

HALOGÉNOVANÉ DERIVÁTY AMIDINOAMINOKYSELÍN POUŽITELNÉ AKO INHIBÍTORY NO-SYNTÁZY

Oblasť techniky

Tento vynález sa týka halogénovaných derivátov amidinoaminokyselín a ich použitia pri liečení, hlavne ich použitia ako inhibítorov NO-syntázy.

Doterajší stav techniky

Od počiatku 80-tych rokov je známe, že vaskulárna relaxácia spôsobená acetylcholínom závisí od prítomnosti vaskulárneho endotelu a táto aktivita sa pripisuje labilnému humorálnemu faktoru, tzv. relaxačný faktor odvodený od endotelu (EDRF). Účinnosť oxidu dusnatého ako vazodilatačnej látky je známa najmenej 100 rokov. Navyše je oxid dusnatý aktívnou zložkou amylnitritu, glyceryltrinitrátu a ďalších nitrovazodilatačných prostriedkov. Nedávne určenie EDRF ako oxidu dusnatého koinciduje s objavením biochemickej cesty, ktorou sa oxid dusnatý syntetizuje z aminokyseliny L-arginínu enzýmom NO-syntázou.

Oxid dusnatý je endogénny stimulačný prostriedok rozpustnej guanylátcyklázy. Navyše k relaxácii závislej od endotelu sa oxid dusnatý zúčastňuje radu biologických činností vrátane cytotoxicity fagocytárnych buniek a komunikácie medzi bunkami v centrálnom nervovom systéme (pozri Moncada a kol., *Biochemical Pharmacology*, 38, 1709 - 1715 (1989), Moncada a kol., *Pharmacological Reviews*, 43, 109 - 142 (1991)). Ukazuje sa, že nadmerná tvorba oxidu dusnatého sa zúčastňuje radu patologických stavov, hlavne stavov zahrňujúcich systémovú hypotenziu, ako je toxický šok, septický šok a liečenie určitými cytokínmi (Kerwin a kol., *J. Medicinal Chemistry*, 38, 4343 - 4362 (1995)).

Tvorbu oxidu dusnatého z L-arginínu možno inhibovať analógom L-arginínu L-N-monometylarginínom (L-NMMA) a navrhlo sa terapeutické použitie L-NMMA na liečenie toxického šoku a ďalších typov systémovej hypotenzie



(WO 91/04024 a GB-A-2240041). Liečebné použitie určitých ďalších inhibítorov NO-syntázy okrem L-NMMA pre rovnaký účel sa tiež navrhuje v publikáciách WO 91/04024 a EP-A-0446699.

Nedávno sa stalo zrejším, že existujú aspoň tri nasledujúce typy NO-syntázy:

(i) konštitučný Ca^{2+} /kalmodulín-dependentný enzým prítomný v endotele, ktorý uvoľňuje oxid dusnatý ako odpoveď na receptorovú či somatickú stimuláciu,

(ii) konštitučný Ca^{2+} /kalmodulín-dependentný enzým prítomný v mozgu, ktorý uvoľňuje oxid dusnatý ako odpoveď na receptorovú či somatickú stimuláciu,

(iii) Ca^{2+} -independentný enzým, ktorý sa indukuje po aktivácii vaskulárnych hladkých svalov, makrofágov, buniek endotelu a radu ďalších buniek endotoxínom a cytokínmi. Len čo je táto indukovateľná NO-syntáza exprimovaná, vytvára oxid dusnatý nepretržite dlhé časové úseky.

Oxid dusnatý uvoľnený dvoma konštitučnými enzýmami opísanými vyššie pôsobí mechanizmom transdukcie, na ktorom sa zakladá rad fyziologických odpovedí. Oxid dusnatý tvorený indukovateľným enzýmom je molekula, ktorá je cytotoxická pre nádorové bunky a ktorá napadá mikroorganizmy. Tiež sa ukazuje, že nepriaznivé účinky nadmernej tvorby oxidu dusnatého, hlavne patologická vazodilatácia a poškodenie tkaniva, môžu vznikáť hlavne z účinkov oxidu dusnatého vytvoreného indukovateľnou NO-syntázou (Knowles a Moncada, *Biochem. J.*, 298, 249 - 258 (1994), Billiar a kol., *Annals of Surgery*, 221, 339 - 349 (1995), Davies a kol., 1995)).

Narastá tiež množstvo dôkazov o tom, že sa oxid dusnatý môže zúčastniť degenerácie chrupavky, ktorá nastáva za určitých stavov, ako je artritída, a tiež je známe, že sa syntéza oxidu dusnatého zvyšuje pri reumatickej artritíde a osteoartritíde (McInnes a kol., *J. Exp. Med.*, 184, 1519 - 1524 (1996), Sakurai a kol., *J. Clin. Investig.*, 96, 2357 - 2363 (1995)). V súlade s tým stavy, pri ktorých je výhodná inhibícia tvorby oxidu dusnatého z L-arginínu, zahrňujú

autoimunitné a/alebo zápalové stavy postihujúce kĺby, napríklad artritídu, a tiež zápalové ochorenie čriev, kardiovaskulárnu ischémiu, diabetes, diabetickú retinopatiu, nefropatiu, kardiomyopatiu, kongestívne zlyhanie srdca, myokarditídu, aterosklerózu, migrénu, refluxnú ezofagitídu, hnačky, dráždivý črevný syndróm, cystickú fibrózu, emfyzém, astmu, chronické obštrukčné pľúcne ochorenia, bronchiektáziu, herniu medzistavcovej platničky, obezitu, psoriázu, ružienku, kontaktnú dermatitídu, hyperalgéziu (alodyniiu), cerebrálnu ischémiu (fokálna ischémia, trombotická mŕtvica a globálna ischémia (sekundárna po zástave srdca)), úzkostné stavy, roztrúsenú sklerózu a ďalšie poruchy centrálného nervového systému sprostredkované oxidom dusnatým, ako je napríklad Parkinsonova choroba a Alzheimerova choroba, rinitída, liečenie rakoviny a ďalšie poruchy sprostredkované oxidom dusnatým vrátane opiátovej tolerancie u pacientov, ktorí vyžadujú proťahované liečenie opiátovými analgetikami a benzodiazepínové tolerancie u pacientov, ktorí užívajú benzodiazepíny a ďalšie návykové správanie, napríklad na nikotín a poruchy jedla (Kerwin a kol., *J. Medicinal Chemistry*, 38, 4343 - 4362 (1995), Knowles a Moncada, *Biochem. J.*, 298, 249 - 258 (1994), Davies a kol., 1995, Pfeilschifter a kol., *Cell Biology International*, 20, 51 - 58 (1996)).

Ďalšie stavy, pri ktorých je výhodné inhibovať tvorbu oxidu dusnatého z L-arginínu, zahŕňujú systémovú hypotenziu spojenú so septickým a/alebo toxickým šokom indukovaným širokým rozmedzím činiteľov, liečenie cytokínmi, ako je TNF, IL-1 a IL-2, a použitie ako adjuvantnej látky pri krátkodobej imunosupresii pri transplantáciách (E. Kelly a kol., *J. Parent. Ent. Nutri*, 19, 234 - 238 (1995), S. Moncada a E. Higgs, *FASEB J.*, 9, 1319 - 1330 (1995), R. G. Kilbourn a kol., *Crit. Care Med.*, 23, 1018 - 1024 (1995)).

Nedávno bol oxid dusnatý identifikovaný ako neurotransmitter pri prenose bolesti miechou. Podanie NO-syntázových inhibítorov u pacientov s chronickými bolestivými syndrómami a konkrétnejšie s chronickými bolesťami hlavy s pocitom napätia znižuje hladinu bolesti (*The Lancet*, 353, 256 - 257, 287 - 289 (1999)).

Niektoré z inhibítorov NO-syntázy navrhnutých doteraz pre terapeutické použitie, a hlavne L-NMMA, sú neselektívne. Inhibujú konštitučné i indukovateľné NO-syntázy. Použitie takéhoto neselektívneho inhibítora NO-syntázy vyžaduje značnú pozornosť venovanú tomu, aby sa predišlo potenciálne závažným následkom nadmernej inhibície konštitučnej NO-syntázy vrátane hypertenzie a možnej trombózy a poškodenia tkaniva. Konkrétne v prípade terapeutického použitia L-NMMA na liečenie toxického šoku sa odporúča priebežné sledovanie tlaku pacienta po celú dobu liečenia. Preto, i keď neselektívne inhibítory NO-syntázy majú terapeutickú použiteľnosť pri prijatí príslušných opatrení, bolo by prospešnejšie a ľahšie použitie inhibítorov NO-syntázy, ktoré sú selektívne v tom zmysle, že inhibujú indukovateľnú NO-syntázu výrazne väčšou mierou ako konštitučné izoformy NO-syntázy (S. Moncada a E. Higgs, FASEB J., 9, 1319 - 1330 (1995)).

WO 96/35677, WO 96/33175, WO 96/15120, WO 95/11014, WO 95/11231, WO 95/25717, WO 95/24382, WO 94/12165, WO 94/14780, WO 93/13055, EP 0446699A1 a U.S. patent č. 5 132 453 uverejňujú zlúčeniny inhibujúce syntézu oxidu dusnatého, ktoré prednostne inhibujú indukovateľnú izoformu NO-syntázy. Nálezy z týchto publikácií sa zahrňujú tu formou odkazu v úplnej forme tak, ako keby sa tu opisovali.

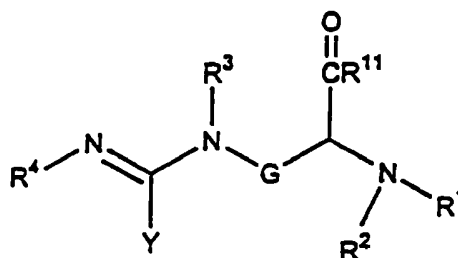
Podstata vynálezu

Vo svojom širokom aspekte sa tento vynález zameriava na inhibíciu a moduláciu tvorby oxidu dusnatého u subjektu, ktorý potrebuje túto inhibíciu či moduláciu, podaním zlúčeniny, ktorá prednostne inhibuje alebo moduluje indukovateľnú izoformu NO-syntázy oproti konštitučným izoformám NO-syntázy. Ďalším predmetom tohto vynálezu je zníženie hladiny oxidu dusnatého u subjektu, ktorý potrebuje toto zníženie.

Tento vynález sa zameriava na halogenáciu derivátov amidinoaminokyselín takým spôsobom, aby produkty vykazovali aktivitu inhibície iNOS a biologickú aktivitu. Halogenácia mení bázickú povahu

amidínového zvyšku a zvyšuje účinnosť s poskytnutím ďalšieho počasu inhibítorov iNOS *in vivo*.

Zlúčeniny podľa tohto vynálezu sú halogénované amidínové zlúčeniny všeobecného vzorca I:



(I)

v ktorých:

R^1 sa volí zo súboru zahrňujúceho atóm vodíka, C_1 - C_{10} alkylovú skupinu, C_2 - C_{10} alkenylovú skupinu a C_2 - C_{10} alkinylovú skupinu,

R^2 sa volí zo súboru zahrňujúceho atóm vodíka, C_1 - C_{10} alkylovú skupinu, C_2 - C_{10} alkenylovú skupinu, C_2 - C_{10} alkinylovú skupinu a buď R alebo S α -aminokyselinu,

R^3 a R^4 sa nezávisle od seba volia zo súboru zahrňujúceho atóm vodíka, C_1 - C_{10} alkylovú skupinu, C_2 - C_{10} alkenylovú skupinu, C_2 - C_{10} alkinylovú skupinu a nitroskupinu,

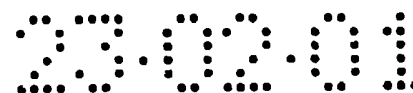
R^1 , R^2 , R^3 a R^4 možno podľa potreby substituovať skupinou zvolenou zo skupín zahrňujúcich nižšiu alkylovú skupinu, nižšiu alkenylovú skupinu, nižšiu alkinylovú skupinu, cykloalkylovú skupinu, heterocyklylovú skupinu, arylovú skupinu, heteroarylovú skupinu, hydroxylovú skupinu, nižšiu alkoxyskupinu, aryloxyskupinu, tiolovú skupinu, nižšiu tioalkoxyskupinu, atóm halogénu, kyanoskupinu, nitroskupinu, aminoskupinu, karboxylovú skupinu, karboxyalkylovú skupinu, karboxyarylovú skupinu, amidínovú skupinu a guanidínovú skupinu,

R^{11} sa volí zo skupín zahrňujúcich hydroxylovú skupinu a R alebo S alfa-aminokyselinu,

G sa volí zo súboru zahrňujúceho C_1 - C_{10} alkylénovú skupinu, C_2 - C_{10} alkenylénovú skupinu a C_2 - C_{10} alkinylénovú skupinu, z ktorých každá môže byť prípadne substituovaná jednou či viacerými skupinami zvolenými zo skupín zahrňujúcich atóm halogénu, hydroxylovú skupinu, trifluórmetylovú skupinu, nitroskupinu, kyanoskupinu, aminoskupinu, C_1 - C_{10} alkylovú skupinu, skupinu $=CH_2$, C_2 - C_{10} alkenylovú skupinu, C_2 - C_{10} alkinylovú skupinu a C_1 - C_{10} alkoxykupinu, z ktorých každá môže byť prípadne substituovaná skupinou, ktorou je nižšia alkylová skupina, nižšia alkenylová skupina, nižšia alkinylová skupina, cykloalkylová skupina, heterocyklylová skupina, arylová skupina, heteroarylová skupina, hydroxylová skupina, nižšia alkoxykupina, aryloxykupina, tiolová skupina, nižšia tioalkoxykupina, atóm halogénu, kyanoskupina, nitroskupina, aminoskupina, karboxylová skupina, karboxyalkylová skupina, karboxyarylová skupina, amidínová skupina, guanidínová skupina, trifluórmetylová skupina a nitroskupina,

G sa zvolí zo vzorca $(CH_2)_p-(CX^1X^2)_r-(CH_2)_s-Q-(CH_2)_t-(CX^3X^4)_u-(CH_2)_v$, kde p, r, s, t, u, v sú nezávisle 0 až 3 a Q je atóm kyslíka, skupina C=O, skupina $S(O)_a$, kde a je 0 až 2 s podmienkou, že keď a je 1 alebo 2, G musí obsahovať atóm halogénu alebo NR^{12} , kde R^{12} je atóm vodíka alebo C_1 - C_{10} alkylová skupina, ktorá môže byť prípadne substituovaná jednou či viacerými skupinami zvolenými zo skupín zahrňujúcich C_1 - C_{10} alkylovú skupinu, C_1 - C_{10} alkoxykupinu, hydroxylovú skupinu, trifluórmetylovú skupinu, nitroskupinu, kyanoskupinu, aminoskupinu a atóm halogénu,

G sa zvolí podľa vzorca $-(CH_2)_w-(CX^5X^6)_y-(CH_2)_z-A-(CH_2)_k-(CX^7X^8)_j-(CH_2)_h$, kde w, y, z, k, j, h sú nezávisle 0 až 3 a A je trojčlenná až šesťčlenná karbocyklická skupina alebo heterocyklická skupina, ktorá môže byť prípadne substituovaná jednou či viacerými skupinami zvolenými zo skupín zahrňujúcich atóm halogénu, C_1 - C_{10} alkylovú skupinu, C_1 - C_{10} alkoxykupinu, hydroxylovú skupinu, trifluórmetylovú skupinu, nitroskupinu, kyanoskupinu a aminoskupinu, kde každá z nich môže byť prípadne substituovaná atómom halogénu alebo C_1 -



C_{10} alkylovou skupinou s podmienkou, že keď sa G zvolí podľa vzorca $-(CH_2)_w-(CX^5X^6)_y-(CH_2)_z-A-(CH_2)_k-(CX^7X^8)_j-(CH_2)_h$, musí Y obsahovať atóm halogénu,

$X^1, X^2, X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8$ môžu nezávisle od seba chýbať alebo ich môže predstavovať atóm vodíka, atóm halogénu, C_1 - C_{10} alkylová skupina, skupina $=CH_2$, C_2 - C_{10} alkenylová skupina alebo C_2 - C_{10} alkinylová skupina, kde C_1 - C_{10} alkylová skupina, skupina $=CH_2$, C_2 - C_{10} alkenylová skupina a C_2 - C_{10} alkinylová skupina môžu byť prípadne substituované jednou či viacerými zo skupín zahrňujúcich nižšiu alkylovú skupinu, nižšiu alkenylovú skupinu, nižšiu alkinylovú skupinu, cykloalkylovú skupinu, heterocyklylovú skupinu, arylovú skupinu, heteroarylovú skupinu, hydroxylovú skupinu, nižšiu alkoxykupinu, aryloxykupinu, tiolovú skupinu, nižšiu tioalkoxykupinu, atóm halogénu, kyanoskupinu, nitroskupinu, aminoskupinu, karboxylovú skupinu, karboxyalkylovú skupinu, karboxyarylovú skupinu, amidínovú skupinu, guanidínovú skupinu, trifluórmetylovú skupinu a nitroskupinu,

Y sa volí zo súboru zahrňujúceho heterocyklický kruh, C_1 - C_{10} haloalkylovú skupinu, C_1 - C_{10} dihaloalkylovú skupinu, C_1 - C_{10} trihaloalkylovú skupinu, C_1 - C_{10} alkylovú skupinu, C_3 - C_{10} cykloalkylovú skupinu, C_2 - C_{10} alkenylovú skupinu a C_2 - C_{10} alkinylovú skupinu, z ktorých každá môže byť prípadne substituovaná jednou či viacerými skupinami zvolenými zo skupín zahrňujúcich atóm halogénu, hydroxylovú skupinu, trifluórmetylovú skupinu, nitroskupinu, kyanoskupinu, aminoskupinu, C_1 - C_{10} alkylovú skupinu, C_2 - C_{10} alkenylovú skupinu, C_2 - C_{10} alkinylovú skupinu a C_1 - C_{10} alkoxykupinu,

Y môže byť skupina NR^9R^{10} , kde R^9 a R^{10} sa nezávisle od seba volia zo skupín zahrňujúcich atóm vodíka, C_1 - C_{10} alkylovú skupinu, C_3 - C_{10} cykloalkylovú skupinu, C_2 - C_{10} alkenylovú skupinu, C_2 - C_{10} alkinylovú skupinu, nitroskupinu, aminoskupinu, arylovú skupinu a C_1 - C_{10} alkarylovú skupinu,

s podmienkou, že aspoň jeden z G alebo Y obsahuje atóm halogénu.

Zlúčeniny podľa tohto vynálezu môžu existovať vo forme geometrických izomérov alebo stereoizomérov. Tento vynález zahrňuje všetky tieto zlúčeniny vrátane cis- a trans-geometrických izomérov, E- a Z-geometrických izomérov,

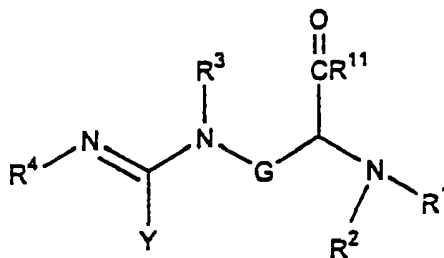
R- a S-enantiomérov, diastereomérov, D-izomérov, L-izomérov, ich racemických zmesí a ďalších ich zmesí, ktoré sú všetky predmetom tohto vynálezu.

Zámerom tohto vynálezu je poskytnúť zlúčeniny, ktoré sú použiteľné ako inhibítory NO-syntázy. Tieto zlúčeniny tiež prednostne inhibujú indukovateľnú formu oproti konštitučnej forme aspoň trojnásobnou mierou.

Predmetom tohto vynálezu je tiež poskytnutie zlúčenín, ktoré sú selektívnejšie ako tie, ktoré sú známe v odbore.

Nasleduje podrobný opis vynálezu.

Prednostne sú zlúčeniny podľa tohto vynálezu halogénované amidínové zlúčeniny všeobecného vzorca I:



(I)

alebo ich farmaceuticky prijateľné soli, v ktorých:

R^1 sa volí zo súboru zahrňujúceho atóm vodíka, C_1 - C_{10} alkylovú skupinu, C_2 - C_{10} alkenylovú skupinu a C_2 - C_{10} alkinylovú skupinu,

R^2 sa volí zo súboru zahrňujúceho atóm vodíka, C_1 - C_{10} alkylovú skupinu, C_2 - C_{10} alkenylovú skupinu, C_2 - C_{10} alkinylovú skupinu a buď R alebo S alfa-aminokyselinu,

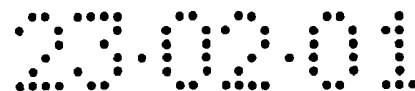
R^3 a R^4 sa nezávisle od seba volia zo súboru zahrňujúceho atóm vodíka, C_1 - C_{10} alkylovú skupinu, C_2 - C_{10} alkenylovú skupinu, C_2 - C_{10} alkinylovú skupinu a nitroskupinu,

R^1 , R^2 , R^3 a R^4 možno podľa potreby substituovať skupinou zvolenou zo skupín zahrňujúcich nižšiu alkylovú skupinu, nižšiu alkenylovú skupinu, nižšiu alkinylovú skupinu, cykloalkylovú skupinu, heterocyklylovú skupinu, arylovú skupinu, heteroarylovú skupinu, hydroxylovú skupinu, nižšiu alkoxyskupinu, aryloxyskupinu, tiolovú skupinu, nižšiu tioalkoxyskupinu, atóm halogénu, kyanoskupinu, nitroskupinu, aminoskupinu, karboxylovú skupinu, karboxyalkylovú skupinu, karboxyarylovú skupinu, amidínovú skupinu a guanidínovú skupinu,

R^{11} sa volí zo skupín zahrňujúcich hydroxylovú skupinu a R alebo S alfa-aminokyselínu,

G sa volí zo súboru zahrňujúceho C_1 - C_{10} alkylénovú skupinu, C_2 - C_{10} alkenylénovú skupinu a C_2 - C_{10} alkinylénovú skupinu, z ktorých každá môže byť prípadne substituovaná jednou či viacerými skupinami zvolenými zo skupín zahrňujúcich atóm halogénu, hydroxylovú skupinu, trifluórmetylovú skupinu, nitroskupinu, kyanoskupinu, aminoskupinu, C_1 - C_{10} alkylovú skupinu, skupinu $=CH_2$, C_2 - C_{10} alkenylovú skupinu, C_2 - C_{10} alkinylovú skupinu a C_1 - C_{10} alkoxyskupinu, z ktorých každá môže byť prípadne substituovaná skupinou, ktorou je nižšia alkylová skupina, nižšia alkenylová skupina, nižšia alkinylová skupina, cykloalkylová skupina, heterocyklylová skupina, arylová skupina, heteroarylová skupina, hydroxylová skupina, nižšia alkoxyskupina, aryloxyskupina, tiolová skupina, nižšia tioalkoxyskupina, atóm halogénu, kyanoskupina, nitroskupina, aminoskupina, karboxylová skupina, karboxyalkylová skupina, karboxyarylová skupina, amidínová skupina, guanidínová skupina, trifluórmetylová skupina a nitroskupina,

G sa zvolí podľa vzorca $(CH_2)_p-(CX^1X^2)_r-(CH_2)_s-Q-(CH_2)_t-(CX^3X^4)_u-(CH_2)_v$, kde p, r, s, t, u, v sú nezávisle 0 až 3 a Q je atóm kyslíka, skupina C=O, skupina $S(O)_a$, kde a je 0 až 2 s podmienkou, že keď a je 1 alebo 2, G musí obsahovať atóm halogénu alebo NR^{12} , kde R^{12} je atóm vodíka alebo C_1 - C_{10} alkylová skupina, ktorá môže byť prípadne substituovaná jednou či viacerými skupinami zvolenými zo skupín zahrňujúcich C_1 - C_{10} alkylovú skupinu, C_1 - C_{10} alkoxyskupinu, hydroxylovú skupinu, trifluórmetylovú skupinu, nitroskupinu,



kyanoskupinu, aminoskupinu a atóm halogénu,

G sa zvolí podľa vzorca $-(\text{CH}_2)_w-(\text{CX}^5\text{X}^6)_y-(\text{CH}_2)_z-\text{A}-(\text{CH}_2)_k-(\text{CX}^7\text{X}^8)_j-$
 $(\text{CH}_2)_h$, kde w, y, z, k, j, h sú nezávisle 0 až 3 a A je trojčlenná až šesťčlenná
 karbocyklická skupina alebo heterocyklická skupina, ktorá môže byť prípadne
 substituovaná jednou či viacerými skupinami zvolenými zo skupín zahrňujúcich
 atóm halogénu, C_1 - C_{10} alkylovú skupinu, C_1 - C_{10} alkoxykupinu, hydroxylovú
 skupinu, trifluórmetylovú skupinu, nitroskupinu, kyanoskupinu a aminoskupinu,
 kde každá z nich môže byť prípadne substituovaná atómom halogénu alebo C_1 -
 C_{10} alkylovou skupinou s podmienkou, že keď sa G zvolí podľa vzorca $-(\text{CH}_2)_w-$
 $(\text{CX}^5\text{X}^6)_y-(\text{CH}_2)_z-\text{A}-(\text{CH}_2)_k-(\text{CX}^7\text{X}^8)_j-(\text{CH}_2)_h$, musí Y obsahovať atóm halogénu,

$\text{X}^1, \text{X}^2, \text{X}^3, \text{X}^4, \text{X}^5, \text{X}^6, \text{X}^7, \text{X}^8$ môžu nezávisle od seba chýbať alebo ich
 môže predstavovať atóm vodíka, atóm halogénu, C_1 - C_{10} alkylová skupina,
 skupina $=\text{CH}_2$, C_2 - C_{10} alkenylová skupina alebo C_2 - C_{10} alkinylová skupina, kde
 C_1 - C_{10} alkylová skupina, skupina $=\text{CH}_2$, C_2 - C_{10} alkenylová skupina a C_2 - C_{10}
 alkinylová skupina môžu byť prípadne substituované jednou či viacerými zo
 skupín zahrňujúcich nižšiu alkylovú skupinu, nižšiu alkenylovú skupinu, nižšiu
 alkinylovú skupinu, cykloalkylovú skupinu, heterocyklylovú skupinu, arylovú
 skupinu, heteroarylovú skupinu, hydroxylovú skupinu, nižšiu alkoxykupinu,
 aryloxykupinu, tiolovú skupinu, nižšiu tioalkoxykupinu, atóm halogénu,
 kyanoskupinu, nitroskupinu, aminoskupinu, karboxylovú skupinu,
 karboxyalkylovú skupinu, karboxyarylovú skupinu, amidínovú skupinu,
 guanidínovú skupinu, trifluórmetylovú skupinu a nitroskupinu,

Y sa volí zo súboru zahrňujúceho heterocyklický kruh, C_1 - C_{10}
 haloalkylovú skupinu, C_1 - C_{10} dihaloalkylovú skupinu, C_1 - C_{10} trihaloalkylovú
 skupinu, C_1 - C_{10} alkylovú skupinu, C_3 - C_{10} cykloalkylovú skupinu, C_2 - C_{10}
 alkenylovú skupinu a C_2 - C_{10} alkinylovú skupinu, z ktorých každá môže byť
 prípadne substituovaná jednou či viacerými skupinami zvolenými zo skupín
 zahrňujúcich atóm halogénu, hydroxylovú skupinu, trifluórmetylovú skupinu,
 nitroskupinu, kyanoskupinu, aminoskupinu, C_1 - C_{10} alkylovú skupinu, C_2 - C_{10}
 alkenylovú skupinu, C_2 - C_{10} alkinylovú skupinu a C_1 - C_{10} alkoxykupinu,



Y môže byť skupina NR^9R^{10} , kde R^9 a R^{10} sa nezávisle od seba volia zo skupín zahrňujúcich atóm vodíka, C_1 - C_{10} alkylovú skupinu, C_3 - C_{10} cykloalkylovú skupinu, C_2 - C_{10} alkenylovú skupinu, C_2 - C_{10} alkinylovú skupinu, nitroskupinu, aminoskupinu, arylovú skupinu a C_1 - C_{10} alkarylovú skupinu, s podmienkou, že aspoň jeden z G alebo Y obsahuje atóm halogénu.

Prednostne majú zlúčeniny podľa tohto vynálezu všeobecný vzorec I, v ktorom:

G sa zvolí podľa vzorca $(CH_2)_p-(CX^1X^2)_r-(CH_2)_s-Q-(CH_2)_t-(CX^3X^4)_u-(CH_2)_v$, kde p, r, s, t, u, v sú nezávisle 0 až 3 a Q je atóm kyslíka, skupina $C=O$, skupina $S(O)_a$, kde a je 0 až 2 s podmienkou, že keď a je 1 alebo 2, G musí obsahovať atóm halogénu alebo NR^{12} , kde R^{12} je atóm vodíka alebo C_1 - C_{10} alkylová skupina, ktorá môže byť prípadne substituovaná jednou či viacerými skupinami zvolenými zo skupín zahrňujúcich C_1 - C_{10} alkylovú skupinu, C_1 - C_{10} alkoxykupinu, hydroxylovú skupinu, trifluórmetylovú skupinu, nitroskupinu, kyanoskupinu, aminoskupinu a atóm halogénu, a

Y sa volí zo skupiny zahrňujúcej C_1 - C_{10} haloalkylovú skupinu, C_1 - C_{10} dihaloalkylovú skupinu, C_1 - C_{10} trihaloalkylovú skupinu, C_1 - C_{10} alkylovú skupinu, C_3 - C_{10} cykloalkylovú skupinu, C_2 - C_{10} alkenylovú skupinu a C_2 - C_{10} alkinylovú skupinu.

Prednostne majú zlúčeniny podľa tohto vynálezu všeobecný vzorec I, v ktorom:

R^1 , R^2 sú atómy vodíka,

R^3 a R^4 sú nezávisle od seba atóm vodíka alebo nitroskupina,

G sa zvolí podľa vzorca $(CH_2)_p-(CX^1X^2)_r-(CH_2)_s-Q-(CH_2)_t-(CX^3X^4)_u-(CH_2)_v$, kde p, r, s, t, u, v sú nezávisle od seba 0 až 3 a Q je atóm kyslíka, skupina $C=O$, skupina $S(O)_a$, kde a je 0 až 2 s podmienkou, že keď a je 1 alebo 2, G musí obsahovať atóm halogénu alebo NR^{12} , kde R^{12} je atóm vodíka alebo C_1 - C_{10} alkylová skupina, ktorá môže byť prípadne substituovaná jednou či viacerými skupinami zvolenými zo skupín zahrňujúcich C_1 - C_{10} alkylovú skupinu, C_1 - C_{10} alkoxykupinu, hydroxylovú skupinu, trifluórmetylovú skupinu,



nitroskupinu, kyanoskupinu, aminoskupinu a atóm halogénu, a

Y sa zvolí z prípadov C₁-C₆ alkylová skupina, C₃-C₆ cykloalkylová skupina, C₂-C₆ alkenylová skupina a C₂-C₆ alkinylová skupina, kde každá z týchto skupín môže byť prípadne substituovaná jedným či viacerými atómami halogénu alebo skupinou NHR⁹, kde R⁹ je atóm vodíka, C₁-C₆ alkylová skupina, C₃-C₆ cykloalkylová skupina, C₂-C₆ alkenylová skupina alebo C₂-C₆ alkinylová skupina.

Prednostne majú zlúčeniny podľa tohto vynálezu všeobecný vzorec I, v ktorom:

R¹, R², R³ a R⁴ sú atómy vodíka a

Y je C₁-C₆ alkylová skupina, prípadne substituovaná aspoň jedným atómom halogénu.

Najvhodnejšie zlúčeniny podľa tohto vynálezu sa zvolia zo skupiny zlúčenín zahrňujúcej:

N-(2-fluór-1-iminoetyl)-3-aminopropyl-L-cysteíndihydrochlorid,

N-(2-fluór-1-iminoetyl)-3-aminoetyl-L-cysteíndihydrochlorid,

N-(2-fluór-1-iminoetyl)-2-aminoetyl-D,L-homocysteíndihydrochlorid a

N-(2-fluór-1-iminoetyl)-2-aminoetyl-L-homocysteíndihydrochlorid.

Pojem „alkylová skupina,, ako sa tu používa samotný alebo v kombináciách, znamená rozvetvenú alebo nerozvetvenú acyklickú alkylovú skupinu obsahujúcu od 1 do 10, prednostne od 1 do 8 atómov uhlíka a ešte lepšie od 1 do 6 atómov uhlíka. Príklady týchto skupín zahrňujú metylovú skupinu, etylovú skupinu, n-propylovú skupinu, izopropylovú skupinu, n-butylovú skupinu, izobutylovú skupinu, *sek*-butylovú skupinu, *terc*-butylovú skupinu, pentylovú skupinu, izoamylovú skupinu, hexylovú skupinu, oktylovú skupinu a podobne.

Pojem „alkenylová skupina,, sa týka rozvetvenej či nerozvetvenej nenasýtenej acyklickej uhľovodíkovej skupiny, ktorá obsahuje aspoň jednu dvojitú väzbu. Tieto skupiny obsahujú od 2 do 10 atómov uhlíka, prednostne od 2 do 8 atómov uhlíka a ešte lepšie od 2 do 6 atómov uhlíka. Príklady vhodných

alkenylových skupín zahrňujú propylenylovú skupinu, butén-1-ylovú skupinu, izobutenylovú skupinu, pentenylén-1-ylovú skupinu, 2-2-metylbutén-1-ylovú skupinu, 3-metylbutén-1-ylovú skupinu, hexén-1-ylovú skupinu, heptén-1-ylovú skupinu a oktén-1-ylovú skupinu a podobne.

Pojem „alkinylová skupina,“ sa týka rozvetvených či nerozvetvených nenasýtených acyklických uhľovodíkových skupín obsahujúcich jednu či viacero trojitých väzieb. Tieto skupiny obsahujú 2 až 10 atómov uhlíka, prednostne od 2 do 8 atómov uhlíka a ešte lepšie od 2 do 6 atómov uhlíka. Príklady vhodných alkinylových skupín zahrňujú etinylovú skupinu, propinylovú skupinu, butín-1-ylovú skupinu, butín-2-ylovú skupinu, pentín-1-ylovú skupinu, pentín-2-ylovú skupinu, 3-metylbutín-1-ylovú skupinu, hexín-1-ylovú skupinu, hexín-2-ylovú skupinu, hexín-3-ylovú skupinu, 3,3-dimetylbutín-1-ylovú skupinu a podobne.

Pojem „heterocyklická skupina,“ znamená nenasýtenú cyklickú uhľovodíkovú skupinu s 3 až zhruba 6 atómami uhlíka, kde 1 až 4 atómy uhlíka sú nahradené atómom dusíka, kyslíka alebo síry. „Heterocyklická skupina,“ môže byť kondenzovaná na aromatickú uhľovodíkovú skupinu. Vhodné príklady zahrňujú pyrolylovú skupinu, pyridylovú skupinu, pyrazolylovú skupinu, triazolylovú skupinu, pyrimidinylovú skupinu, pyridazinylovú skupinu, oxazolylovú skupinu, tiazolylovú skupinu, imidazolylovú skupinu, indolylovú skupinu, tiofenylovú skupinu, furanylovú skupinu, tetrazolylovú skupinu, 2-pyrolinylovú skupinu, 3-pyrolinylovú skupinu, pyrolidinylovú skupinu, 1,3-dioxolanylovú skupinu, 2-imidazolinylovú skupinu, imidazolidinylovú skupinu, 2-pyrazolinylovú skupinu, pyrazolidinylovú skupinu, izoxazolylovú skupinu, izotiazolylovú skupinu, 1,2,3-oxadiazolylovú skupinu, 1,2,3-triazolylovú skupinu, 1,3,4-tiadiazolylovú skupinu, 2H-pyranylovú skupinu, 4H-pyranylovú skupinu, piperidinylovú skupinu, 1,4-dioxánylovú skupinu, morfolinylovú skupinu, 1,4-ditianylovú skupinu, tiomorfolinylovú skupinu, pyrazinylovú skupinu, piperazinylovú skupinu, 1,2,3-triazinylovú skupinu, 1,3,5-tritianylovú skupinu, benzo(b)tiofenylovú skupinu, benzimidazonylovú skupinu, chinolylovú skupinu a podobne.



Pojem „arylová skupina„ znamená aromatickú uhľovodíkovú skupinu so 4 až 16 atómami uhlíka, prednostne so 6 až zhruba 12 atómami uhlíka, ešte lepšie so 6 až 10 atómami uhlíka. Príklady vhodných aromatických uhľovodíkových skupín zahrňujú fenylovú skupinu, naftylovú skupinu a podobne.

Pojmy „cykloalkylová skupina„ alebo „cykloalkenylová skupina„ znamenajú „alicyklickú skupinu„ s kruhom s 3 až 10 atómami uhlíka a prednostne s 3 až 6 atómami uhlíka. Príklady vhodných alicyklických skupín zahrňujú cyklopropylovú skupinu, cyklopropylenylovú skupinu, cyklobutylovú skupinu, cyklopentylovú skupinu, cyklohexylovú skupinu, 2-cyklohexén-1-ylenylovú skupinu, cyklohexenylovú skupinu a podobne.

Pojem „alkoxyskupina„ samotný alebo v kombinácii, znamená alkyléterovú skupinu, v ktorej pojem alkylová skupina zodpovedá definícii opísanej vyššie a obsahuje prednostne 1 až 4 atómy uhlíka. Príklady vhodných alkyléterových skupín zahrňujú metoxyskupinu, etoxyskupinu, n-propoxyskupinu, izopropoxyskupinu, n-butoxyskupinu, izobutoxyskupinu, sek-butoxyskupinu, *terc*-butoxyskupinu a podobne.

Pojem „alkylénová skupina„ sa týka uhľovodíkov obsahujúcich 1 až 10 atómov uhlíka, prednostne 1 až 8 atómov uhlíka a ešte lepšie 1 až 6 atómov uhlíka.

Pojem „alkenylénová skupina„ a „alkinylénová skupina„ sa týka uhľovodíkov obsahujúcich 2 až 10 atómov uhlíka, prednostne 2 až 8 atómov uhlíka a ešte lepšie 2 až 6 atómov uhlíka.

Pojem „halogén„ znamená fluór, chlór, bróm alebo jód.

Pojem „prekurzor lieku„ sa vzťahuje k zlúčenine, ktorá sa za podmienok *in vivo* stane aktívnejšou.

Pojem „ošetrovanie chorého„ sa myslí tak, že zahrňuje tiež profylaxiu.

Tento vynález zahrňuje zlúčeniny všeobecného vzorca I vo forme solí, najmä kyslých adičných solí. Vhodné soli zahrňujú tie, ktoré sa tvoria s organickými i anorganickými kyselinami. Tieto kyslé adičné soli budú

normálne farmaceuticky prijateľné, avšak pri príprave a čistení danej zlúčeniny možno použiť i iné soli. Preto preferované soli zahrňujú tie, ktoré sa vytvárajú kyselinou bromovodíkovou, sírovou, citrónovou, vínou, fosforečnou, mliečnou, pyrohroznovou, octovou, jantárovou, šťavelovou, fumaárovou, jablčnou, oxaloctovou, metánsulfónovou, etánsulfónovou, toluénsulfónovou, benzénsulfónovou a izetionovou. Soli týchto zlúčenín všeobecného vzorca I možno pripraviť reakciou príslušnej zlúčeniny vo forme voľnej bázy s príslušnou kyselinou.

I keď možno zlúčeninu všeobecného vzorca I podávať ako chemickú látku, preferuje sa jej použitie vo farmaceutickom prostriedku. Podľa ďalšieho aspektu tento vynález poskytuje farmaceutický prostriedok zahrňujúci zlúčeninu všeobecného vzorca I alebo jej farmaceuticky prijateľnú soľ či solvát spolu s jedným či viacerými farmaceuticky prijateľnými nosičmi a prípadne tiež jednu či viacero ďalších liečivých zložiek. Nosič či nosiče musia byť „prijateľné“, v zmysle kompatibility s ostatnými zložkami prostriedku a nesmie poškodzovať príjemcu lieku.

Prostriedky zahrňujú také, ktoré sú vhodné na perorálne, parenterálne (vrátane subkutánneho, intradermálneho, intramuskulárneho, intravenózneho a intrartikulárneho), inhalačné, rektálne a miestne (vrátane dermálneho, bukálneho, sublinguálneho a intraokulárneho) podávania, avšak najvhodnejšia cesta podávania môže závisieť napríklad od stavu a poruchy príjemcu. Prípravky sa môžu výhodne prezentovať v jednotkovej dávkovej forme a môžu sa pripravovať ktorýmkoľvek zo spôsobov dobre známych v odbore farmácie. Všetky metódy zahrňujú krok, ktorý spája zlúčeninu všeobecného vzorca I alebo jej farmaceuticky prijateľnú soľ či solvát („účinnú zložku,“) s nosičom, ktorý tvorí jednu alebo viacero pomocných látok. Všeobecne sa prípravky pripravujú jednotným a tesným spojením účinnej zložky s kvapalnými nosičmi alebo jemne rozdrvenými tuhými nosičmi alebo s oboma typmi nosičov a, ak je to treba, vytvarovaním prípravku na požadovaný tvar.

Prípravky podľa tohto vynálezu vhodné na perorálne použitie môžu existovať ako diskkrétne jednotky, ako sú tobolky, vrecká alebo tablety, z ktorých

každá obsahuje vopred určené množstvo účinnej zložky, ako prášky či granuly, ako roztok alebo suspenzia vo vodnej kvapaline alebo v nevodnej kvapaline alebo ako emulzia oleja vo vode alebo vody v oleji. Účinná zložka môže byť tiež prítomná ako bolus, sirup alebo pasta.

Tableta sa môže pripraviť lisovaním alebo liatím do formy, prípadne za prítomnosti jednej či viacerých pomocných látok. Lisované tablety možno pripraviť lisovaním účinnej zložky vo voľne tečúcej forme, ako je prášok alebo granula, prípadne zmiešanej so spojivom, mazivom, inertným zriedčovadlom, povrchovo aktívnym či dispergačným prostriedkom na vhodnom stroji. Liate tablety možno zhotoviť liatím zmesi práškovej zlúčeniny zvlhčenej inertným kvapalným zriedovacím prostriedkom na vhodnom stroji. Tablety možno prípadne poťahovať či opatriť ryhami a formulovať tak, aby poskytovali pomalé či riadené uvoľňovanie účinnej zložky.

Prípravky na parenterálne podávanie zahrňujú vodné a nevodné sterilné injekčné roztoky, ktoré môžu obsahovať antioxidanty, činitele, pufre, bakteriostatiká a rozpustené zložky, pri ktorých sa prostriedok stane izotonickým s krvou zamýšľaného príjemcu a vodné a nevodné sterilné suspenzie, ktoré môžu zahrňovať suspenzačné prostriedky a zahusťovacie prostriedky. Tieto prípravky sa môžu prezentovať v jednodávkových či viacdávkových obaloch, napríklad v zatavených ampulách a fľaštičkách a môžu sa ukladať v lyofilizovanom stave, takže vyžadujú iba prídavok sterilného kvapalného nosiča, napríklad fyziologického roztoku alebo vody pre injekcie bezprostredne pred použitím. Injekčné roztoky a suspenzie na okamžité použitie možno pripravovať zo sterilných práškov, granúl a tabliet vyššie opísaného typu.

Prípravky na rektálne podávanie sa môžu prezentovať ako čapíky s bežnými nosičmi, ako je kakaové maslo alebo polyetylénglykol.

Prípravky na lokálne podávanie v ústnej dutine, napríklad bukálné alebo sublinguálne, zahrňujú pastilky obsahujúce účinnú zložku v ochutenej báze, ako je sacharóza a akácia alebo tragakant a pastilky obsahujúce účinnú zložku v báze, ako je želatína a glycerín alebo sacharóza a akáciová želatína.

Preferované jednotkové dávkové prostriedky sú tie, ktoré obsahujú účinnú dávku aktívnej zložky alebo jej príslušný zlomok.

Je potrebné si uvedomiť, že navyše k zložkám konkrétne uvedeným vyššie môžu prípravky podľa tohto vynálezu zahrňovať ďalšie prostriedky bežné v odbore vzhľadom k typu daného prípravku. Napríklad tie, ktoré slúžia na perorálne podávanie, môžu obsahovať príchute.

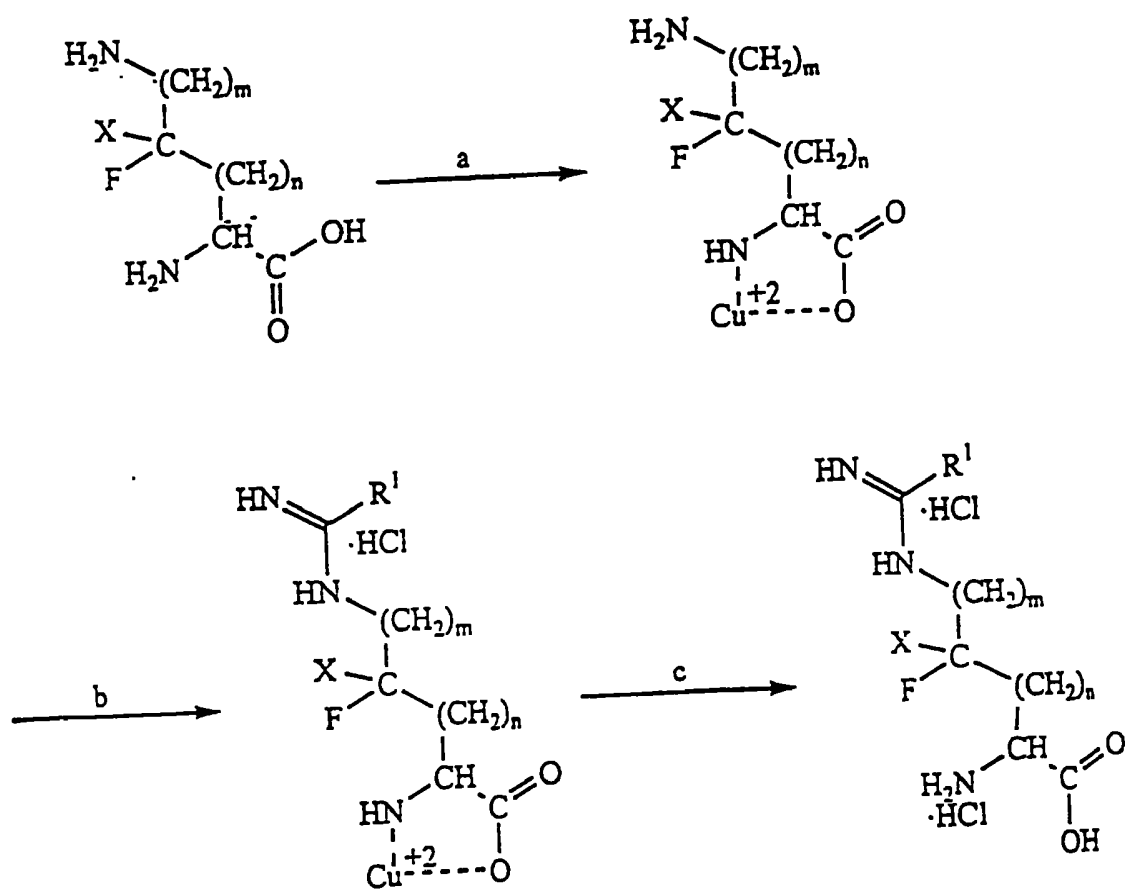
Zlúčenina podľa tohto vynálezu sa môže podávať perorálne alebo injekčne v dávke od 0,001 do 2500 mg/kg na deň. Dávkové rozmedzie pre dospelého človeka je všeobecne od 0,005 mg do 10 g/deň. Tablety alebo iné formy prezentácie poskytované v diskretných jednotkách môžu výhodne obsahovať množstvo zlúčeniny podľa tohto vynálezu, ktoré je účinné pri tomto dávkovaní alebo pri jeho násobku, napríklad jednotky obsahujúce 5 mg až 500 mg, zvyčajne okolo 10 mg až 200 mg.

Zlúčeniny všeobecného vzorca I sa prednostne podávajú perorálne alebo injekciou (intravenózne či subkutánne). Presné množstvo zlúčeniny podávané pacientovi je vecou zodpovednosti ošetrojúceho lekára. Avšak použitá dávka bude závisieť od radu faktorov vrátane veku a pohlavia pacienta, od presného určenia poruchy, ktorá sa má liečiť a od jej závažnosti. Cesta podávania sa rovnako môže meniť v závislosti od stavu a jeho závažnosti.

Všetky odkazy, patenty či prihlášky, americké či cudzie, citované v prihláške sa tu zahrňujú formou odkazu tak, ako keby tu boli celé opísané.

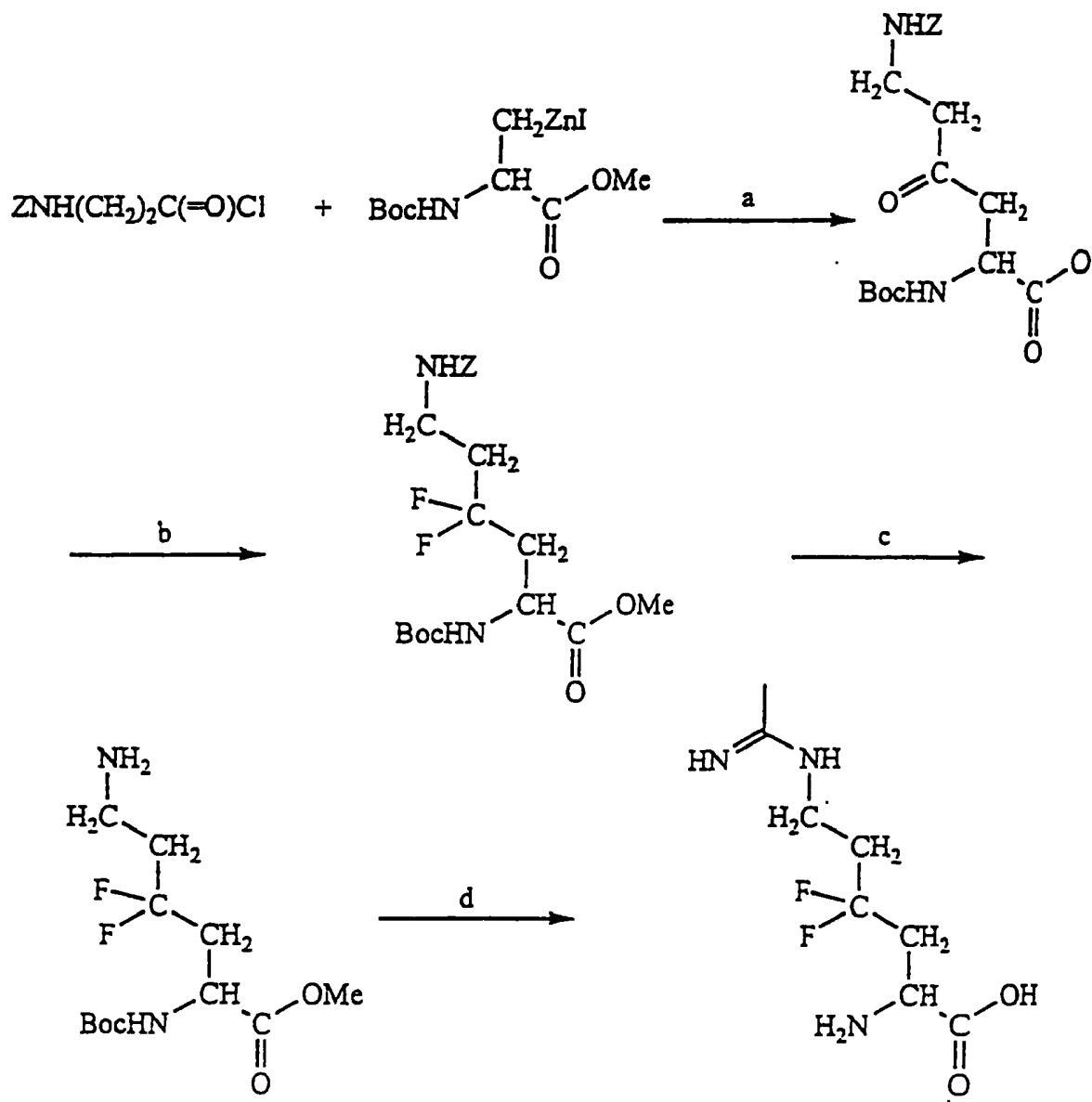
Nasledujú všeobecné syntetické sekvencie použiteľné pri zhotovovaní zlúčenín podľa tohto vynálezu.

Schéma 1



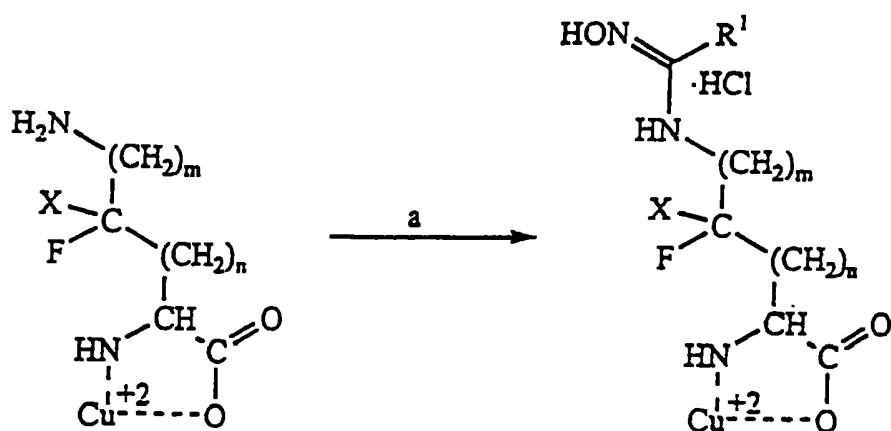
a. CuSO_4 . b. $\text{R}^1\text{C}(\text{=NH})\text{OEt}\cdot\text{HCl}$. c. iontomenič

Schéma 2



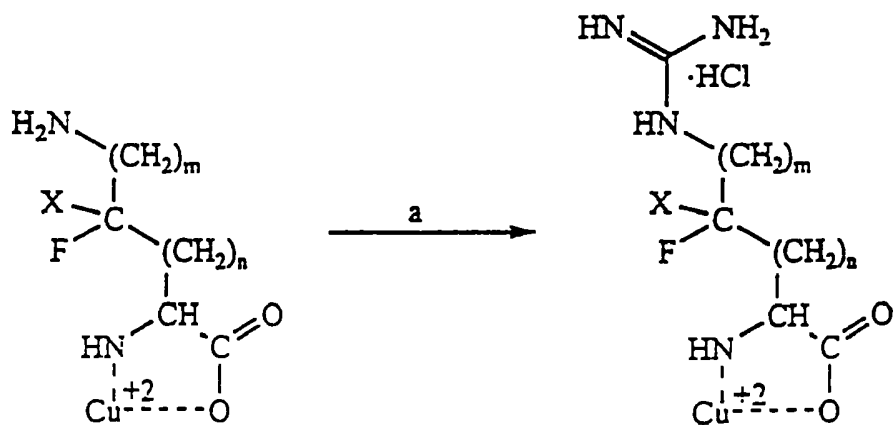
a. $(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{PdCl}_2$. b. DAST. c. H_2 , Pd/C. d. i. $\text{CH}_3\text{C}(=\text{NH})\text{OEt} \cdot \text{HCl}$, ii. HCl

Schéma 3



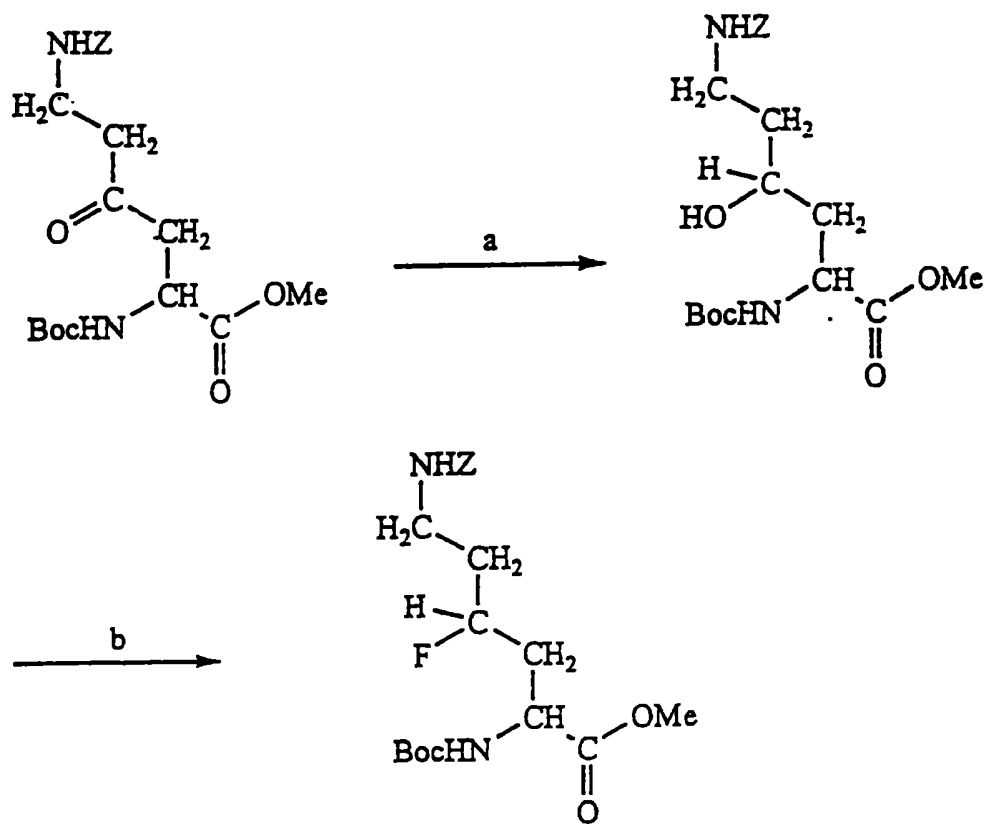
a. R¹C=(NOH)Cl

Schéma 4



a) 3,5-diméthylpyrazol-1-karboxamidin

Schéma 5



a. NaBH_4 . b. DAST

Schéma 6

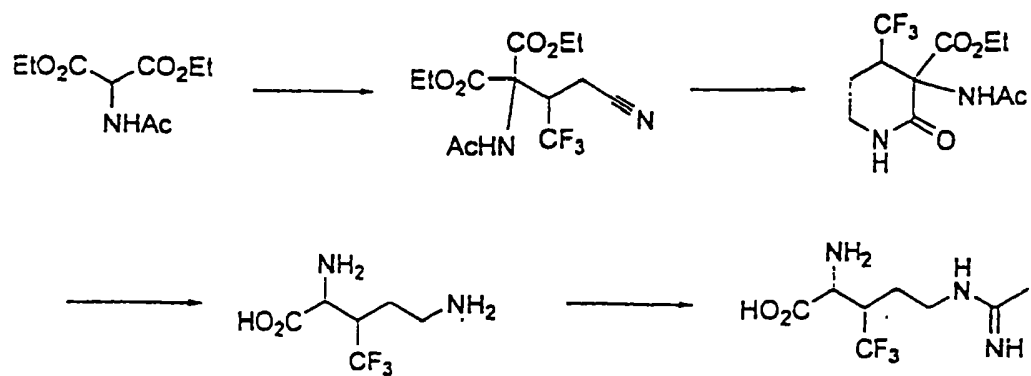


Schéma 7

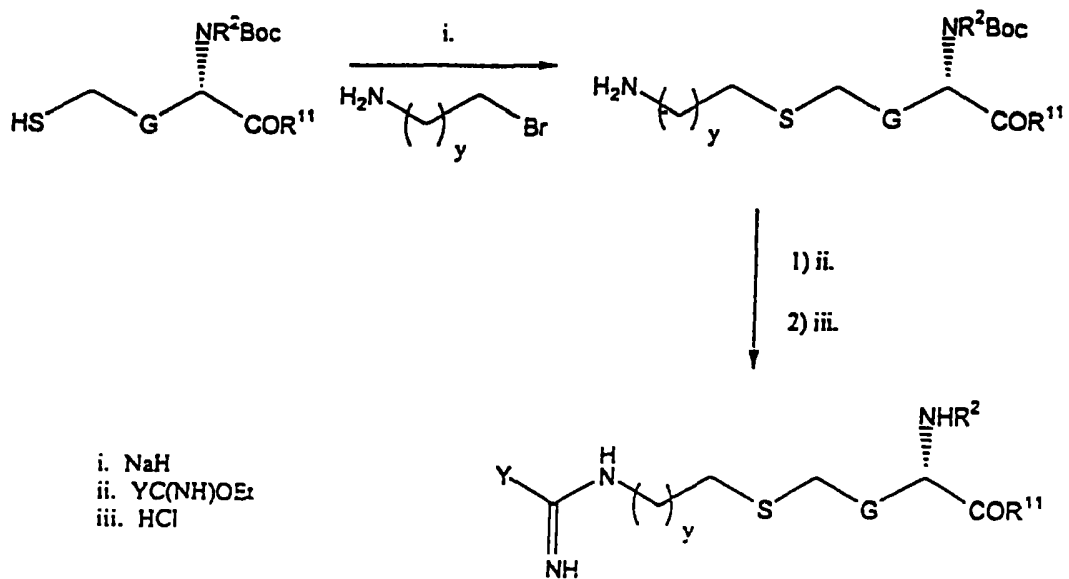
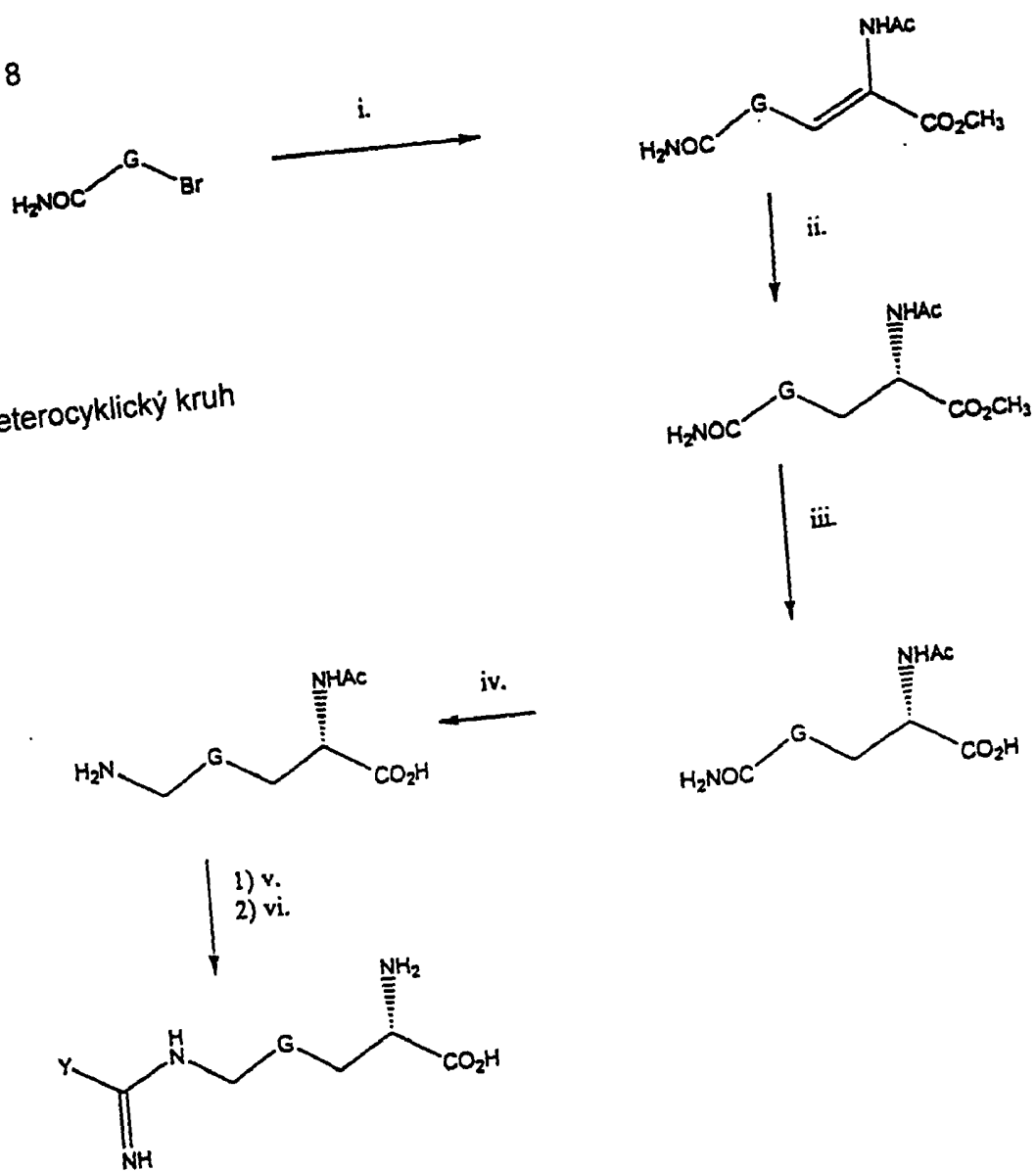


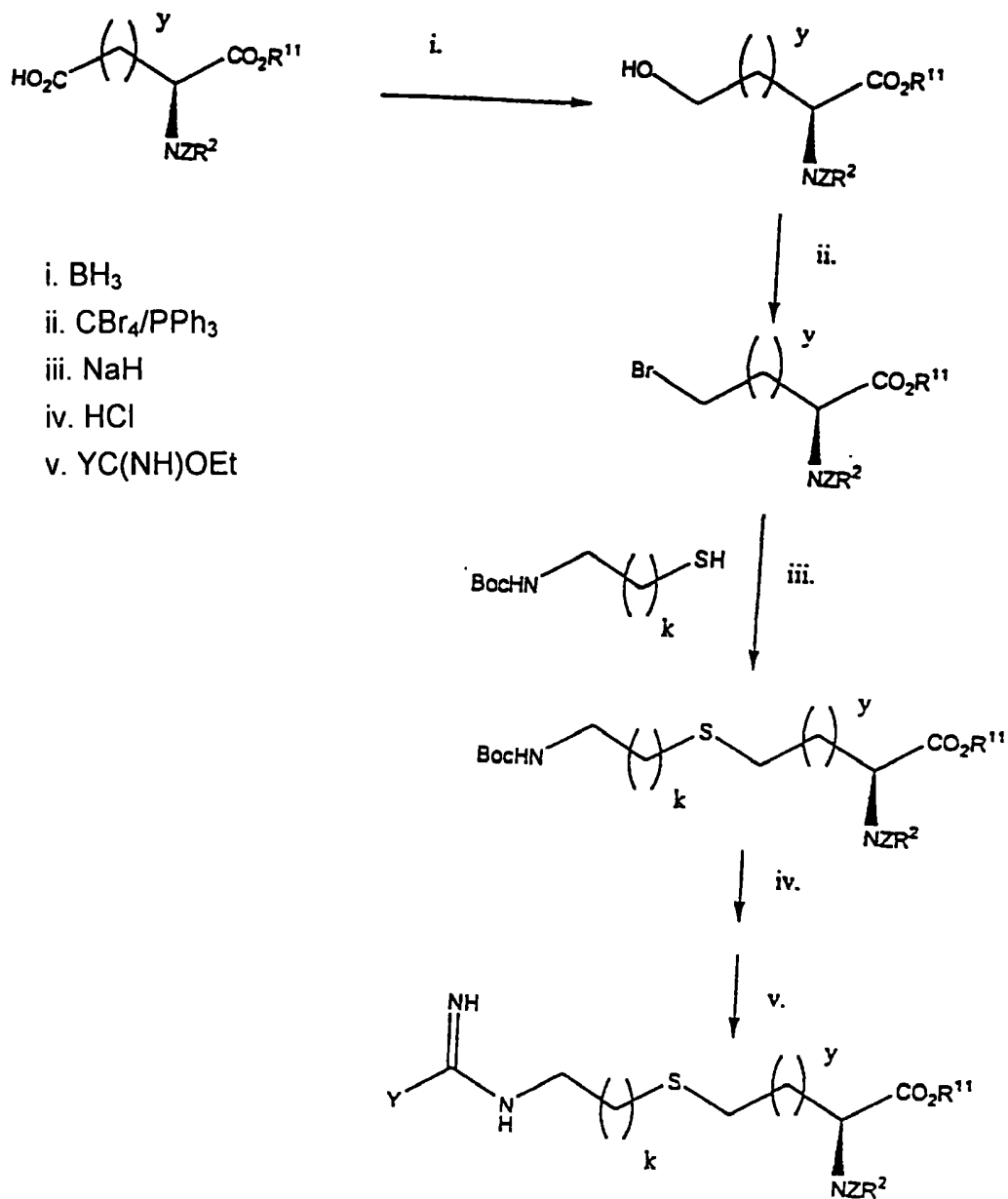
Schéma 8

G = heterocyklický kruh



- i. Pd^0 /metylester N-acetyldehydroalaninu
- ii. chirálna redukcia
- iii. hydrolyza
- iv. LiBEt_3H
- v. $\text{YC}(\text{NH})\text{OEt}$
- vi. Hydrolyza

Schéma 9

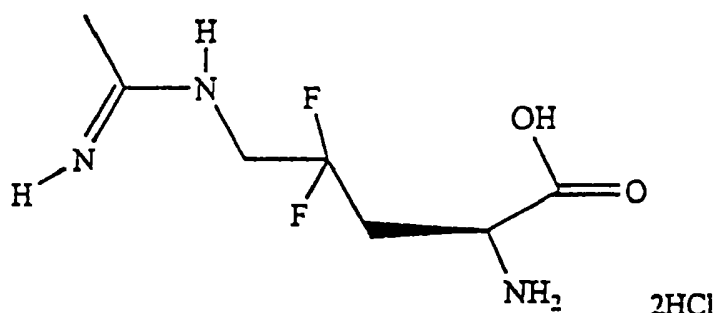


Príklady uskutočnenia vynálezu

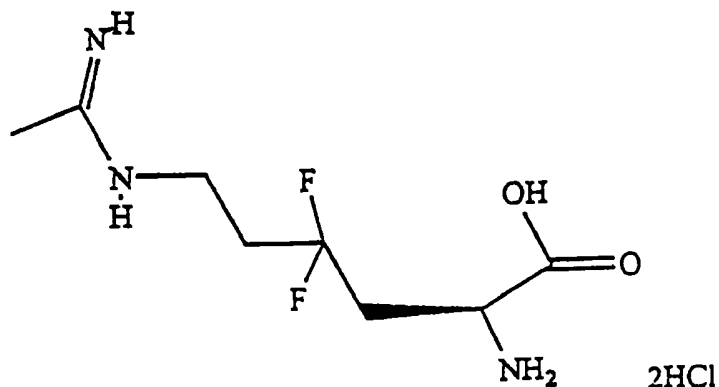
Dá sa predpokladať, že človek so skúsenosťou v odbore môže bez ďalšej prípravy použiť predchádzajúci opis na prezentáciu vynálezu v jeho plnom rozsahu. Preto nasledujúce preferované špecifické vyhotovenia majú iba ilustratívny význam a neobmedzujú žiadnym spôsobom zvyšný text zverejnenia vynálezu.

Príklad 1

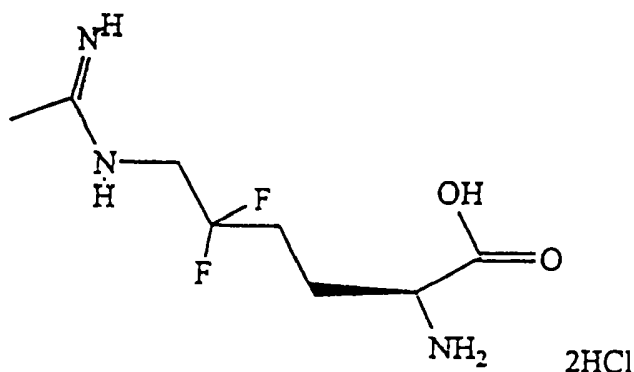
4,4-difluór-N⁵-(1-iminoetyl)-L-ornitíndihydrochlorid



4,4-difluórornitín sa pripraví, ako sa opisuje v J. Org. Chem., 61, 2497 - 2500 (1996), a potom sa spracuje rovnakým spôsobom, ako sa opisuje v J. Antibiotics, 25, 179 (1972) s vytvorením mednatého komplexu. Mednatý komplex 4,4-difluórornitínu sa spracuje etylacetimidáhydrochloridom, ako sa opisuje v Analytical Biochemistry, 62, 291 (1974) za získania delta-amidínu. Mednatý komplex sa potom rozruší, ako sa opisuje v J. Antibiotics, 25, 179 (1972) za získania zlúčeniny podľa nadpisu.

Príklad 2**4,4-difluór-N⁶-(1-iminoetyl)-L-lyzindihydrochlorid**

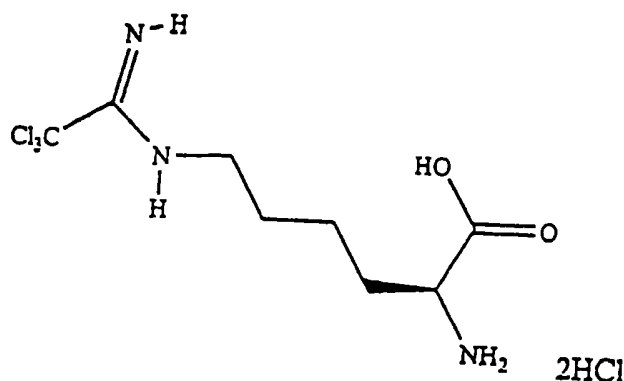
Boc-L-Ala(ZnI)-OMe sa nechá reagovať so Z-beta-Ala-Cl za podmienok opísaných v J. Org. Chem., 57, 3397 - 3404 (1992) za získania chráneného 4-keto-L-lyzínu, ktorý sa potom rozpustí v DCM a spracuje s DAST za získania chráneného 4,4-difluór-L-lyzínu. Chrániaca epsilon-karbobenzoxyskupina sa potom odstráni za podmienok katalytickej hydrogenácie. Výsledná zlúčenina reaguje s metylacetimidáthydrochloridom za získania epsilon-amidínu, ktorý potom reaguje s 2 N roztokom kyseliny chlorovodíkovej za získania zlúčeniny podľa nadpisu.

Príklad 3**5,5-difluór-N⁶-(1-iminoetyl)-L-lyzindihydrochlorid**

5,5-difluórlyzín sa pripraví podľa opisu v J. Med. Chem., 20 ,1623 - 1627 (1977) a potom sa spracuje rovnakým spôsobom, ako sa opisuje v J. Antibiotics, 25, 179 (1972) s vytvorením meďnatého komplexu. Tento meďnatý komplex 5,5-difluórlyzínu sa spracuje etylacetimidáthydrochloridom, ako sa opisuje v Analytical Biochemistry, 62, 291 (1974) a vytvorením epsilon-amidínu. Meďnatý komplex sa potom rozruší, ako sa opisuje v J. Antibiotics, 25, 179 (1972) za získania zlúčeniny podľa nadpisu.

Príklad 4

N⁶-(2,2,2-trichlór-1-iminoetyl)-L-lyzínidihydrochlorid



Príklad 4a

Trojhrdlová banka sa naplní 10 ml dimetylformamidu a 0,26 g (0,001 mol) α -N-Boc-L-Lys-OMe. K tomuto roztoku sa pridá 0,35 g (0,002 mol) metyltrichlóracetimidátu a 0,53 ml (0,003 mol) diizopropyletylamínu. Tento roztok sa mieša a zahrieva na 25 °C cez noc. Odparením vo vákuu sa odstráni dimetylformamid. Zvyšok sa spracováva počas 30 minút kyselinou trifluóroctovou. Zmes sa zriedi vodou a vyčistí chromatografiou C-18 za získania 0,24 g (80 %) látky príkladu 4a

Hmotnostná spektrometria FAB: M + H = 304

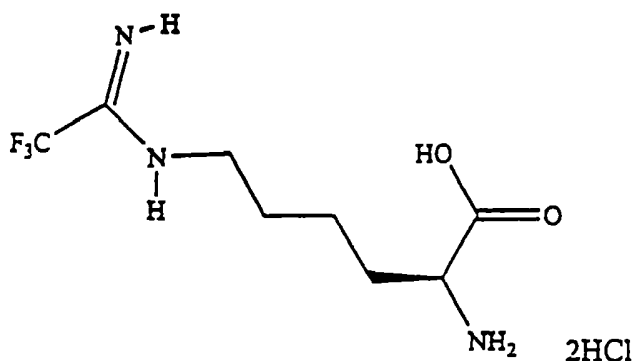
Príklad 4b

Do banky obsahujúcej 0,12 g látky príkladu 4a sa pridá 10 ml metanolu a 5 ml 1N roztoku hydroxidu lítneho. Zmes sa mieša počas 10 minút a potom sa odparí vo vákuu. Získaná látka sa vyčistí chromatografiou C-18 za získania 0,1 g (95 %) zlúčeniny podľa nadpisu.

Hmotnostná spektrometria FAB: $M + H = 290$.

Príklad 5

N^6 -(2,2,2-trifluór-1-iminoetyl)-L-lyzíndihydrochlorid

**Príklad 5a**

Trojhrdlová banka sa opatrí chladičom so suchým ľadom/acetónom a naplní 100 ml etanolu a 6,5 g (0,027 mol) α -N-Boc-L-Lys-OH. Táto zmes sa ochladí na $-78\text{ }^\circ\text{C}$ a pridá sa 5 g (0,053 mol) trifluóracetonitritu rúrkou na zavádzanie plynu. Po skončení pridávania sa pridá 2,7 g (0,027 mol) trietylaminu. Tento roztok sa mieša a zahrieva na $25\text{ }^\circ\text{C}$ cez noc. Odparenie vo vákuu poskytuje 11 g látky príkladu 5a vo forme bezfarebnej viskózneho olejovitej kvapaliny.

Nukleárna magnetická rezonancia $^1\text{H-NMR}$ (D_2O): 1,05 (t, 9H), 1,25 - 1,75 (m, 6H), 1,35 (s, 9H), 2,8 (q, 6H), 2,95 (t, 2H), 3,7 (t, 1H), $^{19}\text{F-NMR}$ (D_2O): -68,9 (s).

Hmotnostná spektrometria: M + Li = 348.

Príklad 5b

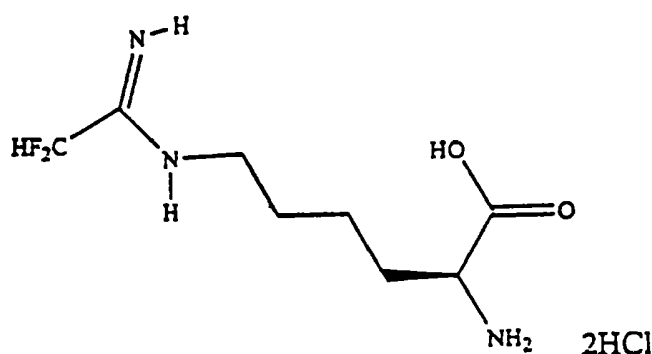
Do banky obsahujúcej 0,5 g látky príkladu 5a sa pridá 10 ml dioxánu (nasýteného chlorovodíkom). Táto zmes sa mieša počas 30 minút a potom sa odparí vo vákuu za získania lepivej bielej peny. Táto látka sa rozpustí vo vode a lyofilizuje za získania zlúčeniny podľa nadpisu vo forme hygroskopickej peny.

Nukleárna magnetická rezonancia $^1\text{H-NMR}$ (D_2O): 1,15 (t, trietylamínhydrochlorid), 1,3 - 1,5 (m, 2H), 1,6 - 1,7 (m, 2H), 1,8 - 1,9 (m, 2H), 3,05 (q, trietylamínhydrochlorid), 3,35 (t, 2H), 3,9 (t, 1H), $^{19}\text{F-NMR}$ (D_2O): - 71,4 (s).

Hmotnostná spektrometria: M + H = 242.

Príklad 6

N^6 -(2,2-difluór-1-iminoetyl)-L-lyzínidihydrochlorid



Príklad 6a

K zmesi metanolu a katalytického množstva paládiovej čiernej sa pridá 0,5 g (1,4 mmol) produktu z príkladu 20a. K tejto zmesi sa pridá prebytok mravčanu amónneho. Zmes sa mieša pri teplote miestnosti počas 24 hodín. Reakčná zmes sa prefiltruje cez celit a odparí za získania bezfarebného oleja.

Príklad 6b

Produkt z príkladu 6a sa rozpustí v 2N roztoku kyseliny chlorovodíkovej a nechá sa miešať pri teplote miestnosti počas 3 hodín. Tento roztok sa zriedi vodou a lyofilizuje za získania 0,3 g (95 %) zlúčeniny podľa nadpisu vo forme bezfarebného oleja.

Nukleárna magnetická rezonancia $^1\text{H-NMR}$ (D_2O): 1,3 - 1,6 (m, 2H), 1,6 - 1,75 (m, 2H), 1,8 - 2,0 (m, 2H), 3,35 (t, 2H), 4,0 (t, 1H), 6,55 (t, 1H).

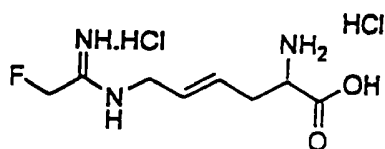
Elementárna analýza pre $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{O}_2\text{N}_3\text{Cl}_2\text{F}_2 + 5\text{H}_2\text{O} + 4\text{NH}_4\text{Cl} + 0,4$ lyzin (%) :

Výpočet: C 18,16 H 7,24 N 15,88

Nájdene: C 18,13 H 6,99 N 15,69.

Príklad 7

Dihydrochlorid kyseliny (\pm)-E-2-amino-6-(1-imino-2-fluóretylamino)hex-4-énovej

**Príklad 7a**

Pod atmosférou argónu sa k 65,8 g trans-1,4-dichlór-2-buténu pridáva po častiach 47 g kálium-ftalimidu za mechanického miešania pri teplote medzi 100 °C a 110 °C. Reakčná zmes sa potom mieša počas 2 hodín s udržiavaním teploty medzi 145 °C a 150 °C. Potom sa ochladí na 20 °C a extrahuje 3 x 400 ml éteru. Éterová vrstva sa oddelí a odparí za získania tuhej látky. Tuhá látka sa rekryštalizuje z etanolu za získania žltých kryštálov N-(trans-4-chlór-2-butenyl)ftalimidu s hmotnosťou 36 g, výtťažok 61 %.

Elementárna analýza pre $C_{12}H_{10}ClNO_2$ (mol. hm. 237,25)

Výpočet:	C 61,26	H 4,29	N 6,02	Cl 14,94 (%)
Nájdené:	C 61,18	H 4,30	N 5,98	Cl 14,62 (%)

Príklad 7b

Pod atmosférou argónu sa rozpustí 3,7 g kovového sodíka v 200 ml absolútneho etanolu pri teplote 60 °C až 65 °C a roztok sa nechá ochladiť na 30 °C. Potom sa za dobrého miešania pridáva 27,4 g etylacetamidomalonátu. Po 30 minútach sa pridá v troch dieloch 30 g látky z príkladu 7a. Reakčná zmes sa varí pod spätným chladičom počas 4 hodín, ochladí a prefiltruje sa. Filtrát sa odparí a zvyšok sa vyberie 100 ml etylacetátu a premyje 100 ml vody. Organická vrstva sa potom vysuší, prefiltruje a odparí. Pridá sa 100 ml hexánu a po prefiltrovaní sa získa 27 g bieleho tuhého surového produktu podľa nadpisu. Tento tuhý etyl-(trans-2-acetamido-2-karboxy-6-ftalimido-4-hexenoát) sa vyčistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli alebo rekryštalizáciou z etanolu.

Elementárna analýza pre $C_{21}H_{24}N_2O_7$ (mol. hmot. 416,15) (%):

Výpočet:	C 60,63	H 5,81	N 6,77
Nájdené:	C 60,51	H 5,81	N 6,64.

Príklad 7c

Zmes 25 g etyl-(trans-2-acetamido-2-karboxy-6-ftalimido-4-hexenoátu) a 200 ml 37 % kyseliny chlorovodíkovej sa varí pod spätným chladičom počas 20 hodín a potom sa nechá stáť pri teplote 0 až 2 °C počas 20 hodín. Prefiltruje sa kvôli odstráneniu kyseliny ftalovej a filtrát sa odparí do sucha vo vákuu. Potom sa pridá 100 ml absolútneho etanolu a vykoná sa odparenie vo vákuu. Zvyšná tuhá látka sa vyberie 100 ml absolútneho etanolu a prefiltruje za získania 13 g dihydrochloridu kyseliny trans-2,6-diamino-4-hexénovej.

Príklad 7d

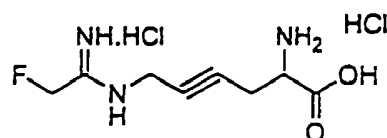
Ako sa opisuje v J. Amer. Chem. Soc., 95, 6800 (1973), 10 g dihydrochloridu kyseliny trans-2,6-diamino-4-hexénovej sa vyberie 600 ml 95 % etanolu a roztok sa nechá prejsť stĺpcom 100 g oxidu hlinitého (Alcoa F-20). Stĺpec sa eluuje 2 l 95 % etanolu a eluát sa odparí zhruba na 200 ml vo vákuu. Zrazenina sa odfiltruje a vysuší za získania trans-4,5-dehydrolyzínmonohydrochloridu.

Príklad 7e

11 g trans-4,5-dehydrolyzínmonohydrochloridu sa rozpustí v 10 ml vody pri teplote 100 °C. Potom sa pridá po malých častiach 7 g uhličitanu meďnatého v priebehu 30 minút. Reakčná zmes sa potom ochladí na teplotu 20 °C a prefiltruje. Po častiach sa pridáva 1,5 ekvivalentov etyl-(fluóracetimidáthydrochloridu) k vyššie opísanému filtrátu pri teplotách 4 °C až 5 °C. pH reakčnej zmesi sa udržiava zhruba na 10,5 prídavkami 2N roztoku hydroxidu sodného. Po 2 hodinách miešania sa reakčná zmes nechá prejsť iónomeničom a eluuje sa 0,5 N vodným roztokom amoniaku. Amoniakálny roztok sa potom opatrne okyslí na pH 4 2N roztokom kyseliny chlorovodíkovej a odparí za získania látky príkladu 7.

Príklad 8

Hydrochlorid kyseliny (±)-2-amino-6-(1-imino-2-fluóretylamino)-hex-4-ínovej



Príklad 8a

Zmes 92,8 g 1,4-dichlór-2-butínu a 108 g hexametyléntetramínu sa varí pod spätným chladičom pod atmosférou argónu v 500 ml chloroformu počas 18 hodín. Reakčná zmes sa ochladí a prefiltruje za získania 168 g 1,4-dichlór-2-butínu vo forme hexametyléntetramínového komplexu ako hnedej látky.

Príklad 8b

Roztok produktu príkladu 8a (60 g) v 500 ml absolútneho etanolu nasýteného chlorovodíkom sa varí pod atmosférou argónu počas 18 hodín a ochladí sa na 20 °C. Vytvorená zrazenina sa odfiltruje a matečný lúh sa odparí za získania žltej, voskovitej tuhej látky. Tá sa rekryštalizuje s éterom za získania 41 g 1-amino-4-chlór-2-butínhydrochloridu vo forme žltej tuhej látky.

Elementárna analýza pre $C_4H_7Cl_2N$ (mol. hmot. 141,59) (%):

Výpočet:	C 34,78	H 5,05	N 10,09	Cl 50,08
Nájdené:	C 31,61	H 5,70	N 12,49	Cl 45,53.

Príklad 8c

14,1 g 1-amino-4-chlór-2-butínhydrochloridu sa vyberie 70 ml dioxánu a 35 ml vody. Pridajú sa 4 g hydroxidu sodného a reakčná zmes sa mieša počas 30 minút s následným pridaním 21,8 g di-*terc*-butylkarbonátu pri teplote 20 °C. Reakčná zmes sa mieša pri teplote 20 °C až 25 °C počas 8 hodín a potom sa spodná organická vrstva odstráni. Vrchná vodná vrstva sa extrahuje 100 ml dichlórmetánu. Organické vrstvy sa spoja a premyjú 50 % vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného, vysušia bezvodým síranom horečnatým, spracujú Darco, prefiltrujú cez celit a odparia za získania hnedej olejovitej kvapaliny. Táto olejovitá kvapalina sa podrobí chromatografii za získania 9 g 1-*terc*-butyloxykarbonylamino-4-chlór-2-butínu vo forme bielej tuhej látky.

Elementárna analýza pre $C_9H_{14}ClNO_2$ (mol. hmot. 205,25) (%):

Výpočet:	C 53,25	H 6,92	N 6,96	Cl 17,27
Nájdené:	C 52,67	H 6,86	N 6,76	Cl 17,22.

Príklad 8d

12,1 g 1-*terc*-butoxykarbonylamino-4-chlór-2-butínu sa varí pod spätným chladičom počas 16 hodín so zmesou 8 g dietylacetamidomalonátu a natriummetoxidu pripraveného z 900 mg sodíka v 100 ml absolútneho metanolu. Etanol sa potom odstráni vo vákuu a zvyšná látka sa rozdelí medzi vodu a zmes etylacetát/éter (1 : 1). Organická vrstva sa spracuje 0,5 N roztokom hydroxidu sodného a 0,5 N roztokom kyseliny chlorovodíkovej a premyje vodou. Potom sa vysuší síranom sodným, prefiltruje a odparí. Produkt sa kryštalizuje zo zmesi etylacetát/petroléter za získania zhruba 7 g etyl-(2-acetylamino-6-*terc*-butyloxykarbonylamino-2-etoxykarbonyl-4-hexinoátu).

Príklad 8e

Podľa spôsobu opísaného v Tetrahedron Lett., 21, 4263 (1980) sa vykoná čiastočné zmydelnenie 10,2 g etyl-(2-acetylamino-6-*terc*-butyloxykarbonylamino-2-etoxykarbonyl-4-hexinoátu) v etanole s 1,5 ekvivalentu hydroxidu draselného vo vode pri teplote 20 až 25 °C v priebehu 3 hodín za získania kyseliny 2-acetylamino-6-*terc*-butyloxykarbonylamino-2-etoxykarbonyl-4-hexínovej s výtťažkom 90 %.

Príklad 8f

Decarboxylácia 17 g látky príkladu 8e sa vykoná varom pod spätným chladičom v 300 ml dioxánu v priebehu 24 hodín. Reakčná zmes sa potom ochladí na teplotu miestnosti a rozpúšťadlo sa odstráni vo vákuu. Zvyšná látka sa potom vyberie 80 ml etanolu, pridá sa 1,2 ekvivalentu hydroxidu draselného vo vode kvôli ďalšiemu zmydelneniu v priebehu 15 hodín za získania 10,5 g

kyseliny 2-acetylamino-6-*tert*-butyloxykarbonylamino-4-hexínovej.

Príklad 8g

10 g kyseliny 2-acetylamino-6-*tert*-butyloxykarbonylamino-4-hexínovej sa vyberie 50 ml kyseliny octovej a 25 ml 4N roztoku kyseliny chlorovodíkovej v dioxáne a zmes sa mieša počas 2 hodín pri teplote 25 °C. Reakčná zmes sa odparí do sucha za získania kyseliny 2-acetylamino-6-amino-4-hexínovej.

Príklad 8h

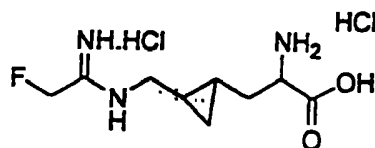
2,86 g etylfluóracetimidáthydrochloridu, 1 ekvivalent kyseliny 2-acetylamino-6-amino-4-hexínovej a 6,84 g DBU sa pridá do 200 ml absolútneho etanolu a mieša sa počas 16 hodín pri 20 °C pod atmosférou argónu. Rozpúšťadlo sa odstráni vo vákuu a pridá sa 100 ml vody. Táto reakčná zmes sa prefiltruje kyslým stípcom iónomeniča a produkt sa eluuje 10 % zmesou pyridín/voda. Získa sa hydrochlorid kyseliny (\pm)-2-acetylamino-6-(1-imino-2-fluóretylamino)-hex-4-ínovej odstránením rozpúšťadla vo vákuu.

Príklad 8i

Vzorka hydrochloridu kyseliny (\pm)-2-acetylamino-6-(1-imino-2-fluóretylamino)hex-4-ínovej (3 g) sa spracuje koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou a potom pyridínom za získania dihydrochloridu kyseliny (\pm)-2-amino-6-(1-imino-2-fluóretylamino)hex-4-ínovej.

Príklad 9

Dihydrochlorid kyseliny 1-(1-imino-2-fluóretylaminometyl)-2-(1-karboxyamino-etyl)cyklopropánovej



Príklad 9a

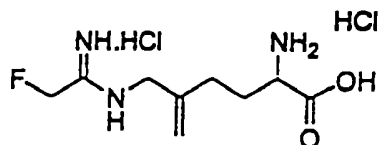
Roztok 0,05 mol dimetylsulfóniummetylidu sa pripraví *in situ* v zmesi DMSO/THF reakciou trimetylsulfóniumjodidu a hydridu sodného. Hneď sa pridá 0,05 mol látky z príkladu 7b v 30 ml dimetylsulfoxidu pri teplote 0 °C a reakčná zmes sa ohrieva na teplotu 20 °C v priebehu 2 hodín. Reakčná zmes sa premyje nasýteným roztokom chloridu amónneho a extrahuje sa etylacetátom. Po vysušení sa etylacetát odparí za získania zlúčeniny príkladu 9a.

Príklad 9b

Zlúčenina podľa nadpisu sa pripraví z látky príkladu 9a spôsobom podobným príkladu 7b.

Príklad 10

Dihydrochlorid kyseliny 2-amino-5-exometylén-6-(1-imino-2-fluóretylamino)-hexánovej



Príklad 10a

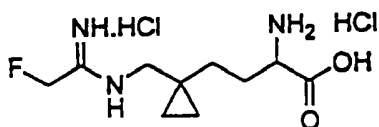
Etyl-(2-acetamido-2-karboxy-5-keto-6-ftalimidohexanoát) sa pripraví podľa opisu v J. Med. Chem., 20, 1623 - 1627 (1977) a potom sa podrobí Wittigovej reakcii s metyléntrifenylfosforanom za získania etyl-(2-acetamido-2-karboxy-5-exometylén-6-ftalimidohexanoátu).

Príklad 10b

Zlúčenina podľa nadpisu sa pripraví z látky príkladu 10a spôsobom podobným spôsobu príkladu 7b.

Príklad 11

Dihydrochlorid kyseliny 2-amino-5-cyklopropyl-6-(1-imino-2-fluóretylamino)-hexánovej

**Príklad 11a**

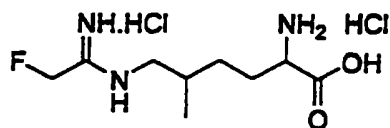
Látka z príkladu 10a sa spracuje ekvimolárnym množstvom metyléndimetylsulfuranu. Po bežnom spracovaní sa získa etyl-2-acetamido-2-karboxy-5-cyklopropyl-6-ftalimidohexanoát.

Príklad 11b

Zlúčenina podľa nadpisu sa pripraví z príkladu 11a spôsobom podobným spôsobu príkladu 7b.

Príklad 12

Dihydrochlorid kyseliny 2-amino-5-metyl-6-(1-imino-2-fluóretylamino)hexánovej



Príklad 12a

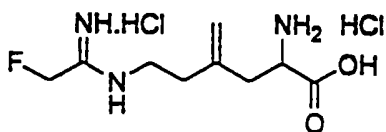
Vzorka z príkladu 10a sa redukuje alebo hydrogenuje v polohe 5 za získania etyl-(2-acetamido-2-karboxy-5-metyl-6-ftalimidohexanoátu).

Príklad 12b

Zlúčenina podľa nadpisu sa pripraví zo zlúčeniny príkladu 12a spôsobom podobným spôsobu príkladu 7b.

Príklad 13

Dihydrochlorid kyseliny 2-amino-4-exometylén-6-(1-imino-2-fluóretylamino)-hexánovej



Príklad 13a

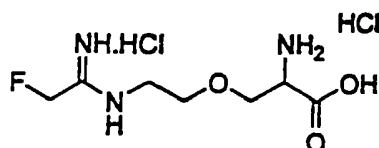
Vzorka 4-oxolýzínu sa pripraví podľa opisu v J. Chem. Soc. Perkin, I, 1825 (1972) Podrobí sa Wittigovej reakcii s metyléntrifenyfosforanom za získania 4-metylénlyzínu.

Príklad 13b

Zlúčenina podľa nadpisu sa pripraví z látky príkladu 13a podľa spôsobu opísaného pre prípravu látky príkladu 7d.

Príklad 14

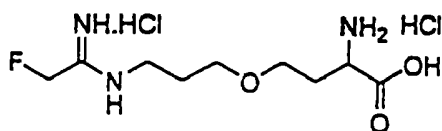
N-1-imino-2-fluóretyl-4-oxalyzindihydrochlorid

**Príklad 14a**

Vzorka O-2-aminoetylserínu alebo 4-oxalyzindihydrochloridu sa pripraví podľa opisu v Recl. Trav. Chim. Pays-Bas, 81, 713 - 719 (1962). Prevedie sa na zlúčeninu podľa nadpisu podľa spôsobu opísaného v príklade 7d.

Príklad 15

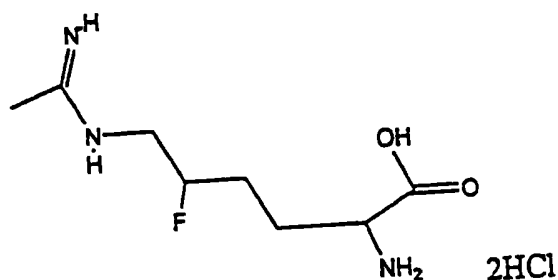
N-1-imino-2-fluóretyl-5-oxahomolyzindihydrochlorid

**Príklad 15a**

Vzorka kyseliny 2-amino-4-(2-aminoetoxy)maslovej sa pripraví podľa opisu v J. Antibiot., 29, 38 - 43 (1976). Prevedie sa na zlúčeninu podľa nadpisu spôsobom opísaným pre prípravu látky príkladu 7 z látky príkladu 7d.

Príklad 16

5-fluór-N⁶-(1-iminoetyl)-D,L-lyzindihydrochlorid



Príklad 16a

5-fluórlyzín (45 mg) (Oakwood) sa spracuje spôsobom opísaným v J. Antibiotics, 25, 179 (1972) s vytvorením jeho meďnatého komplexu. Meďnatý komplex 5-fluórlyzínu sa spracuje etylacetimidáhydrochloridom, ako sa opisuje v Analytical Biochemistry, 62, 291 (1974), s vytvorením epsilon-amidínu. Meďnatý komplex sa potom rozruší podľa opisu v J. Antibiotics, 25, 179 (1972) s vytvorením zlúčeniny podľa nadpisu. Táto látka sa vyčistí chromatografiou C-18 za získania 32 mg (46 %) zlúčeniny podľa nadpisu.

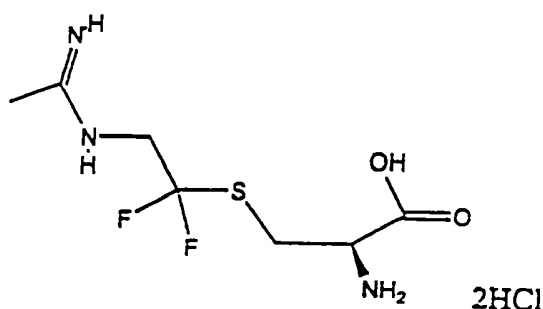
Elementárna analýza pre $C_8H_{16}N_3O_2F + 2,55 HCl + 0,10 NH_4Cl + 0,5 H_2O$ (%):

Výpočet: C 30,21 H 6,51 N 14,00

Nájdene: C 29,91 H 6,28 N 14,01.

Príklad 17

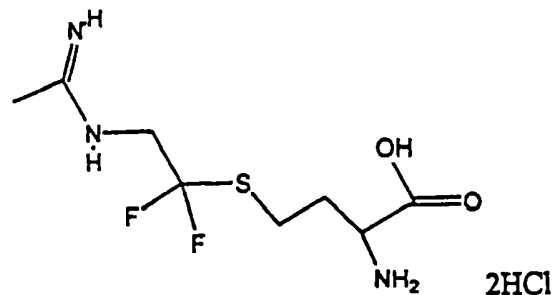
N-(1-iminoethyl)-2-amino-1,1-difluoretyl-L-cysteíndihydrochlorid



N-Boc-L-cysteín sa nechá reagovať s 2-chlór-1,1-difluóreténom spôsobom opísaným v J. Chem. Res. Miniprint, 12, 2868 (1990) za získania N-Boc-S-(2-chlór-1,1-difluóretyl)-L-cysteínu. N-Boc-S-(2-chlór-1,1-difluóretyl)-L-cysteín reaguje s kálium-ftalimidom v dimetylformamide pri teplote 100 °C s vytvorením ftalimidu. Ftalimid sa spracuje hydrazínom v etanole s vytvorením amínu. Amín sa spracuje etylacetimidáhydrochloridom s vytvorením amidínu. Táto látka sa vyčistí chromatografiou C-18 za získania zlúčeniny so skupinou Boc. Skupina Boc sa odstráni zmesou kyselina chlorovodíková/dioxán (4N) v kyseline octovej za získania zlúčeniny podľa nadpisu.

Príklad 18

N-(1-iminoetyl)-2-amino-1,1-difluóretyl-D,L-homocysteíndihydrochlorid

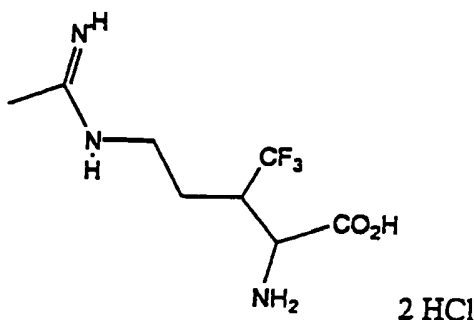


Príklad 18a

Roztok N-Boc-D,L-homocysteínu (5 mmol) v hydroxide sodnom (5 ml, 2N) sa pomaly pridáva k miešanému roztoku 1,2-dichlór-1,1-difluóretánu (5 mmol) v dimetylformamide. Výsledný roztok sa potom zahrieva na 50 °C počas 16 hodín. Reakčná zmes sa potom vyleje do etylacetátu a extrahuje kyselinou citrónovou (5 %) a roztokom chloridu sodného, vysuší síranom sodným a odparí vo vákuu. Získaná látka sa vyčistí okamžitou stĺpcovou chromatografiou za získania N-Boc-S-(2-chlór-1,1-difluóretyl)-D,L-homocysteínu. Látka príkladu 18 sa pripraví spôsobom opísaným v príklade 17 s použitím N-Boc-S-(2-chlór-1,1-difluóretyl)-D,L-homocysteínu ako východiskovej látky.

Príklad 19

Dihydrochlorid kyseliny N-5-(1-iminoetyl)-2,5-diaminopentánovej

**Príklad 19a**

Roztok dietylacetamidomalonátu (21,7 g, 0,1 mol) sa pridá do miešaného roztoku natrium-etoxydu (4 mmol) v etanole (50 ml). Po prídavku sa výsledný roztok ochladí na 0 °C a nasleduje pomalé pridávanie 4,4,4-trifluórkrotonitrilu (13,3 g, 0,11 mol) v priebehu 20 minút. Reakčný roztok sa potom mieša počas 1,5 hodiny pri teplote miestnosti. Reakčná zmes sa potom vyleje do etylacetátu a extrahuje roztokom chloridu sodného, vysuší síranom sodným a odparí vo vákuu za získania čirej kvapaliny, ktorá tuhne stáťím s poskytnutím 32,2 g bielej tuhej látky.

Príklad 19b

Nitril (11,4 g, 34 mmol) sa hydrogenuje v etanole Raneyovým niklom pri tlaku 414 kPa (60 psi), pri teplote 68 °C počas 3 hodín. Reakčná zmes sa odparí vo vákuu. K získanej olejovitej kvapaline sa pridá etanol a MTBE a oddeli sa výsledná tuhá látka s výťažkom 1,5 g.

Elementárna analýza pre C₁₁H₁₅N₂O₄F₃ (%)

Výpočet: C 44,45 H 5,43 N 9,42

Nájdené: C 44,60 H 5,18 N 9,23.

Príklad 19c

Laktám (1,0 g, 3,4 mmol) v kyseline chlorovodíkovej (koncentrovaná, 5 ml) sa varí pod spätným chladičom počas 4,5 hodiny. Reakčná zmes sa odparí vo vákuu. Zvyšok sa vyčistí chromatografiou C-18 za získania aminokyseliny (500 mg).

Elementárna analýza pre $C_6H_{11}N_2O_2F_3 + 2,01 HCl + 0,6 H_2O$ (%):

Výpočet: C 25,35 H 5,04 N 9,86 Cl 25,07

Nájdené: C 25,08 H 4,97 N 9,80 Cl 25,40.

Príklad 19d

Amín (0,37 g, 1,3 mmol) sa spracuje etylacetimidáhydrochloridom (0,17 g, 1,4 mmol) s vytvorením amidínu spôsobom podľa príkladu 3. Získaná látka sa vyčistí chromatografiou C-18 za získania amidínu (98 mg).

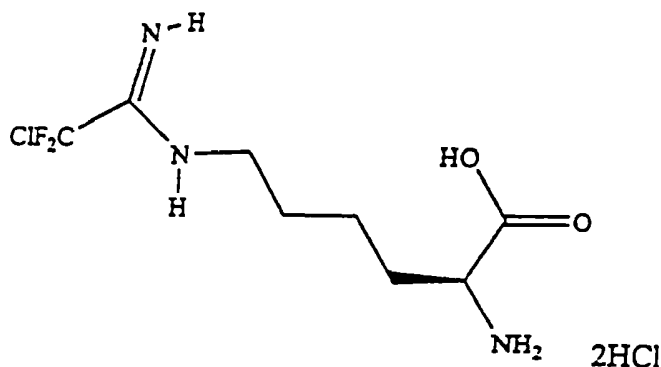
Elementárna analýza pre $C_8H_{14}N_3O_2F_3 + 2,0 HCl + 1,5 H_2O$ (%):

Výpočet: C 28,17 H 5,61 N 12,32

Nájdené: C 28,20 H 5,37 N 12,23.

Príklad 20

N^6 -(2-chlór-2,2-difluór-1-iminoetyl)-L-lyzindihydrochlorid



Príklad 20a

Trojhrdlová banka sa opatrí chladičom na chladenie zmesou suchý ľad/acetón a naplní sa 100 ml etanolu a 5 g (0,02 mol) N-Boc-L-Lys-OH. Zmes sa ochladí na $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ a pridáva sa 5 g (0,045 mol) chlórdifluóracetonitrilu rúrkou na zavádzanie plynu. Po skončení pridávania sa pridá 5 g (0,05 mol) trietylaminu. Tento roztok sa mieša a ohrieva na $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ cez noc. Odparenie vo vákuu poskytuje zvyšok, ktorý sa rozpustí vo vode a privedie na stĺpec iónomeniča Dowex 50. Stĺpec sa premýva vodou a produkt sa eluuje 10 % vodným roztokom pyridínu. Odparenie rozpúšťadla vo vákuu poskytuje produkt 1,26 g chránený skupinou Boc vo forme bielej tuhej látky. Ďalšie čistenie sa vykoná so vzorkou s použitím chromatografie s reverznými fázami kvôli získaniu produktu chráneného skupinou Boc vo forme bielej tuhej látky.

Hmotnostná spektrometria pre $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}_4\text{N}_3\text{Cl}_1\text{F}_2$: $M + H = 358$.

Elementárna analýza pre $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}_4\text{N}_3\text{Cl}_1\text{F}_2 + \text{H}_2\text{O}$ (%):

Výpočet:	C 36,78	H 5,14	N 8,58
Nájdené:	C 36,39	H 5,38	N 8,30.

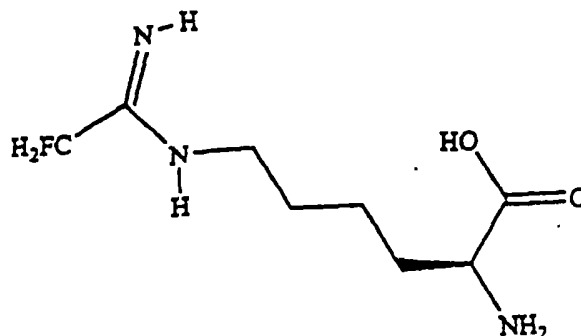
Príklad 20b

Do banky obsahujúcej 0,185 g produktu z príkladu 20a sa pridá 20 ml 2N roztoku kyseliny chlorovodíkovej. Táto zmes sa mieša počas 2,5 hodiny, zriedi vodou a lyofilizuje za získania zlúčeniny podľa nadpisu vo forme bezfarebnej olejovitej kvapaliny.

Nukleárna magnetická rezonancia $^1\text{H-NMR}$ (D_2O): 1,2 - 1,5 (m, 2H), 1,5 - 1,7 (m, 2H), 1,7 - 2,0 (m, 2H), 3,35 (t, 2H), 3,9 (t, 1H).

Elementárna analýza pre $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_2\text{N}_3\text{Cl}_3\text{F}_2 + 4\text{H}_2\text{O} + 0,15\text{ lyzín}$ (%):

Výpočet:	C 24,75	H 6,14	N 10,67
Nájdené:	C 24,96	H 6,26	N 10,39.

Príklad 21**N⁶-(2-fluór-1-iminoetyl)-L-lyzíndihydrochlorid****Príklad 21a**

K roztoku 5 g (0,18 mol) N²-Cbz-lyzínu v 50 ml etanolu sa pridá 3,8 g (0,027 mol) etylfluóracetimidátu. Zmes sa mieša pri teplote 25 °C počas 24 hodín. Reakčná zmes sa odparí za získania olejovitého zvyšku. Chromatografia (C-18, acetonitril/voda) poskytuje dve frakcie obsahujúce produkt podľa nadpisu chránený Cbz. Prvá frakcia obsahuje 1,5 g v pomere 2 : 1 chráneného produktu Cbz k východiskovému Cbz-lyzínu a druhá frakcia obsahuje 0,4 g chráneného produktu Cbz.

Nukleárna magnetická rezonancia ¹H-NMR (D₂O): 1,2 - 1,4 (m, 2H), 1,6 - 1,7 (m, 3H), 1,7 - 1,8 (m, 1H), 3,2 (t, 2H), 4,1 (t, 1H), 5,0 (s, 2H), 5,1 (d, 2H), 7,3 (s, 5H).

Elementárna analýza pre C₁₆H₂₂O₄N₃F₁ + CF₃CO₂H + 2,5 H₂O (%):

Výpočet: C 43,38 H 5,66 N 8,43

Nájdené: C 43,65 H 5,30 N 8,25.

Príklad 21b

Roztok 1,5 g produktu prvej frakcie z príkladu 21a v 20 ml 2N roztoku

kyseliny chlorovodíkovej sa mieša za varu pod spätným chladičom počas 2,5 hodiny. Potom sa zmes odparí vo vákuu za získania 0,5 g produktu podľa nadpisu vo forme bezfarebnej olejovitej kvapaliny.

Nukleárna magnetická rezonancia $^1\text{H-NMR}$ (D_2O): 1,3 - 1,5 (m, 2H), 1,5 - 1,7 (m, 2H), 1,7 - 2,0 (m, 2H), 3,25 (t, 2H), 3,95 (t, 1H), 5,15 (d, 2H).

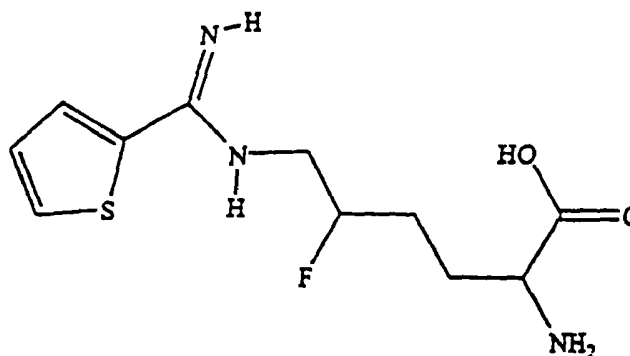
Elementárna analýza pre $\text{C}_8\text{H}_{18}\text{O}_2\text{N}_3\text{F}_1\text{Cl}_2 + 5 \text{H}_2\text{O} + 0,5 \text{lyzín}$ (%):

Výpočet: C 27,65 H 7,59 N 11,73

Nájdené: C 27,74 H 7,15 N 11,56.

Príklad 22

5-fluór- N^6 -[1-(tiofén-2-yl)-1-iminometyl]-D,L-lyzín



Príklad 22a

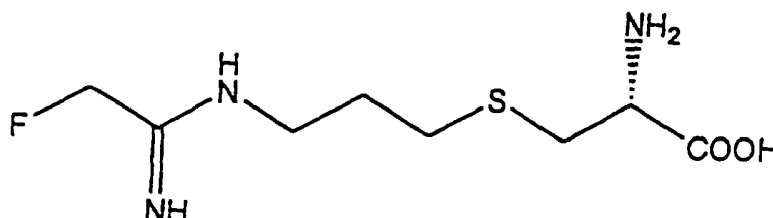
Do zmesi 2-kyanotiofénu a 1 ekvivalentu etanolu sa zavádza bezvodý plynný chlorovodík za získania etylimidátu.

Príklad 22b

Produkt príkladu 22a sa pridá k roztoku 5-fluórlyzínu v etanole a zmes sa mieša do skončenia reakcie. Chromatografické vyčistenie poskytuje zlúčeninu podľa nadpisu.

Príklad 23

N-(2-fluór-1-iminoetyl)-3-aminopropyl-L-cysteindihydrochlorid

**Príklad 23a**

2,5 g (5 mmol) S-(N^w-Boc-3-aminoetyl)-N^a-Fmoc-L-cysteínu sa rozpustí v 25 ml dichlórmetánu a chrániaca skupina sa odstráni prídavkom 8 ml kyseliny trifluóroctovej za miešania pri teplote miestnosti počas 25 minút. Rozpúšťadlo sa odparí vo vákuu za získania S-(3-aminoetyl)-N^a-Fmoc-L-cysteínu.

Príklad 23b

Produkt z príkladu 23a sa nechá reagovať s 1,05 g (120 mmol) etylfluóracetimidáhydrochloridu v 40 ml etanolu za prítomnosti 2,6 ml (15 mmol) diizopropyletylamínu (DIPEA) za miešania počas 18 hodín pri teplote miestnosti. Produkt chránený Fmoc sa oddelí preparačnou vysokovýkonnou kvapalinovou chromatografiou s reverznými fázami s použitím gradientu acetonitrilu vo vode s obsahom 0,05 % kyseliny trifluóroctovej (10 až 50 % acetonitrilu, 30 minút). Výťažok je 1,2 g (2,6 mmol, 52 %) bielej tuhej látky.

Hmotnostná spektrometria FAB: M + H = 460.

Príklad 23c

1,2 g (2,6 mmol) produktu z príkladu 23b sa zbaví chrániacej skupiny v zmesi 5 ml dietylamínu a 20 ml dimetylformamidu za miešania počas 15

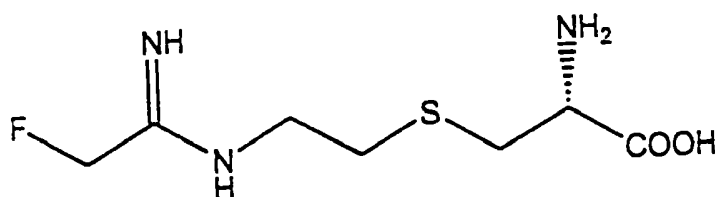
minút. Rozpúšťadlo sa odparí za zníženého tlaku a zvyšná olejovitá kvapalina sa vyčistí preparatívnou vysokovýkonnou kvapalinovou chromatografiou s reverznými fázami s gradientom acetonitrilu vo vode obsahujúcej 0,05 % kyseliny trifluóroctovej (0 až 30 % acetonitrilu, 30 minút) s výťažkom 0,426 mg (0,93 mmol, 36 %) produktu podľa nadpisu.

Hmotnostná spektrometria FAB: $M + H = 238$.

Nukleárna magnetická rezonancia ^1H NMR (D_2O): 1,77 - 1,92 (m, 2H), 2,49 - 2,61 (m, 2H), 2,86 - 3,05 (m, 4H), 3,38 - 3,48 (m, 2H), 4,02 - 4,08 (m, 1H), 5,04 - 5,10 (s, 1H) a 5,19 - 5,25 (s, 1H).

Príklad 24

N-(2-fluór-1-iminoetyl)-2-aminoetyl-L-cysteíndihydrochlorid



Príklad 24a

20 g (50 mmol) S-(N^{W} -Z-2-aminoetyl)- N^{a} -Boc-L-cysteínu (olejovitá kvapalina) sa rozpustí v 100 ml metanolu a skupina Z sa odstráni za prítomnosti 5 g mravčanu amónneho a 1 g paládiovej čiernej za miešania počas 24 hodín pod atmosférou dusíka. Produkt sa oddelí preparatívnou vysokovýkonnou kvapalinovou chromatografiou s gradientom acetonitrilu vo vode obsahujúcej 0,5 % kyseliny trifluóroctovej (0 až 40 % acetonitrilu, 30 minút) za získania 5,6 g (42 %) S-(2-aminoetyl)- N^{a} -Boc-L-cysteínu

Hmotnostná spektrometria FAB: $M + H = 265$.

Príklad 24b

1,4 g (5,3 mmol) produktu príkladu 24a sa rozpustí v 25 ml etanolu a nechá sa reagovať s 1,05 g (10 mmol) etylfluóracetimidáhydrochloridu za prítomnosti 2,6 ml (15 mmol) DIPEA za miešania počas 18 hodín pri teplote miestnosti. Rozpúšťadlo sa odparí za zníženého tlaku a zvyšná olejovitá kvapalina sa vyčistí preparatívnou vysokovýkonnou kvapalinovou chromatografiou s reverznými fázami s gradientom acetonitrilu vo vode obsahujúcej 0,05 % kyseliny trifluóroctovej (10 až 50 % acetonitrilu, 30 minút) za získania 0,95 g (2,94 mmol, 55 %) produktu chráneného Boc.

Hmotnostná spektrometria FAB: M + H = 324.

Príklad 24c

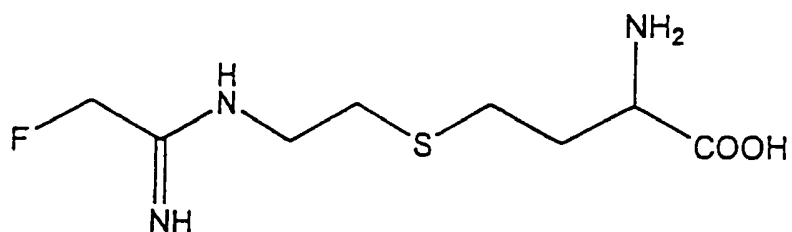
0,95 g (2,94 mmol) produktu príkladu 24b sa rozpustí v 25 ml 1N roztoku kyseliny chlorovodíkovej a mieša počas 12 hodín pri teplote miestnosti. Zmes sa zriedi 200 ml vody a lyofilizuje za získania 0,46 g (1,55 mmol, 53 %) zlúčeniny podľa nadpisu vo forme olejovitej kvapaliny.

Hmotnostná spektrometria FAB: M+ H = 224.

Nukleárna magnetická rezonancia ^1H NMR (D_2O): 2,71- 2,85 (m, 2H), 2,96 - 3,18 (m, 2H), 3,42 - 3,56 (m, 2H), 4,18 - 4,28 (m, 1H), 5,18 - 5,22 (s, 1H) a 5,25 - 5,30 (s, 1H).

Príklad 25

N-(2-fluór-1-iminoetyl)-2-aminoetyl-D,L-homocysteíndihydrochlorid



Príklad 25a

4,7 g (20 mmol) N^a-Boc-homocysteínu sa rozpustí v 50 ml dimetylformamidu a k roztoku sa pridá 1,6 g (40 mmol) hydridu sodného (60 % disperzia v minerálnom oleji). Po 15 minútach miešania pri teplote miestnosti sa k zmesi pomaly pridáva 4,1 g (20 mmol) 2-brómetylamínhydrobromidu. Miešanie pokračuje počas 16 hodín pri teplote miestnosti. Dimetylformamid sa odstráni za zníženého tlaku a zvyšok sa izoluje preparatívnou vysokovýkonnou kvapalinovou chromatografiou s reverznými fázami gradientom acetonitrilu vo vode obsahujúcej 0,05 % kyseliny trifluóroctovej (0 až 40 % acetonitrilu, 30 minút) za získania 4,05 g (10,3 mmol, 52 %) S-(aminoetyl)-N^a-Boc-L-cysteínu vo forme olejovitej kvapaliny.

Hmotnostná spektrometria FAB: M + H = 279.

Nukleárna magnetická rezonancia ¹H NMR (D₂O): 1,25 - 1,35 (m, 9H), 1,78 - 2,10 (m, 2H), 2,44 - 2,67 (m, 2H), 2,69 - 2,80 (m, 2H), 3,04 - 3,15 (m, 2H) a 4,06 - 4,22 (m, 1H).

Príklad 25b

1,5 g (3,8 mmol) produktu z príkladu 25a sa rozpustí v 20 ml etanolu a vykoná sa reakcia s 0,63 g (6 mmol) etylfluóracetimidáthydrochloridu za prítomnosti 1,05 ml (6 mmol) DIPEA za miešania počas 18 hodín pri teplote miestnosti. Rozpúšťadlo sa odparí za zníženého tlaku a zvyšná olejovitá kvapalina sa vyčistí preparatívnou vysokovýkonnou kvapalinovou chromatografiou s reverznými fázami s gradientom acetonitrilu vo vode obsahujúcej 0,05 % kyseliny trifluóroctovej (0 až 40 % acetonitrilu, 30 minút) za získania 1,4 g (3,1 mmol, 82 %) produktu chráneného Boc vo forme olejovitej kvapaliny.

Hmotnostná spektrometria FAB: M + H = 338.

Nukleárna magnetická rezonancia ^1H NMR (D_2O): 1,24 - 1,34 (m, 9H), 1,75 - 2,12 (m, 2H), 2,43 - 2,83 (m, 4H), 3,41 - 3,55 (t, 2H), 4,04 - 4,22 (m, 1H), 5,08 - 5,14 (s, 1H) a 5,23 - 5,28 (s, 1H).

Príklad 25c

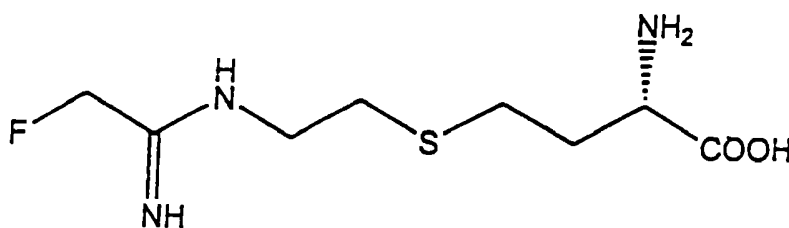
1,4 g (3,1 mmol) produktu príkladu 25b sa rozpustí v 25 ml 1N roztoku kyseliny chlorovodíkovej a zmes sa mieša počas 12 hodín pri teplote miestnosti. Roztok sa zriedi 300 ml vody a lyofilizuje za získania 0,91 g (2,93 mmol, 95 %) zlúčeniny podľa nadpisu vo forme olejovitej kvapaliny.

Hmotnostná spektrometria FAB: $M + H = 238$.

Nukleárna magnetická rezonancia ^1H NMR (D_2O): 1,98 - 2,25 (m, 2H), 2,60 - 2,84 (m, 4H), 3,43 - 3,56 (m, 2H), 4,06 - 4,16 (t, 1H), 5,08 - 5,14 (s, 1H) a 5,23 - 5,28 (s, 1H).

Príklad 26

N-(2-fluór-1-iminoetyl)-2-aminoetyl-L-homocysteindihydrochlorid



Príklad 26a

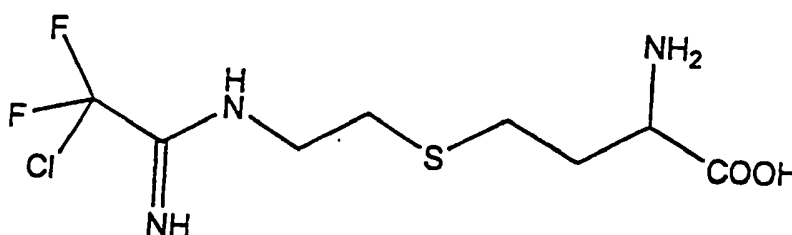
Zlúčenina podľa nadpisu sa pripraví ako v príklade 25 s použitím N^{Boc} -L-homocysteínu za získania 7,5 g (24,2 mmol, 96 %) zlúčeniny podľa nadpisu vo forme olejovitej kvapaliny.

Hmotnostná spektrometria FAB: $M + H = 238$.

Nukleárna magnetická rezonancia ^1H NMR (D_2O): 1,98 - 2,25 (m, 2H), 2,60 - 2,84 (m, 4H), 3,43 - 3,56 (m, 2H), 4,06 - 4,16 (t, 1H), 5,08 - 5,14 (s, 1H) a 5,23 - 5,28 (s, 1H).

Príklad 27

N-(2-chlór-2,2-difluór-1-iminoetyl)-3-aminoetyl-D,L-homocysteindihydrochlorid



Príklad 27a

2,8 g (10 mmol) produktu z príkladu 25a sa rozpustí v 40 ml etanolu a k roztoku sa pridá 1,75 ml (10 mmol) DIPEA. Na ľadovom kúpeli sa do zmesi zavádza plyný difluórchlóracetónitril počas 10 minút. Zmes sa mieša počas 24 hodín pri teplote miestnosti a potom sa rozpúšťadlo odparí vo vákuu. Zvyšná olejovitá kvapalina sa vyčistí preparatívnu vysokovýkonnou kvapalinovou chromatografiou s reverznými fázami s gradientom acetonitrilu vo vode obsahujúcej 0,05 % kyseliny trifluóroctovej (5 až 40 % acetonitrilu, 30 minút) za získania 2,4 g (6,2 mmol, 62 %) produktu chráneného Boc vo forme olejovitej kvapaliny.

Hmotnostná spektrometria FAB: $M + H = 390$.

Príklad 27b

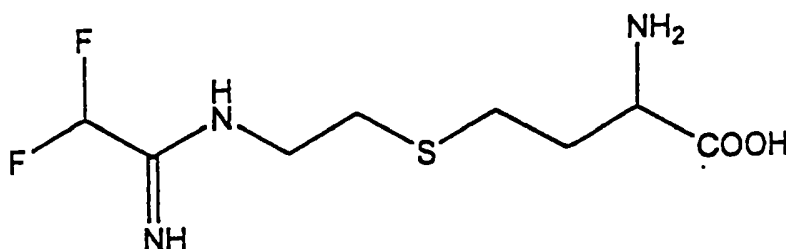
2,4 g (6,2 mmol) produktu príkladu 27a sa rozpustí v 50 ml 1N roztoku kyseliny chlorovodíkovej a roztok sa mieša počas 12 hodín pri teplote

miestnosti. Zmes sa zriedi 200 ml vody a lyofilizuje za získania 1,6 g (4,8 mmol, 77 %) zlúčeniny podľa nadpisu vo forme olejovitej kvapaliny.

Hmotnostná spektrometria FAB: $M + H = 290$.

Príklad 28

N-(2,2-difluór-1-iminoetyl)-2-aminoetyl-D,L-homocysteíndihydrochlorid



Príklad 28a

2,4 g (6,2 mmol) produktu príkladu 27a sa rozpustí v 50 ml metanolu a spracuje 1 g mravčanu amónneho a 0,2 g paládiovej čiernej za miešania pod atmosférou dusíka počas 48 hodín. Katalyzátor sa odfiltruje a produkt chránený Boc sa vyčistí preparatívnou vysokovýkonnou kvapalinovou chromatografiou s reverznými fázami s gradientom acetonitrilu vo vode obsahujúcej 0,05 % kyseliny trifluóroctovej (10 až 50 % acetonitrilu, 30 minút) za získania 1,06 g bielej tuhej látky (2,26 mmol, 23 % celkového výťažku).

Hmotnostná spektrometria FAB: $M + H = 356$.

Príklad 28b

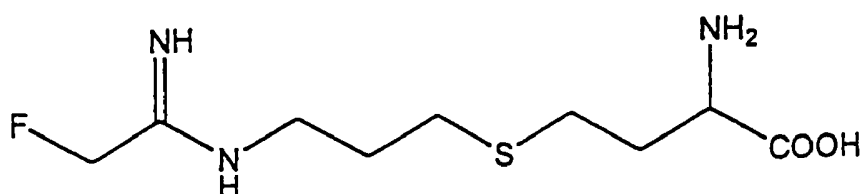
1,06 g (2,26 mmol) produktu z príkladu 28a sa rozpustí v 20 ml 1N roztoku kyseliny chlorovodíkovej a mieša sa počas 12 hodín pri teplote miestnosti. Zmes sa zriedi 200 ml vody a dvakrát lyofilizuje za získania 0,69 g (2,1 mmol, 96 %) zlúčeniny podľa nadpisu vo forme olejovitej kvapaliny

Hmotnostná spektrometria FAB: $M + H = 256$.

Nukleárna magnetická rezonancia ^1H NMR (D_2O): 2,02 - 2,28 (m, 2H), 2,55 - 2,90 (m, 4H), 3,48 - 3,65 (m, 2H), 4,03 - 4,18 (m, 1H) a 6,40 - 6,80 (t, 1H).

Príklad 29

N-(2-fluór-1-iminoetyl)-3-aminopropyl-D,L-homocysteíndihydrochlorid



Príklad 29a

N^a -Boc-homocysteín sa rozpustí v dimetylformamide a k roztoku sa pridá hydrid sodný (60 % disperzia v minerálnom oleji). Po 15 minútach miešania pri teplote miestnosti sa k zmesi pomaly pridáva 2-brómpropylamínhydrobromid. Miešanie pokračuje počas 16 hodín pri teplote miestnosti. Dimetylformamid sa odstráni za zníženého tlaku a zvyšok sa izoluje preparatívnou vysokovýkonnou kvapalinovou chromatografiou s reverznými fázami pri gradiente acetonitrilu vo vode obsahujúcej 0,05 % kyseliny trifluóroctovej za získania S-(aminopropyl)- N^a -Boc-homocysteínu.

Príklad 29b

Produkt z príkladu 29a sa rozpustí v 20 ml etanolu a nechá sa reagovať s etylfluóracetimidáhydrochloridom za prítomnosti DIPEA za miešania počas 18 hodín pri teplote miestnosti. Rozpúšťadlo sa odparí za zníženého tlaku a

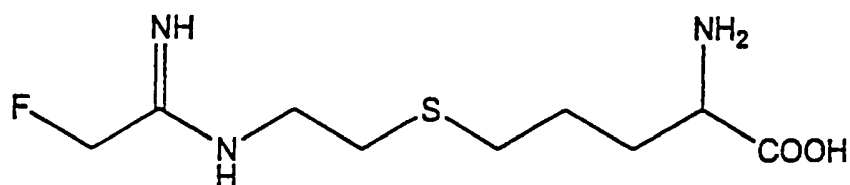
zvyšná olejovitá kvapalina sa vyčistí preparatívnou vysokovýkonnou kvapalinovou chromatografiou s reverznými fázami pri gradiente acetonitrilu vo vode obsahujúcej 0,05 % kyseliny trifluóroctovej za získania produktu chráneného Boc.

Príklad 29c

Produkt z príkladu 29b sa rozpustí v 1N kyseline chlorovodíkovej a mieša počas 12 hodín pri teplote miestnosti. Zmes sa zriedi vodou a lyofilizuje za získania zlúčeniny podľa nadpisu.

Príklad 30

N-(2-fluór-1-iminoetyl)-2-aminoetyl-D,L-bishomocysteíndihydrochlorid



Príklad 30a

a-benzylester kyseliny N^a-Cbz-glutámovej sa rozpustí v tetrahydrofuráne a spracuje bóranom. Izolácia poskytuje glutámový alkohol.

Príklad 30b

Produkt z príkladu 30a sa spracuje trifenyfosfínom a tetrabrommetánom. Izolácia poskytuje benzylester kyseliny 2-Cbz-amino-5-brómpentánovej.

Príklad 30c

Produkt z príkladu 30b sa rozpustí v tetrahydrofuráne a nechá sa reagovať s hydridom sodným a potom s 2-Boc-aminomerkaptoetánom. Izolácia poskytuje benzylester S-(Boc-aminoetyl)-N^a-Cbz-bishomocysteínu.

Príklad 30d

Produkt z príkladu 30c sa zbaví chrániacej skupiny Boc kyselinou chlorovodíkovou za získania benzylesteru S-(aminoetyl)-N^a-Cbz-bishomocysteínu.

Príklad 30e

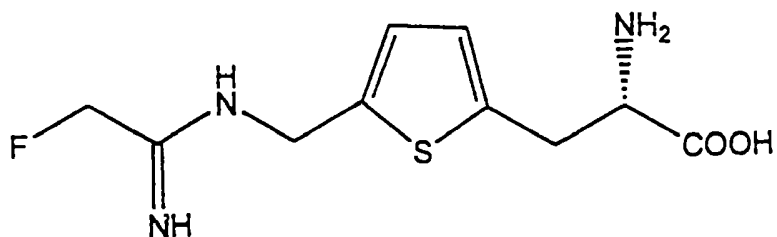
Produkt z príkladu 30d sa nechá reagovať s etylfluóracetimidát-hydrochloridom ako v príklade 25b za získania produktu chráneného Cbz vo forme benzylesteru.

Príklad 30f

Odstránenie chrániacej skupiny z produktu príkladu 30e hydrogenáciou poskytuje zlúčeninu podľa nadpisu.

Príklad 31

2-[N-(2-fluór-1-iminoetyl)aminometyl]-5-[2(S)-kyselina aminopropiónová-3-yl]tioféndihydrochlorid



Príklad 31a

2-brómtiofén-5-karboxamid sa nechá reagovať s metylesterom N-acetyldehydroalanínu za podmienok Heckovho spájania za získania 2-[2-(acetylamino)metylpropenoát-3-yl]tiofén-5-karboxamidu.

Príklad 31b

Produkt príkladu 31a sa podrobí chirálnym hydrogenačným podmienkam za získania 2-[2(S)-(acetylamino)metylpropanoát-3-yl]-tiofén-5-karboxamidu.

Príklad 31c

Produkt príkladu 31b sa podrobí šetrnej saponifikácii za získania 2-[2(S)-(acetylamino)propánová kyselina-3-yl]-tiofén-5-karboxamidu.

Príklad 31d

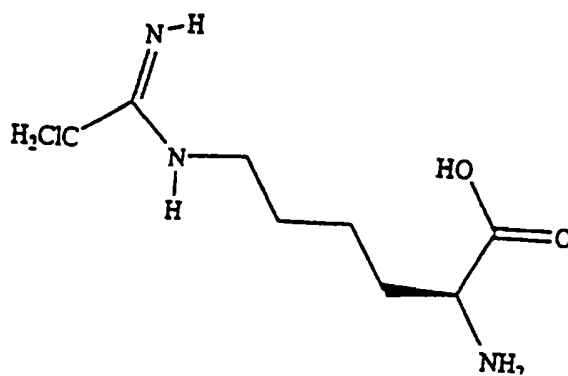
Produkt z príkladu 31c sa nechá reagovať s trietylítiumborohydridom za získania zlúčeniny 2-[2(S)-(acetylamino)propánová kyselina-3-yl]tiofén-5-aminometyl.

Príklad 31e

Produkt z príkladu 31d sa nechá reagovať s etylfluóracetimidát-hydrochloridom podľa príkladu 24b za získania produktu chráneného acetylovou skupinou.

Príklad 31f

Odstránenie chrániacej skupiny z produktu príkladu 31e hydrolýzou poskytuje zlúčeninu podľa nadpisu.

Príklad 32**N⁶-(2-chlór-1-iminoetyl)-L-lyzínidihydrochlorid**

Spôsob príkladu 20 sa použije na prípravu zlúčeniny podľa nadpisu.

Hmotnostná spektrometria pre C₈H₁₆N₃O₂Cl₁: M + H = 222.

Biologické údaje

Účinnosť vyššie uvedených zlúčenín ako inhibítorov NO-syntázy sa stanovuje alebo sa môže stanoviť nasledujúcimi skúškami.

Citrulínová skúška na NO-syntázu

Aktivita NO-syntázy sa meria monitorovaním konverzie [3H]-arginínu na [3H]-citrulín. Myšia indukateľná NO-syntáza (iNOS) sa pripraví z extraktu buniek RAW 264.7 spracovaného LPS a čiastočne purifikovaného chromatografiou na DEAE-sefaróze. Konštitučná NO-syntáza z krysieho mozgu (mNOS) sa pripraví z extraktu krysieho mozgu čiastočne purifikovaného chromatografiou na DEAE-sefaróze. Enzým a inhibítory sa inkubujú pri teplote 37 °C počas 15 minút v reakčnom objeme 100 µl s nasledujúcimi zložkami pridávanými kvôli začatiu reakcie: 50 mM Tris (pH 7,6), boviný sérumalbumín

1 mg/ml, DTT 1 mM, chlorid vápenatý 2 mM, FAD 10 mM, tetrahydrobiopterín 10 mM, L-arginín 30 mM s obsahom L-[2,3-³H]-arginínu v množstve 300 impulzov a min/pmol a NADPH 1 mM. Kvôli konštitučnej NO-syntáze sa rovnako pridáva kalmodulín 50 nM. Reakcia sa skončí pridaním chladného pufru obsahujúceho EGTA 10 mM, HEPES 100 mM, pH 5,5 a citrulín 1 Mm. [³H]-citrulín sa oddelí chromatografiou na meniči kationov Dowex 50W X-8 a aktivita sa meria pomocou kvapalného scintilátora.

Nitritová skúška s bunkami RAW

Bunky RAW 264.7 sa pestujú do dosiahnutia súvislého povlaku na doske pre tkanivové kultúry s 96 jamkami cez noc (17 hodín) za prítomnosti LPS pre indukciu NO-syntázy. Rad 3 až 6 jamôk sa nechá nespracovaný a slúžia ako kontroly pre odčítanie nešpecifického pozadia. Z každej jamky sa odstráni média a bunky sa premyjú dvakrát roztokom Krebs-Ringer-Hepes (25 mM, pH 7,4) s glukózou 2 mg/ml. Potom sa bunky prenesú na ľad a inkubujú s 50 ml pufru obsahujúceho L-arginín (30 mM) +/- inhibítory počas 1 hodiny. Skúška sa zaháji zahriatím dosky na 37 °C vo vodnom kúpeli počas 1 hodiny. Tvorba dusitanu intracelulárnou iNO-syntázou je v čase lineárna. Kvôli skončeniu rozboru s bunkami sa doska s bunkami umiestni na ľad a pufr obsahujúci dusitan sa odstráni a analyzuje na obsah dusitanu s použitím prv publikovaného fluorescenčného stanovenia dusitanov, T. P. Misko a kol., *Analytical Biochemistry*, 214, 11 - 16 (1993). Všetky hodnoty sú priemerom z hodnôt troch jamôk a porovnávajú sa s indukovaným súborom buniek po odpočítaní pozadia (hodnota 100 %).

Rozbor *in vivo*

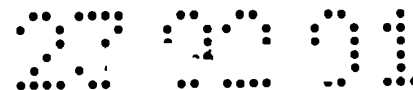
Krasy dostanú intraperitoneálnu injekciu 10 mg/kg endotoxínu (LPS) s perorálnym podaním alebo bez podania inhibítorov NO-syntázy. Dusitany v krvnej plazme sa merajú 5 hodín po podaní. Výsledky ukazujú, že podanie inhibítora NO-syntázy znižuje vzostup plazmatických dusitanov, ktorý je

spoľahlivý indikátor tvorby oxidu dusnatého indukovanej endotoxínom.

IP je skratka pre 2-iminopiperidín.

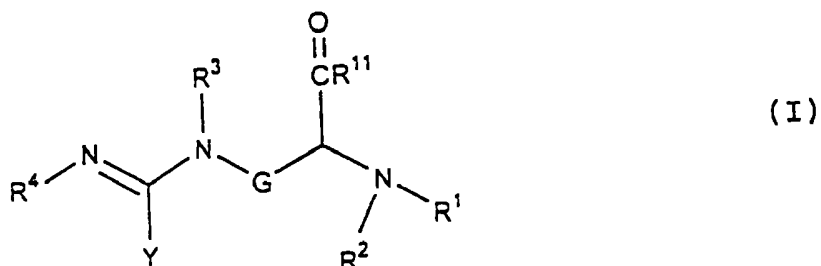
LPS je skratka pre endotoxín.

Z opisu vyššie môže skúsený odborník zistiť základné charakteristiky tohto vynálezu a bez odchýlky od jeho koncepcie a obsahu môže vykonávať rôzne zmeny a modifikácie vynálezu kvôli prispôsobeniu sa k rôznym účelom použitia a k rôznym podmienkam.



PATENTOVÉ NÁROKY

1. Zlúčenina všeobecného vzorca I:



alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ, v ktorej:

R^1 je zvolený zo skupiny zahrňujúcej atóm vodíka, C_1 - C_{10} alkylovú skupinu, C_2 - C_{10} alkenylovú skupinu a C_2 - C_{10} alkinylovú skupinu,

R^2 je zvolený zo skupiny zahrňujúcej atóm vodíka, C_1 - C_{10} alkylovú skupinu, C_2 - C_{10} alkenylovú skupinu, C_2 - C_{10} alkinylovú skupinu a buď R alebo S alfa-aminokyselínu,

R^3 a R^4 sú nezávisle od seba zvolené zo skupiny zahrňujúcej atóm vodíka, C_1 - C_{10} alkylovú skupinu, C_2 - C_{10} alkenylovú skupinu, C_2 - C_{10} alkinylovú skupinu a nitroskupinu,

R^1 , R^2 , R^3 a R^4 možno podľa potreby substituovať skupinou zvolenou z C_1 - C_8 alkylovej skupiny, C_2 - C_8 alkenylovej skupiny, C_2 - C_8 alkinylovej skupiny, cykloalkylovej skupiny, heterocyklylovej skupiny, arylovej skupiny, heteroarylovej skupiny, hydroxylovej skupiny, C_1 - C_8 alkoxykupiny, aryloxykupiny, tiolovej skupiny, C_1 - C_8 tioalkoxykupiny, atómu halogénu, kyanoskupiny, nitroskupiny, aminoskupiny, karboxylovej skupiny, karboxyalkylovej skupiny, karboxyarylovej skupiny, amidinoskupiny a guanidinoskupiny,

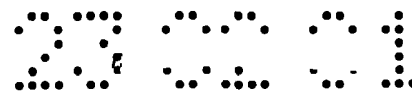
R^{11} je zvolený zo skupín zahrňujúcich hydroxylovú skupinu a R alebo S alfa-aminokyselínu,



G je zvolený zo súboru zahrňujúceho C₁-C₁₀ alkylénovú skupinu, C₂-C₁₀ alkenylénovú skupinu a C₂-C₁₀ alkinylénovú skupinu, z ktorých každá je prípadne substituovaná jednou či viacerými skupinami zvolenými zo skupín zahrňujúcich atóm halogénu, hydroxylovú skupinu, trifluórmetylovú skupinu, nitroskupinu, kyanoskupinu, aminoskupinu, C₁-C₁₀ alkylovú skupinu, skupinu =CH₂, C₂-C₁₀ alkenylovú skupinu, C₂-C₁₀ alkinylovú skupinu a C₁-C₁₀ alkoxykupinu, z ktorých každá je prípadne substituovaná, ak je to možné, jednou alebo viacerými skupinami, ktorými je C₁-C₈ alkylová skupina, C₂-C₈ alkenylová skupina, C₂-C₈ alkinylová skupina, cykloalkylová skupina, heterocyklylová skupina, arylová skupina, heteroarylová skupina, hydroxylová skupina, C₁-C₈ alkoxykupina, aryloxykupina, tiolová skupina, C₁-C₈ tioalkoxykupina, atóm halogénu, kyanoskupina, nitroskupina, aminoskupina, karboxylová skupina, karboxyalkylová skupina, karboxyarylová skupina, amidinoskupina, guanidinoskupina a trifluórmetylová skupina,

G je zvolený zo vzorca (CH₂)_p-(CX¹X²)_r-(CH₂)_s-Q-(CH₂)_t-(CX³X⁴)_u-(CH₂)_v, kde p, r, s, t, u, v sú nezávisle 0 až 3 a Q je atóm kyslíka, skupina C=O, skupina S(O)_a, kde a je 0 až 2 s podmienkou, že keď a je 1 alebo 2, G musí obsahovať atóm halogénu alebo NR¹², kde R¹² je atóm vodíka alebo C₁-C₁₀ alkylová skupina, ktorá môže byť prípadne substituovaná jednou či viacerými skupinami zvolenými zo skupín zahrňujúcich C₁-C₁₀ alkylovú skupinu, C₁-C₁₀ alkoxykupinu, hydroxylovú skupinu, trifluórmetylovú skupinu, nitroskupinu, kyanoskupinu, aminoskupinu a atóm halogénu,

G je zvolený zo vzorca -(CH₂)_w-(CX⁵X⁶)_y-(CH₂)_z-A-(CH₂)_k-(CX⁷X⁸)_j-(CH₂)_h, kde w, y, z, k, j, h sú nezávisle 0 až 3 a A je trojčlenná až šesťčlenná karbocyklická skupina alebo heterocyklická skupina, ktorá môže byť prípadne substituovaná jednou či viacerými skupinami zvolenými z atómu halogénu, C₁-C₁₀ alkylovej skupiny, C₁-C₁₀ alkoxykupiny, hydroxylovej skupiny, trifluórmetylovej skupiny, nitroskupiny, kyanoskupiny a aminoskupiny, kde každá z nich môže byť prípadne substituovaná atómom halogénu alebo C₁-C₁₀ alkylovou skupinou s podmienkou, že keď G je zvolené zo vzorca -(CH₂)_w-(CX⁵X⁶)_y-(CH₂)_z-A-(CH₂)_k-(CX⁷X⁸)_j-(CH₂)_h, musí Y obsahovať atóm halogénu,



$X^1, X^2, X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8$ môžu nezávisle od seba chýbať alebo ich môže predstavovať atóm vodíka, atóm halogénu, C_1-C_{10} alkylová skupina, skupina $=CH_2$, C_2-C_{10} alkenylová skupina alebo C_2-C_{10} alkinylová skupina, kde C_1-C_{10} alkylová skupina, skupina $=CH_2$, C_2-C_{10} alkenylová skupina a C_2-C_{10} alkinylová skupina môžu byť prípadne substituované jednou či viacerými zo skupín zahrňujúcich C_1-C_8 alkylovú skupinu, C_2-C_8 alkenylovú skupinu alebo C_2-C_8 alkinylovú skupinu, cykloalkylovú skupinu, heterocyklylovú skupinu, arylovú skupinu, heteroarylovú skupinu, hydroxylovú skupinu, C_1-C_8 alkoxyskupinu, aryloxyskupinu, tiolovú skupinu, C_1-C_8 tioalkoxyskupinu, atóm halogénu, kyanoskupinu, nitroskupinu, aminoskupinu, karboxylovú skupinu, karboxyalkylovú skupinu, karboxyarylovú skupinu, amidinoskupinu, guanidinoskupinu a trifluórmetylovú skupinu,

Y je zvolený zo skupiny zahrňujúcej heterocyklický kruh, C_1-C_{10} halogénalkylovú skupinu, C_1-C_{10} dihalogénalkylovú skupinu, C_1-C_{10} trihalogénalkylovú skupinu, C_1-C_{10} alkylovú skupinu, C_3-C_{10} cykloalkylovú skupinu, C_2-C_{10} alkenylovú skupinu a C_2-C_{10} alkinylovú skupinu, z ktorých každá môže byť prípadne substituovaná jednou či viacerými skupinami zvolenými zo skupín zahrňujúcich atóm halogénu, hydroxylovú skupinu, trifluórmetylovú skupinu, nitroskupinu, kyanoskupinu, aminoskupinu, C_1-C_{10} alkylovú skupinu, C_2-C_{10} alkenylovú skupinu, C_2-C_{10} alkinylovú skupinu a C_1-C_{10} alkoxyskupinu,

Y môže byť skupina NR^9R^{10} , kde R^9 a R^{10} sa nezávisle od seba volia zo skupín zahrňujúcich atóm vodíka, C_1-C_{10} alkylovú skupinu, C_3-C_{10} cykloalkylovú skupinu, C_2-C_{10} alkenylovú skupinu, C_2-C_{10} alkinylovú skupinu, nitroskupinu, aminoskupinu, arylovú skupinu a C_1-C_{10} alkarylovú skupinu,

s podmienkou, že aspoň jeden z G alebo Y obsahuje atóm halogénu.

2. Zlúčenina podľa nároku 1, v ktorej:

G je zvolený zo súboru zahrňujúceho C_1-C_{10} alkylénovú skupinu, C_2-C_{10} alkenylénovú skupinu a C_2-C_{10} alkinylénovú skupinu, z ktorých každá môže byť



prípadne substituovaná jednou či viacerými skupinami zvolenými zo skupín zahrňujúcich atóm halogénu, hydroxylovú skupinu, trifluórmetylovú skupinu, nitroskupinu, kyanoskupinu, aminoskupinu, C₁-C₁₀ alkylovú skupinu, skupinu =CH₂, C₂-C₁₀ alkenylovú skupinu, C₂-C₁₀ alkinylovú skupinu a C₁-C₁₀ alkoxykupinu, z ktorých každá môže byť prípadne substituovaná, ak je to možné, jednou alebo viacerými skupinami, ktorými je C₁-C₈ alkylová skupina, C₂-C₈ alkenylová skupina, C₂-C₈ alkinylová skupina, cykloalkylová skupina, heterocyklylová skupina, arylová skupina, heteroarylová skupina, hydroxylová skupina, C₁-C₈ alkoxykupina, aryloxykupina, tiolová skupina, C₂-C₈ tioalkoxykupina, atóm halogénu, kyanoskupina, nitroskupina, aminoskupina, karboxylová skupina, karboxyalkylová skupina, karboxyarylová skupina, amidinoskupina, guanidinoskupina a trifluórmetylová skupina, alebo

G je zvolený zo vzorca (CH₂)_p-(CX¹X²)_r-(CH₂)_s-Q-(CH₂)_t-(CX³X⁴)_u-(CH₂)_v, kde p, r, s, t, u, v sú nezávisle 0 až 3 a Q je atóm kyslíka, skupina C=O, skupina S(O)_a, kde a je 0 až 2 s podmienkou, že keď a je 1 alebo 2, G musí obsahovať atóm halogénu alebo NR¹², kde R¹² je atóm vodíka alebo C₁-C₁₀ alkylová skupina, ktorá môže byť prípadne substituovaná jednou či viacerými skupinami zvolenými zo skupín zahrňujúcich C₁-C₁₀ alkylovú skupinu, C₁-C₁₀ alkoxykupinu, hydroxylovú skupinu, trifluórmetylovú skupinu, nitroskupinu, kyanoskupinu, aminoskupinu a atóm halogénu.

3. Zlúčenina podľa nároku 2, v ktorej:

G je zvolený zo súboru zahrňujúceho C₁-C₁₀ alkylénovú skupinu, C₂-C₁₀ alkenylénovú skupinu a C₂-C₁₀ alkinylénovú skupinu, z ktorých každá je prípadne substituovaná jednou či viacerými skupinami zvolenými zo skupín zahrňujúcich atóm halogénu, hydroxylovú skupinu, trifluórmetylovú skupinu, nitroskupinu, kyanoskupinu, aminoskupinu, C₁-C₁₀ alkylovú skupinu, skupinu =CH₂, C₂-C₁₀ alkenylovú skupinu, C₂-C₁₀ alkinylovú skupinu a C₁-C₁₀ alkoxykupinu, z ktorých každá môže byť prípadne substituovaná, ak je to možné, jednou alebo viacerými skupinami, ktorými sú C₁-C₈ alkylová skupina, C₂-C₈ alkenylová skupina, C₂-C₈ alkinylová skupina, cykloalkylová skupina,



heterocyklylová skupina, arylová skupina, heteroarylová skupina, hydroxylová skupina, C₁-C₈ alkoxy skupina, aryloxy skupina, tiolová skupina, C₁-C₈ tioalkoxy skupina, atóm halogénu, kyanoskupina, nitroskupina, aminoskupina, karboxylová skupina, karboxyalkylová skupina, karboxyarylová skupina, amidinoskupina, guanidinoskupina a trifluórmetylová skupina, a

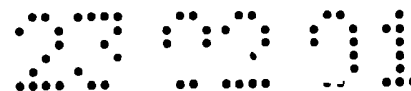
Y je zvolený zo skupiny zahrňujúcej heterocyklický kruh, C₁-C₁₀ halogénalkylovú skupinu, C₁-C₁₀ dihalogénalkylovú skupinu, C₁-C₁₀ trihalogénalkylovú skupinu, C₁-C₁₀ alkylovú skupinu, C₃-C₁₀ cykloalkylovú skupinu, C₂-C₁₀ alkenylovú skupinu a C₂-C₁₀ alkinylovú skupinu, z ktorých každá je prípadne substituovaná jednou či viacerými skupinami zvolenými zo skupín zahrňujúcich atóm halogénu, hydroxylovú skupinu, trifluórmetylovú skupinu, nitroskupinu, kyanoskupinu, aminoskupinu, C₁-C₁₀ alkylovú skupinu, C₂-C₁₀ alkenylovú skupinu, C₂-C₁₀ alkinylovú skupinu a C₁-C₁₀ alkoxy skupinu.

4. Zlúčenina podľa nároku 3, v ktorej:

R¹, R² sú atómy vodíka,

R³, R⁴ sú atóm vodíka alebo nitroskupina,

G je zvolený zo súboru zahrňujúceho C₁-C₁₀ alkylénovú skupinu, C₂-C₁₀ alkenylénovú skupinu a C₂-C₁₀ alkinylénovú skupinu, z ktorých každá je prípadne substituovaná jednou či viacerými skupinami zvolenými zo skupín zahrňujúcich atóm halogénu, hydroxylovú skupinu, trifluórmetylovú skupinu, nitroskupinu, kyanoskupinu, aminoskupinu, C₁-C₁₀ alkylovú skupinu, skupinu =CH₂, C₂-C₁₀ alkenylovú skupinu, C₂-C₁₀ alkinylovú skupinu a C₁-C₁₀ alkoxy skupinu, z ktorých každá môže byť prípadne substituovaná, pokiaľ je to možné, jednou alebo viacerými skupinami, ktorými sú C₁-C₈ alkylová skupina, C₂-C₈ alkenylová skupina, C₂-C₈ alkinylová skupina, cykloalkylová skupina, heterocyklylová skupina, arylová skupina, heteroarylová skupina, hydroxylová skupina, C₁-C₈ alkoxy skupina, aryloxy skupina, tiolová skupina, C₂-C₈ tioalkoxy skupina, atóm halogénu, kyanoskupina, nitroskupina, aminoskupina, karboxylová skupina, karboxyalkylová skupina, karboxyarylová skupina,



amidinoskupina, guanidinoskupina a trifluórmetylová skupina, a

Y je zvolený zo súboru zahrňujúceho C₁-C₆ alkylovú skupinu, C₃-C₆ cykloalkylovú skupinu, C₂-C₆ alkenylovú skupinu a C₂-C₆ alkinylovú skupinu, z ktorých každá je prípadne substituovaná jedným či viacerými atómami halogénu alebo skupinou NHR⁹,

kde R⁹ je atóm vodíka, C₁-C₆ alkylová skupina, C₃-C₆ cykloalkylová skupina, C₂-C₆ alkenylová skupina alebo C₂-C₆ alkinylová skupina.

5. Zlúčenina podľa nároku 4, v ktorej:

R¹, R², R³ a R⁴ sú každý atómy vodíka,

G je C₁-C₅ alkylénová skupina substituovaná aspoň jedným atómom halogénu a

Y je C₁-C₆ alkylová skupina.

6. Zlúčenina podľa nároku 1, v ktorej:

R¹, R², R³ a R⁴ sú každý atómy vodíka,

Y je C₁-C₁₀ halogénalkylová skupina alebo C₁-C₁₀ alkylová skupina a

G je zvolený zo vzorca (CH₂)_p-(CX¹X²)_r-(CH₂)_s-Q-(CH₂)_t-(CX³X⁴)_u-(CH₂)_v, kde p, r, s, t, u, v sú nezávisle 0 až 3 a Q je atóm kyslíka, skupina C=O, skupina S(O)_a, kde a je 0 až 2 s podmienkou, že keď a je 1 alebo 2, G musí obsahovať atóm halogénu alebo NR¹², kde R¹² je atóm vodíka alebo C₁-C₁₀ alkylová skupina, ktorá môže byť prípadne substituovaná jednou či viacerými skupinami zvolenými zo skupín zahrňujúcich C₁-C₁₀ alkylovú skupinu, C₁-C₁₀ alkoxykupinu, hydroxylovú skupinu, trifluórmetylovú skupinu, nitroskupinu, kyanoskupinu, aminoskupinu a atóm halogénu.

7. Zlúčenina, ktorá je zvolená zo súboru pozostávajúceho zo zlúčenín:

4,4-difluór-N⁵-(1-iminoetyl)-L-ornitíndihydrochlorid,

4,4-difluór-N⁶-(1-iminoetyl)-L-lyzíndihydrochlorid,

5,5-difluór-N⁶-(1-iminoetyl)-L-lyzíndihydrochlorid,

N⁶-(2,2,2-trifluór-1-iminoetyl)-L-lyzíndihydrochlorid,

N⁶-(2,2,2-trichlór-1-iminoetyl)-L-lyzíndihydrochlorid,

N⁶-(2,2-difluór-1-iminoetyl)-L-lyzíndihydrochlorid,

dihydrochlorid kyseliny (±)-E-2-amino-6-(1-imino-2-fluóretylamino)-hex-4-énovej,

hydrochlorid kyseliny (±)-2-amino-6-(1-imino-2-fluóretylamino)-hex-4-ínovej,

1-(1-imino-2-fluóretylaminoetyl)-2-(1-karboxylaminoetyl)cyklopropán-dihydrochlorid,

dihydrochlorid kyseliny 2-amino-5-exometylén-6-(1-imino-2-fluóretylamino)-hexánovej,

dihydrochlorid kyseliny 2-amino-5-cyklopropyl-6-(1-imino-2-fluóretylamino)-hexánovej,

dihydrochlorid kyseliny 2-amino-5-metyl-6-(1-imino-2-fluóretylamino)hexánovej,

dihydrochlorid kyseliny 2-amino-4-exometylén-6-(1-imino-2-fluóretylamino)-hexánovej,

N-1-imino-2-fluóretyl-4-oxalyzíndihydrochlorid,

N-1-imino-2-fluóretyl-5-oxahomolyzíndihydrochlorid,

5-fluór-N⁶-(1-iminoetyl)-D,L-lyzíndihydrochlorid,

N-(1-iminoetyl)-2-amino-1,1-difluóretyl-L-cysteíndihydrochlorid,

N-(1-iminoetyl)-2-amino-1,1-difluóretyl-D,L-homocysteíndihydrochlorid,

dihydrochlorid kyseliny N⁵-(1-iminoetyl)-2,5-diaminopentánovej,

N⁶-(2-chlór-2,2-difluór-1-iminoetyl)-L-lyzíndihydrochlorid,

N⁶-(2-fluór-1-iminoetyl)-L-lyzíndihydrochlorid,
5-fluór-N⁶-[1-(tiofén-2-yl)-1-iminometyl]-D,L-lyzín,
N-(2-fluór-1-iminoetyl)-3-aminopropyl-L-cysteíndihydrochlorid,
N-(2-fluór-1-iminoetyl)-2-aminoetyl-L-cysteíndihydrochlorid,
N-(2-fluór-1-iminoetyl)-2-aminoetyl-D,L-homocysteíndihydrochlorid,
N-(2-fluór-1-iminoetyl)-2-aminoetyl-L-homocysteíndihydrochlorid,
N-(2-chlór-2,2-difluór-1-iminoetyl)-3-aminoetyl-D,L-homocysteíndihydrochlorid,
N-(2,2-difluór-1-iminoetyl)-2-aminoetyl-D,L-homocysteíndihydrochlorid,
N-(2-fluór-1-iminoetyl)-3-aminopropyl-D,L-homocysteíndihydrochlorid,
N-(2-fluór-1-iminoetyl)-2-aminoetyl-D,L-bishomocysteíndihydrochlorid,
2-[N-(2-fluór-1-iminoetyl)aminometyl]-5-[2(S)-aminopropión-3-yl]-
tioféndihydrochlorid a
N⁶-(2-chlór-1-iminoetyl)-L-lyzíndihydrochlorid.

8. Zlúčenina podľa nároku 7, ktorá je zvolená zo súboru pozostávajúceho zo zlúčenín:

N-(2-fluór-1-iminoetyl)-3-aminopropyl-L-cysteíndihydrochlorid,
N-(2-fluór-1-iminoetyl)-2-aminoetyl-L-cysteíndihydrochlorid,
N-(2-fluór-1-iminoetyl)-2-aminoetyl-D,L-homocysteíndihydrochlorid a
N-(2-fluór-1-iminoetyl)-2-aminoetyl-L-homocysteíndihydrochlorid.

9. Použitie zlúčeniny podľa nárokov 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 alebo 8 na výrobu lieku na inhibíciu tvorby oxidu dusnatého u subjektu, ktorý potrebuje túto inhibíciu.

10. Použitie zlúčeniny podľa nárokov 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 alebo 8 na výrobu lieku na selektívne inhibície syntézy oxidu dusnatého tvoreného indukovateľnou NO-syntázou oproti oxidu dusnatému tvorenému konštitučnými formami NO-syntázy u subjektu, ktorý potrebuje túto selektívnu inhibíciu.

11. Použitie zlúčeniny podľa nárokov 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 alebo 8 na výrobu lieku na zníženie hladín oxidu dusnatého u subjektu, ktorý potrebuje toto zníženie.

12. Farmaceutický prípravok, **vyznačujúci sa tým**, že obsahuje zlúčeninu podľa nárokov 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 alebo 8 spoločne s aspoň jedným farmaceuticky prijateľným nosičom.