

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
27. September 2001 (27.09.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/70204 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **A61K 31/00**

10, 82110 Germering (DE). **JACOB, Uwe** [DE/DE];
Guldeinstrasse 42, 80339 München (DE). **BODE, Wol-**
fram [DE/DE]; Tulpenstrasse 5, 82131 Gauting (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/02989

(22) Internationales Anmeldedatum:
15. März 2001 (15.03.2001)

(74) Anwälte: **WEICKMANN, Heinrich** usw.; Weickmann &
Weickmann, Postfach 860 820, 81635 München (DE).

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
100 13 715.6 20. März 2000 (20.03.2000) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): **WILEX BIOTECHNOLOGY GMBH**
[DE/DE]; Grillparzerstrasse 10B, 81675 München
(DE). **MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR**
FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTEN E.V.
[DE/DE]; Hofgartenstrasse 8, 80539 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH,
GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC,
LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW,
MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK,
SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA,
ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK,
ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR),
OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **MAGDOLEN, Viktor**
[US/DE]; Münchnerstrasse 33, 85551 Kirchheim (DE).
SPERL, Stefan [DE/DE]; Anton-Koeck-Strasse 5a,
82049 Pullach (DE). **STÜRZEBECHER, Jörg** [DE/DE];
Hubertusstrasse 38, 99094 Erfurt (DE). **WILHELM,**
Olaf [DE/DE]; Säbenerstrasse 188, 81545 München (DE).
ARROYO-DEPRADA, Nuria [ES/ES]; Calle Valencia,
400 6^a, E-08013 Barcelona (ES). **MORODER, Luis**
[DE/DE]; Alexander Flemingstrasse 10D, 82152 Martin-
sried (DE). **HUBER, Robert** [DE/DE]; Schlesierstrasse

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu
veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: HIGHLY SELECTIVE INHIBITORS OF THE UROKINASE PLASMINOGEN ACTIVATOR

(54) Bezeichnung: HOCHSELEKTIVE INHIBITOREN DES UROKINASE-PLASMINOGENAKTIVATORS

(57) Abstract: The invention relates to novel selective inhibitors of the urokinase plasminogen activator (uPA, EC 3.4.21.31), of the
arylguanidine type.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft neue selektive Inhibitoren des Urokinase-Plasminogenaktivators (uPA,
EC 3.4.21.31) vom Arylguanidintyp.



WO 01/70204 A2

Hochselektive Inhibitoren des Urokinase-Plasminogenaktivators

Beschreibung

5

Die vorliegende Erfindung betrifft neue hochselektive Inhibitoren des Urokinase-Plasminogenaktivators (uPA, EC 3.4.21.31) vom Arylguanidintyp.

10 Der Plasminogenaktivator von Urokinase-Typ (uPA) spielt eine Schlüsselrolle bei der Tumorinvasion und Metastasenbildung (Schmitt et al., J. Obst. Gyn. 21 (1995), 151-165). uPA wird in verschiedenen Arten von Tumorzellen überexprimiert (Kwaan, Cancer Metastasis Rev. 11 (1992), 291-311) und bindet an den Tumor-assoziierten uPA-Rezeptor
15 (uPA-R), wo die Aktivierung von Plasminogen zu Plasmin stattfindet. Plasmin ist in der Lage, verschiedene Komponenten der extrazellulären Matrix (ECM) wie Fibronectin, Laminin und Kollagen Typ IV abzubauen. Es aktiviert auch einige andere ECM-abbauende Enzyme, insbesondere Matrix-Metalloproteinasen. Hohe Mengen an Tumor-assoziiertem uPA
20 korrelieren mit einem höheren Metastasierungsrisiko für Krebspatienten (Stephens et al., Breast Cancer Res. & Treat. 52 (1998), 99-111). Eine Hemmung der proteolytischen Aktivität von uPA ist daher ein guter Ansatzpunkt für eine anti-metastatische Therapie.

25 Ein gemeinsames Merkmal vieler bekannter synthetischer uPA-Inhibitoren ist ein basischer Rest, der Amidino- oder Guanidino-Gruppen enthält, und an Asp¹⁸⁹ in der S1-Spezifitätstasche von uPA binden kann und dort als Arginin-Mimetikum wirkt (Spraggon et al., Structure 3 (1995), 681-691). Die meisten der bekannten Inhibitoren sind jedoch nicht selektiv für uPA,
30 sondern hemmen auch andere Serinproteasen wie Trypsin, Thrombin, Plasmin oder Gewebs-Plasminogenaktivator (tPA).

- 2 -

p-Aminobenzamidin ist ein moderat selektiver uPA-Inhibitor mit einer Hemmkonstante von 82 μM . Billstroem et al. (Int. J. Cancer 61 (1995), 542-547) konnten eine deutliche Abnahme der Wachstumsrate von DU145 Tumoren (eine Prostata-Adenokarzinom-Zelllinie) in SCID Mäusen bei oraler
5 Verabreichung in einer Tagesdosis von 125 bis 250 mg p-Aminobenzamidin/kg/Tag zeigen. Die Nebenwirkungen waren vernachlässigbar gering.

Einige monosubstituierte Phenylguanidine haben sich als wirksame und selektive uPA Inhibitoren in vitro erwiesen. Diese kleinen Moleküle zeigen
10 Inhibierungskonstanten im Mikromolarbereich, sie binden jedoch nur in der S1 Tasche von uPA (Yang et al., J. Med. Chem. 33 (1990), 2956-2961). Biologische Untersuchungen mit diesen Verbindungen wurden nicht durchgeführt.

15 Das Diuretikum Amilorid ist ein selektiver uPA-Inhibitor (K_i , uPA = 7 μM), der die Bildung von Lungenmetastasen nach i.v. Inokulation von Ratten-Brustadenokarzinomzellen verhindert (Kellen et al., Anticancer Res. 8 (1988), 1373-1376). Einige Derivate von 3-Amidino-phenylalanin haben sich ebenfalls als wirksame Inhibitoren von Serinproteasen erwiesen, diese
20 Verbindungen weisen jedoch im allgemeinen nur eine geringe Selektivität für uPA auf (Stürzebecher et al., J. Med. Chem. 40 (1997), 3091-3099; Stürzebecher et al., J. Enzyme Inhib. 9 (1995), 87-99).

Die derzeit wirksamsten und selektivsten uPA-Inhibitoren sind Derivate von
25 Benzo[b]thiophen-2-carboxamidin (B428 und B623: K_i , uPA = 0,32 bzw. 0,07 μM ; US-Patent 5,340,833). Rabbani et al. (Int. J. Cancer 63 (1995), 840-845) sowie Xing et al. (Cancer Res. 57 (1997), 3585-3593) konnten nach Verabreichung von 4-Iod-benzo[b]-thiophen-2-carboxamidin (B428) eine Abnahme des Tumorwachstums und der Metastasenbildung in einem
30 syngenem Modell für Ratten-Prostatakarzinom bzw. Maus-Mammakarzinom zeigen. Letztere Untersuchungen zeigten eine weitere Abnahme des

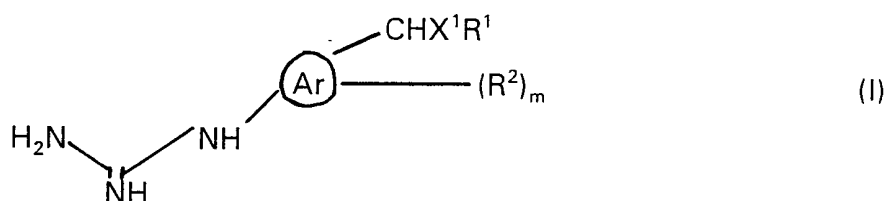
- 3 -

Primärtumorwachstums bei gemeinsamer Verabreichung von B428 mit dem Antiöstrogen Tamoxifen.

Die deutsche Patentanmeldung 199 40 389.9 schlägt die Verwendung von Arylguanidin- und insbesondere Phenylguanidin-Derivaten als selektive uPA-Inhibitoren vor. Diese Verbindungen enthalten einen weiteren Substituenten am aromatischen Ringsystem, vorzugsweise in Para-Position zur Guanidiningruppe, der eine gegebenenfalls substituierte Methylengruppe gefolgt von Wasserstoffdonor/Akzeptorfunktionalitäten enthält. Aufgrund dieses Substitutionsmusters weisen die Verbindungen eine besonders hohe Wirksamkeit und Selektivität für uPA auf. Von diesen Verbindungen wird angenommen, dass sie als Arginin-Mimetikum mit dem Aminosäurerest Asp¹⁸⁹ in der S1-Tasche von uPA wechselwirken und eine Wechselwirkung mit der S2- und/oder S3-Tasche von uPA eingehen können.

Überraschenderweise wurden nun weitere Aryl-Guanidin-Derivate identifiziert, die eine noch spezifischere Wechselwirkung mit uPA, insbesondere mit den Aminosäureresten Gln¹⁹² und/oder Ser²¹⁴ eingehen können. Diese Verbindungen enthalten neben der Guanidin-Gruppe einen weiteren Substituenten am aromatischen Ringsystem, der eine gegebenenfalls substituierte Methylengruppe gefolgt von einer Wasserstoffdonor-, einer Wasserstoffakzeptor- und wiederum einer Wasserstoffdonorfunktionalität enthält.

Ein Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung von Verbindungen der allgemeinen Formel (I)

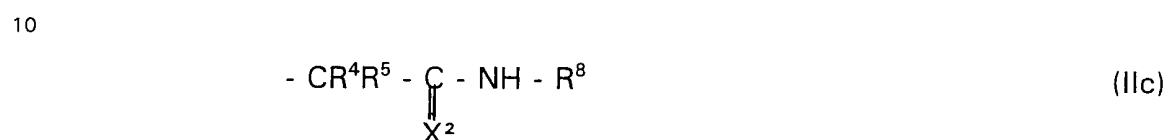
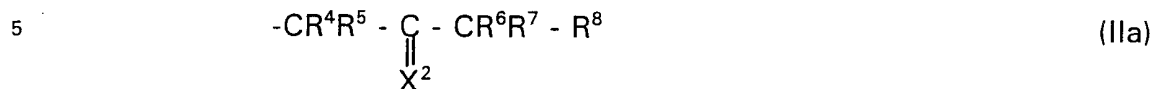


- 4 -

worin

Ar ein aromatisches oder heteroaromatisches Ringsystem bedeutet,

X¹ einen Rest der Formel (IIa), (IIb) oder (IIc) bedeutet:



15 R^1 H, einen gegebenenfalls substituierten Alkyl-, Alkenyl-, Alkynyl-, Aryl- oder/und Heteroarylrest bedeutet,

R^2 Halogen, $\text{C}(\text{R}^3)_3$, $\text{C}_2(\text{R}^3)_5$, $\text{OC}(\text{R}^3)_3$ oder $\text{OC}_2(\text{R}^3)_5$ bedeutet,

R^3 jeweils unabhängig H oder Halogen, insbesondere F, ist

20 R^4 und R^5 H oder einen gegebenenfalls substituierten Alkyl-, Alkenyl- oder Alkynylrest bedeuten, wobei zumindest einer der Reste R^4 und R^5 eine Wasserstoffbrücken-Donorgruppe, z.B. OH, NH_2 , SH, OR^1 , NHR^1 , $\text{N}(\text{R}^1)_2$, SR^1 , CO, CS, enthält,

25 R^6 und R^7 H oder einen gegebenenfalls substituierten Alkyl-, Alkenyl- oder Alkynylrest bedeuten, wobei zumindest einer der Reste R^6 und R^7 eine Wasserstoffbrücken-Donorgruppe, z.B. OH, NH_2 , SH, OR^1 , NHR^1 , $\text{N}(\text{R}^1)_2$, SR^1 , CO, CS, enthält, und wobei R^4 oder R^5 mit R^6 oder R^7 verbrückt sein kann,

R^8 H oder einen gegebenenfalls substituierten Alkyl-, Alkenyl-, Alkynyl-, Aryl- oder/und Heteroarylrest oder $-\text{SO}_2-\text{R}^9$ bedeutet, wobei R^8 gegebenenfalls mit R^6 oder R^7 verbrückt sein kann,

30 R^9 H oder einen gegebenenfalls substituierten Alkyl-, Alkenyl-, Alkynyl-, Aryl- oder/und Heteroarylrest bedeutet,

- 5 -

- X^2 eine Wasserstoffbrücken-Akzeptorgruppe, insbesondere NH, NR¹⁰, O oder S bedeutet,
- R¹⁰ einen gegebenenfalls substituierten Alkyl-, Alkenyl- oder Alkynylrest bedeutet, und
- 5 m eine ganze Zahl von 0 bis 4 ist,
- oder Salzen dieser Verbindungen zur Herstellung eines Mittels zur Hemmung des Urokinase-Plasminogenaktivators.

Die Verbindungen können als Salze, vorzugsweise als physiologisch verträgliche Säuresalze, z.B. als Salze von Mineralsäuren, besonders bevorzugt als Hydrochloride oder als Salze von geeigneten organischen Säuren vorliegen. Die Guanidiniumgruppe kann gegebenenfalls Schutzfunktionen tragen, die vorzugsweise unter physiologischen Bedingungen abspaltbar sind. Die Verbindungen können als optisch reine Verbindungen oder als Gemische von Enantiomeren oder/und Diastereoisomeren vorliegen.

In den Verbindungen der allgemeinen Formel (I) ist Ar vorzugsweise ein aromatisches oder heteroaromatisches Ringsystem mit einem einzigen Ring, insbesondere ein Benzolring. In diesem Ringsystem sind die Substituenten CHX¹R¹ und NHC(NH)NH₂ vorzugsweise in Meta- oder Para-Position und besonders bevorzugt in Para-Position zueinander angeordnet. Darüber hinaus kann Ar noch weitere von Wasserstoff verschiedene Substituenten R² enthalten. Vorzugsweise ist die Anzahl der Substituenten R² 0, 1, 2 oder 3, besonders bevorzugt 0 oder 1 und am meisten bevorzugt 0. Bevorzugte Beispiele für R² sind Halogenatome (F, Cl, Br oder I), CH₃, CF₃, OH, OCH₃ oder OCF₃.

Für die Inhibitoraktivität kritisch ist der Substituent -CHX¹R¹. R¹ kann H oder ein gegebenenfalls substituierter Alkyl-, Alkenyl-, Alkynyl-, Aryl- oder/und Heteroarylrest sein. Der Alkylrest kann eine geradkettige oder verzweigte C₁-C₁₀-Alkylgruppe, insbesondere eine C₁-C₄-Alkylgruppe, oder

- 6 -

- eine C₃-C₈-Cycloalkylgruppe sein, die beispielsweise mit C₁-C₃-Alkoxy, Hydroxyl, Carboxyl, Amino, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen, aber auch mit Aryl- oder Heteroarylresten substituiert sein kann. Alkenyl- und Alkynylreste sind vorzugsweise C₂-C₁₀-Gruppen, insbesondere C₂-C₄-Gruppen, die gegebenenfalls wie zuvor angegeben substituiert sein können. Aryl- und Heteroarylreste können beispielsweise mit C₁-C₆-Alkyl, C₁-C₃-Alkoxy-Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano oder/und Oxo substituiert sein.
- Die Gruppe X¹ enthält vorzugsweise zumindest einen oder zwei Substituenten (R⁴ oder R⁵ oder/und R⁶ oder R⁷), die eine Wasserstoffbrücken-Donorgruppe enthalten, sowie einen Substituenten X², der eine Wasserstoffbrücken-Akzeptorgruppe enthält. Die Wasserstoffbrücken-Donorsubstituenten enthalten ein Wasserstoffatom oder/und ein Elektronenpaar für eine Wasserstoffbrücke liefernde Gruppe. Der Abstand der Wasserstoffbrücken-Donorgruppe vom C-Atom, an das die Substituenten R⁴ und R⁵ bzw. R⁶ und R⁷ gebunden sind, beträgt vorzugsweise 1 bis 3 Kohlenstoffatome, besonders bevorzugt 1 bis 2 Kohlenstoffatome und am meisten bevorzugt 1 Kohlenstoffatom. Beispiele für Wasserstoffbrücken-Donorgruppen sind OH, NH₂, SH, OR¹, NHR¹, N(R¹)₂, SR¹. Bevorzugte Beispiele für Wasserstoffbrücken-Donorgruppen enthaltende Substituenten sind Hydroxymethyl, 2-Hydroxyethyl, -CO₂H, -CO₂R¹, wobei R¹ wie zuvor definiert ist und vorzugsweise eine Alkyl- oder eine Arylgruppe wie etwa die Benzylgruppe bedeutet, z.B. -CO₂CH₂-Ph, CONH₂, -CONHR¹, -CONR¹, wobei R¹ wie zuvor definiert ist, z.B. CONHCH₃, -CON(CH₃)₂, CSOH, CSOR¹, -COSH, COSR¹, COR¹ und CSR¹, wobei R¹ wie zuvor definiert ist. Zwei Wasserstoffbrücken-Donorgruppen enthaltende Substituenten können auch verbrückt sein, z.B. über eine C₂-C₃-Brücke. Beispiele für solche verbrückten Substituenten sind 1,2-Dihydroxy-ethylen oder 1,3-Dihydroxypropylen.

- 7 -

Ein Substituent R^4/R^5 bzw. R^6/R^7 , der keine Wasserstoffbrücken-Donorgruppe trägt, ist vorzugsweise Wasserstoff oder eine gegebenenfalls Halogensubstituierte Methyl- oder Ethylgruppe. Besonders bevorzugt ist ein solcher Substituent Wasserstoff.

5

Der Wasserstoffbrücken-Akzeptorsubstituent X^2 ist vorzugsweise NH oder O, besonders bevorzugt O.

Weiterhin enthält die Gruppe X^1 einen Substituenten R^8 , der vorzugsweise eine sterische Funktion erfüllt. R^8 kann Wasserstoff, ein Alkyl-, Alkenyl-, Alkynyl-, Aryl-, Heteroaryl-, Carboxy-alkyl-, Carboxy-alkenyl-, Carboxy-alkinyl-, Carboxy-aryl- oder Carboxy-heteroaryl-Rest oder $-SO_2-R^9$ sein, wobei R^9 die gleiche Bedeutung wie für R^8 angegeben besitzen kann. Günstigerweise sind R^8 bzw. R^9 von Wasserstoff verschieden und enthalten mindestens 4, z.B. 6 bis 20 Kohlenstoffatome. R^8 kann gegebenenfalls mit R^6 oder R^7 verbrückt sein.

15

Die Substituenten R^8 und R^9 enthalten vorzugsweise raumfüllende Gruppen, die ausgewählt sein können aus gegebenenfalls substituierten Arylresten, insbesondere Phenyl- und substituierten Phenylresten und gegebenenfalls substituierten verzweigte Alkyl-, Alkenyl- oder Alkynylresten, insbesondere mit tertiären C-Atomen wie tert.-Butyl oder Neopentyl oder gegebenenfalls substituierten Cycloalkylresten, insbesondere Bi- oder Tricycloalkylresten wie Adamantyl.

20

25

Die Verbindungen der allgemeinen Formel (I) können beispielsweise ausgehend von p-Amino-benzylamin gemäß den in der deutschen Patentanmeldung 199 40 389.9 gezeigten Reaktionsschemata hergestellt werden. 4-Amino-benzylamin kann beispielsweise mit einem Schutzreagenz für Aminogruppen, z.B. Di-tert-butyl-pyrocarbonat zu einem geschützten Zwischenprodukt 4-(N-Boc-Aminomethyl)-anilin umgesetzt werden, wobei Boc tert-Butyloxycarbonyl bedeutet. Die aromatische Aminofunktion dieser

30

- 8 -

Verbindung kann mit einem Guanidinylierungsreagenz, z.B. N,N'-Di-Z-N"-triflylguanidin umgesetzt werden, wobei 1-[4-(N-Boc-aminomethyl)-phenyl]-2,3-di-Z-guanidin entsteht, wobei Z Benzyloxycarbonyl bedeutet. Diese Verbindung kann durch Abspaltung der Boc-Schutzgruppe zu 1-[4-(Amino-

5 methyl)-phenyl]-2,3-di-Z-guanidinium-hydrochlorid umgesetzt werden. Diese Verbindung kann wiederum mit reaktiven Verbindungen wie etwa Chlorameisensäureestern, Isocyanaten oder N-Hydroxysuccinimidestern zu den gewünschten Endprodukten umgesetzt werden.

10 Zur Darstellung hydrierungslabiler Verbindungen kann 4-Amino-benzylamin mit einem Schutzreagenz für Aminogruppen, z.B. Benzyloxycarbonyloxysuccinimid zu einem geschützten Zwischenprodukt und dann mit einem weiteren Guanidinylierungsreagenz, z.B. N,N'-Di-Boc-1-guanylpirazol

15 umgesetzt werden. Diese Verbindung kann hydriert und anschließend mit reaktiven Verbindungen zu den gewünschten Endprodukten umgesetzt werden.

Die erfindungsgemäßen Urokinaseinhibitoren können gegebenenfalls zusammen mit geeigneten pharmazeutischen Hilfs- oder Trägerstoffen zur

20 Herstellung von Arzneimitteln oder in der Diagnostik verwendet werden. Dabei ist eine Verabreichung in Kombination mit anderen Wirkstoffen, z.B. anderen Urokinaseinhibitoren wie etwa Antikörpern oder/und Peptiden möglich.

25 Die Arzneimittel können bei Menschen und Tieren topisch, oral, rektal oder parenteral, z.B. subkutan oder intravenös, z.B. in Form von Tabletten, Dragees, Kapseln, Pellets, Suppositorien, Lösungen oder transdermalen Systemen, wie Pflastern, verabreicht werden.

30 Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind zur Bekämpfung von Krankheiten geeignet, die mit einer pathologischen Überexpression von uPA oder/und uPAR assoziiert sind. Sie sind beispielsweise in der Lage,

- 9 -

hocheffizient das Wachstum oder/und die Ausbreitung der malignen Tumoren sowie die Metastasierung von Tumoren zu hemmen. Dabei können die uPA-Inhibitoren gegebenenfalls zusammen mit anderen Tumormitteln oder mit anderen Behandlungsarten, z.B. Bestrahlung oder chirurgischen Eingriffen, eingesetzt werden. Weiterhin sind die
5 erfindungsgemäßen Inhibitoren auch für andere uPA-assoziierte Erkrankungen wirksam.

Erfindungsgemäße uPA-Inhibitoren sind vorzugsweise dadurch
10 gekennzeichnet, daß sie mindestens einen zweifach, vorzugsweise mindestens einen fünffach und besonders bevorzugt einen mindestens 10- und bis zu 1.000-fach geringeren K_i -Wert für uPA gegenüber tPA aufweisen. Weiterhin ist bemerkenswert, dass die erfindungsgemäßen Verbindungen die Blutgerinnung nur geringfügig beeinflussen, da sie für
15 eine effektive Hemmung von Thrombin, Plasmin und Faktor Xa zu hohe K_i -Werte haben.

Die erfindungsgemäßen Substanzen der Formel (I) können in Form von Konjugaten mit physiologisch wirksamen Substanzen eingesetzt werden,
20 z.B. mit Radiomarkierungen oder mit zytotoxischen Mitteln, z.B. Chemotherapeutika wie cis-Platin oder 5-Fluor-uracil, oder Peptiden. Weiterhin können die Substanzen auch in die Membran von Trägervesikeln, z.B. Liposomen, eingebaut werden und somit ein Targeting von in den Trägervesikeln eingeschlossenen Wirksubstanzen, z.B. zytotoxischen Mitteln, wie
25 etwa Doxorubicin, ermöglichen.

Durch die Erfindung wird ein Verfahren zur Urokinasehemmung bei Lebewesen, insbesondere bei Menschen, durch Verabreichung einer wirksamen Menge mindestens einer Verbindung der allgemeinen Formel (1)
30 bereitgestellt. Die Dosierung der Verbindung liegt üblicherweise im Bereich von 0,01 bis 100 mg/kg Körpergewicht pro Tag. Die Dauer der Behandlung hängt von der Schwere der Erkrankung ab und kann von einer einmaligen

- 10 -

Gabe bis zu einer mehrwöchigen oder sogar mehrmonatigen Behandlung, die gegebenenfalls in Intervallen wiederholt werden kann, reichen.

Schließlich betrifft die Erfindung neue Aryl-Guanidinderivate der
5 allgemeinen Formel (I).

Die Erfindung soll durch die folgenden Beispiele und Abbildungen näher erläutert werden. Es zeigt:

- Figur 1 Beispiele für 5 erfindungsgemäße Verbindungen der Formel (I)
10 und
Figur 2 Beispiele für weitere bevorzugte Verbindungsklassen der
Formel (I).

Beispiele

Material und Methoden

- 5 Alle für die Synthese von uPA-Inhibitoren verwendeten Lösungsmittel und Reagenzien waren von der höchsten kommerziell verfügbaren Qualität und wurden - sofern erforderlich - durch Standardmethoden weiter aufgereinigt und getrocknet. Die analytische HPLC erfolgte auf Nucleosil 100/C18 Säulen (Macherey-Nagel, Düren, Deutschland) unter Verwendung eines
10 linearen Acetonitril/2% H_3PO_4 Gradienten (von 5:95 bis 90:10 in 13 min) MS-Spektren wurden auf einem Perkin Elmer API 165 Massenspektrometer gemessen.

Beispiel 1

- 15 **Synthese von Verbindungen der Formel (I)**

ST390: D,L-Tropasäure-(4-Guanidinobenzyl)-amid Hydrochlorid

- Eine Lösung von 1-[4-Aminomethyl]-phenyl]-2,3-di-Z-guanidin-hydrochlorid
20 (30 mg; 0,064 mmol), D,L-Tropasäure (10,6 mg; 0,064 mmol), l-Hydroxy-benzotriazol (HOBt) (10 mg; 0,07 mmol) und Triethylamin (10 μl ; 0,192 mmol) in Dichlormethan (3 ml) wurde mit 2-(1H-Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium-tetrafluoroborat (TBTU) (23 mg; 0,07 mmol) versetzt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 2 h wurden nochmals TBTU (15
25 mg; 0,047 mmol) und Triethylamin (10 μl ; 0,192 mmol) zugegeben. Nach weiteren 3 h wurde mit 30 ml Dichlormethan verdünnt, 3 x mit 5% NaHCO_3 -Lösung, 2 x mit 0,1 HCl und 1 x mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde getrocknet (Na_2SO_4) und das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen. Zur Abspaltung der Z-Schutzgruppen
30 (Benzyloxycarbonyl-) wird die Verbindung in Methanol gelöst, gerührt und für 3 h über einem 10% Palladium-Aktivkohle-Katalysator hydriert. Nach Entfernung des Katalysators durch Filtration wurde das Lösungsmittel im

- 12 -

Vakuum abgedampft. Das Produkt wurde aus Isopropanol/Diisopropylether nach Zugabe von 1 Äquivalent HCl in Dioxan umkristallisiert.

Ausbeute: 13 mg (58%); HPLC: t_R 5,6 min; MS 313 (M + H)⁺,
berechnet 312 für C₁₇H₂₀N₄O₂

ST399: 2-(Benzyloxycarbonyl)-2-Phenyl-Essigsäure-[4-(2,3-Bis-Boc-Guanidino)-benzyl]-Amid

Eine Lösung von 1-[4-(aminomethyl)-phenyl]-2,3-di-tert-Butyloxycarbonyl-guanidin Hydrochlorid (**8**) (100 mg; 0,249 mmol), 2-Phenylmalonsäure-monobenzylester (67,3 mg; 0,249 mmol), HOBt (37 mg; 0,274 mmol) und Triethylamin (104 µl; 0,747 mmol) in DMF (5 ml) wurde mit TBTU (88 mg; 0,274 mmol) versetzt und bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Nach Abziehen des Lösungsmittels im Vakuum wurde der Rückstand in Ethylacetat (20 ml) aufgenommen, 3 x mit 5% NaHCO₃-Lösung, 3 x mit 0,5 M HCl und 1 x mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde getrocknet (Na₂SO₄) und das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen. Das Produkt wurde aus Ethanol/Wasser umkristallisiert.

Ausbeute: 78 mg (51%); HPLC: t_R 13,0 min; MS 617 (M + H)⁺,
berechnet 616 für C₃₄H₄₀N₄O₇

ST401: 2-(Benzyloxycarbonyl)-2-Phenyl-Essigsäure-(4-Guanidinobenzyl)-Amid Hydrochlorid

Die Abspaltung der Boc-Schutzgruppen erfolgte durch Lösen der Verbindung **ST399** (12 mg; 19,5 µM) in 7 M HCl/Dioxan (2 ml). Nach 8 h wurde das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen und das Produkt aus Isopropanol/Diisopropylether umkristallisiert.

- 13 -

Ausbeute: 4 mg (454%); HPLC: t_R 9,0 min; MS ($M + H$)⁺, berechnet 416 für $C_{24}H_{24}N_4O_3$

5 **ST406: 2-(Hydroxycarbonyl)-2-Phenyl-Essigsäure-(4-Guanidinobenzyl)-
Amid Hydrochlorid**

Die Abspaltung der Benzylgruppe von Verbindung **ST399** (150 mg; 0,244 mmol) erfolgte durch katalytische Hydrierung in einer Lösung aus Isopropanol (30 ml) und Dichlormethan an einem Pd/Aktivkohle-
10 Katalysator. Nach 5 h wurde der Katalysator abfiltriert und das LM abgezogen. Das Produkt wurde nach Behandlung mit Methyl-tertButyl-ether im Ultraschallbad als hellgelbes Pulver erhalten. Anschließend wurden die Boc-Schutzgruppen, wie für **ST401** beschrieben, abgespalten und das Rohprodukt durch präparative HPLC gereinigt.

15

Ausbeute: 37 mg (42%); HPLC: t_R 4,6 min; MS 327 ($M + H$)⁺, berechnet 326 für $C_{17}H_{18}N_4O_3$.

20 **Beispiel 2**

In vitro Hemmung von Urokinase durch ausgewählte Verbindungen der Formel (I)

25 Zur Bestimmung der uPA Inhibitoraktivität wurden 200 μ l Tris-Puffer (0,05 mol/l, den Inhibitor enthaltend, 0,154 mol/l NaCl, 5 % Ethanol, pH 8,0), 25 μ l Substrat (Pefachrome UK oder BZ- β -Ala-Gly-Arg-pNA in H_2O ; Pentapharm LTD, Basel, Schweiz) und 50 μ l sc-Urokinase (Ribosepharm GmbH, Haan, Deutschland) bzw. eine entsprechende andere Protease bei
30 25 °C inkubiert. Nach 3 min wurde die Reaktion durch Zugabe von 25 μ l Essigsäure (50 %) unterbrochen und die Absorption bei 405 nm mittels eines Mikroplate Reader (MR 5000, Dynatech, Denkendorf, Deutschland)

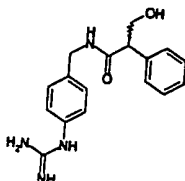
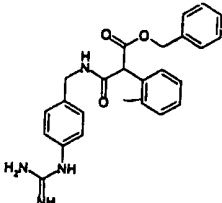
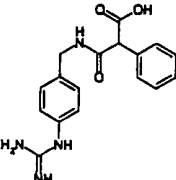
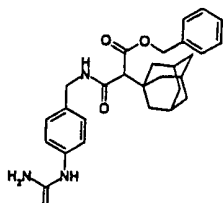
- 14 -

bestimmt. Die K_i -Werte wurden nach Dixon durch lineare Regression mittels eines Computerprogramms ermittelt. Die K_i -Werte sind das Mittel aus mindestens drei Bestimmungen, die Standardabweichung lag unter 25 %.

- 5 Die in Figur 1 und 2 gezeigten Verbindungen können aufgrund ihrer Struktur mit dem aktiven Zentrum von uPA wechselwirken. Die Ergebnisse für ausgewählte Verbindungen der Formel (I) sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1

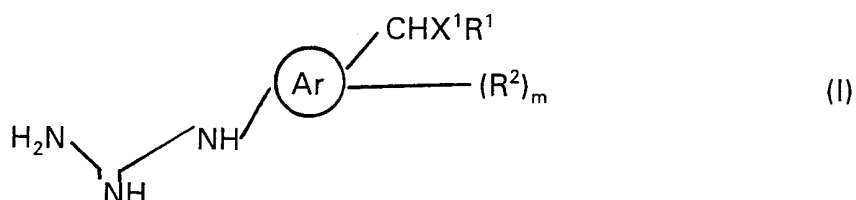
 K_i [μ M]

Nr.	Formel	uPA	Plasmin	FXa	Thrombin	Trypsin
ST-390		51	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
ST-401		1,4	> 1000	> 1000	> 1000	n.t.
ST-406		< 10	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
ST-100		< 1	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.

n.t. = nicht getestet

Patentansprüche

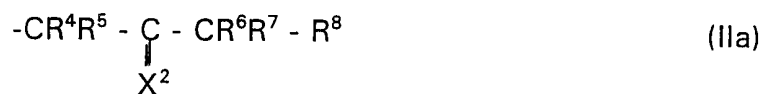
1. Verwendung von Verbindungen der allgemeinen Formel (I)



worin

Ar ein aromatisches oder heteroaromatisches Ringsystem bedeutet,

X¹ einen Rest der Formel (IIa), (IIb) oder (IIc) bedeutet:



R¹ H, einen gegebenenfalls substituierten Alkyl-, Alkenyl-, Alkinyl-, Aryl- oder/und Heteroarylrest bedeutet,

R^2 Halogen, $C(R^3)_3$, $C_2(R^3)_5$, $OC(R^3)_3$ oder $OC_2(R^3)_5$ bedeutet,

R^3 jeweils unabhängig H oder Halogen, insbesondere F,
ist,

- 17 -

- 5 R^4 und R^5 H oder einen gegebenenfalls substituierten Alkyl-, Alkenyl- oder Alkinyrest bedeuten, wobei zumindest einer der Reste R^4 und R^5 eine Wasserstoffbrücken-Donorgruppe enthält, wobei die Wasserstoffbrücken-Donorgruppe ein H-Atom oder/und ein Elektronenpaar für eine Wasserstoffbrückenbindung liefert,
- 10 R^6 und R^7 H oder einen gegebenenfalls substituierten Alkyl-, Alkenyl oder Alkinyrest bedeuten, wobei zumindest einer der Reste R^6 und R^7 eine Wasserstoffbrücken-Donorgruppe enthält, wobei die Wasserstoffbrücken-Donorgruppe ein H-Atom oder/und ein Elektronenpaar für eine Wasserstoffbrückenbindung liefert, und wobei R^4 oder R^5 mit R^6 oder R^7
- 15 R^8 H oder einen gegebenenfalls substituierten Alkyl-, Alkenyl-, Alkiny-, Aryl- oder/und Heteroarylrest oder $-SO_2-R^9$ bedeutet, wobei R^8 mit R^6 oder R^7 verbrückt sein kann,
- 20 R^9 H oder einen gegebenenfalls substituierten Alkyl-, Alkenyl-, Alkiny-, Aryl- oder/und Heteroarylrest bedeutet,
- X^2 eine Wasserstoffbrücken-Akzeptorgruppe, insbesondere NH, NR^{10} , O oder S, bedeutet,
- 25 R^{10} einen gegebenenfalls substituierten Alkyl-, Alkenyl- oder Alkinyrest bedeutet und
- m eine ganze Zahl von 0 bis 4 ist,
- oder Salzen dieser Verbindungen zur Herstellung eines Mittels zur Hemmung des Urokinase-Plasminogenaktivators.
- 30 2. Verwendung von Verbindungen nach Anspruch 1, worin Ar einen Benzolring bedeutet.

- 18 -

3. Verwendung von Verbindungen nach Anspruch 2, worin die Substituenten $-\text{CHX}^1\text{R}^1$ und $-\text{NHC}(\text{NH})\text{NH}_2$ in para-Position zueinander angeordnet sind.
- 5 4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, worin bei R^4 , R^5 , R^6 und R^7 die Wasserstoffbrücken-Donorgruppen aus OH , OR^1 , NH_2 , NHR^1 , $\text{N}(\text{R}^1)_2$, SH und SR^1 ausgewählt sind.
- 10 5. Verwendung nach Anspruch 4, worin die Wasserstoffbrücken-Donorgruppen enthaltenden Substanzen ausgewählt sind aus $-\text{CH}_3\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}_2\text{R}^1$, CONH_2 , $-\text{CONHR}^1$, $-\text{CON}(\text{R}^1)_2$, $-\text{COSH}$, $-\text{COSR}^1$, $-\text{CSOH}$, COSR^1 , COR^1 und CSR^1 , wobei R^1 wie in Anspruch 1 definiert ist.
- 15 6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, worin bei X^2 die Wasserstoffbrücken-Akzeptorgruppen aus O und NH ausgewählt sind.
- 20 7. Verwendung von Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 6, worin R^8 und R^9 ausgewählt sind aus gegebenenfalls substituierten Aryl-, insbesondere Phenyl- und substituierten Phenylresten, und gegebenenfalls substituierten tertiären Alkylresten oder Cycloalkylresten, insbesondere Bicycloalkylresten wie Adamantyl.
- 25 8. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 7 zur Bekämpfung von Krankheiten, die mit einer pathologischen Überexpression von Urokinase oder/und Urokinase-Rezeptor assoziiert sind.
- 30 9. Verwendung nach Anspruch 8 zur Tumorbekämpfung.

- 19 -

10. Verwendung nach Anspruch 8 oder 9 zur Bekämpfung der Metastasenbildung.

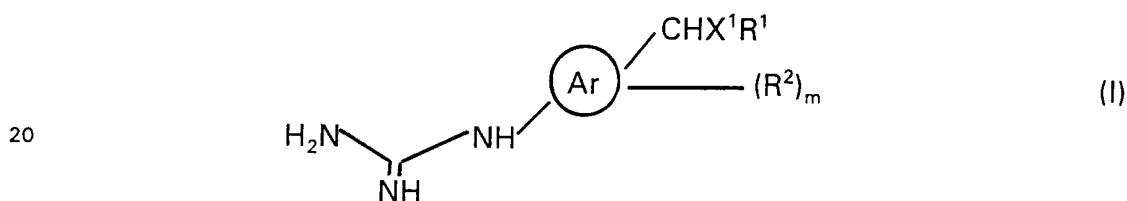
11. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche zur Herstellung von oral, topisch, rektal oder parenteral verabreichbaren Arzneimitteln.

12. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche in Form von Tabletten, Dragees, Kapseln, Pellets, Suppositorien, Lösungen oder transdermalen Systemen wie Pflastern.

13. Verfahren zur Urokinasehemmung bei Lebewesen, insbesondere beim Menschen, durch Verabreichung einer wirksamen Menge mindestens einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 7.

15

14. Verbindungen der Formel (I)

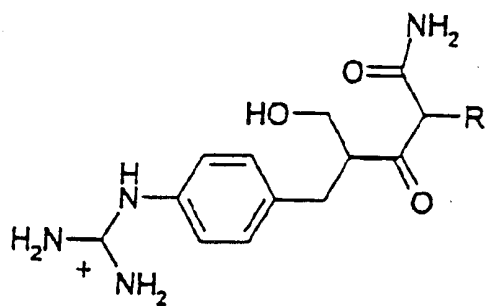
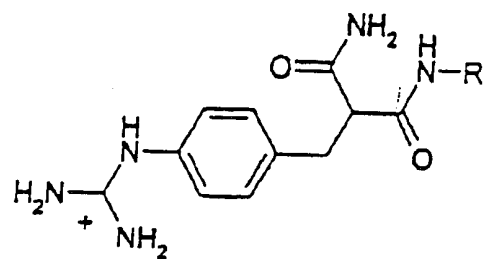
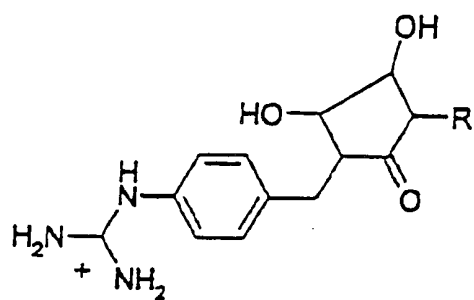
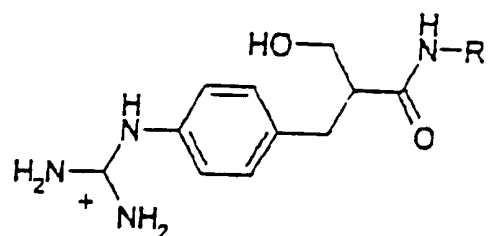
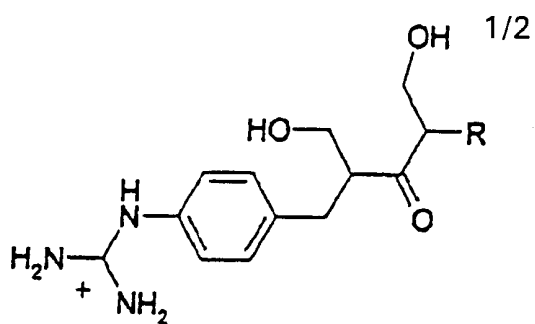


worin Ar, X¹, R¹, R² und m wie in einem der Ansprüche 1 bis 7 definiert sind.

25

1/2

Figur 1



2/2

Figur 2

