

KÖZZÉTÉTELI

RÉLDÁNY

Eljárás amidino-fenil-~~alamin-származékok~~ ^{alamin-származékok}, valamint ^{a vegyületeket}
hatóanyagként ilyen vegyületeket tartalmazó gyógyszer-
készítmények előállítására

65359

Behringwerke Aktiengesellschaft, Marburg, Németország

Bejelentés napja: 1992. 04. 08.

Elsőbbsége: 1991. 04. 09. (P 41 11 394.2)

Németország

K I V O N A T

A találmány (I) általános képletű vegyületek, valamint hatóanyagként ilyen vegyületeket tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására vonatkozik. Az (I) általános képletben

R¹ jelentése naftil- vagy fenilcsoport, amelyek 1-3-szorosan 1-3 szénatomos alkoxics csoporttal vagy 1-5-szörösen 1-2 szénatomos alkilcsoporttal szubsztituálva lehetnek, vagy krománcsoport, amely 1-5-szörösen metilcsoporttal szubsztituálva lehet,

R¹ jelentése hidrogénatom, 1-4 szénatomos alkil-, hidroxialkil-, max. 7 szénatomos aralkil- vagy max. 4 szénatomos karboxi-alkil-csoport,

R² és R³ jelentése azonos vagy különböző és lehet max. 4 szénatomos alkilcsoport, vagy R² és R³ a hozzájuk kapcsolódó nitrogénatommal együtt gyűrűt képez, amely adott esetben karboxil-, hidroxil- vagy max. 3 szénatomos hidroxialkil-csoporttal szubsztituálva lehet, és

* jelentése R- vagy S-, előnyösen R-szerkezet.

Az (I) általános képletű vegyületeknek trombingátló hatásuk van.

47

**KÖZZÉTÉTELI
PÉLDÁNY**



A

Képviselő:

DANUBIA SZABADALMI IRODA KFT

Budapest

NAFO: COFD 295/185

211/36

405/12

311/06

COFC 311/43

AGAK 31/195

65359

1185/52

Eljárás ^a Amidino-fenil-alanin-származékok, valamint eljárás ~~ilyen~~
vegyületek ^{et} ~~és ilyen vegyületeket~~ hatóanyagként tartalmazó
gyógyszerkészítmény előállítására

Behringwerke Aktiengesellschaft, Marburg, Németország

Feltaláló(k):

Dr STÜBER Werner, vegyész, Lahntal,

Dr. DICKNEITE Gerhard, biológus, Marburg,

Németország

Bejelentés napja: 1992. 04. 08.

Elsőbbsége: 1991. 04. 09. (P 41 11 394.2)

Németország

A találmány amidino-fenil-alanin-származékokra, ezen vegyületek valamint az ilyen vegyületeket hatóanyagként tartalmazó gyógyszerkészítmény előállítási eljárására vonatkozik.

Ismert, hogy egy egész sor patofiziológias körülmény a legfontosabb tromboinhibitor, az Antitrombin III (AT III) elhasználódásához vezet a plazmában. Az AT III mennyiségének lecsökkenése fokozott trombózisveszélyhez vezet mind azt többek között a veleszületett AT III-hiány esetében is kimutatták. A mennyiség a normál érték 75%-a alá való csökkenése esetén trombo-embóliás komplikációk lépnek fel. Ezek a komplikációk operációk után gyakran disszeminált intravazális véralvadás formájában sokkos állapotok formájában jelentkeznek. Igen sok esetben ez életveszélyes véralvadás formájában jelenik meg. A trombotikus betegségek kezelésére és megelőzésére eddig különböző módon ható antikoaguláns szereket alkalmaztak. A trombózis veszély akut eseteinél AT III-at, Heparint és újabban Hirudint alkalmaznak. A hosszú időtartamon való profilaktikus kezelésekhez kumarin- és indán-dion-származékokat adagolnak. Ezek az antikoagulánsok azonban számos háttánnal rendelkeznek.

A heparin például a poliszacharid szerkezete alapján csak parenterális uton adagolható és kihat a működőképes antitrombin III szintre is. A kumarin közvetlenül a protein-bioszintézis ellen hat, amikor is a K vitamin-függő II, VII, IX, és X alvadásgátló faktorok többé kielégítő mennyiségben nem állnak rendelkezésre és így módon az alvadási készség csökken, így módon egy időben késleltetett hatás alakul ki. Ismert mellékhatások továbbá hemorrhagiás bőrkárosodás, a nausea és a hajhullás.

Ezzel szemben a kismolekulájú tromboinhibitorok előnye az, hogy ezek kofaktor-függetlenül, közvetlenül a trombinra hatnak, amikor is közvetlenül az aktív centrumhoz kötődnek és ezáltal az enzimet mintegy magába zárják. Kémiai szerekezetük alapján ezeket az anyagokat orálisan is lehet adagolni és ily módon hatásukat azonnal képesek kifejteni.

Különösen ismertek az argininbázisu vagy amidino-fenil-alanin-bázisu alaninsav-származékok. Az első említett csoport-hoz tartoznak például a következők: D-fenil-alanil-L-prolil-arginin-aldehid és a (2R,4R)-4-metil-1-[N-2-(3-metil-1,2,3,4-tetrahidro-8-kinolinszulfonil-Larginil)-2-piperidin-karbonsav-monohidrát (MD 805). Ez utóbbi vegyület egy kompetitív specifikus tromboinhibitor, amelyet terápiásan is alkalmaznak. További ismert amidino-fenil-alanin-származék a β -naftilszulfonil-glicil-R,S-4-amidino-fenil-alanil-piperidid (NAPAP). A 236163 és a 236164 számú európai szabadalmi leírásokban NAPAP-származékokat ismertetnek. Ezekben a glicin egy $\text{NH}_2\text{CHR}^1\text{-COOH}$ szerkezetű aminosavval van helyettesítve, ahol R^1 jelentése rövidszénláncu alkilcsoport, rövidszénláncu hidroxil-alkilcsoport, fenilcsoport vagy 4-hidroxil-fenil-csoport. A 4-amidino-fenil-alanin (Aph) n-metil-aph-N-csoporttá lehet metilezve. Ezen kívül az NAPAP-re még különböző származékok vannak ismertetve az arilszulfonil-, a hid-glicin- és a piperidin-csoportnál. A legalkalmasabbak ezek közül az α - vagy β -naftilszulfonil-csoportok a N-terminálisnál, míg a heteroaril-szulfonil-csoportok, így például a 8-kinolinszulfonil-csoport tisztes gyengébbek. A hidrofób naftilcsoport és az Aph közötti természetes aminosavakból álló hicssoport hátránya az amidkötés

hasíthatósága. Ez a hátrány különösen orális adagolás esetén kerül előtérbe. Más hidtagok, mint például a β -alanin alkalmazása a glicin helyett ugyanakkor jelentős mértékben csökkenti a tromboinhibiciós hatást. Iminosavak, így például prolén alkalmazása is a hatást csökkenti.

A fentiek alapján találmányunk célja új, amidino-fenil-alaninbázisu vegyületek biztosítása, amely vegyületek hatásukban az ismert antitrombotikus szereket felülmulják, enzimatis ellenállóképességük nagy és ugyanakkor elviselhetőségük is jobb.

A fentiek alapján találmányunk új, (I) általános képletű vegyületekre vonatkozik, amely képletben

R' jelentése naftil- vagy fenilcsoport, amelyek 1-3-szorosan 1-3 szénatomos alkoxicsoporttal vagy 1-5-szörösen 1-2 szénatomos alkilcsoporttal szubsztituálva lehetnek, vagy krománcsoport, amely 1-5-szörösen metilcsoporttal szubsztituálva lehet,

R¹ jelentése hidrogénatom, 1-4 szénatomos alkil-, hidroxil-alkil-, max. 7 szénatomos aralkil- vagy max. 4 szénatomos karboxi-alkil-csoport,

R² és R³ jelentése azonos vagy különböző és lehet max. 4 szénatomos alkilcsoport, vagy R² és R³ a hozzájuk kapcsolódó nitrogénatommal együtt gyűrűt képez, amely adott esetben karboxil-, hidroxil- vagy max. 3 szénatomos hidroxil-alkil-csoporttal szubsztituálva lehet, és

* jelentése R- vagy S-, előnyösen R-szerkezet.

Az ismert szerkezetű vegyületek, valamint a találmány szerinti vegyületek közötti lényeges különbség, hogy az atom,

amelyhez az R^1 csoport kapcsolódik nitrogénatom és nem szénatom.

Az NAPAP vegyületet a (II) képlettel írjuk le.

Meglepetésszerűen az NAPAP antitrombotikus aktivitását a glicinnek egy azaaminosav-csoporttal való helyettesítésével jelentős mértékben növelni lehet. Az azaaminosav-csoportok ismert vegyületek és az (a) általános képlettel írjuk le. Az azaaminsav szerkezeti elem bevezetésével jutunk az (I) általános képlet szerinti szerkezethez.

Meglepetésszerűen azt találtuk, hogy a β -naftilszulfonil-azaglicil-B-amidino-fenil-alanil-piperidid a glicinvegyület hatásosságát ötszörösen felülmúlja. Az azaaminosav csoportnak a hidrofób R' csoporttal való (I) képlet szerinti kombinációja olyan vegyületet eredményez, amelynek K_i - és IC_{50} értékei pikomólos tartományba esnek. Ennek megfelelően az azaaminosavcsoportot tartalmazó vegyületek enzimatis bontással szembeni ellenállása igen jó, ily módon a találmány szerinti vegyületek jelentősen megnövekedett hatás mellett még megnövekedett stabilitással is rendelkeznek.

A találmány szerinti (I) általános képleteket ismert módon állítjuk elő, mint például az a következő irodalmi helyeken ismertetve van: (Houben -Weyl, "Methoden der organischen Chemie", 15 (1+2), Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1974, Erich Wunsch, vagy Pharmazie 39, 228 (1984)).

Előnyösen először a boc-ciano-fenil-alanint kapcsoljuk az aminkomponenshez. Aminkomponensként előnyösen ciklusos aminokat, így például piperidint, metil-piperidint, vagy hidroximetil-piperidint alkalmazunk. A peptidkötés

előállítását ismert standard eljárásokkal végezzük, előnyösen karbodiimidet hidroxibenzotriazol és dimetil-formamid vagy más hasonló oldószer jelenlétében alkalmazunk. Az N- α -védett vegyület izolálása után a védőcsoportot, ebben az esetben a boc-csoportot acidolízissel eltávolítjuk. Ehhez előnyösen trifluor-ecetsavat alkalmazunk, adott esetben oldószerként diklórmétánnal együtt, vagy sósavat ecetsavban oldva.

Az azaaminosav kapcsolását szintén ismert módon vitelezzük ki, így például az ismert aktiv észter eljárással, amelynél egy védett hidrazin-származékot klór-hangyasavészterrel aktiv észterré alakítunk. Aktiv észterként különösen para-nitrofenil-észtert alkalmazunk. További lehetőség a ciano-fenil-csoport aminocsoportjának aktiválása izocianáttá, majd ezt követően egy hidrazin-származékkal való reakció. A hidrazin N β -csoportját az átalakításnál ismert módon védőcsoporttal blokkoljuk, amelyhez előnyösen benzil-oxi-karbonil-csoportot, még előnyösebben terc-butil-oxi-karbonil-csoportot alkalmazunk. A védőcsoport acidolitikus hasítása után egy aromás, heteroaromás vagy heterociklusos szulfonsavkloridot kapcsolunk, amely reakciót oldószemben, így például tetrahidrofuránban, dioxánban, diklórmétánban vagy dimetil-formamidban végzünk bázis, így például N-metil-morfolin, trietil-amin vagy diizopropil-etil-amin jelenlétében. Sok esetben azonban kedvezőbbnek látszik először a szulfonsavklorid-származékot a hidrazinszármazékhhoz kapcsolni. Ezáltal elkerülhető a védőcsoport bevezetése. A cianocsoport amidinocsoporttá való átalakítását ismert reakciók szerint végezzük. Előnyösen úgy járunk el, hogy a megfelelő ciano-fenil-alanin-származékot trietil-amin/piridin elegyben néhány napon

át kénhidrogénnel kezelünk. Az így képződött tioamidot ezután izoláljuk, majd egy metilezőszerrel, így például metil-jodiddal a megfelelő tio-imidsav-metil-észter-vegyületté alakítjuk. A kapott vegyületet ezután valamilyen ammóniumvegyülettel, így például ammónium-acetáttal, előnyösen metanol oldószerben a kívánt amidino-fenil-alanin-vegyületté alakítjuk.

A kapott vegyületeket ismert módszerek szerint tisztítjuk. Előnyösen géelpermeációs kromatográfiát alkalmazunk Sephadex^R LH-20 felhasználásával, de ioncserélős kromatográfiát CM-cel-lulózson is alkalmazhatunk, amelynél különösen előnyösen acetát-puffer kerül felhasználásra. A találmány szerinti vegyületeket vékonyréteg kromatográfiával és HPLC-vel vizsgáljuk. Az azonosítást elemanalizissal és NMR analízissel végezzük.

A találmány szerinti inhibitor hatású vegyületeket a hatásosságuk meghatározására különböző jellemzőkre vizsgáltuk, így például meghatároztuk a K_i -értékeket az IC_{50} -értékeket és a parciális tromboplastinidőt (PTT) in vivo és in vitro egyaránt. A kapott eredmények szerint a találmány szerinti vegyületet specifikus és igen nagy aktivitású trombingátlók jelentős mértékű antitrombotikus hatással együtt, és ez a hatás az eddig ismert kis molekulájú inhibitorok hatását jelentősen felülmúlja.

A találmány oltalmi körébe tartoznak továbbá az (I) általános képletű vegyületeket tartalmazó antitrombotikus hatású diagnosztikus és gyógyászati készítmények, valamint az (I) általános képletű vegyületek diagnosztikumként való alkalmazása is, továbbá az oltalmi körbe tartozik az antitrombotikus hatású gyógyszerkészítmények előállítási eljárása is.

A találmányt közelebbről a következő nem krolátozó példák-
kal illusztráljuk.

1. példa

Beta-naftilszulfonil-azaglicil-D-p-amidin-fenil-alanil- -piperidid

1. Boc-D-p-ciano-fenil-alanil-piperidid

90 g (255 mmól) p-ciano-benzil-bromidot, 55 g (255 mmól) acetamidomalonsav-dietil-észtert és 2 g kálium-jodidot 250 ml vizmentes dioxánban forráspontig melegítünk. Ezen a hőmérsékle-
ten kb. 3 óra alatt 6 g (260 mmól) nátrium etanollal frissen készült oldatát csepegtetjük hozzá, majd további 3 órán át visszafolyatás közben melegítjük, majd 80°-ra lehütjük és 3 óra leforgása alatt 170 ml 3 n nátronlugot adagolunk hozzá. A reakciókeveréket 4 órán át 95°C hőmérsékleten melegítjük, majd lehütjük, 6 n sósavval a pH értékét 1-re beállítjuk és a dioxánt elpárologtatjuk. Az esetlegesen kiváló csapadékot szűrjük, a szűrletet nátronluggal pH=9-re beállítjuk, kétszer etil-acetáttal extraháljuk, a vizes fázis pH-ját sósavval ismételten 1-re beállítjuk, amikor is az n-acetil-ciano-fenil-alanin kikristályosodik. A kristályokat összegyűjtjük, többször vízzel atmossuk és nagyvákuumban szárítjuk.

Kitermelés 47 g (79,2%)

Tisztasági vizsgálat: DC Rf=0,5 (kloroform 50/metanol
10/ecetsav 2,5 térfogatrész).

24 g fenti termékhez 3 l vizes 3 n nátrium-hidroxidot adunk és a pH-t 6-6,5-re beállítjuk. Eztuán 500 mg acilázt adunk hozzá és a reakciókeveréket 4 napon át 37°-on inkubáljuk. Ezután az oldatból ultraszűrővel az acilázt eltávolítjuk és 1

1 térfogatra betöményítjük, majd a pH-t 1-re beállítjuk és többször etil-acetáttal extraháljuk. A szerves fázist kevés koncentrált konyhasóval átmossuk, nátrium-szulfáton szárítjuk és az oldószert betöményítjük. Ily módon 8,2 g N-acetil-D-ciano-fenil-alanint nyerünk (82%).

Az így kapott termék 8 g-jához ezután 82 ml jégecetet és 4,3 ml koncentrált sósavat 40 ml vízzel együtt adagolunk és 24 órán át forrásponton melegítjük. Ezután a hasítóoldatot elpárologtatjuk és a metanolhoz kötődő savnyomokat metanol/dietil-éter eleggyel eltávolítjuk. Ily módon 6,6 g (85%) terméket nyerünk.

5 g D-ciano-fenil-alanin-hidrokloridot 14 ml vízben feloldunk 7,5 ml diizopropil-etil-amin jelenlétében. Ezután hozzáadagolunk 17 ml dioxánban oldott 6 g terc-butyl-oxi-karbonil-oxi-imino-2-fenil-acetonitrilt és 1 éjszakán át keverjük, majd hozzáadunk 4 ml vizet és 5 ml etil-acetátot. A vizes fázist ezután elválasztjuk, a szerves fázist 1 mólos kálium-hidrogén-karbonáttal extraháljuk, az egyesített vizes fázisokat ismételten 10 ml dietil-éterrel mossuk, majd sósavval a pH értékét 3-ra beállítjuk. Ezután háromszor etil-acetáttal extraháljuk, nátrium-klorid oldattal mossuk és a szerves fázist nátrium-szulfáton szárítjuk. Az oldószer elpárologtatása után 5,6 g (78%) boc-D-ciano-fenil-alanint nyerünk.

3,26 g (10 mmól) boc-D-ciano-fenil-alanint, 1,49 g 11 mmól HOBt-t és 2,42 g (12 mmól) DCCI-t 50 ml dimetil-formamidban oldunk és 1 órán át keverünk. Ezután hozzáadunk 1 ml piperidint és a keverést 1 éjszakán át folytatjuk. A kicsapódott diciklohexil-karbamidot leszűrjük, a dimetil-formamidot ledesztillál-

juk, és a visszamaradó anyagot etil-acetátban felvesszük. Ezután az anyagot háromszor kálium-hidrogén-karbonáttal, háromszor 1 mólos kálium-hidrogén-szulfáttal és háromszor telített konyhasóoldattal mossuk, a szerves fázist nátrium-szulfáton szárítjuk és az oldószert ledesztilláljuk. Ily módon 3,16 g (80%) boc-D-ciano-fenil-alanil-piperididet nyerünk, DC Rf=0,27 (kloroform).

2. D-ciano-fenil-alanil-piperidin-hidroklorid

3 g boc-védett vegyületet 50 ml 1,2 n sósavat tartalmazó ecetsavban feloldjuk és 30 percig szobahőmérsékleten kezeljük. A hasító reagenst ezután vákuumban ledesztilláljuk, a savnyomokat toluollal eltávolítjuk és a visszamaradó anyagot dietil-éterrel elkeverjük. A kristályokat összegyűjtjük és vákuumban szárítjuk. Ily módon 2,2 g terméket nyerünk.

3. Boc-azaglicil-D-ciano-fenil-alanil-piperidid

2,08 g (7 mmól) boc-azaglicin-para-nitro-fenilésztert és 2,06 g (7 mmól) ciano-fenil-alanil-piperididet 50 ml dimetil-formamidban oldunk, majd hozzáadunk 2,4 ml (14 mmól) diizopropil-etil-amint és 1 napon át sötétben szobahőmérsékleten kevejük. Ezután az oldószert vákuumban ledesztilláljuk, a visszamaradó anyagot etil-acetátban felvesszük és háromszor 1 mólos kálium-hidrogén-szulfát oldattal háromszor kálium-hidrogén-karbonát-oldattal és kétszer koncentrált sóoldattal mossuk. A szerves fázist nátrium-szulfáton szárítjuk, az oldószert elpárologtatjuk, a visszamaradó anyagot diizopropil-éterrel elkeverjük, a kristályokat összegyűjtjük és szárítjuk. Ily módon 2,29 g cím szerinti vegyületet nyerünk.

4. Beta-naftil-szulfonil-azaglicil-D-ciano-fenil-alanil-

-piperidid

2,08 g (5 mmól) 3. pont szerinti vegyületet feloldunk 50 ml 1,2 n sósav/ecetsav oldatban és 30 perceg szobahőmérsékleten keverjük. Ezután a hasítószert elpárologtatjuk, a savnyomokat toluollal vákuumban eltávolítjuk és a visszamaradó anyagot éterrel elkeverjük, majd a kristályokat összegyűjtjük. A kristályos anyagot 50 ml diklór-metánban oldjuk 1,7 ml (10 mmól) diizopropil-etil-amin jelenlétében. Ezután hozzáadunk 1,134 g β -naftilszulfonil-kloridot és a keveréket egy éjszakán át szobahőmérsékleten keverjük, majd az oldószert ledesztilláljuk, a visszamaradó anyagot ^Yetil-acetátban oldjuk és háromszor 1 mólos kálium-hidrogén-szulfát oldattal, háromszor kálium-karbonát oldattal és kétszer koncentrált konyhasóoldattal mossuk. A szerves fázist nátrium-szulfáton szárítjuk és az oldószert elpárologtatjuk. Ily módon 1,75 g cím szerinti vegyületet nyerünk.

**5. Beta-naftil-szulfonil-azaglicil-D-amidino-fenil-alanil-
-piperidid**

1 g előző 4. pont szerinti vegyületet feloldunk 30 ml vizmentes piridinben, hozzáadunk 1 ml trietil-amint és 3 órán át kénhidrogéngázt vezetünk bele. Az elegyet ezután 3 napig állni hagyjuk szobahőmérsékleten, majd a keveréket 100 g jég és 50 ml konc. sósav keverékére öntjük. A kiváló csapadékot leszivatjuk, vízzel átmossuk, a tioamidot szárítás után 50 ml acetonban oldjuk, majd 1,5 ml metil-jodiddal reagáltatjuk. A keveréket 30 percen át visszafolyatás közben forraljuk, majd lehütjük és dietil-éterrel kicsapjuk. A csapadékot diklór-metánban oldjuk, kétszer vízzel átmossuk, a szerves fázist

nátrium-szulfáton szárítjuk, majd az oldószert eltávolítjuk és a visszamaradó anyagot 30 ml vízmentes metanolban oldjuk és 200 mg ammónium-acetátot adagolunk hozzá. A kapott reakciókeveréket 3 órán át 60°-on melegítjük, majd az oldószert vákuumban elpárologtatjuk, a terméket kromatográfiásan Sephadex^R LH-20 tölteten tisztítjuk metanollal. Ily módon 590 mg terméket nyerünk.

op. 182°C, DC: Rf=0,48 (kloroform 50/metanol/10/ecetsav 2,5 térfogatrész).

FAB: M⁺+H+523.

2. példa

Pmc-azaglicil-D-p-amidino-fenil-alanin-piperidid

Az 1-3. lépést az előző példa szerinti végezzük.

4. Pmc-azaglicil-D-ciano-fenil-alanin-piperidid

1,67 g (4 mmól) boc-azaglicil-D-ciano-fenil-alanin-piperidint 50 ml 1,2 n sósavas jégecetben oldunk és 30 percig szobahőmérsékleten keverjük. Ezután a hasítószert elpárologtatjuk, a savnyomokat toluollal eltávolítjuk vákuumban és a visszamaradó anyagot éterrel elkeverjük. A kapott kristályos anyagot 50 ml diklór-metánban 1,36 ml (8 mmól) diizopropil-etil-aminban oldjuk, majd hozzáadagolunk 1,35 g Pmc-kloridot és a reakciókeveréket 1 éjszakán át szobahőmérsékleten keverjük. Az oldószert ezután ledesztilláljuk, a visszamaradó anyagot etil-acetátban felvesszük, háromszor 1 mólos kálium-hidrogén-szulfát oldattal, háromszor kálium-hidrogén-karbonát oldattal és kétszer koncentrált konyhasavval átmossuk, a szerves fázist nátrium-szulfáton szárítjuk és az oldószert elpárologtatjuk. Ily módon 1,95 g cim szerinti terméket nyerünk.

5. Pmc-azaglicil-D-amidino-fenil-alanin-piperidid

1,5 g 4. pont szerinti vegyületet feloldunk 30 ml vizmentes piridinben, hozzáadunk 1 ml trietil-amint és 3 órán át kénhidrogéngázt vezetünk bele. Ezután a reakcióelegyet 3 napig szobahőmérsékleten állni hagyjuk, majd 100 g jégből és 50 ml koncentrált sósavból álló keverékre öntjük, a kiváló csapadékot leszivatjuk és vízzel átmoszuk. A kapott tioamidot szárítás után 50 ml acetonban oldjuk, és 1,5 ml metil-jodiddal elkeverjük, a reakciókeveréket 30 percen át visszafolyatás közben forraljuk, majd lehütjük és dietil-éterrel kicsapjuk. A csapadékot diklór-metánban oldjuk, kétszer vízzel átmoszuk, a szerves fázist nátrium-szulfáton szárítjuk, és az oldószert eltávolítjuk. A visszamaradó anyagot 30 ml vizmentes metanolban oldjuk és 300 mg ammónium-acetátot adunk hozzá. A keveréket 3 órán át 60°-on melegítjük, majd az oldószert vákuumban elpárologtatjuk, a terméket Sephadex^R LH-20 töltetű oszlopon kromatografáljuk metanollal. Ily módon 990 mg cim szerinti terméket nyerünk, op. 149-155°C (acetátsó).

DC Rf=0,52 (kloroform 50/metanol 10/jégecet 2,5 térfogat-rész)

A tromboinhibiciós IC₅₀ érték meghatározása

A vegyületeket növekvő koncentrációban humán trombinban 0,1 mólos trisz-sósav-puffer/0,15 mólos NaCl, pH=8,2-es elegyben inkubáljuk. 1 óra után az enzimatis reakciót Chromozym^R TH (Tos-Gly-Pro-Arg-pNA, 5x10⁻⁵ mól) megindítjuk. A pNA felszabadulását 1 óra múlva az optikai sűrűség mérésével követjük (405 nm, fotométer). Az inhibitorok azon koncentrációját, amely 50%-al gátolja az enzimaktivitást IC₅₀-ként jelöljük. (100% megfelel a nem-gátolt enzimreakciónak).

A trombin KI-értékének meghatározása

Az előzőekben ismertetett trombinoldattal meghatározzuk a vizsgálandó vegyületek KI-értékét. Ehhez a trombin egy kb. a fenti vizsgálat szerinti IC_{50} -értéknek megfelelő inhibitor-koncentráció mellett inkubáljuk. A reakciót különböző koncentrációju kromozí TH ($0,7-45 \times 10^{-5}$ mól/l) adagolásával indítjuk. A Hemmtyp és KI értékeket Lineweaver és Burk módszere szerint határozzuk meg. (J. Amer. Chem. Soc., 56, 658-666, 1934).

1. táblázat

Trombingátlás		
	IC_{50} (mól/l)	KI (mól/l)
Pmc-Gly-Aph-Pip	$1,4 \times 10^{-9}$	$1,3 \times 10^{-9}$
Nas-AGly-Aph-Pip	$1,3 \times 10^{-9}$	$2,6 \times 10^{-9}$
Pmc-AGly-Aph-Pip	$1,6 \times 10^{-12}$	$9,2 \times 10^{-11}$
NAPAP	$2,8 \times 10^{-9}$	$1,4 \times 10^{-8}$

A rövidítések jelentése

Boc	terc-butyl-oxi-karbonil
DC	Vékonyrétegkromatográfia
Rf	retenciós faktor
HOBt	hidroxí-benzotriazol
DCCI	diciklohexil-kabodiimid
DMF	dimetil-formamid
Pmc	2,2,5,7,8-pentametil-kromán-6-szulfonil

Szabadalmi igénypontok

1. Eljárás (I) általános képletű vegyületek előállítására
- a képletben

R' jelentése naftil- vagy fenilcsoport, amelyek 1-3-szorosan
1-3 szénatomos alkoxicsoporttal vagy 1-5-szörösen 1-2
szénatomos alkilcsoporttal szubsztituálva lehetnek, vagy
krománcsoport, amely 1-5-szörösen metilcsoporttal
szubsztituálva lehet,

R¹ jelentése hidrogénatom, 1-4 szénatomos alkil-, hidroxil-
alkil-, max. 7 szénatomos aralkil- vagy max. 4 szénatomos
karboxi-alkil-csoport,

R² és R³ jelentése azonos vagy különböző és lehet max. 4
szénatomos alkilcsoport, vagy R² és R³ a hozzájuk kap-
csolódó nitrogénatommal együtt gyűrűt képez, amely adott
esetben karboxil-, hidroxil- vagy max. 3 szénatomos
hidroxil-alkil-csoporttal szubsztituálva lehet, és

* jelentése R- vagy S-, előnyösen R-szerkezet.

azzal jellemezve, hogy egy R'-SO₂-NH-NHR₁ általános képletű
hidrazin-származékot - a képletben R' és R¹ jelentése a fenti -
egy karbonilezőszerrel reagáltatjuk, majd a kapott terméket
para-amidino-fenil-dialkil-amiddal - a képletben az alkilcso-
port jelentése megfelel a fentiekben R₂ és R₃-nál megadott
jelentésekkel - reagáltatjuk.

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás **azzal jellemezve**, hogy
karbonilezőszerként klór-hangyasav-para-nitrofenilésztert
alkalmazunk.

3. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános

képletű vegyületek előállítására, amelyek képletében R' jelentése β -naftilcsoport, R₁ jelentése hidrogénatom és R₂ és R₃ együttesen piperidincsoportot jelentenek, **azzal jellemezve**, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk.

4. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű vegyületek előállítására, amelyek képletében R' jelentése 2,2,5,7,8-pentametil-kromán-csoport, R₁ jelentése hidrogénatom, és R₂ és R₃ együttesen piperidincsoport, **azzal jellemezve**, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk.

5. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű vegyületek előállítására, amelyek képletében R' jelentése β -naftilcsoport, R₁ jelentése $-\text{CH}_2-\text{COOH}$ és R₂ és R₃ jelentése együttesen piperidincsoport, **azzal jellemezve**, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk.

6. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű vegyületek előállítására, amelyek képletében R' jelentése β -naftilcsoport, R₁ jelentése metilcsoport és R₂ és R₃ jelentése együttesen piperidincsoport, **azzal jellemezve**, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk.

7. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű vegyületek előállítására, amelyek képletében R' jelentése 6,7-dimetoxi- β -naftil-csoport, R₁ jelentése hidrogénatom és R₂ és R₃ jelentése együttesen piperidincsoport, **azzal jellemezve**, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk.

8. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű vegyületek előállítására, amelyek képletében R' jelentése 5-metoxi- α -naftil-csoport, R₁ jelentése metilcsoport, és R₂ és R₃ jelentése együttesen piperidincsoport, **azzal**

jellemezve, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk.

9. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű vegyületek előállítására, amelyek képletében R' jelentése β -naftilcsoport, R₁ jelentése hidrogénatom, R₂ és R₃ jelentése együttesen 3-piperidin-csoport, **azzal jellemezve**, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk.

10. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű vegyületek előállítására, amelyek képletében R' jelentése 5,6,7,8-tetrahidro- β -naftil-csoport, R₁ jelentése CH₂-COOH csoport és R₂ és R₃ együttesen piperidincsoport, **azzal jellemezve**, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk.

11. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű vegyületek előállítására, amelyek képletében R' jelentése metoxi-trimetil-fenil-csoport, **azzal jellemezve**, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk.

12. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (I) általános képletű vegyületek előállítására, amelyek képletében R' jelentése pentametil-fenil-csoport, R₁ jelentése hidrogénatom és R₂ és R₃ jelentése együttesen 3-piperidin-csoport, **azzal jellemezve**, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk.

13. Eljárás gyógyszerkészítmények előállítására, **azzal jellemezve**, hogy hatóanyagként valamely, 1. igénypont szerinti eljárással előállított (I) általános képletű vegyületet - a képletben R', R₁, R₂ és R₃ valamint * jelentése az 1. igénypont szerinti - gyógyszerészetileg elfogadható hordozóanyaggal elkeverjük és adagolásra alkalmas gyógyszerkészítménnyé alakítjuk.

A meghatalmazott:

 Szabadalmi és Belső Kft.
11.

+ 1 lap 2017


65359

