



NORGE

(12) PATENT

(19) NO

(11) 317420

(13) B1

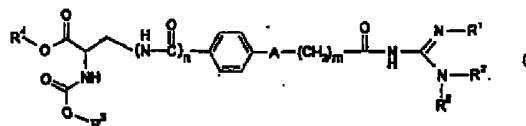
(51) Int Cl⁷

C 07 D 239/16 , A 61 K 31/505

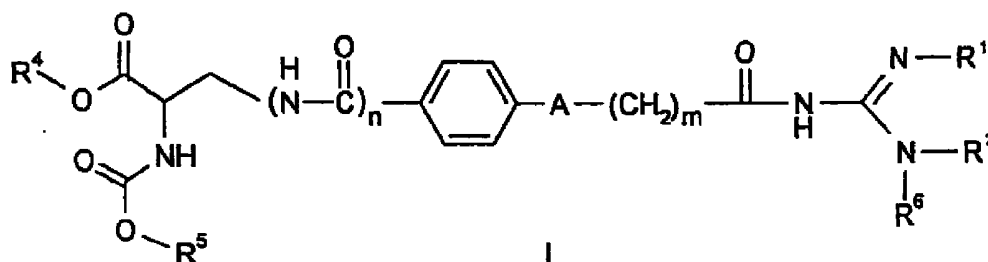
Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20003118	(86)	Innt.inng.dag og søknadsnr	1998.12.10 PCT/EP98/08051
(22)	Inng.dag	2000.06.16	(85)	Videreføringsdag	2000.06.16
(24)	Løpedag	1998.12.10	(30)	Prioritet	1997.12.19, EP, 97122520
(41)	Alm.tilgj	2000.08.21			
(45)	Meddelt:	2004.10.25			
(71)	Søker	Aventis Pharma Deutschland GmbH , Brüningstrasse 50, 65929 FRANKFURT AM MAIN, DE Genentech Inc , 1 DNA Way, CA94080-4990 SOUTH SAN FRANCISCO, US			
(72)	Oppfinner	Anuschirwan Peyman, Zeilsheimer Strasse 46, D-65779 Kelkheim, DE Gerhard Breipohl, Geisenheimer Strasse 95, D-60529 Frankfurt am Main, DE Jochen Knolle, Höchster Strasse 21, D-65830 Kriftel, DE Robert McDowell, 1264 Church Street, San Francisco, CA 94114, US Jean-François Gourvest, 12, rue de la Biberonne, F-77410 Claye Souilly, FR Robert Andrew Cuthbertson., North Fitzroy, Vic, AU Napoleane Ferrara, San Francisco, CA, US Denis Carniato, 24, chemin du Val Fleuri, F-06800 Cagnes-Sur-Mer, FR Thomas Richard Gadek, 2838 Chelsea Drive, Oakland, CA 94611, US Sarah Catherine Bodary, San Bruno, CA, US Karl-Heinz Scheunemann, Liederbach, DE			
(74)	Fullmektig	Tandbergs Patentkontor AS , Postboks 7085 Majorstua, 0306 OSLO, NO			
(54)	Benevnelse	Acylguanidinderivater som inhibitorer av benresorpsjon og som vitronektinreseptorantagonister			
(56)	Anførte publikasjoner	Ingen			
(57)	Sammendrag				

Acylguanidinderivater med formel hvor R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , A, m og n har de angitte betydninger i patentkravene, og deres fysiologisk tolererbare salter. Forbindelsene med formel (I) er verdifulle farmasøytisk aktive ingredienser. De er vitronektin-reseptorantagonister og inhibitorer av benresorpsjon av osteoklaster og er f. eks. egnet for terapi eller profylakse av sykdommer som i det minste delvis forårsakes av en uønsket grad av benresorpsjon, f. eks. osteoporose. Oppfinnelsen angår dessuten fremgangsmåter for fremstilling av forbindelser med formel (I), deres anvendelse, spesielt som farmasøytisk aktive ingredienser, og farmasøytiske preparater omfattende forbindelsene.



Den foreliggende oppfinnelse angår acylguanidinderivater med den generelle formel I:



hvor R^1 , R^2 , R^4 , R^5 , R^6 , A, m og n har de nedenfor angitte betydninger, og deres fysiologisk tolererbare salter. Forbindelsene med formel I er verdifulle farmasøytisk aktive forbindelser. De er vitronektinreseptorantagonister og inhibitorer av benresorpsjon av osteoklaster og er for eksempel egnede for terapi og profylakse av sykdommer som, i det minste delvis, forårsakes av en uønsket grad av benresorpsjon, for eksempel osteoporose. Oppfinnelsen angår videre en fremgangsmåte for fremstilling av forbindelser med formel I, deres anvendelse, spesielt som farmasøytisk aktive ingredienser, og farmasøytiske preparater omfattende disse.

Human bensubstans utsettes for en konstant dynamisk renovasjonsprosess som omfatter benresorpsjon og bendannelse. Disse prosesser kontrolleres av celletyper som er spesialisert for disse forhold. Benresorpsjon er basert på nedbrytning av benmatriks av osteoklaster. Majoriteten av bensykdommer er basert på en forstyrret likevekt mellom bendannelse og benresorpsjon. Osteoporose er en sykdom som er kjennetegnet ved lav benmasse og økt benskjørhet som resulterer i en økt risiko for brudd. Den resulterer fra en svikt i ny bendannelse i forhold til benresorpsjon under den pågående remodelleringsprosess. Konvensjonell osteoporosebehandling inkluderer for eksempel administrering av bifosfonater, østrogen, østrogen/progesteron (hormonerstatnings-terapi) eller HRT), østrogenagonister/antagonister (selektive østrogen reseptormodulatorer eller SERM), kalsitonin, vitamin D-analoger, paratyreoidhormon, veksthormon-utskillende midler eller natriumfluorid (Jardine et al., Annual Reports in Medicinal Chemistry 1996, 31, 211).

Aktiverte osteoklaster er polynukleære celler med en diameter på opptil 400 μm som fjerner benmatriks. Aktiverte osteoklasters blir bundet til overflaten av benmatriks og utskiller proteolytiske enzymer og syrer inn i den såkalte "forseglingssone", området mellom deres cellemembran og benmatriks. Det sure miljø og proteasene forårsaker nedbrytningen av bensubstansen. Forbindelsene med formel I inhiberer benresorpsjon av osteoklaster.

Undersøkelser har vist at bindingen av osteoklaster til bensubstans kontrolleres av integrinreseptorer på celleoverflaten av osteoklaster. Integriner er en superfamilie av reseptorer som inkluderer, inter alia, fibrinogenreseptoren $\alpha_{11b}\beta_3$ på blodplatene og vitronektinreseptoren $\alpha_v\beta_3$. Vitronektinreseptoren $\alpha_v\beta_3$ er et membran-
 5 glykoprotein som uttrykkes på celleoverflaten av et antall celler, slik som endotelceller, celler i den vaskulære, glatte muskulatur, osteoklaster og tumorceller. Vitronektinreseptoren $\alpha_v\beta_3$, som uttrykkes på osteoklastmembranen, kontrollerer prosessen med binding til bensubstansen og benresorpsjon og bidrar således til osteoporose. $\alpha_v\beta_3$ bindes i dette tilfellet til benmatriksproteiner, slik som osteopontin, ben-sialoprotein og
 10 trombospondin som inneholder tripeptidmotivet Arg-Gly-Asp (eller RGD).

Horton og medarbeidere beskriver RGD-peptider og et anti-vitronektinreseptor-antistoff (23C6) som inhiberer tanndestruksjon av osteoklaster og migrasjon av osteoklaster (Horton et al., Exp. Cell. Res. 1991,195, 368) J. Cell Biol. 1990, 111,1713, Sato et al. beskriver echistatin, et RGD-peptid fra slangevenom, som en
 15 potent inhibitor av benresorpsjon i en vevskultur, og som en inhibitor av osteoklastadhesjon til benene. Fisher et al. (Endocrinology 1993, 132, 1411) var i stand til å vise i rotter at echistatin også inhiberer benresorpsjon *in vivo*.

Det ble videre vist at vitronektinreseptoren $\alpha_v\beta_3$ på humane celler i den vaskulære, glatte muskulatur i aorta stimulerer migrasjonen av disse celler inn i neointima
 20 som til sist fører til arteriosklerose og restenose etter angioplasti (Brown et al., Cardiovascular Res. 1994, 28, 1815) Yue et al. (Pharmacology Reviews and Communications 1998, 10, 9 - 18) viste inhibering av neointimadannelse ved anvendelse av en $\alpha_v\beta_3$ -antagonist.

Brooks et al. (Cell 1994, 79, 1157) viste at antistoffer mot $\alpha_v\beta_3$ eller $\alpha_v\beta_3$ -antagonister kan forårsake en krymping av tumorer ved å indusere apoptose av blodkarceller under angiogenese. Vitronektinreseptoren $\alpha_v\beta_3$ er også involvert i progresjonen av forskjellige andre typer av cancer og er overuttrykt i maligne melanomceller (Engleman et al., Annual Reports in medicinal Chemistry 1996, 31, 191). Melanomenes invasjon korrelerte med denne overekspressjon (Stracke et al., Clinical Science
 30 1996, 91, 639) Carron et al (Cancer Res. 1998, 58, 1930) beskriver inhibering av tumorvekst og inhibering av ondartet hyperkalsemi ved anvendelse av en $\alpha_v\beta_3$ -antagonist.

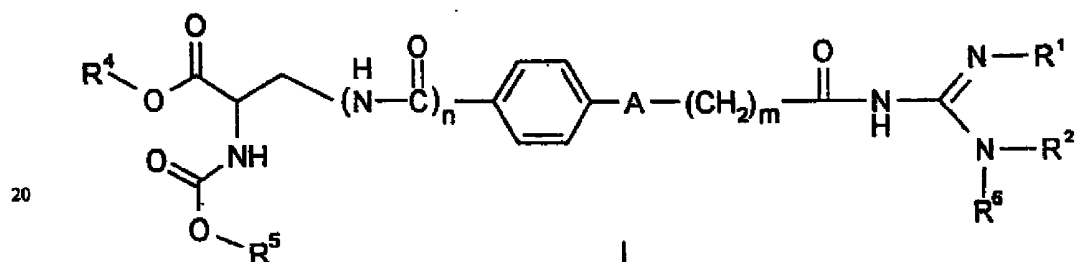
Cheresh et al. (Science 1995, 270, 1500) beskriver anti- $\alpha_v\beta_3$ -antistoffer eller $\alpha_v\beta_3$ -antagonister som inhiberer de bFGF-induserte angiogeneseprosesser i rotteøye, en egenskap som kan anvendes terapeutisk ved behandling av retinopater.
 35

Påvirkning av vitronektinreseptoren eller av interaksjonene som den er involvert i gir således mulighet til å påvirke forskjellige sykdomstilstander for hvilke det for terapi og profylakse fortsetter å eksistere et behov for egnede farmasøytisk aktive ingredienser. Patentsøknad WO-A-94/12181 beskriver substituerte aromatiske

ringsystemer, og WO-A-94/08577 beskriver substituerte heterosykliske forbindelser som fibrinogenreseptorantagonister og inhibitorer av blodplateaggregering. EP-A-528 586 og EP-A-528 587 beskriver aminoalkylsubstituerte eller heterosyklisksubstituerte fenylalaninderivater. WO-A-95/32710 beskriver arylderivater som inhibitorer av benresorpsjon av osteoklaster. WO-A-96/00574 beskriver benzodiazepiner og WO-A-96/00730 beskriver fibrinogenreseptorantagonisttemplater, spesielt benzodiazepiner, som er bundet til en nitrogeninnholdende 5-leddet ring, som vitronektinreseptorantagonister. WO-A-97/21726 beskriver midler for å fremme bendannelse, hvilke midler tilhører forskjellige klasser av forbindelser, blant disse tyrosinderivater inneholdende en usubstituert guanidigruppe. Ytterligere undersøkelser har vist at acylguanidinene med formel I er spesielt sterke inhibitorer av vitronektinreseptoren og av benresorpsjon av osteoklaster.

Med den foreliggende oppfinnelse tilveiebringes nye acylguanidinderivater med den generelle formel I:

15



20

hvor radikalene R^1 og R^2 sammen er et mettet, bivalent (C_2-C_4)-alkylenradikal;

25 R^4 er hydrogen eller (C_1-C_6)-alkyl,

R^5 er fenyl-(C_1-C_6)-alkyl,

R^6 er hydrogen,

A er CH_2 eller O,

m er 1, 2 eller 3,

30 n er 0 eller 1,

i alle deres stereoisomere former og blandinger derav i alle forhold, samt deres fysiologisk tolererbare salter.

Alkylradikalene som forekommer i substituentene, kan være rettkjedede eller forgrenede og kan være mettede eller mono-umettede eller poly-umettede. Dette gjelder også hvis de forekommer som substituenten på andre radikaler. Eksempler på egnede (C_1-C_6)-alkylradikaler er metyl, etyl, propyl, butyl, pentyl, n-isomerene av disse radikaler, isopropyl, isobutyl, isopentyl, neopentyl, isoheksyl, 3-metylpentyl, sek-butyl, tert-butyl og tert-pentyl. Foretrukne alkylradikaler er metyl, etyl, n-propyl, isobutyl, n-butyl, isobutyl, sek-butyl og tert-butyl.

35

Umettede alkylradikaler er for eksempel alkenylradikaler, slik som vinyl, 1-propenyl, allyl, butenyl og 3-metyl-2-butenyl eller alkynylradikaler som etynyl, 1-propynyl eller propargyl. Umettede alkylene-radikaler, det vil si alkenylene-radikaler (= alkendiy-radikaler) og alkynylene-radikaler (= alkyndiy-radikaler) kan likeledes være rettkjedede eller forgrenede. Eksempler på alkenylene-radikaler er vinylen og propen-
5 ylen, eksempler på alkynylene-radikaler er etnylen og propynylen.

Sykloalkylradikaler er spesielt syklopropyl, syklobutyl, syklopentyl og sykloheksyl.

I monosubstituerte feny-radikaler kan substituenten være lokalisert i 2-posisjon, 3-posisjonen eller 4-posisjonen, idet 3- og 4-posisjonen er foretrukket.
10

De to radikaler R^1 og R^2 som sammen utgjør et bivalent, mettet (C_2-C_4)-alkylene-radikal, danner sammen med de to nitrogenatomer de er bundet til og det sentrale karbonatom i guanidingruppen som disse to nitrogenatomer er bundet til, en monosyklisk 1,3-diazaheterosyklisk gruppe som er bundet til nitrogenatomet i gruppen
15 $(CH_2)_m-CO-NH$ via dens 2-posisjon.

Optisk aktive karbonatomer inneholdt i forbindelsene med formel I kan uavhengig av hverandre ha R-konfigurasjon eller S-konfigurasjon. Konfigurasjonene på forskjellige sentra kan være identiske eller forskjellige. Forbindelsene med formel I kan være til stede i form av rene enantiomerer eller diastereomerer, eller i form av enantiomerblandinger, for eksempel i form av racemater eller diastereomerblandinger.
20 Foreliggende oppfinnelse angår både rene enantiomerer og enantiomerblandinger, for eksempel racemater og diastereomerer og diastereomerblandinger. Oppfinnelsen omfatter blandinger av to eller flere enn to stereoisomerer med formel I og alle forhold mellom stereoisomerene i blandingene. Forbindelsene med formel I kan eventuelt
25 være til stede som E-isomerer eller Z-isomerer. Oppfinnelsen angår både rene E-isomerer og rene Z-isomerer og E/Z-blandinger i alle forhold. Oppfinnelsen omfatter også alle tautomere former av forbindelsene med formel I. Diastereomerer, inkludert E/Z-isomerer, kan separeres i de individuelle isomerer for eksempel kromatografi. Racemater kan separeres i de to enantiomerer ved hjelp av vanlige metoder, for eksempel
30 ved kromatografi på kirale faser eller ved oppløsning. Stereokjemisk ensartede forbindelser kan også oppnås ved å benytte stereokjemisk ensartede startforbindelser, eller ved å anvende stereoselektive reaksjoner.

Fysiologisk tolererbare salter av forbindelsene med formel I er ikke-toksiske, fysiologisk akseptable, spesielt farmasøytisk anvendelige, salter. Slike salter av
35 forbindelser med formel I som inneholder syregrupper, for eksempel karboksylsyregrupper, er for eksempel alkalimetallsalter eller jordalkalimetallsalter, slik som for eksempel natriumsalter, kaliumsalter, magnesiumsalter og kalsiumsalter, og også salter med fysiologisk tolererbare kvarternære ammoniumioner og syreaddisjonssalter med ammoniak og fysiologisk tolererbare organiske aminer, slik som for eksempel

trietylamin, etanolamin eller tris-(2-hydroksyetyl)amin. Forbindelser med formel I som inneholder basiske grupper danner syreaddisjonssalter, for eksempel med uorganiske syrer som saltsyre, svovelsyre eller fosforsyre, eller med organiske karboksylsyrer og sulfonsyrer, slik som eddiksyre, sitronsyre, benzosyre, maleinsyre, fumarsyre, vinsyre, metansulfonsyre eller p-toluensulfonsyre. Forbindelser med formel I som inneholder en basisk gruppe og en syregruppe, for eksempel guanidingruppen og en karboksylgruppe, kan være til stede som zwitterioner (betainer) som likeledes er inkludert i foreliggende oppfinnelse.

Salter av forbindelser med formel I kan fremstilles ved hjelp av vanlige metoder kjent for fagfolk, for eksempel ved å kombinere forbindelser med formel I med en uorganisk eller organisk syre eller base i et løsningsmiddel eller dispergeringsmiddel, eller fra andre salter ved kationutbytting eller anionutbytting. Foreliggende oppfinnelse inkluderer også at alle salter av forbindelsene med formel I som, på grunn av lav fysiologisk tolererbarhet, ikke er direkte egnet for anvendelse i farmasøytiske midler, men for eksempel er egnet som intermediater for utførelse av andre kjemiske modifikasjoner av forbindelsene med formel I, eller som startmaterialer for fremstilling av fysiologisk tolererbare salter.

Foreliggende oppfinnelse inkluderer dessuten alle solvater av forbindelser med formel I, for eksempel hydrater eller addukter med alkoholer, og også derivater av forbindelsene med formel I, for eksempel estere og andre fysiologisk tolererbare derivater, så vel som aktive metabolitter av forbindelsene med formel I.

I forbindelsene med formel I er radikalene R^1 og R^2 sammen et mettett, bivalent (C_2-C_4)-alkylenradikal, spesielt et (C_2-C_3)-alkylenradikal.

Foretrukne forbindelser med formel I er de forbindelser hvor ett eller flere av radikalene har foretrukne betydninger eller en spesiell av de foretrukne betydninger. Alle kombinasjoner av slike foretrukne betydninger er omfattet av foreliggende oppfinnelse. Spesielt foretrukne forbindelser med formel I er forbindelsene hvor:

R^1 og R^2 sammen er et mettett, bivalent (C_2-C_4)-alkylenradikal,

R^4 er hydrogen eller (C_1-C_4)-alkyl,

R^5 er benzyl,

R^6 er hydrogen,

A er CH_2 eller O,

m er 1, 2 eller 3,

n er 0 eller 1,

i alle deres stereoisomere former og blandinger derav i alle forhold, samt deres fysiologisk tolererbare salter.

Særlig foretrukne forbindelser med formel I er de forbindelser hvor:

R^1 og R^2 sammen er et mettett, bivalent (C_2-C_3)-alkylenradikal,

R^4 er hydrogen eller (C_1-C_4)-alkyl,

R⁵ er benzyl,
 R⁶ er hydrogen,
 A er CH₂,
 m er 1, og
 5 n er 1,

i alle deres stereoisomere former og blandinger derav i alle forhold, samt deres fysiologisk tolererbare salter.

Særlig foretrukne forbindelser med formel I er også de forbindelser hvor:

R¹ og R² sammen er et mettet, bivalent (C₂-C₃)-alkylenradikal,
 10 R⁴ er hydrogen eller (C₁-C₄)-alkyl,
 R⁵ er benzyl,
 R⁶ er hydrogen,
 A er oksygen,
 m er 1, og
 15 n er 1,

i alle deres stereoisomere former og blandinger derav i alle forhold, samt deres fysiologisk tolererbare salter.

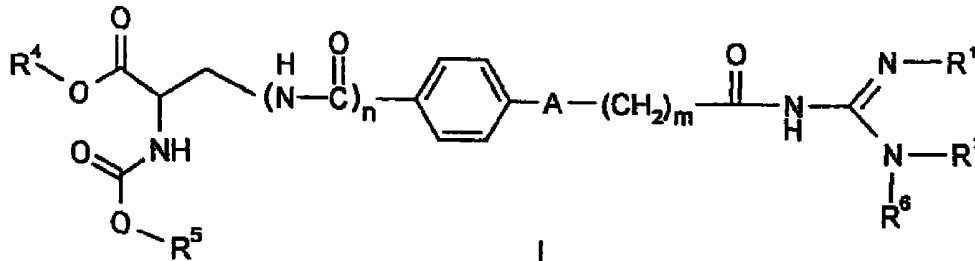
Særlig foretrukne forbindelser med formel I er videre de forbindelser hvor:

R¹ og R² sammen er et mettet, bivalent (C₂-C₃)-alkylenradikal,
 20 R⁴ er hydrogen eller (C₁-C₄)-alkyl,
 R⁵ er benzyl,
 R⁶ er hydrogen,
 A er oksygen,
 m er 3, og
 25 n er 0,

i alle deres stereoisomere former og blandinger derav i alle forhold, samt deres fysiologisk tolererbare salter.

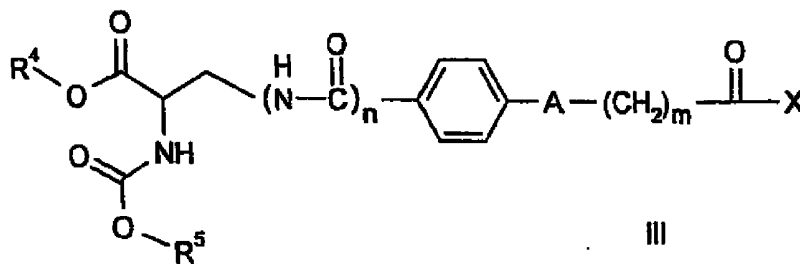
Oppfinnelsen angår også en fremgangsmåte for fremstilling av acylguanidinderivatene med formel I. Forbindelsene kan generelt fremstilles, for eksempel ved en konvergent syntese, ved binding av to eller flere fragmenter som kan være avledet retrosyntetisk fra formel I. Ved fremstilling av forbindelsene med formel I kan det generelt være fordelaktig eller nødvendig at funksjonelle grupper som ville kunne føre til uønskede reaksjoner eller sidereaksjoner i det respektive syntesetrinn, innføres i form av forløpere som senere omdannes til de ønskede funksjonelle grupper, eller at funksjonelle grupper temporært blokkeres ved en beskyttelsesgruppestrategi som er egnet for synteseproblemet, og som vil være velkjent for fagfolk (Greene og Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, Wiley, 1991).

Med oppfinnelsen tilsveiebringes således også en fremgangsmåte for fremstilling av acylguanidinderivater med den generelle formel I:

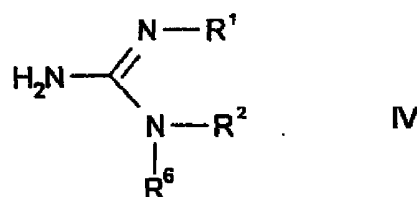


- 10 hvor radikalene R^1 og R^2 sammen er et mettet, bivalent (C_2-C_4)-alkylenradikal,
 R^4 er hydrogen eller (C_1-C_6)-alkyl,
 R^5 er fenyl-(C_1-C_6)-alkyl,
 R^6 er hydrogen,
 A er CH_2 eller O,
 15 m er 1, 2 eller 3,
 n er 0 eller 1,

i alle deres stereoisomere former og blandinger derav i alle forhold, samt deres fysiologisk tolererbare salter, ved hvilken fremgangsmåte en karboksylsyre eller et karboksylsyrederivat med den generelle formel III:



- 25
- 30 hvor R^4 , R^5 , A, n og m er som ovenfor angitt, eller alternativt funksjonelle grupper er til stede i form av forløpere eller i beskyttet form, og X er en nukleofilt substituerbar forlatende gruppe, omsettes med et guanidin eller guanidinderivat med den generelle formel IV:



hvor R^1 , R^2 og R^6 er som angitt, eller alternativt funksjonelle grupper er til stede i form av forløpere eller i beskyttet form, og det oppnådde acylguanidinderivat, om ønsket, overføres til et fysiologisk tolererbart salt.

Gruppen COX i formel III er fortrinnsvis karboksylsyregruppen COOH eller et aktivert karboksylsyrederivat. X er for eksempel hydroksylsyrederivat. X er for eksempel hydroksyl eller halogen, spesielt klor eller brom, alkoksy, fortrinnsvis metoksy eller etoksy, aryloksy, for eksempel fenoksy, pentafluorfenoksy, fenylytio, metylytio, 2-pyridyltio eller et radikal av en nitrogen-heterosyklisk gruppe bundet via et nitrogenatom, spesielt av et azol, slik som for eksempel 1-imidazolyl. X kan videre for eksempel være (C_1-C_4) -O-CO-O- eller tolylsulfonyloksy og det aktiverte syrederivat kan således være et blandet anhydrid.

Hvis X er hydroksyl, det vil si hvis guanidinet med formel IV omsettes med en karboksylsyre, så blir karboksylsyren hensiktsmessig først aktivert. Aktivering kan for eksempel utføres med disykloheksylkarbodiimid (DCCI) eller med ((cyano(etoksykarbonyl)-metylen)amino)-1,1,3,3-tetrametyluronium-tetrafluorbor (TOTU; König et al. Proc. 21st Europ. Peptide Symp. 1990 (Eds. Giralt, Andreu), Escom, Leiden 1991, s 143) eller andre vanlige aktiveringsreagenser i peptidkjemien.

Foruten de frie guanidiner med formel IV, kan guanidinsalter også benyttes i reaksjonen med forbindelsene med formel III, fra hvilke de frie guanidiner deretter fremstilles *in situ* eller i et separat trinn ved hjelp av en base. Reaksjonen av et aktivert karboksylsyrederivat med formel III med guanidinet (derivat) med formel IV utføres fortrinnsvis på kjent måte i et protisk eller aprotisk, polart men inert, organisk løsningsmiddel. I dette tilfelle metanol isopropanol, tert-butanol, dimetylformamid eller tetrahydrofuran, ved temperaturer fra 0 °C opp til koketemperaturen for disse løsningsmidler har vist seg egnet for eksempel i reaksjonen av metylesterne (X = metoksy) eller etylesterne (X = etoksy) med guanidinene. Reaksjonene av forbindelsene av typen COX med saltfrie guanidiner utføres fordelaktig i aprotiske inerte løsningsmidler, slik som dimetylformamid, tetrahydrofuran, dimetoksyetan eller dioksan, hvis nødvendig med tilsetning av en base som for eksempel kalium-tert-butoksid eller natriummetoksid. Vann kan imidlertid også anvendes som løsningsmiddel i reaksjonen av forbindelser med formel III med guanidiner, for eksempel når det anvendes en base som natriumhydroksid. Hvis X er klor utføres reaksjonen fordelaktig med tilsetning av et syrefjernende middel, for eksempel en tilsatt base eller i nærvær av overskudd av guanidin (derivat) for binding av den resulterende hydrohalogensyre. Reaksjonsblandingen opparbeides, og hvis ønskelig, renses deretter reaksjonsproduktet ved hjelp av vanlige fremgangsmåter for fagfolk. Beskyttende grupper som eventuelt fremdeles er til sted i produktene oppnådd fra forbindelsene med formel III og IV fjernes deretter ved hjelp av standard prosesser, for eksempel blir tert-butylestergrupper omdannet til karboksylsyregruppene ved behandling av trifluoreddiksyre,

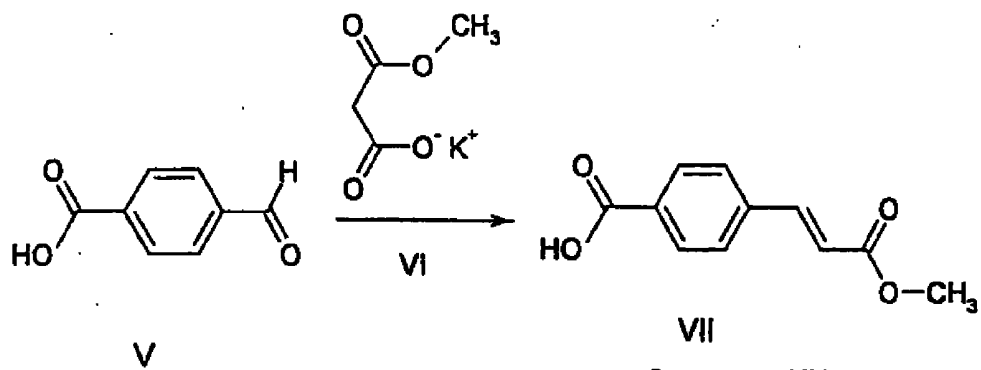
benzylgrupper fjernes ved hydrogenering eller fluorenylmetoksykarbonylgrupper fjernes ved hjelp av sekundære aminer, og ytterligere reaksjoner utføres ved hjelp av standart prosesser, for eksempel acyleringsreaksjoner. Hvis ønskelig kan omdannelse til fysiologisk tolererbare salter deretter utføres ved hjelp av kjente prosesser. Startkomponentene med formel III og IV, som sammenkobles for å gi acylguanidinderivatene med formel I, er kommersielt tilgjengelige eller kan fremstilles ved, eller analogt med, prosesser beskrevet i litteraturen. Fremstillingen av startkomponentene med formel III er illustrert som eksempel i de etterfølgende skjemaer, foreliggende oppfinnelse er ikke begrenset til disse synteser eller disse startkomponenter. Det medfører ingen problemer for fagfolk å utføre modifikasjonene av de viste synteser som nødvendig for fremstilling av andre forbindelser ifølge oppfinnelsen.

Karboksybenzaldehydet med formel V kan således for eksempel omsettes i nærvær av pyridin og piperidin, med malonsyreestersaltet med formel VI for å gi kanelsyrederivatet med formel VII, som etter hydrogenering for eksempel i nærvær av palladium på karbon for å gi forbindelser med formel VIII og aktivering av karboksylsyregruppen, kan kondenseres med 2,3-diaminopropionsyrederivatet med formel VIII for å gi forbindelsen med formel X (skjema 1). Kondensasjonen kan for eksempel utføres i nærvær av TOTU eller et annet vanlig aktiveringsmiddel for karboksylsyrer. I formel X er Z benzyloksykarbonylgruppen, men i istedenfor Z kan andre grupper være til stede på nitrogenatomet som enten kun temporært beskytter aminogruppen i 2-posisjonen, eller som også kan være til stede i forbindelsene med formel I ifølge oppfinnelsen og kan forbli i molekylet. Istedenfor tert-butylesteren kan likeledes andre estere være til stede som enten kun temporært beskytter syregruppen eller som også kan være til stede i forbindelsene med formel I ifølge oppfinnelsen, og kan forbli i molekylet. Forbindelser analoge med forbindelsen med formel VII kan også oppnås ved hjelp av andre prosesser for omdannelse av en karbonylgruppe til et alken, for eksempel ved en Wittig-reaksjon.

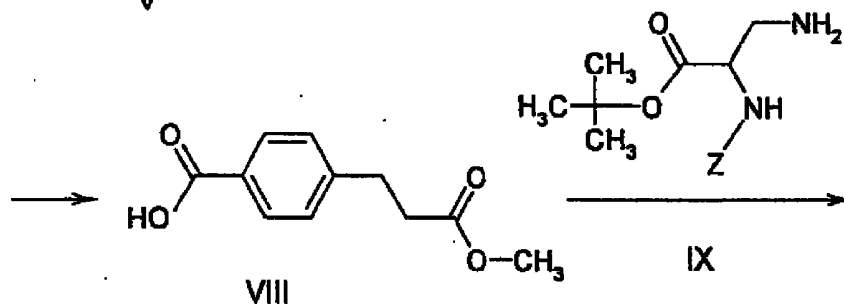
Skjema 1

5

10

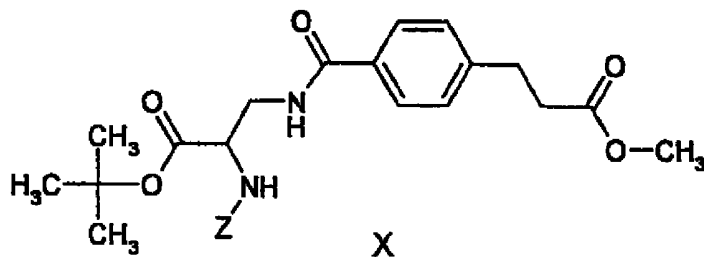


15



20

25

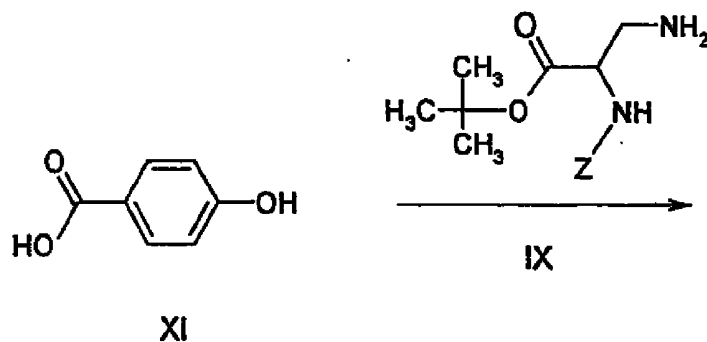


30

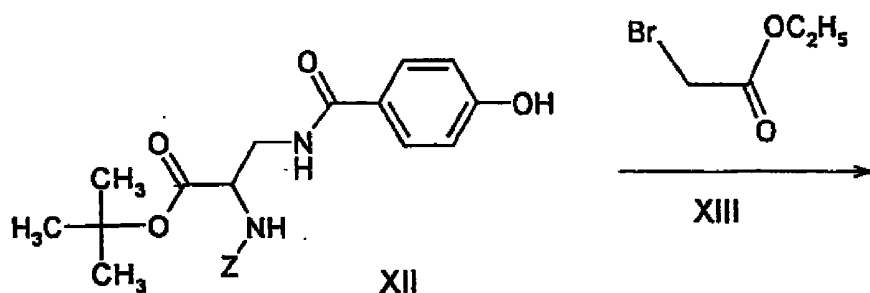
p-hydroksybenzozyn med formel XI kan kondenseres med 2,3-diaminpropionsyrederivatet med formel VIII for å gi forbindelsen med formel XII, forklaringene ovenfor gjelder for forbindelsen med formel VIII og kondensasjonen. Forbindelsen med formel XII kan alkyleres med halogenkarboksylsyrederivater under standard betingelser, for eksempel med bromeddiksyreesteren med formel XIII, for å gi forbindelsen med formel XIV (skjema 2). p-aminobenzozyn og p-merkaptobenzozyn kan omsettes tilsvarende.

Skjema 2

5

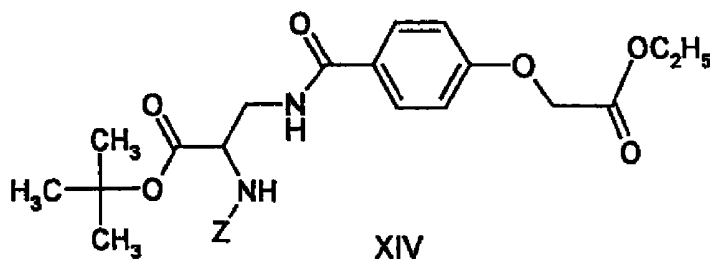


10



15

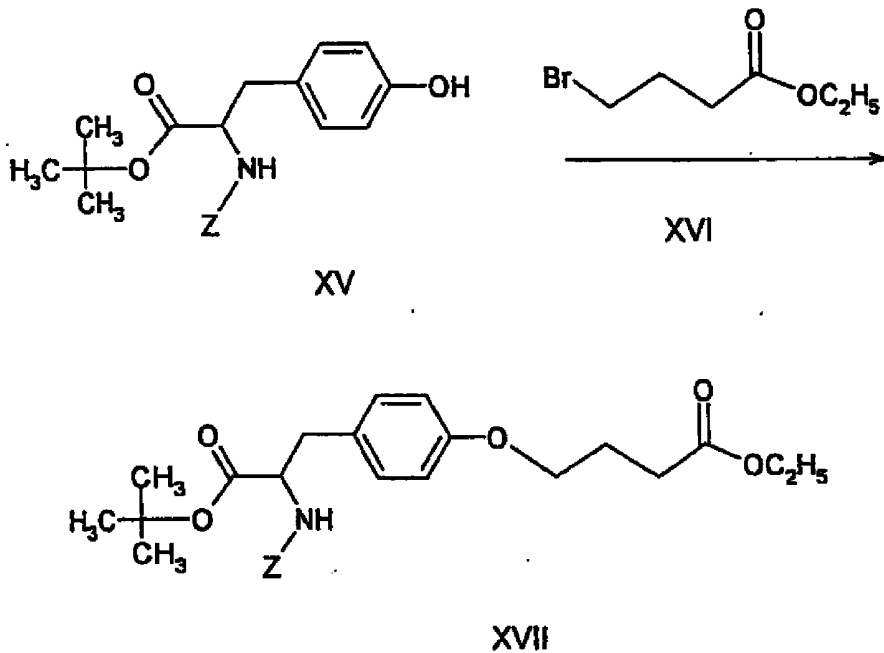
20



25

Tyrosinderivatet med formel XV kan alkyleres under standard betingelser med
 30 halogenkarboksylsyrederivater, for eksempel med bromsmørsyreesteren med formel
 XVI, for å gi forbindelsen med formel XVII (skjema 3). I formel XV er Z benzyloksy-
 karbonylgruppen, men istedenfor Z kan andre grupper være til stede på nitrogenatomet
 som enten kun temporært beskytter aminogruppen eller som også kan være til stede i
 forbindelsene med formel I ifølge oppfinnelsen og kan forbli i molekylet. Istedenfor
 35 tert-butylesteren kan likeledes andre estere være til stede som enten kun temporært
 beskytter syregruppen eller som også kan være til stede i forbindelsene med formel I
 ifølge oppfinnelsen og kan forbli i molekylet. Analoger av forbindelsene med formel
 XVII kan fremstilles tilsvarende eller analogt med de ovenfor beskrevne fremstillings-
 prosesser.

Skjema 3



Forbindelsene med formel X, XIV og XVII er eksempler på forbindelser med formel III hvori X er metoksy eller etoksy. Disse forbindelser og analoge forbindelser som oppnås fra syntesene beskrevet ovenfor inneholdende en gruppe som et aktivert karboksylsyrederivat, kan omsettes direkte med forbindelsene med formel IV. Forbindelsene oppnådd ved de ovenfor beskrevne synteser kan imidlertid også først omdannes under standardbetingelser ved spaltning av metylestergruppen eller etylestergruppen eller en annen estergruppe til stede i den aktuelle posisjon i forbindelsene med formler X, XIV og XVII til de tilsvarende karboksylsyrer som deretter omsettes med guanidinene med formel IV etter aktivering *in situ*, for eksempel med TOTU eller DCCI, eller etter omdannelse til et aktivert karboksylsyrederivat. Hvis det som aktive syrederivater for eksempel er tilsiktet å fremstille karboksylsyrekloridene (formel III, X = Cl), kan dette for eksempel utføres ved anvendelse av tionylklorid. Hvis det for eksempel er tilsiktet å fremstille metylesterne (X = metoksy) fra karboksylsyrene kan dette utføres ved behandling med gassformig hydrogenklorid i metanol. Andre aktiverte syrederivater kan fremstilles på kjent måte fra karboksylsyrekloridene eller direkte fra karboksylsyrene som de er basert på (X = OH), for eksempel imidazolidene (X = 1-midazolyl) ved behandling av syrene med karbonyldiimidazol (se Staab, Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1, 351-367 (1962)) eller de blandede anhydridene, for eksempel ved reaksjon med klormaursyreestere, slik som, etylklorformiat, eller med tosylformid i nærvær av aminer, slik som trietylammin, i et inert løsningsmiddel. Et

antall egnede metoder for fremstilling av aktiverte karboksylsyrederivater er angitt med litteraturkildedetaljer i J. March, *Advanced Organic Chemistry*, 3. utg., John Wiley & Sons, 1985, s 350.

Forbindelsene med formel I er verdifulle farmasøytisk aktive ingredienser som for eksempel er egnet for terapi og profylakse av bensykdommer, tumorsykdommer eller kardiovaskulære sykdommer. Forbindelsene med formel I og deres fysiologisk tolererbare salter kan administreres til dyr, fortrinnsvis til pattedyr, og spesielt til mennesker, som farmasøytiske midler for terapi eller profylakse. De kan administreres alene, i blandinger med hverandre eller i form av farmasøytiske preparater som tillater enteral eller parenteral administrering og som inneholder, i tillegg til vanlige farmasøytisk uskadelige bærere og/eller additiver, en effektiv dose av minst én forbindelse med formel I og/eller dens fysiologisk tolererbare salter som aktiv bestanddel.

Foreliggende oppfinnelse angår derfor også forbindelser med formel I og/eller deres fysiologisk tolererbare salter, for anvendelse som farmasøytiske midler, anvendelse av forbindelsene med formel I og/eller deres fysiologisk tolererbare salter, for fremstilling av farmasøytiske midler for terapi og profylakse av sykdommene nevnt ovenfor eller nedenfor, for eksempel for terapi og profylakse av bensykdommer eller tumorsykdommer, og også anvendelse av forbindelsene med formel I og/eller deres fysiologisk tolererbare salter for terapi og profylakse av disse sykdommer. Foreliggende oppfinnelse angår videre farmasøytiske preparater som inneholder en effektiv mengde av minst en forbindelse med formel I og/eller dens fysiologisk tolererbare salter, sammen med en vanlig farmasøytisk uskadelig bærer.

De farmasøytiske midler kan administreres oralt, for eksempel i form av piller, tabletter, lakkerte tabletter, belagte tabletter, granuler, harde og myke gelatinkapsler, løsninger, siruper, emulsjoner, suspensjoner eller aerosolblandinger. Administreringen kan også utføres rektalt, for eksempel i form av suppositorier, eller parenteralt, for eksempel intravenøst, intramuskulært eller subkutant i form av injeksjonsløsninger eller infusjonsløsninger, mikrokapsler, implantater eller staver, eller perkutant eller topisk, for eksempel i form av salver, løsninger eller tinkturer, eller på andre måter, for eksempel i form av aerosoler eller nesepriper.

De farmasøytiske preparater ifølge foreliggende oppfinnelse fremstilles på kjent måte, én eller flere farmasøytisk inerte uorganiske og/eller organiske bærere anvendes i tillegg til forbindelsen (forbindelsene) med formel I og/eller deres fysiologisk tolererbare salter. For produksjon av piller, tabletter, belagte tabletter og harde gelatinkapsler, er det for eksempel mulig å anvende laktose, maisstivelse eller derivater derav, talkum, stearinsyre eller dens salter etc. Bærere for myke gelatinkapsler og suppositorier er for eksempel fettstoffer, vokser, halvfaste og flytende polyoler, naturlige eller hervede oljer etc. Egnede bærere for produksjon av løsninger, for eksempel injeksjonsløsninger, eller emulsjoner eller siruper er for eksempel vann,

alkoholer, glyserol, polyoler, sukkrose, invertsukker, glukose, vegetabiliske oljer etc. Egnede bærere for mikrokapsler, implantater eller staver er for eksempel kopolymerer av glykolsyre og melkesyre. De farmasøytiske preparater inneholder vanligvis ca 0,5 til 90 vekt% av forbindelsen (forbindelsene) med formel I og/eller deres fysiologisk tolererbare salter . Mengden av de aktive ingredienser med formel I og/eller deres fysiologisk tolererbare salter i de farmasøytiske preparater, er vanligvis 0,2 til 500 mg, fortrinnsvis 1 til 200 mg.

I tillegg til de aktive ingredienser og bærere kan de farmasøytiske preparater i tillegg inneholde ett eller flere additiver, slik som for eksempel fyllstoffer, desintegrasjonsmidler, bindemidler, smøremidler, fuktemidler, stabilisatorer, emulgeringsmidler, konserveringsmidler, søtstoffer, fargestoffer, smaksstoffer eller aromastoffer, fortykningsmidler, fortynningsmidler, bufferstoffer og også løsningsmidler eller midler for å oppnå en depoteffekt, og også salter for endring av det osmotiske trykk, overtrekksmidler eller antioksidanter. De kan også inneholde to eller flere forbindelser med formel I og/eller deres fysiologisk tolererbare salter. I tillegg til minst én forbindelse med formel I og/eller dens fysiologisk tolererbare salter, kan de også inneholde én eller flere andre terapeutisk eller profylaktisk aktive ingredienser.

Forbindelsene med formel I er antagonist av vitronektinreseptoren og har for eksempel evnen til å inhibere bindingen av osteoklaster til benoverflaten og derved benresorpsjon av osteoklaster. Virkningen av forbindelsene med formel I kan for eksempel demonstreres i en analyse hvori inhiberingen av binding av vitronektin til celler som inneholder vitronektinreseptoren bestemmes. Detaljer for en slik analyse er gitt nedenfor. Som vitronektinreseptorantagonister er forbindelsene med formel I og deres fysiologisk tolererbare salter, generelt egnet for terapi og profylakse av sykdommer som er basert på interaksjonen mellom vitronektinreseptorer og deres ligander i celle-celleinteraksjonsprosesser eller celle-matriks-interaksjonsprosesser, eller som kan påvirkes ved en inhibering av interaksjoner av denne type, eller for forebygging, lindring eller helbredelse er en inhibering av interaksjoner av denne type ønsket. Som forklart i begynnelsen spiller slike interaksjoner for eksempel en rolle ved benresorpsjon, i angiogenese eller i proliferasjon av celler fra den vaskulære glatte muskulatur. Forbindelsene med formel I og deres fysiologisk tolererbare salter er derfor for eksempel egnet for lindring eller helbredelse av sykdommer som i det minste delvis er forårsaket av en uønsket grad av benresorpsjon, angiogenese eller proliferasjon av celler fra den vaskulære glatte muskulatur.

Bensykdommer for hvilke forbindelser med formel I ifølge foreliggende oppfinnelse kan anvendes for behandling og forebygging, er spesielt osteoporose, hyperksemi, osteopeni, for eksempel forårsaket av metastaser, tannsykdommer, hyperparatyroidisme, periartikulære erosjoner i reumatoidartritt og Pagets sykdom. Forbindelsene med formel I kan dessuten anvendes for lindring, unngåelse eller terapi av ben-

sykdommer som er forårsaket av et glukokortikoid, steroid eller kortikosteroidterapi, eller av en mangel på kjønnshormoner. Alle disse sykdommer er kjennetegnet ved bentap, som er basert på mangelen på likevekt mellom bendannelse og bendestruksjon, og som kan påvirkes gunstig ved inhibering av benresorpsjon av osteoklaster. Forbindelsene med formel I og/eller deres fysiologisk tolererbare salter, kan også med fordel anvendes som inhibitor av benresorpsjon, for eksempel terapien eller profylaksen av osteoporose, i kombinasjon med konvensjonelle osteoporosebehandlinger, for eksempel i kombinasjon med bifosfonater, østrogener, østrogen/progesteron, østrogenagonister/antagonister, kalsitonin, vitamin D-analoger, paratyreoidhormon, veksthormonutskillende midler eller natriumfluorid. Administrering av forbindelsene med formel I og/eller deres fysiologisk tolererbare salter, og av andre aktive ingredienser som er effektive ved behandling eller profylakse av osteoporose slik som de oppført ovenfor, kan finne sted samtidig eller sekvensielt, i enhver rekkefølge og sammen eller separat. For anvendelse i en slik kombinasjonsbehandling eller profylakse kan forbindelsene med formel I og/eller deres fysiologisk tolererbare salter og én eller flere andre aktive ingredienser, slik som de oppført ovenfor, sammen være til stede i et enkelt farmasøytisk preparat, for eksempel tabletter eller granuler, eller de kan være til stede i to eller flere separate farmasøytiske preparater som kan være inneholdt i en enkel pakning eller to eller flere separate pakninger. Anvendelsen av forbindelsene med formel I og/eller deres fysiologisk tolererbare salter i en slik kombinasjonsterapi eller profylakse, og deres anvendelse ved produksjon av farmasøytiske midler for en slik kombinasjonsterapi eller profylakse, er også omfattet av foreliggende oppfinnelse. Foreliggende oppfinnelse angår dessuten farmasøytiske preparater som omfatter effektive mengder av minst en forbindelse med formel I og/eller deres fysiologisk tolererbare salter, sammen med minst én annen aktiv ingrediens som er effektiv ved behandling eller profylakse av osteoporose eller inhibering av benresorpsjon, slik som de oppført ovenfor, sammen med vanlig farmasøytisk uskadelig bærer. Forklaringene ovenfor om farmasøytiske preparater gjelder tilsvarende for slike farmasøytiske kombinasjonspreparater.

Foruten anvendelse som inhibitorer av benresorpsjon av osteoklaster, anvendes forbindelsene med formel I og/eller deres fysiologisk tolererbare salter som inhibitorer av tumorvekst og tumormetastase, som antiinflammatoriske midler, for terapi eller profylakse av kardiovaskulære forstyrrelser, slik som arteriosklerose eller restenose, eller for terapi eller profylakse av nefropatier eller retinopatier, slik som for eksempel diabetisk retinopati. Som inhibitorer av tumorvekst eller tumormetastase kan forbindelsene med formel I og/eller deres fysiologisk tolererbare salter, også med fordel anvendes i kombinasjon med konvensjonell cancerterapi. Eksempler på konvensjonell cancerterapi er gitt i Bertino (red.), *Encyclopedia of Cancer*, Academic Press, 1997. Alle angivelser ovenfor som angår anvendelse av forbindelsene med

formel I i kombinasjon med konvensjonell osteoporoseterapi, slik som for eksempel mulige administrasjonsmåter og farmasøytiske kombinasjonspreparater, gjelder tilsvarende for anvendelse av forbindelsene med formel I i kombinasjon med konvensjonell cancerterapi.

5 Ved anvendelse av forbindelsene med formel I kan dosen variere innen brede grenser og må, hvilket er vanlig, tilpasses de individuelle tilstander i hvert individuelt tilfelle. Den avhenger for eksempel av den anvendte forbindelse, eller av beskaffenheten og alvorligheten av sykdommen som skal behandles, eller av hvorvidt en akutt eller kronisk tilstand behandles, eller hvorvidt profylakse utføres. Ved oral administrering er den daglige dose generelt 0,01 til 100 mg/kg, fortrinnsvis 0,1 til 50 mg/kg, 10 spesielt 0,1 til 5 mg/kg, for eksempel 0,3 til 0,5 mg/kg for å oppnå effektive resultater hos en voksen person med vekt ca 75 kg (i hvert tilfelle i mg pr kg kroppsvekt). Også ved intravenøs administrering er den daglige dose generelt ca 0,01 til 100 mg/kg, fortrinnsvis 0,05 til 10 mg/kg (i hvert tilfelle pr kg kroppsvekt). Den daglige dose kan 15 deles, spesielt ved administrering av relativt store mengder, i flere, for eksempel 2,3 eller 4, deladministreringer. Hvis ønskelig, avhengig av individuell adferd, kan det være nødvendig å avvike oppover eller nedover fra den daglige angitte dose.

Foruten anvendelse som farmasøytisk aktive ingredienser kan forbindelsene med formel I også anvendes som vehikler eller bærere av aktive ingredienser for å 20 transportere den aktive ingrediens spesifikt til virkningsstedet (= legemiddelmålretting; se for eksempel Targeted Drug Delivery, R. C. Juliano, Handbook of Experimental Pharmacology, Vol. 100, Red. Born, G. V. R. et al, Springer Verlag). De aktive ingredienser som skal transporteres er spesielt de som kan anvendes for behandling av de ovennevnte sykdommer.

25 Forbindelsene med formel I og dere salter kan videre anvendes for diagnostiske formål, for eksempel ved *in vitro*-diagnoser av celle- eller vevsprøver, og som hjelpemidler ved biokjemiske undersøkelser der blokkering av vitronektinreseptoren eller påvirkning av celle-celle- eller celle-matriksinteraksjoner er ønsket. De kan dessuten anvendes som mellomprodukter for fremstilling av andre forbindelser, spesielt 30 av andre farmasøytisk aktive ingredienser som kan fremstilles fra forbindelsene med formel I, for eksempel ved modifikasjon eller innføring av substituenten eller funksjonelle grupper.

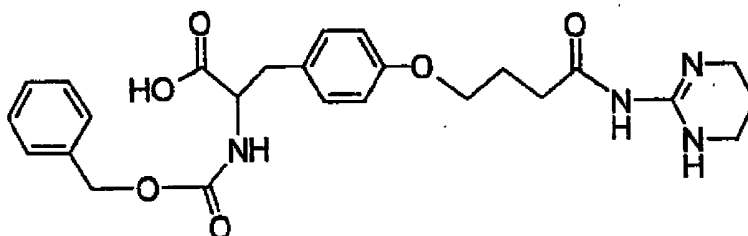
Eksempler

35 Produktene ble identifisert via massespektra (MS) og/eller NMR-spektra. Forbindelser som ble rensert ved kromatografi ved anvendelse av et elueringsmiddel som for eksempel inneholdt eddiksyre eller trifluoreddiksyre, og deretter ble frysetørket, eller der for eksempel trifluoreddiksyre ble anvendt i det siste syntesetrinn for å fjerne en tert-butyl-beskyttende gruppe, inneholdt i noen tilfeller fremdeles, avhengig

av hvordan frysetørkingen ble utført, syren som stammet fra elueringsmiddelet eller det siste syntesetrinn, og ble oppnådd, delvis eller fullstendig, i form av et salt av den anvendte syre, for eksempel i form av eddiksyresaltet eller trifluoreddiksyresaltet.

5 Eksempel 1

(2S)-2-benzylloksykarbonylamino-3-(4-(3-(1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-ylkarbamoyl)propyloksy)fenyl)propionsyre



a) tert-butyl-(2S)-2-benzylloksykarbonylamino-3-(4-(3-etoksykarbonylpropyloksy)fenyl)propionat

7,42 g (0,02 mol) N-benzylloksykarbonyl-L-tyrosin-tert-butylester ble tilbake-
løpskocht i 6 timer sammen med 9,77 g (0,03 mol) cesiumkarbonat og 3,9 g (0,02 mol)
etyl-4-brombutyrat, i ca 60 ml aceton. Etter avkjøling av reaksjonsblandingen ble
løsningsmiddelet fjernet i vakuum. Resten ble delt mellom etylacetat og vann (1/1).
Etter separasjon av fasene ble den organiske fase vasket to ganger med vann og mettet
natriumkloridløsning, tørket over natriumsulfat og konsentrert i vakuum. Det olje-
aktige råprodukt ble rensed ved flashkromatografi på kiselgel (diklormetan/acetonitril,
25/1). Utbytte: 9,4 g (97 %) av en viskøs olje.

$R_f = 0,36$ (kiselgel, diklormetan/metanol, 99/1).

b) tert-butyl-(2S)-2-benzylloksykarbonylamino-3-(4-(3-(1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-ylkarbamoyl)propyloksy)fenyl)propionat

6,72 g (0,06 mol) kalium-tert-butoksid ble tilsatt til en oppløsning av 8,13 g
(0,06 mol) 1-amino-1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-hydroklorid i 100 ml absolutt
dimetylformamid. Etter omrøring ved romtemperatur i 30 minutter ble 7,2 g
(0,015 mol) tert-butyl-(2S)-2-benzylloksykarbonylamino-3-(4-(3-etoksykarbonylpropyloksy)fenyl)propionat
tilsatt til denne løsning og den ble omrørt ved romtemperatur
i 12 timer. Etter fjerning av løsningsmiddelet i vakuum ble resten behandlet med
300 ml etylacetat og 100 ml vann og den organiske fase ble separert, vasket 2 ganger
med mettet natriumkloridløsning, tørket over natriumsulfat og konsentrert. Det således

oppnådde råprodukt ble umiddelbart kromatografert på kiselgel (diklormetan/metanol/iseddik, 100/5/1). 5,4 g (60,6 %) amorft produkt ble oppnådd.

c) (2S)-2-benzyloksi-karbonylamino-3-(4-(3-(1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-ylkarbamoyl)propyloksy)fenyl)propionsyre

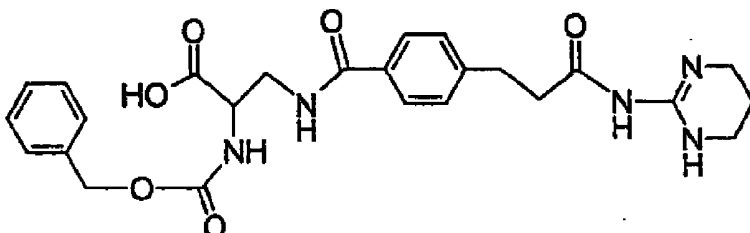
5,4 g (0,009 mol) tert-butyl-(2S)-2-benzyloksi-karbonylamino-3-(4-(3-(1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-ylkarbamoyl)propyloksy)fenyl)propionat-eddiksyresalt ble oppløst i 20 ml trifluoreddiksyre/vann (95/5) og løsningen ble omrørt ved romtemperatur i 30 minutter. Reaksjonsløsningen ble deretter konsentrert i vakuum.

Resten ble oppløst i vann og løsningen ble frysetørket. Utbytte: 5,2 g (98 %).

MS (ES⁺): m/e = 483,3 (M + H⁺, 100 %).

Eksempel 2

(2S)-2-benzyloksi-karbonylamino-3-(4-2-(1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-ylkarbamoyl)propyloksy)fenyl)propionsyre



a) 4-(2-metoksykarbonylvinyll)benzosyre

18,74 g (0,12 mol) monometylmalonat-kaliumsalt ble suspendert i 18 ml pyridin. 15,01 g (0,1 mol) 4-karboksybenzaldehyd og 0,85 g (0,01 mol) piperidin, ble tilsatt ved romtemperatur under omrøring. Blandingen ble tilbakeløpskokt inntil utviklingen av CO₂ var fullstendig (ca 2 timer), deretter ble ytterligere 60 ml pyridin tilsatt og blandingen ble tilbakeløpskokt i ytterligere 1 time. Reaksjonsblandingen ble behandlet under omrøring med 500 ml is og 110 ml konsentrert saltsyre. Etter at tilsetningen var fullført ble blandingen omrørt i ytterligere 20 minutter og produktet ble avfiltrert med sug, vasket med vann og rekrystallisert fra isopropanol. Utbytte: 12,85 g (62 %).

H-NMR (200 MHz d₆-DMSO) : δ = 3,75 (s, 3H, OCH₃); 6,76 (d, j = 15 Hz, 1H, CHCOOCH₃); 7,73 (d, J = 15 Hz, 1H, Ar-CH); 7,84 (d, j = 9 Hz, 2H, Ar-H); 7,98 (d, J = 9 Hz, 2H, Ar-H); 13,11 (s, bred, 1H, COOH)

MS (Cl⁻): m/e = 207,2 (M+H⁺, 100 %).

HPLC: RP18, nukleofil 300-5-C18, 250 x 4 mm; buffer A: H₂O, 0,1 % trifluoreddiksyre (TFA); buffer B: acetonitril (80 vol%)/H₂O (20 vol%), 0,1 % TFA; gradient: først 5 minutter, 90 buffer A/10 % buffer B, deretter i 20 minutter til 90 % buffer B, deretter 5 minutter 90 % buffer B; strømningshastighet 1 ml/min; R_t = 18,05 min.

5

b) 4-(2-metoksykarbonyletyl)benzosyre.

8 g (38,8 mmol) 4-(2-metoksykarbonylviny)benzosyre ble suspendert i 200 ml dioksan og hydrogenert i 7 timer ved romtemperatur over Pd/C (10 % styrke) ved et trykk på 1 bar hydrogen. Blandingen ble filtrert og løsningsmiddelet ble fjernet i vakuum. Utbytte: 8,05 g (100 %).

10

¹H-NMR (200 MHz, d₆-DMSO) : δ = 2,67 (t, J = 8 Hz, 2H, CH₂-COOCH₃); 2,93 (t, J = 8 HZ, 2H, Ar-CH₂); 3,59 (s, 3H, OCH₃); 7,35 (d, 2H, Ar-H); 7,86 (d, J = 9 Hz, 2H, Ar-H); 12,80 (s, bred, 1H, COOH).

MS (Cl⁺): m/e = 209,2 (M + H⁺, 100 %).

15

HPLC: RP18, nukleofil 300-5-C18, 250 x 4 mm; buffer A: H₂O, 0,1 % TFA; buffer B: acetonitril (80 vol%)/H₂O (20 vol%), 0,1 % TFA; gradient: først 5 minutter 90 % buffer A, 10 % buffer B, deretter i 20 minutter til 90 % buffer B, deretter 5 minutter 90 % buffer B;

20

c) tert-butyl-(2S)-2-benzyløksykarbonylamino-3-(4-(2-metoksykarbonyletyl)benzoylamino)propionat

354 mg (1,7 mmol) 4-(2-metoksykarbonyletyl)benzosyre og 500 mg (1,7 mmol) tert-butyl-(2S)-3-amino-2-benzyløksykarbonylamino)propionat ble oppløst i 3 ml dimetylformamid og behandlet med 557 mg (1,7 mmol) av O-((cyano(etoksykarbonyl)-metyliden)amino)-1,1,3,3-tetrametyluronium-tetrafluorbor (TOTU) og 204 mg (1,7 mmol) diisopropyletylamin, og blandingen ble omrørt ved romtemperatur i 7 timer ved pH 7-8. Løsningsmiddelet ble fjernet i vakuum, resten ble oppløst i etylacetat og løsningen ble vasket 3 ganger med KHSO₄-løsning og NaHCO₃-løsning inntil den var nøytral. Den organiske fase ble separert og tørket, og løsningsmiddelet ble fjernet ved destillasjon i vakuum. Utbytte: 770 mg (93 %).

25

30

MS (ES⁺): m/e = 485,2 (M+H⁺, 100 %).

d) tert-butyl-(2S)-2-benzyløksykarbonylamino-3-(4-(2-(1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-ylkarbamoyl)etyl)benzoylamino)propionat.

35

1,25 g (9,2 mmol) 2-amino-1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-hydroklorid og 1,03 g (9,2 mmol) kalium-tert-butoksid, ble oppløst i 3 ml absolutt dimetylformamid og omrørt ved romtemperatur i 30 minutter. 740 mg (1,53 mmol) av tert-butyl-(2S)-2-benzyløksykarbonylamino-3-(4-(2-metoksykarbonyletyl)benzoylamino)propionat i

1 ml dimetylformamid ble deretter tilsatt og blandingen ble omrørt ved romtemperatur i 4 timer. pH ble justert til 4 ved anvendelse av iseddik, løsningsmiddelet ble fjernet i vakuum og resten ble kromatografert på kiselgel ved anvendelse av diklormetan/metanol/iseddik/vann (9/1/0,1/0,1). Utbytte: 190 mg (38 %).

5 MS (ES⁺): m/e = 552,3 (M + H⁺, 100 %).

e) (2S)-2-benzyloksykarbonylamino-3-(4-(2-(1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-ylkarbamoyl)etyl)benzoylamino)propionsyre.

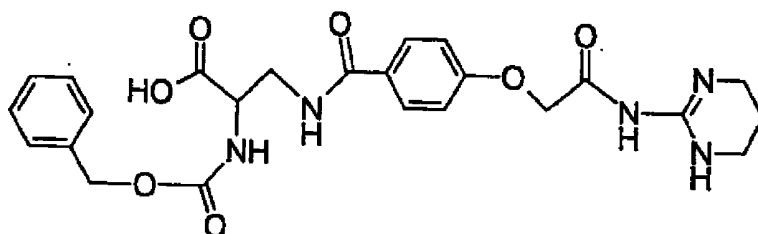
10 190 mg (0,34 mmol) tert-butyl-(2S)-2-benzyloksykarbonylamino-3-(4-(2-(1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-ylkarbamoyl)etyl)benzoylamino)propionat ble oppløst i 5 ml 95 % trifluoreddiksyre og omrørt ved romtemperatur i 1 time. Trifluoreddiksyren ble fjernet ved destillasjon i vakuum og avdampet sammen med toluen, og resten ble oppløst i iseddik, fortynnet med vann og frysetørket. Utbytte: 170 mg (100 %).
MS (ES⁺): m/e = 496,3 (M+H⁺, 100 %).

15

Eksempel 3

(2S)-2-benzyloksykarbonylamino-3-(4-((1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-ylkarbamoyl)-metyloksy)benzoylamino)propionsyre.

20



25

a) Benzyl 4-(metoksykarbonylmetyloksy)benzoat

4,5 g (0,02 mol) benzyl-hydroksybenzoat ble suspendert i 60 ml aceton sammen med 9,7 g (0,03 mol) cesiumkarbonat og behandlet med 2,3 ml (0,025 mol) etylbromacetat. Blandingen ble deretter tilbakeløpskøkt inntil reaksjonen var fullstendig. For opparbeidelse ble reaksjonsløsningen filtrert gjennom et klaringslag og filtratet ble konsentrert til tørrhet. Resten ble oppløst i etylacetat og blandingen ble vasket 3 ganger med 10 % sitronsyreløsning og mettet NaCl-løsning. Den organiske fase ble tørket over natriumsulfat, filtrert og konsentrert. Resten ble rekrystallisert fra diisopropyleter/heptan. Utbytte: 5,5 g.

35

b) 4-(metoksykarbonylmetyloksy)benzoesyre

5 g benzyl-4-(metoksykarbonylmetyloksy)benzoat ble oppløst i metanol/etylacetat og hydrogenert i nærvær av 600 ml katalysator (Pd/C, 10 % styrke). Etter gjennomstrømning med inert gass ble katalysatoren filtrert fra og filtratet ble konsen-

trert i vakuum. Resten ble finpulverisert med diisopropyleter/heptan (9/1) og filtrert fra med avsuging. Utbytte: 3,3 g.

5 c) tert-butyl-(2S)-2-benzyløksykarbonylamino)-3-(4-metoksykarbonylmetyloksy)-benzoylamino)propionat.

420 mg (0,002 mol) 4-(metoksykarbonylmetyloksy)benzoylsyre, 270 mg (0,002 mol) 1-hydroksybenzotriazol og 588 mg (0,002 mol) tert-butyl-(2S)-3-amino-2-benzyløksykarbonylamino)propionat ble oppløst i 5 ml dimetylformamid. Løsningen ble avkjølt til 0 °C og behandlet med 453 g (0,0022 mol) N,N'-disykloheksylkarbo-
10 diimid og deretter omrørt ved 0 °C i 10 minutter og ved romtemperatur i 2 timer. For opparbeidelse ble urea filtrert fra og filtratet ble konsentrert til tørrhet. Den rene forbindelse ble oppnådd ved kromatografi av råproduktet på kiselgel (diklormetan/acetonitril 20/1). Utbytte: 820 mg.

15 d) tert-butyl-(2S)-2-benzyløksykarbonylamino-3-(4-((1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-ylkarbamoyl)metyloksy)benzoylamino)propionat.

438 mg av tert-butyl-(2S)-2-benzyløksykarbonylamino-3-(4-(metoksykarbonylmetyloksy)benzoylamino)propionat. 606 mg kalium-tert-butoksid og 732 mg 2-amino-1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-hydroklorid, ble oppløst i 10 ml absolutt dimetyl-
20 formamid og løsningen ble omrørt ved romtemperatur i 14 timer og deretter konsentrert til tørrhet i vakuum. Resten ble oppløst i etylacetat og løsningen ble ekstrahert med vann. Den organiske fase ble tørket og konsentrert i vakuum og råproduktet ble rensert ved kromatografi på kiselgel.
(diklormetan/metanol 100/7,5). Utbytte: 370 mg.

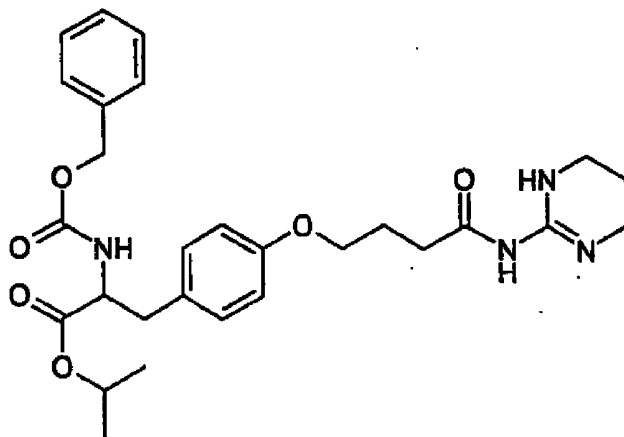
25

e) (2S)-2-benzyløksykarbonylamino-3-(4-((1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-ylkarbamoyl)metyloksy)benzoylamino)propionsyre.

87 mg av tert-butylesteren fra trinn d) ble omrørt ved romtemperatur i 15 minutter i 2 ml 95 % trifluoreddiksyre. Etter konsentrering i vakuum ble blandingen fin-
30 pulverisert med eter, og resten ble filtrert fra og tørket. Utbytte: 79 mg.
MS (ES⁺): m/e = 498,2 (M+H)⁺.

Eksempel 4

Isopropyl-(2S)-2-benzyloksykarbonylamino-3-(4-(3-(1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-ylkarbamoyl)propyloksy)fenyl)propionathydroklorid.



23,88 g (0,04 mol) av forbindelsen fra eksempel 1 (som trifluoreddiksyresalt) ble suspendert i 400 ml isopropanol. Til denne suspensjon ble det tilsatt, ved -15°C under en inert gassatmosfære, en tidligere preparert løsning av tionylklorid i isopropanol (for prepareringen av denne løsning ble 10,4 tionylklorid tilsatt dråpevis ved -10 til -15°C og under en inert gasatmosfære innen 5 minutter, til 160 ml isopropanol og blandingen ble omrørt ved -10°C i ytterligere 20 minutter). Etter fullføring av tilsetningen steg temperaturen innen 30 minutter til romtemperatur. Den i mellomtiden klare løsning ble deretter oppvarmet ved 60°C under omrøring i 7 timer. Omrøringen ble fortsatt uten oppvarming over natten. Ved kontroll ved hjelp av TLC viste reaksjonen seg å være fullstendig. Løsningsmidler ble fjernet ved rotasjonsdestillasjon i vakuum. Resten ble suspendert i 100 ml isopropanol og isopropanolen ble fjernet i vakuum. Den faste rest ble finpulverisert med dietyleter og separert ved sugefiltrering. Råproduktet ble suspendert i 120 ml isopropanol, tilbakesløpskøkt med 2,4 aktivt karbon og filtrert. Etter avkjøling ble det fargeløse produkt separert ved filtrering. Ubytte: 16,2 g av et gråhvitt, fast materiale.

MS (ES^+): $m/e = 525$ ($\text{M} + \text{H}^+$, 100 %).

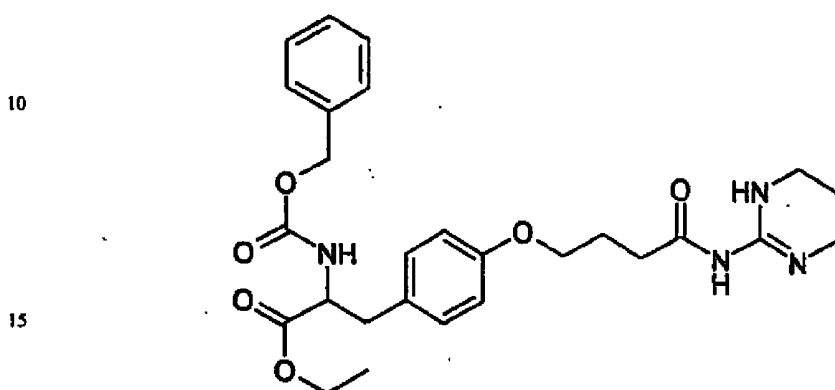
35	Grunnstoffanalyse: beregn.	C 59,9 %	H 6,6 %	N 10,0 %	Cl 6,3 %
	funnet	C 59,3 %	H 6,7 %	N 10,0 %	Cl 6,6 %

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = 1,1$ (dd, 6H, $J = 7$ Hz), 1,8, 1,95 og 2,5 (m, hver 2H), 2,85 (m, 2H), 3,35 (t, 4H, $J = 3 - 4$ Hz), 3,95 (t, 2H, $J = 3 - 4$ Hz), 4,15 (m, 1H),

4,9 (sep, 1H, J = 7 Hz), 5,0 (s, 2H.), 6,9 og 7,1 (d, hver 2H, J = 7 Hz), 7,3 (m, 5H), 7,7 (d, 1H, J = HZ).

Eksempel 5

5 Etyl-(2S)-2-benzyloksykarbonylamino-3-(4-(3-(1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-ylkarbamoyl)propyloksy)fenyl)propionathydroklorid.



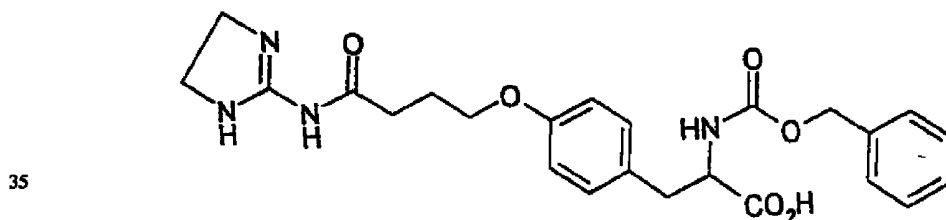
20 0,14 ml (1,15 ekvivalenter) tionylklorid ble tilsatt ved -10 °C til 5 ml etanol og omrørt i 10 minutter ved denne temperatur. 1 g (1,66 mmol) av forbindelsen fra eksempel 1 ble deretter tilsatt som en suspensjon i 10 ml etanol. Under omrøring ble blandingen oppvarmet til romtemperatur og omrørt i ytterligere 5 timer. Løsningen, som i mellomtiden var blitt klar, ble avdampet i vakuum, resten ble oppløst i vann og, etter filtrering, lyofilisert. Utbytte: 0,85 g av et fargeløst, amorf fast stoff.

25 MS (ES⁺): m/e = 511 (M+H⁺, 100 %).

Eksempel 6

(2S)-2-benzyloksykarbonylamino-3-(4-(3-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-ylkarbamoyl)propyloksy)fenyl)propionsyre

30



340 mg 4,5-dihydro-1H-imidazol-2-ylamin, 13,6 mg imidazol og 26,8 mg litiumjodid ble tilsatt til en oppløsning av 970 mg tert-butyl(2S)-2-benzyloksykarbon-

ylamino-3-(4-(3-etoksykarbonylpropyloksy)fenyl)propionat (eksempel 1a) i 5 ml absolutt dimetylformamid. Løsningen ble omrørt ved 40 °C i 4 timer, ytterligere 170 mg 4,5-dihydro-1H-imidazol-2-ylamin ble tilsatt og løsningen ble omrørt ved 55 °C i ytterligere 3 timer. Etter fjerning av løsningen i vakuum, ble resten behandlet med etylacetat, filtrert, ekstrahert med 10 % vandig KHCO₃-løsning, tørket over MgSO₄, filtrert, konsentrert i vakuum og utfelt med diisopropyleter. Råproduktet ble rensert ved kiselgelkromatografi (diklormetan/metanol/iseddik 90/10/1). 250 mg av et amorft produkt ble oppnådd.

MS (ES*): m/e = 525,2 (μH, 100 %).

b) (2S)-2-benzyloksikarbonylamino-3-(4-(3-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-ylkarbamoyl)propyl)propionsyre

200 mg tert-butyl-(2S)-2-benzyloksikarbonylamino-3-(4-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-ylkarbamoyl)-propoksy(fenyl)propionat ble oppløst i 5 ml trifluoreddiksyre/vann (95/5) og løsningen ble omrørt ved romtemperatur i 15 min. Reaksjonsløsningen ble deretter konsentrert i vakuum. Resten ble oppløst i vann og løsningen ble frysetørket. Utbytte: 100 %.

MS (ES*): m/e = 469,2 (M+H⁺, 100 %).

Farmakologisk testing

Inhibering av benresorpsjon med forbindelsene i foreliggende oppfinnelse kan f eks bestemmes ved hjelp av en osteoklastresorpsjonstest ("PIT ASSAY"), f eks analogt med WO-A-95/32710.

Den inhibitoriske virkning av forbindelsene ifølge oppfinnelsen mot vitronektinreseptoren α_vβ₃ kan f eks bestemmes som beskrevet nedenfor.

Test for måling av inhiberingen av binding av 293-celler til humant vitronektin (Vn/293-celletest)

1. Rensing av humant vitronektin

Humant vitronektin isoleres fra humant plasma og renses ved affinitetskromatografi i overensstemmelse med metoden ifølge Yatohyo et al., Cell Structure and Function, 1988, 23, 281-292.

2. Celletest

293-celler, en human embryonisk nyrecellelinje, som er kotransfektet med DNA-sekvenser for α_v- og β₃-subenhetene av vitronektinreseptoren α_vβ₃, utvelges for en høy ekspresjonshastighet (mer enn 500.000 α_vβ₃-reseptorer/celle) i overensstemmelse med FACS-metoden. De utvalgte celler dyrkes og sorteres på nytt ved hjelp av

FACS for å oppnå en stabil cellelinje (15 D) med ekspresjonsmengder høyere enn 1.000.000 kopier av $\alpha_v\beta_3$ per celle.

En Linbro 96-brønners vevskulturplate med flat bunn belegges over natten ved 4 °C med humant vitronektin (0,01 mg/ml, 0,05 ml/brønn) i fosfatbufret saltløsning (PBS) og blokkeres med 0,5 % BSA (bovint serumalbumin). Oppløsninger av teststoffene fra 10^{-10} mol/l til 2×10^{-3} mol/l i glukoseinnholdende DMEM-medium 5 prepareres og 0,05 ml/brønn av løsningen tilsettes til platen i hvert tilfelle. Cellene som uttrykker høye nivåer av $\alpha_v\beta_3$ (f eks 15 D) suspenderes i glukoseinnholdende DMEM-medium og suspensjonen justeres til et innhold på 25.000 celler/0,05 ml 10 medium. 0,05 ml av cellesuspensjonen tilsettes til hver brønn og platen inkuberes ved 37 °C i 90 min. Platen vaskes tre ganger med varm PBS for å fjerne ubundne celler. De bundne celler lyses i sitratbuffer (25 mM, pH 5,0) som inneholder 0,25 % Triton X-100. Heksoseamidasesubstratet p-nitrofenyl-N-acetyl- β -D-glukosaminid tilsettes deretter og platen inkuberes ved 37 °C i 90 min. Reaksjonen stanses med en glysin 15 (50 mM)EDTA (5mM) buffer (pH 10,4) og absorpsjonen i hver brønn måles ved 405-650 mM. Data analyseres i overensstemmelse med standard prosesser.

De følgende testresultater ble oppnådd:

20	Forbindelse	Vn/293 celledtest IC ₅₀ (μM)
	Eksempel 1	0,028
	Eksempel 2	0,017
	Eksempel 3	1,35
25	Eksempel 6	0,032

karakterisert ved at

R^1 og R^2 sammen er et mettet, bivalent (C_2-C_3)-alkylenradikal,

R^4 er hydrogen eller (C_1-C_4)-alkyl,

R^5 er benzyl,

5 A er oksygen,

m er 1, og

n er 1.

5. Acylguanidinderivat ifølge kravene 1 eller 2,

10 karakterisert ved at

R^1 og R^2 sammen er et mettet, bivalent (C_2-C_3)-alkylenradikal,

R^4 er hydrogen eller (C_1-C_4)-alkyl,

R^5 er benzyl,

A er oksygen,

15 m er 3, og

n er 0.

6. (2S)-2-benzylloxykarbonylamino-3-(4-(3-(1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-ylkarbamoyl)propyloxy)fenyl)propionsyre og dens fysiologisk tolererbare salter.

20

7. (2S)-2-benzylloxykarbonylamino-3-(4-(2-(1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-ylkarbamoyl)etyl)benzoylamino) propionsyre og dens fysiologisk tolererbare salter.

8. (2S)-2-benzylloxykarbonylamino-3-(4-(1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-ylkarbamoyl)metyloxy)benzoylamino)propionsyre og dens fysiologisk tolererbare salter.

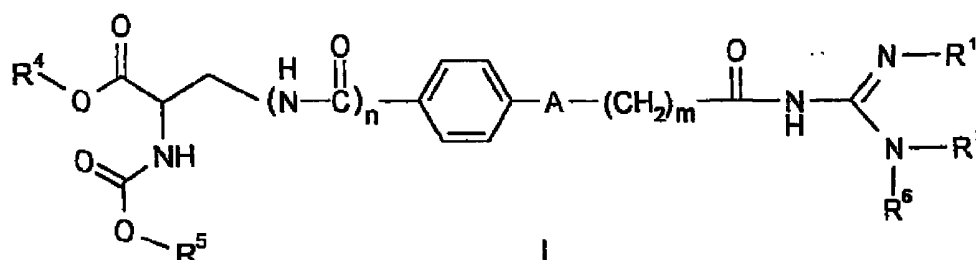
25

9. (2S)-2-benzylloxykarbonylamino-3-(4-(3-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-ylkarbamoyl)propyloxy)fenyl)propionsyre og dens fysiologisk tolererbare salter.

30

10. Fremgangsmåte for fremstilling av acylguanidinderivater med den generelle formel I:

35



hvor radikalene R^1 og R^2 sammen er et mettet, bivalent (C_2-C_4)-alkylenradikal,

R^4 er hydrogen eller (C_1-C_6)-alkyl,

R^5 er fenyl-(C_1-C_6)-alkyl,

R^6 er hydrogen,

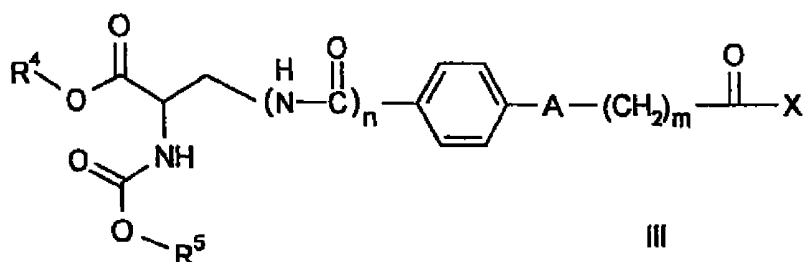
5 A er CH_2 eller O,

m er 1, 2 eller 3,

n er 0 eller 1,

i alle deres stereoisomere former og blandinger derav i alle forhold, samt deres fysiologisk tolererbare salter,

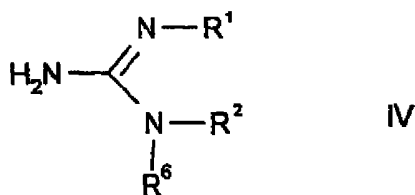
10 karakterisert ved at en karboksylsyre eller et karboksylsyrederivat med den generelle formel III:



20

hvor R^4 , R^5 , A, n og m er som ovenfor angitt, eller alternativt funksjonelle grupper er til stede i form av forløpere eller i beskyttet form, og X er en nukleofilt substituerbar forlatende gruppe, omsettes med et guanidin eller guanidinderivat med den generelle formel IV:

25



30

hvor R^1 , R^2 og R^6 er som angitt, eller alternativt funksjonelle grupper er til stede i form av forløpere eller i beskyttet form, og at det oppnådde acylguanidinderivat, om ønsket, overføres til et fysiologisk tolererbart salt.

35

11. Acylguanidinderivat ifølge ett eller flere av kravene 1-9, og/eller dets fysiologisk tolererbare salter, for anvendelse som et farmasøytisk middel.

12. Farmasøytisk preparat, karakterisert ved at det omfatter minst ett acylguanidinderivat ifølge ett eller flere av kravene 1-9, og/eller dets fysiologisk tolererbare salter, sammen med en farmasøytisk akseptert bærer.

5

13. Forbindelse ifølge krav 11, for anvendelse som en vitronektinreseptorantagonist.

10 14. Forbindelse ifølge krav 11, for anvendelse som inhibitor av benresorpsjon for terapi eller profylakse av osteoporose.

15. Forbindelse ifølge krav 11, for anvendelse som inhibitor av tumorvekst eller tumormetastase.

15 16. Forbindelse ifølge krav 11, for anvendelse som et antiinflammatorisk middel eller for terapi eller profylakse av kardiovaskulære forstyrrelser, restenose, arteriosklerose, nefropatier eller retinopatier.