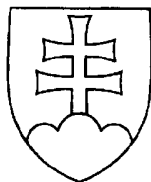


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

283 201

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.⁷:

C07C 323/58

A61K 31/195

C07C 323/59

- (21) Číslo prihlášky: **933-99**
(22) Dátum podania prihlášky: **9. 1. 1998**
(24) Dátum nadobudnutia účinkov patentu: **4. 3. 2003**
Vestník ÚPV SR č.: **3/2003**
(31) Číslo prioritnej prihlášky: **08/783 402**
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **13. 1. 1997**
(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: **US**
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: **13. 3. 2000**
Vestník ÚPV SR č.: **03/2000**
(47) Dátum sprístupnenia patentu verejnosti: **17. 2. 2003**
(62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **PCT/EP98/00096**
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **WO98/30537**

(73) Majiteľ: **GLAXO GROUP LIMITED, Greenford, Middlesex, GB;**

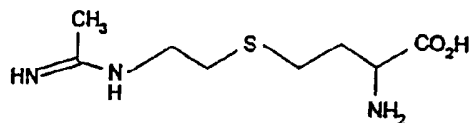
(72) Pôvodca: **Beams Richard Mansfield, Shirley, Surrey, GB;**
Drysdale Martin James, Cambridge, GB;
Franzmann Karl Witold, London, GB;
Frend Anthony Joseph, Stevenage, Hertfordshire, GB;
Hodson Harold Francis, Beckenham, Kent, GB;
Knowles Richard Graham, Stevenage, Hertfordshire, GB;
Rees Daryl David, Keston, Kent, GB;
Sawyer David Alan, Beckenham, Kent, GB;

(74) Zástupca: **Majlingová Marta, Ing., Bratislava, SK;**

(54) Názov: **Amidínové zlúčeniny, spôsob ich prípravy, farmaceutický prostriedok s ich obsahom, ich použitie a medziprodukt**

(57) Anotácia:

Opisujú sa amidínové zlúčeniny vzorca (I), spôsob ich výroby, farmaceutické prostriedky s ich obsahom a ich použitie v lekárstve ako selektívnych inhibitorov syntázy oxidu dusnatého.



(1)

Oblasť techniky

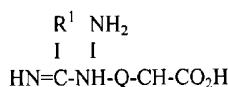
Predkladaný vynález sa týka nových amidínových zlúčenín, spôsobu ich výroby, farmaceutických prostriedkov s ich obsahom a ich použitia v lekárstve, najmä ako selektívnych inhibítorov indukovateľnej syntázy oxidu dusnatého.

Doterajší stav techniky

Oxid dusnatý je endogénny stimulátor rozpustnej guanylát cyklázy a zúčastňuje sa celého radu biologických dejov. Nadprodukcia oxidu dusnatého sa pravdepodobne zúčastňuje v rade stavov vrátane septického šoku a mnohých zápalových ochorení. Biochemická syntéza oxidu dusnatého z L-arginínu je katalyzovaná enzýmom syntázou oxidu dusnatého. Mnoho inhibítorov NO syntázy už bolo opísaných a navrhnutých na terapeutické použitie.

V tejto oblasti techniky boli v poslednom čase uskutočňované výskumy na získanie inhibítorov NO syntázy, ktoré by mali selektivitu na buď indukovateľnú NO syntázu (iNOS) alebo neuronálnu NO syntázu (nNOS) alebo endotelálnu NO syntázu (eNOS).

Tak napríklad WO 93/13055 opisuje selektívne inhibítory NO syntázy vzorca



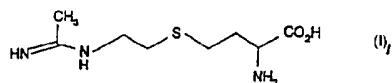
a ich soli a farmaceuticky prijateľné estery a amidy, v ktorých:

R¹ je C₁₋₆ priama alebo rozvetvená alkylová skupina, C₂₋₆-alkenylová skupina, C₂-alkinylová skupina a C₃₋₆cykloalkylová skupina alebo C₃₋₆cykloalkylC₁₋₆alkylová skupina; Q je alkylová, alkenylová alebo alkinylová skupina s 3 až 6 atómami uhlíka, ktorá môže byť prípadne substituovaná jednou alebo viacerými C₁₋₃alkylovými skupinami; skupina vzorca -(CH₂)_pX(CH₂)_q, kde p je 2 alebo 3, q je 1 alebo 2 a X je S(O)_x, kde x je 0, 1 alebo 2, O alebo NR², kde R² je H alebo C₁₋₆alkyl; alebo skupina vzorca -(CH₂)_rA(CH₂)_s, kde r je 0, 1 alebo 2, s je 0, 1 alebo 2 a A je 3 až 6-členný karbocyklický alebo heterocyklický kruh, ktorý môže byť prípadne substituovaný jedným alebo viacerými vhodnými substituentmi, ako je C₁₋₆alkyl, C₁₋₆alkoxy, hydroxy, halogén, nitro, kyano, trifluórC₁₋₆alkyl, amino, C₁₋₆alkylamino alebo diC₁₋₆alkylamino.

Teraz sa naši zlúčeniny patriace do rámca WO 93/13055, ktoré sú tiež selektívne inhibítory iNOS, sú výhodné v tom, že majú dlhý polčas a sú *in vivo* dostupné pri orálnom podávaní.

Podstata vynálezu

Podľa predkladaného vynálezu sa teda poskytujú zlúčeniny vzorca (I)



alebo jej soľ, solvát alebo fyziologicky funkčný derivát.

Vzorec (I) obsahuje v skupine aminokyseliny asymetrické centrum a hoci je výhodná prírodná konfigurácia L alebo (S) arginínu, predpokladá sa, že zlúčenina (I) bude zahŕňať oba enantioméry (S) a (R) buď v podstate čistej forme alebo zmiešanej v akýchkoľvek pomeroch.

Ako alternatívu teda predkladaný vynález poskytuje zlúčeninu zvolenú zo skupiny:

(R/S)-[2-(1-iminoetylamo)etyl]-DL-homocysteín, (S)-[2-(1-iminoetylamo)etyl]-L-homocysteín a (R)-[2-(1-iminoetylamo)etyl]-D-homocysteín a jej soli, solváty a fyziologicky funkčné deriváty.

Vo výhodnom uskutočnení poskytuje predkladaný vynález (S)-[2-(1-iminoetylamo)etyl]-L-homocysteín alebo jeho soľ, solvát alebo fyziologicky účinný derivát. Vo zvlášť výhodnom uskutočnení poskytuje predkladaný vynález (S)-[2-(1-iminoetylamo)etyl]-L-homocysteín alebo jeho soľ.

Soli a solváty zlúčenín vzorca (I), ktoré sú vhodné na použitie v lekárstve, sú také zlúčeniny, ktorých protiión alebo s nimi spojené rozpúšťadlo je farmaceuticky prijateľné. Do rámca predkladaného vynálezu však patria aj soli a solváty s farmaceuticky neprijateľnými protiiónmi alebo asociovanými rozpúšťadlami, napríklad na použitie ako medziprodukty pri výrobe iných zlúčenín (I) a ich farmaceuticky prijateľných solí, solvátov a fyziologicky funkčných derivátov.

Termínom „fyziologicky funkčný derivát“ sa rozumie chemický derivát zlúčeniny vzorca (I), s rovnakou fyziologickou funkciou ako voľná zlúčenina vzorca (I), napríklad tak, že sa na ňu v tele premieňa. Podľa predkladaného vynálezu patria medzi príklady fyziologicky funkčných derivátov estery, amidy a karbamáty, výhodne estery a amidy.

Medzi vhodné soli podľa vynálezu patria soli, vytvorené tak s organickými, ako aj anorganickými kyselinami alebo bázami. Medzi farmaceuticky prijateľné adičné soli s kyselinami patria soli s kyselinou chlorovodíkovou, bromovodíkovou, sírovou, citrónovou, vínovou, fosforečnou, mliečnou, pyrohroznovou, octovou, trifluór-octovou, jantárovou, šťavelovou, fumarovou, maleínovou, oxalocetovou, metán-sulfónovou, etánsulfónovou, p-toluénsulfónovou, benzénsulfónovou a isetiónovou. Medzi farmaceuticky prijateľné soli s bázami patria soli amónne, soli s alkalickými kovmi, ako je sodík alebo draslík, soli s kovmi alkalických zemín, ako sú soli vápenaté a horečnaté a soli s organickými bázami, ako je dicyklohexylamin a N-metyl-D-glukamín.

Farmaceuticky prijateľné estery a amidy zlúčenín vzorca (I) môžu mať svoju skupinu kyseliny premenenú na C₁₋₆alkyl-, aryl-, arylC₁₋₆alkyl-ester alebo amid alebo ester alebo amid aminokyseliny. Farmaceuticky prijateľné amidy a karbamáty zlúčenín vzorca (I) môžu mať aminovú skupinu premenenú na C₁₋₆alkyl-, aryl-, arylC₁₋₆alkyl-amid alebo karbamát, alebo amid alebo karbamát aminokyseliny.

Ako je uvedené, zlúčeniny vzorca (I) a ich farmaceuticky prijateľné soli, solváty a fyziologicky funkčné deriváty sa používajú pri prevencii a liečení klinických stavov, pri ktorých je indikované použitie inhibítora NO syntázy, najmä inhibítora iNOS. Medzi tieto stavy patria zápalové stavy, šokové stavy, imunitné poruchy a poruchy gastrointestinálnej pohyblivosti. Zlúčeniny vzorca (I) a ich farmaceuticky prijateľné soli, solváty a fyziologicky funkčné deriváty môžu byť tiež použité pri prevencii a liečení ochorení centrálneho nervového systému vrátane migrény.

Šokovými stavmi sa rozumejú stavy vytvorené v dôsledku nadprodukcie NO, ako je septický šok, hemoragický šok, traumatický šok alebo šok spôsobený prudkým zlyhaním pečene alebo terapiou cytokínmi, ako je TNF, IL-1 a IL-2 alebo terapiou prostriedkami indukujúcimi cytokíny, ako je napríklad kyselina 5,6-dimetyl-xantenóctová.

Medzi príklady zápalových stavov a imunitných porúch patria ochorenia kĺbov, najmä artritída (napríklad reumatoidná artritída, osteoartritída, zlyhanie kĺbovej protézy) a

lebo gastrointestinálneho traktu (napríklad ulceratívna kolitída, Crohnova choroba a iné zápalové ochorenia čreva, gastritída a zápal sliznice v dôsledku infekcie, enteropatia provokovaná nesteroidnými protizápalovými liečivami) alebo pľúc (napríklad syndróm dychovej nedostatočnosti dospelých, astma, cystická fibróza alebo chronické obštrukčné pľúcne ochorenie), srdce (napríklad myokarditída) alebo nervové tkanivá (napríklad roztrúsená skleróza) alebo slinivky (napríklad diabetes mellitus a jej komplikácie), obličiek (napríklad glomerulonefritída), kože (napríklad dermatitída, lupienka, ekzém, žihľavka) alebo oka (napríklad glaukóm), rovnako ako transplantovaných orgánov (napríklad odmietnutie) a viacorgánových ochorení (napríklad systémový lupus erythematosus) a zápalové následky vírusových alebo bakteriálnych infekcií.

Existuje navyše dôkaz pre nadprodukciiu NO pôsobením iNOS pri ateroskleróze a po hypoxických alebo ischemických záchvatoch (s alebo bez reperfúzie), napríklad v mozgu alebo pri ischemickom ochorení srdca.

Medzi poruchy črevnej pohyblivosti patrí nepriechodnosť čriev, napríklad po operácii a pri sepsii.

Pod ochorenia centrálného nervového systému patria ochorenia, pri ktorých je dokázaná účasť nadprodukciiu NO, napríklad migréna, psychóza, úzkosť, schizofrénia, poruchy spánku, cerebrálna ischemia, úrazy CNS, epilepsia, roztrúsená skleróza, demencia v dôsledku AIDS, chronické neurodegeneratívne ochorenia (napríklad demencia Lewy Body, Huntingtonova choroba, Parkinsonova choroba alebo Alzheimerova choroba) a akútna a chronická bolesť a stavy, ktorých sa zúčastňujú neadrenergické a necholinergné nervy, ako je priapizmus, obezita a hyperfagia.

Príklady akútnej bolesti je kostrovo svalová bolesť, operačná bolesť a bolesť pri chirurgických výkonoch. Medzi príklady chronickej bolesti patrí chronická zápalová bolesť (napríklad reumatoidná artritída a osteoartritída), neuropatická bolesť (napríklad postperpetická neuralgia, diabetické neuropatie spojené s diabetmi, neuralgia trigemínu, bolesť spojená s funkčnými poruchami čreva, napríklad syndróm dráždivého čreva, bolesť na hrudníku, ktorá nie je srdcového pôvodu a sympaticky udržiavaná bolesť) a bolesť spojená s nádorovým ochorením a fibromyalgiou.

Navyše môže byť inhibícia NO syntázy výhodná pri prevencii úbytku lymfocytov spojeného s infekciou HIV, na zvyšovanie citlivosti nádorov na rádioaktívne žiarenie pri rádioterapii a pri znižovaní rastu tumorov, progresie tumorov, angiogenéze a metastáz.

Predkladaný vynález teda poskytuje spôsob prevencie a liečenia klinických stavov cicavcov, ako napríklad ľudí, u ktorých je indikovaný inhibitor syntázy oxidu dusnatého, napríklad inhibitor iNOS, ktorý zahŕňa podávanie terapeuticky účinného množstva zlúčeniny vzorca (I) alebo jej farmaceuticky prijateľnej soli, solvátu alebo fyziologicky funkčného derivátu. Predkladaný vynález poskytuje najmä spôsob prevencie a liečenia zápalových a/alebo imunitných porúch, ako je artritída alebo astma. Vo výhodnom uskutočnení poskytuje predkladaný vynález spôsob prevencie alebo liečenia klinických stavov, ako je artritída, astma, ileus a migréna.

Alternatívne sa tiež poskytuje zlúčenina vzorca (I) alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ, solvát alebo fyziologicky funkčný derivát na použitie v lekárstve, najmä na použitie pri prevencii alebo liečení takých klinických stavov cicavcov, napríklad človeka, u ktorých je indikovaný inhibitor syntázy oxidu dusnatého, napríklad inhibitor iNOS. Poskytuje sa najmä zlúčenina vzorca (I) alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ, solvát alebo fyziologicky funkčný derivát na prevenciu alebo liečenie zápalových a/alebo imu-

nitných porúch, ako je artritída alebo astma. Vo výhodnom uskutočnení sa poskytuje zlúčenina vzorca (I) alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ, solvát alebo fyziologicky funkčný derivát na prevenciu alebo liečenie ochorení, ako je artritída, astma, ileus a migréna.

Množstvo zlúčeniny vzorca (I) alebo jej farmaceuticky prijateľnej soli, solvátu alebo fyziologicky funkčného derivátu nutné na dosiahnutie liečebného účinku bude samozrejme kolísat podľa konkrétnej zlúčeniny, cesty podania, liečeného subjektu a konkrétneho liečeného stavu alebo ochorenia. Zlúčeniny podľa vynálezu môžu byť podávané orálne alebo injekciou v dávke od 0,1 do 1500 mg/kg za deň, výhodne 0,1 až 500 mg/kg za deň. Rozmedzie dávok pre dospelého človeka je všeobecne od 5 mg do 35 g/deň, výhodne 5 mg až 2 g/deň. Tablety alebo iné podávacie formy prítomné vo forme diskretných jednotiek môžu vhodne obsahovať množstvo zlúčeniny podľa vynálezu, ktorá je účinná v tejto dávke alebo v násobku tejto dávky, napríklad jednotkové dávky obsahujú 5 mg až 500 mg, najmä približne 10 mg až 200 mg.

Aj keď je možné, aby zlúčenina vzorca (I) alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ, solvát alebo fyziologicky funkčný derivát boli podávané samostatne, je výhodné podávanie vo farmaceutickom prostriedku.

Predkladaný vynález teda ďalej poskytuje farmaceutický prostriedok obsahujúci zlúčeninu vzorca (I) alebo jej farmaceuticky prijateľnú soľ, solvát alebo fyziologicky funkčný derivát a farmaceuticky prijateľný nosič alebo pomocnú látku a prípadne jednu alebo viac ďalších terapeutických zložiek.

Predkladaný vynález teda poskytuje použitie zlúčeniny vzorca (I) alebo jej farmaceuticky prijateľnej soli, solvátu alebo fyziologicky funkčného derivátu pri výrobe farmaceutického prostriedku na liečbu alebo prevenciu klinického stavu, u ktorého je indikovaný inhibitor syntázy oxidu dusnatého, napríklad inhibitor iNOS, napríklad zápalového alebo imunitného ochorenia, ako je artritída alebo astma. Vo výhodnom uskutočnení sa poskytuje zlúčenina vzorca (I) alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ, solvát alebo fyziologicky funkčný derivát na výrobu farmaceutického prostriedku na liečenie alebo prevenciu klinického stavu, ako je artritída, astma, ileus a migréna.

Termín „aktívna zložka“ ako sa ďalej používa, znamená zlúčeninu vzorca (I) alebo jej farmaceuticky prijateľnú soľ, solvát alebo fyziologicky funkčný derivát.

Medzi farmaceutické prostriedky patria zmesi vhodné na orálne, parenterálne (vrátane subkutánneho, intradermálneho, intramuskulárneho, intravenózneho a intraparticulárneho), inhalačné (vrátane jemných práškov alebo hmieľ, ktoré môžu byť vytvárané rôznymi typmi tlakových aerosólov s meranou dávkou, nebulizátory alebo insufláto-ry), rektálne a topické (vrátane dermálneho, bukálného, sub-linguálneho a intraokulárneho) podania, i keď najvhodnejšia cesta bude závisieť napríklad od stavu príjemcu a ochorenia. Farmaceutické prostriedky môžu byť vyrobené akýmkoľvek v danej oblasti techniky známym spôsobom. Všetky tieto spôsoby obsahujú krok uvedenia aktívnej zložky do zmesi s nosičom, ktorý sa skladá z jednej alebo viacerých doplnkových zložiek. Farmaceutické prostriedky sa všeobecne vyrábajú rovnomerným a dokonalým uvedením do styku aktívnej zložky s kvapalnými nosičmi alebo jemne práškovými tuhými nosičmi alebo oboma, a v prípade potreby tvarovaním výrobku do požadovanej formy.

Farmaceutické prostriedky podľa predkladaného vynálezu vhodné na orálne podanie môžu byť vo forme diskretných jednotiek, ako sú kapsuly, vrecúška alebo tablety, vždy s obsahom vopred určeného množstva aktívnej zlož-

ky, vo forme prášku alebo granúl, vo forme roztoku alebo suspenzie vo vodnej kvapaline alebo nevodnej kvapaline, alebo vo forme tekutej emulzie typu olej vo vode alebo voda v oleji. Aktívna zložka môže byť prezentovaná ako bolus, lektvár alebo pasta.

Tabletu je možné vyrobiť stlačením alebo lisovaním do formy, prípadne s jednou alebo viacerými ďalšími zložkami. Stlačené tablety môžu byť pripravené stlačením aktívnej zložky vo voľnej sypkej forme, ako je prášok alebo granuly vo vhodnom stroji, prípadne v zmesi so spojivom, kĺznou látkou, inertným riedidlom, povrchovoaktívnou látkou alebo dispergačným činidlom. Lisované tablety môžu byť vyrobené na vhodnom stroji lisovaním zmesi práškovej zložky navlhčenej inertným kvapalným riedidlom do formy. Tablety môžu byť prípadne poťahované alebo drážkované a môžu byť formulované tak, aby bolo dosiahnuté pomale alebo riadené uvoľňovanie aktívnej zložky.

Medzi farmaceutické prostriedky na parenterálne podávanie patria vodné a nevodné sterilné injekčné roztoky, ktoré môžu obsahovať antioxidanty, pufre, bakteriostatické látky a látky na úpravu izotonicity roztoku s krvou zamýšľaného príjemcu, a vodné a nevodné sterilné suspenzie, ktoré môžu obsahovať suspendujúce činidlá a zahusťujúce látky. Farmaceutické prostriedky môžu byť v zásobníkoch, obsahujúcich jednu alebo viac dávok, napríklad v uzavretých ampulách alebo fľaštičkách a môžu byť skladované v lyofilizovanom stave, čo vyžaduje len prídavok sterilného kvapalného nosiča, napríklad fyziologického roztoku alebo vody pre injekcie bezprostredne pred použitím. Pred použitím pripravované injekčné roztoky a suspenzie môžu byť vyrobené zo sterilných práškov, granúl a tabliet uvedených druhov.

Farmaceutické prostriedky na rektálne podávanie môžu byť vo forme čapíka so zvyčajnými nosičmi, ako je kakaové maslo alebo polyetylén glykol.

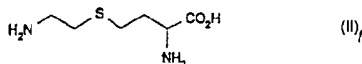
Farmaceutické prostriedky na miestne podávanie v ústach, napríklad bukálna alebo sunblinguálne, môžu byť vo forme pastiliek, obsahujúcich aktívnu zložku v ochutenom základe, ako je sacharóza a akácia alebo tragakant a pastiliek, obsahujúcich aktívnu zložku v báze, ako je želatína a glycerín alebo sacharóza a akácia.

Výhodné jednotkové dávky sú farmaceutické prostriedky s obsahom účinnej dávky, ako bolo uvedené alebo jej vhodného podielu.

Je samozrejmé, že navyše k zložkám uvedeným, môžu farmaceutické prostriedky podľa vynálezu obsahovať ďalšie zložky bežné v danej oblasti techniky s ohľadom na typ príslušného farmaceutického prostriedku, napríklad farmaceutické prostriedky vhodné na podanie ústami môžu obsahovať ochucovacie látky.

Ďalej vynález poskytuje spôsob výroby zlúčeniny vzorca (I) alebo jej soli, solvátu alebo fyziologicky funkčného derivátu, v ktorom sa na:

i) zlúčeninu vzorca (II)



alebo jej enantiomér, sol' alebo chránený derivát, pôsobí zlúčeninou vzorca (III)



alebo jej sol'ou, kde L je odštiepiteľná skupina, najvhodnejšie C₁₋₆alkoxylová skupina, napríklad skupina etoxy alebo alkyltio, aralkyltio alebo aryltio, napríklad benzyltio alebo 1- alebo 2-naftylmetylio,

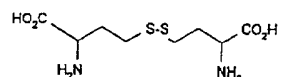
nasledujú ďalej uvedené kroky v ľubovoľnom poradí:

- ii) prípadné odstránenie akýchkoľvek ochranných skupín,
- iii) prípadné oddelenie enantioméru zo zmesi enantiomérov,
- iv) prípadnú premenu produktu na zodpovedajúcu sol', solvát alebo fyziologicky funkčný derivát.

V prípadoch, keď L znamená C₁₋₆alkoxy, reakčný krok i) môže byť uskutočnený v roztoku pri alkalickom pH, napríklad pH 8 až 11, výhodne pri pH 10,5 a pri nízkej teplote, napríklad -5 až 20 °C, výhodne pri 0 až 5 °C. Keď L znamená skupinu alkyltio, aralkyltio alebo aryltio, reakcia môže byť uskutočňovaná v organickom rozpúšťadle, napríklad tetrahydrofuráne alebo C₁₋₄alkohole, ako je etanol, pri miernych teplotách, napríklad pri 10 až 40 °C, výhodne pri izbovej teplote.

Zlúčeniny vzorca (III) a jej soli sú komerčne dostupné alebo môžu byť pripravené spôsobmi známymi v organickej chémii, napríklad opisovanými v Shearer a ďalší v Tetrahedron Letters, 1997, 38, 179 až 182.

Zlúčeniny vzorca (II) a ich chránené deriváty môžu byť vyrobené z homocystínu:



alebo jeho chráneného derivátu odštiepením disulfidickej väzby za vytvorenia homocysteínu alebo jeho chráneného derivátu a reakciou so zlúčeninou vzorca (IV)



alebo jej chráneným derivátom, kde L¹ je odštiepiteľná skupina, napríklad halogén, ako je bróm, alebo alkylový, arylový alebo aralkylsulfonátový ester, ako je toluén-sulfonyl.

Odštiepením disulfidickej väzby z homocystínu alebo jeho chráneného derivátu za vytvorenia homocysteínu alebo jeho chráneného derivátu môže byť uskutočnený odborníkom v danej oblasti techniky známymi spôsobmi, napríklad použitím sodíka v kvapalnom amoniaku, ditiotreitolu alebo borohydridu sodného.

Chránené deriváty homocysteínu, napríklad t-butylester N-t-butoxykarbonyl-homocysteínu môže reagovať so zlúčeninami vzorca (IV) vo vhodnom organickom rozpúšťadle (napríklad toluéne) pri reakcii sprostredkovanvej bázou ako je 1,8-diaza-bicyklo[5.4.0]undek-7-én alebo podobným činidlom, ktoré bude odborníkom v danej oblasti techniky známe.

Homocystín, zlúčeniny vzorca (IV) a ich chránené deriváty sú komerčne dostupné alebo môžu byť vyrobené spôsobmi známymi odborníkom v oblasti organickej chémie.

Ochranné skupiny použité pri výrobe zlúčenín vzorca (I) môžu byť použité bežným spôsobom, napríklad s použitím metód opísaných v „Protective Groups in Organic Synthesis“, Theodora W. Green, 2, vydanie (John Wiley a Sons, 1991), kde sa tiež poskytujú spôsoby odstránenia týchto skupín.

Pri uvedených reakciách sú primárne amíny vhodné chránené pomocou acylových skupín, ako je t-butoxykarbonyl alebo benzyloxykarbonyl, ktoré môžu byť odstránené za kyslých podmienok, napríklad pôsobením kyseliny chlorovodíkovej alebo bromovodíkovej alebo hydrogenolýzou.

Ako bude zrejme odborníkom v danej oblasti techniky zrejme, použitie týchto ochranných skupín môže zahrnúť ortogonálnu ochranu aminových skupín v zlúčeninách vzorca (II) na umožnenie selektívneho odstránenia jednej

skupiny v prítomnosti inej skupiny a tým umožnenie selektívnej funkcionalizácie jednotlivých aminoskupiny. Napríklad skupina benzyloxykarbonyl môže byť selektívne odstránená hydrogenolýzou. Odborníkovi v danej oblasti techniky budú tiež zrejme ďalšie stratégie ortogonálnej ochrany, ktoré sú uskutočniteľné bežnými spôsobmi, a ktoré sa opisujú v Theodora W. Green (pozri vyššie).

Enantioméne zlúčeniny podľa vynálezu môžu byť získané a) oddelením zložiek zodpovedajúcej racemickej zmesi, napríklad na chirálnej chromatografickej kolóne, metódami enzymatického delenia alebo výrobou a rozdelením vhodných diastereoizomérov, alebo b) priamou syntézou z vhodných chirálnych medziproduktov uvedenými spôsobmi.

Prípadná premena zlúčeniny vzorca (I) na zodpovedajúcu soľ môže byť pohodlne uskutočnená reakciou s vhodnou kyselinou alebo zásadou. Prípadná konverzia zlúčeniny vzorca (I) na zodpovedajúci solvát alebo fyziologicky funkčný derivát môže byť uskutočnená v danej oblasti techniky známymi spôsobmi.

Ďalej vynález poskytuje nové medziprodukty na výrobu zlúčenín vzorca (I), napríklad zlúčeniny vzorca (II), ako je definované alebo ich enantioméry, soli alebo chránené deriváty, najmä zlúčeniny zvolené zo skupiny:

kyselina (S)-2,7-diamino-5-tioheptánová,
kyselina (S)-7N-benzyloxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptánová,

kyselina (R,S)-2,7-diamino-5-tioheptánová,
kyselina (R,S)-7N-benzyloxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptánová,

kyselina (S)-2N-t-butoxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptánová,
kyselina (S)-2N-t-butoxykarbonyl-7N-benzyloxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptánová,

(S)-t-butyl-2N-t-butoxykarbonyl-7N-benzyloxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptanoát,

(S)-t-butyl-2N-t-butoxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptanoát,
kyselina (R,S)-2N-t-butoxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptánová,

kyselina (R,S)-2N-t-butoxykarbonyl-7N-benzyloxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptánová,

(R,S)-t-butyl-2N-t-butoxykarbonyl-7N-benzyloxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptanoát, a

(R,S)-t-butyl-2N-t-butoxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptanoát.

Niektoré chránené deriváty zlúčenín vzorca (I) sú tiež využiteľné ako medziprodukty na výrobu zlúčenín vzorca (I), najmä zlúčenín zvolených zo skupiny:

kyselina (S)-2N-t-butoxykarbonyl-7N-(1-imoetyl)-2,7-diamino-5-tioheptánová,

(S)-t-butyl-2N-t-butoxykarbonyl-7N-(1-imoetyl)-2,7-diamino-5-tioheptanoát,

kyselina (R,S)-2N-t-butoxykarbonyl-7N-(1-imoetyl)-2,7-diamino-5-tioheptánová,

(R,S)-t-butyl-2N-t-butoxykarbonyl-7N-(1-imoetyl)-2,7-diamino-5-tioheptanoát,

a ich soli a solváty.

Na lepšie porozumenie vynálezu sa na ilustráciu uvádzajú nasledujúce príklady.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklady syntéz

Príklad 1

Syntéza (S)-[2-(1-imoetylamo)etyl]-L-homocysteínu alebo kyseliny (S)-7N-(1-imoetyl)-2,7-diamino-5-tioheptánovej

(i) Kyselina (S)-7N-benzyloxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptánovej

Ku kvapalnému amoniaku (130 ml), ochladenému na -80 °C, bol pridávaný L-homocystín (5 g) a potom kovový sodík (1,06 g), pokiaľ nepretrvalo modré zafarbenie 15 minút. Potom bol pridaný N-benzyloxykarbonyl-etanolamintosylát (8,16 g) a reakčná zmes bola miešaná pri teplote, až do odparenia amoniaku. Zvyšok bol rozpustený vo vode (80 ml) a zmiešaný s 0,5M sodnou soľou EDTA (2 ml). pH roztoku bolo upravené na 7,2 2N kyselinou sírovou a získaná biela zrazenina bola odfiltrovaná, premytá studenou vodou a acetónom a sušená vo vákuovej sušiarňi za získania 5,3 g v názve uvedenej zlúčeniny ako bielej tuhej látky. Hmotnostné spektrum M+H 313.

(ii) Kyselina (S)-2,7-diamino-5-tioheptánová

Kyselina (S)-7N-benzyloxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptánová (5,3 g) bola zmiešaná so 45 % HBr v kyseline octovej (23 ml) a reakcia bola ponechaná prebiehať 1 hodinu. Vytvorila sa nepoddajná guma a na dosiahnutie úplného vyzrážania produktu bol k zmesi pridaný éter. Kvapalina bola odliata a tuhé podiely boli rozpustené v horúcom SVM. Horúci roztok bol zmiešaný s pyridínom, pokiaľ sa tvorila zrazenina a zmes bola ponechaná, aby sa ochladila na teplotu miestnosti. Získaná zrazenina bola prefiltrovaná a rekryštalizovaná zo zmesi SVM/voda za získania 2,2 g v názve uvedenej zlúčeniny ako bielej tuhej látky s teplotou topenia 222 °C (rozklad).

(iii) (S)-[2-(1-imoetylamo)etyl]-L-homocystein

Kyselina (S)-2,7-diamino-5-tioheptánová (2,17 g) bola miešaná v 1N NaOH (16,75 ml) do pH 10,5 pri 0 až 5 °C. K tomuto roztoku bol po častiach pridaný hydrochlorid etylacetimidátu (2,07 g), pri udržiavaní pH 10,5 pomocou 1N NaOH. Po ukončení reakcie bolo pH nastavené na 3 1N HCl a zmes bola nanosená na inoexovú kolónu Dowex AGX8 v H⁺ cykle. Kolóna bola premytá až do dosiahnutia neutrality, potom 2,5M pyridínom a opäť na dosiahnutie neutrality vodou. Elúcia bola uskutočnená 0,5M roztokom amoniaku a boli zberané frakcie pozitívne na ninhydrín. Získaný zvyšok bol zmiešaný s 1N HCl na dosiahnutie pH 4,5 a odparený do sucha. Zvyšok bol potom zmiešaný s etanolom a odparený do sucha a potom zmiešaný s dietyléterom a odparený do sucha za získania monohydridu v názve uvedenej zlúčeniny ako bielej tvrdej peny. Mikroanalýza produktu potvrdila formu 1,75 hydrátu: Nájdené (vypočítané): C 33,56 (33,45); H 7,11 (7,49); N 13,74 (14,63).

Príklad 2

(R/S)-[2-(1-imoetylamo)etyl]-D,L-homocystein bol vyrobený spôsobom analogickým so spôsobom použitým v príklade 1, východisková látka bol D,L-homocystín. ¹H NMR produktu zodpovedala navrhovanej štruktúre.

Príklad 2a

Racemický produkt z príkladu 2 bol v podstate rozdelený na dva enantioméry (identické s produktom (S) v príkladoch 1 a 4 a produktom (R) v príklade 3) na chirálnej kolóne HPLC Crownpac(+) a s elúciou vodnou kyselinou trifluóroctovou pri pH 2.

(S)-[2-(1-imoetylamo)etyl]-L-homocystein

Mikroanalýza produktu zodpovedala hydrátu ditrifluóracetátovej soli C₈H₁₇N₃O₂S · (CF₃CO₂H)₂ · H₂O. Nájdené (vypočítané): C 31,06 (30,97); H 4,53 (4,55); N 9,08 (9,03).

CD spektrum (0,1N vodná HCl) 210 (+0,80) nm.

(R)-[2-(1-Iminoetylamo)etyl]-D-homocystein

Mikroanalýza produktu zodpovedala forme soli 1,67 trifluoacetát . 0,3HCl . 1,5 hydrát $C_8H_{17}N_3O_2S \cdot (CF_3CO_2H)_{1,67} \cdot HCl_{0,3} \cdot 1,5 H_2O$.

Nájdené (vypočítané): C 30,18 (30,40); H 4,92 (4,97); N 9,53 (9,41), S 7,41 (7,18), Cl 1,86 (2,38), F 21,36 (21,28).

CD spektrum (0,1N vodná HCl) 210 (-0,64) nm.

Príklad 3

(R)-[2-(1-Iminoetylamo)etyl]-D-homocystein bol vyrobený rovnakým spôsobom ako v príklade 1, pričom sa vychádzalo z D-homocystínu.

Príklad 4

Syntéza (S)-[2-(1-iminoetylamo)etyl]-L-homocysteínu

(i) Kyselina (S)-7N-benzyloxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptánová

Ku kvapalnému amoniaku (430 ml) ochladenému na $-80\text{ }^\circ\text{C}$ bol pridaný L-homocystín (10 g, 37,45 mmol). Chladiaci kúpeľ bol odstránený a po častiach bol v priebehu 25 minút pridaný kovový sodík (3,18 g, 138,26 mmol), pričom teplota bola ponechaná vzrásť až na teplotu varu pod spätným chladičom. Miešanie pokračovalo pod spätným chladičom ďalších 30 minút a potom bol pridaný N-benzyloxykarbonyl-etanolamintosylát (25 g, 74,9 mmol) a reakčná zmes bola miešaná pri teplote miestnosti cez noc, pokiaľ sa amoniak neodparil. Zvyšok bol miešaný s vodou (250 ml) pri $40\text{ }^\circ\text{C}$ 10 minút, ochladený na teplotu miestnosti a prefiltrovaný. pH roztoku bolo nastavené na 7,0 2M kyselinou sírovou a získaná biela zrazenina bola odfiltrovaná, premytá studenou vodou a acetónom a sušená vo vákuovej sušiarňi za získania kyseliny (S)-7N-benzyloxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptánovej ako bielej tuhej látky s teplotou topenia $240\text{ }^\circ\text{C}$ (rozklad).

(ii) Kyselina (S)-2N-t-butoxykarbonyl-7N-benzyloxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptánová

Kyselina (S)-7N-benzyloxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptánová (15,5 g, 49,67 mmol) bola pridaná k hydroxidu sodnému (6,357 g, 159 mmol) vo vode (110 ml) a potom bol pridaný dioxán (55 ml). K zmesi bol pridaný di-t-butylidikarbonát (16,26 g, 74,5 mmol) a zmes bola miešaná cez noc pri teplote miestnosti v atmosfére dusíka. Potom boli vyzrážané tuhé podiely odfiltrované, bol pridaný toluén (300 ml) a vrstvy boli oddelené. Vodná vrstva bola ochladená a okyslená na pH približne 3 použitím 1N HCl. Okyslená frakcia bola extrahovaná toluénom (4 x 100 ml) a etylacetátom (3 x 100 ml) a spojené organické frakcie boli sušené nad $MgSO_4$. Zakoncentrovanie spojených organických roztokov za zníženého tlaku poskytlo kyselinu (S)-2N-t-butoxykarbonyl-7N-benzyloxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptánovú ako bielu gumu. Hmotnostné spektrum M+II 413.

(iii) Formiátová soľ kyseliny (S)-2N-t-butoxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptánovej

K metanolu (50 ml) ochladenému na $5\text{ }^\circ\text{C}$ v atmosfére dusíka bola pridaná paládiová čerň (0,678 g) v jednej dávke. K tomuto studenému roztoku bola pridaná zmes metanolu (50 ml) a kyseliny mravčej (11 ml, 196 mmol) v priebehu 1 minúty a potom nasledovalo pridanie kyseliny (S)-2N-t-butoxykarbonyl-7N-benzyloxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptánovej (2 g, 4,85 mmol) v metanole (50 ml) v priebehu 2 minút. Zmes bola ponechaná, aby sa miešala cez

noc pri teplote miestnosti, bola pridaná ďalšia paládiová čerň (257 mg) a miešanie pokračovalo ďalšie 3 hodiny. Reakčná zmes bola prefiltrovaná cez Hyflo a koncentrovaná za zníženého tlaku. Zvyšok bol rozdelený medzi vodu a etylacetát, vodná vrstva bola premytá ďalším etylacetátom a bola koncentrovaná za poskytnutia formiátovej soli kyseliny (S)-2N-t-butoxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptánovej ako bielej tuhej látky. Hmotnostné spektrum M+H 279 (65 %), 223 (100 %).

(iv) Hydrochlorid kyseliny (S)-2N-t-butoxykarbonyl-7N-(1-iminoetyl)-2,7-diamino-5-tioheptánovej

K formiátovej soli kyseliny (S)-2N-t-butoxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptánovej (2,154 g, 6,59 mmol) v etanole (50 ml) pri teplote miestnosti v atmosfére dusíka bol pridaný hydrochlorid S-(1-naftylmetyl)tioacetimidátu (3,70 g, 14,75 mmol), nasledovaný etanolom (50 ml). Miešanie pri teplote miestnosti viedlo k rozpusteniu tuhých podielov po 2 hodinách a roztok bol miešaný cez noc. Reakčná zmes bola koncentrovaná vo vákuu, zvyšok bol zmiešaný s vodou a vodná frakcia bola premytá dietyléterom (4 x 50 ml). Zakoncentrovanie vodnej frakcie vo vákuu poskytlo hydrochlorid kyseliny (S)-2N-t-butoxykarbonyl-7N-(1-iminoetyl)-2,7-diamino-5-tioheptánovej ako bielu hygroskopickú tuhú látku.

Hmotnostné spektrum M+H 320 (75 %), 264 (100 %), 220 (15 %).

(v) (S)-[2-(Iminoetylamo)etyl]-L-homocystein

K hydrochloridu kyseliny (S)-2N-t-butoxykarbonyl-7N-(1-iminoetyl)-2,7-diamino-5-tioheptánovej (3,086 g, 8,69 mmol) bol pomaly pridaný 4N HCl/dioxán (20 ml) a reakčná zmes bola pri teplote miestnosti miešaná cez noc. Reakčná zmes bola koncentrovaná vo vákuu, zvyšok bol rozpustený vo vode a premytý dietyléterom (3 x 20 ml). Vodná vrstva bola koncentrovaná vo vákuu za získania v názve uvedenej zlúčeniny ako hydrochloridu vo forme hygroskopickej tuhej látky.

Hmotnostné spektrum M+H 220;

$^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ : 2,1 - 2,35 (5H, m), 2,76 (2H, t), 2,87 (2H, t), 3,51 (2H, t), 4,12 (1H, t).

Príklad 5

Syntéza (S)-[2-(1-iminoetylamo)etyl]-L-homocysteínu

(i) (S)-t-Butyl-2N-t-butoxykarbonyl-7N-benzyloxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptanoát

K roztoku t-butylesteru N-t-butoxykarbonylcysteínu (vyrobeného redukciami t-butylesteru N-t-butoxykarbonylcystínu ditiotreitolum) (291 mg, 1 mmol) v suchom toluéne (20 ml) sa pridá tosylát N-benzyloxykarbonyletanolaminu (349 mg, 1 mmol) a 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undek-7-én (150 μl , 1 mmol) a zmes sa dôkladne mieša v atmosfére dusíka pri teplote miestnosti cez noc. Zmes bola rozdelená medzi 50 ml etylacetátu a 50 ml 1N vodnej HCl. Ďalší organický extrakt sa ďalej spojí a extrakty sa premyjú vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného, vodou a roztokom soli, potom sa sušia a odparia. Čistenie chromatografiou na kolóne poskytlo v názve uvedenú zlúčeninu. Hmotnostné spektrum M+H 469 (25 %), 369 (100 %).

Pri postupe alternatívnym spôsobom poskytla konverzia produktu z príklad 4, krok (ii) na t-butylester použitím buď di-O-t-butylacetátu N,N-dimetylformamidu alebo O-t-butyl-1,1,1-trichlóracetimidátu v názve uvedenej zlúčeniny ako bielu kryštalickú látku.

(ii) Formiátová soľ (S)-t-butyl-2N-t-butoxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptanoátu

K roztoku (S)-t-butyl-2N-t-butoxykarbonyl-7N-benzyl-oxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptanoátu (1 g, 2,1 mmol) v etanole (50 ml) bol pridaný hydroxid paladnatý na uhlí (20 %, 0,5 g) a mravčan amónny (1,34 g). Suspenzia bola varená pod spätným chladičom 2,5 hodiny ochladená a prefiltrovaná cez lôžko oxidu kremičitého, ktorý bol dobre premytý zmesou 1 : 1 etanol-voda a roztok bol odparený za poskytnutia v názve uvedenej zlúčeniny ako formiátovej soli.

Hmotnostné spektrum M+H 335.

(iii) Hydrochlorid (S)-t-butyl-2N-t-butoxykarbonyl-7N-(1-imoetyl)-2,7-diamino-5-tioheptanoátu

Surová formiátová soľ (S)-t-butyl-2N-t-butoxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptanoátu z kroku (ii) bola rozmiešaná na kašu s 50 ml tetrahydrofuránu. Kvapalina bola zliata a zmiešaná s hydrochloridom S-(1-naftylmetyl)tioacetimidátu (0,5 g, 2 mmol) a roztok bol miešaný 24 hodín pri teplote miestnosti. Rozpúšťadlo bolo odparené a zvyšok bol rozdelený medzi vždy 25 ml éteru a vody, s následným dvojnásobným premytím éterom, spätné vodné extrakty boli spojené a odparené za získania bielej pasty. Tá bola dvakrát lyofilizovaná za poskytnutia v názve uvedenej zlúčeniny ako bielej hygroskopickéj tuhej látky.

Hmotnostné spektrum M+H 376 (100 %), 320 (15 %), 276 (12 %).

(iv) (S)-S-[2-(1-Iminoetylamo)etyl]-L-homocystein

Odstánenie ochranných skupín z hydrochloridu (S)-t-butyl-2N-t-butoxykarbonyl-7N-(1-imoetyl)-2,7-diamino-5-tioheptanoátu použitím 4N HCl v dioxáne, bol spôsobmi analogickými s príkladom 4 krokom (v), získaný (S)-S-[2-(1-imoetylamo)etyl]-L-homocystein.

Charakteristické údaje pre zlúčeninu uvedenú v názve boli v súlade s hodnotami pre produkt z príkladu 4.

Biologická účinnosť

1. Inhibícia eNOS a iNOS na krúžkoch potkanej aorty

Inhibícia eNOS a iNOS *in situ* na krúžkoch z potkanej aorty bola testovaná meraním prírastku napätia krúžku spôsobeného inhibíciou NO syntázy. Na štúdium bazálneho napätia (odrážajúceho eNOS) boli pripravené krúžky hrudnej aorty s intaktným endotelom ako bolo opísané (Rees a ďalší (1989) Br. J. Pharmacol. 96, 418 až 424) a boli získané kumulatívne koncentračné krivky pre inhibítory v prítomnosti prahovej koncentrácie fenylefrínu ($ED_{10} \approx 10$ nM). Na štúdium indukovaného napätia hladkého svalstva (odrážajúceho iNOS) boli vystavené krúžky zbvavené endotelia LPS (0,1 µg/ml z *S. typhosa*) v prítomnosti fenylefrínu pri koncentrácii približne ED_{50} počas 6 hodín, ako bolo opísané skôr (Rees a ďalší (1990) Biochem. Biophys. Res. Commun., 173, 541 až 547). V priebehu toho času došlo k postupnej strate napätia v dôsledku indukcie iNOS. Potom boli pre inhibítory získané kumulatívne koncentračné krivky.

Výsledky sú uvedené v nasledujúcej tabuľke.

	iNOS IC_{50} (µM)	eNOS % inhibície pri 300 µM	selektivita i- NOS v.s. eNOS
Príklad 1	0,73	43	>500 krát
Príklad 2	0,45	53	>500 krát
Príklad 3	6,6	20	>150 krát

Naopak hydrochlorid 2-(1-imoetylamo)etylcysteínu (príklad 4 WO 93/13055) je v rovnakom teste len 33-krát selektívnejší pre iNOS proti eNOS.

2. Inhibícia nNOS v kôrových rezoch potkana

Vplyvy zlúčenín na nNOS v rezoch potkanieho mozgu boli určované podľa opisu vo Furline a ďalší (1994) J. Biol. Chem. 269, 26677 až 26683 a Lizasoain a ďalší (1995) J. Neurochem. 64, 636 až 642.

Bola meraná KCl (54 mM) - stimulovaná syntéza NO pomocou konverzie ^{14}C -arginínu na ^{14}C -citrulín v priebehu 2 hodín pri 37 °C podľa McIlwaina v nasekaných (0,2 mm x 0,2 mm) rezoch mozgovej kôry potkanov po 1 hodinovej perióde predinkubácie v neprítomnosti zlúčeniny alebo vysokej koncentrácie KCl.

Bolo zistené, že zlúčenina z príkladu 1 má hodnotu IC_{50} 220 µM, čo ukazuje na približne 300-násobnú selektivitu pre iNOS proti nNOS.

3. Spôsob určenia biologickej dostupnosti pri orálnom podaní zlúčenín inhibujúcich iNOS

Práce so zvieratami

Myši (tri zvieratá naraz) dostali intravenózne (10 mg/kg) a orálne (50 mg/kg) testovanú zlúčeninu vo vodnom roztoku. V určitých časových intervaloch po podaní boli odoberané vzorky krvi a centrifugáciou bola pripravená plazma. Vzorky boli skladované pri -20 °C do analýzy.

Analýza zlúčenín v plazme

Plazma (50 µl) bola zbvavená proteínov a zlúčeniny boli derivatizované reagentami s obsahom kvartérnej amóniovej zlúčeniny. Vzorky boli potom nastreknuté na systém HPLC a koncentrácia zlúčeniny bola stanovená hmotnostnou spektrometriou.

Farmakokinetická analýza

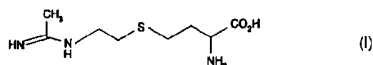
Koncentrácia plazmy získanej uvedeným spôsobom boli vložené do súboru farmakokinetických programov (PKCAL v 1,2 s) a údaje boli preložené nerozdeľovacou metódou. Orálna biologická dostupnosť zlúčenín bola určená porovnaním hodnôt po krivkou (AUC) vypočítaných pomocou programu pre orálny profil s hodnotami AUC pre intravenózneho profilu. Polčasy boli získané preložením jednotlivých časových bodov koncovej fázy intravenózneho profilu.

Bolo zistené, že (S)-[2-(1-imoetylamo)etyl]-L-homocystein má orálnu biologickú dostupnosť 55 % a polčas 5,7 hodín.

Pri opakovaní intravenózných a orálnych dávok 10 mg/kg u potkanov mal (S)-[2-(1-imoetylamo)etyl]-L-homocystein biologickú dostupnosť 92 %.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Amidínová zlúčenina vzorca (I)



alebo jej soľ, solvát alebo fyziologicky funkčný derivát.

2. Amidínová zlúčenina vzorca (I) podľa nároku 1, ktorou je:

(R/S)-[2-(1-imoetylamo)etyl]-DL-homocystein,

(S)-[2-(1-imoetylamo)etyl]-L-homocystein a

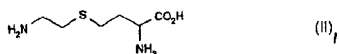
(R)-[2-(1-imoetylamo)etyl]-D-homocystein alebo

jej soľ, solvát a fyziologicky funkčný derivát.

3. Amidínová zlúčenina vzorca I, podľa nároku 1 alebo 2, ktorou je (S)-[2-(1-iminoetylamo)etyl]-L-homocysteín alebo jeho soľ, solvát alebo fyziologicky funkčný derivát.

4. Spôsob prípravy amidínovej zlúčeniny vzorca (I) podľa nároku 1 až 3 alebo jej soli, solvátu alebo fyziologicky funkčného derivátu, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že sa na:

i) zlúčeninu vzorca (II)



alebo jej enantiomér, soľ alebo chránený derivát, pôsobí zlúčeninou vzorca (III)



alebo jej soľou, kde L je odštiepitelná skupina.

5. Spôsob podľa nároku 4, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že ďalej zahŕňa krok odstránenia akýchkoľvek ochranných skupín.

6. Spôsob podľa nároku 4 alebo 5, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že ďalej zahŕňa krok oddelenia enantioméru zo zmesi enantiomérov.

7. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 4 až 6, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že ďalej zahŕňa krok premeny produktu na zodpovedajúcu soľ, solvát alebo fyziologicky funkčný derivát.

8. Amidínová zlúčenina vzorca (I) podľa nárokov 1 až 3 alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ, solvát alebo fyziologicky funkčný derivát na použitie na prevenciu alebo liečenie klinického stavu cicavca, ako je človek, u ktorého je indikovaný inhibítor syntázy oxidu dusnatého.

9. Amidínová zlúčenina podľa nároku 8, kde klinickým stavom je artritída, astma, ileus, neuropatická bolesť, syndróm dráždivého čreva a migréna.

10. Amidínová zlúčenina vzorca (I) podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 3 alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ, solvát alebo fyziologicky funkčný derivát na použitie v lekárstve.

11. Farmaceutický prostriedok, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že obsahuje amidínovú zlúčeninu vzorca (I) podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 3 alebo jej farmaceuticky prijateľnú soľ, solvát alebo fyziologicky funkčný derivát a farmaceuticky prijateľný nosič alebo pomocnú látku.

12. Farmaceutický prostriedok podľa nároku 11, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že ďalej obsahuje jednu alebo viacero ďalších terapeutických zložiek.

13. Použitie amidínovej zlúčeniny vzorca (I) podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 3 alebo jej farmaceuticky prijateľnej soli, solvátu alebo fyziologicky funkčného derivátu na výrobu farmaceutického prostriedku na prevenciu alebo liečenie klinického stavu, u ktorého je indikovaný inhibítor syntázy oxidu dusnatého.

14. Použitie podľa nároku 13, kde klinický stav je zvolený zo skupiny artritída, astma, ileus, neuropatická bolesť, syndróm dráždivého čreva a migréna.

15. Medziprodukt, ktorý je vybraný zo skupiny:
 kyselina (S)-7N-benzyloxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptánová,
 kyselina (R,S)-7N-benzyloxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptánová,
 (S)-t-butyl-2N-t-butoxykarbonyl-7N-benzyloxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptanoát,
 (S)-t-butyl-2N-t-butoxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptanoát,

(R,S)-t-butyl-2N-t-butoxykarbonyl-7N-benzyloxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptanoát, a
 (R,S)-t-butyl-2N-t-butoxykarbonyl-2,7-diamino-5-tioheptanoát,
 na výrobu amidínovej zlúčeniny vzorca (I) podľa nárokov 1 až 3.

Koniec dokumentu
