obecného vzorce I, kde alespoň jeden ze symbolů má shora uvedený výhodný význam.

Některé výhodné skupiny sloučenin mají dílčí obecný vzorec Ia, který spadá pod obecný vzorec I, kde však znamená

X D-Phe, Phe, D-homoPhe, homoPhe, D-Phg, Phg, Phe(4-F), D-Phe(4-F), D-Phe(4-Cl) nebo Phe(4-Cl) a

Y Nle, hPro, Ahds, Aos, Nhdg, Acha, Aib, Acpa, Tle, Ala, Leu nebo Ile, přičemž jsou D a L formy stejně výhodné.

Další výhodné skupiny sloučenin mají dílčí obecný vzorec Ib, který spadá pod obecný vzorec I, kde však znamená

X D-Phe nebo Phe a

Y Ahds, hPro, Aos, Nhdg, Acha, Aib, Acpa nebo Tle, přičemž jsou D a L formy stejně výhodné,

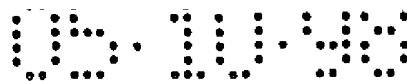
a všechny aminokyselinové zbytky Arg, Gly nebo Asp jsou v přírodní L-konfiguraci.

Další výhodné skupiny sloučenin mají dílčí obecný vzorec Ic, který spadá pod dílčí obecný vzorec Ia a Ib jakož také I, kde však jen jeden z aminokyselinových zbytků X a Y je v D-formě, zatímco všechny ostatní jsou v L-konfiguraci.

Dále jsou obzvláště výhodné všechny fyziologicky vhodné soli sloučenin dílčích obecných vzorců Ia, Ib a Ic.

Sloučeniny obecného vzorce I a také výchozí látky pro jejich přípravu se připravují o sobě známými způsoby, které jsou popsány v literatuře (například Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, Georg Thieme-Verlag, Stuttgart) za reakčních podmínek, které jsou pro uvedené reakce známé a vhodné. Je také možné používat blíže nepopsaných obměn takových způsobů.

Výchozí látky se popřípadě připravují in situ, takže se z reakční směsi neizolují, nýbrž se reakční směsí ihned použi-



vají pro přípravu sloučenin obecného vzorce I.

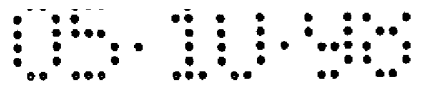
S výhodou se sloučeniny obecného vzorce I mohou připravovat tak, že se uvolňují ze svých funkčních derivátů solvolýzou zvláště hydrolýzou nebo hydrogenolýzou.

Pro solvolýzu nebo pro hydrogenolýzu jsou jako výchozí látky vhodné sloučeniny, které mají místo jedné nebo několika volných aminoskupin a/nebo hydroxylových skupin odpovídající chráněné aminoskupiny a/nebo hydroxylové skupiny, s výhodou sloučeniny, které místo jednoho H-atomu, který je spojen s N-atomem mají skupinu chránící aminoskupinu, například sloučeniny, které odpovídají obecnému vzorci I, avšak místo NH_2 skupiny mají skupinu NHR' (kde R' znamená skupinu chránící aminoskupinu, například skupinu BOC nebo CBZ).

Dále jsou jako výchozí látky vhodné sloučeniny, které místo H-atomů hydroxylové skupiny mají skupinu chránící hydroxylovou skupinu, například sloučeniny, které odpovídají obecnému vzorci I, avšak místo hydroxyfenylové skupiny mají $\text{R}''\text{O}$ -fenylovou skupinu (kde R'' znamená skupinu chránící hydroxylovou skupinu).

V molekule výchozí látky může být také několik stejných nebo různých skupin chránících aminoskupinu a/nebo hydroxyskupinu. Pokud molekula obsahuje navzájem odlišné chránící skupiny, mohou se v mnoha případech tyto chránící skupiny selektivně odštěpovat.

Výraz "skupina chránící aminoskupinu" je obecně znám a jde o skupiny, které jsou vhodné k ochraně (k blokování) aminoskupiny před chemickými reakcemi, které jsou však snadno odstranitelné, když je žádoucí reakce na jiném místě molekuly provedena. Typické pro takové skupiny jsou zvláště nesubstituované nebo substituované skupiny acylové, arylové, aralkoxy-



methylové nebo aralkylové. Jelikož se skupiny, chránící aminoskupinu, po žádoucí reakci (nebo po sledu reakcí) odstraňují, nemá jejich druh a velikost rozhodující význam. Výhodnými jsou však skupiny s 1 až 20 a zvláště s 1 až 8 atomy uhlíku. Výraz "acylová skupina" je zde vždy míněn v nejširším slova smyslu. Zahrnuje acylové skupiny odvozené od alifatických, aralifatických, aromatických nebo heterocyklických karboxylových nebo sulfonových kyselin, jakož zvláště skupiny alkoxykarbonylové, aryloxykarbonylové a především aralkoxykarbonylové. Jakožto příklady takových acylových skupin se uvádějí skupiny alkanoylové jako acetylová, propionyllová; butyrylová skupina; aralkanoylové jako fenylacetylová skupina; aroylové jako benzoylová nebo toluylová skupina; aryloxyalkanoylové jako fenoxycetylová skupina (POA); alkoxykarbonylové, jako skupina methoxykarbonylová, ethoxykarbonylová, 2,2,2-trichlorethoxykarbonylová, terc.-butoxykarbonylová (BOC), 2-jodethoxykarbonylová; aralkoxykarbonylové jako skupina benzyloxykarbonylová ("karbobenzoxy"-CBZ), 4-methoxybenzyloxykarbonylová nebo 9-fluorenylmethoxykarbonylová (Fmoc) skupina a arylsulfonylové jako skupina 4-methoxy-2,3,6-trimethylfenylsulfonylová (Mtr). Výhodnými skupinami, chránícími aminoskupinu, jsou skupiny BOC a Mtr a také skupina CBZ, Fmoc, benzylová a acetylová skupina.

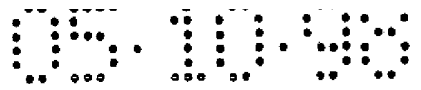
Výraz "skupina chránící hydroxyskupinu" je obecně rovněž znám a jde o skupiny, které jsou vhodné k ochraně (k blokování) hydroxyskupiny před chemickými reakcemi, které jsou však snadno odstranitelné, když je žádoucí reakce na jiném místě molekuly provedena. Typické pro takové skupiny jsou shora uvedené nesubstituované nebo substituované skupiny arylové, aralkylové nebo acylové dále také skupiny alkylové. Jelikož se skupiny, chránící hydroxyskupinu, po žádoucí reakci (nebo reakčním sledu) odstraňují, nemá jejich druh a velikost rozhodující význam. Výhodnými jsou však skupiny s 1 až 20 a zvláště s 1 až 10 atomy uhlíku. Jakožto příklady skupin chránících hydroxylovou skupinu, se uvádějí skupina benzylová, p-nitro-

benzylová, p-toluensulfonylová terc.-butylová a acetylová, přičemž jsou obzvláště výhodnými skupina benzylová a terc.-butylová. Skupiny COOH v asparagové a v glutamové kyselině jsou především chráněny ve formě svých terc.-butylesterů (například Asp(OBut)).

Jakožto výchozí látky používané funkční deriváty sloučenin obecného vzorce I se mohou připravovat o sobě známými způsoby přípravy aminokyselin a peptidů, které jsou popsány ve standardních publikacích a v patentové literatuře, například také způsobem na pevné fázi podle Merrifielda (například B.F. Gysin a R.B. Merrifield, J. Am. Chem. Soc. 94, od str. 3102, 1972).

Uvolňování sloučenin obecného vzorce I z jejich funkčních derivátů se daří - podle použité chránicí skupiny - například silnými kyselinami, jako je zvláště kyselina trifluoroctová a chloristá avšak také jinými silnými anorganickými kyselinami, jako je kyselina chlorovodíková nebo sírová, silnými organickými karboxylovými kyselinami, jako je trichloroctová kyselina nebo sulfonovými kyselinami, jako je kyselina benzen-sulfonová nebo p-toluensulfonová. Je možné, nikoliv však vždy nutné provádět reakci v přítomnosti přídavných rozpouštědel.

Jakožto inertní rozpouštědla jsou vhodné organické například karboxylové kyseliny, jako je kyselina octová, ethery, jako je tetrahydrofuran (THF) nebo dioxan, amidy, jako je dimethylformamid (DMF), halogenované uhlovodíky, jako je dichlormethan, dále také alkoholy, jako je methanol, ethanol nebo isopropanol jakož také voda. V úvahu mohou přicházet také směsi těchto rozpouštědel. Kyseliny trifluoroctové se s výhodou používá v nadbytku bez přísady dalších rozpouštědel, kyseliny chloristé ve formě směsi kyseliny octové a 70% kyseliny chloristé v poměru 9 : 1. Reakční teplota pro odštěpení je účelně přibližně 0 až přibližně 50 °C, s výhodou 15 až 30 °C



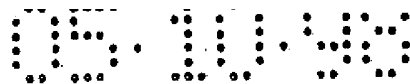
(teplota místnosti).

Skupina BOC, OBut a Mtr se může například s výhodou odštěpovat kyselinou trifluoroctovou v dichlormethanu nebo přibližně 3 až 5n kyselinou chlorovodíkovou v dioxanu při teplotě 15 až 30 °C, zatímco skupina FMOC přibližně 5 až 50% roztokem dimethylaminu, diethylaminu nebo piperidinu v dimethylformamidu při teplotě 15 až 30 °C.

Hydrogenolyticky odstranitelné chránící skupiny (například skupiny CBZ nebo skupina benzylová) se mohou odštěpovat například zpracováním vodíkem v přítomnosti katalyzátoru (například katalyzátoru na bázi ušlechtilého kovu, jako palladium, účelně na nosiči, jako na uhlí). Jakožto rozpouštědlo se hodí shora uvedená rozpouštědla, zvláště například alkoholy, jako methanol nebo ethanol nebo amidy jako dimethylformamid. Hydrogenolýza se zpravidla provádí při teplotě přibližně 0 až 100 °C, za tlaku přibližně 0,1 až 20 MPa, s výhodou při teplotě 20 až 30 °C, za tlaku přibližně 0,1 až 1 MPa. Hydrogenolýza CBZ skupiny se daří například dobře na 5 až 10% palladiu na uhlí v methanolu, nebo za použití amoniumformátu (místo vodíku) na palladiu na uhlí v systému methanol/dimethylformamid při teplotě 20 až 30 °C.

Sloučeniny obecného vzorce I se mohou také získat cyklizací sloučenin obecného vzorce II za podmínek peptidové syntézy. Přitom se účelně pracuje za o sobě známých způsobů peptidové syntézy popsané v literatuře (například Houben-Weyl 1.c., svazek 15/II, str. 1 až 806, 1974).

Reakce se daří s výhodou v přítomnosti dehydratizačního činidla vybraného ze souboru zahrnujícího například karbodiimid, jako jsou DCCL nebo EDCL, dále anhydrid propanfosfonové kyseliny (Angew. Chem. 92, str.129, 1980), difenylfosforylazid a 2-ethoxy-N-ethoxykarbonyl-1,2-dihydrochinolin, v inertním rozpouštědle, jako je například halogenovaný uhlovodík, jako



dichlormethan; ether jako tetrahydrofuran nebo dioxan; amid, jako dimethylformamid nebo dimethylacetamid; nitril, jako acetonitril nebo ve směsi těchto rozpouštědel, při teplotě přibližně -10 až $+40$ °C, s výhodou 0 až 30 °C. K podpoře intramolekulární cyklizace před intramolekulární peptidovou vazbou je účelné pracovat ve zředěných roztocích (princip ředění).

Místo sloučeniny obecného vzorce II se mohou pro reakci používat také vhodné reaktivní deriváty těchto sloučenin, například deriváty, ve kterých jsou reaktivní skupiny přechodně blokovány chránícími skupinami. Deriváty aminokyselin obecného vzorce II se mohou například používat ve formě svých aktivních esterů, které se účelně vytvářejí in situ, například přísadou HOBt nebo N-hydroxyskucininimidu.

Výchozí látky obecného vzorce II jsou zpravidla nové. Mohou se připravovat o sobě známými způsoby, například shora zmíněnými způsoby peptidové syntézy a odštěpením chránící skupiny.

Zpravidla se nejdříve připravuje chráněný pentapeptidový ester obecného vzorce $R'-Z-OR''$, například BOC-Z-OMe nebo BOC-Z-OEt, který se nejdříve zmýdelní za získání kyselin obecného vzorce $R'-Z-OH$, například BOC-Z-OH. Z této kyseliny se odštěpí chránící skupina R' za získání volného peptidu obecného vzorce H-Z-OH (II).

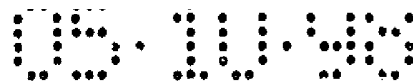
Derivatizace cyklopeptidu, který jako takový odpovídá sloučenině obecného vzorce I, se rovněž provádí o sobě známými způsoby, které jsou popsány pro alkylation aminů, esterifikaci karboxylových kyselin nebo nukleofilní substituci na alifatických atomech uhlíku v každé cvičebnici organické chemie (například J. March, Adv. Org. Chem. John Wiley & Sons, N.Y.1985).

Zásada obecného vzorce I se může kyselinou převádět na

příslušnou adiční sůl s kyselinou. Pro tuto reakci přicházejí v úvahu zvláště kyseliny, které poskytují fyziologicky nezávadné soli. Může se používat anorganických kyselin, jako jsou kyselina sírová, dusičná, halogenovodíkové kyseliny, jako chlorovodíková nebo bromovodíková, fosforečné kyseliny, jako kyselina ortofosforečná, sulfaminová kyselina a organické kyseliny, zvláště alifatické, alicyklické, aralifatické, aromatické nebo heterocyklické jednosytné nebo několikasytné karboxylové, sulfonové nebo sírové kyseliny, jako jsou kyselina mravenčí, octová, propionová, pivalová, diethyloctová, malonová, jantarová, pimelová, fumarová, maleinová, mléčná, vinná, jablečná, benzoová, salicylová, 2-fenylpropionová, nebo 3-fenylpropionová, citronová, glukonová, askorbová, nikotinová, isonikotinová, methansulfonová, ethansulfonová, ethandisulfonová, 2-hydroxyethansulfonová, benzensulfonová, p-toluensulfonová, naftalenmonosulfonová a naftalendisulfonová a laurylsírová kyselina. Solí s kyselinami, které nejsou fyziologicky nezávadné, například pikráty, se může používat pro izolaci a/ nebo pro čištění sloučenin obecného vzorce I.

Na druhé straně se kyseliny obecného vzorce I mohou převádět na své fyziologicky vhodné soli kovové nebo amoniové reakcí se zásadou. Jakožto obzvláště výhodné se uvádějí soli sodné, draselné, hořečnaté, vápenaté a amoniové a také substituované amoniové soli, například sůl dimethylamoniová, diethylamoniová nebo diisopropylamoniová, monoethanolamoniová, diethanolamoniová, triethanolamoniová, cyklohexylamoniová a di-cyklohexylamoniová a dibenzylethylendiamoniová a také například soli s N-methyl-D-glukaminem nebo s argininem nebo s lysinem.

Nové sloučeniny obecného vzorce I a jejich fyziologicky vhodné soli se mohou používat pro výrobu farmaceutických prostředků, přičemž se spolu s alespoň jedním nosičem nebo pomocnou látkou a popřípadě s alespoň jednou další účinnou látkou



převádějí na vhodnou dávkovací formu.

Těchto prostředků podle vynálezu se může používat jakožto léčiv v humánní a ve veterinární medicíně. Jakožto nosiče přicházejí v úvahu anorganické nebo organické látky, které jsou vhodné pro enterální (například orální nebo rektální), pro parenterální (například intervenozní vstříkávání) nebo pro lokální (například topické, dermální, oftalmické nebo nasální) podávání a pro podávání ve formě inhalačních sprejů a které nereagují se sloučeninami obecného vzorce I podle vynálezu, jako jsou například voda, vodné isotonické roztoky chloridu sodného, nižší alkoholy, rostlinné oleje, benzylalkoholy, polyethylenglykoly, glycerintriacetát a jiné glyceridy mastných kyselin, želatina, sojový lecithin, glycidy, jako laktosa nebo škroby, stearát hořečnatý, mastek celulóza a vaselina. Pro orální použití se hodí zvláště tablety, dražé, kapsle, sirupy, šťávy nebo kapky; zvláště lakované tablety a kapsle s povlaky odolnými působení žaludeční kyseliny, například kapslové obaly, pro rektální podání čípky, pro parenterální podání roztoky, zvláště olejové nebo vodné roztoky, dále suspenze, emulze nebo implantáty. Pro topické použití se hodí například roztoky, které jsou používány v podobě očních kapek, dále například suspenze, emulze, krémy, masti nebo komprimáty. Pro použití jako inhalační spreje se mohou používat spreje, které obsahují účinnou látku rozpuštěnou nebo suspendovanou ve hnacím plynu nebo ve směsi hnacích plynů (například oxid uhličitý nebo náhražky fluorchlorovaných uhlovodíků). Pro tento účel se účinná látka používá s výhodou v mikronizované formě, přičemž se může přidávat alespoň jedno přídatné fyziologicky vhodné rozpouštědlo, například ethanol. Inhalační roztoky se mohou podávat pomocí o sobě známých inhalátorů. Sloučeniny podle vynálezu se také mohou lyofilizovat a získaných lyofilizátů se může například používat pro přípravu vstříkovatelných prostředků. Injekce se mohou podávat také ve formě bolusu nebo kontinuální infuzí (například intravenozní, intramuskulární, subkutanní nebo



intrathekální). Prostředky se mohou sterilovat a/nebo mohou obsahovat pomocné látky, jako jsou činidla konzervační, stabilizační činidla a/nebo smáčedla, emulgátory, soli k ovlivnění osmotického tlaku, pufrů, barviva, chuťové přísady a/nebo aromatické látky. Popřípadě, mohou obsahovat ještě jednu další nebo ještě několik dalších účinných látek, jako jsou například vitaminy.

Sloučeniny obecného vzorce I podle vynálezu se zpravidla podávají v dávkách podobných jako známé peptidy, zvláště však podobných jako sloučeniny popsané v americkém patentovém spise číslo US-A-4 472305, s výhodou v množství 0,05 až 500 mg, především v množství 0,5 až 100 mg na dávkovací jednotku. Denní dávka je s výhodou přibližně 0,01 až 2 mg/kg tělesné hmotnosti. Určitá dávka pro každého jednotlivého jedince závisí na nejrůznějších faktorech, například na účinnosti určité použité sloučeniny, na stáří, tělesné hmotnosti, všeobecném zdravotním stavu, pohlaví, stravě, na okamžiku a cestě podání, na rychlosti vylučování, na kombinaci léčiv a na závažnosti určitého onemocnění. Výhodné je parenterální podávání.

Kromě toho se nové sloučeniny obecného vzorce I mohou používat jako integrinové ligandy pro výrobu sloupců pro afinitní chromatografii pro čistou výrobu integrinů.

Ligand, to znamená derivát peptidu obecného vzorce I, se prostřednictvím kotvicí funkce kovalentně kopuluje na polymer-
ní nosič.

Jakožto polymerní nosiče se hodí v peptidové chemii o sobě známé polymerní pevné fáze s výhodou s hydrofilními vlastnostmi, například sesítené polycukry, jako celulóza, sepharosa nebo Sephadex^R, akrylamidy, polymery na polyethylenglykolové bázi nebo tentakelpolymery^R.

Jakožto kotvící funkce, které jsou spojeny s polymerními nosiči, se hodí s výhodou lineární alkylenové řetězce se 2 až 12 atomy uhlíku, které jsou jedním koncem vázány přímo na polymer a na druhém konci mají funkční skupinu, například hydroxylovou skupinu, aminoskupinu, merkaptoskupinu, maleinimidoskupinu nebo skupinu $-COOH$ a jsou vhodné k vazbě s C nebo s N zakončením každého peptidu.

Přitom je možné, aby byl peptid přímo nebo rovněž prostřednictvím druhé kotvící funkce vázán s kotvou polymeru. Kromě toho je možné, aby peptidy, aminokyselinové zbytky s funkcionalizovanými postranními řetězci byly vázány prostřednictvím této kotvící funkce polymeru.

Nadto mohou určité zbytky aminokyselin, které jsou podílem peptidu obecného vzorce I, být ve svých postranních řetězcích tak modifikovány, že jsou k dispozici k zakotvení prostřednictvím například skupiny SH, OH, NH_2 nebo $COOH$ s kotvou polymeru.

Přitom jsou možné neobvyklé aminokyseliny, například deriváty fenylalaninu, které mají v poloze 4 fenylového kruhu merkpto-, hydroxy-, amino- nebo karboxyalkylový řetězec, přičemž jsou funkční skupiny na konci řetězce.

Jakožto příklady aminokyselinových zbytků, jejichž postranní řetězce slouží přímo jako kotvící funkce, se uvádějí Lys, Arg, Asp, Asn, Glu, Gln, Ser, Thr, Cys nebo Tyr.

Jakožto příklady N-koncového zakotvení se uvádějí zbytky $-CO-C_nH_{2n}-NH_2$, $-CO-C_nH_{2n}-OH$, $-CO-C_nH_{2n}-SH$, nebo $-CO-C_nH_{2n}-COOH$, kde znamená n 2 až 12, přičemž délka alkylenového řetězce nemá rozhodující význam a alkylenový řetězec může být popřípadě nahrazen také například odpovídajícím arylovým nebo alkylarylovým zbytkem.

Jakožto příklady C-koncového zakončení se uvádějí zbytky $-O-C_nH_{2n}-SH$, $-O-C_nH_{2n}-OH$, $-O-C_nH_{2n}-NH_2$, $-O-C_nH_{2n}-COOH$, $-NH-C_nH_{2n}-SH$, $-NH-C_nH_{2n}-OH$, $-NH-C_nH_{2n}-NH_2$ nebo $-NH-C_nH_{2n}-COOH$, kde pro n a pro alkylenový řetězec platí shora uvedené.

N a C-Koncová zakončení mohou sloužit také jako zakotvící stavební kameny pro již funkcionalizovaný postranní řetězec a-miokyselinového zbytku. V úvahu přicházejí příkladně aminokyselinové zbytky jako $Lys(CO-C_5H_{10}-NH_2)$, $Asp(NH-C_3H_6-COOH)$ nebo $Cys(C_3H_6-NH_2)$, přičemž je zakončení vždy vázáno na funkční skupinu postranního řetězce.

Výroba materiálů pro afinitní chromatografii pro čištění integrinů se provádí za podmínek běžných pro kondenzaci aminokyselin, je o sobě známá a je popsána již v odstavci týkajícího se způsobu přípravy sloučeniny obecného vzorce I.

Vedle použití cyklopeptidů k imobilizaci na polymerních materiálech pro výrobu sloupců pro afinitní chromatografii je možné využívat sloučenin s jejich funkčními postranními řetězci k další derivatizaci s diagnostickými pomocnými reagensy, například s fluoreskujícími substituenty.

Je také možné zavádět do postranních řetězců zbytků X a Y přidavně funkční skupiny jako aminoskupiny, merkaptoskupiny nebo karboxylové skupiny, jejichž prostřednictvím se pak mohou připravovat konjugáty s proteiny nebo s jinými vysokomolekulárními látkami, například pro imunizační účely a/nebo pro výrobu protilátek.

Vynález objasňují, nijak však neomezují následující příklady praktického provedení. Teploty se udávají vždy ve °C. Výraz "obvyklé zpracování" v následujících příkladech praktického provedení znamená: Popřípadě se přidává voda, reakční směs se popřípadě neutralizuje, extrahuje se etherem nebo di-



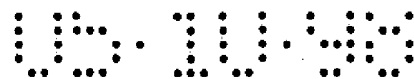
chlormethanem, produkt se oddělí, organické fáze se vysuší síranem sodným, odpaří se a čistí se chromatografií na silikage-lu a/nebo krystalizací. RZ = retenční doba (v minutách). Ana-lýza se provádí chromatografií HPLC na sloupci Lichrosorb^R RP select B (7 μm)-250x4 mm. Eluční činidlo A: 0,3 % TFA ve vodě, eluční činidlo B: 0,3 % TFA v systému 2-propanol/voda (8:2), gradient: 1 až 99 % B v 50 min. při 1 ml/min. Tok a detekce při 215 nm. M⁺ = molekulární pík ve hmotovém spektru, získáno metodou "bombardování rychlými atomy" (FAB).

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Roztok 1,1 g H-Arg(Mtr)-Gly-Asp(OBut)-D-Phe-hPro-ONa [zís-katelného například z Fmoc-NMe-Arg(Mtr)-Gly-Asp(OBut)-D-Phe-hPro-O-Wang, přičemž -O-Wang znamená při modifikované Merri-fieldově technice používaný zbytek 4-oxymethylfenoxymethylpo-lystyrolové pryskyřice, odštěpením Fmoc-skupiny systémem pipe-ridin/dimethylformamid a odštěpením pryskyřice systémem kyse-lina trifluoroctová/dichlormethan (1:1)] v 15 ml dimethylform-amidu se zředí 85 ml dichlormethanu a smíchá se s 50 mg hydro-genuhličitanu sodného. Po ochlazení ve směsi suchý led/acetone se přidá 40 μl difenylfosforylazidu. Nechá se stát po dobu 16 hodin při teplotě místnosti a roztok se zahustí. Koncentrát se podrobí gelové filtraci (sloupec Sephadexu G10 v systému iso-propanol/voda 8:2) a čistí se obvyklým způsobem chromatografií HPLC. Po zpracování systémem trifluoroctová kyselina/voda (98:2) se získá cyklo-(Arg-Gly-Asp-D-Phe-hPro), RZ = 18,5, FAB-MS (M+H):587.

Podobně se získají cyklizací odpovídajících lineárních peptidů a odštěpením chránících skupin následující cyklopepti-dy:



cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-Nle); RZ = 25,3; FAB-MS (M+H): 589;
cyklo-(Arg-Gly-Asp-Phe-Ahds); RZ = 35,1; FAB-MS (M+H): 730;
cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-Ahds); RZ = 35,4; FAB-MS (M+H): 730;
cyklo-(Arg-Gly-Asp-Phe-DAhds); RZ = 35,7; FAB-MS (M+H): 730;

cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-Aos);
cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-DAos);
cyklo-(Arg-Gly-Asp-Phe-DAos);

cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-Nhdg); RZ = 36,7; FAB-MS (M+H): 758;
cyklo-(Arg-Gly-Asp-Phe-Nhdg); RZ = 36,5; FAB-MS (M+H): 758;
cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-DNhdg); FAB-MS (M+H): 758;
cyklo-(Arg-Gly-Asp-Phe-DNhdg); FAB-MS (M+H): 758;

cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhg-Nhdg);
cyklo-(Arg-Gly-Asp-Phg-Nhdg);
cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhg-DNhdg);
cyklo-(Arg-Gly-Asp-Phg-DNhdg);

cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-Acha); RZ = 25,2; FAB-MS (M+H): 601;
cyklo-(Arg-Gly-Asp-Phe-Acha); FAB-MS (M+H): 601;
cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-DAcha); FAB-MS (M+H): 601;
cyklo-(Arg-Gly-Asp-Phe-DAcha); FAB-MS (M+H): 601;

cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-Aib); FAB-MS (M+H): 575;
cyklo-(Arg-Gly-Asp-Phe-Aib); RZ = 36,5; FAB-MS (M+H): 575;
cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-DAib); FAB-MS (M+H): 575;
cyklo-(Arg-Gly-Asp-Phe-DAib); FAB-MS (M+H): 575;

cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-Acpa); RZ = 17,1; FAB-MS (M+H): 587;
cyklo-(Arg-Gly-Asp-Phe-Acpa); FAB-MS (M+H): 587;
cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-DAcpa); FAB-MS (M+H): 587;
cyklo-(Arg-Gly-Asp-Phe-DAcpa); FAB-MS (M+H): 587;

cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-Tle); RZ = 19,1; FAB-MS (M+H): 589;



cyklo-(Arg-Gly-Asp-Phe-Tle); FAB-MS (M+H): 589;
cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-DTle); FAB-MS (M+H): 589;
cyklo-(Arg-Gly-Asp-Phe-DTle); FAB-MS (M+H): 589;

cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-(4-Cl)-Tle); RZ = 23,2; FAB-MS(M+H):623;
cyklo-(Arg-Gly-Asp-Phe-(4-Cl)-Tle); FAB-MS (M+H): 623;
cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-(4-Cl)-DTle); FAB-MS (M+H): 623;
cyklo-(Arg-Gly-Asp-Phe-(4-Cl)-DTle); FAB-MS (M+H): 623;

cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-(4-F)-Tle); RZ = 20,2; FAB-MS(M+H):607;
cyklo-(Arg-Gly-Asp-Phe-(4-F)-Tle); FAB-MS (M+H): 607;
cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-(4-F)-DTle); FAB-MS (M+H): 607;
cyklo-(Arg-Gly-Asp-Phe-(4-F)-DTle); FAB-MS (M+H): 607;

Příklad 2

Roztok 0,28 g cyklo-(Arg(Mtr)-Gly-Asp-DPhe-DhPro) [získatelného cyklizací podle příkladu 1] v 8,4 ml trifluoroctové kyseliny, 1,7 ml dichlormethanu a 0,9 ml thiofenolu se nechá stát při teplotě místnosti po dobu čtyř hodin, zahustí se a po zředění vodou se suší vymražováním. Gelovou filtrací na Sephadexu G10 (systém kyselina octová/voda 1:1) a následným čištěním preparativní chromatografií HPLC za uvedených podmínek se získá cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-DhPro), FAB-MS (M+H):587.

Podobně se získají:

- z cyklo-(Arg(Mtr)-Gly-Asp-Phe-DhPro):
cyklo-(Arg-Gly-Asp-Phe-DhPro); FAB-MS (M+H), 587;
- z cyklo-(Arg(Mtr)-Gly-Asp(OBut)-DPhg-Tle):
cyklo-(Arg-NMeGly-Asp-DPhg-Tle);
- z cyklo-(Arg(Mtr)-Gly-Asp(OEt)-DPhg-hPro):
cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhg-hPro);



z cyklo-(Arg(Mtr)-Gly-Asp-Phg-DAhds):
cyklo-(Arg-Gly-Asp-Phg-DAhds);

z cyklo-(Arg(Mtr)-Gly-Asp-DPhg-Acpa):
cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhg-Acpa);

z cyklo-(Arg(Mtr)-Gly-Asp-DPhg-Aos):
cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhg-Aos).

Příklad 3

Rozpustí se 80 mg cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-hPro) [získatelného cyklizací podle příkladu 1] pět až šestkrát v 0,01 M kyselíně chlorovodíkové a po každém rozpuštění se suší vymrazováním. Následným čištěním chromatografií HPLC se získá cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-hPro) x HCl.

Podobně se získají:

z cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-Nle):
cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-Nle) x HCl;

z cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-Ahds):
cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-Ahds) x HCl;

z cyklo-(Arg-Gly-Asp-Phe-Ahds):
cyklo-(Arg-Gly-Asp-Phe-Ahds) x HCl.

Příklad 4

Pro výrobu afinitních fází se suspenduje 0,9 g N-maleinimido-(CH₂)₅-CO-NH-(CH₂)₃-polymeru [připravitelného kondenzací N-maleinimido-(CH₂)₅-COOH s H₂N-(CH₂)₃-polymerem] v 10 ml 0,1M natriumfosfátového pufru při hodnotě pH 7 a přidá se při teplotě 4 °C 1 ekvivalent cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe(4-N-CO(CH₂)₂SH)-h-Pro [připravitelného cyklizací H-DPhe(4-NH-BOC)-hPro-Arg-

(Mtr)-Gly-Asp-OH, odštipením chránících skupin a acylací například Cl-CO(CH₂)₂SH]. Míchá se po dobu čtyř hodin za současného zahřátí reakční směsi na teplotu místnosti, pevný zbytek se odfiltruje a promyje se dvakrát vždy 10 ml roztoku pufru (hodnota pH 7) a následně třikrát vždy 10 ml vody. Získá se cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe(4-N-CO(CH₂)₂S-3-(N-maleinimido-(CH₂)₅-CONH-(CH₂)₃-polymer)-hPro)).

Příklad 5

Podobně jako podle příkladu 4 se získá kondenzací polymeru-O-(CH₂)₃-NH₂ (obchodně dostupného) a cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe(4-N-CO(CH₂)₄-COOH-h-Pro [připravitelného kondenzací kyseliny adipové s cyklo-(Arg(Mtr)-Gly-Asp-DPhe(4-NH-BOC)-hPro) za podmínek podle příkladu 4] následující polymerní fáze: cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe(4-N-CO(CH₂)₄-CO-NH-(CH₂)₃-O-polymer)-hPro)).

Následující příklady blíže objasňují, nijak však neomezuji farmaceutické prostředky podle vynálezu:

Příklad A

Injekční ampulky

Rožtok 100 g účinné látky obecného vzorce I a 5 g dinatriumhydrogenfosfátu se ve 3 litrech dvakrát destilované vody upraví 2 n kyselinou chlorovodíkovou na hodnotu pH 6,5, sterilně se filtruje, plní se do injekčních ampulí, za sterilních podmínek se lyofilizuje a sterilně se uzavře. Každá ampule obsahuje 5 mg účinné látky.

Příklad B

Čípky

Roztaví se směs 20 g účinné látky obecného vzorce I se 100 g sojového lecithinu a 1400 g kakaového másla, vlije se do forem a nechá se ztuhnout. Každý čípek obsahuje 20 mg účinné látky.

Příklad C

Roztok

Připraví se roztok 1 g účinné látky obecného vzorce I a 9,38 g dihydrátu natriumdihydrogenfosfátu, 28,48 g dinatriumhydrogenfosfátu s 12 molekulami vody a 0,1 g benzalkoniumchloridu v 940 ml dvakrát destilované vody. Hodnota pH se upraví na 6,8, doplní se na jeden litr a steriluje se ozářením. Tohoto roztoku se může používat například jako očních kapek.

Příklad D

Mast

Smísí se 500 mg účinné látky obecného vzorce I a 99,5 g vaseliny za aseptických podmínek.

Příklad E

Tablety

Směs 100 g cyklopeptidu obecného vzorce I, 1 kg laktosy, 600 g mikrokrystalické celulózy, 600 g kukuřičného škrobu, 100 g polyvinylpyrrolidonu, 80 g mastku a 10 g stearátu hořečnatého se lisuje o sobě známým způsobem na tablety, přičemž každá tableta obsahuje 10 g účinné látky obecného vzorce I.

Příklad F

Dražé

Podobně jako podle příkladu E se lisují tablety, které se o sobě známým způsobem povléknou povlakem ze sacharosy, kukuřičného škrobu, mastku, tragantu a barviva.

Příklad G

Kapsle

Plní se 2 kg účinné látky obecného vzorce I do tvrdých želatinových kapslí, přičemž každá kapsle obsahuje 20 mg účinné látky obecného vzorce I.

Příklad H

Inhalační sprej

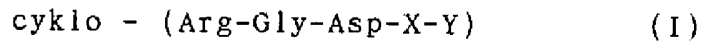
Rozpustí se 14 g účinné látky obecného vzorce I v 10 l isotonického roztoku chloridu sodného a plní se do běžných obchodních nádob pro stříkání s pumpovým mechanismem. Roztok se může stříkat do úst nebo do nosu. Každý střík (přibližně 0,1 ml) odpovídá dávce přibližně 0,14 mg.

Průmyslová využitelnost

Derivát cyklopeptidu jako inhibitor integrinu je vhodný pro výrobu farmaceutických prostředků zvláště pro profylaxi a ošetřování nemocí krevního oběhu, angiogenních nemocí, mikrobiálních infekcí a nádorů.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Derivát cyklopeptidu obecného vzorce I



kde znamená

X Cha, NaI, Phe, 2-R¹-Phe, 3-R¹-Phe, 4-R¹-Phe, homo-Phe, Phg, Thi, Trp, Tyr nebo derivát Tyr, přičemž je hydroxylová skupinu popřípadě etherifikována alkylovou skupinou s 1 až 18 atomy uhlíku, a zbytky aminokyselin jsou popřípadě derivatizovány,

R¹ skupinu NH₂, nitroskupinu, atom jodu, bromu, chloru nebo fluoru, alkylovou skupinu s 1 až 18 atomy uhlíku, Ar, Ar-O nebo ³H,

Y Gly, přičemž je popřípadě α-atom dusíku substituován skupinou R² a/nebo α-atom uhlíku je popřípadě substituován skupinou R³ a/nebo R⁴ za podmínky, že Gly je alespoň jednou shora uvedeným způsobem substituován,

Ar fenylovou skupinu popřípadě s jedním nebo se dvěma substituenty ze souboru zahrnujícího skupinu NH₂, nitroskupinu, atom jodu, bromu, chloru nebo fluoru, alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku a ³H,

R² , R³

a R⁴ na sobě nezávisle alkylovou skupinu s 1 až 18 atomy uhlíku nebo také

R² a R³ nebo

R³ a R⁴ vždy spolu dohromady také rozvětvenou nebo nerozvětvenou alkylenovou skupinu s 3 až 18 atomy uhlíku, takže buď α-atom dusíku a α-atom uhlíku spolu s alkylenovým řetězcem nebo α-atom uhlíku samotný s alkylenovým ře-

těžcem vytváří kruh,
 přičemž pokud jde o zbytky opticky aktivních aminokyselin nebo derivátů aminokyselin jsou zahrnuty jak D tak také L formy a deriváty, zvláště β-ester asparagové kyseliny nebo N-guanidin-acylderiváty asparaginu, prodrogy a jejich fyziologicky vhodné soli.

2. Enantiomer nebo diastereomer derivát cyklopeptidu podle nároku 1 obecného vzorce I.

3. Derivát cyklopeptidu podle nároku 1 obecného vzorce I volený ze souboru zahrnujícího

- (a) cyklo-(Arg-Gly-Asp-D-Phe-Nle),
- (b) cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-hPro),
- (c) cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-Tle),
- (d) cyklo-(Arg-Gly-Asp-Phe-DAhds),
- (e) cyklo-(Arg-Gly-Asp-Phe-Nhdg),
- (f) cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-Acha),
- (g) cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-(4-Cl)-Tle),
- (h) cyklo-(Arg-Gly-Asp-DPhe-(4-F)-Tle).

4. Způsob přípravy derivátu cyklopeptidu obecného vzorce I, kde jednotlivé symboly mají v nároku 1 uvedený význam, a jeho farmaceuticky vhodných solí podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se uvolňuje ze svých funkčních derivátů zpracováním solvolýzačním nebo hydrogenolyzačním činidlem, nebo se peptid obecného vzorce II



kde znamená

- Z -Arg-Gly-Asp-X-Y-
- Gly-Asp-X-Y-Arg-
- Asp-X-Y-Arg-Gly-
- X-Y-Arg-Gly-Asp- nebo
- Y-Arg-Gly-Asp-X-

nebo reaktivní derivát tohoto peptidu zpracovává cyklizačním činidlem,

nebo se cyklopeptid, který odpovídá obecnému vzorci I, má však jednu nebo několik volných aminoskupin, kyselinových skupin a/nebo aktivovaných α -C-atomů, derivatizuje alkylací, acylací nebo esterifikací,

a/nebo se zásaditá nebo kyselá sloučenina obecného vzorce I zpracováním kyselinou nebo zásadou převádí na svoji sůl.

5. Způsob výroby farmaceutického prostředku, v y z n a -
č u j í c í s e t í m, že se sloučenina obecného vzorce I
podle nároku 1 a/nebo její fyziologicky vhodná sůl zpracovává
na dávkovací formu s alespoň jedním pevným, kapalným nebo po-
lopevným nosičem nebo s pomocnou látkou.

6. Farmaceutický prostředek, v y z n a č u j í c í s e
t í m; že obsahuje jako účinnou látku alespoň jednu slouče-
ninu obecného vzorce I podle nároku 1 a/nebo její fyziologicky
vhodnou sůl.

7. Použití sloučeniny obecného vzorce I podle nároku 1
a její fyziologicky vhodné soli pro výrobu léčiva pro potírání
nemocí.

8. Použití sloučeniny obecného vzorce I podle nároku 1
a její fyziologicky vhodné soli pro boj proti nemocem.

9. Použití sloučeniny obecného vzorce I podle nároku 1
k výrobě imobilizovaných ligandů pro afinitní sloupcovou chro-
matografii.

10. Použití sloučeniny obecného vzorce I podle nároku 1
pro čištění integrinů afinitní sloupcovou chromatografií.

11