

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

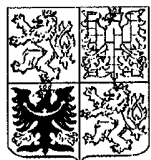
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

1455-98

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **22. 11. 96**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **22.11.95, 04.04.96**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **95/9523828, 96/9607121**

(33) Země priority: **GB, GB**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **12. 08. 98**
(Věstník č. 8/98)

(86) PCT číslo: **PCT/GB96/02892**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 97/19075**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

C 07 D 403/12
C 07 D 249/12
C 07 D 249/14
C 07 D 285/08
C 07 D 271/07
A 61 K 31/415
A 61 K 31/42
A 61 K 31/425

(71) Přihlašovatel:

DARWIN DISCOVERY LIMITED, Cambridge,
GB;

(72) Původce:

Baxter Andrew Douglas, Cambridge, GB;
Montana John Gary, Cambridge, GB;

(74) Zástupce:

PATENTSERVIS PRAHA a.s., Jivenská 1,
Praha 4, 14000;

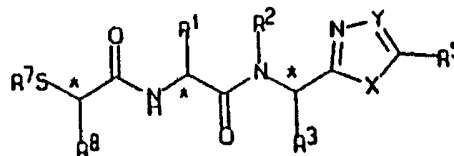
sejícího s metalloproteinázou nebo TNF
.alfa.. Je popsán také farmaceutický pří-
pravek pro použití v terapii, který obsa-
huje tuto merkaptalkylpeptidylovou
sloučeninu obecného vzorce I.

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Merkaptalkylpeptidylová sloučenina, její
použití pro výrobu přípravku pro léčení
nebo prevenci stavu souvisejícího s me-
talloproteinázou nebo TNF alfa a farma-
ceutický přípravek ji obsahující**

(57) Anotace:

Merkaptalkylpeptidová sloučenina obecného
vzorce I, v němž R¹ znamená alkyl s 1 až 6
atomy uhlíku, alkenyl se 2 až 6 atomy uhlíku,
alkyl/s 1 až 6 atomy uhlíku/ aryl, aryl,
alkyl/s 1 až 6 atomy uhlíku/ heteroaryl, hete-
roaryl nebo alkyl /s 1 až 6 atomy uhlíku/-
AR⁹, R² znamená atom vodíku nebo alkyl s 1
až 6 atomy uhlíku, R³ znamená skupinu
[Alk]_nR⁶, X znamená skupinu NR⁹, atom
kyslíku nebo atom síry, Y znamená atom dusí-
ku nebo skupinu CR⁴, R⁴ a R⁵ znamenají stej-
nou nebo různou skupinu, přičemž znamenají
R⁹, COR¹³, alkyl/s 1 až 3 atomy uhlíku/-R¹³
nebo alkyl/s 1 až 3 atomy uhlíku/-COR¹³, R⁷
znamená atom vodíku nebo skupinu R¹⁰CO, v
níž R¹⁰ znamená alkyl s 1 až 4 atomy uhlíku,
alkyl/s 1 až 4 atomy uhlíku/ aryl, alkyl/s 1 až
4 atomy uhlíku/ heteroaryl, cykloalkyl/se 3
až 6 atomy uhlíku/ atd., všechny popřípadě
substituované R¹¹, pro výrobu léčivého pří-
pravku pro léčení nebo prevenci stavu souvi-



11.05.98

Merkaptoalkylpeptidylová sloučenina, její použití pro výrobu přípravku pro léčení nebo prevenci stavu souvisejícího s metalloproteinázou nebo TNF α a farmaceutický přípravek ji obsahující

Oblast techniky

Tento vynález se týká nové skupiny merkaptoalkylpeptidylových sloučenin, jejich použití pro výrobu přípravku pro léčení nebo prevenci stavu souvisejícího s matrix metalloproteinázou nebo TNF α a farmaceutického přípravku, který ji obsahuje.

Dosavadní stav techniky

Metalloproteinázy, zahrnující matrix metalloproteinázu (MMP), (lidskou fibroblastovou) kolagenázu, želatinázu a nádorový nekrotický faktor (TNF), jejich způsoby působení a také jejich inhibitory a jejich klinické účinky jsou popsány ve spisu WO A 9 611 209, jehož obsah je zde zahrnut jako odkaz.

Bylo ukázáno, že sloučeniny, které mají vlastnost spočívající v inhibování působení metalloproteináz obsažených v rozbité pojivové tkáni, jako je kolagenáza, stromelysin a želatináza, inhibují uvolňování TNF jak in vitro tak in vivo. Viz Gearing a spol.: *Nature* **1994**, 370, 555, McGeehan a spol.: *Nature*, **1994**, 370, 558, britská patentová přihláška 2 268 934 a spis WO A 9 320 047. Všechny tyto popsané inhibitory obsahují zinečnatou vazebnou skupinu kyseliny hydroxamové jako imidazolem substituované sloučeniny popsané ve spisu WO A 9 523 790. Další sloučeniny, které inhibují MMP a TNF, jsou popsány ve spisech WO A 9 513 289 a WO A 9 611 209.

Sloučeniny, které inhibují kolagenázu, která má strukturní části podobné skupinám podle tohoto vynálezu, zahrnují ty sloučeniny, které jsou obsaženy v USA patentu č. 4 511 504, vydaném 16. dubna 1985, a USA patentu č. 4 568 666, vydaném 4. února 1986.

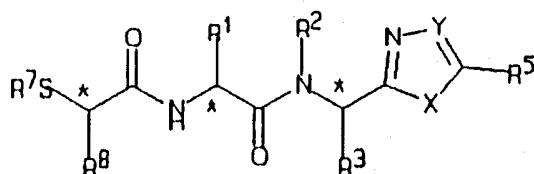
Sloučeniny podobných struktur, které jsou nárokovány pro inhibování stromelysinu (proteoglykanázy), jsou zahrnuty v USA patentu č. 4 771 037, vydaném 13. září 1988.

Nedávné zprávy ukazují, že nové enzymy skupiny MMP také zprostředkují ubývání adhezních molekul, jako jsou selektiny, jako je L-selektin. Tyto rozpustné adhezní molekuly jsou zahrnuty v četných onemocněních zahrnujících rakovinu, autoimunitní a zánětlivé odpovědi. Bylo navrženo, že jakmile je jednou rozštěpen, selektin se váže na příslušné ligandy a to je důvodem jejich biologické aktivity. Léčiva, která interferují s navázáním nebo která brání navázání ligandů na selektiny, budou užitečná jako léčiva pro léčení různých shora popsaných onemocnění.

Podstata vynálezu

Tento vynález zahrnuje nové merkaptoalkylpeptidylové sloučeniny obecného vzorce I, které jsou užitečnými inhibitory onemocnění vyvolaných matrix metalloproteinázami a/nebo TNF α včetně degenerativních onemocnění a některých rakovin.

Nové sloučeniny podle tohoto vynálezu jsou sloučeniny obecného vzorce I



(I),

v němž

R¹ znamená alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenylovou skupinu se 2 až 6 atomy uhlíku, alkyl(s 1 až 6 atomy uhlíku)arylovou skupinu, arylovou skupinu, alkyl(s 1 až 6 atomy uhlíku)heteroarylovou skupinu, heteroarylovou skupinu nebo alkyl(s 1 až 6 atomy uhlíku)-AR⁹ skupinu, v níž A znamená atom kyslíku, skupinu NR⁹ nebo skupinu S(O)_m, kde m znamená číslo 0 až 2, R⁹ znamená atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy

uhlíku, arylovou skupinu, heteroarylovou skupinu, alkyl(s 1 až 4 atomy uhlíku)arylovou skupinu nebo alkyl(s 1 až 4 atomy uhlíku)heteroarylovou skupinu a jestliže A znamená skupinu NR^9 , skupiny R^9 mohou být stejné nebo různé,

R^2 znamená atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku,

R^3 znamená skupinu $[Alk]_nR^6$, v níž Alk znamená alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku nebo alkenylovou skupinu se 2 až 6 atomy uhlíku a n znamená číslo 0 nebo 1,

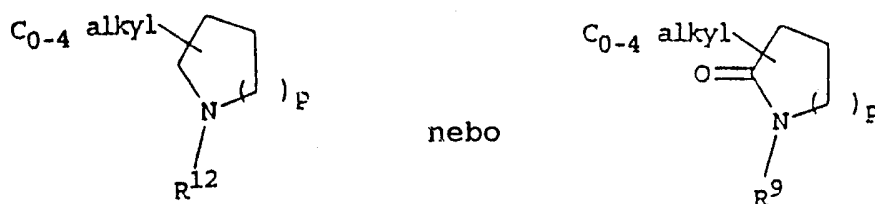
X znamená skupinu NR^9 , atom kyslíku nebo atom síry,

Y znamená atom dusíku nebo skupinu CR^4 ,

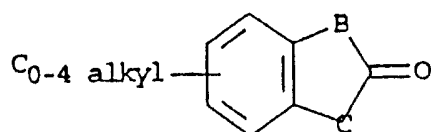
R^4 a R^5 znamenají stejnou nebo různou skupinu, při čemž znamenají R^9 , COR^{13} , skupinu alkyl(s 1 až 3 atomy uhlíku)- R^{13} nebo skupinu alkyl(s 1 až 3 atomy uhlíku)- COR^{13} ,

R^7 znamená atom vodíku nebo skupinu $R^{10}CO$, v níž R^{10} znamená alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, alkyl(s 1 až 4 atomy uhlíku)arylovou skupinu, alkyl(s 1 až 4 atomy uhlíku)heteroarylovou skupinu, cykloalkyl(se 3 až 6 atomy uhlíku)ovou skupinu, alkyl(s 1 až 4 atomy uhlíku)cykloalkyl(se 3 až 6 atomy uhlíku)ovou skupinu, alkenylovou skupinu se 2 až 6 atomy uhlíku, alkenyl(se 2 až 6 atomy uhlíku)arylovou skupinu, arylovou skupinu nebo heteroarylovou skupinu,

R^8 znamená arylovou skupinu (popřípadě substituovanou skupinou R^{11}), heteroarylovou skupinu (popřípadě substituovanou skupinou R^{11}), alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku (popřípadě substituovanou skupinou R^{11}), alkyl(s 1 až 4 atomy uhlíku)arylovou skupinu (popřípadě substituovanou skupinou R^{11}), alkyl(s 1 až 4 atomy uhlíku)heteroarylovou skupinu (popřípadě substituovanou skupinou R^{11}), cykloalkylovou skupinu se 3 až 6 atomy uhlíku (popřípadě substituovanou skupinou R^{11}), cykloalkenylovou skupinu se 3 až 6 atomy uhlíku (popřípadě substituovanou skupinou R^{11}), alkyl(s 1 až 4 atomy uhlíku)-cykloalkyl(se 3 až 6 atomy uhlíku)ovou skupinu (popřípadě substituovanou skupinou R^{11}), skupinu obecného vzorce



v nichž p znamená číslo 1 až 2, nebo skupinu obecného vzorce



v němž B a C jsou nezávisle na sobě vybrány z atomu kyslíku, atomu síry, skupiny $C(R^9)_2$ a skupiny NR^9 ,

R^6 znamená skupinu AR^9 , cykloalkylovou se 3 až 6 atomy uhlíku, cykloalkenylovou se 3 až 6 atomy uhlíku, alkylovou s 1 až 6 atomy uhlíku, alkoxy(s 1 až 6 atomy uhlíku)arylovou, benzyloxyarylovou, arylovou, heteroarylovou, alkyl(s 1 až 3 atomy uhlíku)heteroarylovou, alkyl(s 1 až 3 atomy uhlíku)arylovou, skupinu alkyl(s 1 až 6 atomy uhlíku)- $COOR^9$, amidinovou skupinu, guanidinovou skupinu, skupinu alkyl(s 1 až 6 atomy uhlíku)- NHR^{10} , $CONHR^{10}$, $NHCO_2R^{10}$, $NHSO_2R^{10}$ nebo $NHCOR^{10}$,

R^{11} znamená skupinu SO_2R^{13} , SR^7 , CO_2R^9 , COR^9 , $CON(R^9)_2$ (kde R^9 znamenají stejné nebo různé skupiny), $N(R^9)_2$ (kde R^9 znamenají stejné nebo různé skupiny), NR^9R^{12} , OR^9 , ftalimidovou nebo sukcinimidovou skupinu,

R^{12} znamená atom vodíku nebo skupinu COR^9 , CO_2R^9 (kde R^9 neznámá atom vodíku), $CONHR^9$ nebo SO_2R^9 (kde R^9 neznámá atom vodíku) a

R^{13} znamená skupinu $N(R^9)_2$ (v níž R^9 znamenají stejnou nebo různou skupinu), alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, arylovou, heteroarylovou, alkyl(s 1 až 4 atomy uhlíku)arylovou nebo alkyl(s 1 až 4 atomy uhlíku)heteroarylovou skupinu,

a jejich soli, solváty a hydráty.

Je třeba vzít v úvahu, že sloučeniny podle vynálezu mohou obsahovat jeden nebo více asymetricky substituovaných atomů uhlíku, například těch, které jsou v obecném vzorci I označeny

hvězdičkou. Přítomnost jendoho nebo více těchto asymetrických center ve sloučenině obecného vzorce I poskytuje stereoisomery. V každém případě je tento vynález chápán tak, že se týká všech těchto stereoisomerů, včetně enantiomerů a diastereomerů, a jejich směsí včetně jejich racemických směsí.

V obecných vzorcích se vlnovka ~ používá k označení potenciálního asymetrického centra, které představuje možnost R- a S-konfigurací, označení < a tečkovaná čára znamenají jedinou konfiguraci na asymetrickém centru.

Pojem "alkyl s 1 až 6 atomy uhlíku" samotný nebo v kombinaci, jak se používá v tomto spisu, znamená přímou nebo rozvětvenou alkylovou skupinu s jedním až šesti atomy uhlíku, která zahrnuje například methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, terc.butyl, pentyl, hexyl a podobné skupiny.

Pojem "alkyl s 1 až 4 atomy uhlíku" znamená přímou nebo rozvětvenou alkylovou skupinu s jedním až čtyřmi atomy uhlíku, která zahrnuje například methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, terc.butyl a podobné skupiny.

Pojem "alkenyl se 2 až 6 atomy uhlíku" znamená přímou nebo rozvětvenou alkylovou skupinu se dvěma až šesti atomy uhlíku a s jednou dvojnou vazbou se stereochemií E nebo Z. Tento pojem zahrnuje například vinyl, 1-propenyl, 1- a 2-butenyl, 2-methyl-2-propenyl atd.

Pojem "cykloalkyl(se 3 až 6 atomy uhlíku)" znamená nasycenou alicyklickou skupinu se 3 až 6 atomy uhlíku a zahrnuje například cyklopropyl, cyklobutyl, cyklopentyl, cyklohexyl a podobné skupiny.

Pojem "cykloalkenyl(se 3 až 6 atomy uhlíku)" znamená alicyklickou skupinu se 3 až 6 atomy uhlíku a s jednou dvojnou vazbou. Tento pojem zahrnuje například cyklopentenyl nebo cyklohexenyl.

Pojem "aryl" znamená popřípadě substituovanou fenylovou nebo naftylovou skupinu se substituentem (substituenty) vybraným(i) například z atomu halogenu, trifluormethylu, alkylu s 1 až 6 atomy uhlíku, alkoxykupiny, fenylu apod.

Pojem "atom halogenu" znamená atom fluoru, chloru, bromu nebo jodu.

Pojem "heteroaryl" znamená aromatické kruhové systémy s pěti až deseti atomy uhlíku, z nichž alespoň jeden je vybrán ze skupiny sestávající z atomu kyslíku, dusíku nebo síry a zahrnuje například furanyl, thiofenyl, pyridyl, indolyl, chinolyl apod.

Pojmy "chráněná aminová skupina" a "chráněná karboxyskupina" znamenají aminovou a karboxyskupinu, které jsou chráněny způsobem, který je známý odborníkům z oblasti techniky. Například aminová skupina může být chráněna benzyloxykarbonylovou, terc.butoxykarbonylovou, acetylovou nebo podobnými skupinami, nebo ve formě ftalimidové nebo podobných skupin. Karboxyskupina může být chráněna ve formě snadno odštěpitelného esteru, jako je methyl, ethyl, benzyl nebo terc.butylester.

Pojem "alkoxykupina" znamená alkoxykupinu s přímým nebo rozvětveným řetězcem s maximálně šesti atomy uhlíku, jako je methoxy, ethoxy, propoxy, isopropoxy, butoxy, terc.butoxy a podobná skupina.

Pojem "alkyl s 0 až 4 atomy uhlíku" znamená přímou nebo rozvětvenou alkylovou skupinu se žádným až čtyřmi atomy uhlíku, která zahrnuje například methyl, ethyl, propyl, isopropyl a podobné skupiny.

Mezi soli sloučenin obecného vzorce I patří farmaceuticky přijatelné soli, například adiční soli s kyselinami odvozené od anorganických a organických kyselin, jako jsou hydrochloridy, hydrobromidy, p-toluensulfonáty, fosfonáty, sulfáty, chlo-

ristany, acetáty, trifluoracetáty, propionáty, citráty, malonáty, sukcináty, laktáty, oxaláty, vínany a benzoáty.

Soli mohou být tvořeny také bázemi. Mezi tyto soli patří soli odvozené od anorganických a organickýchází, například soli alkalických kovů, jako jsou hořečnaté nebo vápenaté soli, a soli organických aminů, jako jsou soli morfolinu, piperidinu, dimethylaminu nebo diethylaminu.

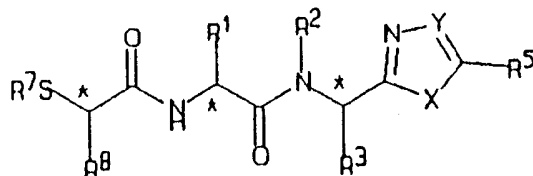
Jestliže "chráněná karboxyskupina" ve sloučeninách podle vynálezu znamená esterifikovanou karboxylovou skupinu, může znamenat metabolicky labilní ester obecného vzorce CO_2Z , v němž Z může znamenat ethylovou, benzylovou, fenethylovou, fenylpropylovou, α - nebo β -naftylovou, 2,4-dimethylfenylovou, 4-terc. butylfenylovou, 2,2,2-trifluorethylovou, 1-(benzyloxy)benzylovou, 1-(benzyloxy)ethylovou, 2-methyl-1-propionyloxypropylovou, 2,4,6-trimethylbenzyloxymethylovou nebo pivaloyloxymethylovou skupinu.

Sloučeniny obecného vzorce I se mohou připravovat jakýmkoliv vhodným způsobem známým z oblasti techniky a/nebo následujícími postupy. Je třeba si uvědomit, že v případě, kdy je vyžadován příslušný stereoisomer obecného vzorce I, může být použit zde popsany syntetický postup s příslušným homochirálním výchozím materiálem a/nebo může být směs isomerů rozštěpena konvenčními způsoby dělení (např. HPLC).

Sloučeniny podle vynálezu se mohou vyrábět následujícím způsobem. Při popisu a v dále uvedených vzorcích skupiny $\text{R}^1, \text{R}^2, \text{R}^3, \text{R}^4, \text{R}^5, \text{R}^6, \text{R}^7, \text{R}^8, \text{R}^9, \text{R}^{10}, \text{R}^{11}, \text{R}^{12}, \text{R}^{13}, \text{A}, \text{B}, \text{C}, \text{X}, \text{Y}$ a Z znamenají jak shora uvedeno až na ty případy, kdy je uvedeno jinak. Je třeba vzít v úvahu, že může být potřeba, aby funkční skupiny, jako je aminová, hydroxylová nebo karboxylová skupina, které jsou přítomny v různých níže popsanych sloučeninách a které je žádoucí zachovat, byly před počátkem jakékoliv reakce v chráněné formě. V těchto případech může být odstranění chránící skupiny posledním stupněm příslušné reakce. Vhodné chrání-

cí skupiny pro tyto funkce budou zřejmě odborníkům z oblasti techniky. Pro specifické podrobnosti viz "Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley Interscience, T.W.Greene, PGM Wuts.

Způsob výroby sloučenin obecného vzorce I zahrnuje odstranění chránících skupin (například hydrolýzou) ze sloučeniny obecného vzorce II

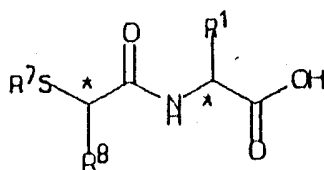


(II),

v němž R^7 znamená vhodnou chránicí skupinu (např. terc.butyl, trityl, benzoyl nebo acetát).

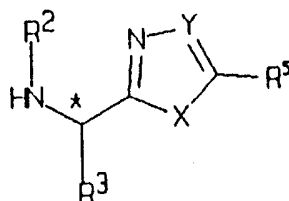
Je třeba vzít v úvahu, že v případě, kdy je vyžadován příslušný stereoisomer obecného vzorce I, lze ho získat konvenčními způsoby štěpení, jako je vysokoúčinná kapalinová chromatografie. Jestliže je to žádoucí, mohou se však v kondenzační reakci pro získání příslušného stereoisomeru obecného vzorce I použít homochirální výchozí materiály. Příkladem je následující příprava.

Sloučeniny obecného vzorce II se mohou vyrábět kondenzací kyseliny obecného vzorce III



(III),

v němž R^1 , R^7 a R^8 znamenají jak shora uvedeno, nebo jejího aktivního derivátu, s aminem obecného vzorce IV



(IV),

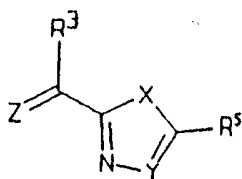
v němž R^2 , R^3 , R^5 , X a Y znamenají jak shora uvedeno.

Mezi aktivní deriváty kyselin obecného vzorce III patří například anhydridy kyselin nebo halogenidy kyselin, jako jsou chloridy kyselin.

Kondenzační reakce se mohou provádět použitím standardních podmínek pro aminační reakce tohoto typu. Reakce může tedy probíhat v rozpouštědle, například inertním organickém rozpouštědle, jako je ether, například cyklický ether, jako je tetrahydrofuran, amidu, například substituovaném amidu, jako je dimethylformamid, nebo halogenovaném uhlovodíku, jako je dichlormethan, za nízké teploty, např. při $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$, až za teploty místnosti, jako je $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ až $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, popřípadě v přítomnosti báze, např. organické báze, jako je amin, např. triethylamin nebo cyklický amin, jako je N-methylmorfolin. Jestliže se použije kyselina obecného vzorce III, reakce se může dále provádět v přítomnosti kondenzačního činidla, například diimidu, jako je N,N'-dicyklohexylkarbodiimid, s výhodou v přítomnosti triazolu, jako je 1-hydroxybenzotriazol. Kyselina může být zreagována také s chlormravenčanem, například ethylesterem chlormravenčí kyseliny, před reakcí s aminem obecného vzorce IV.

Kyselina obecného vzorce III se může vyrábět jakýmkoliv způsobem popsaným ve spisu WO A 9 611 209.

Aminy obecného vzorce IV se mohou vyrábět z ketonu obecného vzorce V reduktivní aminací nebo redukcí odpovídajícího oximu obecného vzorce VI, který se může snadno připravit ze sloučeniny obecného vzorce V.



$Z=O$ (V)

$Z=NOH$ (VI)

V, $Z=O$

VI, $Z=NOH$

Ketony obecného vzorce V se mohou vyrábět z vhodně chráněného (například SEM) imidazolu lithiací při -78°C butyllithiem následovanou reakcí s derivátem kyseliny obecného vzorce VII



Mezi vhodné deriváty kyselin obecného vzorce VII patří anhydridy kyselin, amidy kyselin nebo halogenidy kyselin, jako jsou chloridy kyselin.

Kyseliny obecného vzorce VII se mohou snadno získávat z komerčně dostupných výchozích materiálů použitím způsobů známých odborníkům z oblasti techniky. Některé jejich amidy jsou také dostupné komerčně.

Tento vynález zahrnuje také heterocykly, jako jsou imidazoly, oxazoly, thiazoly a triazoly, které se mohou vyrábět standardními cyklizačními reakcemi vhodně chráněného aldehydu obecného vzorce VIII



s následujícím odstraněním jakýchkoliv chránících skupin. Například imidazoly se mohou vyrábět reakcí vhodně chráněného aldehydu obecného vzorce VIII s amoniakem a glyoxalem. Aldehydy obecného vzorce VIII se mohou vyrábět redukcí odpovídajících vhodně chráněných α -aminokyselin.

Tyto aminokyseliny a jejich deriváty se mohou získávat v opticky čisté nebo v racemické formě. V homochirální formě poskytují asymetrické stavební bloky pro enantiospecifické syntézy sloučenin obecného vzorce I. Mnohé z těchto derivátů lze snadno získat z komerčně dostupných výchozích materiálů způsoby známými odborníkům z oblasti techniky. Viz "The Practice of Peptide Synthesis" M. Bodanszka a spol., Springer Verlag, New York 1984, a spis WO A 9 221 360.

Sloučeniny obecného vzorce I se mohou vyrábět také vzájemnou přeměnou jiných sloučenin obecného vzorce I. Tak například sloučenina obecného vzorce I, v němž R^1 znamená alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, se může vyrábět hydrogenací (použitím paladia na uhlí ve vhodném rozpouštědle, jako je alkohol, např. ethanol) sloučeniny obecného vzorce I, v němž R^1 znamená alkenylovou skupinu se 2 až 6 atomy uhlíku. V dalším příkladu se sloučenina obecného vzorce I, v němž R^7 znamená skupinu $R^{10}CO$, může vyrábět acylací (vhodným chloridem kyseliny obecného vzorce $R^{10}COCl$ v přítomnosti báze, jako je triethylamin, ve vhodném rozpouštědle, jako je chlorované rozpouštědlo, např. dichlormethan) sloučeniny obecného vzorce I, v němž R^7 znamená atom vodíku.

Jakékoliv směsi konečných produktů nebo meziproduktů lze rozdělit, na základě fyzikálně-chemických rozdílů jednotlivých složek, známým způsobem na čisté konečné produkty nebo meziprodukty, například chromatografií, destilací, frakční krystalizací nebo tvorbou soli, jestliže je to za daných okolností vhodné nebo možné.

Sloučeniny podle tohoto vynálezu vykazují in vitro aktivity inhibující stromelysin, kolagenázu a želatinázu. Sloučeniny podle vynálezu vykazují také in vitro inhibici uvolňování $TNF\alpha$. Aktivita a selektivita těchto sloučenin může být stanovována testem inhibice příslušného enzymu, například tak, jak je to popsáno v příkladech A až H spisu WO A 9 611 209. Níže je uveden fluometrický test.

Tento vynález se také týká způsobu léčení pacientů (včetně člověka a/nebo zvířat savců z mléčářského, masného nebo kožedělného průmyslu nebo chovaných jako domácí zvířata), kteří trpí poruchami nebo onemocněními, které lze připsat matrix metalloproteinázám a/nebo $TNF\alpha$, jak shora popsáno, a podrobněji, způsobu léčení, který zahrnuje podávání inhibitorů matrix metalloproteináz obecného vzorce I jako účinných složek.

Sloučeniny obecného vzorce I podle tohoto vynálezu se tedy mohou používat, mimo jiné, při léčení osteoartritidy a revmatické artritidy a při onemocněních a indikacích jako důsledku nadexprese těchto matrix metalloproteináz, jak k tomu dochází v některých metastázových nádorových buněčných liniích.

Jak shora uvedeno, jsou sloučeniny obecného vzorce I užitečné v humánní nebo veterinární medicíně, jelikož jsou účinné jako inhibitory $\text{TNF}\alpha$ a MMP. V jiném aspektu se tedy tento vynález týká:

- způsobu ovlivnění (čímž se rozumí léčení nebo předcházení) onemocnění nebo stavů zprostředkovaných $\text{TNF}\alpha$ a/nebo MMP u savců, zvláště u lidí, vyznačujícího se tím, že se savci podává účinné množství sloučeniny shora uvedeného obecného vzorce I nebo její farmaceuticky přijatelné soli,

- sloučeniny obecného vzorce I pro použití v humánní nebo veterinární medicíně, zvláště pro ovlivnění (čímž se rozumí léčení nebo předcházení) onemocnění nebo stavů vyvolaných $\text{TNF}\alpha$ a/nebo MMP, a

- použití sloučeniny obecného vzorce I při přípravě činidla pro ovlivnění (čímž se rozumí léčení nebo předcházení) onemocnění nebo stavů zprostředkovaných $\text{TNF}\alpha$ a/nebo MMP.

Mezi onemocnění nebo stavy, na které je shora odkazováno, patří zánětlivá onemocnění, autoimunitní onemocnění rakovinou, kardiovaskulární choroby, onemocnění zahrnující destrukci tkání, jako je revmatická artritida, osteoartritida, osteoporóza, neurodegenerace, Alzheimerova choroba, ateroskleróza, městnavé selhání srdce, mrtvice, vaskulitida, Crohnova nemoc, vředovitá kolitida, skleróza multiplex, periodontitida, zánět dásní a ta onemocnění a stavy, mezi něž patří destrukce tkání, jako je resorpcí kostí, hemoragie, koagulace, akutní fázová odpověď, kachexie a anorexie, akutní infekce, HIV infekce, horečka, šokové stavy, reakce mezi štěpem a hostitelem, dermatologické stavy, hojení chirurgických ran, psoriáza, atopická dermatitida, epidermolytická bulóza, růst nádorů, angiogeneze a invaze sekundárních metastáz, oftalmologická onemocnění, retinopatie, ulce-

race rohovky, reperfuční poranění, migréna, meningitida, astma, rhinitida, alergická konjunktivitida, ekzém a anafylaxie.

U léčení revmatické artritidy, osteoartritidy a u onemocnění a indikací pocházejících z nadexprese matrix metalloendoproteináz, jak se nacházejí v některých metastatických nádorových buněčných liniích, nebo u jiných onemocnění zprostředkovaných matrix metalloproteinázami nebo zvýšenou produkcí $\text{TNF}\alpha$, se sloučeniny obecného vzorce I mohou podávat orálně, místně, parenterálně, inhalačním sprejem nebo rektálně v prostředcích s dávkovými jednotkami obsahujícími netoxické farmaceuticky přijatelné nosiče, adjuvans a ředidla. Pojem parenterální, jak je zde používán, zahrnuje subkutánní injekce, intravenózní, intramuskulární a intrasternální injekce nebo infuzní techniky. Vedle léčení teplokrevných zvířat, jako jsou myši, krysy, koně, dobytek, ovce, psi, kočky atd., jsou sloučeniny podle vynálezu účinné při léčení lidí.

Farmaceutický prostředek obsahující účinnou složku může existovat ve formě vhodné pro orální podávání, například jako tablety, pilulky, pastilky, vodné nebo olejové suspenze, dispergovatelné prášky nebo granule, emulze, tvrdé nebo měkké tobolky, sirupy nebo elixíry. Prostředky pro orální použití se mohou připravovat podle kteréhokoliv způsobu známého v oblasti techniky pro výrobu farmaceutických prostředků a tyto prostředky mohou obsahovat jedno nebo více činidel vybraných ze skupiny sestávající ze sladících činidel, ochucovacích činidel, barvicích činidel a ochranných činidel, aby se získaly farmaceuticky elegantní a chutné přípravky. Tablety obsahují účinnou složku ve směsi s netoxickými farmaceuticky přijatelnými excipienty, které jsou vhodné pro výrobu tablet. Těmito excipienty mohou být například inertní ředidla, jako je uhličitán vápenatý, uhličitán sodný, laktosa, fosforečnan vápenatý nebo fosforečnan sodný, granulační a dezintegrační činidla, například kukuřičný škrob nebo kyselina alginová, vazebná činidla, například škrob, želatina nebo arabská guma, a mazací činidla, například stearát hořečnatý, kyselina stearová nebo talek. Tablety mohou být ne-

potažené nebo mohou být potaženy známými způsoby, aby se zpozdila dezintegrace a absorpce v gastrointestinálním traktu a tak se dosáhlo trvalého účinku po delší dobu. Například pro časové zpoždění se může používat takový materiál, jako je glycerylmonostearát nebo glyceryldistearát. Tablety mohou být potaženy také způsoby popsány v USA patentech 4 256 108, 4 166 452 a 4 265 874 za vzniku osmotických terapeutických tablet pro kontrolované uvolňování.

Prostředky pro orální použití mohou být přítomny také jako tobolky z tvrdé želatiny, v nichž je účinná složka smíchána s inertním pevným ředidlem, například uhličitanem vápenatým, fosforečnanem vápenatým nebo kaolinem, nebo jako tobolky z měkké želatiny, v nichž je účinná složka smíchána s vodným nebo olejovým prostředím, například podzemnicovým olejem, kapalným parafinem nebo olivovým olejem.

Vodné suspenze obsahují účinné materiály ve směsi s excipienty vhodnými pro výrobu vodných suspenzí. Těmito excipienty jsou suspenzační činidla, například sodná sůl karboxymethylcelulózy, methylcelulóza, hydroxypropylmethylcelulóza, alginát sodný, polyvinylpyrrolidon, tragantová a arabská guma, dispergačními nebo smáčecími činidly mohou být přirozeně se vyskytující fosfatidy, například lecithin, kondenzační produkty ethylenoxidu s mastnými kyselinami, například polyoxyethylenstearát, kondenzační produkty ethylenoxidu s alifatickými alkoholy s dlouhým řetězcem, například heptadekaethylenoxycetanol, nebo kondenzační produkty ethylenoxidu s částečnými estery odvozenými od mastných kyselin a hexitolu, jako je polyoxyethylen s částečnými estery odvozenými od mastných kyselin a anhydridů hexitolu, například monooleát polyoxyethylensorbitanu. Vodné suspenze mohou obsahovat také jedno nebo více ochranných činidel, například ethyl- nebo propyl-p-hydroxybenzoát, jedno nebo více barvicích činidel, jedno nebo více ochucovacích činidel a jedno nebo více sladících činidel, jako je sacharosa nebo sacharin.

Olejové suspenze se mohou připravovat suspendováním účinné složky v rostlinném oleji, například arašidovém oleji, olivovém oleji, sezamovém oleji nebo kokosovém oleji, nebo v minerálním oleji, jako je kapalný parafin. Olejové suspenze mohou obsahovat zahušťovací činidlo, například včelí vosk, tvrdý parafin nebo cetylalkohol. Pro získání příjemné chuti orálního přípravku se mohou přidávat sladící činidla, jako jsou shora uvedená činidla, a ochucovací činidla. Tyto prostředky mohou být chráněny přidáním anti-oxidačního činidla, jako je kyselina askorbová.

Dispergovatelné prášky a granule vhodné pro přípravu vodné suspenze přidáním vody poskytují účinnou složku ve směsi s dispergačním nebo smáčecím činidlem, suspendačním činidlem a jedním nebo více ochrannými činidly. Mohou být přítomna také vhodná dispergační nebo smáčecí a suspendační činidla, například sladící, ochucovací a barvicí činidla.

Farmaceutické prostředky podle vynálezu mohou existovat také ve formě emulzí oleje ve vodě. Olejovou fází může být rostlinný olej, například olivový olej nebo arašidový olej, nebo minerální olej, například kapalný parafin, nebo jejich směsi. Vhodnými emulgačními činidly mohou být přirozeně se vyskytující gumy, například arabská nebo tragantová guma, přirozeně se vyskytující fosfatidy, například sojová zrna, lecithin, a estery nebo částečné estery odvozené od mastných kyselin a anhydridů hexitolu, například monooleát sorbitanu a kondenzační produkty uvedených částečných esterů s ethylenoxidem, například monooleát polyoxyethylensorbitanu. Emulze mohou obsahovat také sladící a ochucovací činidla.

Sirupy a elixíry se mohou připravovat spolu se sladícími činidly, například glycerolem, propylenglykolem, sorbitolem nebo sacharosou. Tyto prostředky mohou obsahovat také uklidňující činidlo, ochranné, ochucovací a barvicí činidlo. Farmaceutické prostředky mohou existovat ve formě sterilních vodných nebo olejovitých suspenzí pro injekční podávání. Tato suspenze se má-

že připravovat podle známých postupů z oblasti techniky použitím těch vhodných dispergačních nebo smáčecích a suspenzačních činidel, která byla shora uvedena. Sterilní injektovatelný přípravek může existovat také jako sterilní roztok nebo suspenze pro injekci v netoxickém parenterálně přijatelném ředidle nebo rozpouštědle, například jako roztok v 1,3-butandiolu. Mezi přijatelná ředidla a rozpouštědla, která se mohou používat, patří voda, Ringerův roztok a isotonický roztok chloridu sodného. Jako rozpouštědlo nebo jako suspenzační prostředí se konvenčně používají také sterilní netuhnoucí oleje. Pro tento účel se může použít jakýkoliv nedráždivý netuhnoucí olej zahrnující syntetické mono- nebo di-glyceridy. Při přípravě prostředků ve formě injekcí se používají také mastné kyseliny, jako je kyselina olejová.

Sloučeniny obecného vzorce I se mohou podávat také ve formě čípků pro rektální podávání léčivé látky. Tyto prostředky se mohou vyrábět smícháním léčivé látky s vhodným nedráždivým excipientem, který je za obvyklých teplot pevný, ale který je kapalný za rektální teploty a bude tedy v konečníku tát a tak uvolňovat léčivou látku. Takovým materiálem je kakaové máslo nebo polyethylenglykoly.

Pro místní použití se používají krémy, masti, želé, roztoky nebo suspenze atd. obsahující sloučeniny obecného vzorce I (Pro účely této přihlášky místní aplikace zahrnuje také ústní vody a kloktadla.).

Pro léčení shora uvedených stavů jsou užitečné dávky v rozmezí řádově od 0,05 do 140 mg na kg tělesné hmotnosti za den (2,5 mg až 7 g na pacienta za den). Například zánět lze účinně léčit podáním od 0,01 do 50 mg sloučeniny na kg tělesné hmotnosti za den (0,5 až 3,5 g na pacienta za den).

Množství účinné složky, které se může kombinovat s nosnými materiály při výrobě jednotlivé dávkové formy, bude záviset na léčeném hostiteli a na příslušném způsobu podávání. Například

přípravek pro orální podávání lidem může obsahovat od 5 do 95 % hmotn. účinné složky z celkové hmotnosti prostředku. Jednotkové dávkové formy budou obvykle obsahovat od 1 do 500 mg účinné složky.

Tomu je však třeba rozumět tak, že specifické dávkové množství pro příslušného pacienta bude záviset na různých faktorech, včetně účinnosti specifické použité sloučeniny, na věku, na tělesné hmotnosti, na obecném zdraví, na pohlaví, na době podávání vzhledem ke stravě, na způsobu podávání, na rychlosti vylučování, na kombinaci léčiv a na intenzitě příslušného onemocnění, které se léčí.

Následující neomezující příklady jsou zamýšleny jako ilustrace přípravy sloučenin obecného vzorce I a jako takové nejsou zmažšleny jako omezení tohoto vynálezu, jak je zde dále uvedeno v připojených nárocích.

V příkladech jsou používány následující zkratky:

RT znamená teplota místnosti,

EDC znamená hydrochlorid 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethyl-karbodiimidu,

TNF α znamená nádorový nekrotický faktor α ,

LPS znamená lipopolysacharid a

ELISA znamená test enzymem navázaným na imunosorbent.

Příklady provedení vynálezu

Meziprodukt 1

(S)-N-(Benzyloxykarbonyl)leucinal

Roztok methylesteru (S)-N-(benzyloxykarbonylleucinu (8,22 g, 29,4 mmolu) v suchém toluenu (80 ml) se nechá po kapkách zreagovat při -78°C s roztokem di-isobutylaluminiumhydridu (1,0 M, 74 ml, 74 mmol α) v toluenu. Roztok se míchá 30 minut při -78°C před tím, než se přidá methanol (3,5 ml), aby se

reakce zastavila. Studená směs se pak přidá k míchanému vodnému roztoku hydrogenvinanu draselného (200 ml). Po další 1 h míchání se směs extrahuje etherem (3 x 200 ml), spojené extrakty se promyjí solným roztokem (400 ml), vysuší (MgSO_4) a odpaří se ve vakuu. Získá se tak titulní sloučenina jako bezbarvý olej. Tento materiál se bez dalšího čištění použije v následujícím stupni.

Podobně byl připraven meziprodukt 2.

Meziprodukt 2

(S)-N-(Benzyloxykarbonyl)fenylalaninal

(S)-N-(Benzyloxykarbonyl)fenylalaninal byl připraven z methylesteru (S)-N-(benzyloxykarbonyl)fenylalaninu (8,0 g) jako bezbarvý olej, který byl v dalším stupni použit bez čištění.

Meziprodukt 3

2-[1-(N-Benzyloxykarbonylamino)-3-methyl]butylimidazol

Roztok meziproduktu 1 (29,4 mmolu) a dihydrátu trimeru glyoxalu (10,36 g, 49,3 mmolu) v methanolu (150 ml) se nechá zreagovat s plynným amoniakem při -15°C . Po 4 h míchání při -10°C se směs nechá ohřát na RT a míchá se přes noc. Oranžová suspenze se vlije do vody (400 ml) a výsledná bílá pevná látka se odstraní filtrací. Získá se tak titulní sloučenina (3,96 g, 47 %) jako bílá pevná látka. TLC: R_f 0,42 (5 % $\text{MeOH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$).

Meziprodukt 4

2-[1-(N-Benzyloxykarbonylamino)-"-fenyl]ethylimidazol

Meziprodukt 4 se vyrobí podobným způsobem z meziproduktu 2 jako téměř bílá pevná látka (4,1 g, 32 %). TLC: R_f 0,38 (5 % $\text{MeOH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$).

Meziprodukt 5

(S)-2-[1-(N-Benzoyloxykarbonylamino)-3-methyl]-1-(1,1-dimethylethoxykarbonyl)butylimidazol

Roztok di-terc.butyldikarbonátu (5,47 g, 25 mmol $\bar{a}$) v dimethylformamidu (80 ml) se přikape k míchanému roztoku meziproduktu 5 (7,2 g, 25 mmol $\bar{a}$), diisopropylethylaminu (4,35 ml, 25 mmol $\bar{a}$) a dimethylaminopyridinu (92 mg, 0,75 mmol $\bar{u}$) v dimethylformamidu (140 ml) při 3 °C. Směs se pomalu nechá ohřát na RT a míchá se přes noc. Hnědá směs se vlije do vody a extrahuje se třikrát ethylacetátem. Spojené organické fáze se třikrát promyjí vodou a jednou solným roztokem, vysuší nad síranem hořečnatým a odpaří se ve vakuu. Získá se tak surový produkt jako hnědý olej. Vyčištěním bleskovou chromatografií na koloně silikagelu, eluce 20 % ethylacetátu v hexanu se získá žádaný produkt jako světle žlutý olej. Tento olej se rozpustí v dichlormethanu (12 ml) a přidá se pentan (50 ml). Směs se na 2 h umístí do vymrazovače, potom se sraženina odfiltruje a filtrát se odpaří ve vakuu. Získá se tak titulní sloučenina (7,70 g, 20 mmol $\bar{a}$, 79 % hmotn.) jako světle žlutý olej. TLC R_f 0,20 (33 % ethylacetátu v hexanu), ee test: 97,8 %.

Meziprodukt 6

(S)-2-[1-(N-Benzoyloxykarbonylamino)-2-fenyl]-1-(1,1-dimethylethoxykarbonyl)ethylimidazol

Podobným způsobem se z meziproduktu 4 připraví titulní sloučenina jako světle žlutý olej (3,52 g, 53 % hmotn.). TLC R_f 0,16 (33 % ethylacetátu v hexanu), ee test: 97,5 %.

Meziprodukt 7

(S)-2-[1-(N-Benzoyloxykarbonylamino)-3-methyl]butylimidazol

K míchanému roztoku meziproduktu 5 (7,5 g, 19,3 mmol $\bar{u}$) v

dichlormethanu se při 3 °C přidá kyselina trifuoroctová (15,3 ml, 198 mmol $\bar{a}$). Směs se pamalu nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se přes noc. Směs se odpaří ve vakuu dosucha a potom se dvakrát zahustí ze směsi heptanu s dichlormethanem. Získá se titulní sloučenina (5,53 g, 100 % hmotn.) jako bílá pěna. TLC R_f 0,26 (5 % methanolu v dichlormethanu).

Meziprodukt 8

(S)-2-[1-(N-Benzoyloxykarbonylamino)-2-fenyl]ethylimidazol

Podobným způsobem se z meziproduktu 6 připraví titulní sloučenina jako světle žlutá pěna (2,5 g, 100 % hmotn.). TLC R_f 0,32 (5 % methanolu v dichlormethanu).

Meziprodukt 9

(S)-2-(1-Amino-3-methyl)butylimidazol

Roztok meziproduktu 7 se hydrogenuje za teploty místnosti a atmosferického tlaku nad 10% (hmotn.) paladiem na uhlí (50% hmotn.) v ethanolu přes noc. Katalyzátor se odfiltruje a filtrát se odpaří. Získá se surová titulní sloučenina jako bezbarvá pěna, která se přímo použije v následujícím stupni.

Meziprodukt 10

(S)-2-[1-Amino-3-fenyl]ethylimidazol

Podobným způsobem se z meziproduktu 8 připraví titulní sloučenina jako světle žlutá pěna, která se použije přímo v následujícím stupni bez dalšího čištění.

Meziprodukt 11

Ethylester 5-sukcinimidopentanové kyseliny

Ke směsi sukcinimidu (248 g, 2,5 molu), uhličitanu draselného (346 g, 2,5 mmolu) a ethylesteru 5-brompentanové kyseliny (400 g, 1,9 molu) se přidá dimethylformid (800 ml). Směs se zahřívá 3 h na 110 až 120 °C před tím než se ochladí na RT. Přidá se voda (2,5 l) a směs se extrahuje methyl-terc.butyl-etherem (4 x 1 l). Spojené extrakty se promyjí vodou (400 ml), vysuší (MgSO_4) a odpaří se ve vakuu. Získá se tak titulní sloučenina (310 g, 71 % hmotn.) jako světle žlutý olej. TLC R_f 0,3 (methyl-terc.butylether).

Meziprodukt 12

5-Sukcinimidopentanová kyselina

Roztok meziproduktu 11 (130 mg, 572 mmolu) v dihydrogen-orthofosforečnanu draselném (50 mM, 650 ml) se nechá zreagovat s Novozymem 435 (2 g). Přidá se NaOH (6N), aby se pH udrželo na hodnotě 7. Po 3 h se enzym odstraní filtrací a promyje se malým množstvím vody. Filtrát se okyselí na pH 1 přidáním 6N kyseliny chlorovodíkové, roztok se zahustí ve vakuu na 100 ml a potom se extrahuje dichlormethanem (3 x 250 ml). Spojené extrakty se promyjí solným roztokem (100 ml), vysuší (MgSO_4) a odpaří ve vakuu. Získá se tak titulní sloučenina (99 g, 81 % hmotn.) jako bílá pevná látka. TLC R_f 0,2 (50 % ethylacetátu s hexanem).

Meziprodukt 13

(R,S)-2-Brom-5-sukcinimidopentanová kyselina

Roztok meziproduktu 12 (60 g, 300 mmolů) v 1,2-dichlorethanu (120 ml) se nechá při 80 °C po kapkách zreagovat s thionylchloridem (26,6 ml, 370 mmolů). Tato směs se míchá 30 minut

před tím než se přidá chlorid fosforitý (2,6 ml, 30 mmol $\bar{a}$). Potom se během 20 minut přidá po kapkách brom (18,6 ml, 360 mmol $\bar{a}$) a směs se míchá 16 h při 80 °C. Směs se ochladí na RT a přidá se voda (200 ml). V míchání se pak pokračuje 2,5 h při 50 °C. Směs se ochladí na RT, sraženina se odfiltruje a vysuší se ve vakuu. Získá se tak titulní sloučenina (82 g, 98 % hmotn.) jako světle oranžový prášek. TLC R_f 0,3 (50 % ethylacetátu v hexanu).

Meziprodukt 14

(R,S)-2-Acetylmerkaptio-5-sukcinimidopentanová kyselina

Roztok meziproduktu 13 (20 g, 72 mmol $\bar{a}$) v tetrahydrofuranu (100 ml) se nechá po částech zreagovat při 5 °C s thiooctanem draselným (8,21 g, 72 mmol $\bar{a}$). Směs se nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se 4 h. Rozpouštědlo se ve vakuu odpaří a zbytek se roztřepe mezi methyl-terc.butylether (400 ml) a vodu (40 ml). Organická fáze se oddělí, promyje se vodou (40 ml), vysuší ($MgSO_4$) a odpaří se ve vakuu. Získá se tak titulní sloučenina (14,4 g, 78 % hmotn.) jako žlutý olej. TLC R_f 0,3 (50 % ethylacetátu v hexanu).

Meziprodukt 15

(1S)-[(N-Benzoyloxykarbonyl)-L-(-S-methyl)cysteiny]amino-3-methyl-2-butyylimidazol

Roztok N-benzoyloxykarbonyl-L-(S-methyl)cysteinu (3,50 g, 14,8 mmolu) v tetrahydrofuranu (60 ml) se nechá zreagovat při 0 °C s meziproduktem 9 (2,07 g, 13,5 mmolu) a EDC (2,82 g, 14,8 mmolu). Směs se pak nechá ohřát na RT a míchá se přes noc. Směs se zahustí ve vakuu na 30 ml a přidá se 1N kyselina chlorovodíková (20 ml). Směs se pak extrahuje dichlormethanem (5 x 100 ml) a spojené extrakty se promyjí solným roztokem (100 ml), vysuší ($MgSO_4$) a odpaří se ve vakuu. Získá se tak titulní sloučenina (3,40 g, 68 %) jako bezbarvý olej. TLC R_f 0,3 (5 % metha-

nolu v dichlormethanu).

Meziprodukt 16

(1S)-[(N-Benzoyloxykarbonyl)-L-norvalinyl]amino-3-methyl-2-butyylimidazol

Podobným způsobem se z N-benzyloxykarbonyl-L-norvalinu (3,43 g, 15 mmol) a meziproduktu 9 (2,20 g, 14 mmol) připraví titulní sloučenina jako světle žlutý olej (94 % hmotn.). TLC R_f 0,4 (5 % methanolu s dichlormethanem).

Meziprodukt 17

(1S)-[L-(S-Methyl)cysteiny]amino-3-methyl-2-butyylimidazol

Roztok meziproduktu 15 (3,40 g, 9,2 mmol) v dichlormethanu (100 ml) se nechá zreagovat při 0 °C s trifluoroctovou kyselinou (11,4 ml, 14,8 mmol). Směs se zahřeje na RT a míchá se přes noc. Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu a odparek se rozpustí ve vodě (50 ml). Přidává se 1N NaOH, dokud pH roztoku nedosáhne 8. Směs se pak extrahuje dichlormethanem (3 x 100 ml), spojené extrakty se promyjí solným roztokem (100 ml), vysuší ($MgSO_4$) a odpaří se ve vakuu. Získá se tak titulní sloučenina (0,99 g, 40 % hmotn.) jako bezbarvý olej. TLC R_f 0,1 (5 % methanolu v dichlormethanu).

Meziprodukt 18

(1S)-(L-Norvalinyl)amino-3-methyl-2-butyylimidazol

Podobným způsobem se z meziproduktu 16 (5,0 g, 14 mmol) připraví titulní sloučenina jako bílá pevná látka (50 % hmotn.). TLC R_f 0,2 (5 % methanolu s dichlormethanem).

Příklad 1

(1S)-[[(2R,S)-Acetylmerkapt-5-ftalimido]-pentanoyl-L-leucyl]amino-3-methyl-2-butyylimidazol

Roztok (R,S)-2-acetylmerkapt-5-ftalimidopentanoyl-L-leucinu (meziprodukt 122 ze spisu WO A 9 611 209, 1 mmol) a meziproduktu 9 (1 mmol) v suchém tetrahydrofuranu (30 ml) se nechá zreagovat s N-hydroxybenzotriazolem (1 mmol) a EDC (1 mmol) a směs se míchá přes noc za RT. Směs se zředí ethylacetátem (100 ml) a roztok se promyje 8% (hmotn.) hydrogenuhlíčitanem sodným (50 ml), 1N kyselinou chlorovodíkovou (50 ml), vodou (50 ml) a solným roztokem (50 ml), vysuší (MgSO_4) a odpaří se ve vakuu. Získá se světle žlutá pěna. Vyčištěním bleskovou chromatografií na koloně silikagelu, eluce 2 až 3 % methanolu v dichlormethanu, se získá titulní sloučenina (43 % hmotn.) jako bezbarvá pěna. Hmotnostní spektrum: MH^+ 570; $\text{C}_{29}\text{H}_{39}\text{N}_5\text{O}_5$ (569,7).

Příklad 2

(1S)-[[(2S)-Acetylmerkapt-5-ftalimido]-pentanoyl-L-(S-methyl)-cysteiny]amino-3-methyl-2-butyylimidazol

Podobným způsobem se z (S)-2-acetylmerkapt-5-ftalimidopentanoyl-L-(S-methyl)cysteinu (spis WO A 9 611 209) a meziproduktu 9 (0,65 mmolu) vyrobí titulní sloučenina jako bezbarvá pěna (46 % hmotn.). Hmotnostní spektrum: MH^+ 574; $\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{N}_5\text{O}_5\text{S}_2$ (573,7).

Příklad 3

(1S)-[[(2S)-Acetylmerkapt-5-ftalimido]-pentanoyl-L-(S-methyl)-cysteiny]amino-2-fenyl-2-butyylimidazol

Podobným způsobem se z meziproduktu 2 a meziproduktu 12 (0,65 mmolu) vyrobí titulní sloučenina jako bezbarvá pěna (46 % hmotn.). Hmotnostní spektrum: MH^+ 608; $\text{C}_{30}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_5$ (607,8).

Příklad 4

(1S)-[[[(2S)-Acetylmerkpto-5-sukcinimido]-pentanoyl-L-(S-methyl)cysteinyl]amino-3-methyl-2-butyylimidazol

Roztok meziproductu 17 (1,61 g, 5,96 mmolu) v tetrahydrofuranu (32 ml) se nechá zreagovat za RT s meziproduktem 14 (1,62 g, 5,96 mmolu) a EDC (1,25 g, 6,55 mmolu). Směs se pak míchá přes noc. Směs se roztřepe mezi ethylacetát (100 ml) a vodu (75 ml) a organická fáze se oddělí, promyje se solným roztokem (50 ml), vysuší (MgSO_4) a odpaří se ve vakuu. Získá se žlutý olej. Vyčištěním bleskovou chromatografií na koloně silikagelu, eluce 60 % ethylacetátu v hexanu, se získá titulní sloučenina (1,60 g, 51 % hmotn.) jako bílá pěna. TLC R_f 0,3 (5 % methanolu v dichlormethanu).

Příklad 5

(1S)-[[[(2S)-Acetylmerkpto-5-sukcinimido]-pentanoyl-L-norvalinyl]amino-2-methyl-2-butyylimidazol

Podobným způsobem se z meziproductu 18 (1,76 g, 6,98 mmolu) a meziproductu 14 (1,90 g, 6,98 mmolu) vyrobí titulní sloučenina jako bílá pevná látka (45 % hmotn.). TLC R_f 0,3 (5 % methanolu v dichlormethanu).

Příklad 6

(1S)-[[[(2R,S)-Merkpto-5-ftalimido]-pentanoyl-L-leucyl]amino-3-methyl-2-butyylimidazol

Vodný roztok amoniaku (SG 0,88, 0,3 ml) se přidá k roztoku sloučeniny z příkladu 1 (120 mg, 0,21 mmolu) v methanolu při 3 °C. Po 1 h se směs zahustí ve vakuu. Získá se surový produkt. Vyčištěním chromatografií na koloně, elucí 2 až 3 % methanolu v dichlormethanu, se získá titulní sloučenina (76 mg, 68 % hmotn.) jako bílá pevná látka. Hmotnostní spektrum: MH^+ 516;

$C_{27}H_{33}N_5O_4$ (515,7).

Příklad 7

(1S)-[[[(2S)-Merkapto-5-ftalimido]-pentanoyl-L-(S-methyl)cysteiny]amino-3-methyl-2-butyylimidazol

Podobným způsobem se ze sloučeniny z příkladu 2 (4,4 g, 7,67 mmolu) a vyčištěním surového produktu chromatografií na koloně, eluce 2 až 3 % methanolu v dichlormetahnu, získá titulní sloučenina jako bílá pevná látka (3,0 g, 74 % hmotn.). Hmotnostní spektrum: MH^+ 532; $C_{25}H_{33}N_5O_4$ (531,7).

Příklad 8

(1S)-[[[(2S)-Merkapto-5-ftalimido]-pentanoyl-L-leucyl]amino-3-methyl-2-butyylimidazol

Podobným způsobem se ze sloučeniny z příkladu 3 (0,2 g, 0,33 mmolu) a vyčištěním surového produktu chromatografií na koloně, eluce 2 % methanolu v dichlormetahnu, získá titulní sloučenina jako bílá pevná látka (148 mg, 79 % hmotn.). Hmotnostní spektrum: MH^+ 566; $C_{28}H_{31}N_5O_4$ (566).

Příklad 9

(1S)-[[[(2S)-Merkapto-5-ftalimido]-pentanoyl-L-(S-methyl)cysteinyl]amino-2-fenyl-2-butyylimidazol

Podobným způsobem se ze sloučeniny z příkladu 3 vyrobí titulní sloučenina jako bílá pevná látka (89 % hmotn.). TLC R_f 0,2 (5 % methanolu v dichlormethanu).

Příklad 10

Hydrochlorid (1S)-[[(2S)-merkapt-5-ftalimido]-pentanoyl-L-leucyl]amino-3-methyl-2-butyrimidazolu

Roztok kyseliny chlorovodíkové v etheru (1,0M, 5 ml) se přidá k míchaném roztoku sloučeniny z příkladu 7 (40 mg) ve směsi tetrahydrofuranu (4 ml) a methanolu (1 ml). Po 1 h za RT se směs zahustí ve vakuu. Získá se hydrochlorid jako světle žlutá pevná látka.

Aktivita inhibice MPP - fluorimetrický test

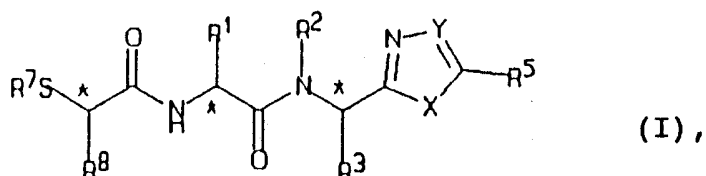
Aktivitu sloučenin obecného vzorce I působit jako inhibitory kolagenázy-1 (MMP-1), kolagenázy-2 (MMP-8), želatinázy-A (MMP-2), želatinázy-B (MMP-9) a stromelysinu-1 (MMP-3) lze stanovovat následujícím postupem.

Inhibitory se rozpustí v dimethylsulfoxidu, který obsahuje 0,02 % hmotn. β -merkapt-ethanolu a připraví se seriálová zředění. Aktivovaný enzym se inkubuje v testovacím pufru, který obsahuje 50mM Tris, pH 7,4, 5mM CaCl_2 , 0,002% NaN_3 a Brij 35 v přítomnosti nebo bez přítomnosti inhibitoru. Vzorky se předem inkubují 15 minut při 37 °C před přidáním fluorimetrického substrátu (Mca-Pro-Leu-Dpa-Ala-Arg-NH₂) na konečnou koncentraci 10 μM . Test se inkubuje 90 minut při 37 °C a potom se odečte na zařízení Fluoroscanner II při λ_{ex} (355 nm) a λ_{em} (460 nm).

Enzymová aktivita se srovnává s aktivitou kontroly bez inhibitoru. Výsledky se uvádějí jako taková koncentrace inhibitoru, která způsobí 50% inhibici stromelysinu (IC_{50}).

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Merkaptotalkylpeptidylová sloučenina obecného vzorce I



v němž

R^1 znamená alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, alkenylovou skupinu se 2 až 6 atomy uhlíku, alkyl(s 1 až 6 atomy uhlíku)arylovou skupinu, arylovou skupinu, alkyl(s 1 až 6 atomy uhlíku)heteroarylovou skupinu, heteroarylovou skupinu nebo skupinu alkyl(s 1 až 6 atomy uhlíku)- AR^9 , v níž A znamená atom kyslíku, skupinu NR^9 nebo $S(O)_m$, kde m znamená číslo 0 až 2, R^9 znamená atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, arylovou skupinu, heteroarylovou skupinu, alkyl(s 1 až 4 atomy uhlíku)arylovou skupinu nebo alkyl(s 1 až 4 atomy uhlíku)heteroarylovou skupinu a jestliže A znamená skupinu NR^9 , skupiny R^9 mohou být stejné nebo různé,

R^2 znamená atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku,

R^3 znamená skupinu $[Alk]_nR^6$, v níž Alk znamená alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku nebo alkenylovou skupinu se 2 až 6 atomy uhlíku a n znamená číslo 0 nebo 1,

X znamená skupinu NR^9 , atom kyslíku nebo atom síry,

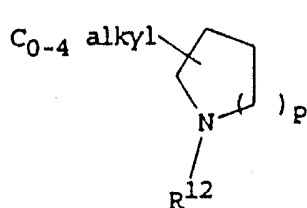
Y znamená atom dusíku nebo skupinu CR^4 ,

R^4 a R^5 znamenají stejnou nebo různou skupinu, při čemž znamenají R^9 , COR^{13} , skupinu alkyl(s 1 až 3 atomy uhlíku)- R^{13} nebo skupinu alkyl(s 1 až 3 atomy uhlíku)- COR^{13} ,

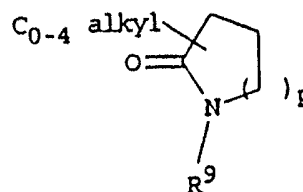
R^7 znamená atom vodíku nebo skupinu $R^{10}CO$, v níž R^{10} znamená alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, alkyl(s 1 až 4 atomy uhlíku)arylovou skupinu, alkyl(s 1 až 4 atomy uhlíku)heteroarylovou skupinu, cykloalkyl(se 3 až 6 atomy uhlíku)ovou skupinu, alkyl(s 1 až 4 atomy uhlíku)cykloalkyl(se 3 až 6 atomy uhlíku)ovou skupinu, alkenylovou sku-

pinu se 2 až 6 atomy uhlíku, alkenyl(se 2 až 6 atomy uhlíku)arylovou skupinu, arylovou skupinu nebo heteroarylovou skupinu,

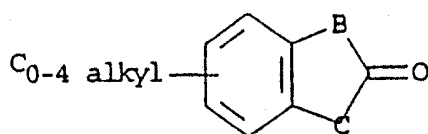
R^8 znamená arylovou skupinu (popřípadě substituovanou skupinou R^{11}), heteroarylovou skupinu (popřípadě substituovanou skupinou R^{11}), alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku (popřípadě substituovanou skupinou R^{11}), alkyl(s 1 až 4 atomy uhlíku)arylovou skupinu (popřípadě substituovanou skupinou R^{11}), alkyl(s 1 až 4 atomy uhlíku)heteroarylovou skupinu (popřípadě substituovanou skupinou R^{11}), cykloalkylovou skupinu se 3 až 6 atomy uhlíku (popřípadě substituovanou skupinou R^{11}), cykloalkenylovou skupinu se 3 až 6 atomy uhlíku (popřípadě substituovanou skupinou R^{11}), alkyl(s 1 až 4 atomy uhlíku)-cykloalkyl(se 3 až 6 atomy uhlíku)ovou skupinu (popřípadě substituovanou skupinou R^{11}), skupinu obecného vzorce



nebo



v nichž p znamená číslo 1 až 2, nebo skupinu obecného vzorce



v němž B a C jsou nezávisle na sobě vybrány ze skupiny sestávající z atomu kyslíku, atomu síry, skupiny $C(R^9)_2$ a skupiny NR^9 , při čemž skupiny R^9 jsou stejné nebo různé,

R^6 znamená skupinu AR^9 , cykloalkylovou se 3 až 6 atomy uhlíku, cykloalkenylovou se 3 až 6 atomy uhlíku, alkylovou s 1 až 6 atomy uhlíku, alkoxy(s 1 až 6 atomy uhlíku)arylovou, benzyloxyarylovou, arylovou, heteroarylovou, alkyl(s 1 až 3 atomy uhlíku)heteroarylovou, alkyl(s 1 až 3 atomy uhlíku)arylovou skupinu, skupinu alkyl(s 1 až 6

atomy uhlíku)-COOR⁹, amidinovou skupinu, guanidinovou skupinu, skupinu alkyl(s 1 až 6 atomy uhlíku)-NHR¹⁰, skupinu CONHR¹⁰, NHCO₂R¹⁰, NHSO₂R¹⁰ nebo NHCOR¹⁰,

R¹¹ znamená skupinu SO₂R¹³, SR⁷, CO₂R⁹, COR⁹, CON(R⁹)₂ (kde R⁹ znamenají stejné nebo různé skupiny), N(R⁹)₂ (kde R⁹ znamenají stejné nebo různé skupiny), NR⁹R¹², OR⁹, ftalimidovou nebo sukcinimidovou skupinu,

R¹² znamená atom vodíku nebo skupinu COR⁹, CO₂R⁹ (kde R⁹ neznámá atom vodíku), CONHR⁹ nebo SO₂R⁹ (kde R⁹ neznámá atom vodíku) a

R¹³ znamená skupinu N(R⁹)₂ (v níž R⁹ znamenají stejnou nebo různou skupinu), alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, arylovou, heteroarylovou, alkyl(s 1 až 4 atomy uhlíku)arylovou nebo alkyl(s 1 až 4 atomy uhlíku)heteroarylovou skupinu,

a její soli, solváty a hydráty.

2. Merkaptoalkylpeptidylová sloučenina obecného vzorce I podle nároku 1, v němž R⁶ neznámá amidin nebo guanidin, R⁸ je substituována, jestliže znamená arylovou, alkylovou nebo alkylarylovou skupinu, a R¹¹ znamená skupinu SO₂R¹³, SR⁷, COR¹³, N(R⁹)₂, NR⁹R¹², OR⁹, ftalimidovou nebo sukcinimidovou skupinu.
3. Merkaptoalkylpeptidylová sloučenina obecného vzorce I podle nároku 1, která je vybrána z (1S)-[[(2R,S)-acetylmerkapto-5-ftalimido]pentanoyl-L-leucyl]amino-3-methyl-2-butyylimidazolu a (1S)-[[(2S)-acetylmerkapto-5-ftalimido]pentanoyl-L-(S-methyl)cysteinyl]amino-3-methyl-2-butyylimidazolu.
4. Merkaptoalkylpeptidylová sloučenina obecného vzorce I podle nároku 1, která je vybrána z (1S)-[[(2S)-acetylmerkapto-5-ftalimido]pentanoyl-L-(S-methyl)cysteinyl]amino-2-fenyl-2-butyylimidazolu, (1S)-[[(2R,S)-merkapto-5-ftalimido]pentanoyl-L-leucyl]amino-3-methyl-2-butyylimidazolu, (1S)-[[(2S)-merkapto-5-ftalimido]pentanoyl-L-(S-methyl)cys-

teiny]amino-3-methyl-2-butyylimidazolu, (1S)-[[(2S)-merkapto-5-ftalimido]pentanoyl-L-leucyl]amino-3-methyl-2-butyylimidazolu a jeho hydrochloridu.

5. Merkaptoalkylpeptidylová sloučenina obecného vzorce I podle nároku 1, která je vybrána z (1S)-[[(2S)-acetylmerkapto-5-sukcinimido]pentanoyl-L-(S-methyl)cysteinyl]amino-3-methyl-2-butyylimidazolu, (1S)-[[(2S)-acetylmerkapto-5-sukcinimido]pentanoyl-L-norvalinyl]amino-3-methyl-2-butyylimidazolu a (1S)-[[(2S)-merkapto-5-ftalimido]pentanoyl-L-(S-methyl)cysteinyl]amino-2-fenyl-2-butyylimidazolu.
6. Merkaptoalkylpeptidylová sloučenina podle kteréhokoliv z nároků 1 až 5 ve formě jediného enantiomeru nebo diastereoisomeru nebo směsi těchto isomerů.
7. Farmaceutický přípravek pro použití v terapii, v y - z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje merkaptoalkylpeptidylovou sloučeninu podle kteréhokoliv z nároků 1 až 6 a farmaceuticky přijatelné ředidlo nebo nosič.
8. Použití merkaptoalkylpeptidylové sloučeniny podle kteréhokoliv z nároků 1 až 6 pro výrobu léčivého přípravku pro léčení nebo prevenci stavu souvisejícího s matrix metalloproteinázou nebo který je zprostředkován TNF α nebo L-selektinovou sheddázou.
9. Použití podle nároku 8, v němž je stav vybrán z rakoviny, zánětu a zánětlivých onemocnění, degenerace tkání, periodontitidy, oftalmologického onemocnění, dermatologických poruch, horečky, kardiovaskulárních účinků, hemorhagie, koagulace a akutní fázové odpovědi, kachexie a anorexie, akutní infekce, HIV infekce, šokových stavů, reakcí štěpu versus hostitel, autoimunního onemocnění, reperfučních poranění, meningitidy a migrény.
10. Použití podle nároku 8, v němž je stav vybrán z růstu ná-

doru, angiogeneze, invaze a šíření nádoru, metastází, maligních ascitů a maligní pleurální efúze.

11. Použití podle nároku 8, v němž je stav vybrán z revmatické artritidy, osteoartritidy, osteoporózy, astma, sklerózy multiplex, neurodegenerace, Alzheimerovy choroby, atherosklerózy, mrtvice, vaskulitidy, Crohnovy choroby a vředovité kolitidy.
12. Použití podle nároku 8, v němž je stav vybrán z ulcerace rohovky, retinopatie a hojení chirurgických poranění.
13. Použití podle nároku 8, v němž je stav vybrán z psoriázy, atopické dermatitidy, chronických vředů a epidermolytické bulózy.
14. Použití podle nároku 8, v němž je stav vybrán z periodontitidy a zánětu dásní.
15. Použití podle nároku 8, v němž je stav vybrán z rhinitidy, alergické konjunktivitidy, ekzému a anafylaxie.
16. Použití podle nároku 8, v němž je stav vybrán z ristonózy, městnavého selhání srdce, endometriózy, atherosklerózy a endosklerózy.

Zastupuje