

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **21.02.2001**
(32) Datum podání prioritní přihlášky: **26.02.2000**
(31) Číslo prioritní přihlášky: **2000/00104041**
(33) Země priority: **EP**
(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **13.11.2002**
(Věstník č. 11/2002)
(86) PCT číslo: **PCT/EP01/01928**
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO01/062735**

(21) Číslo dokumentu:

2002 - 2862

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 C 237/10 A 61 P 9/00
C 07 C 279/00
C 07 D 217/14
C 07 D 207/08
C 07 K 5/08
A 61 K 31/40
A 61 K 31/435
A 61 K 31/06

(71) Přihlašovatel:

AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GMBH,
Frankfurt, DE;

(72) Původce:

Al-Obeidi Fahad, Tucson, AZ, US;
Walser Armin, Tucson, AZ, US;
Wildgoose Peter, Bella Mead, NJ, US;

(74) Zástupce:

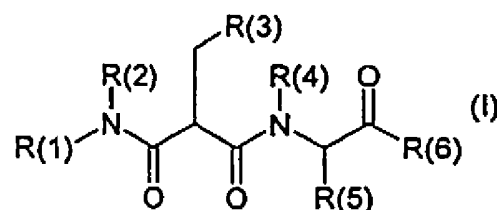
Kubát Jan Ing., Přístavní 24, Praha 7, 17000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Nové deriváty kyseliny malonové, způsoby jejich
přípravy, jejich použití jako inhibitory aktivity
faktoru Xa a farmaceutické přípravky obsahující
tyto deriváty**

(57) Anotace:

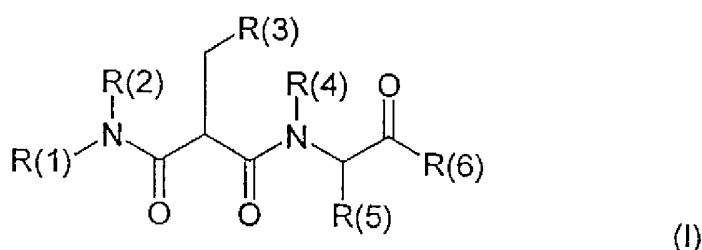
Řešení popisuje nové sloučeniny pro inhibici proteinů krevního srážení, zejména pak popisuje deriváty malonové kyseliny vzorce I, kde substituenty R(1), R(2), R(3), R(4), R(5) a R(6) mají specifický význam. Sloučeniny obecného vzorce I jsou inhibitory enzymového faktoru Xa, vyskytujícího se při krevním srážení. Dále řešení popisuje způsoby přípravy sloučenin obecného vzorce I, způsoby inhibice aktivity faktoru X a inhibice krevního srážení, použití sloučenin obecného vzorce I při léčbě a profylaxi nemocí, kterým může být předcházeno nebo které mohou být léčeny inhibicí aktivity faktoru Xa, jako jsou tromboembolické nemoci a popisuje také použití sloučenin obecného vzorce I při přípravě léčivých přípravků, které mají být aplikovány při takových onemocněních. Dále jsou popsány přípravky obsahující sloučeniny obecného vzorce I ve směsi s jiným inertním nosičem, zejména farmaceutické přípravky obsahující sloučeninu obecného vzorce I společně s farmaceuticky přijatelnými nosičovými látkami a pomocnými látkami.



Nové deriváty kyseliny malonové, způsoby jejich přípravy, jejich použití jako inhibitory aktivity faktoru Xa a farmaceutické přípravky obsahující tyto deriváty

Oblast techniky

Předložený vynález se týká sloučenin obecného vzorce I



kde substituenty R(1), R(2), R(3), R(4), R(5) a R(6) mají významy definované dále. Sloučeniny obecného vzorce I jsou cennými farmakologicky aktivními sloučeninami. Vykazují silný antitrombotický účinek a jsou vhodné, například pro léčbu nebo profylaxi kardiovaskulárních chorob, jako je tromboembolická choroba nebo restenóza. Jsou reversibilními inhibitory enzymového faktoru Xa účastnícího se srážení krve a mohou se obecně aplikovat při stavech, při kterých dochází k nežádoucí aktivitě faktoru Xa nebo pro léčbu nebo prevenci, kdy je žádána inhibice faktoru Xa. Vynález také popisuje způsoby přípravy sloučenin obecného vzorce I, způsoby inhibice faktory Xa a inhibici srážení krve, způsoby použití sloučenin obecného vzorce I při ošetření a prevenci proti onemocněním, která mohou být ošetřena nebo kterým je možno zabránit inhibicí aktivity faktoru Xa, například tromboembolická onemocnění a způsoby použití sloučenin obecného vzorce I při přípravě léčebných přípravků, které mají být aplikovány při takových onemocněních. Vynález dále popisuje přípravky obsahující sloučeninu obecného vzorce I v příměsi nebo jiným způsobem vázané na inertní nosič, zejména farmaceutické přípravky,

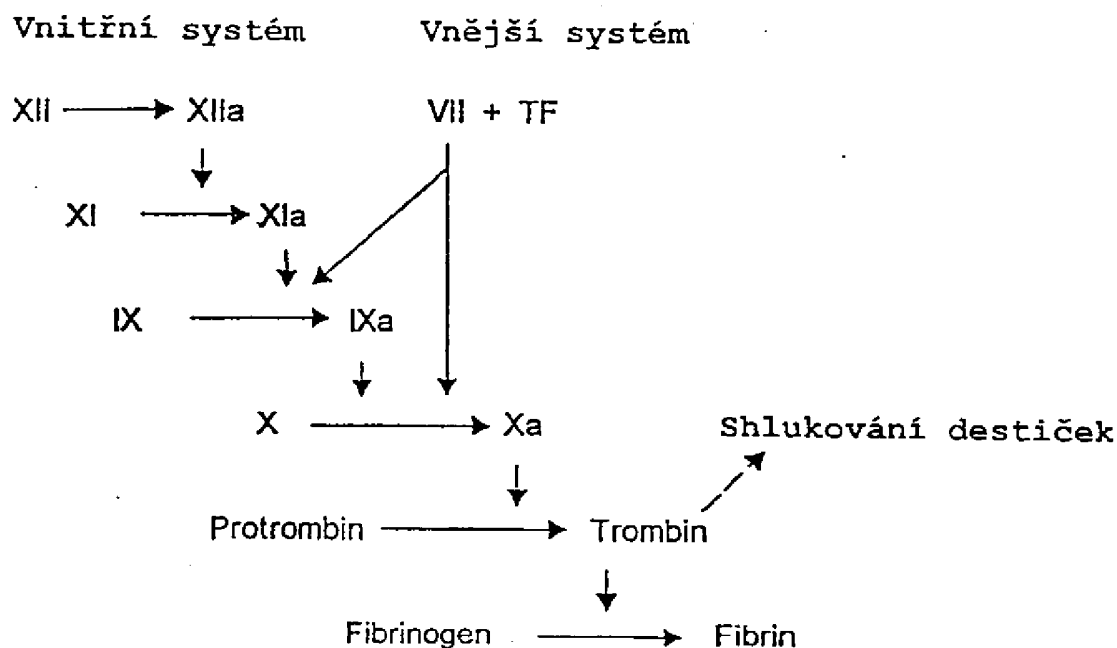
obsahující sloučeninu obecného vzorce I společně s farmaceuticky přijatelným nosičem a pomocnými látkami.

Dosavadní stav techniky

Schopnost tvorby krevní sraženiny je k samotnému přežití životně důležitá. Nicméně při určitých onemocněních tvorba krevních sraženin uvnitř cirkulačního systému dosáhne nežádoucího rozsahu, a samotná je zdrojem onemocnění, potenciálně vedoucí k patologickým následkům. Přesto není žádoucí při takových onemocněních inhibovat v plném rozsahu srážlivost krve, protože samotné krvácení má varovný charakter. Při léčbě takových stavů se požaduje vyrovnaný zásah do systému srážení krve a proto existuje stálá potřeba pro látky vykazující vhodný farmakologický profil pro dosažení takového výsledku.

Srážení krve je komplexní proces zahrnující progresivně zesílené posloupnosti reakcí aktivujících enzymy, ve kterých jsou plazmové zymogeny sekvenčně aktivovány limitovanou proteolýzou. Z hlediska projevu byl proces srážení krve rozdělen na vnitřní systém a vnější systém, které se spojují při aktivaci faktoru X. Další tvorba trombinu probíhá jednoduchým způsobem (viz schéma 1).

Schéma 1: Krevní koagulační kaskáda AVE D-2000/A012



Předložené údaje předpokládají, že vnitřní systém hraje důležitou roli při podpoře a růstu vznikajícího fibrinu, zatímco vnější systém je rozhodující při iniciační fázi srážení krve. Obecně se předpokládá, že srážení krve je fyzikálně iniciováno po vzniku komplexu tkáňového faktoru (TF) a faktoru VIIa. Jakmile tento komplex vznikne, rychle iniciuje srážení aktivací faktorů IX a X. Nově vytvořený aktivovaný faktor X, tzn. faktor Xa, pak formuje komplex typu „jeden s jedním“ (one-to-one) s faktorem Va a fosfolipidy za vzniku komplexu protrombinázy, který je odpovědný za přeměnu rozpustného fibrinogenu na nerozpustný fibrin aktivací trombinu z jeho prekursoru protrombinu. S postupem času je aktivita komplexu faktoru VIIa a tkáňového faktoru (vnější systém) potlačována proteinovým inhibitorem proteázy Kunitzova typu, TFPI, který, pokud komplexuje faktor Xa, může přímo inhibovat proteolytickou aktivitu komplexu faktoru VIIa a tkáňového faktoru. K udržení procesu srážení za přítomnosti inhibovaného vnějšího systému je produkován další faktor Xa přes trombinem zprostředkovanou aktivitu vnitřního systému.

Z tohoto důvodu hraje trombin dvojí autokatalytickou roli, zprostředkování své vlastní produkce a přeměnu fibrinogenu na fibrin.

Autokatalytický charakter tvorby trombinu je důležité ochranné opatření proti nekontrolovatelnému krvácení a zaručuje, že jakmile vznikne daná prahová hladina protrombinázy, srážení krve probíhá až dokonce, čímž se ovlivní např. konec krvácení. Z toho vyplývá, že největší poptávka je po činidle, které inhibuje srážení bez přímé inhibice trombinu, ale inhibuje jiné kroky v koagulační kaskádě jako faktor Xa.

V mnoha klinických aplikacích je stále velká potřeba prevence proti intravaskulárním krevním sraženinám nebo antikoagulační léčby. Například téměř u 50 % pacientů, kteří prodělali celkové odstranění kyčelního kloubu, se rozvinula hluboká žilní trombóza (DVT). V současné době mezi osvědčené terapie patří podávání fixních dávek heparinu s nízkou molekulovou hmotností (LMWH) a jiných různých dávek heparinu. Dokonce ani s těmito režimy nelze zabránit tomu, aby se u 10 % až 20 % pacientů nevyvinula komplikace s DVT a u 5-10 % pacientů komplikace s krvácením.

Další klinický případ, pro který jsou potřeba antikoagulační prostředky, se týká subjektů, které podstoupily transluminální koronární angioplastiku, a subjekty s rizikem na infarkt myokardu nebo anginu. Současná, obvykle používaná terapie se skládá z podávání heparinu a aspirinu je doprovázena v průměru s 6 % až 8 % uzavřením cévy během 24 hodin. Poměr komplikací s krvácením, které vyžadují transfuzi během použití heparinu je rovněž přibližně 7 %. Navíc, i když jsou opožděná uzavření významná, podávání heparinu po zakončení procedur je prakticky neúčinné a může být škodlivé.

Mezi nejvíce používané inhibitory srážení krve patří heparin a příbuzné sulátované polysacharidy, LMWH a heparin-sulfát. Tyto molekuly projevují svoje antikoagulační účinky aktivací vazby přirozeného regulátoru procesu srážení, antitrombinu III, na trombin a faktor Xa. Inhibiční aktivita heparinu směřuje primárně na trombin, který je inaktivován přibližně 100x rychleji než faktor Xa. Ačkoliv ve srovnání s heparinem heparin-sulfát a LMWH, jsou trochu silnějšími inhibitory Xa než trombin, rozdíly in vitro jsou mírné (3-30x) a účinky in vivo mohou být nedůležité. Hirudin a hirulog jsou dva další specifické antikoagulační prostředky pro trombin, které byly testovány při klinických testech. Nicméně tyto antikoagulační prostředky, které inhibují trombin, jsou také spojeny s komplikacemi krvácení.

Preklinické studie na paviánech a psech ukázaly, že specifické inhibitory faktoru Xa zabraňují vzniku sraženin bez vytvoření vedlejších účinků v podobě krvácení, které byly zjištěny u přímých inhibitorů trombinu.

Bylo publikováno několik specifických inhibitorů faktoru Xa. Byly identifikovány syntetické a proteinové inhibitory faktoru Xa zahrnující např. antistasin („ATS“) a antikoagulační peptid klíšťat („TAP“). ATS, který byl izolován z pijavice, *Haementerin officinalis*, obsahuje 119 aminokyselin a má hodnotu K_i pro faktor Xa 0,05 nM. TAP, který byl izolován z klíštěte, *Ornithodoros moubata*, obsahuje 60 aminokyselin a má hodnotu K_i pro faktor Xa asi 0,5 nM.

Účinnost rekombinantně produkovaných ATS a TAP byla zkoumána na mnoha zvířecích modelových systémech. Oba inhibitory snižují dobu krvácení při srovnání s jinými antikoagulačními prostředky a zabraňují srážení v ligované jugulární žíle provedené na tromboplastinem indukovaném modelu hluboké žilní

trombózy. Výsledky dosažené na těchto modelech koreluji s výsledky získanými při použití běžného léku, který je na výběr, heparinu.

Bylo také zjištěno, že subkutánní ATS patří mezi účinná ošetření při tromboplastinem indukovaném modelu diseminované intravaskulární koagulace (DIC). TAP účinně zabraňuje „silné“ arteriální trombóze a „sníženému toku“, který je způsoben chirurgických vložení polyesterového („DACRON“) štěpu při hladinách, které vytvářejí klinicky přijatelné prodloužení doby parciální aktivace tromboplastinu (aPTT), tzn. méně než asi dvojnásobné prodloužení. Při srovnání, standardní heparin, dokonce i při dávkách způsobujících pětinašobné zvýšení aPTT, nezabraňuje trombóze a sníženému toku ve štěpu. aPTT je klinická zkouška koagulace, která je zejména citlivá na inhibitory trombinu.

ATS a TAP nebyly vyvíjeny klinicky. Jedna z hlavních nevýhod těchto dvou inhibitorů spočívá v tom, že aplikace požadovaných opakovaných dávek způsobuje tvorbu neutralizačních protilátek, čímž omezuje jejich možné klinické použití. Navíc velikost TAP a ATS činí perorální aplikaci nemožnou a dále zužuje počet pacientů, kteří by mohli využít tato činidla.

Specifický inhibitor faktoru Xa s příznivým profilem by měl výrazné praktické použití v lékařství. Zejména by inhibitor faktoru Xa mohl být účinný za podmínek, při kterých dosavadní léky výběru, heparin a příbuzné sulfátované polysacharidy, jsou neúčinné nebo mají pouze omezené účinky.

Inhibitory krevního srážení, které jsou specifické pro faktor Xa a mají nízkou molekulovou hmotnost, ale nezpůsobují nežádoucí vedlejší účinky byly popsány (mezinárodní přihláška WO 9529189). Jako inhibitory krevního srážení, které jsou

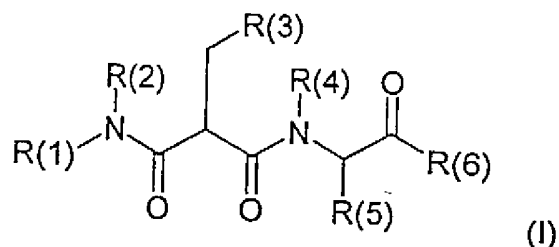
22.08.02

specifické pro faktor Xa a mají nízkou molekulovou hmotnost, byly popsány deriváty indolu v WO-A-99/33800. Nicméně kromě toho, že inhibitory krevního srážení mají být specifické pro faktor Xa, je také žádoucí, aby takové inhibitory byly také výhodné z farmakologického hlediska, tzn. např. aby byly dobře biologicky dostupné při orálním podání, aby byly velice stabilní v plazmě a játrech a měly vysokou selektivitu oproti jiným serinovým proteázám, jejichž inhibice není požadována, jako trombin. Z toho vyplývá, že je zde stálá potřeba nových inhibitorů krevního srážení, které jsou specifické pro faktor Xa, mají nízkou molekulovou hmotnost, jsou účinné a mají také výše uvedené výhody. Arylalkanoylové deriváty a deriváty kyseliny malonové, které jsou vhodné jako inhibitory faktoru Xa jsou popsány v Evropských patentových č. 99100001, 99100002, 99119537 a 99119538.

Předložený vynález splňuje tyto potřeby novými deriváty malonové kyseliny vzorce I, které inhibují aktivitu faktoru Xa, a jsou cennými činidly pro inhibici tvorby krevních sraženin a trombu.

Podstata vynálezu

Předmětem předloženého vynálezu jsou sloučeniny obecného vzorce I,



kde

22.08.02

R(1) je vodík, alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenylová skupina se 2 až 6 atomy uhlíku, arylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku, arylalkylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, kde arylová skupina v arylalkylové části je nesubstituovaná je substituovaná skupinou R(17);

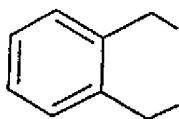
R(2) je vodík nebo alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku;

R(3) je arylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku, která je substituována s R(7);

R(4) je vodík nebo alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku;

R(5) je alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku, cykloalkylová skupina se 3 až 7 atomy uhlíku, cykloalkylalkylová skupina se 3 až 7 atomy uhlíku v cykloalkylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, arylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku, arylalkylová skupina se 6 až 10 atomy v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, kde arylová skupina v arylalkylové části je nesubstituovaná je substituovaná skupinou R(20) a kde alkylová skupina je nesubstituovaná nebo je substituovaná zbytkem R21; nebo

R(4) a R(5) spolu tvoří zbytek vzorce II



(II);

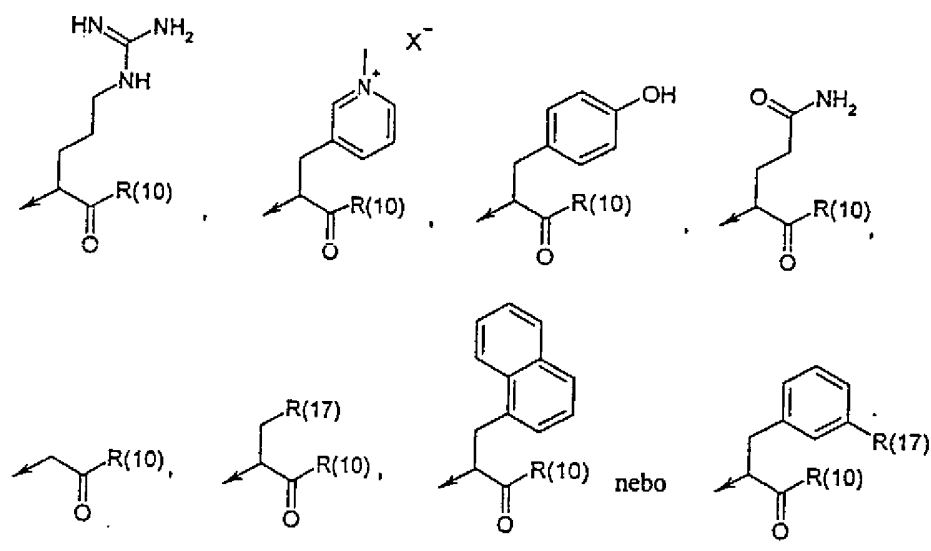
kde R(6) je N(R8) (R9) nebo OR(22);

22.08.02

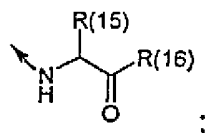
R(7) je R(17) nebo R(20);

R(8) je vodík; alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, kde alkylová skupina je nesubstituovaná nebo je substituovaná zbytkem R(20); heteroarylalkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části; arylalkylová skupina se 6 až 10 atomy v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, kde aryllová skupina je nesubstituovaná je substituovaná skupinou R(17);

R(9) je arylalkylová skupina se 6 až 10 atomy v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části,



R(10) je NR(12)R(13) nebo OR(14) nebo



R(12) je vodík nebo alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku;

R(13) je vodík, arylalkylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části nebo alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku;

R(14) je vodík, alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, alkenylová skupina se 2 až 4 atomy uhlíku nebo arylalkylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části;

R(15) je cykloalkylalkylová skupina se 3 až 7 atomy uhlíku v alkylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části;

R(16) je R(20);

R(17) je $-C(=N-R(18))-N(R(19))_2$;

R(18) je vodík, hydroxyskupina nebo ochranná skupina aminoskupiny;

R(19) je vodík, alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, arylalkoxykarbonylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkoxylové části nebo ochranná skupina aminoskupiny;

R(20) je $N(R(19))_2$;

R(21) je hydroxyskupina, arylalkoxyskupina se 6 až 10 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkoxylové části, arylalkoxykarbonylaminová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkoxylové části, karboxylová skupina nebo R(20);

R(22) je vodík nebo alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku;

X^- je fyziologicky přijatelný anion;

ve všech stereoizomerních formách a jejich směsích v jakémkoli poměru a jejich fyziologicky přijatelné soli.

Alkylové zbytky přítomné ve sloučeninách obecného vzorce I mohou být nasycené nebo nenasycené (a proto zahrnují alkenylové a alkynylové zbytky) a s rovným řetězcem nebo rozvětvené. Toto také platí když obsahují substituenty nebo jsou substituenty v jiných zbytcích, například v alkoxylových zbytcích, arylalkoxylových zbytcích, alkoxykarbonylových zbytcích, cykloalkylových zbytcích, arylalkylových zbytcích, heteroarylakylových zbytcích a arylalkoxykarbonylových zbytcích. Příklady nasycených alkylových zbytků jsou methylová skupina, ethylová skupina, n-propylová skupina, n-butylová skupina, izopropylová skupina, izobutylová skupina, sek-butylová skupina a terc-butylová skupina, n-pentylová skupina, n-hexylová skupina, izopentylová skupina, izohexylová skupina, neopentylová skupina, 3-methylpentylová skupina a terc-pentylová skupina, příklady nenasycených alkylových skupin jsou vinylová skupina, 1-propenylová skupina, 2-propenylová skupina (tj. allylová skupina), butenylová skupina, 3-methyl-2-butenylová skupina, pentenylová skupina, hexenylová skupina (alkenylové zbytky) nebo ethynylová skupina, 1-propynylová skupina, 2-propynylová skupina (tj. propargylová skupina), butynylová skupina, pentynylová skupina a hexynylová skupina (alkynylové zbytky).

Cykloalkylové zbytky přítomné ve sloučeninách obecného vzorce I mohou být mono-, di- nebo tricyklické a jsou spojeny v kruh. Totéž také platí pokud tvoří substituenty v jiných zbytcích. Příklady cykloalkylových zbytků jsou cyklopropylová skupina, methylcyklopropylová skupina, ethylcyklopropylová skupina,

dimethylcyklopropylová skupina, propylcyklopropylová skupina, methylethylcyklopropylová skupina, butylcyklopropylová skupina, methylpropylcyklopropylová skupina, diethylcyklopropylová skupina, cyklobutylová skupina, methylcyklobutylová skupina, ethylcyklobutylová skupina, cyklopentylová skupina, methylcyklopentylová skupina, ethylcyklopentylová skupina, dimethylcyklopentylová skupina, cyklohexylová skupina, methylcyklohexylová skupina a cykloheptylová skupina, kde ethylová skupina, propylová skupina a butylová skupina mohou být s přímým nebo rozvětveným řetězcem, jak je popsáno shora.

Příklady arylové skupiny jsou fenylová skupina a naftyllová skupina.

Arylalkylové zbytky přítomné ve sloučeninách obecného vzorce I se mohou skládat z alkylového zbytku, který obsahuje jednu až tři arylové části. Příklady arylalkylových zbytků jsou fenylmethylová skupina, fenylethylová skupina, fenylpropylová skupina, fenylbutylová skupina, naftylmethylová skupina, naftylethylová skupina, naftylpropylová skupina, naftylbutylová skupina, difenylmethylová skupina, difenylethylová skupina, difenylpropylová skupina, difenylbutylová skupina, naftylfenylmethylová skupina, naftylfenylbutylová skupina, dinaftylbutylová skupina a trifenylethylová skupina.

Příklady heteroarylových zbytků jsou pyridylová skupina, pyridazinylová skupina, pyrimidinylová skupina, pyrazinylová skupina, furanylová skupina, pyrrolylová skupina, imidazolylová skupina, 1H-pyrazolylová skupina, thiazolylová skupina, oxazolylová skupina, thiofenylová skupina, 1H-benzimidazolylová skupina, benzothiazolylová skupina, benzofuranylová skupina, indolylová skupina, thieno[3,2-c]pyridinylová skupina, thienp[2,3-c]pyridinylová skupina, furo[3,2-c]pyridinylová skupina, furo[2,3-c]pyridinylová skupina, 3H-imidazo[4,5-

c]pyridinylová skupina, [1,2,4]oxadiazolylová skupina, chinolinylová skupina a izochinolinylová skupina. Tyto zbytky mohou být vázány v kterékoli poloze.

Příklady pyridylových zbytků jsou 2-pyridylová skupina, 3-pyridylová skupina a 4-pyridylová skupina. Totéž se rovněž aplikuje u pyridylových zbytků, kde je atom dusíku substituován alkylovou skupinou a podobně. Tato substituce vede k pozitivně nabitě pyridiniové skupině. Tato pyridiniová skupina má X^- jako protiion.

V monosubstituovaných fenylových zbytcích se může substituent nacházet v 2-poloze, 3-poloze nebo 4-poloze.

Naftylové zbytky mohou být 1-naftylová skupina a 2-naftylová skupina. V substituovaných naftylových zbytcích mohou být substituenty v kterékoli poloze, tj. v monosubstituovaných 1-naftylových zbytcích ve 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7- nebo 8-poloze a v monosubstituovaných 2-naftylových zbytcích v 1-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7- nebo 8-poloze.

Výhodná arylakylvá skupina se 6 až 10 atomy uhlíku v arylové skupině a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové skupině je benzylová skupina.

Výhodné ochranné skupiny pro aminovou skupinu jsou odborníkům známe a zahrnují například ty skupiny, které se obvykle používají v syntéze peptidů. Vhodné ochranné skupiny aminové skupiny ve zbytcích R(18) a R(19) mohou být například následující zbytky:

alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku, alkylkarbonylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylové části, alkyloxykarbonylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku v alkoxylové části, alkyloxykarbonyloxyalkoxykarbonylová skupina s 1 až 18 atomy

uhlíku v alkylové části a 1 až 6 atomy uhlíku v alkoxylové části, případně substituovaná arylkarbonylová skupina se 6 až 14 atomy uhlíku v arylové části, případně substituovaná aryloxykarbonylová skupina se 6 až 14 atomy uhlíku v arylové části, arylalkoxykarbonylová skupina se 6 až 14 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 6 atomy uhlíku v alkylové části, které mohou být substituovány v arylové části; kyanoskupina, nitroskupina, aminoskupina, hydroxyskupina, alkoxyskupina s 1 až 6 atomy uhlíku a arylalkoxyskupina se 6 až 14 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 6 atomy uhlíku v alkoxylové části, která je nesubstituovaná nebo substituovaná v arylové části například alkoxyskupinou s 1 až 4 atomy uhlíku, výhodně methoxyskupinou, chlorem, alkylovou skupinou s 1 až 4 atomy uhlíku, výhodně methylovou skupinou.

Alkylová skupina s 1 až 3 atomy uhlíku znamená alkylovou skupinu obsahující 1, 2 nebo 3 atomy uhlíku.

Alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku znamená alkylovou skupinu obsahující 1, 2, 3 nebo 4 atomy uhlíku.

Alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku znamená alkylovou skupinu obsahující 1, 2, 3, 4, 5 nebo 6 atomů uhlíku.

Alkenylová skupina se 2 až 6 atomy uhlíku znamená alkenylovou skupinu obsahující 2, 3, 4, 5 nebo 6 atomů uhlíku

Arylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku znamená arylovou skupinu obsahující 6, 7, 8, 9 nebo 10 atomů uhlíku.

Arylová skupina se 6 až 14 atomy uhlíku znamená arylovou skupinu obsahující 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 nebo 14 atomů uhlíku.

Alkoxyskupina s 1 až 4 atomy uhlíku znamená alkoxyskupinu obsahující 1, 2, 3 nebo 4 atomy uhlíku.

Alkoxyskupina s 1 až 6 atomy uhlíku znamená alkoxyskupinu obsahující 1, 2, 3, 4, 5 nebo 6 atomů uhlíku.

Alkoxykarbonylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku v alkoxylové části znamená alkoxykarbonylovou skupinu obsahující 1, 2, 3, 4, 5 nebo 6 atomů uhlíku v alkoxylové části.

Alkylkarbonylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylové části znamená alkylkarbonylovou skupinu obsahující 1, 2, 3, 4, 5 nebo 6 atomů uhlíku v alkylové části.

Arylalkylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části znamená arylalkylovou skupinu obsahující navzájem nezávisle 6, 7, 8, 9 nebo 10 atomů uhlíku v arylové části a 1, 2, 3 nebo 4 atomy uhlíku v alkylové části.

Arylalkoxyskupina se 6 až 14 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 6 atomy uhlíku v alkoxylové části znamená arylalkoxyskupinu obsahující navzájem nezávisle 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 nebo 14 atomů uhlíku v arylové části a 1, 2, 3, 4, 5 nebo 6 atomů uhlíku v alkoxylové části.

Arylalkoxyskupina se 6 až 10 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkoxylové části znamená arylalkoxyskupinu obsahující navzájem nezávisle 6, 7, 8, 9 nebo 10 atomů uhlíku v arylové části a 1, 2, 3 nebo 4 atomy uhlíku v alkoxylové části.

Heteroarylalkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části znamená heteroarylalkylovou skupinu obsahující 1, 2, 3 nebo 4 atomy uhlíku v alkylové části.

Alkylkarbonyloxyalkoxykarbonylová skupina s 1 až 18 atomy uhlíku v alkylové části a 1 až 6 atomy uhlíku v alkoxylové části znamená alkylkarbonyloxyalkoxykarbonylovou skupinu obsahující navzájem nezávisle 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 nebo 18 atomů uhlíku v alkylové části a 1, 2, 3, 4, 5 nebo 6 atomů uhlíku v alkoxylové části.

Arylkarbonylová skupina se 6 až 14 atomu uhlíku znamená arylkarbonylovou skupinu obsahující 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 nebo 14 atomů uhlíku v arylové části.

Aryloxykarbonylová skupina se 6 až 14 atomy uhlíku v arylové části znamená aryloxykarbonylovou skupinu obsahující 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 nebo 14 atomů uhlíku v arylové části.

Arylalkoxyskupina se 6 až 14 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 6 atomy uhlíku v alkoxylové části znamená arylalkoxyskupinu obsahující navzájem nezávisle 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 nebo 14 atomů uhlíku v arylové části a 1, 2, 3, 4, 5 nebo 6 atomů uhlíku v alkoxylové části.

Arylalkoxykarbonylová skupin se 6 až 14 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 6 atomy v alkoxylové části znamená arylalkoxykarbonylovou skupinu obsahující navzájem nezávisle 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 nebo 14 atomů uhlíku v arylové části a 1, 2, 3, 4, 5 nebo 6 atomů uhlíku v alkoxylové části.

Arylalkoxykarbonylová skupin se 6 až 10 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 4 atomy v alkoxylové části znamená arylalkoxykarbonylovou skupinu obsahující navzájem nezávisle 6, 7, 8, 9 nebo 10 atomů uhlíku v arylové části a 1, 2, 3 nebo 4 atomy uhlíku v alkoxylové části.

Cykloalkylová skupina se 3 až 7 atomy uhlíku znamená cykloalkylovou skupinu obsahující 3, 4, 5, 6 nebo 7 atomů uhlíku. Cykloalkylalkylová skupina se 3 až 7 atomy uhlíku v cykloalkylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části znamená cykloalkylovou skupinu obsahující navzájem nezávisle 3, 4, 5, 6 nebo 7 atomů uhlíku v cykloalkylové části a 1, 2, 3 nebo 4 atomy uhlíku v alkylové části.

Je třeba vzít v úvahu, že zbytky přítomné více než jedenkrát ve sloučenině obecného vzorce I, například zbytky R(17), R(18), R(19), R(20) a R(21) jsou navzájem nezávislé a mohou být stejné nebo různé.

Fyziologicky přijatelné anionty X^- , které jsou přítomné ve sloučeninách obecného vzorce I, pokud je přítomna pozitivně nabitá skupina, mohou být anionty odvozené od vhodných

anorganických kyselin nebo organických karboxylových kyselin nebo sulfonových kyselin. Vhodné kyseliny jsou zejména farmaceuticky přijatelné nebo netoxické soli. Příklady takových kyselin jsou uvedeny níže jako příklady kyselin, které mohou tvořit fyziologicky přijatelné soli se sloučeninami obecného vzorce I obsahujícími bazické skupiny. Pokud sloučenina obecného vzorce I obsahuje aniont X^- a zároveň jsou přítomny jako adiční sůl s kyselinou v bazické skupině, může být aniont X^- stejný nebo rozdílný jako aniont vzniklý vytvořením soli. Předložený vynález také zahrnuje intramolekulární soli (nebo betainy) sloučenin obecného vzorce I.

Fyziologicky přijatelné soli sloučenin obecného vzorce I jsou zejména farmaceuticky přijatelné nebo netoxické soli. Takové soli jsou vytvořeny např. ze sloučenin obecného vzorce I, které obsahují kyselé skupiny, např. skupiny karboxylových kyselin. Příklady takových solí jsou např. soli obsahující kationty alkalických kovů nebo kovů alkalických zemin, např. sodík, draslík, hořčík nebo vápník, nebo nesubstituovaný amonný kationt nebo organické amonné kationty, které zahrnují kationty získané z fyziologicky přijatelných organických aminů, např. methylaminu, ethylaminu, triethylaminu, ethynolaminu, tris(2-hydroxyethyl)aminu nebo aminokyselin protonací nebo vhodné kvarterní amonné kationty jako např. tetramethylamonium.

Sloučeniny obecného vzorce I, které obsahují bazické skupiny, např. amino, amidino nebo guanidino skupinu, tvoří adiční soli s kyselinami, např. s anorganickými kyselinami, organickými karboxylovými a organickými sulfonovými kyselinami. Příklady takových aniontů kyselin, které mohou být přítomny ve fyziologicky přijatelných solích sloučenin obecného vzorce I, zahrnují chlorovodíkovou, bromovodíkovou, sírovou, fosforeč-

nou, octovou, benzoovou, šťavelovou, malonovou, jantarovou, maleinovou, fumarovou, jablečnou, vinnou, citronovou, methan-sulfonovou, p-toluensulfonovou nebo naftalensulfonovou kyselinu.

Fyziologicky přijatelné soli sloučenin obecného vzorce I mohou být připraveny podle standardních způsobů, např. smícháním sloučeniny obecného vzorce I s požadovanou bází, např. hydroxidem alkalického kovu nebo uhličitánem nebo hydrogen-uhličitánem nebo aminem, nebo s požadovanou kyselinou v rozpouštědle nebo ředícím roztoku. Fyziologicky přijatelné soli sloučenin obecného vzorce I mohou také být připraveny z dalších solí, např. solí trifluoroctové kyseliny standardními způsoby výměny kationtů nebo aniontů. Předložený vynález také obecně zahrnuje soli sloučenin obecného vzorce I, které jsou např. získány během chemických syntéz sloučenin, jenž mohou být používány jako výchozí látky pro další přípravu požadovaných fyziologicky přijatelných solí. Předložený vynález dále zahrnuje solváty sloučenin obecného vzorce I, např. hydráty nebo alkoholáty.

Sloučeniny obecného vzorce I podle vynálezu mohou obsahovat opticky aktivní atomy uhlíku, které nezávisle jeden na druhém mohou mít konfiguraci R nebo S. Mohou se tak vyskytovat ve formě jednotlivých enantiomerů nebo jednotlivých diastereoizomerů nebo ve formě směsí enantiomerů včetně racemátů nebo směsí diastereoizomerů. Předložený vynález popisuje čisté enantiomery i směsí enantiomerů ve všech možných poměrech a čisté diastereoizomery a směsí diastereoizomerů ve všech možných poměrech. Vynález také zahrnuje směsí dvou stereoizomerů, jakož i směsí více než dvou stereoizomerů obecného vzorce I a všechny možné poměry stereoizomerů ve směsích.

Sloučeniny obecného vzorce I se mohou také vyskytovat jako E a Z izomery. Předložený vynález popisuje čisté E a Z izomery a směsi E a Z izomerů ve všech možných poměrech.

Diastereoizomery, včetně E a Z izomerů, mohou být separovány na jednotlivé izomery, např. chromatografií. Racemáty mohou být separovány na dva enantiomery chromatografií na chirálních fázích nebo rozštěpením v enantiomery standardními způsoby. Čisté enantiomery mohou být jinak také obdrženy při použití opticky aktivních výchozích látek v syntézách.

Sloučeniny obecného vzorce I podle vynálezu mohou dále obsahovat takové atomy vodíku, které se podílejí na různých tautomerních formách. Předložený vynález také popisuje všechny tyto tautomerní formy.

Vynález také zahrnuje deriváty a modifikace sloučenin obecného vzorce I, například proléčiva, chráněné formy a ostatní fyziologicky snášenlivé deriváty, včetně esterů a amidů a rovněž aktivní metabolity sloučenin obecného vzorce I. Takové estery a amidy jsou například alkylestery s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, nesubstituované amidy nebo alkylamidy s 1 až 8 atomy uhlíku v alkylové části. Vynález se také zejména týká proléčiv a chráněných forem sloučenin obecného vzorce I, které mohou být převedeny na sloučeniny obecného vzorce I za fyziologických podmínek. Vhodná proléčiva sloučenin obecného vzorce I, která mají vlastnosti, které jsou zlepšeny požadovaným způsobem, například pokud se týká rozpustnosti, biologické dostupnosti nebo trváním působení jsou odborníkovi známe. Podrobná informace vztahující se k proléčivům je uvedena ve standardní literatuře, jako je například Design of Prodrugs, H. Bundgaard (vyd.), Elsevier, 1985; Fleischer a kol., Advanced Drug Delivery Reviews 19 (1996) 115-130; nebo H. Bundgaard, Drugs of the Future 16 (1991) 443, které jsou zde uvedeny jako odkaz. Vhodná

proléčiva pro sloučeniny obecného vzorce I jsou zejména esterová proléčiva a amidová proléčiva skupin karboxylové kyseliny a také acylová proléčiva a karbamátová proléčiva acylovatelných, dusík obsahujících skupin, jako je aminová skupina, amidinová skupina a guanidinová skupina. V acylových proléčivech a karbamátových proléčivech jsou jeden nebo více, například jeden nebo dva atomy vodíku na atomu dusíku v takových skupinách nahrazeny acylovou skupinou nebo oxyacylovou skupinou. Vhodné acylové skupiny a oxyacylové skupiny pro acylová proléčiva a karbamátová proléčiva jsou například skupiny $R^{p1}-CO-$ a $R^{p2}O-CO-$, kde R^{p1} je vodík, alkylová skupina s 1 až 18 atomy uhlíku, cykloalkylová skupina se 3 až 7 atomy uhlíku, cykloalkylalkylová skupina se 3 až 7 atomy uhlíku v cykloalkylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, arylová skupina se 6 až 14 atomy uhlíku, která je nesubstituovaná nebo je substituovaná alkylovou skupinou s 1 až 2 atomy uhlíku, alkoxylovou skupinou s 1 až 2 atomy uhlíku, atomem fluoru nebo atomem chloru; heteroarylová skupina, arylalkylová skupina se 6 až 14 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, kde arylová skupina je nesubstituovaná nebo je substituovaná alkylovou skupinou s 1 až 2 atomy uhlíku, alkoxylovou skupinou s 1 až 2 atomy uhlíku, atomem fluoru nebo atomem chloru; nebo heteroarylalkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části a kde R^{p2} má významy uvedené pro R^{p1} , s výjimkou vodíku.

Výhodné jsou sloučeniny obecného vzorce I, kde

$R(1)$ je vodík, alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, allylová skupina, fenylová skupina, benzylová skupina nebo 4-karbamimidoylbenzylová skupina;

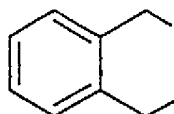
$R(2)$ je vodík nebo alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku;

R(3) je fenylová skupina nebo naftyllová skupina, výhodně 2-naftyllová skupina, která je substituována s R(7);

R(4) je vodík nebo methylová skupina;

R(5) je n-butylová skupina, sek-butylová skupina, terc-butylová skupina, cyklohexylová skupina, cyklohexylmethylová skupina, fenylová skupina, benzylová skupina, 2-fenylethylová skupina, 1-naftylmethylová skupina, 2-naftylmethylová skupina, aminobenzylová skupina, výhodně 4-aminobenzylová skupina, hydroxymethylová skupina, benzyloxymethylová skupina, karboxymethylová skupina, 2-karboxyethylová skupina, 3-aminopropylová skupina nebo 4-(benzyloxykarbonylamino)butylová skupina; nebo

R(4) a R(5) spolu tvoří skupinu vzorce II



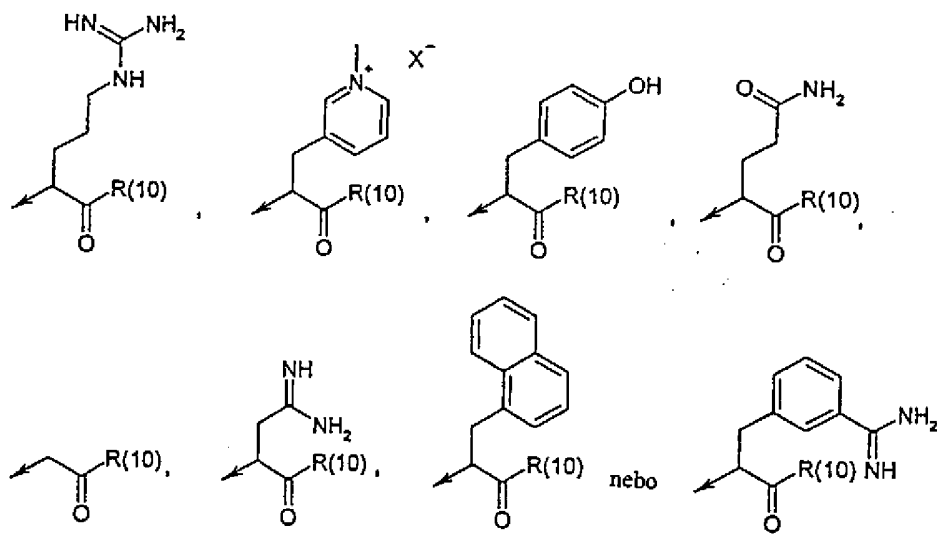
(II);

R(6) je N(R8)(R9), OH nebo OCH₃;

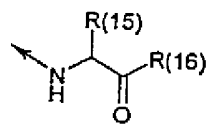
R(7) je amidinová skupina, hydroxyamidinová skupina, aminoskupina nebo dimethylaminoskupina;

R(8) je vodík, pyridylmethylová skupina, výhodně 4-pyridylmethylová skupina, 3-karbamimidoylbenzylová skupina nebo 4-aminobutylová skupina;

R(9) je naftylmethylová skupina, výhodně 1-naftylmethylová skupina



R(10) je NR(12) (R13) nebo OR(14) nebo



R(12) je vodík nebo methylová skupina;

R(13) vodík, fenylakyllová skupina s 1 až 2 atom uhlíku v alkylové části nebo methylová skupina;

R(14) je vodík, alkylová skupina s 1 až 2 atomy uhlíku, benzylová skupina nebo allylová skupina;

R(15) je cyklohexylmethylová skupina;

R(16) je aminoskupina;

X⁻ je fyziologicky přijatelný anion;

ve všech stereoizomerních formách a jejich směsích v jakémkoli poměru a jejich fyziologicky přijatelné soli.

Výhodné jsou také sloučeniny obecného vzorce I, kde

R(1) je vodík, alkylová skupina s 1 až 3 atomy uhlíku, allylová skupina, fenylová skupina, benzylová skupina nebo 4-karbamimidoylbenzylová skupina;

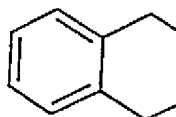
R(2) je vodík nebo alkylová skupina s 1 až 3 atomy uhlíku;

R(3) je fenylová skupina nebo naftylová skupina, které jsou případně substituovány s R(7);

R(4) je vodík nebo methylová skupina;

R(5) je n-butylová skupina, sek-butylová skupina, terc-butylová skupina, cyklohexylová skupina, cyklohexylmethylová skupina, fenylová skupina, benzylová skupina, 2-fenylethylová skupina, 1-naftylmethylová skupina, 2-naftylmethylová skupina, 4-aminobenzylová skupina, hydroxymethylová skupina, benzyloxymethylová skupina, karboxymethylová skupina, 2-karboxyethylová skupina, 3-aminopropylová skupina nebo 4-(benzyloxykarbonylamino)butylová skupina; nebo

R(4) a R(5) spolu tvoří skupinu vzorce II



(II);

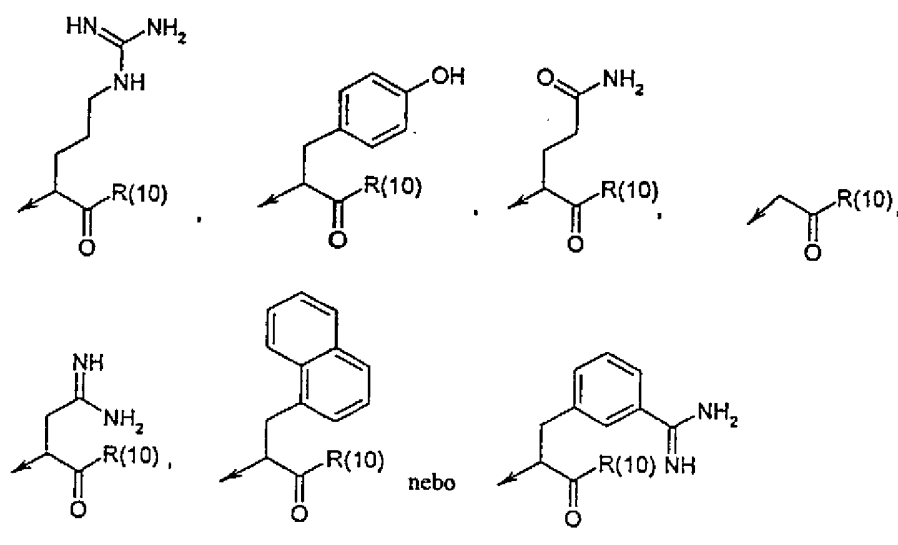
R(6) je N(R8)(R9), OH nebo OCH₃;

R(7) je amidinová skupina, hydroxyamidinová skupina nebo dimethylaminoskupina;

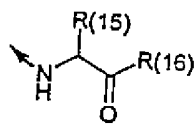
22.08.02

R(8) je vodík, pyridylmethylová skupina, výhodně 4-pyridylmethylová skupina, 3-karbamimidoylbenzylová skupina nebo 4-aminobutylová skupina;

R(9) je naftylmethylová skupina, výhodně 1-naftylmethylová skupina,



R(10) je NR(12) (R13) nebo OR(14) nebo



R(12) je vodík nebo methylová skupina;

R(13) je vodík, fenylakyllová skupina s 1 až 2 atom uhlíku v alkylové části nebo methylová skupina;

R(14) je vodík, alkylová skupina s 1 až 2 atomy uhlíku, benzylová skupina nebo allylová skupina;

R(15) je cyklohexylmethylová skupina;

R(16) je aminoskupina;

ve všech stereoizomerních formách a jejich směsích v jakémkoli poměru a jejich fyziologicky přijatelné soli.

Zejména výhodné jsou sloučeniny obecného vzorce I, kde

R(1) je vodík, alkylová skupina s 1 až 3 atomy uhlíku, allylová skupina, fenylová skupina, benzylová skupina nebo 4-karbamimidoylbenzylová skupina;

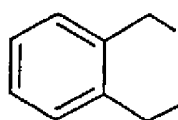
R(2) je vodík nebo alkylová skupina s 1 až 3 atomy uhlíku;

R(3) je fenylová skupina nebo naftylová skupina, výhodně 2-naftylová skupina, které jsou substituovány s R(7);

R(4) je vodík nebo methylová skupina;

R(5) je n-butylová skupina, sek-butylová skupina, terc-butylová skupina, cyklohexylová skupina, cyklohexylmethylová skupina, fenylová skupina, benzylová skupina, 2-fenylethylová skupina, 1-naftylmethylová skupina, 2-naftylmethylová skupina, aminobenzylová, výhodně 4-aminobenzylová skupina, hydroxymethylová skupina, benzyloxymethylová skupina, karboxymethylová skupina, 2-karboxyethylová skupina, 3-aminopropylová skupina nebo 4-(benzyloxykarbonylamino)butylová skupina; nebo

R(4) a R(5) spolu tvoří skupinu vzorce II



(II);

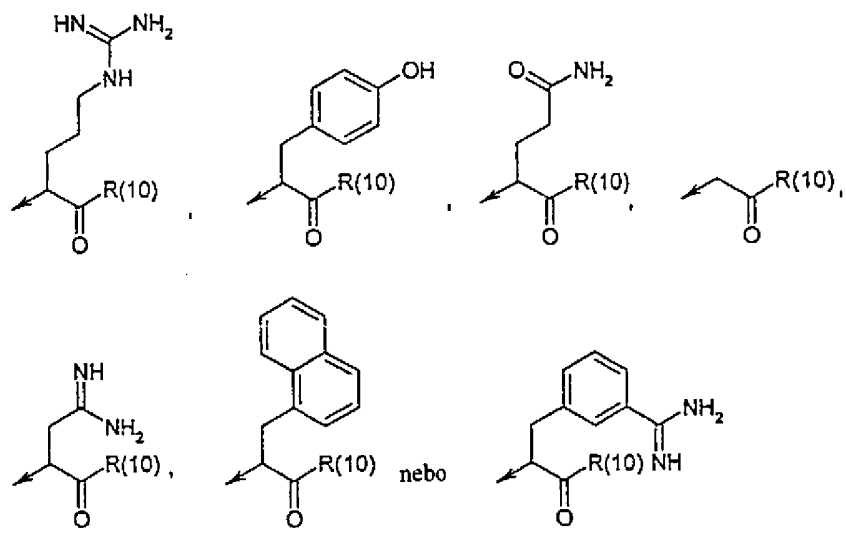
22.08.02

R(6) je N(R8) (R9), OH nebo OCH₃;

R(7) je amidinová skupina, hydroxyamidinová skupina nebo dimethylaminoskupina;

R(8) je vodík, pyridylmethylová skupina, výhodně 4-pyridylmethylová skupina, 3-karbamimidoylbenzylová skupina nebo 4-aminobutylová skupina;

R(9) je naftylmethylová skupina, výhodně 1-naftylmethylová skupina,



R(10) je NR(12) (R13) nebo OR(14);

R(12) je vodík nebo methylová skupina;

R(13) vodík, fenylakyllová skupina s 1 až 2 atom uhlíku v alkylové části nebo methylová skupina;

R(14) je vodík, alkylová skupina s 1 až 2 atomy uhlíku, benzylová skupina nebo allylová skupina;

ve všech stereoizomerních formách a jejich směsích v jakémkoli poměru a jejich fyziologicky přijatelné soli.

Nejvýhodnější jsou sloučeniny obecného vzorce I, kde

R(1) je methylová skupina, allylová skupina, fenylová skupina nebo benzylová skupina, výhodně methylová nebo benzylová skupina;

R(2) je vodík nebo methylová skupina;

R(3) je fenylová skupina, která je substituována s R(7);

R(4) je vodík;

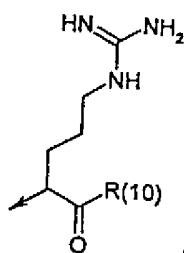
R(5) je butylová skupina, výhodně n-butylová skupina, cyklohexylová skupina, cyklohexylmethylová skupina, fenylová skupina, benzylová skupina, 2-fenylethylová skupina, 1-naftylmethylová skupina, 2-naftylmethylová skupina, aminobenzylová skupina, výhodně 4-aminobenzylová skupina, benzyloxymethylová skupina, karboxymethylová skupina nebo 2-karboxyethylová skupina;

R(6) je N(R8) (R9);

R(7) je amidinová skupina nebo hydroxyamidinová skupina;

R(8) je vodík;

R(9) je



R(10) je NR(12) (R13) nebo OR(14);

R(12) je vodík nebo methylová skupina;

R(13) vodík nebo fenylalkylová skupina s 1 až 2 atom uhlíku v alkylové části;

R(14) je vodík, alkylová skupina s 1 až 2 atomy uhlíku nebo allylová skupina;

ve všech stereoizomerních formách a jejich směsích v jakémkoli poměru a jejich fyziologicky přijatelné soli.

Nejvýhodnější sloučeniny obecného vzorce I, které se mohou uvést jsou:

Sůl kyseliny trifluorooctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[(1-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]-N',N'-dimethylmalonamidu, méně polární diastereomer,

Sůl kyseliny allylestertrifluorooctové kyseliny 2-(S)-(2-(S)-[2-(benzylmethylkarbamoyl)-3-(4-karbamimidoylphenyl)propionyl-amino]-2-cyklohexylacetyl-amino)-5-guanidinopentanové, méně polární diastereomer,

Sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-2-(4-karbamimidoyl-benzyl)-N'-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]malonamidu, polárnější diastereomer,

Sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-2-(4-karbamimidoyl-benzyl)-N'-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]malonamidu, méně polární diastereomer,

Sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-N'-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]-2-[4-(N-hydroxykarbamimidoyl)benzyl]malonamidu,

Sůl kyseliny trifluoroctové N-[2-(4-aminofenyl)-1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)ethyl]-2-(4-karbamimidoyl-benzyl)-N',N'-dimethylmalonamidu,

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)pentyl]-N'-methylmalonamidu,

Kyselina 4-(S)-[3-(4-karbamimidoylphenyl)-2-dimethylkarbamoyl-propionylamino]-4-(1-(S)karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)butanová,

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-naftalen-2-ylethyl]-N',N'-dimethylmalonamidu,

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-3-fenylpropyl]-N',N'-dimethylmalonamidu,

Sůl kyseliny trifluoroctové kyseliny 3-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-dimethylkarbamoylpropionylamino]-N-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutyl)sukcinamové,

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)fenylmethyl]-N'-methylmalonamidu,

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)fenylmethyl]-N',N'-dimethylmalonamidu,

Sůl kyseliny trifluoroctové N-[2-benzyloxy-1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)ethyl]-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N',N'-dimethylmalonamidu,

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)pentyl]-N',N'-dimethylmalonamidu, méně polární diastereomer,

Sůl kyseliny trifluoroctové kyseliny 2-(S){2-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-dimethylkarbamoylpropionylamino]hexanoylamino}-5-guanidinopentanové,

Kyselina 2-(S)-{2-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-dimethylkarbamoylpropionylamino]-2-cyklohexylacetylamino}-5-guanidinopentanová, sloučenina s kyselinou trifluoroctovou, sůl kyseliny trifluoroctové,

Sůl kyseliny trifluoroctové kyseliny 2-(S)-{2-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-methylkarbamoylpropionylamino]-2-cyklohexylacetylamino}-5-guanidinopentanové,

Sůl kyseliny trifluoroctové kyseliny 2-(S)-{2-(S)-[2-benzyl-karbamoyl-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionylamino]-2-cyklohexylacetyl-amino}-5-guanidinopentanové,

Sůl kyseliny trifluoroctové kyseliny 2-(S)-{2-(S)-[3-(4-karb-amimidoylfenyl)-2-dimethylkarbamoylpropionylamino]-3-cyklohexylpropionylamino}-5-guanidinopentanové,

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-fenylethyl]-N',N'-dimethylmalonamidu, méně polární diastereomer,

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-naftalen-1-ylethyl]-N',N'-dimethylmalonamidu,

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)pentyl]-N',N'-dimethylmalonamidu,

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]-N'-methylmalonamidu,

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-cyklohexylethyl]-N',N'-dimethylmalonamidu,

Sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-N'-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]-2-[4-(N-hydroxykarbamimidoyl)benzyl]malonamidu, méně polární diastereomer,

Hydrochloridová sůl ethylesteru kyseliny 2-(S)-{2-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-dimethylkarbamoylpropionylamino]-2-cyklohexylacetylamino}-5-guanidinopentanové,

Sůl kyseliny ethyltrifluoroctové kyseliny 2-(S)-{2-(S)-[2-benzylkarbamoyl-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionylamino]-2-cyklohexylacetylamino}-5-guanidinopentanové, méně polární diastereomer,

Hydrochloridová sůl 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[(S)-cyklohexyl-(4-guanidino-1-(S)-fenethylkarbamoylbutylkarbamoyl)-methyl]-N',N'-dimethylmalonamidu,

Sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]malonamidu, polárnější diastereomer,

Sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-cyklohexylmethyl]malonamidu, méně polární diastereomer,

Sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-cyklohexylmethyl]-N-methylmalonamidu,

Hydrochloridová sůl kyseliny 2-(S){2-(S)-[2-(benzylmethylkarbamoyl)-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionylamino]-2-cyklohexylacetylamino}-5-guanidinopentanové,

Sůl kyseliny trifluoroctové methylesteru kyseliny 2-(S)-{2-[2-(benzylmethylkarbamoyl)-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionylamino]-2-cyklohexylacetylamino}-5-guanidinopentanové, nejméně polární diastereomer,

Sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-N'-([1-(S)-(benzylmethylkarbamoyl)-4-guanidinobutylkarbamoyl]cyklohexylmethyl)-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-methylmalonamidu, méně polární diastereomer,

Vynález se také týká sloučenin obecného vzorce I, kde

R(1) je vodík, alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenylová skupina se 2 až 6 atomy uhlíku, arylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku, arylalkylová skupina se 6 až 10 atomy v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, kde arylová skupina v arylalkylové části je nesubstituovaná nebo je substituovaná skupinou R(17);

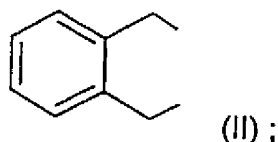
R(2) je vodík nebo alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku;

R(3) je arylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku, která je substituována s R(7);

R(4) je vodík nebo alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku;

R(5) je alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku, cykloalkylová skupina se 3 až 7 atomy uhlíku, cykloalkylalkylová skupina se 3 až 7 atomy uhlíku v cykloalkylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, arylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku, arylalkylová skupina se 6 až 10 atomy v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, kde arylová skupina v arylalkylové části je nesubstituovaná nebo je substituovaná skupinou R(20) a kde alkylová skupina je nesubstituovaná nebo je substituovaná skupinou R21; nebo

R(4) a R(5) spolu tvoří zbytek vzorce II

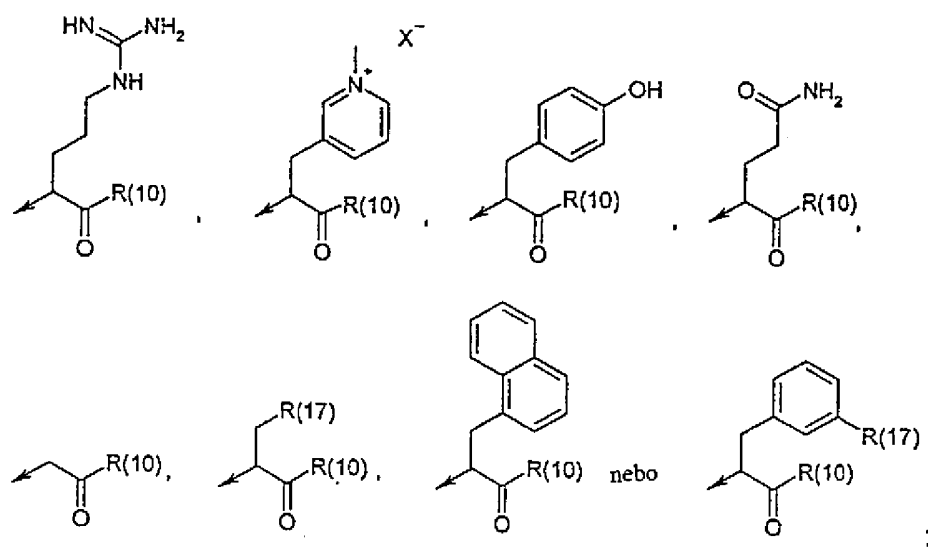


R(6) je N(R8) (R9) nebo OR(22);

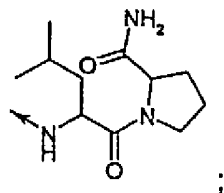
R(7) je R(17) nebo R(20);

R(8) je vodík; alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, kde alkylová skupina je nesubstituovaná nebo je substituovaná zbytkem R(20); heteroarylalkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části; arylalkylová skupina se 6 až 10 atomy v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, kde arylová skupina je nesubstituovaná je substituovaná skupinou R(17);

R(9) je



R(10) je



R(17) je $-C(=N-R(18))-N(R(19))_2$;

R(18) je vodík, hydroxyskupina nebo ochranná skupina aminoskupiny;

R(19) je vodík, alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, arylalkoxykarbonylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkoxylové části nebo ochranná skupina aminoskupiny;

R(20) je $N(R(19))_2$;

R(21) je hydroxyskupina, arylalkoxyskupina se 6 až 10 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkoxylové části, arylalkoxykarbonylaminová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkoxylové části, karboxylová skupina nebo R(20);

R(22) je vodík nebo alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku;

X^- je fyziologicky přijatelný anion;

ve všech stereoizomerních formách a jejich směsích v jakémkoli poměru a jejich fyziologicky přijatelné soli.

Vynález se také týká sloučenin obecného vzorce I, kde

R(1) je vodík, alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, allylová skupina, fenylová skupina, benzylová skupina nebo 4-karbamimidoylbenzylová skupina;

R(2) je vodík nebo alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku;

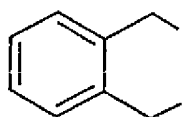
22.08.02

R(3) je fenylová skupina nebo 2-naftylová skupina, která je substituována s R(7);

R(4) je vodík nebo methylová skupina;

R(5) je n-butylová skupina, sek-butylová skupina, terc-butylová skupina, cyklohexylová skupina, cyklohexylmethylová skupina, fenylová skupina, benzylová skupina, 2-fenylethylová skupina, 1-naftylmethylová skupina, 2-naftylmethylová skupina, aminobenzylová skupina, výhodně 4-aminobenzylová skupina, hydroxymethylová skupina, benzyloxymethylová skupina, karboxymethylová skupina, 2-karboxyethylová skupina, 3-aminopropyllová skupina nebo 4-(benzyloxykarbonylamino)butylová skupina; nebo

R(4) a R(5) spolu tvoří skupinu vzorce II



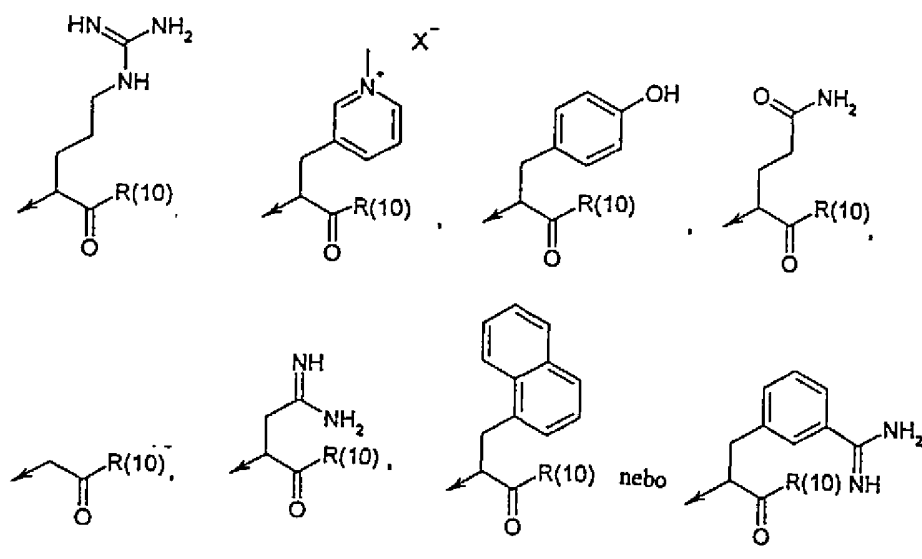
(II);

R(6) je N(R8)(R9), OH nebo OCH₃;

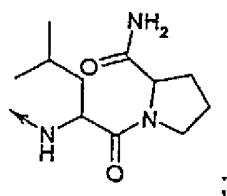
R(7) je amidinová skupina, hydroxyamidinová skupina, aminoskupina nebo dimethylaminoskupina;

R(8) je vodík, pyridylmethylová skupina, výhodně 4-pyridylmethylová skupina, 3-karbamimidoylbenzylová skupina nebo 4-aminobutylová skupina;

R(9) je



R(10) je



X^- je fyziologicky přijatelný anion;

ve všech stereoizomerních formách a jejich směsích v jakémkoli poměru a jejich fyziologicky přijatelné soli.

Výhodné jsou sloučeniny obecného vzorce I, kde

R(1) je propylová skupina nebo butylová skupina; výhodně butylová skupina;

R(2) je propylová skupina nebo butylová skupina; výhodně butylová skupina;

R(3) je fenylová skupina, která je substituována s R(7);

R(4) je vodík;

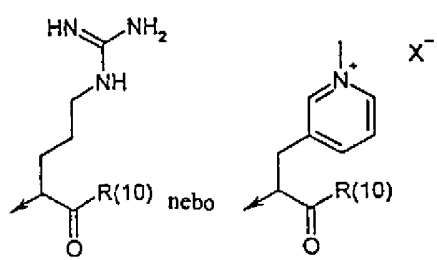
R(5) je cyklohexylová skupina;

R(6) je N(R8)R(9);

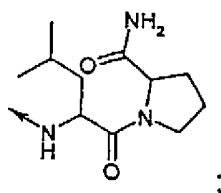
R(7) je amidinoskupina nebo aminoskupina;

R(8) je vodík;

R(9) je



R(10) je



X⁻ je fyziologicky přijatelný anion;

ve všech stereoizomerních formách a jejich směsích v jakémkoli poměru a jejich fyziologicky přijatelné soli.

Zvláště výhodné sloučeniny, které se mohou uvést jsou:

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-((S)-{1-(S)[1-(S)-(2-(S)-karbamoylpyrrolidin-1-karbonyl)-3-methyl-

butylkarbamoyl]-4-guanidino-butylkarbamoyl}cyklohexylmethyl)-N',N'-diizopropylmalonamidu, méně polární diastereomer,

sůl kyseliny trifluoroctové 3-{2-(S)-{2-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-diizopropylkarbamoylpropionylamino]-2-cyklohexylacetylamino}-2-[1-(S)-(2-(S)-karbamoylpyrrolidin-1-karbonyl)-3-methylbutylkarbamoyl]ethyl}-1-methylpyridinium trifluoracetátu, méně polární diastereomer,

sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-aminobenzyl)-N-((S)-{1-(S)-[1-(S)-(2-(S)-karbamoylpyrrolidin-1-karbonyl)-3-methylbutylkarbamoyl]-4-guanidinobutylkarbamoyl}cyklohexylmethyl)-N',N'-diizopropylmalonamidu, méně polární diastereomer,

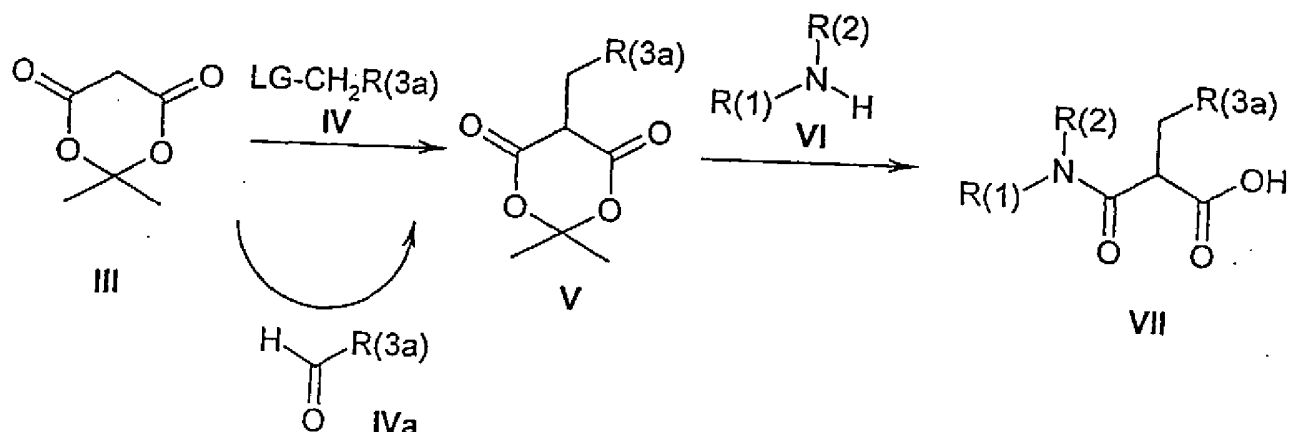
sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-((S)-{1-(S)-[1-(S)-(2-(S)-karbamoylpyrrolidin-1-karbonyl)-3-methylbutylkarbamoyl]-4-guanidino-butylkarbamoyl}cyklohexylmethyl)-N',N'-diizobutylmalonamidu, polárnější diastereomer.

Sloučeniny obecného vzorce I mohou být připraveny za použití postupů a technik, které jsou velmi dobře známé. Výchozí látky nebo základní stavební jednotky sloučenin používaných při obecných syntézách, které se mohou použít při přípravě sloučenin obecného vzorce I jsou snadno pro odborníka dostupné. V mnoha případech jsou komerčně dostupné nebo byly popsány v literatuře. Pokud ne, mohou být připraveny ze snadno dostupných prekurzorů sloučenin analogickými postupy popsanými v této přihlášce.

Reakce popsané dále, které se používají při syntéze sloučenin obecného vzorce I se obecně provádějí podle konvenčních metod v roztoku nebo v pevné fázi, které jsou například známé ze syntézy peptidů.

Sloučeniny obecného vzorce I se mohou připravit například podle metody A popsané ve schématech 2 a 3, kde substituenty R(1), R(2), R(3), R(4), R(5), R(6) mají význam uvedený shora.

Schéma 2



Kyselina meldrumová III může být alkylována za použití báze, například uhličitanu draselného, hydroxidu sodného nebo triethylaminu a IV, kde

LG je odštěpující skupina, jako je halogen nebo substituovaná hydroxyskupina, jako je tosyloxyskupina nebo mesyloxyskupina;

R(3a) je arylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku, která je substituována s R(23);

R(23) je N(R(24))_2 , nitroskupina nebo kyanoskupina

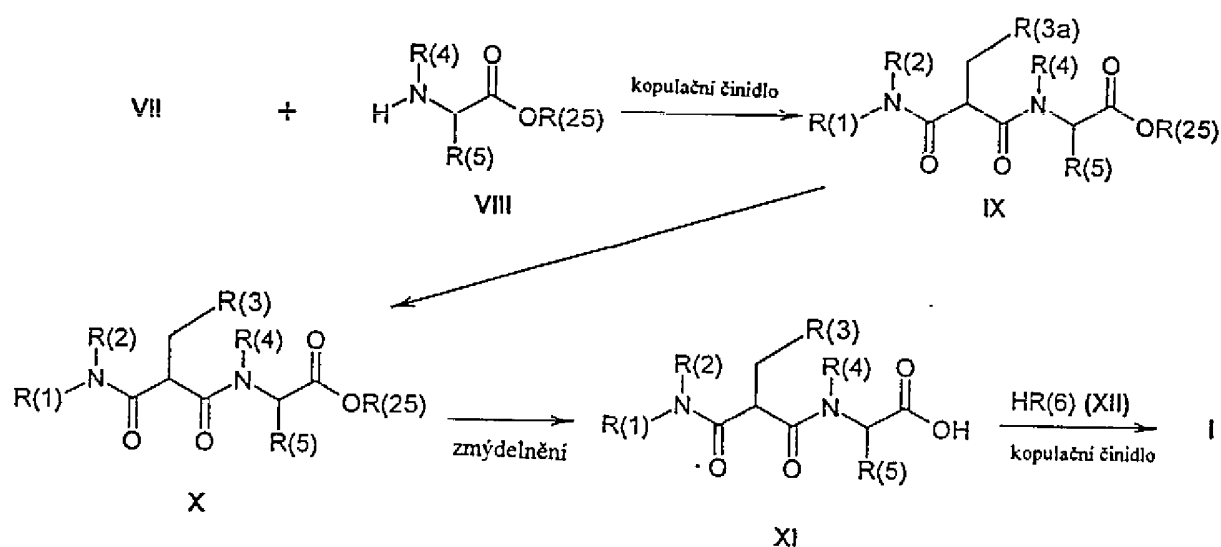
R(24) je alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku, arylalkylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, alkylkarbonylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylové části nebo alkoxykarbonylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku v alkoxylové části;

za získání sloučeniny V, nebo kondenzací meldrumové kyseliny III s aldehydem IVa v přítomnosti redukčního činidla, například kyanborohydridu sodného,

zatímco otevření kruhu sloučeniny V může být dosaženo reakcí aminu VI, výhodně v přítomnosti silylačního činidla, například N,O-bis-(trimethylsilyl)acetamidu v organickém rozpouštědle, například v dichlormethanu, při zpětném toku, čímž se získá amid kyseliny malonové VII.

Sloučeniny obecných vzorců III, IV, IVa a VI jsou komerčně dostupné nebo se mohou připravit standardními způsoby, které jsou odborníkovi známé.

Schéma 3



Kondenzace sloučeniny VII se sloučeninou VIII, kde substituent R(25) je snadno odštěpitelný ester (jako je například alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, benzylová skupina nebo 4-methoxybenzylová skupina) za získání sloučeniny obecného vzorce IX

se může provést běžnými kondenzačními činidly, které se používají v syntéze peptidů. Příklady takových kondenzačních činidel zahrnují například karbodiimidy, například dicyklohexylkarbodiimid (DCCI) nebo diizopropylkarbodiimid (DICI), karbonyldiazoly, jako karbonyldiimidazol a podobná činidla, anhydrid kyseliny propylfosfonové, O-((kyano(ethoxykarbonyl)-methylen)amino)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-tetrafluorborát (TOTU), N-[(dimethylamino)-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridin-1-ylmethylen]-N-methylmethanaminium-hexafluorfosfát-N-oxid (HATU) a mnoho dalších. Sloučeniny obecného vzorce VIII jsou komerčně dostupné nebo se mohou připravit standardními postupy, které jsou odborníkovi známe.

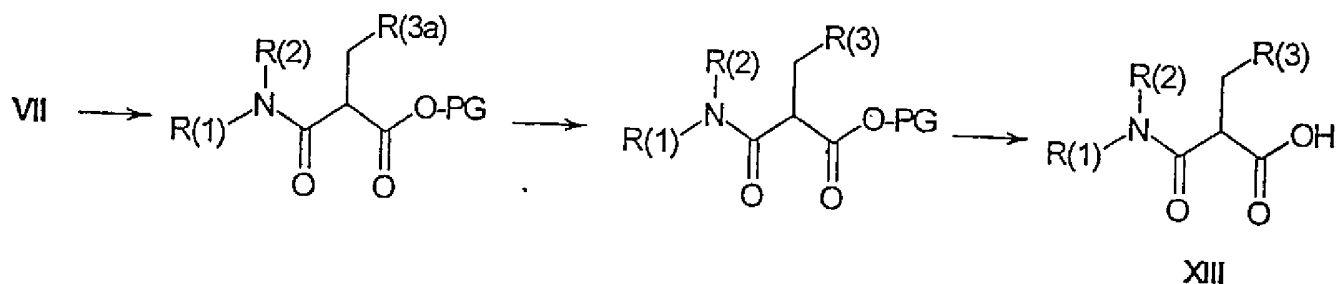
Konverze R(3a) na R(3) (IX $\rightarrow$ X), pokud je to nezbytné, se může provést zavedením amidinové skupiny jak je popsáno dále nebo redukcí nitroskupiny hydrogenací například s Raney niklem, palladium/aktivní uhlí nebo jinými katalyzátory v přítomnosti vodíku.

Amidiny se mohou připravit z odpovídajících kyanových sloučenin adicí alkoholů, například methanolu nebo ethanolu, v bezvodém kyselém prostředí, například dioxanu, methanolu nebo ethanolu a následnou amonolýzou, například reakcí s amoniakem v alkoholech, jako je například izopropanol, methanol nebo ethanol (G. Wagner, P. Richter a Ch. Garbe, Pharmazie 29 (1974), 12-55). Další způsoby přípravy amidinů zahrnují adici sirovodíku na kyanoskupinu, následnou alkylaci, například methylaci výsledného thioamidu a následnou reakci s amoniakem (GDR patent č. 235 866) a adici hydroxylaminu, který může být připraven z hydroxylamoniové soli a báze, na kyanoskupinu a poté přeměnu amidoximu na amidin, například katalytickou hydrogenací.

Zmýdelnění esterů sloučenin obecného vzorce X na sloučeniny obecného vzorce XI se může provést standardními způsoby. Kondenzace sloučeniny XI se sloučeninou XII za získání sloučenin obecného vzorce I se může provést shora uvedenými kondenzačními činidly. Sloučeniny obecného vzorce XII jsou komerčně dostupné nebo se mohou připravit standardními postupy, které jsou odborníkovi známe.

Sloučeniny obecného vzorce I se mohou také připravit způsobem B, jak je znázorněno ve schématech 4 a 5.

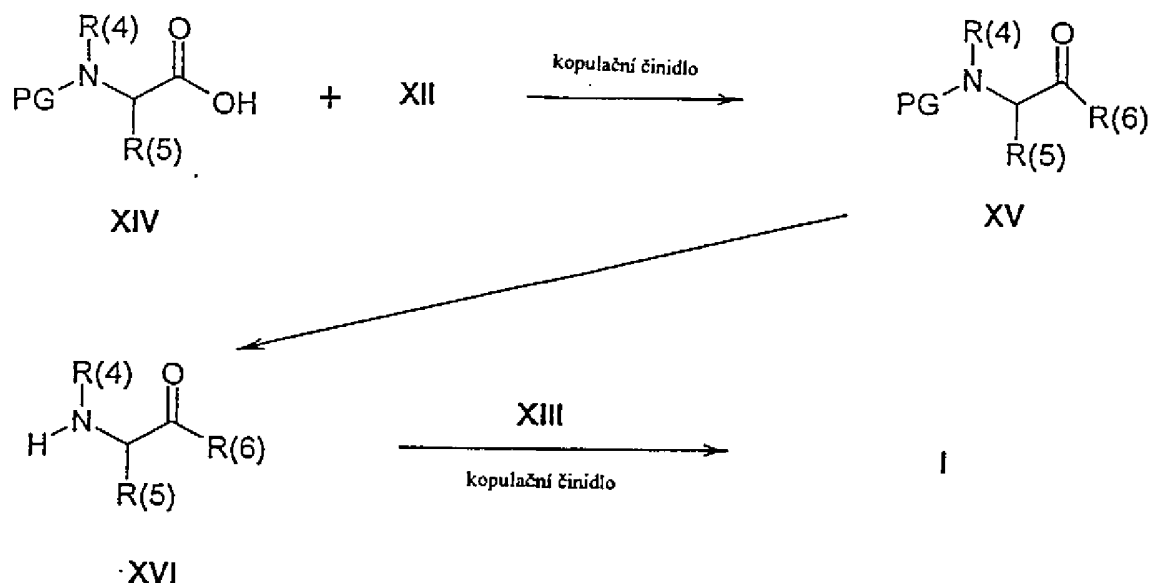
Schéma 4



Po zavedení snadno štěpitelné chránicí skupiny PG na karboxylovou funkční skupinu (například alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, benzylová skupina nebo 4-methoxybenzylová skupina) standardními způsoby se může zbytek R(3a) ve sloučenině obecného vzorce VII transformovat na zbytek R(3) a výše uvedenými způsoby je možné odstranit chránicí skupinu a tak získat sloučeniny obecného vzorce XIII.

Schéma 5

22.08.02



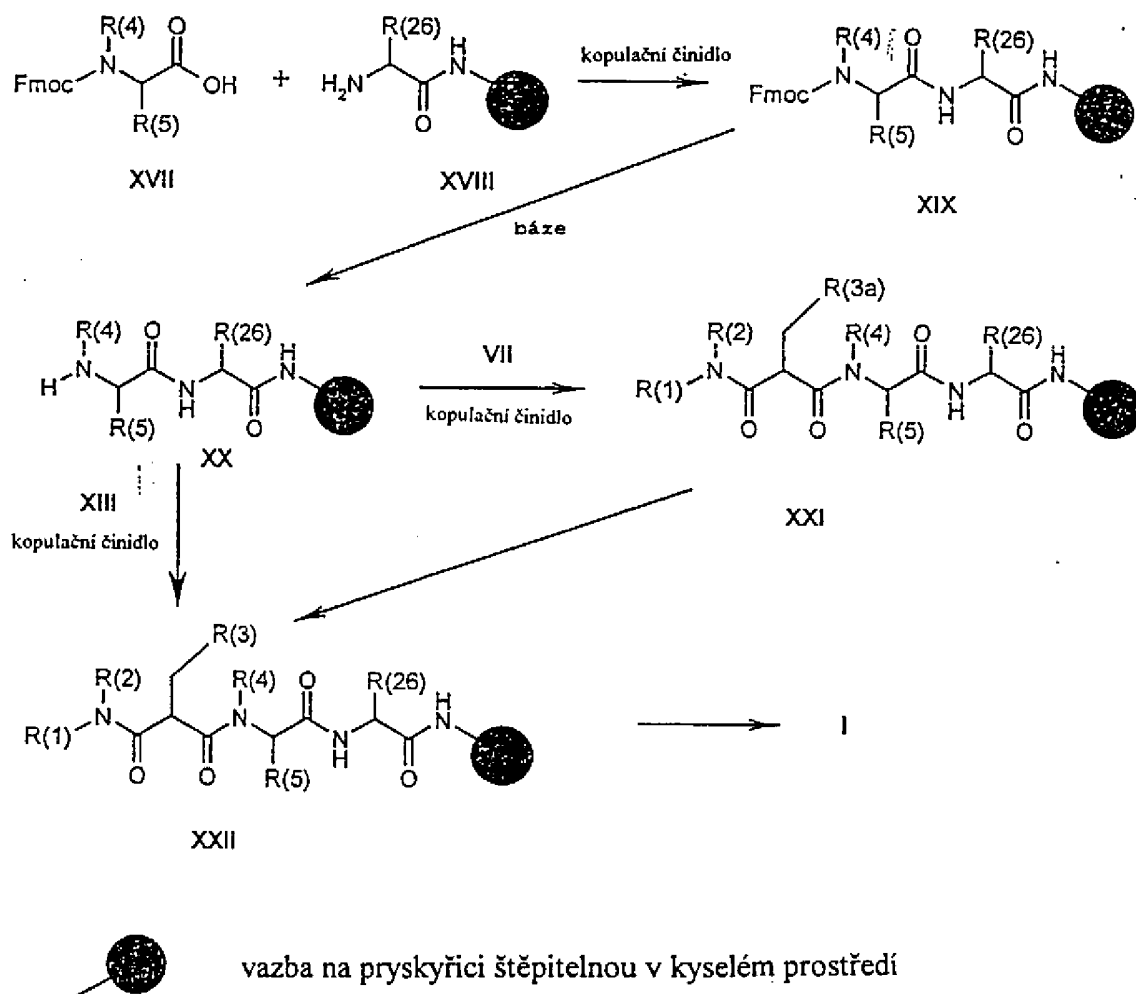
Chráněná aminokyselina XIV, kde PG je vhodná skupina chránící aminovou skupinu, například Fmoc, benzyloxykarbonyl (Z), nebo Boc, výhodně Fmoc, může být kopulována standardními způsoby jak je popsáno shora, se sloučeninami obecného vzorce XII za získání sloučenin obecného vzorce XV. Sloučeniny obecného vzorce XIV se mohou připravit standardními způsoby, které jsou odborníkovi dobře známé.

U sloučenin obecného vzorce XV může být odstraněna chránící skupina standardními způsoby, například standardními způsoby pro odstranění Fmoc (L. A. Carpino a kol., J. Org. Chem. 1988, 53, 6139-44) a získají se sloučeniny obecného vzorce XVI. Sloučeniny obecného vzorce XVI mohou být kopulovány se sloučeninami obecného vzorce XIII standardními způsoby za získání sloučenin obecného vzorce I.

Sloučeniny obecného vzorce I mohou být také připraveny peptidovou syntézou na pevné fázi (způsob C) jak je znázorněno ve schématu 6. Tyto způsoby jsou popsány například Stewardem a Youngem (Solid Phase Peptide Synthesis (Freeman and Co, San Francisco, 1969), zde uváděno jako odkaz.

Syntézy na pevné fázi umožňují pracovat s chemickou strukturou sloučeniny, zatímco vznikající peptid je připojen na pryskyřici nebo peptid může být odštěpen z pryskyřice za získání například N-koncového derivátu. Podobné modifikace mohou být také provedeny s karboxylovou funkční skupinou sloučenin, včetně C-koncového zbytku karboxyskupiny, která například může být amidována. Odborník také může připravit sloučeninu podle vynálezu použitím reakce v roztokové fázi.

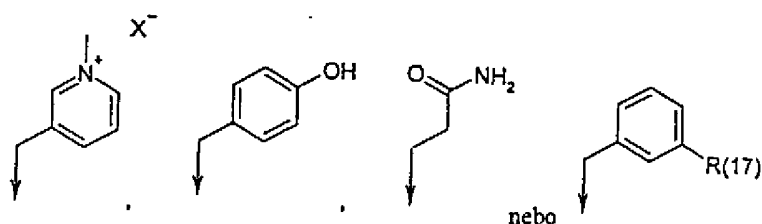
Schéma 6



22.08.02

Při použití způsobu C (schéma 6), sloučeniny obecného vzorce XVIII, kde aminokyselina je vázána na vhodný nosič, který je například Wangova, Tritylova nebo Rinkova pryskyřice nebo jiné pryskyřice štěpitelné v kyselém prostředí, které jsou odborníkovi známe, a kde

R(26) je vodík, $-\text{CH}_2\text{R}(17)$, 1-naftylmethyl, $-(\text{CH}_2)_3-\text{NR}(28)-\text{C}(=\text{N}-\text{R}(27))-\text{NH}-\text{R}(28)$



R(27) je R(28), kyanoskupina, hydroxyskupina, alkoxy- skupina s 1 až 6 atomy uhlíku, arylalkoxyskupina se 6 až 14 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 6 atomy uhlíku v alkoxy- lové části, která je nesubstituována nebo substituována v arylové části nebo aminoskupina;

R(28) je vodík, alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku nebo alkyلكarbonylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylové části;

mohou být kondenzovány s například aminokyselinou XVII, chráněnou skupinou Fmoc, za použití standardních způsobů. Je rovněž možné použít jinak chráněnou, například aminokyselinu XVII chráněnou s Boc, nicméně použití aminokyseliny XVII chráněné skupinou Fmoc je výhodné.

Sloučeniny obecného vzorce XVIII se mohou připravit standardními postupy, které jsou odborníkovi známe.

U výsledného dipeptidu XIX může být odstraněna chránicí skupina za použití báze, například roztokem 20-50% piperidinu

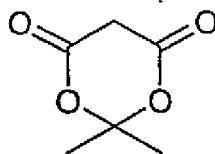
v dimethylformamidu za získání sloučenin obecného vzorce XX s primární nebo sekundární aminoskupinou, které mohou být kondenzovány se základními stavebními jednotkami VII nebo XIII připravenými za použití způsobů A a B za vzniku sloučenin obecného vzorce XXI nebo XXII. Konverze zbytku R(3a) výsledné sloučeniny XXI na zbytek R(3) se může provést jak je popsáno shora, za získání sloučenin obecného vzorce XXII. Sloučeniny obecného vzorce I se mohou získat štěpením sloučenin obecného vzorce XXII za kyselých podmínek, například ve směsi kyseliny trifluoroctové a vody při různých koncentracích (1% až 95% trifluoroctové kyseliny) v závislosti na používaném typu pryskyřice.

Tyto syntetizované sloučeniny mohou být čištěny známými způsoby, například vysokotlakou kapalinovou chromatografií s reverzními fázemi (RP-HPLC) nebo jinými způsoby separace, kde separace probíhá na bázi velikosti částic, výměny nebo hydrofobicity sloučeniny. Pro stanovení struktury sloučeniny podle vynálezu (viz příklad 1) mohou být použity známé způsoby pro identifikaci struktury, jako je například analýza sekvence aminokyselin nebo hmotnostní spektrometrie (MS nebo HPLC/ESMS).

Předkládaný vynález se také týká způsobu přípravy sloučeniny obecného vzorce I, který zahrnuje

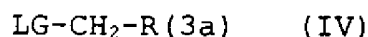
i)

a1) alkylaci sloučeniny vzorce III



III

se sloučeninou obecného vzorce IV



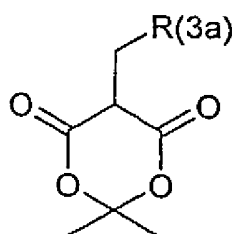
kde LG je odštěpující se skupina, jako je halogen nebo substituovaná hydroxyskupina, jako je tosyloxyskupina nebo mesyloxyskupina a kde

R(3a) je arylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku, která je substituována s R(23);

R(23) je N(R(24))_2 , nitroskupina nebo kyanoskupina

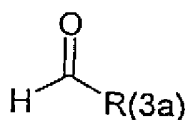
R(24) je alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku, arylalkylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, alkylkarbonylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylové části nebo alkoxykarbonylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku v alkoxylové části;

v přítomnosti báze, za získání sloučeniny obecného vzorce V,



V

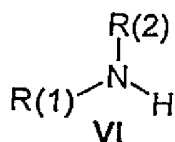
nebo reakci sloučeniny vzorce III se sloučeninou obecného vzorce IVa,



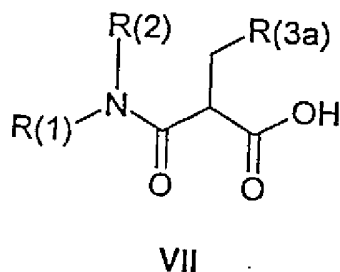
IVa

v přítomnosti redukčního činidla za získání sloučeniny obecného vzorce V;

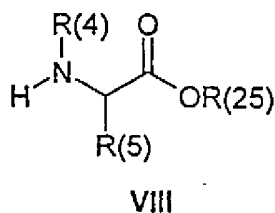
b1) reakci sloučeniny obecného vzorce V se sloučeninou obecného vzorce VI,



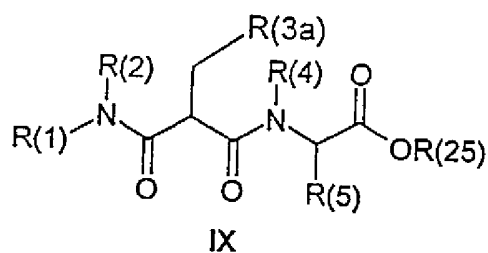
kde R(1) a R(2) mají význam uvedený shora, za získání sloučeniny obecného vzorce VII;



c1) kondenzací sloučeniny obecného vzorce VII se sloučeninou obecného vzorce VIII,



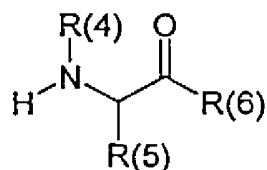
kde R(4) a R(5) mají význam uvedený shora a R(25) je snadno odštěpitelný ester za získání sloučeniny obecného vzorce IX,



R(1)N(R(2))C(=O)C(R(3))C(=O)N(R(4))C(R(5))C(=O)OR(25)R(1)N(R(2))C(=O)C(R(3))C(=O)O

XIII

se sloučeninou obecného vzorce XVI;

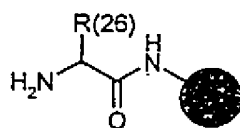


XVI

za získání sloučeniny obecného vzorce I; nebo

ii)

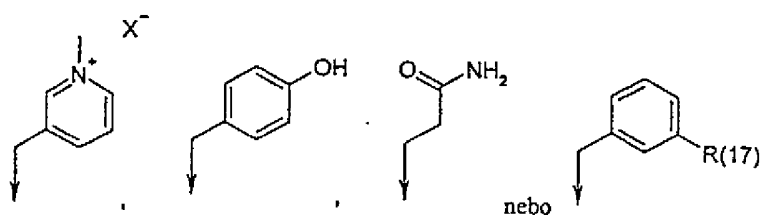
a) kondenzaci sloučeniny obecného vzorce XVIII



XVIII

která je vázána na vhodný nosič, například pryskyřici štěpitelnou kyselinou a kde

R(26) je vodík, $-\text{CH}_2\text{R(17)}$, 1-naftylmethyl, $-(\text{CH}_2)_3-\text{NR(28)}-\text{C}(=\text{N}-\text{R(27)})-\text{NH}-\text{R(28)}$

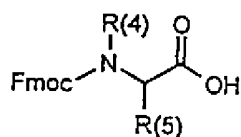


R(27) je R(28), kyanoskupina, hydroxyskupina, alkoxy- skupina s 1 až 6 atomy uhlíku, arylalkoxyskupina se 6 až 14 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 6 atomy uhlíku v alkoxy- lové části, která je nesubstituována nebo substituována v arylové části nebo aminoskupina;

R(28) je vodík, alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku nebo alkylkarbonylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylové části;

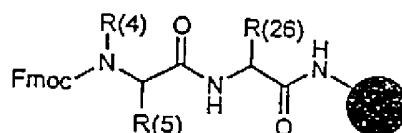
a R(17) má význam uvedený shora;

se sloučeninou obecného vzorce XVII



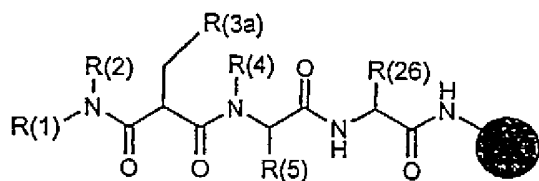
XVII

kde R(4) a R(5) mají význam uvedený shora, za získání sloučeniny obecného vzorce XIX

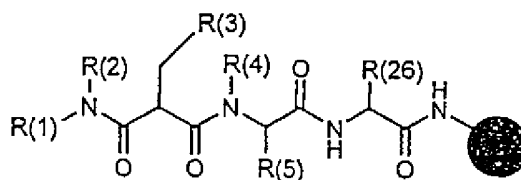


XIX

b) a po odstranění chránicí skupiny u sloučeniny obecného vzorce XIX s báží, kondenzací sloučeniny u které byla odstraněna chránicí skupina XX, se sloučeninou obecného vzorce VII nebo XIII za získání sloučeniny obecného vzorce XXI nebo XXII;



XXI



XXII

c) případně konverzi sloučeniny obecného vzorce XXI na sloučeninu obecného vzorce XXII (tj. přeměnu zbytku R(3a) na zbytek R(3) zavedením amidinové skupiny nebo redukcí nitroskupiny)

a d) odštěpení sloučeniny obecného vzorce XXII z pryskyřice za získání sloučeniny obecného vzorce I.

Podle farmakologických testů uvedených níže vykazují sloučeniny obecného vzorce I inhibici aktivity faktoru Xa. Proto mohou být výhodně používány jako farmaceutické přípravky, zejména pokud je požadováno redukovat aktivitu faktoru Xa nebo vytvořit účinky, které mohou být dosaženy inhibicí aktivity faktoru Xa v systému, např. ovlivnění srážení nebo inhibice krevního srážení. Tudiž předložený vynález také popisuje sloučeniny obecného vzorce I pro použití jako farmaceutických přípravků, jakož i pro přípravou léčivých přípravků, zejména léčivých přípravků pro ošetření nebo profylaxi stavů a onemocnění uvedených níže a výše. Dále předložený vynález poskytuje zejména způsob specifické inhibice aktivity faktoru Xa stykem faktoru Xa se sloučeninou obecného vzorce I. Podrobněji řečeno, účinné množství sloučeniny podle vynálezu inhibuje katalytickou aktivitu faktoru Xa buď přímo, uvnitř komplexu protrombinázy nebo jako rozpustnou podjednotku, nebo nepřímo, inhibicí zabudování faktoru Xa na komplexu protrombinázy. Výhodné provedení předloženého vynálezu zahrnuje, např. sloučeniny obecného vzorce I, které mohou inhibovat aktivitu faktoru Xa s hodnotou $K_i \leq 10 \mu\text{M}$, výhodně s $K_i \leq 100 \text{ nM}$.

Termín „aktivita faktoru Xa“, jak je používán zde, se vztahuje na schopnost faktoru Xa, samotného nebo při sestavení podjednotek známých jako komplex protrombinázy, katalyzovat přeměnu protrombinu na trombin.

Termín „inhibice“, jak je používán zde, se vztahuje, pokud je používáno v souvislosti s aktivitou faktoru Xa, na přímou nebo nepřímou inhibici aktivity faktoru Xa. Přímá inhibice aktivity faktoru Xa může být dosažena, např. vazbou sloučeniny obecného vzorce I na faktor Xa nebo na protrombinázu tak, aby bylo zabráněno vazbě protrombinu na aktivity faktoru Xa. Nepřímá inhibice aktivity faktoru Xa může být dosažena, např. vazbou sloučeniny podle vynálezu na rozpustný faktor Xa tak, aby bylo zabráněno uspořádání faktoru Xa na komplexu protrombinázy.

Termín „specifický“, jak je používán zde, znamená, pokud je používán v souvislosti s inhibicí aktivity faktoru Xa, že sloučenina obecného vzorce I může inhibovat aktivitu faktoru Xa bez podstatné inhibice aktivity serinových proteáz, jako je například trombin, trypsin nebo kallekrein (při použití stejné koncentrace inhibitoru). Takové proteázy jsou aktivní při krevním srážení a fibrinolýze.

Inhibice aktivity faktoru Xa nebo tvorba účinků uskutečněných touto inhibicí může probíhat in vivo, tzn. na jednotlivém subjektu.

Termín „subjekt“, jak je používán zde, se vztahuje na obratlovce, včetně savců, např. myši, krysy, králíky, psy, prasata, opice a zejména lidské subjekty, ve kterých se faktor Xa účastní srážení krve. Ošetření může být také provedeno vně těla subjektu, např. na mimotělní oběhu nebo při ošetření krevních vzorků od jednotlivých subjektů, obecně in vitro. In vitro použití sloučenin obecného vzorce I je např. použití jako biochemických nástrojů při vědeckých nebo analytických výzkumech nebo použití při in vitro diagnóze. Sloučenina vzorce obecného vzorce I může být dále výhodně používána jako antikoagulační prostředek, který může přijít do styku s krevním vzorkem k zabránění koagulace. K zabránění koagulace

krevního vzorku například účinné množství sloučeniny obecného vzorce I může přijít do styku s čerstvě získaným vzorkem krve.

Termín „účinné množství“, jak je používán zde, se vztahuje, pokud je používán v této souvislosti, na množství sloučeniny obecného vzorce I, které v požadované míře inhibuje aktivitu faktoru Xa. Pro odbornou veřejnost je snadné rozpoznat, že účinné množství sloučeniny podle vynálezu může být stanoveno za pomoci zde uvedených způsobů, pokud není uvedeno jinak.

Z hlediska uvedené použitelnosti sloučenin obecného vzorce I by mohla odborná veřejnost také poznat, že činidlo, např. heparin, může být nahrazeno sloučeninou podle vynálezu. Takové použití sloučeniny obecného vzorce I může vést, např. k úspoře nákladů v porovnání s jinými antikoagulančními prostředky.

V dalším provedení poskytuje předložený vynález způsob inhibice faktoru Xa u pacienta, při potřebě takového ošetření, zahrnující aplikaci, uvedenému pacientovi, sloučeniny obecného vzorce I v množství, které je účinné pro inhibici faktoru Xa. Termín „pacient“, jak je používán zde, se vztahuje zejména na teplokrevná zvířata, včetně savců a zejména na lidské subjekty. Pacient, kterého je potřeba ošetřit způsobem, při kterém se inhibuje faktor Xa, trpí onemocněním, jenž může být i na základě posouzení odborného lékaře výhodně zlepšeno inhibicí aktivity faktoru Xa.

Identifikace těch pacientů, kteří mají být ošetřeni způsobem inhibice faktoru Xa, je provedena standardními postupy používanými odbornou veřejností. Odborní pracovníci zkušení v klinické praxi mohou snadno poznat za použití klinických testů, lékařských prohlídek a z lékařských podkladů ty pacienty, kteří by měli být tímto způsobem ošetřeni.

Poněvadž sloučenina obecného vzorce I může inhibovat aktivitu faktoru Xa, je možné ji použít při redukování nebo inhibici krevního srážení u subjektu. To znamená, že předložený vynález dále poskytuje způsob redukce nebo inhibice vzniku krevních sraženin u subjektu, zejména u pacientů při potřebě takového ošetření, podáním terapeuticky účinného množství sloučeniny vzorce obecného vzorce I.

Terapeuticky účinné množství vytvářející účinek inhibice nebo redukce krevního srážení nebo účinné množství sloučeniny obecného vzorce I k inhibici faktoru Xa znamená množství nebo dávku sloučeniny obecného vzorce I, které by mělo být aplikováno subjektu při potřebě dosažení nebo udržení požadovaného účinku nebo k inhibici aktivity faktoru Xa u subjektu v požadované míře. Účinné množství nebo dávka, která by měla být aplikována může být podle potřeby upravena. Takové účinné množství nebo dávka, která má být aplikována, by se měla náležitě upravit podle okolností a potřeb subjektu, což je evidentní z použitých standardních technik a způsobů uvedených v předkládaném dokumentu nebo jiným způsobem známým z dosavadního stavu techniky a z pozorovaných výsledků, které byly obdrženy za stejných podmínek. Při stanovení účinné dávky jsou zohledňovány různé faktory, včetně, ale není to nikterak limitováno, : typu pacienta; jeho velikostí, věku a celkového zdravotního stavu; charakteru specifického onemocnění; míry zasažení nebo síly onemocnění; reakce jednotlivých pacientů; druhu sloučeniny, která je aplikována; způsobu podání; vybraného režimu dávkování; a použití souběžného léčení. Vhodná dávka může být stanovena za použití přístupů, které jsou velmi dobře známé v medicíně.

Obecně podle výše uvedených faktorů je evidentní, že účinné množství inhibitoru Xa nebo terapeuticky účinné množství sloučeniny obecného vzorce I bude různé a může se v širokém

rozmezí lišit. Obvykle bude účinné množství od asi 0,01 mg/kg tělesné váhy na den až 20 mg/kg na den. Výhodná je denní dávka v rozsahu asi 0,1 mg do asi 10 mg/kg. Tyto údaje se vztahují na lidský subjekt o váze asi 75 kg. Zejména, pokud se podávají relativně vysoká množství, je výhodné rozdělit denní dávku na několik, např. 2, 3, 4 menších dávek.

Sloučenina obecného vzorce I může být aplikována subjektu za účelem ošetření různých onemocnění zahrnujících např. ošetření a profylaxi kardiovaskulárních onemocnění nebo s nimi spojených komplikací, např. s infekcí nebo chirurgií. Příklady kardiovaskulárních onemocnění zahrnují resternózu, např. restenózu po angioplastice, prevenci proti novému ucpání, stavy po operacích koronárního bypassu, arteriální, venózní a mikrooběhová onemocnění, infarkt myokardu, anginu pectoris, tromboembolická onemocnění, trombózy, embolie, syndrom respirační tísně dospělých, selhání více orgánů, mrtvice nebo diseminovaná intravaskulární koagulace krve. Příklad souvisejících komplikací spojených s chirurgickým zákrokem zahrnují, např. hlubokou a proximální žilní trombózu, které se mohou objevit po chirurgickém zákroku. Z toho vyplývá, že sloučenina vynálezu je použitelná jako léčivý přípravek pro redukci nebo inhibici nežádoucí koagulace nebo srážení krve u subjektu.

Sloučeniny obecného vzorce I, jejich fyziologicky přijatelné soli a jejich jiné vhodné deriváty mohou být používány jako léčivé přípravky nebo farmaceutické přípravky ve výše uvedených způsobech jako takové, ve vzájemných směsích nebo ve formě farmaceutických přípravků, které obsahují, jako aktivní složku, účinné množství sloučeniny alespoň jedné sloučeniny obecného vzorce I a/nebo fyziologicky přijatelné soli a/nebo jejího jiného vhodného derivátu ve směsi nebo jinak spojené

s jedním nebo více farmaceuticky přijatelnými nosiči a pomocnými látkami.

Při ošetření pacienta je sloučenina obecného vzorce I jako taková nebo farmaceutický přípravek ji obsahující aplikován ve formě nebo způsobem, kterým se dosáhne biologická dostupnost sloučeniny obecného vzorce I v účinném množství, včetně perorálních a parenterálních způsobů. Například může být aplikována perorálně, například ve formě pilulek, tablet, povlečených tablet, granulí, tvrdých a měkkých želatinových kapslí, roztoků, sirupů, emulzí, suspenzí nebo aerosolových směsí; rektálně, například ve formě čípků; parenterálně, například intravenózně, intramuskulárně, transdermálně, intranasálně nebo subkutánně; ve formě injekčních roztoků nebo infuzních roztoků, mikrokapslí, implantátů nebo tyčinek; perkutánně nebo topicky, například ve formě mastí, roztoků nebo tinktur, nebo jinými způsoby, například ve formě aerosolů nebo nasálních sprejů. Obecně je výhodná perorální aplikace, nicméně záleží na specifickém případě. Jiné způsoby aplikace mohou být také vhodné, např. při akutní stavu onemocnění se provádí intravenózní aplikace pomocí injekce nebo infúzí. Pro odbornou veřejnost bude snadné vybrat formu a způsob aplikace v závislosti na onemocnění, které má být ošetřováno, stádiu onemocnění a jiných relevantních okolnostech.

Farmaceutické přípravky nebo léčebné přípravky obsahující sloučeninu obecného vzorce I a/nebo fyziologicky přijatelné soli a/nebo jejich jiné vhodné deriváty mohou být připraveny spojením sloučenin vzorce I a/nebo jejich fyziologicky přijatelných soli a/nebo jejich jiných vhodných derivátů s farmaceuticky přijatelným nosiči nebo pomocnými látkami, přičemž poměr a charakter je určen podle vybraného způsobu aplikace a standardní farmaceutickou praxí. Farmaceutické přípravky nebo léčiva se připraví způsoby, které jsou dobře

známé v oboru farmacie. Farmaceutické přípravky nebo léčebné přípravky budou obecně obsahovat účinné množství sloučeniny obecného vzorce (I) a/nebo fyziologicky přijatelnou sůl a/nebo její jiný vhodný derivát společně s vhodným množstvím nosiče tak, aby obsahovaly vhodnou dávku pro aplikaci subjektu. Farmaceutické přípravky mohou být upraveny pro perorální použití nebo parenterální použití a mohou být aplikovány pacientovi ve formě, např. tablet, kapslí, rektálních čípků, roztoků, suspenzí, mastí, tinktur, nosních sprejů, aerosolových směsí, implantátů, tyčinek, mikrokapslí, apod. Z toho vyplývá, že společně s nárokovanými sloučeninami poskytuje předložený vynález účinné farmaceutické přípravky nebo léčebné přípravky pro inhibici aktivity faktoru Xa a krevních sraženin u subjektu.

Předložený vynález dále zahrnuje způsob přípravy farmaceutických přípravků nebo léčebných přípravků, které obsahují alespoň jednu sloučeninu obecného vzorce I a/nebo fyziologicky přijatelnou sůl a/nebo její jiný vhodný derivát, jakož i použití sloučenin obecného vzorce I a/nebo fyziologicky přijatelných solí a/nebo jiné vhodné deriváty pro přípravu léčebných přípravků, zejména léčebných přípravků pro ošetření nebo profylaxi výše uvedených onemocnění.

Termín „farmaceuticky přijatelné nosiče a pomocné látky“ se vztahuje na takové látky nebo přípravky, které jsou netoxické vůči subjektu nebo mají přijatelnou toxicitu definovanou v příslušném regulačním opatření. Nosič nebo excipient může být pevná látka, polopevná látka nebo tekutá látka, která slouží jako nosič nebo médium pro aktivní složku.

Termín „farmaceuticky přijatelný nosič“, jak je používán zde, se vztahuje na standardní farmaceutické nosiče, např. tekuté nosiče, např. fosfátový fyziologický roztok, voda, emulze,

např. emulze typu voda v oleji nebo olej ve vodě nebo pevné nebo polopevné nosiče, např. laktóza, kukuřičný škrob, tuky, vosky, atd. Vhodné farmaceutické nosiče a jejich preparáty jsou dobře známy z dosavadního stavu techniky, např. v knize autorů Martin v Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th Ed. (Mack Publishing Co., Easton 1975), zde je uváděno jako odkaz s ohledem také na další aspekty složek a přípravu farmaceutických přípravků.

Příklady pomocných látek zahrnují plniva, dezintegrační činidla, pojiva, glidanty, zvlhčující látky, stabilizátory, emulgátory, konzervační látky, sladidla, barviva, chuťové přísady, aromatizační látky, zhušťovadla, ředidla, pufrý, solubilizační prostředky, činidla umožňující pomalé uvolňování účinků, soli k provádění změn osmotického tlaku, povlaková činidla, antioxidanty, atd.

Pro účel perorální aplikace mohou být sloučeniny obecného vzorce I začleněny do excipientů nebo inertních ředících roztoků nebo požitelných nosičů a používány ve formě, např. tablet, tablet s tenkým filmem, tablet s vrstvou, pilulek, pastilek, kapslí, granulí, roztoků, suspenzí, emulzí, léčebných nápojů, sirupů, oplatek, žvýkacích gum, apod. nebo mohou být uzavřeny v želatinové kapsli. Farmaceutické přípravky pro perorální aplikaci mohou být různé v závislosti na jednotlivých formách. Běžně obsahují alespoň 1 % aktivní složky obecného vzorce I a mohou vhodně obsahovat až zhruba 90 hmot. % jednotky. Výhodně obsah sloučenin obecného vzorce I a/nebo jejich fyziologicky přijatelných solí a/nebo jejího jiného vhodného derivátu může činit zhruba 4 hmotn. % až 70 hmotn. %. Množství aktivní složky přítomné v přípravcích je takové, aby byla dosažena forma jednotkové dávky vhodná pro aplikaci.

Tablety, pilule, kapsle, pastilky, apod. mohou obsahovat např. jeden nebo více z následujících nosičů a pomocných látek: pojiva, např. mikrokrytalickou celulózu, tragant nebo želatinu; excipienty, např. škrob nebo laktóza, látky zajišťující rozpad tablety po požití, např. kyselina alginová, Primogel, kukuřičný škrob, apod.; lubrikans, např. stearát hořečnatý nebo Sterotex; glidanty, např. koloidní oxid křemičitý; a mohou být přidány sladidla, např. sacharóza nebo sacharín, nebo ochucovadla, např. silice máty peprné, methylsalicylát nebo oranžová barvicí látka. Pokud je forma jednotkové dávky kapsle, pak může obsahovat kromě látek výše uvedeného typu, tekuté nosiče, např. polyethylenglykol nebo mastý olej. Další formy jednotkové dávky mohou obsahovat různé jiné látky, které modifikují fyzikální formu jednotkové dávky, např. jako povlaky. Z toho vyplývá, že tablety nebo pilule mohou být povlečeny cukry, šelakem nebo jinými činidly k enterosolventnímu potahování. Sirup může obsahovat kromě aktivní složky např. sacharózu jako sladidlo a určité konzervační látky, barviva a barvicí činidla a chuťové přísady.

Pro účely parenterální aplikace mohou být sloučeniny obecného vzorce I a/nebo jejich fyziologicky přijatelné soli a/nebo jejich vhodné deriváty včleněny do roztoku nebo suspenze. Roztoky nebo suspenze mohou např. také zahrnovat jeden nebo více z následujících nosičů a pomocných látek: sterilní ředidla, např. vodu pro injekci, fyziologický roztok, netuhnoucí oleje, polyethylenglykoly, glycerin, propylenglykol nebo jiná syntetická rozpouštědla; antibakteriální činidla, např. benzylalkohol nebo methylparaben; antioxidanty, např. kyselina askorbová nebo hydrogensířičitan sodný; chelatační činidla, např. kyselina ethylendiamintetraoctová; pufry, např. acetáty, citráty nebo fosfáty; činidla pro upravení toxicity, např. chlorid sodný nebo dextróza. Obsah sloučenin obecného

vzorci I v přípravcích pro parenterální aplikaci může být různý. Běžně obsahuje alespoň 0,1 hmotn. % sloučeniny obecného vzorce I. Výhodně se obsah sloučeniny vzorce I a/nebo její fyziologicky přijatelné soli a/nebo její jiné vhodné deriváty pohybuje zhruba od 0,1 % do 50 %. Parenterální preparáty mohou být včleněny do ampulí, stříkaček pro jedno použití, lékových z plastu nebo ze skla s vícenásobnou dávkou nebo infúzních láhví. Vhodné excipienty pro mikrokapsle, implantáty a vlákna jsou např. smíšené polymery na bázi kyseliny glykolové a kyseliny mléčné.

Látky používané při přípravě různých farmaceutických přípravků by měly být z farmaceutického hlediska v používaných množstvích čisté a netoxické.

Kromě jedné nebo více sloučenin obecného vzorce I a/nebo jedné nebo více jejich fyziologicky přijatelných soli a/nebo jednoho nebo více jejich vhodných derivátů jako aktivních sloučenin mohou také farmaceutické přípravky podle předloženého vynálezu obsahovat jeden nebo více dalších farmaceuticky přijatelných aktivních sloučenin.

V dalším obecnějším provedení poskytuje předložený vynález přípravky obsahující alespoň jednu sloučeninu obecného vzorce I a/nebo její sůl a/nebo její další vhodný derivát v příměsi nebo jinak spojené s jedním nebo více inertních nosičů. Tyto přípravky jsou použitelné např. jako kontrolní standardy, vhodné prostředky pro vytvoření dávek ve velkém množství nebo jako farmaceutické přípravky. Množství sloučeniny obecného vzorce I pro zkoušky je množství, které je snadno měřitelné standardními postupy a technikami. Množství sloučeniny obecného vzorce I bude obecně v rozmezí zhruba od 0,001 % až do 90 hmotn. % přípravku. Inertní nosiče mohou být jakákoliv látka, která se nerozkládá nebo jinak nereaguje (kovalentní

vazba) se sloučeninou obecného vzorce I. Příklady vhodných inertních nosičů jsou voda; vodné pufrы, např. ty, které jsou obecně použitelné při HPLC (vysokotlaková kapalinová chromatografie); organická rozpouštědla, např. acetonitril, ethylacetát, hexan, apod.; a farmaceuticky přijatelný nosič a pomocné látky.

Sloučeniny obecného vzorce I mohou být také používány jako výchozí látky nebo chemické meziprodukty při přípravě jiných sloučenin, zejména při přípravě jiných farmakologicky aktivních sloučenin. Příklady takových přeměn sloučenin vynálezu na jiné sloučeniny vynálezu jsou uvedeny níže. Pro tento způsob použití, kromě sloučenin obecného vzorce (I) a jejich fyziologicky přijatelných solí, mohou být použitelné také další soli sloučenin vzorce (I), které nejsou vhodné nebo jsou méně vhodné jako farmaceutické přípravky. Z toho vyplývá, že předložený vynález také popisuje sloučeniny obecného vzorce I a jejich soli obecně jako meziprodukty při přípravě farmakologicky aktivních sloučenin.

Následující testy mohou sloužit ke zkoumání farmakologické aktivity a k ilustrování výhodnosti sloučenin podle předloženého vynálezu jako inhibitorů faktoru Xa.

Test 1: In vitro inhibice vybraných čištěných enzymů účastnicích se koagulace a dalších serinových proteáz

Schopnost sloučenin obecného vzorce I inhibovat faktor Xa, trombin, plasmin, elastázu a trypsin může být odhadnuta ze stanovení koncentrace sloučeniny obecného vzorce I, která inhibuje aktivitu enzym z 50 % (IC_{50}). Při chromogenních stanoveních byly používány čištěné enzymy. Ke stanovení konstanty inhibice byla hodnota IC_{50} u upravena na kompetici se substrátem podle vzorce:

$$K_i = IC_{50} \times (1 / \{1 + ((\text{koncentrace substrátu}) / K_m \text{ substrátu})\})$$

přičemž K_m je Michaelis-Mentenova konstanta (Y.-C. Chen and W.H. Prusoff, *Biochem. Pharmacol.* 22: 3099 - 3018 (1973), zde je uvedeno jako odkaz).

a) Stanovení faktoru Xa

Při tomto stanovení byl používán pufr TBS-PEG (50 mM Tris-Cl, pH 7,8, 200 mM NaCl, 0,05 % (w/v) PEG-8000, 0,02 % (w/v) NaN_3). Hodnota IC_{50} byla stanovena smícháním, v příslušných jamkách mikrotitrační destičky Costar, 25 μ l lidského faktoru Xa (Enzyme Research Laboratories, Inc.; South Bend, IN) v TBS-PEG; 40 μ l 10 % (v/v) DMSO v TBS-PEG (neinhibovaná kontrolní skupina) nebo různých koncentrací sloučeniny, která měla být testována, zředěné v 10 % (v/v) DMSO v TBS-PEG; a substrátu S-2765 (N-benzyloxykarbonyl-D-Arg-Gly-L-Arg-p-nitriloanilid; Kabi Pharmacia, Inc.; Franklin OH) v TBS-PEG.

Stanovení bylo provedeno předinkubováním sloučeniny obecného vzorce I s enzymem po dobu 10 minut, poté byl test iniciován přidáním substrátu na finální objem 100 μ l. Počáteční rychlost hydrolýzy chromogenního substrátu byla měřena ze změny absorbance při 405 nm vyhodnocovacím zařízením (přístrojem Bio-tek Instruments) pro měření kinetiky reakce (Ceres UV900Hdi) při teplotě 25 °C během lineárního úseku časového průběhu (běžně 1,5 minuty po přidání substrátu). Koncentrace inhibitoru, jenž způsobí 50% snížení rychlosti hydrolýzy substrátu, je vypočtena lineární regresí grafického zpracování závislosti relativních rychlostí hydrolýzy (při srovnání s neinhibovanou kontrolní skupinou) na logaritmu koncentrace sloučeniny obecného vzorce I. Koncentrace enzymu je 0,5 nM a koncentrace substrátu je 140 μ M.

b. Stanovení trombinu

Při tomto stanovení byl používán pufr TBS-PEG. Hodnota IC_{50} byla stanovena podle výše uvedeného stanovení faktoru Xa, vyjma toho, že substrát je S-2366 (L-PyroGlu-L-Pro-L-Arg-p-nitroanilid; Kabi) a enzym je lidský trombin (Enzyme Research Laboratories, Inc.; South Bend IN). Koncentrace enzymu je 175 μ M.

c. Stanovení plasminu

Při tomto stanovení byl používán pufr TBS-PEG. Hodnota IC_{50} byla stanovena podle výše uvedeného stanovení faktoru Xa, vyjma toho, že substrát je S-2251 ((D)-Val-L-Leu-L-Lys-p-nitroanilid; Kabi) a enzym je lidský trombin (Kabi). Koncentrace enzymu je 5 nM a koncentrace substrátu je 300 μ M.

d. Stanovení trypsinu

Při tomto stanovení byl používán pufr TBS-PEG obsahující 10 mM $CaCl_2$. Hodnota IC_{50} byla stanovena podle výše uvedeného stanovení faktoru Xa, vyjma toho, že substrát je BAPNA (Benzoyl-L-Arg-p-nitroanilid; Sigma Chemical Co.; St. Louis MO) a enzym je hovězí pankreatický trypsin (Typ XIII, upravený TPCK; Sigma). Koncentrace enzymu je 50 nM a koncentrace substrátu je 300 μ M.

e. Stanovení elastázy

Při tomto stanovení byl používán pufr Tris-Cl; pH 7,4, 300 mM NaCl, 2% (v/v) N-methylpyrrolidon, 0,01 % (w/v) NaN_3 . Hodnota IC_{50} je stanovena podle výše uvedeného postupu při stanovení faktoru Xa, vyjma toho, že substrát je sukcynyl-Ala-Ala-Ala-p-

nitroanilid (Calbiochem-Nova Biochem Corp.; San Diego CA) a enzyme je lidská neutrofilní elastáza (Athens Research and Technology, Inc.; Athens GA). Koncentrace enzymu je 75 nM a koncentrace substrátu je 600 μ M. Kontrolní sloučeninou je „TENSTOP“ (methylester N- α -tosyl-Gly-p-amidinofenylalaninu; American Diagnostica, Inc.; Greenwich CT), což je reverzibilní inhibitor faktoru Xa (Stuerzebecher a kol., Thromb. Res. 54: 245 - 252 (1989); Hauptmann a kol., Thromb. Haem. 63: 220 - 223 (1990), vše je zde uvedeno jako odkaz).

Test 2: Testy k určení inhibice koagulace

Účinnost sloučenin obecného vzorce I může být určena in vitro testy doby protrombinu (PT) na hotovostní lidské plazmě odebrané od dárce. Mohou být používány také ex vivo testy, při kterých je plazma odebírána v různých časových intervalech po intravenózní (iv) aplikaci sloučeniny obecného vzorce I krysám nebo králíkům nebo po intraduodenální (id) aplikaci krysám a analýze testů doby protrombinu k určení poločasu plazmy. Testy doby protrombinu byly iniciovány tromboplastinem o vybraném zředění, čímž se dosáhlo extendovaného a vysoce reprodukovatelného konečného bodu koagulace, označovaného jako „testy doby protrombinu s vybraným zředěním“, jak je uvedeno níže. Účinnost různých sloučenin může být také stanovena na in vivo modelech trombózy krysího arteriovenózního zkratu.

a. In vitro testy doby protrombinu s vybraným zředěním

100 μ l předem ohřáté (37 °C) hotovostní lidské plazmy s malým počtem destiček (PPP) bylo přidáno do fibrometru (Baxter Diagnostics., Inc.; McGaw Park IL). Bylo přidáno 50 μ l sloučeniny obecného vzorce I o různých koncentracích v TBS-BSA společně s vápníkem (50 mM Tris-Cl, 100 mM NaCl, 0,1 % (w/v) hovězí sérum albumin, 20 mM CaCl_2). Při kontrolních

experimentech bylo za účelem měření doby neinhibované koagulace přidáno TBS-BSA společně s vápníkem, ale bez testované sloučeniny obecného vzorce I. Do fibrometru bylo přidáno 150 μ l zředěného předeštěného králičího tromboplastinu (Baxter) společně s vápníkem a časovací zařízení fibrometru bylo spuštěno. Před ošetřením sloučeninou byla naměřena závislost zředění králičího tromboplastinu, která pak byla použita pro zvolení vhodného zředění pro dosažení přibližně 30 sekundové doby PT pro neinhibovanou kontrolní skupinu. Experimentální koncentrace poskytující 50% inhibici koagulace (EC_{50}) při testované sloučenině byla vypočtena z časového průběhu zředění.

Jiným způsobem je možné testy doby protrombinu s vybraným zředěním provést podle „výzkumné“ metody na přístroji pro automatickou koagulaci firmy Instrumentation Laboratories (IL) typu ACL3000-plus (IL; Milán, Itálie). Tromboplastin byl ředěn do té doby, dokud nebyla dosažena doba srážení 30-35 sekund. Tato doba srážení byla stanovena jako 100% aktivita. Standardní křivka kalibrace byla vynesena podle postupného dvojnásobného zředění zředěného tromboplastinového činidla (králičí mozkový tromboplastin typ IL). Během stanovení bylo 50 μ l vzorku (plazma separovaná centrifugací) smícháno se 100 μ l tromboplastinového činidla a v průběhu 169 sekund byla provedena nefelometrická analýza. Doba koagulace byla stanovena z max. rychlosti změny rozptylu světla vypočtené přístrojem. Inhibice byla vyjádřena jako procentuální aktivita stanovená srovnáním s kalibrační křivkou.

b. Ex vitro testy doby protrombinu s vybraným zředěním

Testovaná sloučenina obecného vzorce I byla aplikována iv buď do žíly na ocase (krysa) nebo do ušní žíly (králík) podle schváleného postupu. V časových intervalech po aplikaci

testované sloučeniny obecného vzorce I byly z kanylované karotické žíly (krysa) nebo aurikulární žíly (králík) odebírány vzorky krve (0,5 ml). Po centrifugaci, kterou bylo získáno PPP, byla plazma ihned umístěna a skladována v ledu nebo zmrazena.

Pro stanovení doby zředění protrombinu byla plazma předeřhřata a testována výše uvedeným způsobem. Procentuální inhibice byla vypočtena ze závislosti (křivky) zředění tromboplastinu, která byla vytvořená u každé série vzorků, a používána ke stanovení doby, při které přibližně 50% počáteční antikoagulační aktivity zůstává v plazmě ($T_{1/2}$).

Testované sloučeniny obecného vzorce I mohou být také aplikovány krysám intraduodenálním dávkováním. Samčí krysy typu Sprague-Dawley vážící přibližně 300 g byly anestetizovány (subkutánně) směsí ketaminu a xylazinu podle schváleného postupu. Pro získání vzorků krve byla kanylována pravá karotická žíla. Byla provedena laparotomie a duodenum bylo kanylováno jehlou s kuličkovým hrotem a připevněno tak, aby sutura byla v distální poloze vzhledem k místu inserce. Další uchycení bylo umístěno do proximální polohy vzhledem k místu inserce kvůli zabránění úniku obsahu žaludku. Účinnost sutury při zabránění styku sloučeniny s místem inserce byla testována zkouškou vnitřním přetlakem při ukončení každého experimentu. Místo inserce je přibližně 4 cm od duodenálního-gastrického spojení. Sloučeniny jsou aplikovány v 1 ml normálního fyziologického roztoku. Vzorky krve (0,7 ml) byly odebírány před každou aplikací testované sloučeniny obecného vzorce I a v 15, 30, 60, 90 a 120 minutě po aplikaci. Plazma bylo separována centrifugací a testována na inhibici koagulace podle výše uvedených testů dob protrombinu.

c. Model trombózy krysího arteriovenózního zkratu

Antritrombotická účinnost různých sloučenin podle vynálezu může být stanovena na krysím mimotělním arteriovenózním (AV) zkratu. AV zkratový okruh se sestává z 20 cm dlouhé polyethylenové (PE) 60 hadičky vložené do pravé karotické žíly, 6 cm dlouhé hadičky PE 160 obsahující 6,5 cm dlouhé vlákno z mercerované bavlny (5 cm je vloženo do krevního toku) a druhé hadičky PE 60 (20 cm) uzavírající okruh do levé jugulární žíly. Celý okruh byl před inzercí naplněn standardním fyziologickým roztokem.

Testované sloučeniny obecného vzorce I jsou aplikovány kontinuální infuzí do žíly na ocase injekční pumpou a motýlovitým katétrem (objem infuze 1,02 ml/h). Sloučenina byla aplikována po dobu 30 minut, pak byl zkrat otevřen a krev se nechala protékat po dobu 15 minut (celkově 45 minut infuze). Na konci 15 minuty byl zkrat zaškrcen a vlákno bylo opatrně odstraněno a zváženo na analytických vahách. Procentuální inhibice tvoření trombu byla vypočtena pomocí hmotnosti trombu získané od kontrolní skupiny krys, kterým byla provedena infuze fyziologickým roztokem.

Následující tabulka 1 ukazuje inhibice aktivity faktoru Xa (hodnoty K_i) vybraných sloučenin obecného vzorce I (testování sloučenin na inhibici aktivity bylo provedeno podle výše uvedeného in vitro stanovení faktoru Xa (test 1a)).

Tabulka 1 Inhibice aktivity faktoru Xa (hodnoty K_i)

Příklad	K_i (Xa) [μ M]
3	0,1558
5	0,0006
6	0,0010
8	0,0351

10	0,6040
14	0,0218
17	2,29
21	8,37
28	0,047
30	0,153
38	1,1
40	0,0107
45	26,5
54	3,01
56	0,0021
58	0,0575
61	0,957
69	0,285
72	4,3
82	0,0393
89	6,48
92	5,93
94	1,7
97	0,04
104	6,5
129	0,36
136	0,01
144	0,011
154	0,001

Příklady provedení vynálezu

Následující příklady představují typické syntézy sloučenin obecného vzorce I. Tyto příklady je třeba chápat pouze jako ilustrativní a v žádném případě neomezují rozsah předkládaného vynálezu. Sloučeniny příkladů byly charakterizovány hmotnostním spektrem (MS) a/nebo spektrem NMR a/nebo teplotou tání. Jestliže se v posledním stupni syntézy sloučeniny použije kyselina, jako je kyselina trifluoroctová nebo kyselina octová, například když se použije kyselina trifluoroctová, aby se odstranila terc-butylová skupina nebo když se sloučenina čistí chromatograficky za použití eluentu, který obsahuje takovou kyselinu, v některých případech, v závislosti na postupu zpracování, například podrobnostech postupu sušení vymrazováním se sloučenina získá částečně nebo úplně ve formě soli použité kyseliny, například ve formě soli kyseliny octové nebo kyseliny trifluoroctové nebo hydrochloridové soli.

Obecný způsob syntézy derivátů malonové kyseliny na pevné fázi

Pro přípravu mnoha sloučenin podle vynálezu byl používán obecný způsob syntézy peptidů na pevné fázi. Tyto způsoby byly popsány například Stewardem a Youngem (Solid Phase Peptide Synthesis (Freeman a Co., San Francisco, 1969), uváděný zde jako odkaz.

Pokud není uvedeno jinak, sloučeniny byly syntetizovány na polystyrenové pryskyřici zesítěné 1% divinylbenzenem. Na pevný nosič byl navázán linker citlivý vůči kyselině (Rink Linker) (Rink, Tetr. Lett. 28: 3787 (1987); Sieber, Tetr. Lett. 28: 2107 (1987), obé je zde uvedeno jako odkaz). Všechny sloučeniny byly syntetizovány na vestavěném poloautomatickém syntezátoru peptidů. L- a D-deriváty aminokyselin chráněné skupinami Boc nebo Fmoc byly z různých komerčních zdrojů,

například Advanced ChemTech (Louisville, KY 40228-9973, USA); Bachem (King of Prussia, PA 19406, USA) a PerSeptive Biosystems (Framingham, MA 01701, USA).

Syntéza sloučenin obecného vzorce I byla provedena klasickým způsobem syntézy s Fmoc (E. Atherton a R. C. Sheppard „Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach“, IRL Press, Oxford, England, 1989) při použití diizopropylkarbodiimidu a benzotriazol-1-olu jako aktivačních činidel. Veškeré kopulační reakce byly provedeny v dimethylformamidu nebo ve směsi dimethylformamidu a dichlormethanu (1:1) při pokojové teplotě v průběhu 40 minut. Ukončení kopulační reakce bylo sledováno ninhydrinovým testem způsobem popsáným Kaiserem (Kaiser a spol., Anal. Biochem. 34:595 (1970)), uváděno zde jako odkaz. Druhá (dvojitá) kopulační reakce byla provedena v případě nedokončené první kopulační reakce.

Po ukončení syntézy peptidu na pryskyřici bylo provedeno odstranění chránící Fmoc skupiny a promytí v cyklech, po kterých následovalo stanovení (při 302 nm) uvolněného množství skupiny Fmoc. Poté byla s deriváty kyseliny malonové provedena podobným způsobem kopulační reakce se směsí diizopropylkarbodiimidu a benzotriazol-1-olu. Konečná pryskyřice byla postupně promyta dichlormethanem, dimethylformamidem a dichlormethanem a poté byla sušena ve vakuu a použita v dalším kroku.

Syntéza amidoximu na pevné fázi

Obecný způsob spočíval ve smíchání pryskyřice (z výše uvedeného kroku) s látkou obsahující nitril s 20 až 40 ekvivalenty hydroxylaminhydrochloridu za přítomnosti směsi triethylaminu, pyridinu a dimethylformamidu (poměr 1:1:1). Suspenze byla obvykle sonifikována po dobu 30 sekund a protřepávána při pokojové teplotě po dobu 12 až 24 hodin.

Ukončení přeměny nitrilu na amidoxim bylo monitorováno buď FT-IR (KBr disk) sledováním úbytku absorpce -CN při 2225 cm^{-1} nebo štěpením malého vzorku pryskyřice směsí kyseliny trifluor-octové a vody (95:5) nebo činidlem K (viz dále) a stanovením molekulové hmotnosti pomocí ESMS. Konečná pryskyřice byla poté promyta dimethylformamidem, 10% H_2O v dimethylformamidu, ethanolem, dichlormethanem a poté sušena ve vakuu a použita v dalším kroku.

Syntéza amidinu na pevné fázi.

Byly publikovány různé způsoby syntézy sloučenin obsahujících amidinovou skupinu (viz P. J. Dunn (1995) v „Comprehensive Organic Functional Group Transformations: Amidines and N-substituted Amidines“, Vol. 5, 741-782 (vyd. Alan R. Katritzky, Otto Meth-Cohen & Charles W. Rees), Pergamon, N.Y., 1995). Žádný z těchto způsobů není slučitelný s organickou syntézou na pevné fázi. Vyvinuli jsme vlastní způsob syntézy amidinu přes amidoximový prekursor a redukci s použitím přebytku triethylsilanu za přítomnosti rozpustného katalyzátoru (dichlortetrakis (trifenylfosfin) ruthenia (II) DCRu). Bylo zjištěno, že přidáním trifenylfosfinu za přítomnosti kyseliny octové usnadňuje redukci a zvyšuje výtěžek sloučenin amidinu. Při typickém experimentu byla do redukční směsi, sestávající z DCRu, trifenylfosfinu, kyseliny octové, dimethylformamidu a triethylsilanu v redakční nádobě, opatřené uzávěrem (viz příklad 4/5) přidána vysušená pryskyřice. Redukce obvykle probíhala po dobu 12 až 24 hodin při teplotě místnosti. V případě neukončené reakce bylo použito další množství triethylsilanu a doba reakce byla prodloužena o dalších 4 až 8 hodin. Peptidomimetická pryskyřice byla promyta dimethylformamidem, ethanolem, dichlormethanem a suspendována v směsném činidle K (King a kol., Int. J. Pept. Prot. Res. 36: 255-266 (1990)) (5 ml/g

peptidové pryskyřice) po dobu 180 minut při teplotě místnosti. Poté byla směs používaná pro štěpení filtrována v bezvodém diethyletheru a pevná sraženina byla izolována centrifugací a sušena na vzduchu pevnými peletami KOH a pevná látka byla rozpuštěna ve směsi 0,1 % trifluoroctové kyseliny ve vodě a acetonitrilu (1:1) a lyofylizována.

Při čištění sloučeniny obecného vzorce I se vzorek surové lyofylizované sloučeniny rozpustil ve směsi 0,1 % vodné kyseliny trifluoroctové, obsahující 10 % až 50 % acetonitrilu. Roztok sloučeniny se obvykle filtroval přes injekční stříkačku spojenou s 0,45 μm nylonovým „ACRODISC“ 13 (Gelman Sciences; Ann Arbor MI) filtrem. Vlastní objem filtrovaného peptidomimetického roztoku byl injektován do semipreparativní kolony C₁₈ (Vydac Protein and Peptide C18, 218TP1010; The Seoriation Group; Hesperia CA). Průtok gradientové nebo izokratické směsi pufru 0,1 % trifluoroctové kyseliny a acetonitrilu (kvalita vhodná HPLC) jako eluentu byl udržován přístrojem Beckman „SYSTEM GOLD“ HPLC. Eluce mimetického peptidu byla sledována pomocí UV detekce při 230 nm (Beckman, System Gold, Programmable Solvent Module 126 a Programmable Detector Module 166 kontrolovaný programem „SYSTEM GOLD“). Po identifikaci píku odpovídajícímu každému diastereoizomeru za použití MS byly sloučeniny sebrány, lyofylizovány a biologicky testovány. MS byla provedena pomocí přístroje SCIEX API III+. NMR bylo změřeno na přístroji General Electronic (300 MHz) nebo Bruker Avance DPX 300 (300 MHz) a vzorky byly typicky měřeny v DMSO-d₆ nebo CDCl₃ (Aldrich).

Typické syntézy jednotlivých sloučenin jsou uvedeny ve schématu 5 a následující příklady ilustrují experiment v detailech.

Příklad 2 a 3

Sůl kyseliny trifluorooctové N-[(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-(S)-cyklohexylmethyl]-2-[4-(N-hydroxykarbamimidoyl)benzyl]-N',N'-dimethylmalonamidu, polárnější diastereomer a

sůl kyseliny trifluorooctové N-[(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-(S)-cyklohexylmethyl]-2-[4-(N-hydroxykarbamimidoyl)benzyl]-N',N'-dimethylmalonamidu, méně polární diastereomer

a) N-[(1-(S)-{Karbonyl-(Rinkova pryskyřice)}-4-(bis-terc-butoxykarbonylguanidino)butylkarbamoyl)-(S)-cyklohexylmethyl]-2-(R,S)-(4-kyanobenzyl)-N',N'-dimethylmalonamid

Rinkova pryskyřice (210 mg, 0,16 mmol) u které byla odstraněna chránicí skupina Fmoc byla kondenzována na 2-(Fmoc-amino)-4-(S)-(N,N'-bis-terc-butoxykarbonylguanidino)butanovou kyselinu (326 mg, 0,5 mmol, 2 ekvivalenty) za použití benzotriazol-1-olu a diizopropylkarbodiimidu (vždy 2 ekvivalenty), jak je uvedeno v příkladu 1. Po odstranění chránicí skupiny Fmoc se pryskyřice kondenzovala s (S)-cyklohexyl-(Fmoc-amino)octovou kyselinou (2 ekvivalenty) za použití stejných kondenzačních podmínek. Po odstranění chránicí skupiny Fmoc byla pryskyřice kondenzována s 2-(R,S)-(4-kyanobenzyl)-N,N-dimethylmalonamovou kyselinou (45 mg, 0,17 mmol, 1,1 ekv.) za použití směsi diizopropylkarbodiimidu a benzotriazol-1-olu (vždy 1,1 ekv.) v dimethylformamidu po dobu 4 hodin při teplotě místnosti. Úplnost průběhu reakce se potvrdila ninhydrinovým testem. Pryskyřice se promyla s dimethylformamidem, methanolem a dichlormethanem a sušila se ve vakuu po dobu 2 až 3 hodin.

b) Trifluoracetát N-[(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-(S)-cyklohexylmethyl]-2-(R)-[4-(N-hydroxykarbamimidoyl)benzyl]-N',N'-dimethylmalonamidu a trifluoracetát N-[(1-(R)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-(S)-cyklohexylmethyl]-2-(S)-[4-(N-hydroxykarbamimidoyl)benzyl]-N',N'-dimethylmalonamidu

Sušená pryskyřice ze stupně shora se přenesla do 20 ml vialky se šroubovým uzávěrem a smísila se s hydrochloridem hydroxylaminu (350 mg, 5 mmol, 25 ekv.). Do vialky se přidala směs triethylaminu, pyridinu a dimethylformamidu (1:1:1,8 ml), poté se vialka uzavřela a sonifikovala se 30 vteřin. Reakční směs se kývala při teplotě místnosti přes noc. Komplettnost reakce se kontrolovala jak je uvedeno v příkladu 1. Finální pryskyřice se rozdělila na dvě části. Jedna část se štěpila a zpracovala se jak je popsáno v příkladu 1 a získala se sloučenina uvedená v názvu. Analýza pomocí MS udávala molekulovou hmotnost 573,4 (vypočteno 573,3). Druhá část se použila v příkladu 4 a 5.

Příklad 4 a 5

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-[(1-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]-N',N'-dimethylmalonamidu, diastereomerní směs a méně polární diastereomer

Roztok dichlortetrakis(trifenylfosfin)ruthenia(II) (20 mg) a trifenylfosfinu (80 mg) v dimethylformamidu (1 ml) a ledové kyselině octové (135 μ l) se zahříval na 50 °C po dobu 10 až 15 minut a získal se čirý, hnědě zbarvený roztok. Reakční vialka se ochladila na teplotu místnosti a přidala se druhá část sušené pryskyřice (100 mg) z příkladu 2/3b a poté se přidal

triethylsilan (1 ml). Vialka se uzavřela pod dusíkem a třepala se pod N₂ při teplotě místnosti po dobu 12 hodin. Úplnost redukce na amidin se sledovala štěpením malého množství pryskyřice a testováním produktu s HPLC/ESMS. Finální pryskyřice se promyla dimethylformamidem, methanolem, dichlormethanem a zpracovala se jak je uvedeno v příkladu 1. Lyofilizovaný produkt (14 mg) se čistil HPLC a oddělily se dva diastereoizomery. Čištěný produkt se analyzoval ESMS, vypočteno 560,35; nalezeno 560.

Příklad 6 a 7

Sůl kyseliny trifluoroctové allylesteru 2-(S)-{2-(S)-[2-(benzylmethylkarbamoyl)-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionylamino]-2-cyklohexylacetylamino}-5-guanidinopentanové kyseliny, méně polární diastereomer a

sůl kyseliny trifluoroctové allylesteru 2-(S)-{2-(S)-[2-(benzylmethylkarbamoyl)-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionylamino]-2-cyklohexylacetylamino}-5-guanidinopentanové kyseliny, polárnější diastereomer

a) N-Benzyl-2-(R,S)-(4-kyanobenzyl)-N-methylmalonamová kyselina

Roztok benzylmethylaminu (120 ml, 887 mmol), bis-(trimethylsilyl)acetamidu (118 ml, 482 mmol) a bezvodého dichlormethanu (1000 ml) se zahříval při zpětném toku po dobu 3 hodin.

Reakční směs se nechala zahřát na teplotu místnosti a po částech se přidal 4-(R,S)-(2,2-dimethyl-4,6-dioxo-[1,3]dioxan-5-ylmethyl)benzonitril (25 g, 97 mmol). Reakční směs se zahřívala při zpětném toku další 3 hodiny, ochladila se na teplotu místnosti a vlila se do studené směsi 1700 ml 1 N kyseliny chlorovodíkové a 800 ml ethylacetátu, pH se upravilo

pomocí 6 N roztoku hydroxidu sodného na hodnotu 6 a směs se extrahovala ethylacetátem a dichlormethanem. Spojené extrakty se promyly solankou, sušily se koncentrovaly se ve vakuu. Vysrážené krystaly se odsály a po vysušení se získalo 25,0 g (80 %) žádaného produktu.
t.t. 152 až 153 °C (rozklad).

b) Methylester (S)-[2-benzylmethylkarbamoyl]-3-(R,S)-(4-kyanofenyl)propionylamino]cyklohexyloctové kyseliny

Roztok N-benzyl-2-(R,S)-(4-kyanobenzyl)-N-methylmalonamové kyseliny (25,0 g, 78 mmol), methylesteru (S)-aminocyklohexyloctové kyseliny (14,2 g, 83 mmol), diizopropylethylaminu (16 ml, 94 mmol), 3-hydroxy-3H-benzo[d][1,2,3]triazin-4-onu (3,2 g, 20 mmol) a dimethylformamidu (520 ml) se ochladil na 10 °C. Poté se přidal po kapkách roztok dicyklohexylkarbodiimidu (18,7 g, 91 mmol) v toluenu (30 ml) a reakční směs se nechala stát přes noc. Vysrážená močovina se odsála, filtrát se odpařil ve vakuu, rozpustil se v ethylacetátu, promyl se nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a solankou, sušil se a odpařil se ve vakuu. Krystalizací ze směsi n-heptan/izopropanol se získalo 6,3 g (17 %) žádaného produktu.
t.t.: 119 až 120 °C. Filtrát se odpařil a čistil se sloupcovou chromatografií na silikagelu směsí n-heptan/ethylacetát = 10/1 jako eluentu. Spojené frakce daly 6,1 g (17 %) žádaného produktu. t.t. 120 až 121 °C.

c) Methylester {2-(benzylmethylkarbamoyl)-3-(R,S)-[4-(N-hydroxykarbamimidoyl)fenyl]propionylamino}-(S)-cyklohexyloctové kyseliny

Suspenze methylesteru [2-(benzylmethylkarbamoyl)-3-(R,S)-(4-kyanofenyl)propionylamino]-(S)-cyklohexyloctové kyseliny (12,0 g,

26 mmol) a hydroxylaminu (4,3 g, 130 mmol v ethanolu (150 ml) se zahřívala při zpětném toku po dobu 4 hodin. Reakční směs se ochladila na teplotu místnosti, odpařila se ve vakuu, rozpustila se v ethanolu a vlila se do ledové vody. Sraženina se sebrala odsátím a sušila se při 60 °C ve vakuu a získalo se 11,6 g (90 %) žádaného produktu.

t.t.: 135 až 138 °C, MS: 509 (M+H).

d) Methylester [2-(benzylmethylkarbamoyl)-3-(R,S)-[4-(karbamimidoyl)fenyl]propionylamino]-(S)-cyklohexyloctové kyseliny

Methylester {2-(benzylmethylkarbamoyl)-3-(R,S)-[4-(N-hydroxykarbamimidoyl)fenyl]propionylamino}-(S)-cyklohexyloctové kyseliny (11,0 g, 22 mmol) se hydrogenoval v kyselině octové palladiem na aktivním uhlí a tak se získalo 9,2 g (77 %) žádaného produktu, který se použil bez dalšího čištění v příštím kroku.

t.t.: 123 až 124 °C, MS: 493 (M+H)

e) Sůl kyseliny trifluorooctové [2-(benzylmethylkarbamoyl)-3-(R,S)-[4-(karbamimidoyl)fenyl]propionylamino]-(S)-cyklohexyloctové kyseliny

Shora uvedený methylester [2-(benzylmethylkarbamoyl)-3-(R,S)-[4-(karbamimidoyl)fenyl]propionylamino]-(S)-cyklohexyloctové kyseliny (9,2 g, 19 mmol) se suspendoval v acetonitrilu (350 ml) a přidala se směs voda/kyselina chlorovodíková (1/1, 500 ml) a reakční směs se míchala při teplotě místnosti. Po 4 dnech se reakční směs odpařila, přidala se voda a směs se lyofylizovala. Produkt se čistil sloupcovou chromatografií na silikagelu směsí dichlormethan/methanol/kyselina trifluorooctová = 15/1/0,5 až 4/1/0,5. Sebrané frakce poskytly 8,2 g (74 %) žádaného produktu.

MS: 479 (M+H).

f) Sůl kyseliny trifluoroctové allylesteru 2-(S)-{2-(S)-[2-benzylmethylkarbamoyl)-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionylamino]-2-cyklohexylacetylamino}-5-guanidinopentanové kyseliny, méně polární diasteromer a

sůl kyseliny trifluoroctové allylesteru 2-(S)-{2-(S)-[2-benzylmethylkarbamoyl)-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionylamino]-2-cyklohexylacetylamino}-5-guanidinopentanové kyseliny, polárnější diastereomer diasteromer

K roztoku soli kyseliny trifluoroctové [2-(benzylmethylkarbamoyl)-3-(R,S)-[4-(karbamimidoyl)fenyl]propionylamino]-(S)-cyklohexyloctové kyseliny (2,9 g, 4,9 mmol) v dimethylformamidu (350 ml) se přidal při teplotě 0 °C kollidin (2,4 g, 19,6 mmol) a HATU (2,1 g, 5,4 mmol). Reakční směs se míchala při této teplotě po dobu 30 minut a poté se přidal allylester (S)-2-amino-5-guanidinopentanové kyseliny. Reakční směs nechala zahřát na teplotu místnosti a poté se nechala stát 60 hodin. Rozpouštědlo se odpařilo ve vakuu a zbytek se čistil MPLC na materiálu RP₁₈ za použití směsi voda/ethanol/kyselina trifluoroctová (9/1/0,1 až 5/5/0,1) jako eluentu a získalo se 1,0 g (23 %) polárnějšího diastereomeru a 584 mg (13 %) méně polárního diastereomeru. Obě frakce vykazovaly správné MS spektrum. Následující sloučeniny se připravily za použití postupů popsaných shora:

Příklad	Název	MS	Metoda
8	Sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-cyklohexylmethyl]malonamidu, polárnější	ok	pevná fáze

	diastereomer		
9	Sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-cyklohexylmethyl]malonamidu, méně polární diastereomer	ok	pevná fáze
10	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-dimethylkarbamoyl-propionyl]-1,2,3,4-tetrahydroizochinolin-3-(S)-karboxylové	ok	pevná fáze
11	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-fenylethyl]-N'-methylmalonamidu	ok	pevná fáze
12	Sůl kyseliny trifluoroctové N-allyl-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-fenylethyl]malonamidu	ok	pevná fáze
13	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-fenylethyl]-N'-fenylmalonamidu	ok	pevná fáze
14	Sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-N'-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]-2-[4-(N-hydroxykarbamimidoyl)benzyl]malonamidu	ok	pevná fáze
15	Sůl kyseliny trifluoroctové N-[2-(4-aminofenyl)-1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)ethyl]-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-methylmalonamidu	ok	pevná fáze
16	Sůl kyseliny trifluoroctové N-[2-(4-aminofenyl)-1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)ethyl]-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N',N'-dimethylmalonamidu	ok	pevná fáze

17	Sůl kyseliny trifluoroctové N-allyl-N'-[2-(4-aminofenyl)-1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)ethyl]-2-(4-karbamimidoylbenzyl)malonamidu	ok	pevná fáze
18	N-[2-(4-Aminofenyl)-1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)ethyl]-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-fenylmalonamid	ok	pevná fáze
19	2-(4-Karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-methylbutyl]-N,N'-dimethylmalonamid	ok	pevná fáze
20	Sůl kyseliny trifluoroctové N-allyl-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-methylbutyl]-N'-methylmalonamidu	ok	pevná fáze
21	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-methylbutyl]-N-methyl-N'-fenylmalonamidu	ok	pevná fáze
22	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-fenylethyl]-N,N'-dimethylmalonamidu	ok	pevná fáze
23	Sůl kyseliny trifluoroctové N-allyl-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-fenylethyl]-N'-methylmalonamidu	ok	pevná fáze
24	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-fenylethyl]-N-methyl-N'-fenylmalonamidu	ok	pevná fáze
25	Sůl kyseliny trifluoroctové (1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutyl)amidu 2-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-methylkarbamoyl-propionyl]-1,2,3,4-tetrahydroizochinolin-	ok	pevná fáze

	3-karboxylové kyseliny		
26	Sůl kyseliny trifluoroctové (1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutyl)amidu 2-(S)-[2-allylkarbamoyl-3-(4-karbamimidoylfenyl)-propionyl]-1,2,3,4-tetrahydroizochinolin-3-karboxylové kyseliny	ok	pevná fáze
27	Sůl kyseliny trifluoroctové (1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutyl)amidu 2-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-fenylkarbamoyl-propionyl]-1,2,3,4-tetrahydroizochinolin-3-karboxylové kyseliny	ok	pevná fáze
28	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)pentyl]-N'-methylmalonamidu	ok	pevná fáze
29	Sůl kyseliny trifluoroctové N-allyl-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-pentyl]malonamidu	ok	pevná fáze
30	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)pentyl]-N'-fenylmalonamidu	ok	pevná fáze
31	Sůl kyseliny trifluoroctové 4-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-methylkarbamoyl-propionylamino]-4-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)butanové kyseliny	ok	pevná fáze
32	Kyselina 4-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-dimethylkarbamoylpropionylamino]-4-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-butanová	ok	pevná fáze
33	Sůl kyseliny trifluoroctové 4-(S)-[2-allylkarbamoyl-3-(4-karbamimidoylfenyl)-propionylamino]-4-(1-(S)-karbamoyl-4-gu-	ok	pevná fáze

22.08.02

	anidinobutylkarbamoyl)butanové kyseliny		
34	Kyselina 4-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-fenylkarbamoylpropionylamino]-4-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-butanová	ok	pevná fáze
35	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-naftalen-2-ylethyl]-N'-methylmalonamidu	ok	pevná fáze
36	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-naftalen-2-ylethyl]-N',N'-methylmalonamidu	ok	pevná fáze
37	Sůl kyseliny trifluoroctové N-allyl-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-naftalen-2-ylethyl]malonamidu	ok	pevná fáze
38	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-naftalen-2-ylethyl]-N'-fenylmalonamidu	ok	pevná fáze
39	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-3-fenylpropyl]-N'-methylmalonamidu	ok	pevná fáze
40	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-3-fenylpropyl]-N',N'-dimethylmalonamidu	ok	pevná fáze
41	Sůl kyseliny trifluoroctové N-allyl-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-3-fenylpropyl]malonamidu	ok	pevná fáze
42	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karb-	ok	pevná

22.08.02

	amimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-3-fenylpropyl]-N'-fenylmalonamidu		fáze
43	Sůl kyseliny trifluoroctové N-[4-amino-1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)butyl]-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-methylnmalonamidu	ok	pevná fáze
44	Sůl kyseliny trifluoroctové N-[4-amino-1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)butyl]-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N',N'-dimethylnmalonamidu	ok	pevná fáze
45	Sůl kyseliny trifluoroctové N-allyl-N'-[4-amino-1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)butyl]-2-(4-karbamimidoylbenzyl)malonamidu	ok	pevná fáze
46	Sůl kyseliny trifluoroctové N-[4-amino-1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)butyl]-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-fenylmalonamidu	ok	pevná fáze
47	Sůl kyseliny trifluoroctové 3-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-methylkarbamoylpropionylamino]-N-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutyl)sukcinamové	ok	pevná fáze
48	Sůl kyseliny trifluoroctové 3-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-dimethylkarbamoylpropionylamino]-N-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutyl)sukcinamové	ok	pevná fáze
49	Sůl kyseliny trifluoroctové 3-(S)-[2-allylkarbamoyl-3-(4-karbamimidoylfenyl)-propionylamino]-N-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutyl)sukcinamové	ok	pevná fáze
50	Sůl kyseliny trifluoroctové 3-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-fenylkarbamoylpropionylamino]-N-(1-(S)-karbamoyl-4-gua-	ok	pevná fáze

	nidinobutyl) sukcinamové		
51	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karb-amimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-hydroxyethyl]-N'-methylmalonamidu	ok	pevná fáze
52	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karb-amimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-hydroxyethyl]-N',N'-dimethylmalonamidu	ok	pevná fáze
53	Sůl kyseliny trifluoroctové N-allyl-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-hydroxyethyl]malonamidu	ok	pevná fáze
54	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karb-amimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-hydroxyethyl]-N'-fenylmalonamidu	ok	pevná fáze
55	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karb-amimidoylbenzyl)-N-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)fenylmethyl]-N'-methylmalonamidu	ok	pevná fáze
56	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)fenylmethyl]-N',N'-dimethylmalonamidu	ok	pevná fáze
57	Sůl kyseliny trifluoroctové N-allyl-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)fenylmethyl]malonamidu	ok	pevná fáze
58	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)fenylmethyl]-N',N'-fenylmalonamidu	ok	pevná fáze
59	Sůl kyseliny trifluoroctové N-[2-benzyl-	ok	pevná

22.08.02

	oxy-1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)ethyl]-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-methylmalonamidu		fáze
60	Sůl kyseliny trifluoroctové N-[2-benzyl-oxy-1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)ethyl]-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N',N'-dimethylmalonamidu	ok	pevná fáze
61	Sůl kyseliny trifluoroctové N-allyl-N'-[2-benzyl-oxy-1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)ethyl]-2-(4-karbamimidoylbenzyl)malonamidu	ok	pevná fáze
62	Sůl kyseliny trifluoroctové N-[2-benzyl-oxy-1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)ethyl]-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-fenylmalonamidu	ok	pevná fáze
63	Benzylester kyseliny [5-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-ethylkarbamoylpropionylamino]-5-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)pentyl]karbamové	ok	pevná fáze
64	Benzylester kyseliny [5-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-dimethylkarbamoylpropionylamino]-5-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)pentyl]karbamové	ok	pevná fáze
65	Benzylester kyseliny [5-(S)-[2-allylkarbamoyl-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionylamino]-5-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)pentyl]karbamové	ok	pevná fáze
66	Benzylester kyseliny [5-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-fenylkarbamoylpropionylamino]-5-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)pentyl]karbamové	ok	pevná fáze
67	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)pentyl]-	ok	pevná fáze

	N',N'-dimethylmalonamidu, polárnější diastereomer		
68	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)pentyl]-N',N'-dimethylmalonamidu, méně polární diastereomer	ok	pevná fáze
69	Sůl kyseliny trifluoroctové 4-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-dimethylkarbamoylpropionylamino]-4-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-2-cyklohexylethylkarbamoyl)-4-guanidinobutylkarbamoyl]butanové kyseliny	ok	pevná fáze
70	Sůl kyseliny trifluoroctové 4-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-methylkarbamoylpropionylamino]-4-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-2-cyklohexylethylkarbamoyl)-4-guanidinobutylkarbamoyl]butanové kyseliny	ok	pevná fáze
71	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)pentyl]-N',N'-dimethylmalonamidu	ok	pevná fáze
72	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(S)-(2-(R)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-dimethylkarbamoylpropionylamino]hexanoylamino)-5-guanidinopentanové kyseliny	ok	pevná fáze
73	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(S)-(2-(R)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-methylkarbamoylpropionylamino]hexanoylamino)-5-guanidinopentanové kyseliny	ok	pevná fáze
74	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(S)-(2-(R)-[2-benzylkarbamoyl-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionylamino]hexanoylamino)-5-guanidinopentanové kyseliny	ok	pevná fáze
75	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karb-	ok	pevná

	amimidoylbenzyl)-N-{1-(S)-[1-(S)-karbamoyl-2-(4-hydroxyfenyl)ethylkarbamoyl]-pentyl}-N',N'-dimethylmalonamidu		fáze
76	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(3-karbamidoylbenzyl)-N-{1-(S)-[1-(S)-karbamoyl-2-(4-hydroxyfenyl)ethylkarbamoyl]pentyl}-N',N'-dimethylmalonamidu	ok	pevná fáze
77	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(S)-{2-(S)-[3-(4-karbamidoylfenyl)-2-dimethylkarbamoylpropionylamino]hexanoylamino}-5-guanidinopentanové kyseliny	ok	pevná fáze
78	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(S)-{2-(S)-[3-(4-karbamidoylfenyl)-2-methylkarbamoylpropionylamino]hexanoylamino}-5-guanidinopentanové kyseliny	ok	pevná fáze
79	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(S)-{2-(S)-[2-benzylkarbamoyl-3-(4-karbamidoylfenyl)propionylamino]hexanoylamino}-5-guanidinopentanové kyseliny	ok	pevná fáze
80	Kyselina 2-(S)-{2-(S)-[3-(4-karbamidoylfenyl)-2-dimethylkarbamoylpropionylamino]-2-cyklohexylacetyl-amino}-5-guanidinopentnová; sloučenina s kyselinou trifluoroctovou, sůl kyseliny trifluoroctové	ok	pevná fáze
81	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(S)-{2-(S)-[3-(4-karbamidoylfenyl)-2-methylkarbamoylpropionylamino]-2-cyklohexylacetyl-amino}-5-guanidinopentanové	ok	pevná fáze
82	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(S)-{2-(S)-[2-benzylkarbamoyl-3-(4-karbamidoylfenyl)propionylamino]-2-cyklohexylacetyl-amino}-5-guanidinopentanové kyseliny	ok	pevná fáze
83	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(S)-{2-(S)-	ok	pevná

	[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-dimethylkarbamoylpropionylamino]-3-cyklohexylpropionylamino)-5-guanidinopentanové kyseliny		fáze
84	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(S)-(2-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-methylkarbamoylpropionylamino]-3-cyklohexylpropionylamino)-5-guanidinopentanové kyseliny	ok	pevná fáze
85	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(S)-(2-(S)-[2-benzylkarbamoyl-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionylamino]-3-cyklohexylpropionylamino)-5-guanidinopentanové kyseliny	ok	pevná fáze
86	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(R)-(1-(R)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-cyklohexylethyl]-N',N'-dimethylmalonamidu	ok	pevná fáze
87	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(3-karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)pentyl]-N',N'-dimethylmalonamidu	ok	pevná fáze
88	Sůl kyseliny trifluoroctové 4-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-fenylkarbamoylpropionylamino]-4-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-2-cyklohexylethylkarbamoyl)-4-guanidinobutylkarbamoyl]butanové kyseliny	ok	pevná fáze
89	Sůl kyseliny trifluoroctové 4-(S)-[2-allylkarbamoyl-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionylamino]-4-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-2-cyklohexylethylkarbamoyl)-4-guanidinobutylkarbamoyl]butanové kyseliny	ok	pevná fáze
90	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[(S)-(2-karbamimidoyl-	ok	pevná fáze

	1-(S)-karbamoylethylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]-N',N'-dimethylmalonamidu, polárnější diastereomer		
91	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-[(S)-(2-karbamimidoyl-1-(S)-karbamoylethylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]-N',N'-dimethylmalonamidu, méně polární diastereomer	ok	pevná fáze
92	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-{1-(S)-[(3-karbamimidoylbenzyl)karbamoylmethylkarbamoyl]pentyl}-N',N'-dimethylmalonamidu	ok	pevná fáze
93	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-((S)-{1-(S)-[1-(S)-(2-(S)-karbamoylpyrolidin-1-karbonyl)-3-methylbutylkarbamoyl]-4-guanidinobutylkarbamoyl}cyklohexylmethyl)-N',N'-diizopropylmalonamidu, méně polární diastereomer	ok	pevná fáze
94	3-{2-(S)-{2-(S)-[3-(4-Karbamimidoylfenyl)-2-diizopropylkarbamoylpropionylamino]-2-cyklohexylacetylamino}-2-[1-(S)-(2-(S)-karbamoylpyrolidin-1-karbonyl)-3-methylbutylkarbamoyl]ethyl)-1-methylpyridiniumtrifluoracetát trifluoroctová kyselina, polárnější diastereomer	ok	pevná fáze
95	3-{2-(S)-{2-(S)-[3-(4-Karbamimidoylfenyl)-2-diizopropylkarbamoylpropionylamino]-2-cyklohexylacetylamino}-2-[1-(S)-(2-(S)-karbamoylpyrolidin-1-karbonyl)-3-methylbutylkarbamoyl]ethyl)-1-methylpyridiniumtrifluoracetát trifluoroctová kyselina,	ok	pevná fáze

	méně polární diastereomer		
96	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-amino-benzyl)-N-((S)-(1-(S)-[1-(S)-(2-(S)-karbamoylpyrolidin-1-karbonyl)-3-methylbutylkarbamoyl]-4-guanidinobutylkarbamoyl)-cyklohexylmethyl)-N',N'-diizopropylmalonamidu, polárnější diastereomer	ok	pevná fáze
97	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-amino-benzyl)-N-((S)-(1-(S)-[1-(S)-(2-(S)-karbamoylpyrolidin-1-karbonyl)-3-methylbutylkarbamoyl]-4-guanidinobutylkarbamoyl)-cyklohexylmethyl)-N',N'-diizopropylmalonamidu, méně polární diastereomer	ok	pevná fáze
98	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karb-amimidoylbenzyl)-N-((S)-(1-(S)-[1-(S)-(2-(S)-karbamoylpyrolidin-1-karbonyl)-3-methylbutylkarbamoyl]-4-guanidinobutylkarbamoyl)-cyklohexylmethyl)-N',N'-diizobutylmalonamidu, polárnější diastereomer	ok	pevná fáze
99	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karb-amimidoylbenzyl)-N-((S)-(1-(S)-[1-(S)-(2-(S)-karbamoylpyrolidin-1-karbonyl)-3-methylbutylkarbamoyl]-4-guanidinobutylkarbamoyl)-cyklohexylmethyl)-N',N'-diizobutylmalonamidu, méně polární diastereomer	ok	pevná fáze
100	Sůl kyseliny trifluoroctové N-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-cyklohexylmethyl]-2-(4-dimethylaminonafthalen-2-ylmethyl)-N',N'-diizopropylmalonamidu, polárnější diastereomer	ok	pevná fáze
101	Sůl kyseliny trifluoroctové N-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-cyklohexylmethyl]-2-(4-dimethylaminonafthalen-2-ylmethyl)-N',N'-diizopropylma-	ok	pevná fáze

	lonamidu, méně polární diastereomer		
102	Sůl kyseliny trifluorooctové N-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-cyklohexylmethyl]-2-[4-(N-hydroxykarbamimidoyl)benzyl]-N',N'-dimethylmalonamidu, polárnější diastereomer	ok	pevná fáze
103	Sůl kyseliny trifluorooctové N-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]-2-[4-(N-hydroxykarbamimidoyl)benzyl]-N',N'-dimethylmalonamidu, méně polární diastereomer	ok	pevná fáze
104	Sůl kyseliny trifluorooctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-[(S)-(karbamoylmethylpyridin-4-ylmethylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]-N',N'-dimethylmalonamidu, polárnější diastereomer	ok	pevná fáze
105	Sůl kyseliny trifluorooctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-[(S)-(karbamoylmethylpyridin-4-ylmethylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]-N',N'-dimethylmalonamidu, méně polární diastereomer	ok	klas. syntéza
106	Sůl kyseliny trifluorooctové N-[(S)-[(4-aminobutyl)karbamoylmethylkarbamoyl]cyklohexylmethyl]-2-(4-karbamidoylbenzyl)-N',N'-dimethylmalonamidu, polárnější diastereomer	ok	klas. syntéza
107	Sůl kyseliny trifluorooctové N-[(S)-[(4-aminobutyl)karbamoylmethylkarbamoyl]cyklohexylmethyl]-2-(4-karbamidoylbenzyl)-N',N'-dimethylmalonamidu, méně polární diastereomer	ok	klas. syntéza
108	Sůl kyseliny trifluorooctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-fenyl-	ok	klas. syntéza

	ethyl]-N',N'-dimethylmalonamidu, méně polární diastereomer		
109	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karb-amimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-fenylethyl]-N',N'-dimethylmalonamidu, polárnější diastereomer	ok	klas. syntéza
110	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karb-amimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-naftalen-1-ylethyl]-N',N'-dimethylmalonamidu	ok	klas. syntéza
111	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karb-amimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-methylbutyl]-N,N',N'-trimethylmalonamidu	ok	pevná fáze
112	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karb-amimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-fenylethyl]-N,N',N'-trimethylmalonamidu	ok	pevná fáze
113	Sůl kyseliny trifluoroctové (1-(S-karb-amoyl-4-guanidinobutyl)amidu 2-(S)-[3-(4-karbamidoylbenzyl)-2-dimethylkarbamoyl-propionyl]-1,2,3,4-tetrahydroizochinolin-3-karboxylové kyseliny	ok	pevná fáze
114	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)pentyl]-N',N'-dimethylmalonamidu	ok	pevná fáze
115	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2,2-dimethylpropyl]-N'-methylmalonamidu	ok	pevná fáze
116	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-	ok	pevná fáze

22.08.02

	4-guanidinobutylkarbamoyl)-2,2-dimethylpropyl]-N',N'-dimethylmalonamidu		
117	Sůl kyseliny trifluoroctové N-allyl-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2,2-dimethylpropyl]malonamidu	ok	pevná fáze
118	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2,2-dimethylpropyl]-N'-fenylmalonamidu	ok	pevná fáze
119	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]-N'-methylmalonamidu	ok	pevná fáze
120	Sůl kyseliny trifluoroctové N-allyl-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-[(S)-(1-S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]malonamidu	ok	pevná fáze
121	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]-N'-fenylmalonamidu	ok	pevná fáze
122	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-cyklohexylethyl]-N'-methylmalonamidu	ok	pevná fáze
123	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-cyklohexylethyl]-N',N'-dimethylmalonamidu	ok	pevná fáze
124	Sůl kyseliny trifluoroctové N-allyl-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-cyklohexylethyl]malonamidu	ok	pevná fáze

125	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-cyklohexylethyl]-N'-fenylmalonamidu	ok	pevná fáze
126	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-fenylethyl]-N'-methylnalonalonamidu	ok	pevná fáze
127	Sůl kyseliny trifluoroctové N-allyl-2-(4-karbamidoylbenzyl)-N'-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-fenylethyl]malonamidu	ok	pevná fáze
128	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-fenylethyl]-N'-fenylmalonamidu	ok	pevná fáze
129	Sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-N'-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]-2-[4-(N-hydroxykarbamimidoyl)benzyl]malonamidu, polárnější diastereomer	ok	pevná fáze
130	Sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-N'-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]-2-[4-(N-hydroxykarbamimidoyl)benzyl]malonamidu, méně polární diastereomer	ok	pevná fáze
131	Hydrochloridová sůl ethylesteru kyseliny 2-(S)-(2-(S)-[3-(4-karbamidoylphenyl)-2-dimethylkarbamoylpropionylamino]-2-cyklohexylacetylamino)-5-guanidinopentanové kyseliny	ok	klas. syntéza
132	Kyselina (S)-[2-benzylkarbamoyl-3-(4-karbamidoylphenyl)propionylamino]cyklohexylloctová, méně polární diastereomer	ok	klas. syntéza

133	Kyselina (S)-[2-benzylkarbamoyl-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionylamino]-cyklohexyloctová, polárnější diastereomer	ok	klas. syntéza
134	Hydrochloridová sůl diamidu kyseliny 2-{2-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-dimethylkarbamoylpropionylamino]-2-cyklohexylacetyl-amino}pentandiové	ok	klas. syntéza
135	Sůl kyseliny trifluorooctové ethylesteru kyseliny 2-(S)-{2-(S)-[2-benzylkarbamoyl-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionylamino]-2-cyklohexylacetyl-amino}-5-guanidino-pentanové	ok	klas. syntéza
136	Sůl kyseliny trifluorooctové 2-(S)-{2-(S)-[2-benzylkarbamoyl-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionylamino]-2-cyklohexylacetyl-amino}-5-guanidinopentanové, méně polární diastereomer	ok	klas. syntéza
137	Hydrochloridová sůl 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[(S)-cyklohexyl-(4-guanidino-1-(S)-fenethylkarbamoylbutylkarbamoyl)-methyl]-N',N'-dimethylmalonamidu	ok	klas. syntéza
138	Hydrochloridová sůl benzylesteru kyseliny 2-(S)-{2-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-dimethylkarbamoylpropionylamino]-2-cyklohexylacetyl-amino}-5-guanidinopentanové kyseliny	ok	klas. syntéza
139	Sůl kyseliny trifluorooctové N-benzyl-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-{(S)-cyklohexyl[(naftalen-1-ylmethyl)karbamoyl]-methyl}malonamidu	ok	klas. syntéza

Sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-2-(4-karbamimidoyl-benzyl)-N'-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-cyklohexylmethyl]malonamidu, méně polární diastereomer a sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-2-(4-karbamimidoyl-benzyl)-N'-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-cyklohexylmethyl]malonamidu, polárnější diastereomer

a) N-Benzyl-2-(R,S)-(4-kyanobenzyl)malonamová kyselina

Roztok benzylaminu (58,6 g, 534 mmol), bis-(trimethylsilyl)-acetamidu (71 ml, 90 mmol) a bezvodého dichlormethanu (600 ml) se zahříval při zpětném toku 3 hodiny. Reakční směs se nechala ohřát na teplotu místnosti a po částech se přidal 4-(R,S)-2,2-dimethyl-4,6-dioxo-[1,3]dioxan-5-yl)benzonitril (15 g, 58 mmol). Reakční směs se zahřívala při zpětném toku 3 hodiny a poté se nechala ochladit na teplotu místnosti a vlila se do studené směsi 1000 ml 1N kyseliny chlorovodíkové a 500 ml ethylacetátu. Spojené organické vrstvy se promyly solankou, sušily se a koncentrovaly se ve vakuu. Vysrážené krystaly se odsály a po vysušení se získalo 11,07 g (62 %) žádaného produktu.

t.t.: 152 až 153 °C (rozklad), MS: 309 (M+H).

b) Methylester [2-benzylkarbamoyl-3-(R,S)-(4-kyanofenyl)-propionylamino]-(S)-cyklohexyloctové kyseliny

Roztok N-benzyl-2-(R,S)-(4-kyanobenzyl)malonamové kyseliny (10 g, 32,4 mmol), methylesteru (S)-aminocyklohexyloctové kyseliny (5,94 g, 34,7 mmol), diizopropylethylaminu (6,45 ml, 37,9 mmol), 3-hydroxy-3H-benzo[d][1,2,3]triazin-4-onu (1,32 g, 8,1 mmol) a dimethylformamidu (100 ml) se ochladil na 10 °C. Potom se přidal po kapkách roztok dicyklohexylkarbodiimidu (7,83 g, 37,9 mmol) v toluenu (10 ml) a reakční směs se nechala stát

přes noc. Vysrážená močovina se odsála, filtrát se odpařil ve vakuu, rozpustil se v ethylacetátu, promyl se nasyceným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a solankou, sušil se a odpařil se ve vakuu. Krystalizací ze směsi n-propanolu a izopropanolu se získalo 9,91 g (66 %) žádaného produktu.
t.t.: 170 až 174 °C, MS: 462 (M+H).

c) Methylester {2-benzylkarbamoyl-3-(R,S)-[4-(N-hydroxykarbamimidoyl)fenyl]propionylamino}-(S)-cyklohexyloctové kyseliny

Suspenze methylesteru [2-benzylkarbamoyl-3-(R,S)-(4-kyano-fenyl)propionylamino]-(S)-cyklohexyloctové kyseliny (9,0 g, 19,5 mmol) a hydroxylaminu (3,22 g, 97,5 mmol) v ethanolu (180 ml) se zahřívala při zpětném toku 4 hodiny. Reakční směs se ochladila na teplotu místnosti, odpařila se ve vakuu, rozpustila se v ethanolu a vlila se do směsi ledu a vody. Sraženina se sebrala odsátím a sušila se při 50 °C ve vakuu a získalo se 7,9 g (82 %) žádaného produktu.
t.t.: 101 až 104 °C, MS: 495 (M+H).

d) Methylester [2-benzylkarbamoyl-3-(R,S)-(4-karbamimidoyl-fenyl)propionylamino]-(S)-cyklohexyloctové kyseliny

Methylester {2-benzylkarbamoyl-3-(R,S)-[4-(N-hydroxykarbamimidoyl)fenyl]propionylamino}-(S)-cyklohexyloctové kyseliny (7,6 g, 15,4 mmol) se hydrogenoval v kyselině octové palladiem na aktivním uhlí a získal se žádaný produkt, který se použil bez dalšího čištění v příštím kroku.
t.t. 101 až 104 °C, MS: 479 (M+H).

e) Hydrochlorid [2-benzylkarbamoyl-3-(R,S)-(4-karbamimidoyl-enyl)propionylamino]-(S)-cyklohexyloctové kyseliny

Shora uvedený methylester [2-benzylkarbamoyl-3-(R,S)-(4-karb-amimidoylphenyl)propionylamino]-(S)-cyklohexyloctové kyseliny se suspendoval ve směsi voda/kyselina chlorovodíková (1/1, 200 ml) a míchal se při teplotě místnosti. Po 8 dnech se přidal acetonitril (100 ml) a směs se míchala další 2 dny. Reakční směs se filtrovala a vlila se do směsi ledu a vody. Sraženina se sebrala frakční krystalizací:

Frakce 1: 3,36 g, 52 %, diastereomerní směs: 6,7 % polárnější, 78 % méně polární)

Frakce 2: 857 mg (13 % diastereomerní směsi: 53 % polárnější, 31,9 % méně polární), olej

Frakce 3: 461 mg (7 % diastereomerní směsi: 3,8 % polárnější, 93,5 % méně polární), t.t.: 166 °C (subl.)

Frakce 4: 455 mg (7 %, 96,7 méně polární), olej

HPLC: polární diastereomer: 15,62 min., nepolární diastereomer: 16,21 min.

Podmínky HPLC: Nucleosil 250/4, 7 μ M, 1 ml/min, gradient: 100 % (H_2O + 0,1 % kyseliny trifluoroctové) až 100% acetonitril 30 minut, 100% acetonitril 5 min, λ = 254 nm.

MS všech frakcí: 465 (M+H).

Titrováno do čistoty frakce 1 mžikovou chromatografií na silikagelu (dichlormethan/methanol/ledová kyselina octová = 9/1/0,5), ale izomerace malonového chirálního centra se provedla tak, aby se získala sůl kyseliny octové sloučeniny podle vynálezu.

f) Sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-2-(R)-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-[(1-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]malonamidu a
sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-2-(S)-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-[(1-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]malonamidu

22.08.02

Roztok acetátu [2-benzylkarbamoyl-3-(R,S)-(4-karbamimidoyl-enyl)propionylamino]-(S)-cyklohexyloctové kyseliny (103 mg, 0,20 mmol), hydrátu benzotriazol-1-olu (32 mg, 0,24 mmol), amidu kyseliny 2-(S)-amino-5-guanidinopentanové v dimethylformamidu (4 ml) se míchal 30 minut a ochladil se na 0 až -5 °C. Potom se přidal roztok 1,3-dicyklohexylmočoviny (49 mg, 0,24 mmol) a reakční směs se míchala 24 hodin při teplotě 0 °C. Rozpouštědlo se odpařilo a zbytek se čistil preparativní HPLC a získalo se 4,5 mg (3 %) frakce 1 (polárnější diastereomer) a 7,8 mg (5 %) frakce 2 (méně polární diastereomer).

Podmínky HPLC: Nucleosil 250/21 mm, 7 µm, 15 ml/min., 68 % H₂O + 0,1 % kyseliny trifluoroctové, 32 % acetonitrilu.

Frakce 1: t.t.: 150 až 154 °C, MS m/z: 620,5 ((M+H)⁺, 9 %), 310,9 ((M+2H)²⁺, 100 %).

Frakce 2: t.t.: 102 až 106 °C, MS m/z: 620,5 ((M+H)⁺, 5 %), 310,9 ((M+2H)²⁺, 34 %), 150,0 (100 %).

Podle postupů popsaných shora se připraví následující sloučeniny:

142	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoyl-benzyl)-N-{(S)-[2-(3-karbamimidoylfenyl)-1-karb-amoylethylkarbamoyl]cyklohexylmethyl}-N',N'-dime-thylmalonamidu, polárnější diastereomer	ok	klas. syntéza
143	Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoyl-benzyl)-N-{(S)-[2-(3-karbamimidoylfenyl)-1-karb-amoylethylkarbamoyl]cyklohexylmethyl}-N',N'-di-methylmalonamidu, méně polární diastereomer	ok	klas. syntéza
144	Sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-2-(4-karb-amimidoylbenzyl)-N'-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-gua-nidinobutylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]-N-methyl-	ok	klas. syntéza

	malonamidu		
145	Hydrochloridová sůl 2-(S)-{2-(S)-[2-(benzylmethylkarbamoyl)-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionyl-amino]-2-cyklohexylacetyl-amino}-5-guanidinopentanové kyseliny	ok	klas. syntéza
146	Sůl trifluorooctové kyseliny ethylesteru 2-{2-(S)-[2-(benzylmethylkarbamoyl)-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionyl-amino]-2-cyklohexylacetyl-amino}-3-naftalen-1-ylpropionové kyseliny, méně polární diastereomer	ok	klas. syntéza
147	Sůl trifluorooctové kyseliny ethylesteru 2-{2-(S)-[2-(benzylmethylkarbamoyl)-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionyl-amino]-2-cyklohexylacetyl-amino}-3-naftalen-1-ylpropionové kyseliny, polárnější diastereomer	ok	klas. syntéza
148	Sůl trifluorooctové kyseliny methylesteru 2-(S)-{2-[2-(benzylmethylkarbamoyl)-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionyl-amino]-2-cyklohexylacetyl-amino}-5-guanidinopentanové kyseliny, nejméně polární diastereomer	ok	klas. syntéza
149	Sůl trifluorooctové kyseliny methylesteru 2-(S)-{2-[2-(benzylmethylkarbamoyl)-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionyl-amino]-2-cyklohexylacetyl-amino}-5-guanidinopentanové kyseliny, méně polární diastereomer	ok	klas. syntéza
150	Sůl trifluorooctové kyseliny methylesteru 2-(S)-{2-[2-(benzylmethylkarbamoyl)-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionyl-amino]-2-cyklohexylacetyl-amino}-5-guanidinopentanové kyseliny, polárnější diastereomer	ok	klas. syntéza
151	Sůl trifluorooctové kyseliny methylesteru 2-(S)-{2-[2-(benzylmethylkarbamoyl)-3-(4-karbamimidoyl-	ok	klas. syntéza

	fenyl)propionylamino]-2-cyklohexylacetylamino}-5-guanidinopentanové kyseliny, nejpolárnější diastereomer		
152	Sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-N'-{[1-(S)-(benzylmethylkarbamoyl)-4-guanidinobutylkarbamoyl]cyklohexylmethyl}-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-methylmalonamidu, nejpolárnější diastereomer	ok	klas. syntéza
153	Sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-N'-{[1-(S)-(benzylmethylkarbamoyl)-4-guanidinobutylkarbamoyl]cyklohexylmethyl}-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-methylmalonamidu, polárnější diastereomer	ok	klas. syntéza
154	Sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-N'-{[1-(S)-(benzylmethylkarbamoyl)-4-guanidinobutylkarbamoyl]cyklohexylmethyl}-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-methylmalonamidu, méně polární diastereomer	ok	klas. syntéza
155	Sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-[cyklohexyl-(1-(S)-dimethylkarbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)methyl]-N-methylmalonamidu	ok	klas. syntéza
156	Sůl kyseliny trifluoroctové methylesteru (S)-[2-(4-karbamimidoylbenzylkarbamoyl)-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionylamino]cyklohexyloctové kyseliny	ok	klas. syntéza
157	Sůl kyseliny trifluoroctové (S)-[2-(4-karbamimidoylbenzylkarbamoyl)-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionylamino]cyklohexyloctové kyseliny	ok	klas. syntéza

Zkratky používané v textu:

aPTT	Doba parciální aktivace tromboplastinu
ATS	Antistasin
AV	Arteriovenózní
BAPNA	Benzoyl-L-Arg-p-nitroanilid

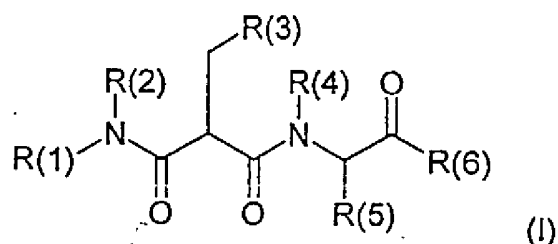
Boc	terc-Butoxykarbonyl
°C	Stupeň Celsia
CDCl ₃	Deuterovaný chloroform
klas. synt.	Klasická syntéza
cm	centimetr
DCCI	Dicyklohexylkarbodiimid
DCRu	Dichlortetrakis(trifenylfosfin)ruthenium (II)
DIC	Diseminová intravaskulární koagulace
DICI	Diizopropylkarbodiimid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DVT	Hluboká žilní trombóza
ekv.	Ekvivalent
ESMS	Elektrosprejové hmotnostní spektrum
FAB	Ostřelování rychlými atomy
Fmoc	9-Fluorenylmethoxykarbonyl
FT-IR	Infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací
g	Gram
hod.	Hodina
HATU	N-[(Dimethylamino)-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridin-1-yl-methylen]-N-methylmethanaminium hexafluorofosfát-N-oxid
HPLC	Vysokotlaková kapalinová chromatografie
HPLC/ESMS	Vysokotlaková kapalinová chromatografie spojená s elektrosprayovou hmotnostní spektroskopií
id	Intraduodenální
iv	Intravenózní
kg	Kilogram
Km	Michaelis-Mentenova konstanta
LMWH	Heparin s nízkou molekulární hmotností
mg	Miligram
MHz	Megahertz
min	Minuty
ml	Mililitr

22.08.02

mM	Milimolární
mmol	Milimol
MS	Hmotnostní spektrometrie
t.t.	teplota tání
μl	Mikrolitr
μm	Mikrometr
μM	Mikromolární
nm	Nanometr
nM	Nanomolární
NMR	Jaderná magnetická rezonance
ok	v pořádku
PE	Polyethylen
PEG	Polyethylenglykol
PG	Chránicí skupina
PPP	Špatná krevní destička
PT	Doba protrombinu
sec	Sekundy
TAP	Antikoagulační peptid z klíštěte
TBS-BSA	Třikrát tlumený fyziologický roztok s hovězím sérumalbuminem
TBS-PEG	Třikrát tlumený fyziologický roztok s polyethylenglykolem
TF	Tkáňový faktor
TFPI	Inhibitor tkáňového faktoru
TOTU	Tetrafluorborát O-((kyano-(ethoxykarbonyl)methylen)amino)-N,N,N',N'-tetramethyluronia
TPCK	Tosylfenylchromylketon
TRIS-Cl	bis(2-hydroxyethyl)iminotris(hydroxymethyl)-methan
	2-bis(2-hydroxyethyl)amino-2-(hydroxymethyl)-1,3-propandiol,
	chloridová sůl
UV	Ultrafialové záření

P A T E N T O V É N Á R O K Y

Sloučeniny obecného vzorce I,



kde

R(1) je vodík, alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenylová skupina se 2 až 6 atomy uhlíku, arylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku, arylalkylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, kde arylová skupina v arylalkylové části je nesubstituovaná je substituovaná skupinou R(17);

R(2) je vodík nebo alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku;

R(3) je arylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku, která je substituována s R(7);

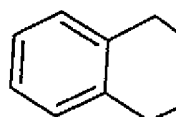
R(4) je vodík nebo alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku;

R(5) je alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku, cykloalkylová skupina se 3 až 7 atomy uhlíku, cykloalkylalkylová skupina se 3 až 7 atomy uhlíku v cykloalkylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, arylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku, arylalkylová skupina se 6 až 10 atomy v arylové části

22.08.02

a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, kde arylová skupina v arylalkylové části je nesubstituovaná nebo je substituovaná skupinou R(20) a kde alkylová skupina je nesubstituovaná nebo je substituovaná zbytkem R21; nebo

R(4) a R(5) spolu tvoří zbytek vzorce II



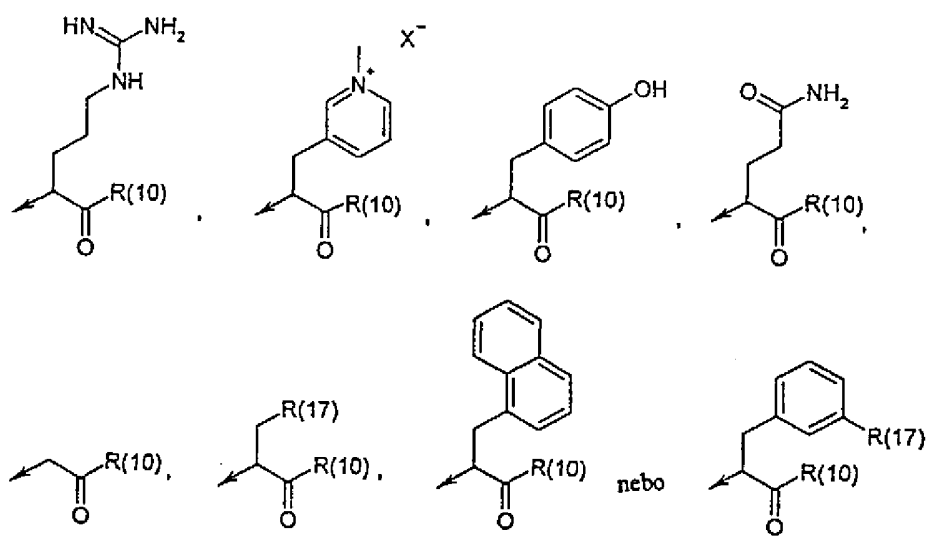
(II);

kde R(6) je N(R8) (R9) nebo OR(22);

R(7) je R(17) nebo R(20);

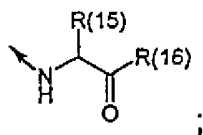
R(8) je vodík; alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, kde alkylová skupina je nesubstituovaná nebo je substituovaná zbytkem R(20); heteroarylalkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části; arylalkylová skupina se 6 až 10 atomy v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, kde arylová skupina je nesubstituovaná je substituovaná skupinou R(17);

R(9) je arylalkylová skupina se 6 až 10 atomy v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části,



22.08.02

R(10) je NR(12)R(13) nebo OR(14) nebo



R(12) je vodík nebo alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku;

R(13) je vodík, arylalkylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části nebo alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku;

R(14) je vodík, alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, alkenylová skupina se 2 až 4 atomy uhlíku nebo arylalkylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části;

R(15) je cykloalkylalkylová skupina se 3 až 7 atomy uhlíku v alkylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části;

R(16) je R(20);

R(17) je $\text{-C(=N-R(18))}-\text{N(R(19))}_2$;

R(18) je vodík, hydroxyskupina nebo ochranná skupina aminoskupiny;

R(19) je vodík, alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, arylalkoxykarbonylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkoxylové části nebo ochranná skupina aminoskupiny;

R(20) je N(R(19))₂;

R(21) je hydroxyskupina, arylalkoxyskupina se 6 až 10 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkoxylové části, arylalkoxykarbonylaminová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkoxylové části, karboxylová skupina nebo R(20);

R(22) je vodík nebo alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku;

X⁻ je fyziologicky přijatelný anion;

ve všech stereoizomerních formách a jejich směsích v jakémkoli poměru a jejich fyziologicky přijatelné soli.

2. Sloučeniny obecného vzorce I, jak je nárokováno v nároku 1, kde

R(1) je vodík, alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, allylová skupina, fenylová skupina, benzylová skupina nebo 4-karbamimidoylbenzylová skupina;

R(2) je vodík nebo alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku;

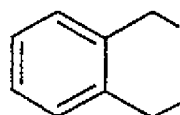
R(3) je fenylová skupina nebo naftylová skupina, které jsou substituovány s R(7);

R(4) je vodík nebo methylová skupina;

R(5) je n-butylová skupina, sek-butylová skupina, terc-butylová skupina, cyklohexylová skupina, cyklohexylmethylová skupina, fenylová skupina, benzylová skupina, 2-fenylethylová skupina, 1-naftylmethylová skupina, 2-naftylmethylová skupina,

aminobenzylová skupina, hydroxymethylová skupina, benzyloxymethylová skupina, karboxymethylová skupina, 2-karboxyethylová skupina, 3-aminopropylová skupina nebo 4-(benzyloxykarbonylamino)butylová skupina; nebo

R(4) a R(5) spolu tvoří skupinu vzorce II



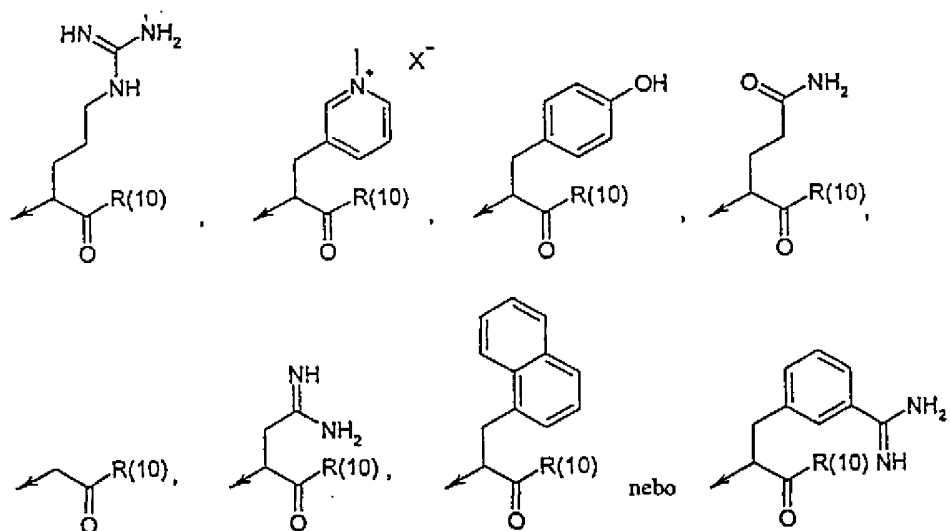
(II);

R(6) je N(R8)(R9), OH nebo OCH₃;

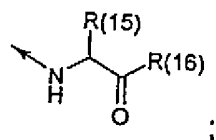
R(7) je amidinová skupina, hydroxyamidinová skupina, aminoskupina nebo dimethylaminoskupina;

R(8) je vodík, pyridylmethylová skupina, 3-karbamimidoylbenzylová skupina nebo 4-aminobutylová skupina;

R(9) je naftylmethylová skupina



R(10) je NR(12)(R13) nebo OR(14) nebo



R(12) je vodík nebo methylová skupina;

R(13) vodík, fenylakylvá skupina s 1 až 2 atom uhlíku
v alkylové části nebo methylová skupina;

R(14) je vodík, alkylová skupina s 1 až 2 atomy uhlíku,
benzylová skupina nebo allylová skupina;

R(15) je cyklohexylmethylová skupina;

R(16) je aminoskupina;

X⁻ je fyziologicky přijatelný anion;

ve všech stereoizomerních formách a jejich směsích v jakémkoli
poměru a jejich fyziologicky přijatelné soli.

3. Sloučeniny obecného vzorce I, jak je nárokováno v nároku 1
a/nebo nároku 2, kde

R(1) je vodík, alkylová skupina s 1 až 3 atomy uhlíku,
allylová skupina, fenyllová skupina, benzylová skupina nebo 4-
karbamimidoylbenzylová skupina;

R(2) je vodík nebo alkylová skupina s 1 až 3 atomy uhlíku;

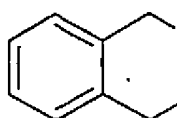
R(3) je fenyllová skupina nebo 2-naftyllová skupina, které jsou
případně substituovány s R(7);

R(4) je vodík nebo methylová skupina;

22.08.02

R(5) je n-butylová skupina, sek-butylová skupina, terc-butylová skupina, cyklohexylová skupina, cyklohexylmethylová skupina, fenylová skupina, benzylová skupina, 2-fenylethylová skupina, 1-naftylmethylová skupina, 2-naftylmethylová skupina, 4-aminobenzylová skupina, hydroxymethylová skupina, benzyloxymethylová skupina, karboxymethylová skupina, 2-karboxyethylová skupina, 3-aminopropylová skupina nebo 4-(benzyloxykarbonylamino)butylová skupina; nebo

R(4) a R(5) spolu tvoří skupinu vzorce II



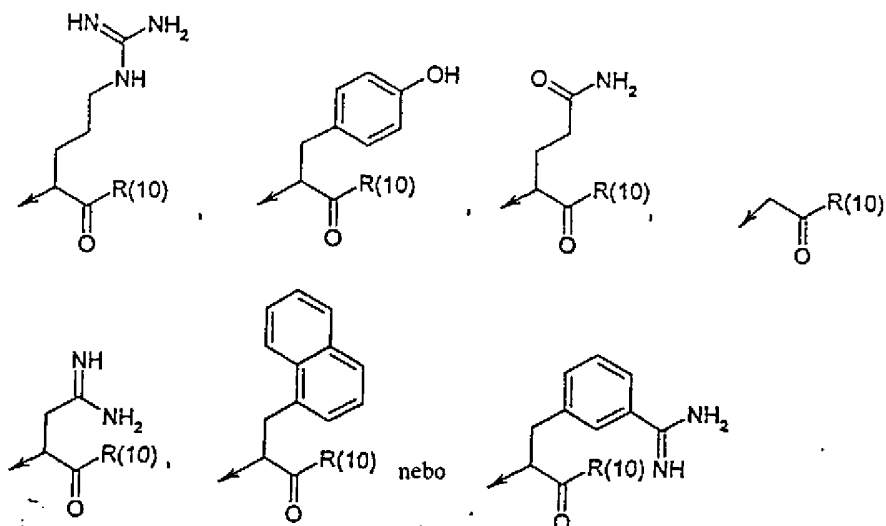
(II);

R(6) je N(R8)(R9), OH nebo OCH₃;

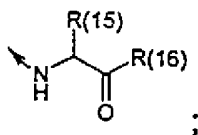
R(7) je amidinová skupina, hydroxyamidinová skupina nebo dimethylaminoskupina;

R(8) je vodík, pyridylmethylová skupina, 3-karbamimidoylbenzylová skupina nebo 4-aminobutylová skupina;

R(9) je naftylmethylová skupina,



R(10) je NR(12) (R13) nebo OR(14) nebo



R(12) je vodík nebo methylová skupina;

R(13) je vodík, fenylakyllová skupina s 1 až 2 atom uhlíku v alkylové části nebo methylová skupina;

R(14) je vodík, alkylová skupina s 1 až 2 atomy uhlíku, benzylová skupina nebo allylová skupina;

R(15) je cyklohexylmethylová skupina;

R(16) je aminoskupina;

ve všech stereoizomerních formách a jejich směsích v jakémkoli poměru a jejich fyziologicky přijatelné soli.

4. Sloučeniny obecného vzorce I, jak je nárokována v jednom nebo více nárocích 1 až 3, kde

R(1) je vodík, alkylová skupina s 1 až 3 atomy uhlíku, allylová skupina, fenyllová skupina, benzylová skupina nebo 4-karbamimidoylbenzylová skupina;

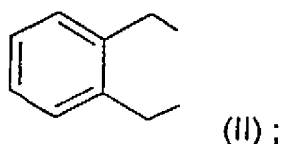
R(2) je vodík nebo alkylová skupina s 1 až 3 atomy uhlíku;

R(3) je fenyllová skupina nebo naftyllová skupina, které jsou substituovány s R(7);

R(4) je vodík nebo methylová skupina;

R(5) je n-butylová skupina, sek-butylová skupina, terc-butylová skupina, cyklohexylová skupina, cyklohexylmethylová skupina, fenylová skupina, benzylová skupina, 2-fenylethylová skupina, 1-naftylmethylová skupina, 2-naftylmethylová skupina, aminobenzylová skupina, hydroxymethylová skupina, benzyloxymethylová skupina, karboxymethylová skupina, 2-karboxyethylová skupina, 3-aminopropylová skupina nebo 4-(benzyloxykarbonylamino)butylová skupina; nebo

R(4) a R(5) spolu tvoří skupinu vzorce II



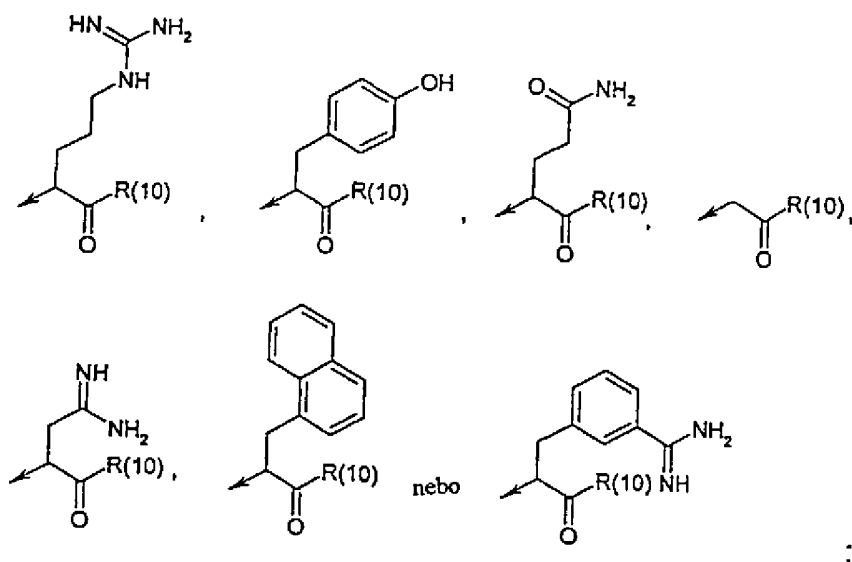
R(6) je N(R8)(R9), OH nebo OCH₃;

R(7) je amidinová skupina, hydroxyamidinová skupina nebo dimethylaminoskupina;

R(8) je vodík, pyridylmethylová skupina, 3-karbamimidoylbenzylová skupina nebo 4-aminobutylová skupina;

R(9) je naftylmethylová skupina, výhodně 1-naftylmethylová skupina,

22.08.02



R(10) je NR(12) (R13) nebo OR(14);

R(12) je vodík nebo methylová skupina;

R(13) vodík, fenylakyllová skupina s 1 až 2 atom uhlíku v alkylové části nebo methylová skupina;

R(14) je vodík, alkylová skupina s 1 až 2 atomy uhlíku, benzylová skupina nebo allylová skupina;

ve všech stereoizomerních formách a jejich směsích v jakémkoli poměru a jejich fyziologicky přijatelné soli.

5. Sloučeniny obecného vzorce I, jak je nárokováno v jednom nebo více nárocích 1 až 4, kde

R(1) je methylová skupina, allylová skupina, fenylová skupina nebo benzylová skupina, výhodně methylová nebo benzylová skupina;

R(2) je vodík nebo methylová skupina;

22.08.02

R(3) je fenylová skupina, která je substituována s R(7);

R(4) je vodík;

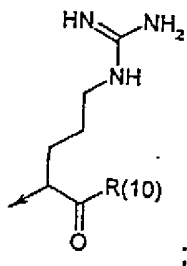
R(5) je butylová skupina, cyklohexylová skupina, cyklohexylmethylová skupina, fenylová skupina, benzylová skupina, 2-fenylethylová skupina, 1-naftylmethylová skupina, 2-naftylmethylová skupina, aminobenzylová skupina, benzyloxymethylová skupina, karboxymethylová skupina nebo 2-karboxyethylová skupina;

R(6) je N(R8) (R9);

R(7) je amidinová skupina nebo hydroxyamidinová skupina;

R(8) je vodík;

R(9) je



R(10) je NR(12) (R13) nebo OR(14);

R(12) je vodík nebo methylová skupina;

R(13) vodík nebo fenylakyllová skupina s 1 až 2 atom uhlíku v alkylové části;

R(14) je vodík, alkylová skupina s 1 až 2 atomy uhlíku nebo allylová skupina;

ve všech stereoizomerních formách a jejich směsích v jakémkoli poměru a jejich fyziologicky přijatelné soli.

6. Sloučeniny obecného vzorce I, jak jsou nárokovány v jednom nebo více nárocích 1 až 5, kterými jsou:

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[(1-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]-N',N'-dimethylmalonamidu, méně polární diastereomer,

Sůl kyseliny trifluoroctové kyseliny allylesteru 2-(S)-{2-(S)-[2-(benzylmethylkarbamoyl)-3-(4-karbamimidoylphenyl)propionylamino]-2-cyklohexylacetylamino}-5-guanidinopentanové, méně polární diastereomer,

Sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-2-(4-karbamimidoyl-benzyl)-N'-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]malonamidu, polárnější diastereomer,

Sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-2-(4-karbamimidoyl-benzyl)-N'-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]malonamidu, méně polární diastereomer,

Sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-N'-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]-2-[4-(N-hydroxykarbamimidoyl)benzyl]malonamidu,

Sůl kyseliny trifluoroctové N-[2-(4-aminofenyl)-1-(S)-(1-S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)ethyl]-2-(4-karbamimidoyl-benzyl)-N',N'-dimethylmalonamidu,

22.08.02

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)pentyl]-N'-methylnalonamidu,

Kyselina 4-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-dimethylkarbamoylpropionylamino]-4-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-butanová,

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-naftalen-2-ylethyl]-N',N'-dimethylnalonamidu,

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-3-fenylpropyl]-N',N'-dimethylnalonamidu,

Sůl kyseliny trifluoroctové kyseliny 3-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-dimethylkarbamoylpropionylamino]-N-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutyl)sukcinamové,

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)fenylmethyl]-N'-methylnalonamidu,

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)fenylmethyl]-N',N'-dimethylnalonamidu,

Sůl kyseliny trifluoroctové N-[2-benzyloxy-1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)ethyl]-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N',N'-dimethylnalonamidu,

22.03.02

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)pentyl]-N',N'-dimethylmalonamidu, méně polární diastereomer,

Sůl kyseliny trifluoroctové kyseliny 2-(S)-{2-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-dimethylkarbamoylpropionylamino]hexanoyl-amino}-5-guanidinopentanové,

Kyselina 2-(S)-{2-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-dimethylkarbamoylpropionylamino]-2-cyklohexylacetyl-amino}-5-guanidinopentanová, sloučenina s kyselinou trifluoroctovou, sůl kyseliny trifluoroctové,

Sůl kyseliny trifluoroctové kyseliny 2-(S)-{2-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-methylkarbamoylpropionylamino]-2-cyklohexylacetyl-amino}-5-guanidinopentanové,

Sůl kyseliny trifluoroctové kyseliny 2-(S)-{2-(S)-[2-benzylkarbamoyl-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionylamino]-2-cyklohexylacetyl-amino}-5-guanidinopentanové,

Sůl kyseliny trifluoroctové kyseliny 2-(S)-{2-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-dimethylkarbamoylpropionylamino]-3-cyklohexylpropionylamino]-5-guanidinopentanové,

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-fenylethyl]-N',N'-dimethylmalonamidu, méně polární diastereomer,

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-naftalen-1-ylethyl]-N',N'-dimethylmalonamidu,

22.03.02

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)pentyl]-N',N'-dimethylmalonamidu,

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]-N'-methylmalonamidu,

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[1-(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-2-cyklohexylethyl]-N',N'-dimethylmalonamidu,

Sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-N'-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]-2-[4-(N-hydroxykarbamimidoyl)benzyl]malonamidu, méně polární diastereomer,

Hydrochloridová sůl ethylesteru kyseliny 2-(S)-{2-(S)-[3-(4-karbamimidoylfenyl)-2-dimethylkarbamoylpropionylamino]-2-cyklohexylacetylamino}-5-guanidinopentanové,

Sůl kyseliny ethyltrifluoroctové kyseliny 2-(S)-{2-(S)-[2-benzylkarbamoyl-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionylamino]-2-cyklohexylacetylamino}-5-guanidinopentanové, méně polární diastereomer,

Hydrochloridová sůl 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-[(S)-cyklohexyl-(4-guanidino-1-(S)-fenethylkarbamoylbutylkarbamoyl)-methyl]-N',N'-dimethylmalonamidu,

Sůl kyseliny trifluoroctové N-benzyl-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N'-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-cyklohexylmethyl]malonamidu, polárnější diastereomer,

Sůl kyseliny trifluorooctové N-benzyl-2-(4-karbamimidoyl-benzyl)-N'-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)-cyklohexylmethyl]malonamidu, méně polární diastereomer,

Sůl kyseliny trifluorooctové N-benzyl-2-(4-karbamimidoyl-benzyl)-N'-[(S)-(1-(S)-karbamoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl)cyklohexylmethyl]-N-methylmalonamidu,

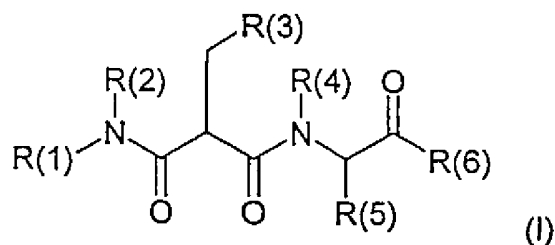
Hydrochloridová sůl kyseliny 2-(S)-(2-(S)-[2-(benzylmethylkarbamoyl)-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionylamino]-2-cyklohexylacetylamino)-5-guanidinopentanové,

Sůl kyseliny trifluorooctové methylesteru kyseliny 2-(S)-(2-[2-(benzylmethylkarbamoyl)-3-(4-karbamimidoylfenyl)propionylamino]-2-cyklohexylacetylamino)-5-guanidinopentanové, nejméně polární diastereomer,

Sůl kyseliny trifluorooctové N-benzyl-N'-{[1-(S)-(benzylmethylkarbamoyl)-4-guanidinobutylkarbamoyl]cyklohexylmethyl}-2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-methylmalonamidu, méně polární diastereomer

a/nebo jejich fyziologicky přijatelné soli.

7. Sloučeniny obecného vzorce I, kde



R(1) je vodík, alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenylová skupina se 2 až 6 atomy uhlíku, arylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku, arylalkylová skupina se 6 až 10 atomy v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, kde arylová skupina v arylalkylové části je nesubstituovaná nebo je substituovaná skupinou R(17);

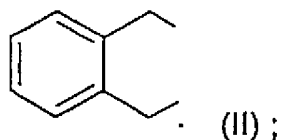
R(2) je vodík nebo alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku;

R(3) je arylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku, která je substituována s R(7);

R(4) je vodík nebo alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku;

R(5) je alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku, cykloalkylová skupina se 3 až 7 atomy uhlíku, cykloalkylalkylová skupina se 3 až 7 atomy uhlíku v cykloalkylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, arylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku, arylalkylová skupina se 6 až 10 atomy v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, kde arylová skupina v arylalkylové části je nesubstituovaná nebo je substituovaná skupinou R(20) a kde alkylová skupina je nesubstituovaná nebo je substituovaná skupinou R21; nebo

R(4) a R(5) spolu tvoří zbytek vzorce II

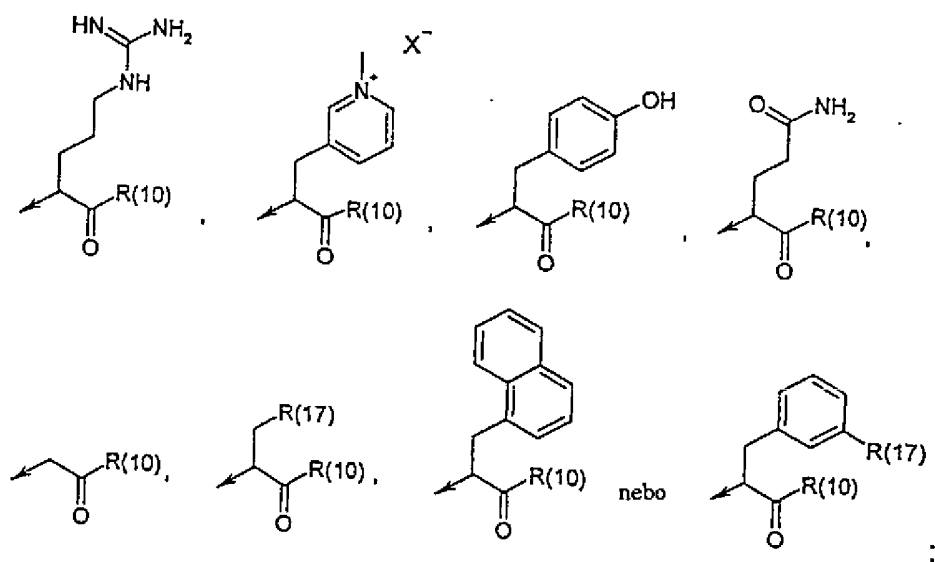


R(6) je N(R8) (R9) nebo OR(22);

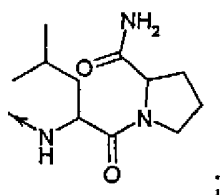
R(7) je R(17) nebo R(20);

R(8) je vodík; alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, kde alkylová skupina je nesubstituovaná nebo je substituovaná zbytkem R(20); heteroarylalkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části; arylalkylová skupina se 6 až 10 atomy v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, kde arylová skupina je nesubstituovaná je substituovaná skupinou R(17);

R(9) je



R(10) je



R(17) je -C(=N-R(18))-N(R(19))₂;

R(18) je vodík, hydroxyskupina nebo ochranná skupina aminoskupiny;

R(19) je vodík, alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, arylalkoxykarbonylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkoxylové části nebo ochranná skupina aminoskupiny;

R(20) je $N(R(19))_2$;

R(21) je hydroxyskupina, arylalkoxyskupina se 6 až 10 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkoxylové části, arylalkoxykarbonylaminová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkoxylové části, karboxylová skupina nebo R(20);

R(22) je vodík nebo alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku;

X^- je fyziologicky přijatelný anion;

ve všech stereoizomerních formách a jejich směsích v jakémkoli poměru a jejich fyziologicky přijatelné soli.

8. Sloučeniny obecného vzorce I, jak je nárokováno v nároku 7, kde

R(1) je vodík, alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, allylová skupina, fenylová skupina, benzylová skupina nebo 4-karbamimidoylbenzylová skupina;

R(2) je vodík nebo alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku;

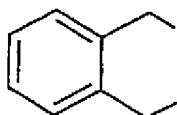
R(3) je fenylová skupina nebo 2-naftylová skupina, která je substituována s R(7);

R(4) je vodík nebo methylová skupina;

22.08.02

R(5) je n-butylová skupina, sek-butylová skupina, terc-butylová skupina, cyklohexylová skupina, cyklohexylmethylová skupina, fenylová skupina, benzylová skupina, 2-fenylethylová skupina, 1-naftylmethylová skupina, 2-naftylmethylová skupina, aminobenzylová skupina, výhodně 4-aminobenzylová skupina, hydroxymethylová skupina, benzyloxymethylová skupina, karboxymethylová skupina, 2-karboxyethylová skupina, 3-amino-propylová skupina nebo 4-(benzyloxykarbonylamino)butylová skupina; nebo

R(4) a R(5) spolu tvoří skupinu vzorce II



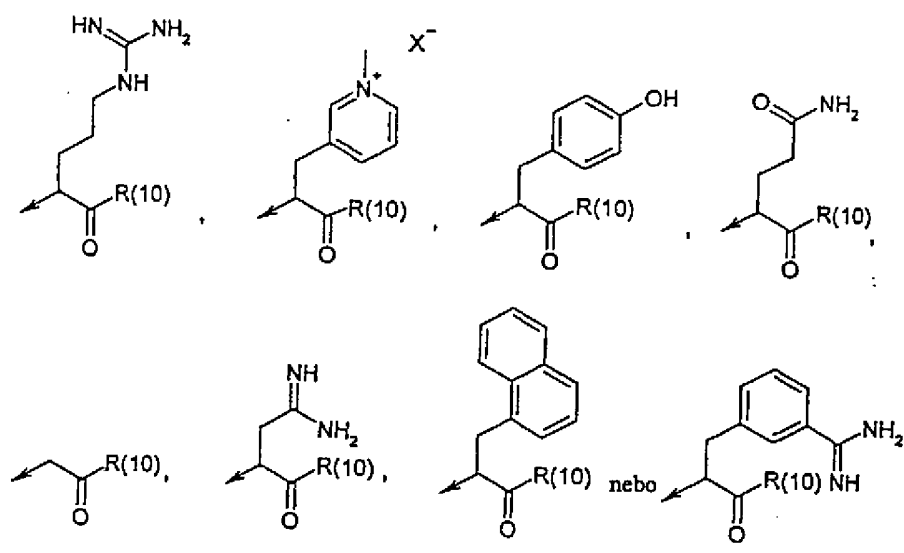
(II);

R(6) je N(R8)(R9), OH nebo OCH₃;

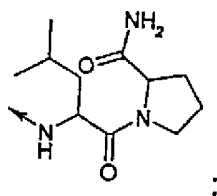
R(7) je amidinová skupina, hydroxyamidinová skupina, aminoskupina nebo dimethylaminoskupina;

R(8) je vodík, pyridylmethylová skupina, výhodně 4-pyridylmethylová skupina, 3-karbamimidoylbenzylová skupina nebo 4-aminobutylová skupina;

R(9) je



R(10) je



X^- je fyziologicky přijatelný anion;

ve všech stereoizomerních formách a jejich směsích v jakémkoli poměru a jejich fyziologicky přijatelné soli.

9. Sloučeniny obecného vzorce I, jak jsou nárokovány v nároku 7 a/nebo 8, kde

R(1) je propylová skupina nebo butylová skupina;

R(2) je propylová skupina nebo butylová skupina;

R(3) je fenylová skupina, která je substituována s R(7);

R(4) je vodík;

22.08.02

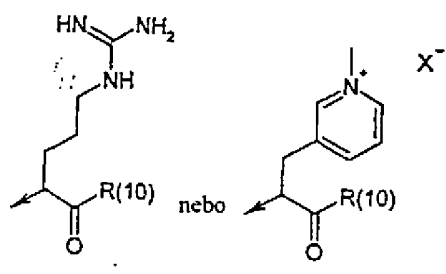
R(5) je cyklohexylová skupina;

R(6) je N(R8)R(9);

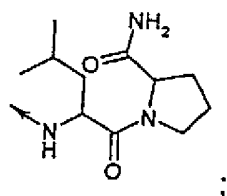
R(7) je amidinoskupina nebo aminoskupina;

R(8) je vodík;

R(9) je



R(10) je



X⁻ je fyziologicky přijatelný anion;

ve všech stereoizomerních formách a jejich směsích v jakémkoli poměru a jejich fyziologicky přijatelné soli.

10. Sloučeniny obecného vzorce I, jak jsou nárokovány v jednom nebo více nárocích 7 až 9, kterými jsou:

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamimidoylbenzyl)-N-((S)-{1-(S)-[1-(S)-(2-(S)-karbamoylpyrrolidin-1-karbonyl)-3-methyl-

butylkarbamoyl]-4-guanidinobutylkarbamoyl}cyklohexylmethyl)-
N',N'-diizopropylmalonamidu, méně polární diastereomer,

Sůl kyseliny trifluoroctové 3-{2-(S)-{2-(S)-[3-(4-karbami-
midoylfenyl)-2-diizopropylkarbamoylpropionylamino]-2-cyklo-
hexylacetylamino}-2-[1-(S)-(2-(S)-karbamoylpyrrolidin-1-kar-
bonyl)-3-methylbutylkarbamoyl]ethyl}-1-methylpyridinium
trifluoracetátu, méně polární diastereomer,

Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-aminobenzyl)-N-((S)-{1-(S)-[1-
(S)-(2-(S)-karbamoylpyrrolidin-1-karbonyl)-3-methylbutylkarb-
amoyl-4-guanidinobutylkarbamoyl}cyklohexylmethyl)-N',N'-
diizopropylmalonamidu, méně polární diastereomer,

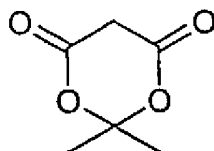
Sůl kyseliny trifluoroctové 2-(4-karbamidoylbenzyl)-N-((S)-
{1-(S)-[1-(S)-(2-(S)-karbamoylpyrrolidin-1-karbonyl)-3-
methylbutylkarbamoyl]-4-guanidinobutylkarbamoyl}cyklo-
hexylmethyl)-N',N'-diizobutylmalonamidu, polárnější
diastereomer,

a/nebo jejich fyziologicky přijatelné soli.

11. Způsob přípravy sloučeniny obecného vzorce I, jak je
nárokována v jednom nebo více nárocích 1 až 10,
v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje

i)

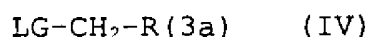
a) alkylací sloučeniny vzorce III



III

22.08.02

se sloučeninou obecného vzorce IV



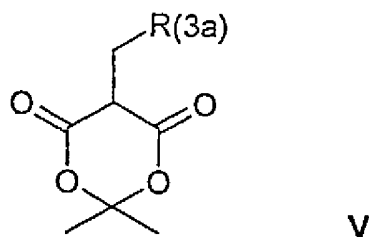
kde LG je odštěpující se skupina a kde

R(3a) je arylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku, která je substituována s R(23);

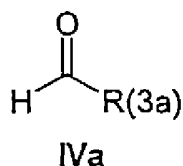
R(23) je N(R(24))₂, nitroskupna nebo kyanoskupina;

R(24) je alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku, arylalkylová skupina se 6 až 10 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, alkylkarbonylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylové části nebo alkoxykarbonylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku v alkoxylové části;

v přítomnosti báze, za získání sloučeniny obecného vzorce V,

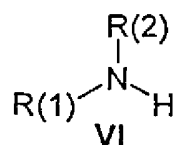


nebo reakci sloučeniny vzorce III se sloučeninou obecného vzorce IVa,

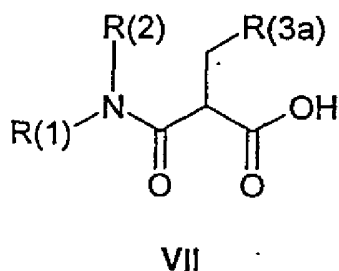


v přítomnosti redukčního činidla za získání sloučeniny obecného vzorce V;

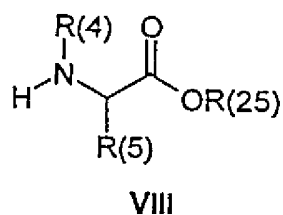
b1) reakci sloučeniny obecného vzorce V se sloučeninou obecného vzorce VI,



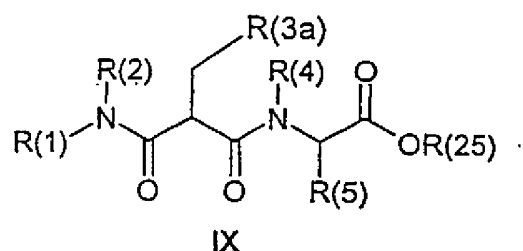
kde R(1) a R(2) mají význam uvedený v jednom nebo více nárocích 1 až 10, za získání sloučeniny obecného vzorce VII;



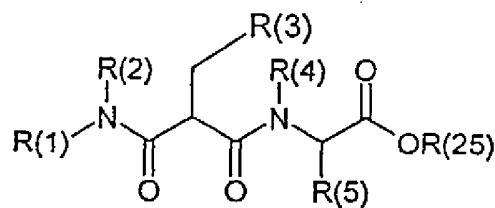
c1) kondenzací sloučeniny obecného vzorce VII se sloučeninou obecného vzorce VIII,



kde R(4) a R(5) mají význam uvedený v jednom nebo více nárocích 1 až 10 a R(25) je snadno odštěpitelný ester za získání sloučeniny obecného vzorce IX,



d1) případně zavedení amidinové skupiny nebo redukci nitroskupiny, konverzí sloučeniny obecného vzorce IX na sloučeninu obecného vzorce X,



X

kde R(3) má význam jak je uvedeno v jednom nebo více nárocích 1 až 10;

e1) zmýdelnění esterové skupiny R(25) a kondenzací výsledné sloučeniny XI podle stupně c1 se sloučeninou obecného vzorce XII

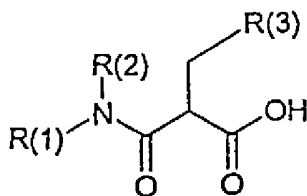
HR(6)

(XII)

kde R(6) má význam jak je uvedeno v jednom nebo více nárocích 1 až 10, za získání sloučeniny obecného vzorce I; nebo

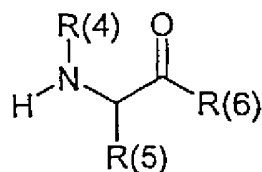
c2) chránění karboxylové funkce ve sloučenině obecného vzorce VII se snadno odštěpitelnou chránicí skupinou a zavedení amidinové skupiny nebo redukce nitroskupiny podle stupně d1 za získání, po odstranění chránicí skupiny karboxylové skupiny, sloučeniny obecného vzorce XIII; a

d2) kondenzací sloučeniny obecného vzorce XIII podle stupně c1)



XIII

se sloučeninou obecného vzorce XVI;

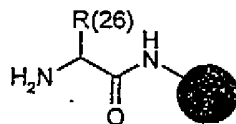


XVI

za získání sloučeniny obecného vzorce I; nebo

ii)

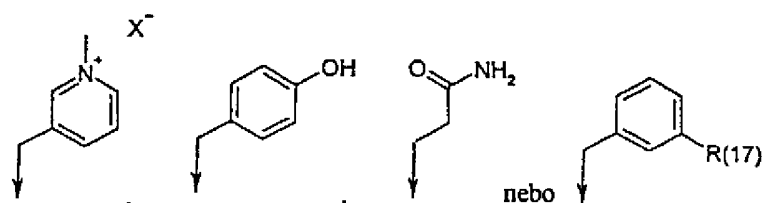
a) kondenzací sloučeniny obecného vzorce XVIII



XVIII

která je vázána na vhodný nosič a kde

R(26) je vodík, $-\text{CH}_2\text{R}(17)$, 1-naftylmethyl, $-(\text{CH}_2)_3-\text{NR}(28)-\text{C}(=\text{N}-\text{R}(27)-\text{NH}-\text{R}(28))$

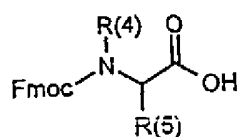


R(27) je R(28), kyanoskupina, hydroxyskupina, alkokyskupina s 1 až 6 atomy uhlíku, arylalkoxyskupina se 6 až 14 atomy uhlíku v arylové části a 1 až 6 atomy uhlíku v alkoxylové části, která je nesubstituována nebo substituována v arylové části nebo aminoskupina;

R(28) je vodík, alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku nebo alkylkarbonylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylové části;

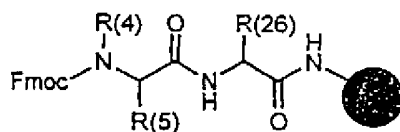
a R(17) má význam uvedený v jednom nebo více nárocích 1 až 10;

se sloučeninou obecného vzorce XVII



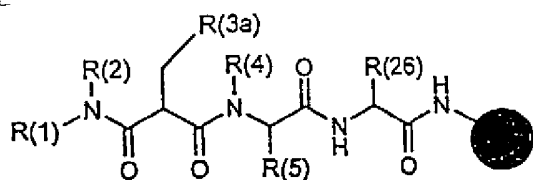
XVII

kde R(4) a R(5) mají význam uvedený v jednom nebo více nárocích 1 až 10, za získání sloučeniny obecného vzorce XIX

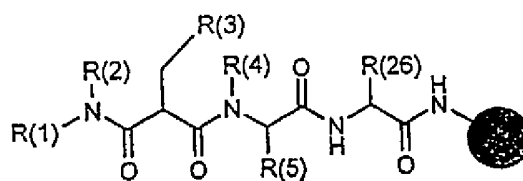


XIX

b) a po odstranění chránicí skupiny u sloučeniny obecného vzorce XIX s báží, kondenzací sloučeniny u které byla odstraněna chránicí skupina XX, se sloučeninou obecného vzorce VII nebo XIII za získání sloučeniny obecného vzorce XXI nebo XXII;



XXI



XXII

c) případně konverzi sloučeniny obecného vzorce XXI na sloučeninu obecného vzorce XXII

a d) odštěpení sloučeniny obecného vzorce XXII z pryskyřice za získání sloučeniny obecného vzorce I.

12. Farmaceutický přípravek, v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje jednu nebo více sloučenin obecného vzorce I, jak je nárokována v jednom nebo více nárocích 1 až 10 a/nebo její fyziologicky přijatelné soli, společně s farmaceuticky přijatelným nosičem a/nebo pomocnými látkami.

13. Sloučenina obecného vzorce I jak je nárokována v jednom nebo více nárocích 1 až 10 a/nebo její fyziologicky přijatelné soli pro použití jako farmaceutický přípravek.

14. Sloučenina obecného vzorce I jak je nárokována v jednom nebo více nárocích 1 až 10 a/nebo její fyziologicky přijatelné soli pro použití jako inhibitor faktoru Xa

15. Sloučenina obecného vzorce I jak je nárokována v jednom nebo více nárocích 1 až 10 a/nebo její fyziologicky přijatelné soli pro použití jako inhibitor srážení krve.

16. Sloučenina obecného vzorce I jak je nárokována v jednom nebo více nárocích 1 až 10 a/nebo její fyziologicky přijatelné soli pro použití při léčbě nebo profylaxi kardiovaskulárních chorob nebo tromboembolických chorob.

17. Sloučenina obecného vzorce I jak je nárokována v jednom nebo více nárocích 1 až 10 a/nebo její fyziologicky přijatelné soli pro použití při léčbě nebo prevenci komplikací spojených s infekcí nebo operací.

18. Sloučenina obecného vzorce I jak je nárokována v jednom nebo více nárocích 1 až 10 a/nebo její fyziologicky přijatelné soli, pro použití jak je nárokováno v nároku 16, kde kardiovaskulární choroby jsou resternóza, restenóza po angioplastice, prevence proti novému ucpání, stavy po operacích koronárního bypassu, arteriální, venózní a mikrooběhová onemocnění, infarkt myokardu, angina pectoris, tromboembolická onemocnění, trombózy, embolie, syndrom respirační tísně dospělých, selhání více orgánů, mrtvice nebo diseminovaná intravaskulární koagulace krve.

19. Sloučenina obecného vzorce I jak je nárokována v jednom nebo více nárocích 1 až 10 a/nebo její fyziologicky přijatelné soli, pro použití jak je nárokováno v nároku 17, kde komplikace spojené s operací zahrnují hlubokou a proximální žilní trombózu, které se mohou objevit po chirurgickém zákroku.