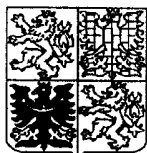


# PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

## 287 642

(19)  
ČESKÁ  
REPUBLICA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: 1996 - 1260  
(22) Přihlášeno: 03.11.1994  
(30) Právo přednosti:  
04.11.1993 US 1993/147811  
(40) Zveřejněno: 13.11.1996  
(Věstník č. 11/1996)  
(47) Uděleno: 08.11.2000  
(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: 17.01.2001  
(Věstník č. 1/2001)  
(86) PCT číslo: PCT/US94/12214  
(87) PCT číslo zveřejnění: WO 95/12603

(13) Druh dokumentu: B6

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>:

C 07 K 5/06  
A 61 K 31/66  
C 07 F 9/30  
C 07 F 9/58  
C 07 F 9/60  
C 07 C 233/47  
C 07 C 255/60  
C 07 C 259/06  
C 07 C 323/52  
C 07 C 327/22

(73) Majitel patentu:

SYNTEX (U.S.A.) INC., Palo Alto, CA, US;

(72) Původce vynálezu:

Castelhano Arlindo L., New City, NY, US;  
Yuan Zhengyu, Santa Clara, CA, US;  
Horne Stephen, Burlington, CA;  
Liak Teng J., Mississauga, CA;

(74) Zástupce:

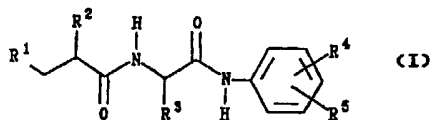
PATENTSERVIS PRAHA a.s., Jivenská 1273, Praha  
4, 14021;

(54) Název vynálezu:

**Deriváty peptidu, farmaceutické prostředky je  
obsahující a použití uvedených derivátů**

(57) Anotace:

Deriváty peptidu obecného vzorce I, v němž všechny substituenty mají specifické významy. Farmaceutické prostředky inhibující matricovou metaloproteázovou aktivitu u savců jako účinnou látku obsahují účinné množství těchto derivátů ve spojení s farmaceuticky přijatelnými excipienty. Deriváty peptidu jsou vhodné pro použití jako účinné látky k inhibici matricové metaloproteázové aktivity u savců.



**Deriváty peptidu, farmaceutické prostředky je obsahující a použití uvedených derivátů**Oblast techniky

5

Vynález se týká derivátů peptidu, farmaceutických prostředků je obsahujících a použití uvedených derivátů. Vynález se týká rovněž farmaceuticky přijatelných solí uvedených derivátů. Uvedené deriváty a jejich soli inhibují matricové metaloproteázy, zejména stromelyzín a matrylyzín, a jsou proto užitečné k léčení chorobných stavů u savců, při kterých inhibice takovýchto matricových metaloproteáz přichází v úvahu.

10

Dosavadní stav techniky

15 Matricové metaloproteázy jsou rodinou proteáz zodpovědných za degradaci a přestavbu spojovacích tkání. Členové této rodiny enzymů mají řadu vlastností, včetně zinkové a vápníkové závislosti, sekrece zymogenů a 40 až 50 % homologie aminokyselinové sekvence. Do rodiny matricových metaloproteáz patří intersticiální kolagenázy, odvozené od vazivových buněk/-makrofágů a neutrofilů, které katalyzují počáteční a omezené štěpení nativního kolagenu typu I, II, III a X.

20

Kolagen, hlavní strukturální protein savců, je nezbytnou součástí základní hmoty (matrice) mnoha tkání, například chrupavek, kostí, šlach a pokožky. Intersticiální kolagenázy jsou velmi specifickými matricovými metaloproteázami, jež štěpí kolagen na dva fragmenty, jež spontánně denaturují při fyziologických teplotách a stávají se proto náchylnými ke štěpení méně specifickými enzymy. Jelikož výsledkem štěpení kolagenázou je ztráta strukturální celistvosti cílové tkáně, je potřebný nevratný proces a tudíž dobrý cíl pro terapeutický zákrok.

25

Vedle intersticiálních kolagenáz, zahrnuje rodina matricových metaloproteázových enzymů dvě různé, avšak vysoce příbuzné želatinázy: enzym 72-kD, vylučovaný vazivovými buňkami, a enzym 92-kD, uvolňovaný mononukleárními fagocyty. Tyto želatinázy jsou schopné rozkládat želatiny (denaturované kolageny), nativní kolageny typu IV a V, fibronektin a nerozpustný elastin.

30

35 Rodina matricových metaloproteáz zahrnuje také stromelysiny 1 a 2, které jsou schopné štěpit široký obor součástí základní hmoty, včetně lamininu, fibronektinu, proteoglykans a kolagenu typu IV a IX v jejich nešroubovitých oblastech.

35

40 Matrilysin (předpokládaná metaloproteáza PUMP) je nedávno popsán dalším členem rodiny matricových metaloproteáz. Matrilysin je schopen rozkládat široký obor matricových substancí, včetně proteoglykans, želatin, fibronektinu, elastinu a lamininu. Jeho exprese byla dokumentována v mononukleárních fagocytech, v děložních explantech a sporadicky v nádorech.

40

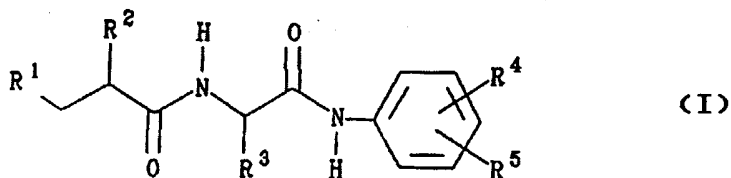
45 Má se zato, že inhibitory matricových metaloproteáz jsou užitečné při ošetřování artritických onemocnění, nemoci resorpce kostí (jako je osteoporóza), zvýšené destrukce kolagenu spojené s cukrovkou, periodontálních onemocnění, zvrhodovatění rohovky, zvrhodovatění pokožky a nádorových metastáz. Konstrukce a potenciální použití inhibitorů kolagenáz je popsána například v časopise *J. Enzyme Inhibition*, 2, str. 1 až 22, (1987) a *Drug News & Prospectives*, 3, č. 8, str. 453 až 458 (1990). Inhibitory matricových metaloproteáz jsou také popsány v četných patentových spisech a ve zveřejněných přihláškách vynálezů (například americký patentový spis číslo 5 189178 (Galaridy) a 5 183900 (Galaridy), evropská přihláška vynálezu číslo 0 438223 (Beecham) a 0 276436 (F. Hoffmann-La Roche), Patent Cooperation Treaty International Applications 92/21360 (Merck), 92/06966 (Beecham) a 92/09563 (Glycomed)).

50

Příspěvkem k řešení problémů spojených s uvedenou situací došavadního stavu v tomto oboru je tento vynález.

5 Podstata vynálezu

Předmětem vynálezu jsou deriváty peptidu obecného vzorce I

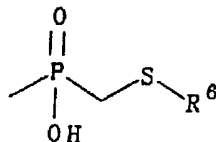


10

v němž

$R^1$  je merkaptoskupina, acetylthioskupina, karboxyskupina, hydroxykarbamoyl,  $C_{1-4}$ alkoxykarbamoyl, benzyloxykarbamoyl nebo skupina obecného vzorce

15



v němž

20  $R^6$  je aryl vybraný ze skupiny zahrnující 2-chinolyl, 1-naftyl, 2-naftyl, pyridyl nebo fenyl, popřípadě substituovaný hydroxylem,

$R^2$  je  $C_{1-4}$ alkyl,  $C_{5-7}$ cykloalkyl- $C_{1-4}$ alkyl nebo fenyl- $C_{1-4}$ alkyl,

25  $R^3$  je  $C_{5-7}$ cykloalkyl,  $C_{1-4}$ alkyl, popřípadě substituovaný hydroxyskupinou, benzyloxyskupinou,  $C_{1-4}$ alkylthioskupinou, pyridylem nebo indolyem,

30  $R^4$  je nitroskupina, aminoskupina, kyanoskupina, karboxyskupina,  $C_{1-4}$ alkoxykarbonyl,  $C_{1-4}$ alkoxykarbonyl- $C_{1-4}$ alkyl,  $C_{1-4}$ alkylsulfonyl, aminosulfonyl,  $C_{1-4}$ alkylaminosulfonyl, tetrazolyl nebo karbamoyl, popřípadě substituovaný di- $C_{1-4}$ alkylamino- $C_{1-4}$ alkylem a

$R^5$  je vodík,

35 ve formě jednotlivých stereoizomerů nebo jejich směsí nebo jejich farmaceuticky přijatelných solí.

Jednu výhodnou skupinu sloučenin podle tohoto vynálezu tvoří deriváty peptidu shora uvedeného obecného vzorce I, v němž  $R^1$  je merkaptoskupina nebo acetylthioskupina a ostatní substituenty mají shora uvedené významy.

40

Druhou výhodnou skupinou jsou deriváty peptidu obecného vzorce I, v němž

$R^3$  je  $C_{5-7}$ cykloalkyl,  $C_{1-4}$ alkyl, popřípadě substituovaný hydroxyskupinou,  $C_{1-4}$ alkylthioskupinou, pyridylem nebo indolyem,

45

$R^4$  je kyanoskupina, nitroskupina,  $C_{1-4}$ alkoxykarbonyl- $C_{1-4}$ alkyl, aminosulfonyl,  $C_{1-4}$ alkylaminosulfonyl, tetrazolyl, karbamoyl, popřípadě substituovaný di- $C_{1-4}$ alkylamino- $C_{1-4}$ alkylem,

R<sup>5</sup> je vodík a

ostatní substituenty mají shora uvedené významy.

5

Třetí výhodná skupina zahrnuje deriváty peptidu uvedeného obecného vzorce I, v němž

R<sup>2</sup> je C<sub>1-4</sub>alkyl,

10 R<sup>3</sup> je cyklohexyl nebo C<sub>1-4</sub>alkyl, popřípadě substituovaný hydroxylem, C<sub>1-4</sub>alkylthioskupinou, pyridylem nebo indolyem,

R<sup>4</sup> je aminosulfonyl a

15 ostatní substituenty mají shora uvedené významy.

Do čtvrté výhodné skupiny patří deriváty peptidu podle vynálezu, uvedeného obecného vzorce I, v němž R<sup>2</sup> a R<sup>3</sup> značí 2-methylpropyl a ostatní substituenty mají shora uvedené významy.

20 Pátou výhodnou skupinou jsou deriváty peptidu obecného vzorce I, v němž R<sup>1</sup> je merkaptoskupina nebo acetylthioskupina, R<sup>4</sup> je methoxykarbonyl a ostatní substituenty mají shora uvedené významy.

25 Konkrétními deriváty peptidu podle vynálezu ve formě jejich jednotlivých stereoizomerů jsou zde

N-(4-methyl-2-merkaptomethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid nebo

30 N-(4-methyl-2-acetylthiomethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid, nebo

jejich farmaceuticky přijatelné soli.

35 Šestou skupinu tvoří deriváty peptidu podle vynálezu, uvedeného obecného vzorce I, v němž R<sup>1</sup> je karboxyl nebo hydroxykarbamoyl a ostatní substituenty mají shora uvedené významy.

Sedmou výhodnou skupinou jsou deriváty peptidu obecného vzorce I, v němž

40 R<sup>3</sup> je C<sub>5-7</sub>cykloalkyl nebo C<sub>1-4</sub>alkyl, popřípadě substituovaný hydroxylem, C<sub>1-4</sub>alkylthioskupinou, pyridylem nebo indolyem,

45 R<sup>4</sup> je kyanoskupina, nitroskupina, aminoskupina, C<sub>1-4</sub>alkoxykarbonyl-C<sub>1-4</sub>alkyl, aminosulfonyl, C<sub>1-4</sub>alkylaminosulfonyl, tetrazolyl, karbamoyl, popřípadě substituovaný di-C<sub>1-4</sub>alkylamino-C<sub>1-4</sub>alkylem,

R<sup>5</sup> je vodík, a

ostatní substituenty mají shora uvedené významy.

50 Do osmé výhodné skupiny patří deriváty podle vynálezu, uvedeného obecného vzorce I, v němž

R<sup>2</sup> je C<sub>1-4</sub>alkyl,

$R^3$  je cyklohexyl nebo  $C_{1-4}$ alkyl, popřípadě substituovaný hydroxylem,  $C_{1-4}$ alkylthioskupinou, pyridylem nebo indolyem,

$R^4$  je aminosulfonyl a

ostatní substituenty mají shora uvedené významy.

Další, devátou výhodnou skupinou jsou deriváty peptidu obecného vzorce I, v němž  $R^2$  je 2-methylpropyl a ostatní substituenty mají shora uvedené významy.

Do desáté výhodné skupiny patří deriváty peptidu podle vynálezu, uvedeného obecného vzorce I, v němž  $R^3$  je cyklohexyl, 2-methylpropyl, pyrid-3-ylmethyl, 1-benzyloxyethyl, 1-methylpropyl, 1,1-dimethylethyl, 1-hydroxyethyl a indol-2-ylmethyl a ostatní substituenty mají shora uvedené významy.

Další výhodnou skupinu tvoří deriváty peptidu podle vynálezu, uvedeného obecného vzorce I, v němž  $R^3$  je 2-methylpropyl,  $R^4$  je karboxyl nebo methoxykarbonyl a ostatní substituenty mají shora uvedené významy.

Výhodné jsou deriváty peptidu podle vynálezu, jimiž jsou konkrétně

N-(4-methyl-2-karboxymethylpentanoyl)-L-cyklohexylglycin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)-karboxamid,

N-(4-methyl-2-karboxymethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-[4-methyl-2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylpentanoyl]-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-[4-methyl-2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylpentanoyl]-L-tryptofan-N''-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid nebo

jejich farmaceuticky přijatelné soli.

Dalším předmětem tohoto vynálezu jsou farmaceutické prostředky inhibující matricovou metaloproteázovou aktivitu u savců, které jako účinnou látku obsahují účinné množství derivátů peptidu podle vynálezu ve spojení s farmaceuticky přijatelnými excipienty.

Předmětem vynálezu jsou rovněž deriváty peptidu uvedeného obecného vzorce I pro použití jako účinné látky k inhibici matricové metaloproteázové aktivity u savců.

V následujícím popise se používají termíny, které, není-li uvedeno jinak, mají tyto významy:

„BOC“ t-butoxykarbonyl,

„CBZ“ benzyloxykarbonyl (karbobenzyloxy),

„DMAP“ N,N-dimethylaminopyridin,

„DMF“ N,N-dimethylformamid,

„EDCI“ N-ethyl-N'-(3-dimethylaminopropyl)karbodiimid,

„HOBT“ 1-hydroxybenzotriazol,

„hydroxy“ skupina -OH,

„amino“ aminoskupina -NH<sub>2</sub>,

„acetylthio“ skupina -SC(O)CH<sub>3</sub>,

„halogen“ atom bromu, chloru nebo fluoru,

- „karbamoyl“ skupina  $-C(O)NH_2$ ,  
 „karboxy“ skupina  $C(O)OH$ ,  
 „hydroxyamino“ skupina  $-NHOH$ ,  
 „hydroxykarbamoyl“ skupina  $-C(O)NHOH$ ,  
 5 „merkpto“ skupina  $-SH$ ,  
 „benzyloxykarbamoyl“ skupin  $-C(O)N(H)OCH_2C_6H_5$ .

Výrazem „alkyl“ se vždy míní jednodílná skupina s přímým nebo rozvětveným řetězcem tvořená pouze uhlíkem a vodíkem, neobsahující žádné nenasycení a mající 1 až 4 atomy uhlíku, například skupina methylová, ethylová, n-propylová, 2-methylpropyl-(iso-butylová), 1-methyl-ethyl-iso-propylová, n-butylová a 1,1-dimethylethyl-(terc.-butylová) skupina.

Výrazem „alkylamino“ se vždy míní skupina obecného vzorce  $-NHR_a$ , kde  $R_a$  je alkylová skupina shora definovaná, například methylaminoskupina, ethylaminoskupina, iso-propylaminoskupina a n-butylaminoskupina.

Výrazem „halogenalkyl“ se vždy míní skupina obecného vzorce  $-R_aR_d$ , kde  $R_a$  znamená shora definovanou alkylovou skupinu substituovanou jedním nebo několika atomy halogenu  $R_d$ , například skupina 2-chlorethylová, 2-bromethylová a trifluormethylová skupina.

Výrazem „dialkylaminoalkyl“ se vždy míní skupina obecného vzorce  $-R_aN(R_a)_2$ , kde každé  $R_a$  znamená na sobě nezávisle shora uvedenou alkylovou skupinu, například skupina dimethylaminoethylová, diethylamino-n-propylová a dimethylamino-n-propylová skupina.

25 Výrazem „aminosulfonyl“ se vždy míní skupina vzorce  $-S(O)_2NH_2$ .

Výrazem „alkylsulfonyl“ se vždy míní skupina obecného vzorce  $-S(O)_2R_a$ , kde  $R_a$  znamená shora uvedenou alkylovou skupinu, například skupina methylsulfonylová, ethylsulfonylová a isopropylsulfonylová.

Výrazem „alkylthio“ se vždy míní skupina obecného vzorce  $-SR_a$ , kde  $R_a$  znamená shora uvedenou alkylovou skupinu, například methylthioskupina, ethylsulthioskupina, isopropylthioskupina a n-butylthioskupina.

35 Výrazem „alkoxy“ se vždy míní skupina obecného vzorce  $-OR_a$ , kde  $R_a$  znamená shora uvedenou alkylovou skupinu, například methoxyskupina, ethoxyskupina, n-propoxyskupina, 1-methyl-ethoxyskupina, n-butoxyskupina a terc.-butoxyskupina.

40 Výrazem „alkoxykarbonylalkyl“ se vždy míní skupina obecného vzorce  $-R_aC(O)R_b$ , kde  $R_a$  znamená shora uvedenou alkylovou skupinu a  $R_b$  znamená shora uvedenou alkoxykupinu, například skupinu methoxykarbonylethylová, ethoxykarbonylethylová a methoxykarbonyl-iso-propylová skupina.

45 Výrazem „aryl“ se vždy míní skupina chinol-2-ylová, naft-1-ylová, naft-2-ylová nebo fenylvá.

Výrazem „aryloxy“ se vždy míní skupina obecného vzorce  $-OR_b$ , kde  $R_b$  znamená shora uvedenou arylovou skupinu, například fenoxyskupina, chinol-2-yloxyskupina, naft-1-yloxyskupina a naft-2-yloxyskupina.

50 Výrazem „aralkyl“ se vždy míní skupina obecného vzorce  $-R_aR_b$ , kde  $R_a$  znamená shora uvedenou alkylovou skupinu,  $R_b$  znamená shora uvedenou arylovou skupinu, například skupina benzylová, fenylethylová, 3-fenylpropylová a 2-chinol-2-ylethylová skupina.

Výrazem „aralkoxy“ se vždy míní skupina obecného vzorce  $-OR_aR_b$ , kde  $R_a$  znamená shora uvedenou alkylovou skupinu,  $R_b$  znamená shora uvedenou arylovou skupinu, například benzyloxy skupina, 2-chinol-2-ylethoxy skupina a 3-naft-2-ylpropoxy skupina.

5

Výrazem „alkoxykarbonyl“ se vždy míní skupina obecného vzorce  $-COR_b$ , kde  $R_b$  znamená shora uvedenou alkoxy skupinu, například skupina methoxykarbonylová, ethoxykarbonylová a terc.-butoxykarbonylová skupina.

10 Výrazem „aralkoxykarbonyl“ se vždy míní skupina obecného vzorce  $-C(O)R_c$ , kde  $R_c$  znamená shora uvedenou aralkoxy skupinu, například skupina benzyloxykarbonylová a 2-chinol-2-ylethoxykarbonylová skupina.

15 Výrazem „cykloalkyl“ se vždy míní jednomocná cyklická skupina sestávající pouze z atomů uhlíku a vodíku, neobsahující žádné nenasycení a mající pět až sedm atomů uhlíku, například skupina cyklopentyllová, cyklohexyllová a cykloheptylová.

20 Výrazem „cykloalkylalkyl“ se vždy míní skupina obecného vzorce  $-R_cR_a$ , kde  $R_a$  znamená shora uvedenou alkylovou skupinu a  $R_c$  znamená shora uvedenou cykloalkylovou skupinu, například skupina cyklohexylmethyllová, cyklohexylethyllová, cyklopentylmethyllová a cyklopentylethyllová.

Výrazem „fosfinoyl“ se vždy míní skupina obecného vzorce  $H_2P(O)$ , kde dva atomy vodíku mohou být nahrazeny jinými skupinami.

25

Výrazem „případě“ nebo „případně“ se vždy míní že následně popsany děj nebo okolnosti mohou a nemusí nastat a že jsou zahrnuty případy, kdy k takovému ději nebo okolnosti dochází a případy, kdy k nim nedochází. Například „případně substituovaný chinol-2-yl“ znamená, že skupina chinol-2-yllová může a nemusí být substituována, a že jsou zahrnuty jak substituované skupiny chinol-2-yllové, tak skupiny chinol-2-yllové bez substituce.

30

Výrazem „případně substituovaná arylová skupina“ se vždy míní skupina chinol-2-yllová, naft-1-yllová, naft-2-yllová, pyridyllová nebo fenyllová, případně substituovaná jedním nebo několika substituenty volenými ze souboru zahrnujícího atom halogenu, skupinu alkylovou, alkoxy skupinu, hydroxy skupinu, a nitro skupinu, například skupina 6-nitrochinol-2-yllová, 6-fluorchinol-2-yllová, 6-hydroxychinol-2-yllová, 6-methoxychinol-2-yllová, 6-nitronaft-1-yllová, 6-chlornaft-1-yllová, 6-hydroxynaft-1-yllová, 6-methoxynaft-1-yllová, 6-nitronaft-2-yllová, 6-chlornaft-2-yllová, 6-hydroxynaft-2-yllová, 6-methoxynaft-2-yllová, 6-nitrofenyllová, 6-chlorfenyllová, 6-hydroxyfenyllová a 6-methoxyfenyllová skupina.

40

Výrazem „skupina chránící aminoskupinu“ se zde vždy míní takové organické skupiny, jež jsou určeny k chránění dusíkových atomů proti nežádoucím reakcím v průběhu syntetických postupů, přičemž se příkladně uvádějí, bez záměru na jakémkoliv omezení, skupina benzylová, acyllová, acetyllová, benzyloxykarbonylová (karbobenzyloxy skupina), p-methoxybenzyloxykarbonylová, p-nitrobenzyloxykarbonylová a terc.-butoxykarbonylová skupina.

45

Výrazem „farmaceuticky přijatelná sůl“ se vždy míní soli, které si uchovávají biologickou účinnost a vlastnosti volných zásad nebo volných kyselin a jež nejsou biologicky nebo jinak nežádoucí. Existuje-li sloučenina jako volná kyselina, může být požadovaná sůl připravena způsoby běžně známými pracovníkům v oboru, jako je zpracování sloučeniny anorganickými kyselinami, jako jsou například kyselina chlorovodíková, bromovodíková, sírová, dusičná a fosforečná; nebo organickými kyselinami, jako jsou kyselina octová, propionová, glykolová, hroznová, šřavelová, maleinová, malonová, jantarová, fumarová, vinná, citronová, benzoová, cinnamová, mandlová, methansulfonová, ethansulfonová, p-toluensulfonová a salicylová.

55

Existuje-li sloučenina jako volná zásada, může být požadovaná sůl připravena obvyklými způsoby pro pracovníky v oboru, jako je zpracování sloučeniny anorganickou nebo organickou zásadou. Jakožto soli odvozené od anorganických zásad se příkladně, bez záměru na jakémkoliv omezení, uvádějí soli sodné, draselné, lithné, amonné, vápenaté, hořečnaté, železité, zinečnaté, 5 měďnaté, manganaté a hlinité. Jakožto soli odvozené od organických zásad se příkladně, bez záměru na jakémkoliv omezení, uvádějí soli primárních, sekundárních a terciárních aminů, substituovaných aminů včetně přírodně se vyskytujících substituovaných aminů, cyklických aminů a zásadité iontoměničové pryskyřice, jako isopropylamin, trimethylamin, diethylamin, triethylamin, tripropylamin, ethanolamin, 2-dimethylaminoethanol, 2-diethylaminoethanol, 10 trimethamin, dicyklohexylamin, lysin, arginin, histidin, kofein, prokain, hydrabamin, cholin, betain, ethylendiamin, glukosamin, methylglukamin, theobromin, puriny, piperazin, piperidin, N-ethylpiperidin a polyaminové pryskyřice.

Výraz „savčí“ zahrnuje lidi a všechna domácí i divoká zvířata. Příkladně, bez záměru na jakémkoliv omezení, se uvádějí telata, koně, vepři, ovce, kozy, psi a kočky. 15

Výrazem „terapeuticky účinné množství“ se vždy míní množství sloučeniny obecného vzorce I, které při podání v případně potřeby savcům, postačí k ovlivnění léčby, jak dále uvedeno, u chorobných stavů, mírněním inhibiční matricové metaloproteázové aktivity, zejména aktivity stromelysinu a matrilysinu. Množství sloučeniny obecného vzorce I, které představuje „terapeuticky účinné množství“ se mění v závislosti na určité použité sloučenině, stavu a závažnosti nemoci a na ošetřovaném savci, může však být určeno rutinně pracovníkem v oboru podle jeho zkušeností. 20

Výrazem „ošetřování“ nebo „léčení“ se vždy míní ošetřování chorobného stavu savce, obzvláště lidí, kde úlevu přináší inhibice aktivity matricové metaloproteázy, zejména aktivity stromelysinu a matrilysinů a zahrnuje: 25

(i) prevenci chorobného stavu u savců, zejména je-li takový savec předem disponován k chorobnému stavu, i když podle diagnózy dosud takový stav nebyl zjištěn, 30

(ii) inhibici chorobného stavu, to je zastavení jeho vývoje, nebo

(iii) odstranění chorobného stavu, to je regrese chorobného stavu. 35

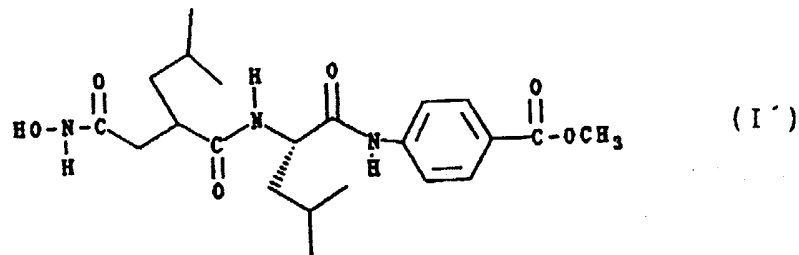
Výrazem „stereoizomery“ se vždy míní sloučeniny mající identický molekulový vzorec a povahu nebo sekvenci vazeb, lišící se však uspořádáním atomů v prostoru.

Názvosloví se vždy v zásadě řídí upravenou formou názvosloví I.U.P.A.C, přičemž sloučeniny podle vynálezu se označují jako deriváty peptidu. Sloučeniny obecného vzorce I, nebo jejich farmaceuticky vhodné soli, mají ve své struktuře nejméně dva asymetrické atomy uhlíku a mohou proto existovat jako samostatné stereoizomery, racemáty, nebo jako směsi enantiomerů a diastereomerů. Vynález zahrnuje všechny takové samostatné stereoizomery, racemáty a jejich směsi. 40 45

Při jmenování jednotlivých stereoizomerů sloučenin obecného vzorce I se symbol R nebo S uděluje chirálním atomům uhlíku podle „sekvenčního pravidla“, které stanovili Cahn, Ingold a Prelog.

Kromě toho části sloučenin obecného vzorce I, které obsahují skupinu symbolu R<sup>3</sup>, společně s přilehlým atomem dusíku nebo karbonylovou skupinou, se mohou definovat podle  $\alpha$ -amino kyselinového zbytku. 50

Například následující sloučenina obecného vzorce I'



kde znamená  $R^1$  skupinu hydroxykarbamoylovou,  $R^2$  skupinu 2-methylpropylovou,  $R^3$  skupinu 2-methylpropylovou,  $R^4$  skupinu methoxykarbonylovou, a  $R^5$  atom vodíku, je zde nazvána N-(4-methyl-2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonyl-fenyl)karboxamid.

Sloučeniny obecného vzorce I se hodí k inhibici savčích matricových metaloproteáz, zejména stromelyzínu a matrylizínu, čímž zabraňují rozpadu kolagenu u savců. Sloučeniny se proto hodí k ošetřování chorobných stavů, jež souvisejí se zvýšenou aktivitou matricových metaloproteáz, zejména se zvýšenou aktivitou stromelyzínu a matrylizínu, jako je tomu u artritidy a osteoartritidy, nádorových metastáz, periodontálních onemocněních a zvrhedovatění rohovky (například Arthritis and Rheumatism, 36, č. 2, str. 181 až 189, 1993, Arthritis and Rheumatism, 34, č. 9, str. 1073 až 1075, 1991, Seminars in Arthritis and Rheumatism, 19 č. 4, doplněk 1 (únor), str. 16–20, 1990, Drugs and Future, 15, č. 5 str. 495 až 508 (1990) a J. Enzyme Inhibition, 2, str. 1 až 22, 1987.

Schopnost sloučenin obecného vzorce I inhibovat aktivitu matricových metaloproteáz, zejména stromelyzínu nebo matrylizínu může být demonstrována četnými testy in vitro a in vivo, známými pracovníkům v oboru, jak jsou popsány v Anal Biochem., 147, str. 437, 1985 nebo jejich modifikacemi.

Sloučeniny obecného vzorce I nebo jejich farmaceuticky vhodné soli v čisté formě nebo ve formě farmaceutických prostředků je možno podávat jakýmkoliv známým způsobem podávání činidel sloužících k podobnému účelu. Mohou se podávat například cestou orální, nasální, parenterální, topikální, transdermální nebo rektální, v podobě pevných, polopevných, tekutých dávek, lyofilizovaného prášku, jako například ve formě tablet, čípků, pilulek, kapslí v měkké nebo v tvrdé želatině, prášků, roztoků, suspenzí nebo aerosolů s výhodou v jednotkových dávkách vhodných pro jednoduché přesné podávání. Prostředky zahrnují běžný farmaceutický nosič nebo excipient a sloučeninu obecného vzorce I jako účinné činidlo a kromě toho mohou obsahovat jiná léčebná nebo farmaceutická činidla, jako například nosiče a adjuvanty.

Obecně, v závislosti na zamýšleném způsobu podávání, obsahují farmaceuticky vhodné prostředky hmotnostně přibližně 1 až přibližně 99 % alespoň jedné sloučeniny obecného vzorce I, nebo její farmaceuticky vhodné soli a hmotnostně přibližně 99 až 1 % vhodného farmaceutického excipientu. S výhodou je složení tvořeno hmotnostně přibližně 5 až přibližně 75 % alespoň jedné sloučeniny obecného vzorce I, nebo její farmaceuticky vhodné soli a zbytek tvoří vhodné farmaceutické excipienty.

Vhodnou cestou podávání je cesta orální vhodným denním režimem, který lze upravit podle stupně závažnosti ošetřovaného chorobného stavu. Pro takové orální podávání se vytváří prostředek obsahující alespoň jednu sloučeninu obecného vzorce I, nebo její farmaceuticky vhodné soli začleněním kteréhokoli normálně používaného excipientu, jako jsou například farmaceutické druhy manitolu, laktóza, škrob, předželatinovaný škrob, stearát hořečnatý, sacharin sodný, mastek, deriváty etheru celulózy, glukóza, želatina, sacharóza, citrát a propylgallát. Takové pros-

tředky jsou například ve formě roztoků, suspenzí, tablet, pilulek, kapslí, prášků a prostředků s prodlouženým uvolňováním.

5 Takové prostředky bývají ve tvaru kapslí, tablet a obsahují proto také ředidlo, jako jsou laktóza, sacharóza a fosforečnan vápenatý, rozptylovací činidlo jako jsou kroskarmelóza sodná a její deriváty, mazadlo, jako je stearát hořečnatý, pojídlo, jako jsou škrob, akaciová klovatina, polyvinylpyrrolidon, želatina a deriváty etheru celulózy.

10 Sloučeniny obecného vzorce I nebo jejich farmaceuticky vhodné soli mohou být také začleněny do čípků, za použití například přibližně 0,5 až přibližně 50 % aktivního činidla, uloženého v nosiči, který se v těle pomalu rozpouští, jako jsou například polyoxyethylenglykoly a polyethylenglykoly (PEG), například PEG 1000 (96 %) a PEG 4000 (4 %).

15 Tekuté farmaceutické prostředky se mohou například připravovat rozpouštěním nebo dispergováním alespoň jedné sloučeniny obecného vzorce I (přibližně 0,5 až přibližně 20 %), nebo její farmaceuticky vhodné soli a obvyklých farmaceutických adjuvantů v nosiči, jako jsou například voda, solanka, vodná dextróza, glycerol a ethanol k vytvoření roztoku nebo suspenze.

20 Farmaceutický prostředek podle vynálezu může případně obsahovat také malá množství pomocných látek, jako jsou například smáčedla nebo emulgátory, činidla pufrující hodnotu pH, antioxidanty a dále například kyselina citronová, sorbitanový monolaurát, triethanolamoleát, butylovaný hydroxytoluén.

25 Způsoby přípravy takových dávkovacích forem jsou známé, nebo pracovníkům v oboru zřejmé (například Remington's Pharmaceutical Sciences. 18. vydání, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 1990). Podávaný prostředek v každém případě obsahuje množství farmaceuticky účinné látky obecného vzorce I nebo její farmaceuticky vhodné soli v množství k ošetřování chorobných stavů, přinášejícím úlevu inhibicí aktivity matricové metaloproteázy podle vynálezu.

30 Sloučenina obecného vzorce I nebo její farmaceuticky vhodné soli se podávají v terapeuticky účinném množství, které kolísá v závislosti na četných činitelích, jako jsou účinnost použité specifické sloučeniny, metabolická stabilita a doba působení sloučeniny, věk, tělesná hmotnost, všeobecný zdravotní stav, pohlaví, dieta, způsob a doba podávání, míra vylučování, kombinace  
35 drog, závažnost příslušného chorobného stavu a terapie, jíž je pacient podroben. Denní terapeuticky účinná dávka sloučeniny obecného vzorce I nebo její farmaceuticky vhodné soli je zpravidla 0,14 až 14,3 mg/kg tělesné hmotnosti, s výhodou přibližně 0,7 až přibližně 10 mg/kg tělesné hmotnosti a nejvýhodněji přibližně 1,4 až přibližně 7,2 mg/kg tělesné hmotnosti. Například při podávání osobě vážící 70 kg je denní dávka 10 mg až 1,0 g sloučeniny obecného  
40 vzorce I nebo její farmaceuticky vhodné soli, s výhodou přibližně 50 mg až přibližně 700 mg denně a nejvýhodněji přibližně 100 mg až přibližně 500 mg denně.

45 Výhodnou skupinou shora popsaných sloučenin obecného vzorce I jsou sloučeniny obecného vzorce I, kde symbol  $R^1$  znamená merkaptoskupinu nebo acetylthioskupinu.

50 V této skupině tvoří výhodnou podskupinu sloučeniny obecného vzorce I, kde znamená  $R^2$  skupinu alkylovou, aralkylovou nebo cykloalkylalkylovou,  $R^3$  skupinu cykloalkylovou nebo alkylovou skupinu popřípadě substituovanou cykloalkylovou skupinou, hydroxyskupinou, aralkoxy-  
skupinou, alkythioskupinou, pyridylovou nebo indolylovou skupinou,  $R^4$  kyanoskupinu, karboxyskupinu, hydroxyskupinu, alkoxykupinu, skupinu alkoxykarbonylovou, alkoxykarbonyl-  
alkylovou, karbamoylovou popřípadě substituovanou skupinou aralkylaminoalkylovou, nebo skupinu aminosulfonylovou popřípadě substituovanou skupinou alkylovou a  $R^5$  atom vodíku.

55 V této podskupině tvoří výhodnou třídu sloučenin obecného vzorce I, kde znamená  $R^2$  skupinu alkylovou,  $R^3$  skupinu cyklohexylovou, alkylovou popřípadě substituovanou skupinou

cyklohexylovou, hydroxyskupinou, benzyloxyskupinou, methylthioskupinou, skupinou pyridylovou nebo indolylovou a  $R^4$  karboxyskupinu, skupinu alkoxykarbonylovou a aminosulfonylovou.

5 V této třídě jsou výhodné sloučeniny obecného vzorce I, kde znamená  $R^2$  skupinu 2-methylpropylovou. Obzvláště výhodnými jsou sloučeniny obecného vzorce I, kde znamená  $R^3$  skupinu 2-methylpropylovou.

Jinou výhodnou skupinou jsou sloučeniny obecného vzorce I, kde znamená  $R^1$  karboxyskupinu.

10 V této skupině tvoří výhodnou podskupinu sloučeniny obecného vzorce I, kde znamená  $R^2$  alkylovou, aralkylovou nebo cykloalkylalkylovou skupinu,  $R^3$  skupinu cykloalkylovou nebo alkylovou popřípadě substituovanou cykloalkylovou skupinou, hydroxyskupinou, aralkoxykupinou, alkylthioskupinou, pyridylovou nebo indolylovou skupinou,  $R^4$  kyanoskupinu, hydroxyskupinu, alkoxykupinu, karboxyskupinu, skupinu alkoxykarbonylovou, alkoxykarbonylalkylovou, 15 karbamoylovou popřípadě substituovanou skupinou aralkylaminoalkylovou, nebo skupinu aminosulfonylovou popřípadě substituovanou skupinou alkylovou a  $R^5$  atom vodíku.

20 V této podskupině tvoří výhodnou třídu sloučeniny obecného vzorce I, kde znamená  $R^2$  skupinu alkylovou,  $R^3$  skupinu cyklohexylovou, alkylovou popřípadě substituovanou skupinou cyklohexylovou, hydroxyskupinou, benzyloxyskupinou, methylthioskupinou, skupinou pyridylovou nebo indolylovou a  $R^4$  karboxyskupinu, skupinu alkoxykarbonylovou a aminosulfonylovou.

25 V této třídě sloučenin jsou výhodné sloučeniny obecného vzorce I, kde znamená  $R^2$  skupinu 2-methylpropylovou. Obzvláště výhodnými jsou sloučeniny obecného vzorce I, kde znamená  $R^3$  skupinu cyklohexylovou, 2-methylpropylovou, pyridyl-3-ylmethyllovou, 1-benzyloxyethyllovou, 1-methylpropylovou, 1,1-dimethylethylovou, 1-hydroxyethyllovou a indol-2-ylmethyllovou a  $R^4$  skupinu methoxykarbonylovou.

30 Jinou výhodnou skupinou jsou sloučeniny obecného vzorce I, kde znamená  $R^1$  skupinu hydroxykarbamoylovou.

35 V této skupině tvoří výhodnou podskupinu sloučeniny obecného vzorce I, kde znamená  $R^2$  alkylovou, aralkylovou, cykloalkylalkylovou skupinu,  $R^3$  skupinu cykloalkylovou, nebo alkylovou popřípadě substituovanou cykloalkylovou skupinou, hydroxyskupinou, aralkoxykupinou, alkylthioskupinou, pyridylovou nebo indolylovou skupinou,  $R^4$  kyanoskupinu, hydroxyskupinu, alkoxykupinu, karboxyskupinu, skupinu alkoxykarbonylovou, alkoxykarbonylalkylovou, karbamoylovou popřípadě substituovanou skupinou aralkylaminoalkylovou, nebo skupinu aminosulfonylovou popřípadě substituovanou skupinou alkylovou a  $R^5$  atom vodíku.

40 V této podskupině tvoří výhodnou třídu sloučeniny obecného vzorce I, kde znamená  $R^2$  skupinu alkylovou,  $R^3$  skupinu cyklohexylovou, alkylovou popřípadě substituovanou skupinou cyklohexylovou, hydroxyskupinou, benzyloxyskupinou, methylthioskupinou, skupinou pyridylovou nebo indolylovou a  $R^4$  karboxyskupinu, skupinu alkoxykarbonylovou a aminosulfonylovou.

45 V této třídě jsou výhodné sloučeniny obecného vzorce I, kde znamená  $R^2$  skupinu 2-methylpropylovou. Obzvláště výhodnými jsou sloučeniny, kde znamená  $R^3$  skupinu cyklohexylovou, 2-methylpropylovou, pyrid-3-ylmethyllovou, 1-benzyloxyethyllovou, 1-methylpropylovou, 1,1-dimethylethylovou, 1-hydroxyethyllovou a indol-2-ylmethyllovou.

50 Současne jsou nejvýhodnější sloučeniny obecného vzorce I:

N-(4-methyl-2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylpentanoyl)-L-tryptofan-N'-(4-karboxyfenyl)-karboxamid,

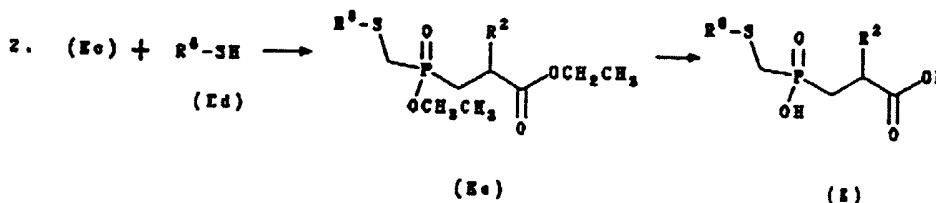
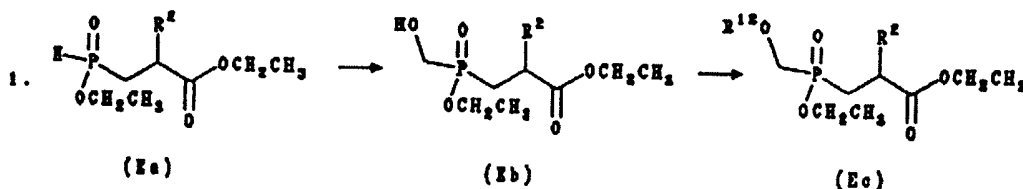
- N-(4-methyl-2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,
- N-(4-methyl-2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-karboxyfenyl)karboxamid,
- 5 N-(4-methyl-2-merkaptomethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,
- N-(4-methyl-2-acetylthiomethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,
- N-(4-methyl-2-karboxymethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,
- 10 N-(4-methyl-2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylpentanoyl)-L-cyklohexylglycin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid a
- N-(4-methyl-2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylpentanoyl)-L-t-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid.
- 15 Sloučeniny obecného vzorce I, jakožto jednotlivé stereoizomery nebo jejich směsi a jejich farmaceuticky vhodné soli, jsou deriváty peptidu, které lze připravit z příslušného derivátu  $\alpha$ -aminokyseliny. O sobě známé způsoby vytváření peptidových vazeb jsou popsány v literatuře (M. Bodanszky a kol. *The Practice of Peptide Synthesis*, 1984, Springer; M. Bodanszky *Principle of Peptide Synthesis*, 1984, Springer; J. P. Greenstein a kol. *Chemistry of the Amino Acids* (1961), sv. 1-3, John Wiley and Sons Inc.; G. R. Pettit *Synthesis Peptides*, 1970, sv. 1-2, Van
- 20 Nostrand Reinhold Company).
- Aminové vazby, použité k vytváření sloučenin obecného vzorce I, se obecně vytvářejí karbodiimidovou metodou s reakčními činidly, jako je dicyklohexylkarbodiimid nebo N'-ethyl-N'(3-dimethylaminopropyl)karbodiimid (EDCI), v přítomnosti 1-hydroxybenzotriazolu (HOBT)
- 25 v inertním rozpouštědle, jako je dimethylformamid (DMF). Mezi jiné metody vytváření aminové nebo peptidové vazby patří, bez záměru na jakémkoliv omezení, syntetické cesty přes chlorid kyseliny, acylazid, smíšený anhydrid nebo aktivovaný ester, jako je nitrofenylester. Zpravidla se dává přednost amidovým vazbám v roztokové fázi s peptidovými frakcemi nebo bez nich.
- 30 Volba chránicích skupin pro koncové aminoskupiny nebo karboxyskupiny, použité v přípravě sloučenin obecného vzorce I, je dána zčásti zvláštními podmínkami amidové nebo peptidové vazby a zčásti sloučeninami aminokyselinových nebo peptidových složek, podílejících se na vazbě. Mezi skupiny chránící aminoskupinu patří obvykle skupiny v oboru dobře známé, například skupina benzyloxykarbonylová (karbobenzyloxyskupina), p-methoxybenzyloxy-
- 35 karbonylová, p-nitrobenzyloxykarbonylová a terc.-butoxykarbonylová (BOC). Je výhodné používat jako chránicí skupiny pro  $\alpha$ -aminoskupinu buď BOC, nebo benzyloxykarbonylovou skupinu (CBZ), vzhledem k jejímu poměrně snadnému odstraňování slabými kyselinami, například kyselinou trifluoroctovou (TFA) nebo kyselinou chlorovodíkovou v ethylacetátu, nebo katalytickou hydrogenací.
- 40 Jednotlivé stereoizomery sloučenin obecného vzorce (I) mohou být od sebe oddělovány o sobě známými způsoby, například selektivní krystalizací nebo chromatografií a/nebo způsoby podle vynálezu objevenými.
- 45 Kombinace substituentů a/nebo proměnných ve sloučeninách obecného vzorce I a v jejich meziproduktech je přípustná pouze pokud takové kombinace vedou ke stabilním sloučeninám.

## A. Příprava sloučenin obecného vzorce E

Sloučeniny obecného vzorce E jsou meziprodukty používané k přípravě sloučenin obecného vzorce (I) a připravují se podle reakčního schématu 1, kde symboly  $R^2$  a  $R^6$  mají shora uvedený význam a  $R^{12}$  znamená skupinu mesylovou nebo tosylovou:

## Reakční schéma 1

10



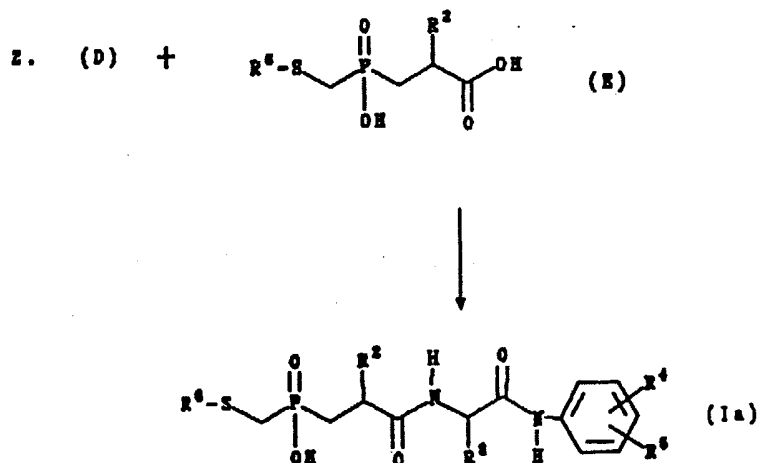
Sloučeniny obecného vzorce Ea se mohou připravovat pracovníkům v oboru obecně známými způsoby (například zveřejněná patentová přihláška vynálezu číslo 0 276436) nebo se mohou připravovat způsobem popsaným dále v příkladu 1. Sloučeniny obecného vzorce Ed jsou obchodně dostupné nebo se dají připravit způsoby pracovníkům v oboru obecně známými.

Obecně se sloučeniny obecného vzorce E připravují tak, že se napřed zpracovává sloučenina obecného vzorce Ea v aprotickém rozpouštědle, s výhodou v tetrahydrofuranu a methylenchloridu při teplotě 0 až 15 °C, s výhodou při teplotě 0 °C, v přítomnosti zásady, s výhodou diisopropylethylaminu a bis-(trimethylsilyl)-acetamidu s paraformaldehydem. Výsledný roztok se zahříváním udržuje na teplotě 25 až 37 °C, s výhodou 37 °C po dobu 18 hodin. Sloučenina obecného vzorce Eb se pak o sobě známými způsoby izoluje, s výhodou odpařením rozpouštědla, extrakcí a filtrací.

Sloučenina obecného vzorce Eb v aprotickém rozpouštědle, s výhodou v methylenchloridu, se pak ochladí na teplotu -20 °C až přibližně 0 °C, s výhodou na přibližně -20 °C. Ochlazená sloučenina obecného vzorce Ec se esterifikuje o sobě známými způsoby zpracováním alkoholu nejméně stechiometrickým množstvím na přibližně 100% nadbytek buď mesylchloridu, nebo tosylchloridu v určitém časovém úseku, s výhodou v 15 minutách při teplotě -20 °C s následnou prodlevou, s výhodou přibližně 3,5 hodiny při teplotě místnosti. Sloučenina obecného vzorce Ec se izoluje z reakční směsi o sobě známými způsoby, s výhodou extrakcí, filtrací a odpařením.

Sloučenina obecného vzorce Ec v aprotickém rozpouštědle, s výhodou v dimethylformamidu, se pak nechá reagovat se solí sloučeniny obecného vzorce Ed, s výhodou se sodnou solí vytvořenou reakcí sloučeniny obecného vzorce Ed s hydridem sodným v aprotickém rozpouštědle, s výhodou v dimethylformamidu, po dobu přibližně 16 až 20 hodin, s výhodou přibližně 18 hodin, při teplotách začínajících přibližně při 0 °C s pomalým zahříváním na teplotu místnosti. Výsledná sloučenina obecného vzorce Ee se z reakční směsi izoluje známými způsoby, jako je extrakce, odpaření a blesková chromatografie.





N-chráněné aminokyseliny obecného vzorce A a sloučeniny obecného vzorce B jsou obchodně dostupné, nebo se připraví pracovníkům v oboru známými způsoby. Sloučenina obecného vzorce E se připraví způsobem popsaným v odstavci A.

Obecně se sloučeniny obecného vzorce Ia připravují napřed kopulací sloučeniny obecného vzorce A se sloučeninou obecného vzorce B za o sobě známých podmínek amidové kopulace za získání sloučeniny obecného vzorce C. Například se do studeného (0 až 5 °C) roztoku sloučeniny obecného vzorce A v nadbytku HOBT a dimethylformamidu přidává nadměrné molární množství EDCI. Výsledný roztok se míchá po dobu 1 až 2 hodin, s výhodou přibližně 1 hodiny, při teplotě 0 až 5 °C s výhodou 0 °C. Do studeného roztoku se pak přidá roztok ekvimolárního množství sloučeniny obecného vzorce B v přítomnosti zásady, s výhodou DMAP. Výsledná směs se míchá po dobu 12 až 24 hodin, s výhodou 24 hodin při teplotě místnosti, s výhodou při teplotě 25 °C. Sloučenina obecného vzorce C se izoluje z reakční směsi o sobě známými způsoby peptidové chemie, například odpařením, extrakcí, sloupcovou chromatografií a/nebo HPLC.

Skupina chránící aminoskupinu sloučeniny obecného vzorce C se pak odstraní za mírně kyselých podmínek, s výhodou v přítomnosti trifluoroctové kyseliny, čímž se získá sloučenina obecného vzorce D.

Takto vytvořená sloučenina obecného vzorce D se pak kopuluje se sloučeninou obecného vzorce E za o sobě známých podmínek peptidové kopulace. Například se do studeného (0 až 5 °C, s výhodou 0 °C) roztoku sloučeniny obecného vzorce D v inertním rozpouštědle, s výhodou v tetrahydrofuranu, přidá 1,1'-karbonyldiimidazol. Výsledná směs se míchá po dobu 60 až 90 minut, s výhodou 75 minut při teplotě 0 až 5 °C, s výhodou 0 °C a pak se nechá reagovat se sloučeninou obecného vzorce E po dobu 12 až 17 hodin, s výhodou přibližně 15 hodin. Výsledná sloučenina obecného vzorce Ia se izoluje z reakční směsi o sobě známými způsoby peptidové chemie, například extrakcí nebo HPLC s reverzní fází.

### C. Příprava sloučenin obecného vzorce F

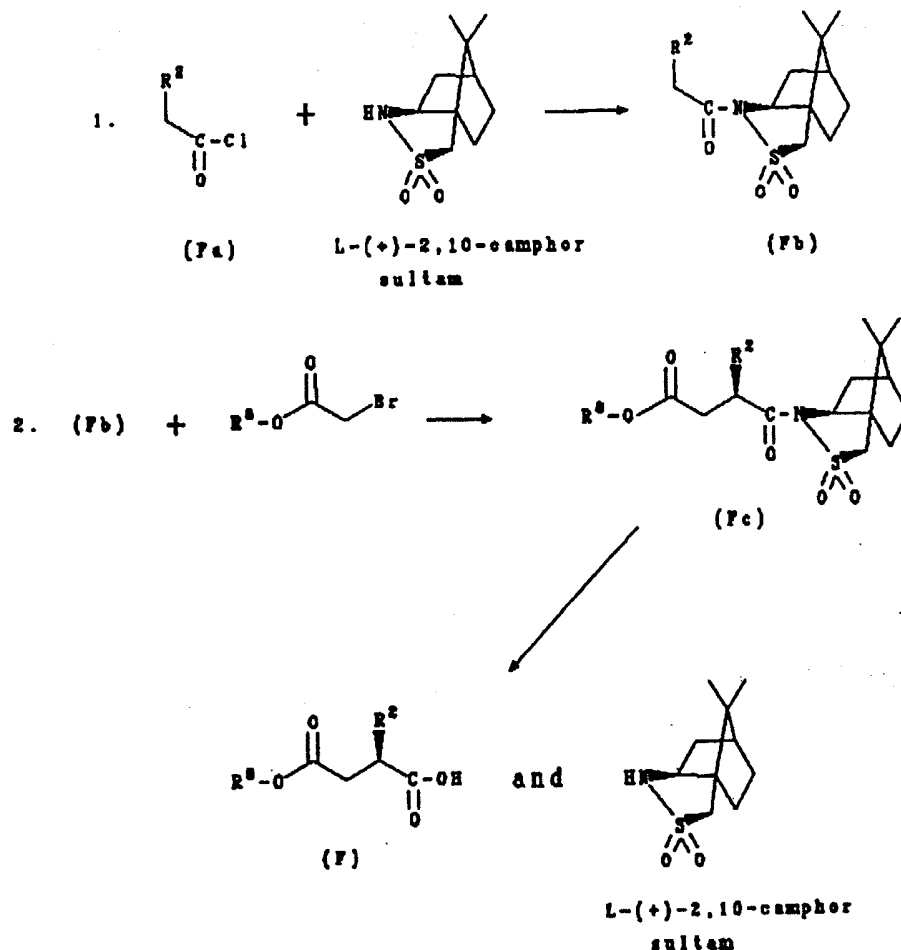
Sloučeniny obecného vzorce F



kde symbol  $R^2$  má shora uvedený význam a symbol  $R^8$  znamená skupinu t-butylovou, jsou meziprodukty pro přípravu sloučenin obecného vzorce (I) a připravují se podle reakčního schéma 3, kde symbol  $R^2$  má shora uvedený význam a symbol  $R^8$  znamená skupinu t-butylovou:

5

## Reakční schéma 3



10

Obdobným způsobem, avšak nahrazením D(-)-2,10-kafrsultamu L-(+)-2,10-kafrsultamem se připraví odpovídající jednotlivé stereoizomery v konfiguraci (S).

15

Sloučeniny obecného vzorce Fa jsou obchodně dostupné nebo se mohou připravit způsoby pracovníkům v oboru známými, například způsobem popsaným v příkladu 11. L-(+)-2,10-kafrsultam a D(-)-2,10-kafrsultam jsou obchodně dostupné (například společnost Aldrich Chemical Company, Milwaukee, Wisconsin, Sp. st. a.).

20

Obecně se sloučeniny obecného vzorce F připravují tak, že se napřed kondenzuje sloučenina obecného vzorce Fa s L-(+)-2,10-kafrsultamem za získání sloučeniny obecného vzorce Fb. Za pomoci NaHMDS k vytvoření aniontu se za 1 hodinu reakce ukončí t-butylobromacetátem za získání odpovídajícího esteru obecného vzorce Q. Kafrová skupina se pak odstraní za zásaditých podmínek, čímž se získá jednotlivý stereoizomer sloučeniny obecného vzorce F, kde atom uhlíku, ke kterému je připojen substituent  $R^2$  je v poloze R.

## D. Příprava sloučenin obecných vzorců Ib, Ic, Id a Ie

5 Sloučeninami obecného vzorce Ib jsou sloučeniny obecného vzorce I, kde znamená  $R^1$  skupinu alkoxykarbonylovou nebo aralkoxykarbonylovou a symboly  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  a  $R^5$  mají shora uvedený význam.

10 Sloučeninami obecného vzorce Ic jsou sloučeniny obecného vzorce I, kde znamená  $R^1$  karboxy- skupinu a symboly  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  a  $R^5$  mají shora uvedený význam.

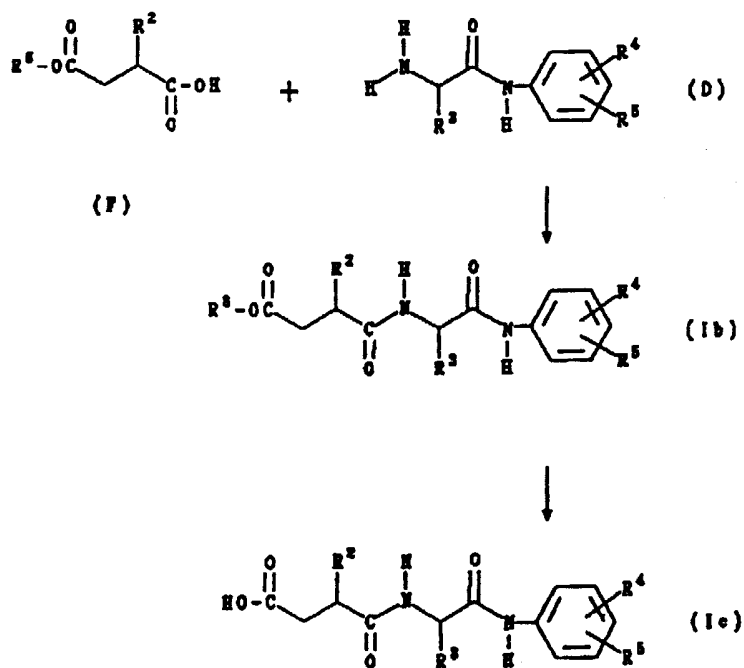
Sloučeninami obecného vzorce Id jsou sloučeniny obecného vzorce I, kde znamená  $R^1$  skupinu benzyloxykarbamoylovou a symboly  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  a  $R^5$  mají shora uvedený význam.

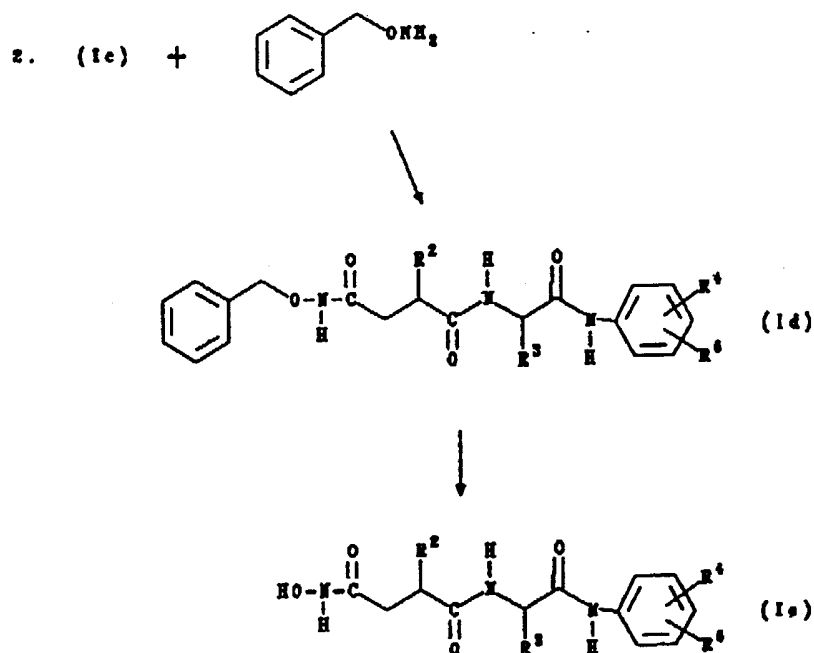
15 Sloučeninami obecného vzorce Ie jsou sloučeniny obecného vzorce I, kde znamená  $R^1$  skupinu hydroxykarbamoylovou a symboly  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  a  $R^5$  mají shora uvedený význam.

Sloučeniny obecných vzorců Ib, Ic, Id a Ie se připravují způsobem podle reakčního schéma 4, kde symboly  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  a  $R^5$  mají shora uvedený význam a symbol  $R^8$  znamená skupinu t-butylovou.

20

## Reakční schéma 4





Sloučeniny obecného vzorce F se připraví způsobem popsaným v odstavci C. Sloučeniny obecného vzorce D se připraví způsobem popsaným v odstavci B. O-Benzylhydroxylamin je obchodně dostupný, například v podobě hydrochloridové soli (společnost Aldrich Chemical Co.).

Obecně se sloučeniny obecných vzorců Ib, Ic, Id a Ie připraví tak, že se napřed kopuluje sloučenina obecného vzorce F se sloučeninou obecného vzorce D za o sobě známých podmínek amidové kopulace, čímž se vytvoří sloučenina obecného vzorce Ib. Například do roztoku sloučeniny obecného vzorce F v aprotickém rozpouštědle, s výhodou v dimethylformamidu, obsahujícím mírný molární nadbytek HOBT, se přidá molární nadbytek EDCI. Výsledná směs se míchá po dobu přibližně 1 až 2 hodin, s výhodou asi 1 hodinu při teplotě 0 až 5 °C, s výhodou 0 °C. Do studeného roztoku se přidá ekvimolární množství sloučeniny obecného vzorce D v přítomnosti zásady, s výhodou DMAP. Výsledná směs se míchá po dobu 12 až 24 hodin, s výhodou 24 hodin při teplotě místnosti, s výhodou při teplotě 25 °C. Sloučenina obecného vzorce Ib se izoluje z reakční směsi o sobě známými způsoby peptidové chemie, například odpařením rozpouštědel, extrakcí, bleskovou chromatografií a/nebo HPLC.

Sloučenina obecného vzorce Ib se následně hydrolyzuje za mírně kyselých podmínek, s výhodou kyselinou trifluoroctovou, čímž se získá sloučenina obecného vzorce Ic.

Získaná sloučenina obecného vzorce Ic se zpracuje O-benzylhydroxylaminem za o sobě známých podmínek aminové kopulace za získání sloučeniny obecného vzorce Id. Například se studený (0 až 5 °C, s výhodou 0 °C) roztok sloučeniny obecného vzorce Ic a HOBT v inertním rozpouštědle, s výhodou v dimethylformamidu zpracuje nadměrným molárním množstvím EDCI. Po míchání výsledné směsi po dobu přibližně 30 minut až 1 hodiny, při teplotě 0 až 5 °C, s výhodou 0 °C a se přidá ekvimolární množství O-benzylhydroxylaminu. Reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti přes noc. Sloučenina obecného vzorce Id se izoluje z reakční směsi o sobě známými způsoby, například extrakcí a bleskovou chromatografií.

Hydroxylová chránicí skupina (benzyl) sloučeniny obecného vzorce Id se odstraní za podmínek katalytické hydrogenace (palladium na uhlí), čímž se získá sloučenina obecného vzorce Ie.

## E. Příprava sloučenin obecného vzorce G

Sloučeniny obecného vzorce G

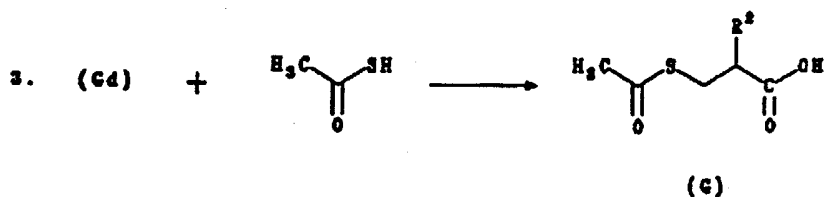
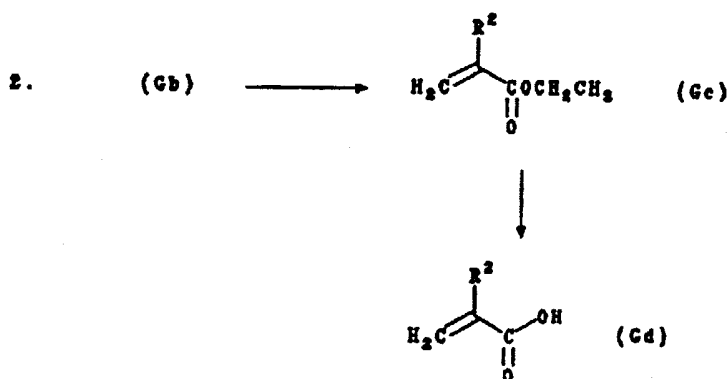
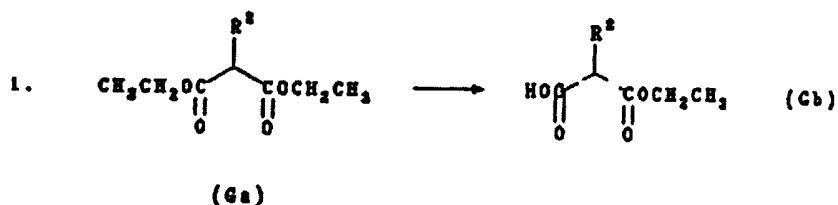
5



kde symbol  $R^2$  má shora uvedený význam, jsou meziprodukty přípravy sloučenin obecného vzorce I a připravují se podle reakčního schéma 5, kde symbol  $R^2$  má shora uvedený význam.

10

## Reakční schéma 5



15

Sloučeniny obecného vzorce Ga a kyselina thiooctová jsou obchodně dostupné (například společnost TCI American Organic Chemicals a Aldrich Chemical Company).

20 Obecně se sloučeniny obecného vzorce G připravují tak, že se nejdříve hydrolyzuje sloučenina obecného vzorce Ga ekvimolárním množstvím zásady, například hydroxidu draselného, za získání sloučenina obecného vzorce Gb. Sloučenina obecného vzorce Gb se deprotonuje za zásaditých podmínek, například v přítomnosti triethylaminu při teplotě 0 až 5 °C, s výhodou 0 °C, a pak se nechá reagovat s formaldehydem, načež následuje zpracování vodnou zásadou, s výhodou uhlíčanem draselným, za získání sloučeniny obecného vzorce G, která se izoluje z reakční směsi o sobě známými izolačními způsoby.

25

5 Sloučenina obecného vzorce Gc se hydrolyzuje za zásaditých podmínek, s výhodou v přítomnosti hydroxidu lithného za získání sloučeniny obecného vzorce Gd. Sloučenina obecného vzorce Gd se nechá reagovat s nadměrným molárním množstvím kyseliny thiooctové při teplotě 90 až 100 °C, s výhodou 95 °C v inertním prostředí. Sloučenina obecného vzorce G se izoluje z reakční směsi o sobě známými izolačními způsoby, například extrakcí a odpařením.

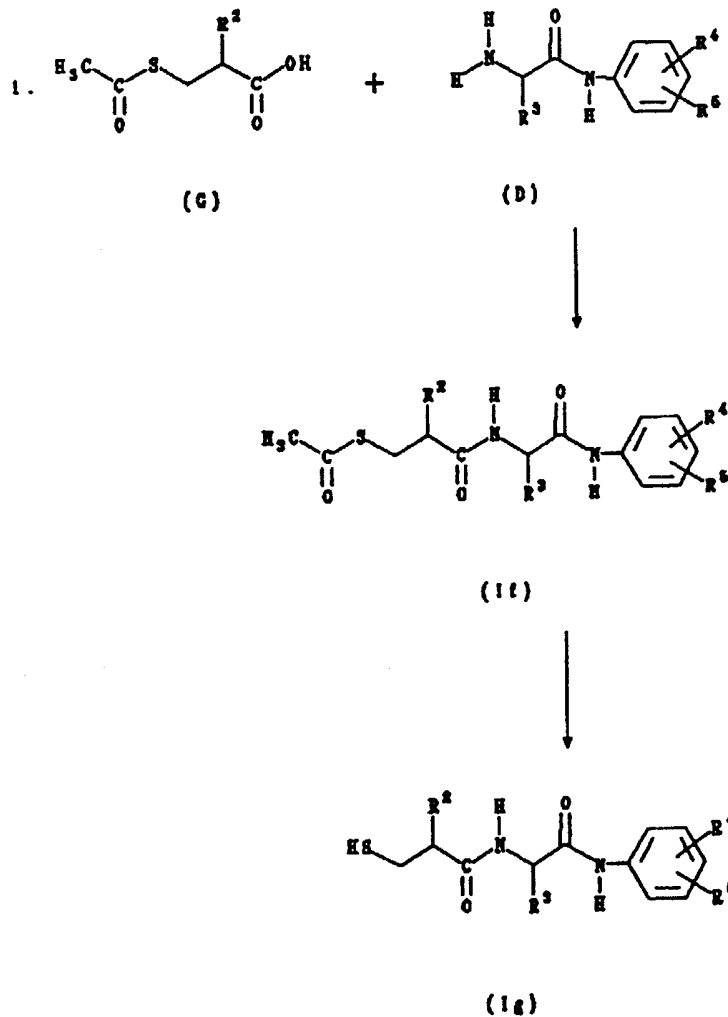
F. Příprava sloučenin obecných vzorců If a Ig

10 Sloučeninami obecného vzorce If jsou sloučeniny obecného vzorce I, kde znamená R<sup>1</sup> acetylthio- skupinu a kde symboly R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> a R<sup>5</sup> mají shora uvedený význam.

Sloučeninami obecného vzorce Ig jsou sloučeniny obecného vzorce I, kde znamená R<sup>1</sup> merkapto- skupinu a symboly R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> a R<sup>5</sup> mají shora uvedený význam.

15 Sloučeniny obecných vzorců If a Ig se připravují podle reakčního schéma 6, kde symboly R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> a R<sup>5</sup> mají shora uvedený význam.

20 Reakční schéma 6



Sloučeniny obecného vzorce D se připravují způsobem popsaným v odstavci B.

Sloučeniny obecného vzorce G se připravují způsobem popsaným v odstavci E.

5

Obecně se sloučeniny obecných vzorců If a Ie připravují tak, že se nejdříve kopuluje sloučenina obecného vzorce G se sloučeninou obecného vzorce D za o sobě známých podmínek amidové kopulace za získání sloučeniny obecného vzorce If. Například se do roztoku sloučeniny obecného vzorce G a HOBT v aprotickém rozpouštědle, s výhodou v dimethylformamidu, přidá nadměrné

10

molární množství EDCI. Výsledná směs se míchá přes noc při teplotě místnosti. Získaná sloučenina obecného vzorce If se izoluje z reakční směsi o sobě známými způsoby, například odpařením rozpouštědla, extrakcí a bleskovou chromatografií. Sloučenina obecného vzorce If se hydrolyzuje za zásaditých podmínek, s výhodou v protickém rozpouštědle, jako je methanol v přítomnosti hydroxidu amonného za získání sloučeniny obecného vzorce Ig.

15

Kromě toho všechny sloučeniny obecného vzorce I, které existují buď ve formě volné kyseliny, nebo volné zásady, mohou být převedeny na své farmaceuticky přijatelné soli reakcí s vhodnou anorganickou nebo organickou zásadou nebo s vhodnou anorganickou nebo organickou kyselinou. Soli sloučenin obecného vzorce I mohou být také převedeny do formy volné kyseliny nebo volné zásady nebo jiné soli.

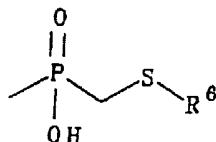
20

Souhrnně se sloučeniny obecných vzorců Ia, Ib, Ic, Id, Ie, If a Ig, které všechny spadají pod obecný vzorec I, připravují:

25

1. reakcí sloučeniny obecného vzorce D, kde symboly  $R^3$  a  $R^4$  mají shora uvedený význam a symbol  $R^5$  znamená atom vodíku, se sloučeninou obecného vzorce E, kde symbol  $R^6$  znamená popřípadě substituovanou skupinu arylovou, kde arylovou skupinou je skupina chinol-2-yllová, naftyl-1-yllová, naftyl-2-yllová, pyridylová nebo fenylová a symbol  $R^2$  znamená alkylovou skupinu, za získání sloučeniny obecného vzorce Ia, kde symbol  $R^1$  znamená skupinu

30



kde symbol  $R^6$  má shora uvedený význam pro sloučeninu obecného vzorce E a kde symboly  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  a  $R^5$  mají shora uvedený význam pro sloučeniny obecného vzorce D nebo E, nebo

35

2. reakcí sloučeniny obecného vzorce F, kde symbol  $R^2$  má shora uvedený význam a symbol  $R^8$  znamená skupinu alkylovou nebo benzylovou, se sloučeninou obecného vzorce D, kde symboly  $R^3$ ,  $R^4$  a  $R^5$  mají shora uvedený význam, za získání sloučeniny obecného vzorce Ib, kde symbol  $R^1$  znamená skupinu alkoxykarbonylovou nebo aralkoxykarbonylovou a symboly  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$  a  $R^8$  mají shora uvedený význam pro sloučeniny obecného vzorce F nebo D, nebo

40

3. zpracováním sloučeniny obecného vzorce Ib, kde symboly  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  a  $R^5$  mají shora uvedený význam, a symbol  $R^8$  znamená skupinu alkylovou nebo benzylovou, za získání sloučeniny obecného vzorce Ic, kde symbol  $R^1$  znamená karboxyskupinu a symboly  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  a  $R^5$  mají shora uvedený význam, nebo

45

4. reakcí sloučeniny obecného vzorce Ic, kde symboly  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  a  $R^5$  mají shora uvedený význam, s O-benzylhydroxyaminem za získání sloučeniny obecného vzorce Id, kde symbol  $R^1$  znamená skupinu benzyloxykarbamoylovou a symboly  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  a  $R^5$  mají shora uvedený význam, nebo

50

5. zpracováním sloučeniny obecného vzorce Id, kde symboly  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  a  $R^5$  mají shora uvedený význam, za získání sloučeniny obecného vzorce Ie, kde  $R^1$  znamená skupinu hydroxykarbamoylovou a symboly  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  a  $R^5$  mají shora uvedený význam, nebo
- 5 6. reakcí sloučeniny obecného vzorce G, kde symbol  $R^2$  má shora uvedený význam, se sloučeninou obecného vzorce D, kde symboly  $R^3$ ,  $R^4$  a  $R^5$  mají shora uvedený význam, za získání sloučeniny obecného vzorce If, kde symbol  $R^1$  znamená acetylthioskupinu a symboly  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  a  $R^5$  mají shora uvedený význam, nebo
- 10 7. zpracováním sloučeniny obecného vzorce If, kde symboly  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  a  $R^5$  mají shora uvedený význam, za získání sloučeniny obecného vzorce Ig, kde symbol  $R^1$  znamená merkaptoskupinu a symboly  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  a  $R^5$  mají shora uvedený význam.

15 Následující příklady praktického provedení vynález blíže objasňují bez záměru na jakémkoliv omezení. Procenta jsou míněna hmotnostně, pokud není jinak uvedeno.

### Příklady provedení vynálezu

20

#### Příklad 1

#### Sloučeniny obecného vzorce Ea

- 25 A. Při teplotě místnosti se roztírá po dobu 90 minut krystalická fosfinová kyselina (8,4 g, 0,13 mol) v čistém triethylorthoformátu (22 ml, 0,20 mol). Kanylou se pak přenese do míchaného roztoku ethylisobutylakrylátu (8 g, 0,036 mol) a tetramethylguanidinu (4,5 ml, 0,036 mol), chlazením udržovaného po dobu 10 minut na teplotě 0 °C. Ledová lázeň se odstaví a reakční směs se míchá po dobu 4 hodin. Směs se zředí 200 ml diethyletheru a roztok se promyje 1N kyselinou chlorovodíkovou (100 ml), vodou (4x 100 ml), solankou (100 ml) a vysuší se síranem hořečnatým. Směs se odpaří na rotační odparce, čímž se získá 8,15 g ethylesteru 2-(ethoxy)-fosfinoylmethyl-4-methylpentanoové kyseliny v podobě světle žlutě zbarveného oleje. MS:349 ( $M-H_2O$ )<sup>+</sup>.
- 30
- 35 B. Podobným způsobem se připraví následující sloučeniny obecného vzorce Ea:
- ethylester 2-(ethoxy)-fosfinoylmethyl-5-fenylpentanoové kyseliny,  
 ethylester 2-(ethoxy)-fosfinoylmethyl-4-fenylbutanoové kyseliny,  
 ethylester 2-(ethoxy)-fosfinoylmethyl-3-fenylpropanoové kyseliny,  
 40 ethylester 2-(ethoxy)-fosfinoylmethyl-3-cyklohexylpropanoové kyseliny a  
 ethylester 2-[(ethoxy)-fosfinoylmethyl]pentanoové kyseliny.

#### Příklad 2

45

#### Sloučeniny obecného vzorce Eb

- Surový ethylester 2-(ethoxy)-fosfinoylmethyl-4-methylpentanoové kyseliny (26 g) se rozpustí v 600 ml systému tetrahydrofuran/methylenchlorid (50/50) a ochladí se na teplotu 0 °C. Do roztoku se přidá N,N-diisopropylethylamin (32 ml) a 90,8 ml bis(trimethylsilyl)acetamidu, výsledná směs se míchá 20 minut a pak se přidá paraformaldehyd (5,5 g). Roztok se ohřeje na teplotu místnosti a zahříváním se udržuje na teplotě 37 °C po dobu 18 hodin. Rozpouštědlo se odstraní odpařením a výsledný olej se rozpustí ve 200 ml ethylacetátu. Roztok se promyje 50 ml

1N kyseliny chlorovodíkové (2x), 50 ml solanky (2x) a vysuší se síranem hořečnatým, zfiltruje se a odpaří, čímž se získá 19,3 g ethylesteru 2-(ethoxy)-(hydroxymethyl)fosfinoylmethyl-4-methylpentanoové kyseliny v podobě jemně žlutého oleje, MS: 281,2 (MH<sup>+</sup>).

5 B. Podobným způsobem se připraví následující sloučeniny obecného vzorce Eb:

ethylester 2-(ethoxy)-(hydroxymethyl)fosfinoylmethyl-5-fenylpentanoové kyseliny,  
 ethylester 2-(ethoxy)-(hydroxymethyl)fosfinoylmethyl-4-fenylbutanoové kyseliny,  
 ethylester 2-(ethoxy)-(hydroxymethyl)fosfinoylmethyl-3-fenylpropanoové kyseliny,  
 10 ethylester 2-(ethoxy)-(hydroxymethyl)fosfinoylmethyl-3-cyklohexylpropanoové kyseliny a  
 ethylester 2-[(ethoxy)-(hydroxymethyl)fosfinoylmethyl]pentanoové kyseliny.

### Příklad 3

15

Sloučeniny obecného vzorce Ec

A. Ve 20 ml methylenchloridu se rozpustí ethylester 2-(ethoxy)-(hydroxymethyl)fosfinoylmethyl-4-methylpentanoové kyseliny (5 g) a ochladí se na teplotu -20 °C (v duplikátu).  
 20 Do roztoku se přikape methansulfonylchlorid (1,5 ml) a triethylamin (3,0 ml). Po 15 minutách se lázeň odstaví a reakční směs se ponechá při teplotě místnosti po dobu 3,5 hodiny. Každý roztok se pak promyje 10 ml studené 2% kyseliny chlorovodíkové, 10 ml roztoku hydrogenuhličitanu sodného (nasyceného), 10 ml solanky, vysuší se síranem hořečnatým, zfiltruje se a odpaří, čímž se získá 12,8 g (kombinovaný výtěžek) ethylesteru 2-(ethoxy)-(methansulfonyloxymethyl)-  
 25 fosfinoylmethyl-4-methylpentanoové kyseliny.

B. Podobným způsobem, avšak nahrazením methansulfonylchloridu p-toluensulfonylchloridem se připraví ethylester 2-(ethoxy)-(p-toluensulfonyloxymethyl)fosfinoylmethyl-4-methylpentanoové kyseliny.

30

C. Podobným způsobem se připraví následující sloučeniny obecného vzorce Ec:

ethylester 2-(ethoxy)-(methansulfonyloxymethyl)fosfinoylmethyl-5-fenylpentanoové kyseliny,  
 ethylester 2-(ethoxy)-(methansulfonyloxymethyl)fosfinoylmethyl-4-fenylbutanoové kyseliny,  
 35 ethylester 2-(ethoxy)-(methansulfonyloxymethyl)fosfinoylmethyl-3-fenylpropanoové kyseliny,  
 ethylester 2-(ethoxy)-(methansulfonyloxymethyl)fosfinoylmethyl-3-cyklohexylpropanoové kyseliny,  
 ethylester 2-[(ethoxy)-(methansulfonyloxymethyl)fosfinoylmethyl]pentanoové kyseliny,  
 ethylester 2-(ethoxy)-(p-toluensulfonyloxymethyl)fosfinoylmethyl-5-fenylpentanoové kyseliny,  
 40 ethylester 2-(ethoxy)-(p-toluensulfonyloxymethyl)fosfinoylmethyl-4-fenylbutanoové kyseliny,  
 ethylester 2-(ethoxy)-(p-toluensulfonyloxymethyl)fosfinoylmethyl-3-fenylpropanoové kyseliny,  
 ethylester 2-(ethoxy)-(p-toluensulfonyloxymethyl)fosfinoylmethyl-3-cyklohexylpropanoové kyseliny a  
 45 ethylester 2-[(ethoxy)-(p-toluensulfonyloxymethyl)fosfinoylmethyl]pentanoové kyseliny.

## Příklad 4

## Sloučeniny obecného vzorce Ee

5 Při teplotě 0 °C se v 50 ml dimethylformamidu rozetře hydrid sodný (1,52 g, 60%) a 2-chinolinethyl (6 g). Po ukončení počátečního vývoje vodíku se směs míchá 2,5 hodiny při teplotě místnosti. Směs se ochladí na 0 °C a kanylou se přidá ethylester 2-(ethoxy)-(methansulfonyloxymethyl)fosfinoylmethyl-4-methylpentanoové kyseliny (12,8 g) v 10 ml dimethylformamidu. Výsledná směs se míchá 18 hodin a pomalu se ohřeje na teplotu místnosti. Dimethylformamid se odstraní odpařením, zbytek se rozpustí v 50 ml ethylacetátu a promyje se 50 ml vody (2x), solankou (50 ml), vysuší se síranem hořčnatým a odpaří se za získání žluté polopevné látky. Výsledkem bleskové chromatografie za použití jako elučního činidla systému 10 % ethylacetátu/hexan až 80 % ethylacetátu/hexan je 10 g ethylesteru 2-(ethoxy)-(chinolin-2-yl-thiomethyl)fosfinoylmethyl-4-methylpentanoové kyseliny (Rf 0,35 systém 80 % ethylacetátu/hexan), MS: 424,1 (MH<sup>+</sup>).

B. Podobným způsobem, avšak s nahrazením 2-chinolinethiolu 1-naftalenthiolem, 2-naftalenthiolem nebo thiofenolem se připraví následující sloučeniny vzorce Ee:

20 ethylester 2-(ethoxy)-(naft-1-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-methylpentanoové kyseliny, ethylester 2-(ethoxy)-(naft-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-methylpentanoové kyseliny a ethylester 2-(ethoxy)-(ferylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-methylpentanoové kyseliny.

C. Podobným způsobem se připraví následující sloučeniny obecného vzorce Ee:

25 ethylester 2-(ethoxy)-(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-5-fenylpentanoové kyseliny, ethylester 2-(ethoxy)-(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-fenylbutanoové kyseliny, ethylester 2-(ethoxy)-(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-3-fenylpropanoové kyseliny, ethylester 2-(ethoxy)-(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-3-cyklohexylpropanoové kyseliny, 30 ethylester 2-[(ethoxy)-(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl]pentanoové kyseliny, ethylester 2-(ethoxy)-(naft-1-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-5-fenylpentanoové kyseliny, ethylester 2-(ethoxy)-(naft-1-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-fenylbutanoové kyseliny, ethylester 2-(ethoxy)-(naft-1-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-3-fenylpropanoové kyseliny, 35 ethylester 2-(ethoxy)-(naft-1-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-3-cyklohexylpropanoové kyseliny, ethylester 2-[(ethoxy)-(naft-1-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl]pentanoové kyseliny, ethylester 2-(ethoxy)-(naft-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-5-fenylpentanoové kyseliny, ethylester 2-(ethoxy)-(naft-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-fenylbutanoové kyseliny, ethylester 2-(ethoxy)-(naft-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-3-fenylpropanoové kyseliny, 40 ethylester 2-(ethoxy)-(naft-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-3-cyklohexylpropanoové kyseliny, ethylester 2-[(ethoxy)-(naft-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl]pentanoové kyseliny, ethylester 2-(ethoxy)-(ferylthiomethyl)fosfinoylmethyl-5-fenylpentanoové kyseliny, ethylester 2-(ethoxy)-(ferylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-fenylbutanoové kyseliny, ethylester 2-(ethoxy)-(ferylthiomethyl)fosfinoylmethyl-3-fenylpropanoové kyseliny, 45 ethylester 2-(ethoxy)-(ferylthiomethyl)fosfinoylmethyl-3-cyklohexylpropanoové kyseliny a

ethylester 2-[(ethoxy)-(ferylthiomethyl)fosfinoylmethyl]pentanoové kyseliny.

Příklad 5

5

Sloučeniny obecného vzorce E

A. Ve 100 ml tetrahydrofuranu se rozpustí ethylester 2-(ethoxy)-(chinolin-2-ylthiomethyl)-fosfinoylmethyl-4-methylpropanoové kyseliny (4,5 g) a spolu s dostatkem methanolu se přidá 12,5 ml 2N roztok hydroxidu sodného k vytvoření homogenního roztoku. Po 18 hodinách se tetrahydrofuran odstraní odpařením, zbytek se zředí 50 ml vody a promyje se 50 ml ethylacetátu. Vodná fáze se okyselí na hodnotu pH 4 a produkt se extrahuje 50 ml ethylacetátu (2x). Ethylacetát se promyje 20 ml solanky, vysuší se síranem hořečnatým a po odpaření se získá 3,8 g 2-(hydroxy)-(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-methylpentanoové kyseliny v podobě žlutého oleje, MS: 368 (MH<sup>+</sup>).

15

B. Podobným způsobem se připraví následující sloučeniny obecného vzorce E:

2-(hydroxy)-(naft-1-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-methylpentanoová kyselina,

20 2-(hydroxy)-(naft-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-methylpentanoová kyselina,

2-(hydroxy)-(ferylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-methylpentanoová kyselina.

C. Podobným způsobem se připraví následující sloučeniny obecného vzorce E:

25 2-(hydroxy)-(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-5-fenylpentanoová kyselina,

2-(hydroxy)-(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-fenylbutanoová kyselina,

2-(hydroxy)-(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-3-fenylpropanoová kyselina,

2-(hydroxy)-(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-3-cyklohexylpropanoová kyselina,

2-[(hydroxy)-(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl]-pentanoová kyselina,

30 2-(hydroxy)-(naft-1-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-5-fenylpentanoová kyselina,

2-(hydroxy)-(naft-1-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-fenylbutanoová kyselina,

2-(hydroxy)-(naft-1-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-3-fenylpropanoová kyselina,

2-(hydroxy)-(naft-1-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-3-cyklohexylpropanoová kyselina,

2-[(hydroxy)-(naft-1-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl]-pentanoová kyselina,

35 2-(hydroxy)-(naft-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-5-fenylpentanoová kyselina,

2-(hydroxy)-(naft-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-fenylbutanoová kyselina,

2-(hydroxy)-(naft-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-3-fenylpropanoová kyselina,

2-(hydroxy)-(naft-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-3-cyklohexylpropanoová kyselina,

2-[(hydroxy)-(naft-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl]-pentanoová kyselina,

40 2-(hydroxy)-(ferylthiomethyl)fosfinoylmethyl-5-fenylpentanoová kyselina,

2-(hydroxy)-(ferylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-fenylbutanoová kyselina,

2-(hydroxy)-(ferylthiomethyl)fosfinoylmethyl-3-fenylpropanoová kyselina,

2-(hydroxy)-(ferylthiomethyl)fosfinoylmethyl-3-cyklohexylpropanoová kyselina,

2-[(hydroxy)-(ferylthiomethyl)fosfinoylmethyl]pentanoová kyselina.

45

## Příklad 6

## Štěpení sloučenin obecného vzorce E

5

V 50 ml teplého ethanolu (absolutního) se rozpustí 2-(hydroxy)-(chinolin-2-ylthiomethyl)-fosfinoylmethyl-4-methylpentanoová kyselina (5,3 g) a přidá se 4,2 g (-)-cinchonidinu. Po 30 minutách při teplotě místnosti se začne vysrážet sůl. Kádinka se překryje fólií a nechá se stát 2 dny. Sůl se pak izoluje odsávací filtrací a filtrát se odpaří na žlutou pěnu. Jak sůl, tak filtrát se rozpustí ve 100 ml ethylacetátu a promyje se postupně 1% kyselinou chlorovodíkovou k odstranění cinchonidinu při uchování hodnoty pH nad 4. Oba roztoky se vysuší síranem hořečnatým a odpaří se k získání 2,4 g samotného stereoizomeru,  $[\alpha]_D^{24} = +10,68^\circ$  (9,73 mg v methanolu (2 ml)) a 2,5 g druhého samotného stereoizomeru  $[\alpha]_D^{24} = -8,70^\circ$  (9,88 mg) v methanolu (2 ml).

15

## Příklad 7

## Sloučeniny obecného vzorce B

20 A. Do studené (0 °C) suspenze 4-acetamidobenzensulfonylchloridu (4,0 g, 17 mmol) v methylenchloridu (40 ml) se přidá pyridin (1,7 ml, 20 mmol) a DMAP (209 mg, 1,7 mmol). Získá se čirý roztok. Roztokem se nechá 1 hodinu při teplotě 0 °C probublávat bezvodý methylamin a pak se roztok nechá míchat 2 hodiny při teplotě 25 °C. Roztok se extrahuje 1M roztokem hydroxidu sodného (3x15 ml) a spojené extrakty se nastaví na hodnotu pH 6 při teplotě 0 °C 3M kyselinou chlorovodíkovou. Produkt, vysrážený v podobě chmýřovitých bílých krystalů, se zfiltruje a promyje se studenou vodou k získání 3,2 g (82%) 4-acetamido-N-methylbenzensulfonamidu.

25

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz, MeOH) delta 2,35 (s, 3H), 2,70 (s, 3H), 7,96 (s, 4H).

30 B. Směs 4-acetamido-N-methylbenzensulfonamidu (3,2 g, 14 mmol) a 100 ml 1M kyseliny chlorovodíkové se vaří pod zpětným chladičem v prostředí argonu po dobu 3 hodin. Po ochlazení na teplotu 25 °C se přidá methylenchlorid (10 ml) a vodná fáze se neutralizuje 1M roztokem hydroxidu sodného při teplotě 0 °C. Vodná fáze se oddělí a extrahuje se methylenchloridem (2x25 ml). Spojené organické fáze se promyjí solankou (10 ml), vysuší se síranem sodným a koncentrují se k získání 1,5 g (58% výtěžek) sloučeniny vzorce B, kde R<sup>4</sup> je N-methylsulfonamid, v podobě bezbarvé pevné látky.

35

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz, MeOH) delta 2,46 (s, 3H), 6,67 až 6,72 (AA' části AA'XX', 2H), 7,48 až 7,52 (XX' části AA'XX', 2H).

40

## Příklad 8

## Sloučeniny obecného vzorce C

45

A. Do studeného (0 °C) roztoku N-terc.-butoxykarbonyl-L-leucinu (1,4 g, 6,3 mmol) a HOBT (1,5 g, 9,8 mmol) v dimethylformamidu (30 ml) se přidá po dávkách EDCI (2,5 g, 14 mmol). Po jednohodinovém míchání při teplotě 0 °C se výsledný roztok zpracuje methyl-4-amino-benzoátem (1,09 ml, 6,8 mmol) a DMAP (0,32 g, 2,6 mmol). Po 24-hodinovém míchání při teplotě 25 °C se dimethylformamid odstraní ve vakuu. Zbytek se rozpustí v methylenchloridu a promyje se nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného, 1M kyselinou chlorovodíkovou (dvakrát) a solankou. Po vysušení síranem sodným a zkoncentrování ve vakuu se získá surový produkt, který se čistí bleskovou chromatografií na silikagelu (s elučním systémem 20 % ethylacetátu/hexany). Získá se 1,0 g (85%) N-t-butoxykarbonyl-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamidu v podobě pěnovité pevné hmoty, MS (FAB) 363 (M-H).

50

55

B. Podobným způsobem se připraví následující sloučeniny obecného vzorce C:

- N-t-butoxykarbonyl-L-tryptofan-N'-fenylmethylkarboxamid,  
 5 N-t-butoxykarbonyl-L-tryptofan-N'-fenylkarboxamid,  
 N-t-butoxykarbonyl-L-tryptofan-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,  
 N-t-butoxykarbonyl-L-tryptofan-N'-(4-ethoxykarbonylfenyl)karboxamid,  
 N-t-butoxykarbonyl-L-leucin-N'-[4-(N''-methylaminosulfonyl)fenyl]karboxamid,  
 N-t-butoxykarbonyl-L-alanin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,  
 10 N-t-butoxykarbonyl-L-methionin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,  
 N-t-butoxykarbonyl-L-leucin-N'-(3-ethoxykarbonylfenyl)karboxamid,  
 N-t-butoxykarbonyl-L-leucin-N'-(2-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,  
 N-t-butoxykarbonyl-L-leucin-N'-[4-(1-methylethoxy)karbonyl]fenyl]karboxamid,  
 N-t-butoxykarbonyl-L-leucin-N'-[(aminosulfonyl)fenyl]karboxamid,  
 15 N-t-butoxykarbonyl-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylmethylfenyl)karboxamid,  
 N-t-butoxykarbonyl-L-pyridin-3-ylalanin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,  
 N-t-butoxykarbonyl-L-cyklohexylglycin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,  
 N-t-butoxykarbonyl-L-isoleucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,  
 N-t-butoxykarbonyl-L-O-benzylthreonin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,  
 20 N-t-butoxykarbonyl-L-t-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,  
 N-t-butoxykarbonyl-L-leucin-N'-(4-kyanofenyl)karboxamid,  
 N-t-butoxykarbonyl-L-leucin-N'-[4-(N''-(2-dimethylaminoethyl)karbamoyl)karboxamid a  
 N-t-butoxykarbonyl-L-leucin-N'-[4-(N''-(3-dimethylaminopropyl)karbamoyl)fenyl]karbox-  
 amid.

25

C. Podobným způsobem se připraví následující sloučeniny obecného vzorce C:

- N-t-butoxykarbonyl-L-tryptofan-N'-(4-nitrofenyl)karboxamid,  
 N-t-butoxykarbonyl-L-tryptofan-N'-(4-aminofenyl)karboxamid,  
 30 N-t-butoxykarbonyl-L-leucin-N'-(4-methylsulfonylfenyl)karboxamid,  
 N-t-butoxykarbonyl-L-leucin-N'-(4-ethylsulfonylfenyl)karboxamid,  
 N-t-butoxykarbonyl-L-leucin-N'-(4-tetrazolylfenyl)karboxamid.

35 Příklad 9

Sloučeniny obecného vzorce D

- 40 A. Do studeného (0 °C) roztoku N-t-butoxykarbonyl-L-leucin-N'-fenylkarboxamidu (3,4 g (11 mmol) v suchém methylenchloridu (10 ml) se přidá trifluoroctová kyselina (2 ml). Roztok se nechá míchat 6 hodin při teplotě 25 °C a pak se zkoncentruje ve vakuu. Zbytek se rozdělí mezi methylenchlorid a vodu a vodná vrstva se alkalizuje při teplotě 0 °C nasyceným roztokem uhliči-

tanu draselného. Organická fáze se oddělí a vodná vrstva se extrahuje třikrát methylenchloridem. Spojené organické vrstvy se promyjí solankou a vysuší se síranem sodným. Koncentrováním se získá L-leucin-N'-fenyلكarboxamid.

5 B. Podobným způsobem se připraví následující sloučeniny:

L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

L-tryptofan-N'-fenylmethylkarboxamid,

L-tryptofan-N'-fenyلكarboxamid,

10 L-tryptofan-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

L-tryptofan-N'-(4-ethoxykarbonylfenyl)karboxamid,

L-leucin-N'-[4-(N''-methylaminosulfonyl)fenyl]karboxamid,

L-alanin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

L-methionin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

15 L-leucin-N'-(3-ethoxykarbonylfenyl)karboxamid,

L-leucin-N'-(2-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

L-leucin-N'-[4-(1-methylethyloxy)karbonyl]fenyl]karboxamid,

L-leucin-N'-(aminosulfonyl)fenyl]karboxamid,

L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylmethylfenyl)karboxamid,

20 L-pyridin-3-ylalanin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

L-spirocyclopentylglycin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

L-cyklohexylglycin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

L-isoleucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

L-O-benzylthreonin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

25 L-t-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

L-leucin-N'-(4-kyanofenyl)karboxamid,

L-leucin-N'-[4-(N''-(2-dimethylaminoethyl)karbamoyl)fenyl]karboxamid a

L-leucin-N'-[4-(N''-(3-dimethylaminopropyl)karbamoyl)fenyl]karboxamid.

30 C. Podobným způsobem se připraví následující sloučeniny obecného vzorce D:

L-tryptofan-N'-(4-nitrofenyl)karboxamid,

L-tryptofan-N'-(4-aminofenyl)karboxamid,

L-leucin-N'-(4-methylsulfonylfenyl)karboxamid,

35 L-leucin-N'-(4-ethylsulfonylfenyl)karboxamid a

L-leucin-N'-(4-tetrazolylfenyl)karboxamid.

## Příklad 10

## Sloučeniny obecného vzorce Ia

5 A. Do studeného (0 °C) roztoku 2-(hydroxy)(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-methylpentanoové kyseliny (0,20 g, 0,54 mmol) v tetrahydrofuranu (6 ml) se přidá 1,1'-karbonyldiimidazolu (0,12 g, 0,7 mmol). Směs se míchá po dobu 75 minut při teplotě 0 °C a pak se zpracuje L-tryptofan-N'-(4-ethoxykarbonylfenyl)karboxamidem (0,22 g, 0,62 mmol) a míchá se 15 hodin při teplotě 25 °C. Tetrahydrofuran se odpaří a zbytek se rozpustí v ethylacetátu (60 ml). Roztok se promyje vodou (10 ml), solankou (10 ml) a vysuší se síranem hořečnatým. Koncentrace následující po reverzní fázové HPLC s gradientem acetonitrilu a 50 mM pufru octanu amonného poskytuje 30 mg N-(2-hydroxy)(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-methylpentanoyl-L-tryptofan-N'-(4-ethoxykarbonylfenyl)karboxamidu v podobě špinavě bílé pevné látky, MS (FAB) 701 (M-H)<sup>+</sup> (směs diastereomerů).

B. Podobným způsobem se připraví následující sloučeniny obecného vzorce Ia:

20 N-(2-(hydroxy)(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-methylpentanoyl)-L-tryptofan-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid, MS(FAB) 687 (M+H)<sup>+</sup>,

N-(2-(hydroxy)(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-methylpentanoyl)-L-alanin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid, MS(FAB) 572 (M+H)<sup>+</sup>,

25 N-(2-(hydroxy)(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-methylpentanoyl)-L-methionin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid, MS(FAB) 632 (M+H)<sup>+</sup>, sloučenina 1,

30 N-(2-(hydroxy)(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-methylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid, MS(FAB) 614 (M+H)<sup>+</sup>,

N-(2-(hydroxy)(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-methylpentanoyl)-L-leucin-N'-(3-ethoxykarbonylfenyl)karboxamid,

35 <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, MeOH) delta 0,73 až 1,01 (m, 12H), 1,28 až 2,0 (m, 14H), 2,4 až 3,61 (m, 2H), 4,27 až 4,45 (m, 3H), 7,23 až 7,44 (m, 3H), 7,65 až 7,98 (m, 6H), 8,29 (s, 0,5H), 8,50 (s, 0,5H)

40 N-(2-(hydroxy)(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-methylpentanoyl)-L-leucin-N'-(2-methoxykarbonylfenyl)karboxamid

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, MeOH) delta 0,78 až 0,99 (m, 13H), 1,3 až 2,4 (m, 7H), 2,90 až 3,05 (m, 1H), 3,5 až 3,75 (m, 2H), 3,89, 3,90, 3,94 (3s, 3H celkem), 4,35 až 4,50 (m, 1H), 7,05 až 8,10 (m, 11H), 8,32, 8,55, 8,60 (3d, J=8,7, 1H)

45 N-(2-(hydroxy)(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-methylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-(1,1-dimethylethoxykarbonylfenyl)karboxamid, MS(FAB) 642 (M+H)<sup>+</sup>

N-(2-(hydroxy)(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-methylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-aminosulfonylfenyl)karboxamid

50 <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, MeOH) delta 0,76 (d, J=6,5, 3H), 0,81 (d, J=6,5, 3H), 0,85 až 1,1 (m, 7H), 1,2 až 2,1 (m, 7H), 2,92 až 2,95 (m, 1H), 3,45 až 3,70 (m, 2H), 4,35 až 4,45 (m, 1H), 7,28 (d, J=8,7, 1H), 7,45 (t, J=8,7, 1H), 7,68 (t, J=8,7, 1H), 7,7 až 7,8 (m, 3H), 7,87 (d, J=8,7, 1H), 7,95 až 8,1 (m, 3H),

N-(2-(hydroxy)(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-methylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid, MS(FAB) 628 (M+H)<sup>+</sup>.

C. Podobným způsobem se připraví následující sloučeniny obecného vzorce Ia:

5

N-(2-(hydroxy)(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-5-fenylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-(2-(hydroxy)(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-fenylbutanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

10

N-(2-(hydroxy)(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-3-fenylpropanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-(2-(hydroxy)(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-3-cyklohexylpropanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

15

N-[2-((hydroxy)(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethylpentanoyl)]-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-(2-(hydroxy)(naft-1-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-5-fenylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-(2-(hydroxy)(naft-1-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-fenylbutanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

20

N-(2-(hydroxy)(naft-1-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-3-fenylpropanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-(2-(hydroxy)(naft-1-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-3-cyklohexylpropanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

25

N-[2-((hydroxy)(naft-1-ylthiomethyl)fosfinoylmethylpentanoyl)]-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-(2-(hydroxy)(naft-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-5-fenylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-(2-(hydroxy)(naft-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-fenylbutanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

30

N-(2-(hydroxy)(naft-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-3-fenylpropanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-[2-((hydroxy)(naft-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-3-cyklohexylpropanoyl)]-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

35

N-(2-(hydroxy)(naft-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl)pentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-(2-(hydroxy)(fenylthiomethyl)fosfinoylmethyl-5-fenylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-(2-(hydroxy)(fenylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-fenylbutanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

40

N-(2-(hydroxy)(fenylthiomethyl)fosfinoylmethyl-3-fenylpropanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-(2-(hydroxy)(fenylthiomethyl)fosfinoylmethyl-3-cyklohexylpropanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid a

N-[2-((hydroxy)(fenylthiomethyl)fosfinoylmethyl)pentanoyl]-L-leucin-N'-(4-methoxykarboxylfenyl)karboxamid.

5 D. Při teplotě 25 °C se po dobu 24 hodin míchá roztok N-(2-(hydroxy)(chinolin-2-ylthio-  
methyl)fosfinoylmethyl-4-methylpentanoyl)-L-tryptofan-N'-(4-methoxykarboxylfenyl)-  
karboxamidu v tetrahydrofuranu (2 ml) a 1M hydroxid sodný (1 ml). Organická rozpouštědla se  
odpaří a zbytek se rozpustí v systému ethylacetát/voda. Vodná fáze se okyslí 1M kyselinou  
10 chlorovodíkovou a oddělená vodná fáze se extrahuje dvakrát ethylacetátem. Spojené organické  
vrstvy se promyjí solankou, vysuší se síranem hořečnatým a zkoncentrují se za získání 27 mg N-  
(2-hydroxy)(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoylmethyl-4-methylpentanoyl)-L-tryptofan-N'-(4-  
karboxyfenyl)karboxamidu v podobě žlutého prášku.

15 E. Podobným způsobem, avšak za použití N-(2-(hydroxy)(chinolin-2-ylthiomethyl)fosfinoyl-  
methyl-4-methylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarboxylfenyl)karboxamidu (30 mg,  
0,048 mmol) jako výchozí látky se získá 10 mg N-(2-(hydroxy)(chinolin-2-ylthiomethyl)-  
fosfinoylmethyl-4-methylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-karboxyfenyl)karboxamidu v podobě  
polopevné látky po triturování ethylacetátem.

20 <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, MeOH) delta 0,81 až 1,02 (m, 12H), 1,1 až 2,3 (m, 10H), 2,82 až 3,00 (m,  
1H), 3,49, 3,56 (2s, 2H), 3,5 až 3,8 (m, 2H), 4,45 až 4,55 (m, 1H), 7,09 (d, J=8,2, 1H), 7,19 (d,  
J=8,2, 1H), 7,45 (t, J=8,2, 1H), 7,45 až 7,6 (m, 3H), 7,65 až 7,80 (m, 1H), 7,82 až 7,98 (m, 2H),  
8,10 až 8,20 (m, 1H).

## 25 Příklad 11

Sloučeniny obecného vzorce Fa

30 A. Do 4-methylpentanoové kyseliny (25 g, 0,215 mmol) na vodní lázni o teplotě 25 °C se  
pomalu přidá thionylchlorid (20,4 ml, 1,3 g). Směs se zahříváním udržuje na teplotě 50 °C po  
dobu tří hodin (až do ukončení vývoje plynu) v prostředí argonu. Surová reakční směs se  
destiluje za tlaku okolí, čímž se získá 4-methylpentanoylchlorid (25,3 g, 87,3%) o teplotě varu  
143 °C.

35 B. Podobným způsobem, avšak nahražením 4-methylpentanoové kyseliny 5-fenylpentanoovou  
kyselinou (5 g) se připraví 5-fenylpentanoylchlorid (4,4 g) v podobě bezbarvé tekutiny s teplotou  
varu 91 až 93 °C.

## 40 Příklad 12

Sloučeniny obecného vzorce Fb

45 A. Do suspenze 60% hydridu sodného (836 mg, 1,5 ekvivalentu) v toluenu (200 ml) se při  
teplotě místnosti v prostředí argonu přidá po dávkách L-(+)-2,10-kafrsultam (3,0 g, 3,9 mmol).  
Směs se intensivně míchá jednu hodinu při teplotě místnosti. Pak se opatrně přikape do roztoku  
při teplotě 0 °C 4-methylpentanoylchlorid. Po tříhodinovém míchání reakční směsi při teplotě  
místnosti se reakční směs prudce ochladí 10 ml vody a přidá se 70 ml etheru. Reakční směs se  
50 napřed promyje 0,5N kyselinou chlorovodíkovou (2x50 ml), pak 5% roztokem uhličitanu drasel-  
ného (3x50 ml) a nakonec solankou (1x50 ml). Organická fáze se vysuší síranem hořečnatým,  
zfiltruje se a odpaří k suchu. Výsledkem čištění sloupcovou chromatografií (eluční systém 1:6  
ethylacetát/petroleumether) je N-4-methylpentanoyl-L-(+)-2,10 kafrsultam (3,39 g, 78%  
výtěžek).

B. Podobným způsobem, avšak nahražením 4-methylpentanoylchloridu příslušným chloridem se připraví následující sloučeniny Fb:

N-3-methylpentanoyl-L-(+)-2,10 kafsultam, MS: 347 ( $M^+$ ),

5 N-5-methylpentanoyl-L-(+)-2,10 kafsultam, MS: 375 ( $M^+$ ),

N-pentanoyl-L-(+)-2,10-kafsultam, MS: 300 ( $M^+$ ).

### Příklad 13

10

Sloučeniny obecného vzorce Fc

A. Do roztoku N-4-methylpentanoyl-L-(+)-2,10 kafsultamu (3,39 g, 10,8 mmol) v 75 ml tetrahydrofuranu se při teplotě  $-78^\circ\text{C}$  přikape během 5 minut  $\text{NaN}(\text{TMS})_2$  v prostředí argonu (1,0 M v tetrahydrofuranu, 11,34 ml, 1,05 ekvivalentu). Po jednohodinovém míchání při teplotě  $-78^\circ\text{C}$  se do směsi přidá hexamethylfosforamid (5 ml), následovaný t-butylbromacetátem (5,2 ml, 3 ekv.), pak v jedné dávce se přidá 400 mg tetra n-butylamoniumjodidu. Výsledná směs se udržuje přes noc při teplotě  $-78^\circ\text{C}$  v prostředí argonu. Ráno se reakce ukončí 100 ml vody a se extrahuje etherem (3x 100 ml). Spojené etherové vrstvy se promyjí solankou, vysuší se síranem sodným, zfiltrují se a zkoncentrují se. Výsledkem čištění sloupcovou chromatografií (eluční systém 5:95 ethylacetát/petroleumether až 10:90 ethylacetát/petroleumether) je N-4-methyl-2-t-butoxykarbonylmethylpentanoyl-L-(+)-2,10 kafsultam (4 g, 86,5% výtěžek).

15

20

B. Podobným způsobem, avšak nahražením N-4-methylpentanoyl-L-(+)-2,10-kafsultamu příslušnou sloučeninou vzorce Fb se připraví následující sloučeniny vzorce Fc:

25

N-(3-fenyl-2-t-butoxykarbonylmethyl)propanoyl-L-(+)-2,10-kafsultam MS: 461 ( $M^+$ ),

N-(5-fenyl-2-t-butoxykarbonylmethyl)pentanoyl-L-(+)-2,10-kafsultam MS: 490 ( $M+H^+$ ),

N-(2-t-butoxykarbonylmethyl)pentanoyl-L-(+)-2,10-kafsultam MS: 414 ( $M+H^+$ ).

30

### Příklad 14

Sloučeniny obecného vzorce F

35

A. Do míchaného roztoku N-(4-methyl-2-t-butoxykarbonylmethyl)pentanoyl-L-(+)-2,10-kafsultamu (5,45 g, 12,7 mmol) v 50% vodném tetrahydrofuranu (150 ml) se při teplotě  $0^\circ\text{C}$  v prostředí argonu přidají krystalky  $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$  (2,14 g, 4 ekv.) a pak 30% peroxid vodíku (11,5 ml). Ledová lázeň se odstaví a výsledná emulze se míchá po dobu 3 hodin až do vyčerení. Většina tetrahydrofuranu se odstraní za sníženého tlaku při teplotě  $35^\circ\text{C}$ . Přidá se methylenchlorid (150 ml) a pak za míchání 4N kyselina chlorovodíková k nastavení hodnoty pH na 2. Po přidání chloridu sodného se vodná vrstva extrahuje methylenchloridem (3x150 ml). Methylenchlorid se odstraní za sníženého tlaku při teplotě  $35^\circ\text{C}$ . Zbytek se vyjme do ethylacetátu (150 ml). Tento roztok se pak extrahuje 5% roztokem uhličitanu draselného (3x50 ml) a spojené extrakty se promyjí etherem (50 ml). Do vodné vrstvy se přidá methylenchlorid a za míchání chlorid sodný. Vodná vrstva se extrahuje methylenchloridem (3x70 ml) a spojené extrakty se vysuší síranem sodným, zfiltrují a zkoncentrují se za získání (2R)-4-methyl-2-t-butoxykarbonylmethylpentanoové kyseliny v podobě bezbarvého oleje (kvantitativní výtěžek 2,95 g).

40

45

50

B. Podobným způsobem, avšak nahražením N-4-methyl-2-t-butoxykarbonylmethylpentanoyl-L-(+)-2,10-kafsultamu příslušnou sloučeninou vzorce Fc se připraví následující sloučeniny F:

(2R)-3-fenyl-2-t-butoxykarbonylmethylpropanoová kyselina, MS: 265 (M+H)<sup>+</sup>,

(2R)-5-fenyl-2-t-butoxykarbonylmethylpentanoová kyselina, MS: 293,1 (M+H)<sup>+</sup> a

(2R)-2-t-butoxykarbonylmethylpentanoová kyselina v podobě bezbarvého oleje, 1,09 g).

- 5 C. (2R)-3-fenyl-2-t-butoxykarbonylmethylpropanoová kyselina (55 mg) se vyjme do ledové kyseliny octové (20 ml) a přidá se oxid platičitý (25 mg) v kyselině octové. Baňka se vloží do Parrovy bomby, evakuuje se a natlakuje se vodíkem o tlaku 690 kPa. Po třídenním míchání se přefiltruje sacím filtrem přes 1 cm vrstvu celitu. Filtrát se pak zkoncentruje za získání žlutého oleje (2R)-3-cyklohexyl-2-t-butoxykarbonylmethylpropanoové kyseliny (56 mg), MS: 269,5 (M-H)<sup>-</sup>.

#### Příklad 15

- 15 Sloučenina obecného vzorce Ib

A. Do roztoku 4-methyl-2-t-butoxykarbonylmethylpentanoové kyseliny (0,28 g, 1,2 mmol) v dimethylformamidu (5 ml), obsahujícím HOBt (0,22, 1,8 mmol) se přidá EDCI (0,31 g, 1,8 mmol). směs se míchá jednu hodinu při teplotě 0 °C a pak se zpracuje L-cyklohexylglycin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamidem (1,2 mmol) a DMAP (27 mg, 0,24 mmol). V míchání se pokračuje po dobu 24 hodin při teplotě 25 °C pak se dimethylformamid odpaří. Zbytek se rozpustí v methylenchloridu (20 ml) a roztok se promyje 1M kyselinou chlorovodíkovou (10 ml), nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (10 ml), solankou (10 ml) a vysuší se síranem sodným. Koncentrace ve vakuu poskytuje olej, který se čistí bleskovou chromatografií na oxidu křemičitém při použití systému 20 % ethylacetátu/hexany jako elučního činidla. Získá se 0,22 g (22% výtěžek) N-(4-methyl-2-t-butoxykarbonylmethylpentanoyl)-L-cyklohexylglycin-N'-4-methoxykarbonylfenyl)karboxamidu v podobě pevné látky, MS (FAB) 503 (MH)<sup>+</sup>.

B. Podobným způsobem se připraví následující sloučeniny:

30 N-(4-methyl-2-t-butoxykarbonylmethylpentanoyl)-L-pyridin-3-ylalanin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-(4-methyl-2-t-butoxykarbonylmethylpentanoyl)-L-O-benzylthreonin-N'-4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

35 N-(4-methyl-2-t-butoxykarbonylmethylpentanoyl)-L-isoleucin-N'-4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-(4-methyl-2-t-butoxykarbonylmethylpentanoyl)-L-leucin-N'-4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

40 N-(4-methyl-2-t-butoxykarbonylmethylpentanoyl)-L-t-leucin-N'-4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-(4-methyl-2-t-butoxykarbonylmethylpentanoyl)-L-leucin-N'-4-kyanofenyl)karboxamid,

N-(4-methyl-2-t-butoxykarbonylmethylpentanoyl)-L-leucin-N'-[4-(N''-(3-dimethylamino-propyl)karbamoyl)fenyl]karboxamid,

45 N-(4-methyl-2-t-butoxykarbonylmethylpentanoyl)-L-leucin-N'-[4-(N''-(2-dimethylamino-ethyl)karbamoyl)fenyl]karboxamid,

N-(4-methyl-2-t-butoxykarbonylmethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-aminosulfonylfenyl)karboxamid,

N-(4-methyl-2-t-butoxykarbonylmethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methylaminosulfonylfenyl)karboxamid,

N-(2-t-butoxykarbonylmethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-(3-fenyl-2-t-butoxykarbonylmethylpropanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)-karboxamid,

5 N-(3-cyklohexyl-2-t-butoxykarbonylmethylpropanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-(4-fenyl-2-t-butoxykarbonylmethylbutanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)-karboxamid a

N-(5-fenyl-2-t-butoxykarbonylmethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)-karboxamid.

10

#### Příklad 16

Sloučeniny obecného vzorce Ic

15

A. Do studeného (0 °C) roztoku N-(4-methyl-2-t-butoxykarbonylmethylpentanoyl)-L-cyklohexylglycin-N'-4-methoxykarbonylfenyl)karboxamidu (70 mg, 0,14 mmol) v methylenchloridu (2 ml) se přidá trifluoroctová kyselina (0,5 ml). Po 5-hodinovém míchání při teplotě 25 °C se roztok zkoncentruje ve vakuu a produkt se vyčistí reverzní fázovou HPLC s gradientem acetonitrilu a 50 mM pufru octanu amonného za získání 44 mg (71% výtěžek) N-(4-methyl-2-karboxymethylpentanoyl)-L-cyklohexylglycin-N'-4-methoxykarbonylfenyl)karboxamidu v podobě bílé pevné látky, MS (FAB) 445 (M-H)<sup>-</sup>.

20

B. Podobným způsobem se připraví následující sloučeniny:

25

N-(4-methyl-2-karboxymethylpentanoyl)-L-isoleucin-N'-4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid, MS (FAB) 419 (M-H)<sup>-</sup>,

N-(4-methyl-2-karboxymethylpentanoyl)-L-leucin-N'-4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid, MS (FAB) 419 (M-H)<sup>-</sup>,

30

N-(4-methyl-2-karboxymethylpentanoyl)-L-t-leucin-N'-4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-(4-methyl-2-karboxymethylpentanoyl)-L-leucin-N'-4-kyanofenyl)karboxamid,

35

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, MeOH) delta 0,84 až 0,99 (m, 12H), 1,15 až 1,82 (m, 6H), 2,36 až 2,41 (m, 1H), 2,52 až 2,65 (m, 1H), 2,8 až 2,95 (m, 1H), 4,49 až 4,54 (m, 1H), 7,4 až 7,9 (m, 4H),

N-(4-methyl-2-karboxymethylpentanoyl)-L-leucin-N'-4-(aminosulfonylfenyl)karboxamid,

40

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, MeOH) delta 0,85 až 1,00 (m, 12H), 1,1 až 1,3 (m, 2H), 1,5 až 1,85 (m, 4H), 2,31 až 2,95 (m, 3H), 4,49 až 4,55 (m, 1H), 7,75 až 7,91 (m, 4H),

N-(4-methyl-2-karboxymethylpentanoyl)-L-leucin-N'-4-methylaminosulfonylfenyl)karboxamid, MS (FAB) 459 (M-H)<sup>-</sup>,

45

N-(2-karboxymethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid, MS (FAB) 405 (M-H)<sup>-</sup>,

50

N-(3-fenyl-2-karboxymethylpropanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid, MS (FAB) 455 (M-H)<sup>-</sup>,

N-(3-cyklohexyl-2-karboxymethylpropanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid, MS (FAB) 459 (M-H)<sup>-</sup>,

5 N-(4-fenyl-2-karboxymethylbutanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid, MS (FAB) 467 (M-H)<sup>-</sup>,

N-(4-fenyl-2-karboxymethylbutanoyl)-L-cyklohexylglycin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

10 N-(4-fenyl-2-karboxymethylbutanoyl)-L-t-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid, N-(5-fenyl-2-karboxymethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid, MS (FAB) 481 (M-H)<sup>-</sup> a

15 N-(4-methyl-2-karboxymethylpentanoyl)-L-O-benzylthreonin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid, MS (FAB) 497 (M-H)<sup>-</sup>.

C. Podobným způsobem, avšak triturováním surového produktu etherem a dekantací etheru se připraví následující sloučeniny jako soli trifluoroctové kyseliny:

20 N-(4-methyl-2-karboxymethylpentanoyl)-L-pyridin-3-ylalanin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid, MS (FAB) 456 (M+H)<sup>+</sup>,

N-(4-methyl-2-karboxymethylpentanoyl)-L-leucin-N'-[4-(N''-(3-dimethylaminopropyl)karbamoyl)fenyl]karboxamid, MS (FAB) 491 (M+H)<sup>+</sup> a

25 N-(4-methyl-2-karboxymethylpentanoyl)-L-leucin-N'-[4-(N''-(2-dimethylaminoethyl)karbamoyl)fenyl]karboxamid, MS (FAB) 491 (M+H)<sup>+</sup>.

30 D. Přes noc se hydrogenuje směs N-(4-methyl-2-t-butoxykarbonylmethylpentanoyl)-L-O-benzylthreonin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamidu (60 mg) v přítomnosti palladia na uhlí v systému ethylacetát/tetrahydrofuran (1:1, 25 ml) při tlaku  $9,81 \cdot 10^4$  Pa. Výsledkem filtrace celitem, koncentrace filtrátu a triturování zbytku systémem ether/hexeny je N-(4-methyl-2-t-butoxykarbonylmethylpentanoyl)-L-threonin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid, MS (FAB) 407 (M-H)<sup>-</sup>.

35

#### Příklad 17

#### Sloučeniny obecného vzorce Id

40 A. Roztok N-(4-methyl-2-karboxymethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamidu (0,28 g, 0,66 mmol) a HOBT (0,12 g) v suchém dimethylformamidu (20 ml) se ochladí na 0 °C a zpracuje se EDCI (0,32 g). Po půlhodinovém míchání při teplotě 0 °C se přidá O-benzylhydroxylamin (0,30 ml) a reakční směs se nechá přes noc ohřát na teplotu 25 °C. Dimethylformamid se odstraní ve vakuu a zbytek se vyjme do methylenchloridu a promyje se  
45 systémem 5% kyseliny chlorovodíkové/5% hydrogenuhlíčitanu sodného a solankou a roztok vysuší se síranem sodným. Po zkoncentrování se produkt čistí bleskovou chromatografií (oxid křemičitý,  $R_f = 0,6$ , systém 10% methanolu/metylenchlorid). Frakce, obsahující produkt, se dále čistí triturováním  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , čímž se získá N-(4-methyl-2-(N''-benzyloxykarbamoyl)methylpentanoyl)-L-leucin-N'-4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid v podobě pevné látky o teplotě  
50 tání 198 až 199 °C.

B. Podobným způsobem se připraví následující sloučeniny:

5 N-(2-(N''-benzyloxykarbamoyl)methylpentanoyl)-L-leucin-N'-4-methoxykarbonylfenyl)-karboxamid,

N-(4-fenyl-2-(N''-benzyloxykarbamoyl)methylbutanoyl)-L-leucin-N'-4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid a

10 N-(4-methyl-2-(N''-benzyloxykarbamoyl)methylpentanoyl)-L-tryptofan-N'-4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid.

C. N-(4-Methyl-2-(N''-benzyloxykarbamoyl)methylpentanoyl)-L-leucin-N'-4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid (210 g) se hydrolyzuje 1M roztokem hydroxidu sodného (1,4 ml) při teplotě 50 až 60 °C po dobu dvou hodin v tetrahydrofuranu (20 ml) a methanolu (5 ml). Organická rozpouštědla se odstraní a zbytek se vyjme do 10 ml vody a promyje se etherem (2x10 ml). Vodná fáze se okyslí 10% kyselinou chlorovodíkovou na hodnotu pH 2 a extrahuje se ethylacetátem (3x10 ml). Spojené extrakty se promyjí solankou, vysuší se síranem sodným a zkoncentrují se na N-(4-methyl-2-(N''-benzyloxykarbamoyl)methylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-karboxyfenyl)karboxamid (110 mg).

20

Příklad 18

Sloučeniny obecného vzorce Ie

25 A. Do roztoku N-(4-fenyl-2-(N''-benzyloxykarbamoyl)methylbutanoyl)-L-leucin-N'-4-methoxykarbonylfenyl)karboxamidu (25 g) ve 20 ml methanolu a 10 ml v tetrahydrofuranu se přidá 10% palladium na uhlí (20 mg). Suspenze se hydrogenuje jednu hodinu a pak se sacím způsobem zfiltruje přes celit. Koncentrováním se získá produkt, který se čistí na silikagelu (systém 2,5% methanolu/methylenchlorid), čímž se získá 8 mg N-(4-fenyl-2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylbutanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamidu MS (FAB) 482 (M-H)<sup>-</sup>.

30

B. Podobným způsobem se připraví následující sloučeniny:

35 N-(4-methyl-2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-karboxyfenyl)-karboxamid,

N-(4-methyl-2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid, MS (FAB) 436 (M+H)<sup>+</sup>; sloučenina 2,

40 N-(2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)-karboxamid, MS (FAB) 420 (M-H)<sup>-</sup>,

N-(4-fenyl-2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylbutanoyl)-L-t-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

45 N-(4-fenyl-2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylbutanoyl)-L-cyklohexylglycin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-(4-fenyl-2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylbutanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

50 N-(4-methyl-2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylbutanoyl)-L-tryptofan-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid, MS (FAB) 507 (M-H)<sup>-</sup>, sloučenina 3 (2R); sloučenina 4 (2S) a

N-(4-fenyl-2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylbutanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonyl-fenyl)karboxamid.

C. Podobným způsobem se připraví následující sloučeniny:

N-(3-fenyl-2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylpropanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonyl-fenyl)karboxamid,

N-(5-fenyl-2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylpentanoyl)-L-leucin-(4-methoxykarbonyl-fenyl)karboxamid a

N-(3-cyklohexyl-2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylpropanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid.

#### Příklad 19

Sloučeniny obecného vzorce Gb

A. Do studeného (0 °C) roztoku diethylisobutylmalonátu (21,6 g, 0,1 mol) ve 150 ml ethanolu se pomalu během 30 minut přidá roztok hydroxidu draselného (5,89 g, 0,1 mol). Čirý roztok se míchá 60 hodin při teplotě 25 °C. Ethanol se odstraní za sníženého tlaku a pevný zbytek se rozpustí v 50 ml vody. Vodný roztok se okyslí 4M kyselinou chlorovodíkovou (2x50 ml) na hodnotu pH 2. Spojené extrakty se vysuší síranem hořečnatým a odpaří se k získání 19,0 g (100%) ethylisobutylmalonátu v podobě bezbarvého oleje.

B. Podobným způsobem se připraví následující sloučeniny vzorce Gb:

ethyl-terc.-butylmalonát,  
ethylpropylmalonát,  
ethylbenzylmalonát a  
ethylcyklohexylmethylmalonát.

#### Příklad 20

Sloučeniny obecného vzorce Gc a Gd

A. Do čistého ethylisobutylmalonátu (25 g, 0,13 mol) se při teplotě 0 °C pomalu přidá ledově studený diethylamin (15,1 ml, 0,15 mol). Po 15-minutovém míchání se přikape formalin (11,1 ml 37% vodného roztoku formaldehydu) a směs se nechá míchat tři dny při teplotě 25 °C. Reakční směs se zpracuje roztokem 20 g uhličitanu draselného ve 40 ml vody a extrahuje se etherem (2x100 ml). Spojené etherové vrstvy se promyjí solankou, vysuší se síranem hořečnatým a na rotační odparce se odpaří při teplotě 20 °C. Surový ethyl-4-methyl-2-methylenpentanoát (obsahující trochu etheru) se rozpustí ve 250 ml absolutního ethanolu a zpracuje se acetonitrilem (250 ml), 1M LiOH (9,7 g ve 250 ml vody, 0,23 mol). Po míchání přes noc se organická rozpouštědla odpaří a vodný zbytek se extrahuje ethylacetátem (2x150 ml). Spojené extrakty se promyjí solankou, vysuší se síranem hořečnatým a odpaří se, čímž se získá 10,5 g 4-methyl-2-methylenpentanoové kyseliny v podobě bezbarvého oleje.

B. Podobným způsobem se připraví následující sloučeniny vzorce Gd:

4-fenyl-2-methylenbutanoová kyselina,  
3-cyklohexyl-2-methylenpropanoová kyselina,  
5-fenyl-2-methylenpentanoová kyselina,

2-methylenpentanoová kyselina a  
3,3-dimethyl-2-methylenbutanoová kyselina.

## 5 Příklad 21

Sloučeniny obecného vzorce G

10 A. Po dobu tří dnů se zahříváním udržuje v prostředí argonu na teplotě 95 °C směs 4-methyl-2-methylpentanoové kyseliny (5,0 g) a thiooctové kyseliny (25 ml). Přebytek thiooctové kyseliny se odpaří a zbylý olej se rozpustí v ethylacetátu (40 ml) a extrahuje se nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (3x40 ml). Spojené hydrogenuhličitanové extrakty se spojí a okyselí se při teplotě 0 °C na hodnotu pH 2 1M kyselinou chlorovodíkovou. Vodná vrstva se extrahuje methylenchloridem (3x40 ml), spojené organické fáze se vysuší síranem hořečnatým a nakonec se odpaří, čímž se získají 3,0 g 4-methyl-2-acetylthiomethylpentanoové kyseliny.

15 <sup>1</sup>H NMR (80 MHz, CDCl<sub>3</sub>) delta 0,95 (d, J=8,0, 6H), 1,20 až 1,90 (m, 4H), 2,35 (s, 3H), 2,50 až 3,20 (m, 3H), 6,7 (br s, 1H).

20

## Příklad 22

Sloučeniny obecného vzorce If

25 A. Do roztoku 4-methyl-2-acetylthiomethylpentanoové kyseliny (204 mg, 1,0 mmol) v suchém dimethylformamidu (15 ml) obsahujícím HOBT (92 mg, 0,6 mmol) a L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid (0,6 mmol) se přidá EDCI (345 mg, 1,8 mmol). Roztok se míchá přes noc při teplotě 25 °C a pak se dimethylformamid odstraní ve vakuu. Zbytek se rozpustí v ethylacetátu (35 ml) a promyje se 1M kyselinou chlorovodíkovou, 1M roztokem hydroxidu sodného a solankou. Po vysušení síranem hořečnatým a odpaření se získá polopevná látka, která se podrobí bleskové chromatografii na silikagelu (ethylacetát 1:petroleumether 2), čímž se získá N-(4-methyl-2-acetylthiomethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid (190 mg) v podobě bílé pevné látky.

35 B. Podobným způsobem se připraví následující sloučeniny vzorce If:

N-(5-fenyl-2-acetylthiomethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,  
N-(4-fenyl-2-acetylthiomethylbutanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,  
N-(3-fenyl-2-acetylthiomethylpropanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,  
40 N-(3-cyklohexyl-2-acetylthiomethylpropanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,  
N-(2-acetylthiomethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,  
N-(5-fenyl-2-acetylthiomethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-aminokarbonylfenyl)karboxamid,  
N-(4-fenyl-2-acetylthiomethylbutanoyl)-L-leucin-N'-(4-karboxyfenyl)karboxamid,  
45 N-(3-fenyl-2-acetylthiomethylpropanoyl)-L-leucin-N'-(4-methylsulfonylfenyl)karboxamid,  
N-(3-cyklohexyl-2-acetylthiomethylpropanoyl)-L-leucin-N'-(4-karbamoylfenyl)karboxamid,  
N-(2-acetylthiomethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-kyanofenyl)karboxamid,  
N-(5-fenyl-2-acetylthiomethylpentanoyl)-L-tryptofan-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-(4-fenyl-2-acetylthiomethylbutanoyl)-L-tryptofan-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-(3-fenyl-2-acetylthiomethylpropanoyl)-L-tryptofan-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

5 N-(3-cyklohexyl-2-acetylthiomethylpropanoyl)-L-tryptofan-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid a

N-(2-acetylthiomethylpentanoyl)-L-tryptofan-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid.

10 Příklad 23

Sloučeniny obecného vzorce Ig

15 A. Do roztoku N-(4-methyl-2-acetylthiomethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamidu (85 mg, 0,19 mmol) v methanolu (8 ml) se při teplotě 0 °C přidá koncentrovaný roztok hydroxidu amonného (0,4 ml). Po pětihodinovém míchání při teplotě 0 °C se methanol odpaří a přidá se ether (30 ml). Etherový roztok se promyje 0,5 M kyselinou chlorovodíkovou, solankou a vysuší se síranem hořečnatým. Po zkoncentrování se získá N-(4-methyl-2-merkaptomethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid v kvantitativním výtěžku v podobě bílé pěny, MS (FAB) 407 (M-H)<sup>-</sup>.

B. Podobným způsobem se připraví následující sloučeniny vzorce Ig:

25 N-(5-fenyl-2-merkaptomethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-(4-fenyl-2-merkaptomethylbutanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-(3-fenyl-2-merkaptomethylpropanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-(3-cyklohexyl-2-merkaptomethylpropanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

30 N-(2-merkaptomethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-(5-fenyl-2-merkaptomethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-aminokarbonylfenyl)karboxamid,

N-(4-fenyl-2-merkaptomethylbutanoyl)-L-leucin-N'-(4-karbonylfenyl)karboxamid,

N-(3-fenyl-2-merkaptomethylpropanoyl)-L-leucin-N'-(4-methylsulfonylfenyl)karboxamid,

N-(3-cyklohexyl-2-merkaptomethylpropanoyl)-L-leucin-N'-(4-karbamoylfenyl)karboxamid,

35 N-(2-merkaptomethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-kyanofenyl)karboxamid,

N-(5-fenyl-2-merkaptomethylpentanoyl)-L-tryptofan-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-(4-fenyl-2-merkaptomethylbutanoyl)-L-tryptofan-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

40 N-(3-fenyl-2-merkaptomethylpropanoyl)-L-tryptofan-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-(3-cyklohexyl-2-merkaptomethylpropanoyl)-L-tryptofan-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-(2-merkaptomethylpentanoyl)-L-tryptofan-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid.

45

## Příklad 24

5 Tento příklad objasňuje přípravu reprezentativních farmaceutických prostředků k orálnímu podávání, obsahujících sloučeninu obecného vzorce I nebo její farmaceuticky vhodnou sůl, například N-(4-methyl-2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylpentanoyl)-L-leucin-N''-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid:

A.	Složky	%
	sloučenina obecného vzorce I	20,0
	laktóza	79,5
	stearát hořčnatý	0,5

10 Uvedené složky se smísí a plní se jimi želatinové kapsle po 100 mg, jedna kapsle může být přibližně celkovou denní dávkou.

B.	Složky	%
	sloučenina obecného vzorce I	20,0
	stearát hořčnatý	0,9
	škrob	8,6
	laktóza	69,6
	PVP (polyvinylpyrrolidin)	0,9

15 Uvedené složky s výjimkou stearátu hořčnatého se spojí a granulují se pomocí vody jako granulární kapaliny. Směs se pak vysuší, smísí se se stearátem hořčnatým a vytvaruje se do tablet ve vhodném tabletovacím stroji.

C.	Složky	
	sloučenina obecného vzorce I	0,1 g
	propylenglykol	20,0 g
	polyethylenglykol 400	20,0 g
	polysorbát 80	1,0 g
	voda	q.s. 100 ml

20 Sloučenina vzorce (I) se rozpustí v propylenglykolu, polyethylenglykolu 400 a polysorbátu 80. Za míchání se přidá dostatek vody k získání 100 ml roztoku, který se zfiltruje a plní do lahviček.

D.	Složky	%
	sloučenina obecného vzorce I	20,0
	podzemnicový olej	78,0
	Span 60	2,0

Uvedené složky se roztaví, smísí a plní se do pružných kapslí.

25

## Příklad 25

30 Tento příklad objasňuje přípravu reprezentativních farmaceutických prostředků k parenterálnímu podávání, obsahujících sloučeninu obecného vzorce (I) nebo její farmaceuticky vhodnou sůl, například N-(4-methyl-2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylpentanoyl)-L-tryptofan-N''-(4-karboxyfenyl)karboxamid:

## Složky

sloučenina obecného vzorce I	0,02 g
propylenglykol	20,00 g
polyethylenglykol 400	20,00 g
polysorbát 80	1,00 g
0,9% solankový roztok	q.s. 100 ml

Sloučenina obecného vzorce I se rozpustí v propylenglykolu, polyethylenglykolu 400 a polysorbátu 80. Za míchání se přidá dostatek 0,9% solankového roztoku k získání 100 ml roztoku I.V., který se zfiltruje membránovým filtrem 0,2 µm a plní se za sterilních podmínek.

5

## Příklad 26

Tento příklad objasňuje přípravu reprezentativních farmaceutických prostředků ve tvaru čípků, obsahujících sloučeninu obecného vzorce I nebo její farmaceuticky vhodnou sůl, například N-(4-methyl-2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-karboxyfenyl)karboxamid:

Složky	%
sloučenina obecného vzorce I	1,0
polyethylenglykol 1000	74,5
polyethylenglykol 4000	24,5

Složky se roztaví a smísí se na parní lázni a lijí se do formiček obsahujících hmotnost celkově 2,5 g.

## Příklad 27

20

Tento příklad objasňuje přípravu reprezentativních farmaceutických prostředků k inhalování, obsahujících sloučeninu obecného vzorce I nebo její farmaceuticky vhodnou sůl, například N-(4-methyl-2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylpentanoyl)-L-cyklohexylglycin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid:

25

Složky	%
rozmělněná sloučenina vzorce (I)	1,0
rozmělněná laktosa	99,0

Složky se rozemelou, smísí a plní se do inhalátoru opatřeného dávkovací pumpičkou.

## Příklad 28

30

Tento příklad objasňuje přípravu reprezentativních farmaceutických prostředků ve tvaru mlhoviny, obsahujících sloučeninu obecného vzorce I nebo její farmaceuticky přijatelnou sůl, například N-(4-methyl-2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylpentanoyl)-L-t-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid:

35

Složky	%
sloučenina obecného vzorce I	0,005
voda	89,995
ethanol	10,000

Sloučenina obecného vzorce I se rozpustí v ethanolu a smísí se s vodou. Prostředek se pak plní do rozprašovače opatřeného dávkovací pumpičkou.

5

#### Příklad 29

Tento příklad objasňuje přípravu reprezentativních farmaceutických prostředků ve tvaru aerosolu, obsahujícího sloučeninu obecného vzorce I nebo její farmaceuticky přijatelnou sůl, například N-(4-methyl)-2-merkaptomethylpentanoyl-L-leucin-N'-(4-methoxykarboxyfenyl)karboxamid:

10

Složky	%
sloučenina obecného vzorce I	0,10
propellant 11/12	98,90
kyselina octová	1,00

Sloučenina obecného vzorce I se disperguje v oleové kyselině a v propelentech. Výsledná směs se pak vlije do aerosolové nádoby opatřené dávkovacím ventilem.

15

#### Příklad 30

##### Zkouška in vitro

20

Matrylizín se vyčistí do klonované savčí buněčné kultury Blue-Sepharosovým a zink-Sepharosovým chelatačním sloupcem s následnou rychlou proteinovou kapalinovou chromatografií ve sloupci MONO S. Enzym se aktivuje inkubací s 1 mmol APMA po dobu jedné hodiny při teplotě 35 až 37 °C.

25

Sloučeniny obecného vzorce I se rozpustí v dimethylsulfoxidu a přidají se do kyvety obsahující 0,4 µg matrylizínového pufru v 1 ml TC pufru (20mM Tris, 5mM chloridu vápenatého, pH 7,5) (konečná koncentrace 2% v DMSO). Koncentrace sloučenin obecného vzorce I se volí tak, že tvoří nejméně jeden bod pro každou 20% změnu aktivity. Enzym a sloučeniny se nechají předběžně inkubovat 3 minuty při teplotě 37 °C. Ke spuštění reakce se přidá N-(7-dimethylamino-4-methyl)kumarinyl („DACM“) (Sigma) a thiopeptid (Ac-Pro-Leu-Gly-S-„Leu“-Leu-Gly-OEt, Bachem Bioscience Inc.) po 20 µM. Nárůst fluorescence se zaznamená excitací a emisí vlnových délek 395 a 485 nm. Každý datový bod je průměrem duplicitních pokusů. Nejméně šest datových bodů vyjádřených jako změna fluorescence za minutu versus koncentrace sloučeniny se analyzuje pomocí IC<sub>50</sub> v programu Enzfitter.

35

Sloučeniny obecného vzorce I vykazují schopnost inhibovat matrylizín při zkoušení v tomto pokusu.

	HFC	IC <sub>50</sub> (nM) PUMP	HNG	STROM
Sloučenina 2	8,4	k <sup>i</sup> =140fM		1,4

40

#### Příklad 31

##### Zkouška in vitro

45

Touto zkouškou se zjišťuje, zda sloučeniny obecného vzorce I zabraňují uvolňování glykosaminoglykanů (GAG) značených <sup>35</sup>S z chrupavčitých explantátů.

Z chrupavek kolenního kloubu čerstvě zabíjených hovězích dobytčat se připraví malé chrupavčité explantáty (o průměru 3 mm) a označí se  $^{35}\text{SO}_4$ . Glykosaminoglykany (GAG) značené  $^{35}\text{S}$  se vnesou do kultivačního prostředí v návaznosti na přísadu rhIL-1-alfa, která vyvolává expresi chondrocytových matricových metaloproteáz (MMP<sup>1</sup>), včetně stromelyzínu a kollagenázy. Procento inhibice značených GAG se opraví o spontánní uvolňování v nepřítomnosti rhIL-1-alfa. Výsledky každé skupiny představují průměr  $\pm$  střední odchylku S.E.M. pro pět explantátů.

Při testování touto zkouškou vykazují sloučeniny obecného vzorce I schopnost inhibice uvolňování glykosaminoglykanů (GAG) značených  $^{35}\text{S}$  z chrupavčitých explantátů.

EC<sub>54</sub> (molární)

Sloučenina 2

$3,5 \times 10^{-6}$

Příklad 32

15

Zkouška in vitro

Ke studování protikostního resorpčního účinku sloučenin obecného vzorce I se použije in vitro modelu dlouhých kostí krysích zárodků. K vyvolání resorpce in vitro se použije hovězího PTH. Resorpční účinky se vyjadřují množstvím  $^{45}\text{Ca}$  uvolněného z dlouhých kostí krysích zárodků předem značených  $^{45}\text{Ca}$  do kultivačního prostředí. Inhibiční účinek sloučenin vzorce (I) proti resorpci vyvolané hovězím PTH se vyjadřuje jako střední procento inhibice  $\pm$  S.E.M.

Dlouhé kosti (z předloktí) krysích zárodků předem značené  $^{45}\text{Ca}$  se oddělí a uchovají se v miskách Linbro přes noc při teplotě 37 °C v prostředí BGJb, doplněném 1 mg/ml BSA. V každé skupině je 5 párů kostí. Sloučeniny vzorce (I) se rozpustí napřed v ethanolu, pak se zředí na různé koncentrace a prvního dne se přidají současně s hovězím PTH (1-34) při  $1 \times 10^{-8}$  M. Koncentrace ethanolu v každém roztoku sloučeniny je nižší než 0,05 %, což s pokusem neinterferuje. Testy se ukončí šestého dne při jedné výměně prostředí třetího dne.

30

Na konci každé výměny prostředí se načítá  $^{45}\text{Ca}$  přítomný v kultivačním prostředí. Zbývající kosti se digerují v 0,1N kyselině chlorovodíkové a načítá se i  $^{45}\text{Ca}$  přítomný ve štěpených kostech. Výsledky jsou vyjádřeny v %  $^{45}\text{Ca}$  uvolněného z každého páru kostí. Hovězí PTH při  $1 \times 10^{-8}$  M vyvolává resorpci kostí na maximální úroveň, která se pokládá za 100 % a tato koncentrace je použita jako standard. Úroveň základní čáry resorpce kostí v přítomnosti samotného prostředí se pokládá za 0 %. Všechny sloučeninou ošetřené skupiny se porovnají s hovězím PTH (1-34) při  $1 \times 10^{-8}$  M. Koncentrace, při které sloučenina inhibuje resorpci kostí z 50 % je definována jako IC<sub>50</sub>.

Sloučeniny obecného vzorce Ia vykazují schopnost inhibovat kostní resorpci vyvolanou hovězím PTH v této zkoušce.

IC<sub>50</sub> (molární)

Sloučenina 1

$\geq 5 \times 10^{-6}$

Sloučenina 2

$2,7 \times 10^{-7}$

Sloučenina 3

$5 \times 10^{-8}$

Sloučenina 4

$\geq 5 \times 10^{-6}$

Toxikologie

45

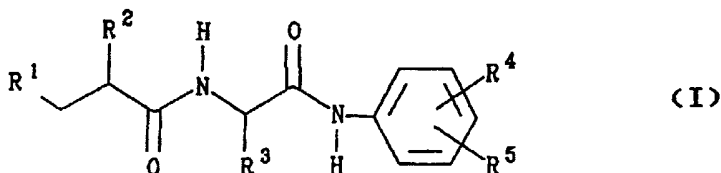
Ve shora popsaných testech nebyly pozorovány žádné závažné toxikologické účinky.

Technická využitelnost

Derivát peptidu účinný pro inhibici matricové metaloproteázové aktivity v případě savců, a proto vhodný pro výrobu farmaceutických prostředků pro ošetřování stavů při kterých přináší úlevu inhibice aktivity matricové metaloproteázy, zejména aktivity stromelyzínu a matrylyzínu, jako je ošetřování artritických onemocnění, nemoci resorpce kostí, jako je osteoporóza, zvýšené destrukce kollagenu spojené s cukrovkou, periodontálních onemocnění, zvředovatění rohovky, zvředovatění pokožky a nádorových metastáz.

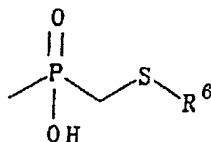
## PATENTOVÉ NÁROKY

## 1. Deriváty peptidu obecného vzorce I



v němž

$R^1$  je merkaptoskupina, acetylthioskupina, karboxyskupina, hydroxykarbamoyl,  $C_{1-4}$ alkoxykarbamoyl, benzyloxykarbamoyl nebo skupina obecného vzorce



v němž

$R^6$  je aryl vybraný ze skupiny zahrnující 2-chinolyl, 1-naftyl, 2-naftyl, pyridyl nebo fenyl, popřípadě substituovaný hydroxylem,

$R^2$  je  $C_{1-4}$ alkyl,  $C_{5-7}$ cykloalkyl- $C_{1-4}$ alkyl nebo fenyl- $C_{1-4}$ alkyl,

$R^3$  je  $C_{5-7}$ cykloalkyl,  $C_{1-4}$ alkyl, popřípadě substituovaný hydroxyskupinou, benzyloxyskupinou,  $C_{1-4}$ alkylthioskupinou, pyridylem nebo indolylem,

$R^4$  je nitroskupina, aminoskupina, kyanoskupina, karboxyskupina,  $C_{1-4}$ alkoxykarbonyl,  $C_{1-4}$ alkoxykarbonyl- $C_{1-4}$ alkyl,  $C_{1-4}$ alkylsulfonyl, aminosulfonyl,  $C_{1-4}$ alkylaminosulfonyl, tetrazolyl nebo karbamoyl, popřípadě substituovaný di- $C_{1-4}$ alkylamino- $C_{1-4}$ alkylem a

$R^5$  je vodík,

ve formě jednotlivých stereoizomerů nebo jejich směsí nebo jejich farmaceuticky přijatelných solí.

2. Deriváty peptidu podle nároku 1, shora uvedeného obecného vzorce I, v němž  $R^1$  je merkaptoskupina nebo acetylthioskupina a ostatní substituenty mají shora uvedené významy.

3. Deriváty peptidu podle nároku 2, uvedeného obecného vzorce I, v němž

$R^3$  je  $C_{5-7}$ cykloalkyl,  $C_{1-4}$ alkyl, popřípadě substituovaný hydroxyskupinou,  $C_{1-4}$ alkylthioskupinou, pyridylem nebo indolyem,

$R^4$  je kyanoskupina, nitroskupina,  $C_{1-4}$ alkoxykarbonyl- $C_{1-4}$ alkyl, aminosulfonyl,  $C_{1-4}$ alkyl-aminosulfonyl, tetrazolyl, karbamoyl, popřípadě substituovaný di- $C_{1-4}$ alkylamino- $C_{1-4}$ alkylem,

$R^5$  je vodík a

ostatní substituenty mají shora uvedené významy.

4. Deriváty peptidu podle nároku 3, uvedeného obecného vzorce I, v němž

$R^2$  je  $C_{1-4}$ alkyl,

$R^3$  je cyklohexyl nebo  $C_{1-4}$ alkyl, popřípadě substituovaný hydroxylem,  $C_{1-4}$ alkylthioskupinou, pyridylem nebo indolyem,

$R^4$  je aminosulfonyl a

ostatní substituenty mají shora uvedené významy.

5. Deriváty peptidu podle nároku 4, uvedeného obecného vzorce I, v němž  $R^2$  a  $R^3$  značí 2-methylpropyl a ostatní substituenty mají shora uvedené významy.

6. Deriváty peptidu podle nároku 5, uvedeného obecného vzorce I, v němž  $R^1$  je merkaptoskupina nebo acetylthioskupina,  $R^4$  je methoxykarbonyl a ostatní substituenty mají shora uvedené významy.

7. Deriváty peptidu podle nároku 6 ve formě jejich jednotlivých stereoizomerů, jimiž jsou konkrétně

N-(4-methyl-2-merkaptomethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid nebo

N-(4-methyl-2-acetylthiomethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid, nebo

jejich farmaceuticky přijatelné soli.

8. Deriváty peptidu podle nároku 1, uvedeného obecného vzorce I, v němž  $R^1$  je karboxyl nebo hydroxykarbamoyl a ostatní substituenty mají shora uvedené významy.

9. Deriváty peptidu podle nároku 8, uvedeného obecného vzorce I, v němž

$R^3$  je  $C_{5-7}$ cykloalkyl nebo  $C_{1-4}$ alkyl, popřípadě substituovaný hydroxylem,  $C_{1-4}$ alkylthioskupinou, pyridylem nebo indolyem,

R<sup>4</sup> je kyanoskupina, nitroskupina, aminoskupina, C<sub>1-4</sub>alkoxykarbonyl-C<sub>1-4</sub>alkyl, aminosulfonyl, C<sub>1-4</sub>alkylaminosulfonyl, tetrazolyl, karbamoyl, popřípadě substituovaný di-C<sub>1-4</sub>alkylamino-C<sub>1-4</sub>alkylem,

5 R<sup>5</sup> je vodík a

ostatní substituenty mají shora uvedené významy.

10 10. Deriváty podle nároku 9, uvedeného obecného vzorce I, v němž

R<sup>2</sup> je C<sub>1-4</sub>alkyl,

15 R<sup>3</sup> je cyklohexyl nebo C<sub>1-4</sub>alkyl, popřípadě substituovaný hydroxylem, C<sub>1-4</sub>alkylthioskupinou, pyridylem nebo indolyem,

R<sup>4</sup> je aminosulfonyl a

ostatní substituenty mají shora uvedené významy.

20

11. Deriváty peptidu podle nároku 10, uvedeného obecného vzorce I, v němž R<sup>2</sup> je 2-methylpropyl a ostatní substituenty mají shora uvedené významy.

25 12. Deriváty peptidu podle nároku 11, uvedeného obecného vzorce I, v němž R<sup>3</sup> je cyklohexyl, 2-methylpropyl, pyrid-3-ylmethyl, 1-benzyloxyethyl, 1-methylpropyl, 1,1-dimethylethyl, 1-hydroxyethyl a indol-2-ylmethyl a ostatní substituenty mají shora uvedené významy.

30 13. Deriváty peptidu podle nároku 12, uvedeného obecného vzorce I, v němž R<sup>3</sup> je 2-methylpropyl, R<sup>4</sup> je karboxyl nebo methoxykarbonyl a ostatní substituenty mají shora uvedené významy.

14. Deriváty peptidu podle nároku 13, jimiž jsou konkrétně

35 N-(4-methyl-2-karboxymethylpentanoyl)-L-cyklohexylglycin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)-karboxamid,

N-(4-methyl-2-karboxymethylpentanoyl)-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

N-[4-methyl-2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylpentanoyl]-L-leucin-N'-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid,

40 N-[4-methyl-2-(N''-hydroxykarbamoyl)methylpentanoyl]-L-tryptofan-N''-(4-methoxykarbonylfenyl)karboxamid nebo jejich farmaceuticky přijatelné soli.

45 15. Farmaceutické prostředky inhibující matricovou metaloproteázovou aktivitu u savců, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že jako účinnou látku obsahují účinné množství derivátů peptidu podle nároků 1 až 14 ve spojení s farmaceuticky přijatelnými excipienty.

16. Deriváty peptidu podle nároku 1, uvedeného obecného vzorce I, pro použití jako účinné látky k inhibici matricové metaloproteázové aktivity u savců.

50

---

Konec dokumentu

---