



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 603 01 569 T2** 2006.06.14

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 492 767 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **603 01 569.7**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US03/07794**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **03 714 138.9**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 03/084929**

(86) PCT-Anmeldetag: **24.03.2003**

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: **16.10.2003**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **05.01.2005**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **07.09.2005**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **14.06.2006**

(51) Int Cl.⁸: **C07D 211/58** (2006.01)

A61K 31/495 (2006.01)

A61P 7/02 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

368523 P **01.04.2002** **US**

(73) Patentinhaber:

Eli Lilly and Co., Indianapolis, Ind., US

(74) Vertreter:

Spott, Weinmiller & Böhm, 80336 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,
GR, HU, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI**

(72) Erfinder:

**WILEY, Robert, Michael, Zionville, US; ENGEL,
Lowell, Gary, Greenwood, US**

(54) Bezeichnung: **BESTIMMTE 1-(D-CYCLOPROPYLGLYCINYL)-4-(PIPERIDIN-4-YL)PIPERAZIN VERBINDUNGEN
ALS INHIBITOREN DER SERIN PROTEASE FACTOR XA**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft Verbindungen, die nützlich sind als Pharmazeutika oder Arzneimittel, pharmazeutische Zusammensetzungen, die die Verbindungen umfassen, ein Verfahren zur Herstellung der Verbindungen, Zwischenprodukte, die nützlich sind bei der Herstellung der Verbindungen, und eine Verwendung der Verbindungen als Arzneimittel oder Pharmazeutika.

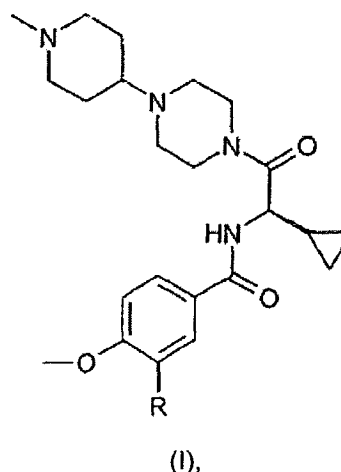
[0002] Eine kardiovaskuläre Erkrankung bleibt als ein Hauptgesundheitsproblem weltweit bestehen und ist ein allgemeiner oder herkömmlicher Grund von schwerer Krankheit und Tod.

[0003] Eine Reihe von Untersuchungen, die verfolgt wird von Forschern bei der Suche nach neuen Behandlungen für eine kardiovaskuläre Erkrankung basiert auf der Hypothese, dass ein Inhibitor oder Hemmer der Serinprotease, des Faktors Xa, nützlich sein kann als ein Antikoagulans oder Antikoagulationsmittel bei der Behandlung einer thrombotischen Erkrankung.

[0004] Inhibitoren oder Hemmer des Faktors Xa sind bekannt. Zum Beispiel offenbart die WO 01/96323 bestimmte Verbindungen, die eine aromatische Gruppe enthalten, einen Glycinrest, der eine cyclische Gruppe und eine 4-substituierte Piperazinygruppe trägt. Die cyclische Gruppe kann eine Cycloalkylgruppe sein, wie Cyclopentyl oder Cyclohexyl, aber eine Bevorzugung wird ausgedrückt für Verbindungen, in denen die cyclische Gruppe für eine Phenylgruppe steht.

[0005] Überraschenderweise wurde nun gefunden, dass durch Auswahl innerhalb des Umfangs der WO 01/96323 eine 4-Methoxyphenyl- oder 3-Fluor-4-methoxyphenylgruppe als aromatische Gruppe, ein Cyclopropylglycingruppe als Glycinrest und eine 1-Methylpiperidin-4-ylpiperazinygruppe als die 4-substituierte Piperazinygruppe, Verbindungen erhalten werden können, die selektive Faktor Xa Inhibitoren sind und besonders vorteilhafte Eigenschaften aufweisen.

[0006] Demzufolge stellt die vorliegende Erfindung eine Verbindung der folgenden Formel (I) bereit



in der R für ein Wasserstoffatom oder ein Fluoratom steht, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon.

[0007] Es wurde gefunden, dass die Verbindungen der Formel (I) potente oder wirksame und selektive Inhibitoren der Serinprotease, des Faktors Xa, sind, sie Antikoagulationsaktivität oder -wirksamkeit in Humanplasma aufweisen, ein gutes Einwirken oder eine gute Exposition in Plasma nach oraler Verbrechung an Säuger aufweisen, und besonders vorteilhafte pharmakologische und toxikologische Profile der Aktivität besitzen.

[0008] Auf die Verbindungen der Formel (I) kann auch Bezug genommen werden durch die chemischen Namen 1-(4-Methoxybenzoyl-D-cyclopropylglyciny)-4-(1-methylpiperidin-4-yl)piperazin und 1-(3-Fluor-4-methoxybenzoyl-D-cyclopropylglyciny)-4-(1-methylpiperidin-4-yl)piperazin.

[0009] Es ist verständlich, dass die Verbindungen der Formel (I) ein Asymmetriezentrum enthalten, das die (D)-Konfiguration aufweist. Die Verbindungen können daher existieren und isoliert werden aus einem Gemisch mit dem entsprechenden (L)-Isomer, wie einem racemischen Gemisch, oder getrennt vorliegen. Vorzugsweise werden die Verbindungen im Wesentlichen frei von den (L)-Isomeren isoliert.

[0010] Es ist auch verständlich, dass die Verbindungen der Formel (I) oder ihre pharmazeutisch annehmbaren Salze in der Form von Solvaten isoliert werden können, und dass demzufolge ein beliebiges solches Solvat eingeschlossen ist innerhalb des Schutzbereichs der vorliegenden Erfindung.

[0011] Beispiele von pharmazeutisch annehmbaren Salzen schließen Hydrochlorid, Fumarat und Maleat-säureadditionssalze ein.

[0012] Es wird willkommen sein, dass die Verbindungen der Formel (I) zwei basische Stickstoffatome enthalten und daher Mono- und Disäureadditionssalze bilden.

[0013] Eine Gruppe von Verbindungen der Formel (I) ist die, in der R für ein Wasserstoffatom steht.

[0014] Besondere Verbindungen, in denen R für ein Wasserstoffatom steht, sind:

1-(4-Methoxybenzoyl-D-cyclopropylglycyl)-4-(1-methylpiperidin-4-yl)piperazin und die Hydrochlorid-, Fumarat- und Maleatsäureadditionssalze davon, insbesondere die Dihydrochlorid-, Difumarat- und Dimaleatsäureadditionssalze.

[0015] Kristalline Dihydrochlorid-, Difumarat- und Dimaleatsäureadditionssalze wurden hergestellt und gekennzeichnet durch eine Differenzialscanningkalorimetrie (DSC):

Dihydrochlorid: zersetzt sich vor dem Schmelzen; Difumarat: 222,8°C (Beginn), 225,4°C (Peak); und Dimaleat: 195,8°C (Beginn), 202,0°C (Peak).

[0016] Ein besonderer Hinweis wird gegeben auf 1-(4-Methoxybenzoyl-D-cyclopropylglycyl)-4-(1-methylpiperidin-4-yl)piperazindifumarat in kristalliner Form.

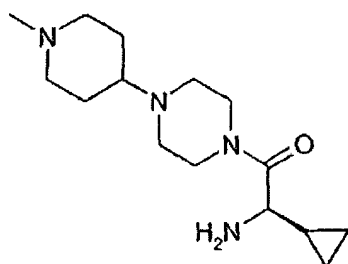
[0017] Eine andere Gruppe von Verbindungen der Formel (I) ist die, in der R für ein Fluoratom steht.

[0018] Besondere Verbindungen, in denen R für ein Fluoratom steht, sind:

1-(3-Fluor-4-methoxybenzoyl-D-cyclopropylglycyl)-4-(1-methylpiperidin-4-yl)piperazin und die Hydrochloridsäureadditionssalze.

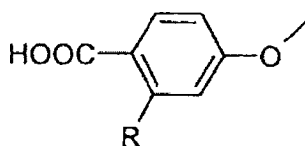
[0019] Die Verbindungen der Formel (I) und ihre pharmazeutisch annehmbaren Salze können hergestellt werden durch ein Verfahren, das umfasst:

(a) eine Umsetzung einer Verbindung der Formel (II)



(II)

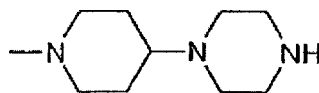
oder eines Salzes davon (wie das Trihydrochlorid) mit einer Verbindung der Formel (III)



(III)

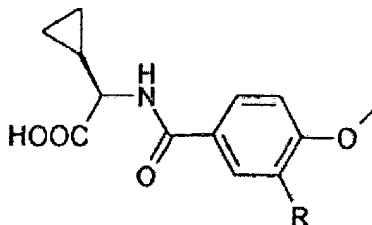
oder einem reaktiven Derivat davon; oder

(b) eine Umsetzung einer Verbindung der Formel (IV)



(IV)

oder eines Salzes davon (wie das Dihydrochlorid) mit einer Verbindung der Formel (V)



(V)

oder einem reaktiven Derivat davon;

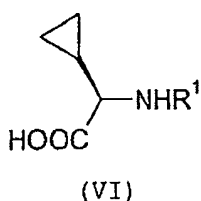
gefolgt, wenn ein pharmazeutisch annehmbares Salz gewünscht wird, von einer Bildung eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes.

[0020] Die Umsetzung zwischen der Verbindung der Formel (II) mit der Verbindung der Formel (III) kann geeigneterweise durchgeführt werden durch den Einsatz von Reagenzien und Reaktionsbedingungen, die herkömmlicherweise verwendet werden für die Bildung einer Amidbindung. Die Umsetzung wird geeigneterweise ausgeführt in Gegenwart eines auf Benzotriazol basierenden Reagenzes, wie 1-Hydroxybenzotriazol oder 1-Hydroxy-7-azabenzotriazol, und einem Dehydratationsmittel, wie Dicyclohexylcarbodiimid oder 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid, in einem inerten organischen Lösemittel, wie Dimethylformamid und/oder Methylchlorid. Die Umsetzung wird geeigneterweise ausgeführt bei einer Temperatur von 0 bis 50°C, vorzugsweise bei Umgebungstemperatur. Wenn ein Salz einer Verbindung der Formel (II) verwendet wird, wird die Umsetzung geeigneterweise ausgeführt in der zusätzlichen Gegenwart einer Base, wie Triethylamin. Andere geeignete Reagenzien und Lösemittel sind in der Technik bekannt, z.B. ein Säurehalogenid, wie p-Anisoylchlorid in Gegenwart einer Base, wie Triethylamin.

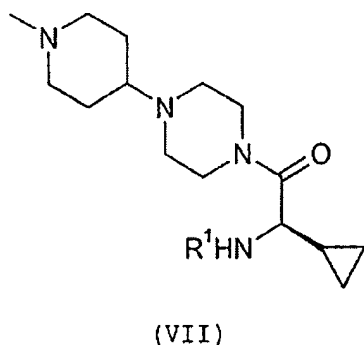
[0021] Die Umsetzung zwischen der Verbindung der Formel (IV) mit der Verbindung der Formel (V) kann geeigneterweise durchgeführt werden durch den Einsatz von Reagenzien und Reaktionsbedingungen, die geeigneterweise verwendet werden für die Bildung einer Amidbindung, z.B. wie oben beschrieben für die Umsetzung von einer Verbindung der Formel (II) mit einer Verbindung der Formel (III).

[0022] Die Verbindungen der Formel (II) können

hergestellt werden durch Umsetzung einer Verbindung der Formel (IV) mit einer Verbindung der Formel (VI)



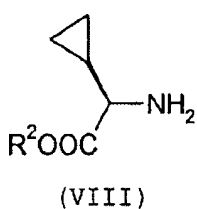
in der R¹ für eine Aminoschutzgruppe steht, wie tert.-Butoxycarbonyl (Boc), um eine Verbindung der Formel (VII)



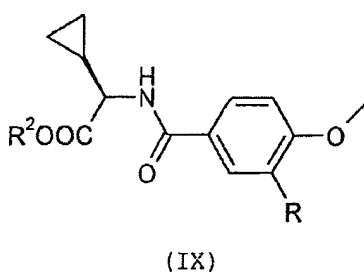
zu erhalten, gefolgt von einer Entfernung der Schutzgruppe.

[0023] Die Verbindung der Formel (IV) ist bekannt, und auf sie wird auch Bezug genommen als 1-(1-Methylpiperidin-4-yl)piperazin.

[0024] Die Verbindungen der Formel (V) können hergestellt werden durch Umsetzung einer Verbindung der Formel (VIII)



in der R¹ für eine Carboxylschutzgruppe steht, z.B. eine C₁-C₆-Alkylgruppe, wie Methyl oder Ethyl, mit einer Verbindung der Formel (III), um eine Verbindung der Formel (IX)



zu erhalten, gefolgt von einer Entfernung der Schutzgruppe.

[0025] Die Verbindungen der Formeln (VI) und (VIII) sind bekannt oder können hergestellt werden aus (D)-Cyclopropylglycin unter Verwendung herkömmlicher Verfahren für den Schutz der Carboxy- oder Aminogruppe in einer Aminosäure. (D)-Cyclopropylglycin kann geeigneterweise hergestellt werden aus Cyclopropancarboxaldehyd unter Verwendung von (R)-(+)- α -Methylbenzylamin durch das Verfahren, das beschrieben ist in dem US Patent mit der Nummer US 6 090 982 oder durch Verwendung eines Verfahrens, auf das dort Bezug genommen wird.

[0026] Die Verbindungen der Formel (III) sind gut bekannt.

[0027] Der Schutz von Amino- und Carbonsäuregruppen ist beschrieben in McOmie, Protecting Groups in Organic Chemistry, Plenum Press, NY, 1973, und Greene and Wuts, Protecting Groups in Organic Synthesis, 2. Auflage, John Wiley & Sons, NY, 1991. Beispiele von Carboxylschutzgruppen schließen C₁-C₆-Alkylgruppen ein, wie Methyl, Ethyl, tert.-Butyl und tert.-Amyl; Aryl(C₁-C₄)alkylgruppen, wie Benzyl, 4-Nitrobenzyl, 4-Methoxybenzyl, 3,4-Dimethoxybenzyl, 2,4-Dimethoxybenzyl, 2,4,6-Trimethoxybenzyl, 2,4,6-Trimethylbenzyl, Benzhydryl und Trityl; Silylgruppen, wie Trimethylsilyl und tert.-Butyldimethylsilyl; und Allylgruppen, wie Allyl und 1-(Trimethylsilylmethyl)prop-1-en-3-yl.

[0028] Beispiele von Aminoschutzgruppen schließen Acylgruppen ein, wie Gruppen der Formel R³CO, in der R³ für C₁-C₆-Alkoxy, Phenyl-C₁-C₆-alkoxy oder ein C₃-C₁₀-Cycloalkoxy steht, wobei eine Phenylgruppe gegebenenfalls substituiert ist, z.B. durch 1 oder 2 Halogen, C₁-C₄-Alkyl und C₁-C₄-Alkoxy.

[0029] Bevorzugte Aminoschutzgruppen schließen Benzyloxycarbonyl (CBz) und tert.-Butoxycarbonyl (Boc) ein.

[0030] Von bestimmten der hierin beschriebenen Zwischenprodukte, z.B. den Verbindungen der Formeln (II) und (V) wird angenommen, dass sie neu sind, und sie stellen demzufolge weitere Gesichtspunkte der Erfindung dar.

[0031] Die Verbindungen der Erfindung können verabreicht werden durch eine beliebige herkömmliche Route, z.B. in den Gastrointestinaltrakt (z.B. rektal oder oral), die Nase, Lungen, Muskulatur oder das Gefäßsystem (Vaskulatur) oder transdermal. Die Verbindungen können in einer beliebigen herkömmlichen Verabreichungsform verabreicht werden, z.B. als Tabletten, Pulver, Kapseln, Lösungen, Dispersionen, Suspensionen, Sirupe, Sprays, Suppositorien, Gele, Emulsionen, Pflaster, etc. Solche Zusammensetzungen können Bestandteile enthalten, die herkömmlicherweise bei pharmazeutischen Zubereitungen verwendet werden, z.B. Verdünnungsmittel, Trä-

ger, pH-Modifikatoren, Süßstoffe, Füllstoffe und weitere Wirkstoffe oder wirksame Mittel. Wenn eine parenterale Verabreichung gewünscht wird, werden die Zusammensetzungen steril sein und in einer Lösung oder Suspensionsform geeignet zur Injektion oder Infusion. Solche Zusammensetzungen bilden einen weiteren Gesichtspunkt der Erfindung.

[0032] Unter diesem Gesichtspunkt betrachtet, stellt die Erfindung eine pharmazeutische Zusammensetzung bereit, die die Verbindung der Formel (I) oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon umfasst, zusammen mit einem pharmazeutisch annehmbaren Verdünnungsmittel oder Träger.

[0033] Unter einem weiteren Gesichtspunkt stellt die vorliegende Erfindung die Verbindung der Formel (I) oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon bereit zur Verwendung bei einer Therapie.

[0034] Unter einem weiteren Gesichtspunkt stellt die vorliegende Erfindung die Verwendung der Verbindung der Formel (I) oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes davon zur Herstellung eines Arzneimittels bereit für die Behandlung einer thrombotischen Störung.

[0035] Der behandelte Patient kann ein Mensch oder ein nicht menschliches Lebewesen sein, wie ein nicht menschlicher Säuger, z.B. eine Katze, ein Hund, ein Pferd, eine Kuh oder ein Schaf.

[0036] Die thrombotische Störung kann z.B. eine venöse Thrombose, Lungenembolie, arterielle Thrombose, Myokardischämie, ein Myokardinfarkt oder eine Zerebralthrombose sein. Die Verbindungen können auch verwendet werden gemäß dem Verfahren der Erfindung bei der Behandlung eines akuten Gefäßverschlusses, der in Verbindung steht mit einer thrombolytischen Therapie und Restenose, z.B. nach einer transluminalen Koronarangioplastie oder Bypassstransplantation der Koronar- oder peripheren Arterien und bei der Aufrechterhaltung vaskulärer Zugangsdauerhaftigkeit oder -offenheit (access patency) bei Langzeithämodialysepatienten.

[0037] Die Dosierung der Verbindung der Formel (I) wird abhängig sein von der Natur und dem Schweregrad des Zustands, der behandelt wird, dem Verabreichungsweg oder der Verabreichungsrouten und der Größe und Spezies des Patienten. Im Allgemeinen werden Mengen im Bereich von 0,01 bis 100 µM/kg Körpergewicht verabreicht werden.

[0038] Wie hierin verwendet, schließt der Begriff "Behandlung" eine prophylaktische Verwendung ein. Der Begriff "wirksame Menge" bezieht sich auf die Menge der Verbindung der Formel (I), die wirksam ist, um die Entwicklung der Symptome der thrombotischen Störung, die behandelt wird, zu reduzieren

oder zu hemmen oder inhibieren.

[0039] Die Verbindung gemäß der Erfindung kann allein oder in Kombination mit einem Antikoagulans, das einen unterschiedlichen Modus oder eine unterschiedliche Art der Wirkung aufweist, oder mit einem thrombolytischen Mittel verabreicht werden.

[0040] Die folgenden Beispiele veranschaulichen die Erfindung.

[0041] Die Abkürzungen, die verwendet werden, folgen der IUPAC-IUB Nomenklatur. Die folgenden Abkürzungen werden durchgängig verwendet: Boc (tert.-Butyloxycarbonyl), ber. (berechnet), DMSO (Dimethylsulfoxid, perdeuteriert wenn für NMR), EDCI (1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimidhydrochlorid), ES-MS (Elektronensprayionisationsmassenspektrum), HOBt (1-Hydroxybenzotriazol), HPLC (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie mit t_r als Retentionszeit), MeOH (Methanol), NMR (kernmagnetische Resonanz), TFA (Trifluoressigsäure).

Beispiel 1

1-(4-Methoxybenzoyl-D-cyclopropylglyciny)-4-(1-methylpiperidin-4-yl)piperazin

A. D-Cyclopropylglycin

[0042] Die Aminosäure wird erhalten aus Cyclopropancarboxaldehyd, geeigneterweise unter Verwendung von (R)-(+)- α -Methylbenzylamin und dem Verfahren des US Patents US 6 090 982 oder durch Verwendung eines Verfahrens, auf das dort Bezug genommen wird.

B. Boc-D-Cyclopropylglycin

[0043] Eine Lösung von D-Cyclopropylglycin (46,1 g, 0,4 mol) in einem Gemisch von Dioxan (600 ml), Wasser (300 ml) und 1 N NaOH (480 ml, 0,48 mol) wird gerührt gekühlt auf 0 bis 5°C in einem Eisbad. Di-tert.-butyldicarbonat (105 g, 0,48 mol) wird langsam zugegeben, und das Rühren wird bei Raumtemperatur 0,5 h lang fortgesetzt. Die Lösung wird im Vakuum auf etwa 500 ml konzentriert, in einem Eiswasserbad gekühlt, mit einer Schicht Ethylacetat (500 ml) bedeckt und mit einer verdünnten wässrigen Lösung von KHSO_4 auf einen pH von 2 bis 3 angesäuert. Die wässrige Phase wird mit Ethylacetat (500 ml) extrahiert, und die Extraktion wird wiederholt, bis kein Produkt zurückbleibt. Die Ethylacetatextrakte werden zusammengegeben, mit Wasser (0,5 l), Salzlösung (0,5 l) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und konzentriert, um einen weißen Feststoff (78 g, 90,6%) zu ergeben.

$[\alpha]_D^{20} = -31^\circ$ (c = 1,02, MeOH).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 5,9 (sb, 1H), 5,09 (sb, 1H), 3,75 (m, 1H), 1,42 (s, 9H), 1,10 (d, 1H), 0,4 bis 0,7 (m, 4H).

C. 1-(Boc-D-Cyclopropylglycyl)-4-(1-methylpiperidin-4-yl)piperazin

[0044] Boc-D-Cyclopropylglycin (216 g, 1,0 mol) und 1-(1-Methylpiperidin-4-yl)piperazin (192 g, 1,05 mol) werden in wasserfreiem CH_2Cl_2 (3,2 l) unter N_2 aufgeschlämmt. Das Gemisch wird dann auf 0 bis 5°C in einem Eisbad gekühlt. Zu diesem Gemisch werden 1-Hydroxybenzotriazol(HOBt)-Monohydrat (149 g, 1,1 mol) und Diisopropylethylamin (136 g, 1,05 mol) gegeben, gefolgt von einer langsamen Zugabe von 1-[3-(Dimethylamino)propyl]-3-ethylcarbodiimidhydrochlorid (EDCI)(211 g, 1,1 mol) unter Beibehaltung der Temperatur bei 0 bis 5°C über einen Zeitraum von 1 h. Das Reaktionsgemisch lässt man über Nacht auf Raumtemperatur erwärmen. Die Reaktion wird dann gestoppt oder gequench durch die Zugabe von gesättigtem (ges.) wässrigen NaHCO_3 (3 l) und mit Methylenchlorid (2 l) extrahiert. Die Phasen werden getrennt. Die organische Phase wird wieder mit gesättigtem NaHCO_3 (3 l), Salzlösung (2 l) gewaschen, über MgSO_4 getrocknet, filtriert und konzentriert, um das Rohprodukt als viskoses Öl (415 g, 109%) zu ergeben, das direkt verwendet wird. $^1\text{H NMR}$ (DMSO-d_6) δ 6,91 (d, 1H), 3,97 (t, 1H), 3,41 (sb, 4H), 2,74 (d, 2H), 2,40 (sb, 4H), 2,10 (m, 1H), 2,09 (s, 3H), 1,79 (t, 2H), 1,65 (d, 2H), 1,40 (m, 2H), 1,36 (s, 9H), 1,05 (m, 1H), 0,93 (d, 1H), 0,40 (m, 2H), 0,26 (m, 1H).

D. 1-(D-Cyclopropylglycyl)-4-(1-methylpiperidin-4-yl)piperazintrihydrochlorid

[0045] 1-(Boc-D-Cyclopropylglycyl)-4-(1-methylpiperidin-4-yl)piperazin (roh, 415 g, 1,0 mol) wird in wasserfreiem Methanol (1,5 l) gelöst. Zu dieser Lösung wird HCl-MeOH (380 g/1,5 l, 10,4 mol) Lösung bei 0°C gegeben. Das Reaktionsgemisch wird gerührt und langsam über einen Zeitraum von 2 h auf Raumtemperatur erwärmt. Ethylacetat (2 l) wird dann unter Rühren zugegeben. Das Rühren wird 1 h lang bei 0 bis 5°C fortgesetzt, und das Produkt kristallisiert als weißes Pulver aus, das hydriert und unter Vakuum bei 45°C getrocknet wird, um die Verbindung gemäß der Überschrift als weißen Feststoff (357 g, 91,7%) zu ergeben. $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO-d}_6 + \text{D}_2\text{O}$) δ 8,4 (bs, 1H), 4,5 (bs, 2H), 3,0 (t, 4H), 2,78 (m, 1H), 2,74 (s, 3H), 2,35 (m, 2H), 2,20 (m, 1H), 2,08 (m, 2H), 1,06 (bd, 1H), 0,60 (m, 4H).

E. 1-(4-Methoxybenzoyl-D-cyclopropylglycyl)-4-(1-methylpiperidin-4-yl)piperazin

[0046] 1-(D-Cyclopropylglycyl)-4-(1-methylpiperidin-4-yl)piperazintrihydrochlorid (300 g, 0,77 mol) wird in wasserfreiem CH_2Cl_2 (3 l) unter N_2 aufgeschlämmt. Das Gemisch wird dann auf 0 bis 5°C in einem Eisbad gekühlt. Triethylamin (450 ml, 3,23 mol) wird langsam zugegeben unter Beibehaltung der

Temperatur bei 0 bis 5°C , gefolgt von einer langsamen Zugabe von p-Anisoylchlorid (142 g, 0,83 mol), wieder einem Beibehalten der Temperatur bei 0 bis 5°C . Das Reaktionsgemisch lässt man 2 h lang auf Raumtemperatur erwärmen. Die Umsetzung oder Reaktion wird dann gestoppt durch die Zugabe von gesättigtem NaHCO_3 (1 l), und die Phasen werden getrennt. Die wässrige Phase wird dann mit CH_2Cl_2 (2 l) extrahiert. Die organischen Phasen werden vereinigt, mit Salzlösung (1 l) gewaschen, über MgSO_4 getrocknet, filtriert und konzentriert, um die Verbindung gemäß der Überschrift (326 g, 102%) zu ergeben.

$^1\text{H NMR}$ (DMSO-d_6) δ 8,55 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H), 7,88 (d, 2H), 6,96 (d, 2H), 4,39 (t, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,45 (s, 4H), 2,74 (d, 2H), 2,40 (m, 4H), 2,09 (s, 3H), 2,08 (m, 1H), 1,79 (dt, 2H), 1,62 (d, 2H), 1,38 (m, 2H), 1,26 (m, 1H), 0,43 (m, 2H), 0,35 (m, 2H).

Beispiel 1a

1-(4-Methoxybenzoyl-D-cyclopropylglycyl)-4-(1-methylpiperidin-4-yl)piperazindifumarat

[0047] Zu einer Lösung von 1-(4-Methoxybenzoyl-D-cyclopropylglycyl)-4-(1-methylpiperidin-4-yl)piperazin (315 g, 0,76 mol) in 95% Ethanol (4,2 l), erwärmt auf 65°C , wird eine Lösung von Fumarsäure (177 g, 1,52 mol) in heißem Ethanol (bei 65°C , 2,8 l) gegeben. Die klare zuletzt erhaltene Lösung oder Produktlösung wird bei 65°C gerührt und langsam auf Raumtemperatur abgekühlt (über einen Zeitraum von 2 h) und dann auf 0 bis 5°C . Die weißen Kristalle werden durch Filtration gesammelt, mit 95% Ethanol (1 l) gewaschen und unter Vakuum bei 45°C getrocknet, um das Salz gemäß der Überschrift (448 g, 91,2%), Schmp. = 205 bis 207°C , bereitzustellen. $^1\text{H NMR}$ (DMSO-d_6) δ 11,35 (s, 1H), 8,58 (d, 1H), 7,86 (d, 2H), 6,96 (d, 2H), 6,55 (s, 4H), 4,39 (t, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,45 (s, 4H), 3,20 (d, 2H), 2,62 (t, 2H), 2,55 (s, 3H), 2,42 (m, 6H), 1,80 (d, 2H), 1,62 (d, 2H), 1,28 (m, 1H), 0,43 (m, 2H), 0,35 (m, 2H). $[\alpha]_D^{20} = -37,7^\circ$ ($c = 0,836$, H_2O).

Beispiel 1b

1-(4-Methoxybenzoyl-D-cyclopropylglycyl)-4-(1-methylpiperidin-4-yl)piperazinhydrochlorid

[0048] 1-(4-Methoxybenzoyl-D-cyclopropylglycyl)-4-(1-methylpiperidin-4-yl)piperazin (3,04 g, 6,73 mmol) wird in etwa 0,2 M HCl (37 ml) gelöst und lyophilisiert, um 2,98 g (quantitativ) der Verbindung gemäß der Überschrift zu ergeben.

Teil $^1\text{H NMR}$ Spektrum (DMSO-d_6) δ 10,63 (br, 1H), 8,59 (br, 1H), 7,88 (d, 2H), 6,98 (d, 2H), 4,36 (br t, 1H), 3,82 (s, 3H), 2,70 (s, 3H), 1,29 (m, 1H), 0,48 (m, 2H), 0,36 (m, 2H).

ES-MS, m/z 415,5 ($M + 1$)⁺.

Analyse für $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_3 \cdot 1,25 \text{HCl} \cdot 1,0 \text{H}_2\text{O}$:

Berechnet: C: 57,78; H: 7,85; N: 11,72; Cl: 9,30;

Gefunden: C: 57,79; H: 7,93; N: 11,74; Cl: 9,64.
Analytische HPLC (Xterra RP18, 4,6 × 150 cm),
10% Acetonitril/Wasser (0,1% TFA) bis
50% Acetonitril/Wasser (0,1% TFA) über einen Zeit-
raum von 40 min, 1 ml/min:
99%, t_r = 10,66 min

Beispiel 2

1-[(3-Fluor-4-methoxybenzoyl)-D-cyclopropylglyci-
nyl]-4-(1-methylpiperidin-4-yl)piperazin

[0049] Zu einer gerührten Suspension von 1-D-Cyclopropylglyciny-4-(1-methylpiperidin-4-yl)piperazin-trihydrochlorid (1,5 g, 3,85 mmol) in Dichlormethan (30 ml) wird Triethylamin (1,36 g, 13,5 mmol) gegeben, gefolgt von 3-Fluor-4-methoxybenzoesäure (0,622 g, 3,66 mmol), HOBt (0,573 g, 4,24 mmol) und EDCI (0,813 g, 4,24 mmol). Nach Rühren über Nacht wird das Gemisch zwischen Dichlormethan und gesättigtem wässrigem Natriumbicarbonat verteilt. Die organische Phase wird dann wieder mit gesättigtem wässrigem Natriumbicarbonat gewaschen, gefolgt von Salzlösung, dann mit $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und im Vakuum konzentriert. Der Rückstand wird dann in Dichlormethan gelöst und über Kieselgel chromatographiert unter Elution mit einem Gradienten von 0 bis 12% 2 N Ammoniak/Methanol in Dichlormethan. Die das reine Produkte enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und im Vakuum konzentriert, um 1,03 g (61%) der Verbindung gemäß der Überschrift zu ergeben.

ES-MS, m/z 433,5 ($M + 1$)⁺.

Analytische HPLC (Vydac C18, 4,6 × 150 cm),
10% Acetonitril/Wasser (0,1% TFA) bis
50% Acetonitril/Wasser (0,1% TFA) über einen Zeit-
raum von 40 min, 1 ml/min:
95%, t_r = 13,16 min

Beispiel 2a

1-[(3-Fluor-4-methoxybenzoyl)-D-cyclopropylglyci-
nyl]-4-(1-methylpiperidin-4-yl)piperazinhydrochlorid

[0050] 1-[(3-Fluor-4-methoxybenzoyl)-D-cyclopropylglyciny-4-(1-methylpiperidin-4-yl)piperazin (1 g, 2,31 mmol) wird in etwa 0,2 M HCl (12,7 ml) gelöst und lyophilisiert, um 1,03 g (quantitativ) der Verbindung gemäß der Überschrift zu ergeben.

Teil ¹H NMR Spektrum ($DMSO-d_6$) δ 10,36 (br, 1H), 8,73 (d, 1H), 7,75 bis 7,83 (m, 2H), 7,25 (t, 1H), 4,36 (t, 1H), 3,90 (s, 3H), 2,70 (s, 3H), 1,28 (m, 1H), 0,48 (m, 2H), 0,36 (m, 2H).

ES-MS, m/z 433,3 ($M + 1$)⁺.

Analyse für $C_{23}H_{33}FN_4O_3 \cdot 1,6 HCl \cdot 0,5 H_2O$:

Berechnet: C: 55,26; H: 7,18; N: 11,21; F: 3,80; Cl: 11,35;

Gefunden: C: 55,31; H: 7,24; N: 11,38; F: 3,64; Cl: 11,36.

Analytische HPLC (Xterra RP18, 4,6 × 150 cm),

10% Acetonitril/Wasser (0,1% TFA) bis
50% Acetonitril/Wasser (0,1% TFA) über einen Zeit-
raum von 40 min, 1 ml/min:
98%, t_r = 8,067 min.

Enzymhemmtests

[0051] Die Fähigkeit einer Testverbindung zur Hemmung oder Inhibition des Faktors Xa kann in einem oder mehreren der folgenden Enzymhemmtests oder in einem der anderen Standardtests, die dem Fachmann bekannt sind, evaluiert werden.

Enzymhemmtest

[0052] Humaner Faktor Xa und humanes Thrombin werden von Enzyme Research Laboratories (South Bend, Indiana, USA) bezogen. Andere Proteasen werden von anderen kommerziellen Quellen bezogen. Chromogene para-Nitroanilidpeptidprotease-substrate werden von Midwest Biotech (Fishers, Indiana, USA) bezogen.

[0053] Die Bindungsaffinitäten für den humanen Faktor Xa werden/wurden als scheinbare Assoziationskonstanten (K_{ass}) gemessen, die von den Proteasehemmkinetiken abgeleitet werden, wie dies vorher beschrieben wurde.^{a, b, c, d} Die scheinbaren K_{ass}-Werte werden mittels automatisierter (Bio-Mek-1000) Verdünnungen der Inhibitoren (K_{ass} Bestimmungen werden jeweils dreifach bei jeder von 4 bis 8 Inhibitorkonzentrationen durchgeführt) in Platten mit 96 Vertiefungen erhalten, und die Hydrolyse-raten des chromogenen Substrats werden bei 405 nm mittels eines Thermomax Plattenlesegeräts von Molecular Devices (San Francisco) bestimmt. Für die Faktor Xa Hemmung ist das Testprotokoll wie folgt: 50 μ l Puffer (0,06 M Tris, 0,3 M NaCl, pH 7,4), 25 μ l Inhibitortestlösung (in MeOH), 25 μ l Humanfaktor Xa (32 nM in 0,03 M Tris, 0,15 M NaCl, 1 mg/ml HSA); und schließlich 150 μ l BzlleGluGlyArgpNA (0,3 mM in Wasser) werden innerhalb von 2 Minuten zum Start der Hydrolyse zugegeben. Die Endkonzentration des Faktors Xa (End-[FaktorXa]) beträgt 3,2 nM. [Freier Xa] und [gebundener Xa] werden aus linearen Standardkurven auf derselben Platte unter Verwendung der SoftmaxPro Software für jede Inhibitorkonzentration bestimmt, und der scheinbare K_{ass} Wert wird für jede Inhibitorkonzentration berechnet, die eine Hemmung zwischen 20% und 80% der Kontrolle hervorrief (3,2 nM Faktor Xa): Scheinbarer K_{ass} = $[E: I] / [E_d][I] = [E_b] / [E_d][I^0 - I_b]$. Die so erhaltenen scheinbaren K_{ass} Werte sind etwa die Inversion oder Umkehrung des K_i Wertes der jeweiligen Inhibitoren [1/scheinb K_{ass} = scheinb K_i]. Die Variabilität der mittleren scheinbaren K_{ass} Werte, die bei der einzelnen Substratkonzentration bestimmt wird, beträgt +/- 15%. Der Testsystem-K_m wurde mit 0,347 +/- 0,031 mM [n = 4] gemessen; und V_{max} betrug 13,11 +/- 0,76 μ M/min.

[0054] Die Kass-Werte werden mit Thrombin und anderen Proteasen unter Verwendung desselben Protokolls mit den folgenden Enzym- und Substratkonzentrationen bestimmt: Thrombin 5,9 nM mit 0,2 mM BzPheValArgpNA; Faktor XIa 1,2 nM mit 0,4 mM PyroGluProArgpNA; Faktor XIIa 10 nM mit 0,2 mM HDProPheArgpNA; Plasmin 3,4 nM mit 0,5 mM HDValLeuLyspNA; nt-PA 1,2 nM mit 0,8 mM HDIle-Pro-ArgpNA; Urokinase 0,4 nM mit 0,4 mM PyroGlu-GlyArgpNA; aPC 3 nM mit 0,174 mM PyroGlu-ProArgpNA; Plasmakallikrein 1,9 nM mit D-ProPheArgpNA; und Rindertrypsin 1,4 nM mit 0,18 mM BzPheValArgpNA.

Literaturzitate

- (a) D. J. Sall, J. A. Bastian, S. L. Briggs, J. A. Buben, N. Y. Chirgadze, D. K. Clawson, M. L. Denny, D. D. Giera, D. S. Gifford-Moore, R. W. Harper, K. L. Hauser, V. J. Klimkowski, T. J. Kohn, H-S. Lin, J. R. McCowan, A. D. Palkowitz, G. F. Smith, M. E. Richett, K. Takeuchi, K. J. Thrasher, J. M. Tinsley, B. G. Utterback, S-CB. Yan, M. Zhang. Dibasic Benzo[b]thiophenes Derivatives as a Novel Class of Active Site Directed Thrombin Inhibitors. 1. Determination of the Serine Protease Selectivity, Structure-Activity Relationships and Binding Orientation. *J. Med. Chem.* 40, 3489, 3493 (1997).
- (b) G. F. Smith, T. J. Craft, D. S. Gifford-Moore, W. J. Coffman, K. D. Kurz, E. Roberts, R. T. Shuman, G. E. Sandusky, N. D. Jones, N. Chirgadze and C. V. Jackson. A Family of Arginal Thrombin Inhibitors related to Efegatran. *Sem. Thrombos. Hemost.* 22, 173–183 (1996).
- (c) G. F. Smith, D. S. Gifford-Moore, T. J. Craft, N. Chirgadze, K. J. Ruterbories, T. D. Lindstrom, J. H. Satterwhite, Efegatran: A New Cardiovascular Anticoagulat. In *New Anticoagulants for the Cardiovascular Patient*. Herausgeber R. Pifarre. Hanley & Belfus, Inc., Philadelphia (1997), Seiten 265–300.
- (d) D. J. Sall, D. L. Bailey, J. A. Bastian, N.Y. Chirgadze, A. C. Clemens-Smith, M. L. Denny, M. J. Fisher, D. D. Geira, D. S. Gifford-Moore, R. W. Harper, L. M. Johnson, V. J. Klimkowski, T. J. Kohn, H. S. Lin, J. R. McCowan, A. D. Palkowitz, M. E. Richett, G. F. Smith, D. W. Snyder, K. Takeuchi, J. E. Toth, M. Zhang. Diamino Benzo[b]thiophene Derivatives as a Novel Class of Active Site Directed Thrombin Inhibitors: 5. Potency, Efficacy and Pharmacokinetic Properties of Modified C-3 Side Chain Derivatives. *J. Med. Chem.*, 43, 649 bis 663 (2000).

[0055] Es wurde gefunden, dass die hierin beispielhaft dargestellten Verbindungen der Formel (I) einen Kass von etwa 14×10^6 bis 35×10^6 l/mol in dem Enzymhemmtest zeigen.

[0056] Die Fähigkeit einer Testverbindung zur Verlängerung der partiellen Thromboplastinzeit (Prothrombinzeit) kann in den folgenden Testprotokollen

evaluiert werden.

Protokoll für den partiellen Thromboplastinzeittest (Prothrombintest)

[0057] Venöses Blut wird in 3,2% (0,109 mol) Trinatriumcitratvakutainerröhrchen mit 1 Volumen Antikoagulans zu 9 Teilen Blut gesammelt. Die Blutzellen werden durch Zentrifugation bei 700 g 10 Minuten lang unter Bildung des Plasmas abgetrennt, das bei -70°C eingefroren wurde, bis es benötigt wurde.

[0058] Um den Test auszuführen, wurden 100 μl Plasma in ein Glasröhrchen pipettiert, 1 μl Testverbindung in DMSO wird zugegeben und man lässt 2 Minuten lang auf 37°C erwärmen. 100 μl warmes (37°C) Manchesterreagenz (Gewebethromboplastin) (Helena Biosciences, UK) wird zugegeben und man lässt 2 Minuten lang äquilibrieren. 100 μl warme (37°C) 25 mM Calciumchloridlösung wird zugegeben, um die Gerinnung zu initiieren. Das Teströhrchen wird dreimal alle 5 Sekunden um einen Winkel von 90° gekippt, um die Reagenzien zu mischen, und die Zeit bis zur Gerinnselbildung wird gemessen. Die Daten aus einer Reihe an Beobachtungen und Testverbindungskonzentrationen werden durch ein statistisches SAS Analyseprogramm analysiert, und es wird eine CT2 (Konzentration, die zur Verdopplung der Gerinnungszeit erforderlich ist) für jede Verbindung berechnet.

[0059] Es wurde gefunden, dass die erfindungsgemäßen Verbindungen die partielle Thromboplastinzeit (Prothrombinzeit) signifikant verlängern.

Alternative Protokolle für die Prothrombinzeit und den APTT

[0060] Koagulationsbestimmungen: Die Prothrombinzeiten und die APTT Werte werden in Humanplasma mit einem STA Gerät (Stago) bestimmt. BioPT ist ein spezieller Nicht-Plasma Gerinnungstest, der mit humanem Gewebefaktor (Innovin) ausgelöst wird. Die mögliche Bindung an Albumin oder an Lipid werden durch den Vergleich der BioPT Effekte in Gegenwart/Abwesenheit von 30 mg/ml humanem Albumin (HSA) und 1 mg/ml Phosphatidylcholin (PC) untersucht. Die Inhibitoren wurden in 50% MeOH als Träger eingesetzt.

APTT Test

75 μl Plasma Citrol Baxter-Dade citratisiertes normales Humanplasma
 25 μl Testlösung
 75 μl Actin Baxter-Dade aktiviertes Cephaloplastin
 Inkubation: 2 Minuten bei 37°C
 75 μl CaCl_2 (0,02 M)

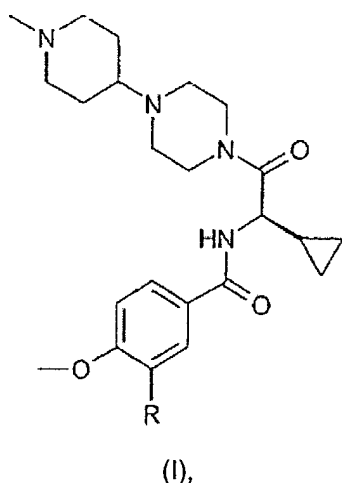
PT Test

75 µl Plasma
 25 µl Testlösung
 75 µl Salzlösung
 Inkubation: 1 Minute bei 37°C
 75 µl Innovin Baxter-Dade rekombinanter, humaner Gewebefaktor

[0061] Weitere vorteilhafte Eigenschaften der Verbindungen der Formel (I) können gezeigt werden durch Messung ihrer pharmakodynamischen (PD) und pharmakokinetischen (PK) Eigenschaften in Labortierspezies, wie Ratten und Hunden, nach einer oralen Dosierung im Fastenzustand und im gefütterten Zustand.

Patentansprüche

1. Verbindung der Formel (I)



in der R für ein Wasserstoffatom oder ein Fluoratom steht, oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon.

2. Verbindung, wie in Anspruch 1 beansprucht, in der R für ein Wasserstoffatom steht.

3. Verbindung, wie in Anspruch 2 beansprucht, die ausgewählt ist aus:

1-(4-Methoxybenzoyl-D-cyclopropylglycyl)-4-(1-methylpiperidin-4-yl)piperazin und den Hydrochlorid-, Fumarat- und Maleatsäureadditionssalzen davon.

4. Verbindung, wie in Anspruch 3 beansprucht, die ausgewählt ist aus den Dihydrochlorid-, Difumarat- und Dimaleatsäureadditionssalzen in kristalliner Form.

5. Verbindung, wie in Anspruch 4 beansprucht, die 1-(4-Methoxybenzoyl-D-cyclopropylglycyl)-4-(1-methylpiperidin-4-yl)piperazindifumarat in kristalliner Form ist.

6. Verbindung, wie in Anspruch 1 beansprucht, in der R für ein Fluoratom steht.

7. Verbindung, wie in Anspruch 6 beansprucht, die ausgewählt ist aus:

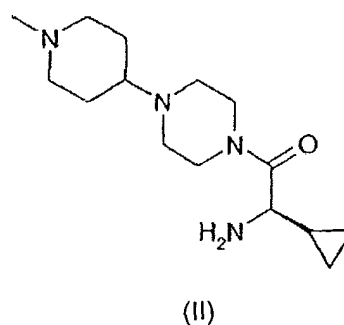
1-(3-Fluor-4-methoxybenzoyl-D-cyclopropylglycyl)-4-(1-methylpiperidin-4-yl)piperazin; und den Hydrochloridsäureadditionssalzen davon.

8. Pharmazeutische Zusammensetzung, die eine Verbindung, wie in einem der Ansprüche 1 bis 7 beansprucht, umfasst, zusammen mit einem pharmazeutisch annehmbaren Verdünnungsmittel oder Träger.

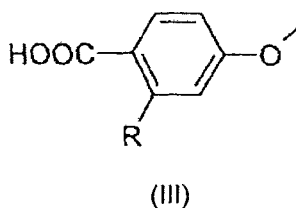
9. Pharmazeutische Zusammensetzung, wie im Anspruch 8 beansprucht, die zur oralen Verabreichung eingerichtet ist.

10. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung, wie in einem der Ansprüche 1 bis 7 beansprucht, wobei das Verfahren umfasst:

(a) eine Umsetzung einer Verbindung der Formel (II)

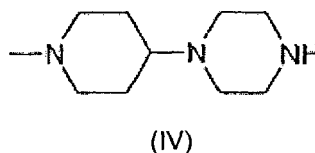


oder eines Salzes davon mit einer Verbindung der Formel (III)

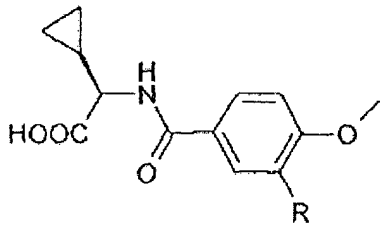


oder eines reaktiven Derivats davon; oder

(b) eine Umsetzung der Verbindung der Formel (IV)



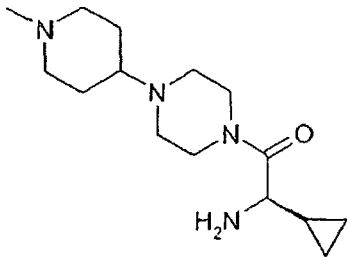
oder eines Salzes davon mit einer Verbindung der Formel (V)



(V)

oder eines reaktiven Derivats davon;
gefolgt, wenn ein pharmazeutisch annehmbares Salz
gewünscht wird, von einer Bildung eines pharmazeu-
tisch annehmbaren Salzes.

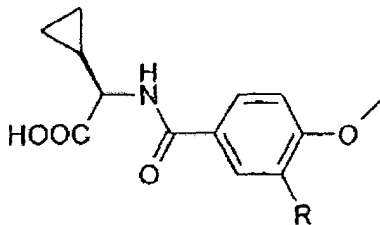
11. Verbindung der Formel (II)



(II)

oder eines Salzes davon.

12. Verbindung der Formel (V)



(V),

in der R für ein Wasserstoffatom oder ein Fluoratom
steht.

13. Verbindung, wie in einem der Ansprüche 1 bis
7 beansprucht, zur Verwendung bei einer Therapie.

14. Verwendung einer Verbindung, wie in einem
der Ansprüche 1 bis 7 beansprucht, zur Herstellung
eines Arzneimittels zur Behandlung einer thromboti-
schen Störung.

15. Verwendung, wie in Anspruch 14 bean-
sprucht, wobei das Arzneimittel zur oralen Behand-
lung einer thrombotischen Störung ist.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen