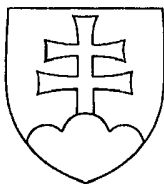


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD  
PRIEMYSELNÉHO  
VLASTNÍCTVA  
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

## ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA VYNÁLEZU

(21) Číslo dokumentu:

**564-96**

- (22) Dátum podania: 02.11.94  
(31) Číslo prioritnej prihlášky: 1243/93  
(32) Dátum priority: 03.11.93  
(33) Krajina priority: DK  
(40) Dátum zverejnenia: 04.12.96  
(86) Číslo PCT: PCT/DK94/00411, 02.11.94

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>:

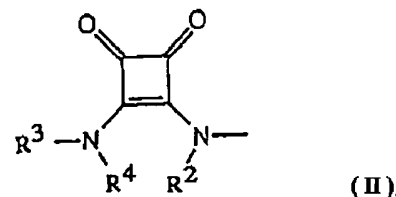
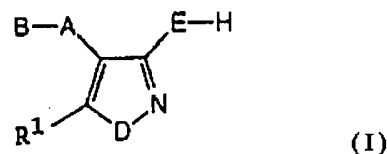
**C 07D 261/12**  
C 07D 261/18  
C 07D 413/04  
A 61K 31/41

(71) Prihlasovateľ: H. LUNDBECK A/S, Copenhagen-Valby, DK;

(72) Pôvodca vynálezu: Moltzen Lenz Sibylle, Gentofte, DK;  
Falch Erik, Vedbaek, DK;  
Bogeso Klaus Peter, Horsholm, DK;  
Krogsgaard-Larsen Povl, Allerod, DK;

(54) Názov prihlášky vynálezu: **Zlúčeniny 5-arylisoxazol-4-yl-substituovanej 2-amino karboxylovej kyseliny, farmaceutický prostriedok s ich obsahom a ich použitie**

(57) Anotácia:  
Zlúčeniny 2-aminokarboxylovej kyseliny substituovanej (5-arylisoxazol-4-yl)-om alebo (5-arylizotiazol-4-yl)-om, všeobecný vzorec (I), kde A je väzba alebo oddeľovacia skupina; B je skupina  $-\text{CH}(\text{NR}'\text{R}'')-\text{COOH}$ , kde  $\text{R}'$  a  $\text{R}''$  sú nezávisle vodíky, alebo  $\text{C}_{1-6}$  alkyl, alebo je B skupina vzorca (II), kde  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$  a  $\text{R}^4$  sú substituenty; alebo  $\text{R}^3$  a  $\text{R}^4$ , alebo  $\text{R}^4$  a  $\text{R}^2$  sú fspojené, čím tvoria kruh; E je O, S,  $\text{COO}$ ,  $(\text{CH}_2)_n-\text{COO}$ ,  $\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{COO}$ , alebo  $\text{S}-(\text{CH}_2)_n-\text{COO}$ , v ktorých n je celé číslo 1 až 6, 5-tetrazolylová skupina, 5-tetrazolyl- $\text{C}_{1-6}$ alkylová skupina, 3-hydroxyizoxazolylová skupina alebo 3-hydroxyizoxazolyl- $\text{C}_{1-6}$ alkylová skupina; D je O alebo S; a  $\text{R}^1$  je voliteľne substituovaná arylová alebo heteroarylová skupina; sú ligandmi receptorov excitačných aminokyselín, vhodné na liečenie cerebrálnej ischemie, Huntingtonovej choroby, epileptických porúch, Parkinsonovej choroby, Alzheimerovej choroby, schizofrénie, bolesti, depresie a anxiózy.



Zlúčeniny 5-arylizoxazol-4-yl-substituovanej 2-aminokarboxylovej kyseliny, farmaceutický prostriedok s ich obsahom a ich použitie

### Oblasť techniky

Vynález sa týka novej triedy derivátov 5-arylizoxazol-4-yl-substituovaných 2-aminokarboxylových kyselín, ktoré sú ligandami receptorov excitačných aminokyselín (EAA), vhodné na liečenie cerebrálnej ischémie, Huntingtonovej choroby, epileptických porúch, Parkinsonovej choroby, schizofrénie, bolesti, depresie a anxiózy.

### Doterajší stav techniky

V dôsledku rozsiahlych štúdií mechanizmov dráždenia centrálného nervového systému (CNS) počas posledných troch dekád panuje teraz názor, že (S)-glutamát, (Glu) je hlavným EAA neurotransmitérom v CNS (Lodge, D., *Excitatory Amino Acids in Health and Disease*. J. Wiley & Sons: Chichester, 1988; Wheal, H., Thomson, A., *Excitatory Amino Acids and Synaptic Transmission*. Academic Press: London, 1991; Meldrum, B.S., *Excitatory Amino Acids Antagonists*. Blackwell Sci. publ.: Oxford, 1991; Krosggaard-Larsen, P.; Hansen, J.J., *Excitatory Amino Acids Receptors. Design of Agonist and Antagonists*. E. Horwood: Chichester, 1992). Neurotransmisia pomocou Glu je sprostredkovaná veľkým počtom receptorov, klasifikovaných do najmenej piatich heterogénnych skupín receptorov nazvaných triedy NMDA, AMPA, kyseliny kainovej, metabotropných, a L-AP4 (Monaghan, D.T., a spol., *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1989, 29, 365 až 402; Watkins, J.C.; Krosggaard-Larsen, P.; Honoré, T., *Trends Pharmacol. Sci.* 1990, 11, 25 až 33; Simon R.P., *Excitatory Amino Acids*. Thieme Med. Publ.: New York, 1992).

Existuje veľmi silný dôkaz podporujúci názor, že rozsiahla excitácia sprostredkovaná EAA receptormi ("excitotoxicita") je faktor s veľkým významom pri cerebrálnej ischémii

nasledujúcej po mozgovej porážke, poranení hlavy, asfyxii, subarachnoidnej hemoragii, zástave srdca a iných situáciách (Lodge, D. 1988, citované vyššie; Medrum, B. S., 1991 citované vyššie). Na modeloch so zvieratami bolo ukázané, že škody spôsobené rôznymi ischemickými stavmi sa môžu spomaliť podávaním Glu antagonistických látok. Hoci je teda relatívny význam rôznych tried EAA receptorov v javoch podliehajúcich ischemickému stavu nejasný, všeobecne je prijaté, že antagonistické látky EAA receptorov sú potenciálnymi terapeutickými prostriedkami pre tieto stavy.

Nahromadenie dôkazov získaných z rôznych smerov neurochemických a farmakologických výskumov poukazuje, že vykoľajený mechanizmus EAA receptorov, pravdepodobne zahrnujúc "excitotoxicitu", hrá úlohu pri Huntingtonovej chorobe (Young, A.B.; a spol., *Science* 1988, 241, 981 až 983), epileptických poruchách (Krogsgaard-Larsen, P.; Hansen, J.J. 1992, citované vyššie), Parkinsonovej chorobe (Klockgether, T.; Turski, L., *Trends. Neurosci.* 1989, 19, 285 až 286) a Alzheimerovej chorobe (Greenamyre, T.J.; Maragos, W.F., *Cerebrovasc. Brain. Metab. Rev.* 1993, 5, 61 až 94; Francis, P. T. a spol., *J. Neurochem.* 1993, 60, 1589 až 1604).

Centrálne EAA receptory môžu byť ďalej zahrnuté v synaptických mechanizmoch, ktoré sú základom schizofrénie (Reynolds, G. P., *Trends. Pharmacol. Sci.* 1992, 13, 116 až 121, bolesti a úzkosti (Drejer, J. In: *Excitatory Amino Acid Receptors: Design of Agonists and Antagonists* (Eds. Krogsgaard-Larsen, P.; Hansen, J.J.), E. Horwood: Chichester 1992, strany 352 až 375) a depresie (Trullas, R., Skolnick, P., *Eur. J. Pharmacol.* 1990, 185, 1 až 10 a Trullas, R. a spol., *Eur. J. Pharmacol.* 1991, 203, 379 až 385). Zdá sa teda, že znížená funkcia EAA receptorov (EAA hypoaktivita) hrá úlohu napríklad pri schizofrénii (Deutsch, S.I. a spol., *Clin. Neuropharmacol.* 1989, 12, 1 až 13) a niektorých klinických symptómoch prejavujúcich sa pri Alzheimerovej chorobe (Greenamyre, J.T. a spol., *Prog. Neuro-Psychopharmacol. & Biol. Psychiat.* 1988, 12, 421 až 530). Je možné, že "excitoxicity" ako aj EAA hypoaktivita sú zahrnuté

v komplexných mechanizmoch spojených s Alzheimerovou chorobou (Greenamyre, J.T. 1988, citované vyššie; Greenamyre, J.T., Maragos, V.F. 1993, citované vyššie).

Podľa toho sa ligandy EAA receptorov považujú za užitočné pri liečení cerebrálnej ischemie, Huntingtonovej choroby, epileptických porúch, Parkinsonovej choroby, Alzheimerovej choroby, anxiózy, schizofrénie, depresie a bolesti.

Väčšina doteraz testovaných agonistických látok EAA receptorov, vykazuje v modelových systémoch viac alebo menej vyslovenú neurotoxicitu a v dôsledku toho môže byť klinické použitie takýchto látok obmedzené (Carlsson, M., Carlsson, A., *Trends. Neurosci.* 1990, 13, 272 až 276) (Willetts, J., Balster, R.L., Leander, J.D., *Trends Pharmacol. Sci.* 1990, 11, 423 až 428).

Čiastočne EAA agonistické látky vykazujúce určitú rovnováhu medzi agonizmom a antagonizmom, môžu naopak mať značný terapeutický význam, porovnaj vyššie uvedené indikácie, (Greenamyre, J.T. 1988, citované vyššie, Christensen, I.T. a spol., *Drug. Des. Del.* 1989, 5, 57 až 71; Francis, P.T. a spol., *J. Neurochem.* 1993, 60, 1589 až 1604). Čiastočne agonistické látky môžu, účinnosťou ich EAA antagonistického profilu, vykazovať terapeuticky užitočnú neuroprotekciiu a zároveň byť dostatočne agonistickými na zabránenie celkovej blokady neurotransmisie sprostredkovanej danými EAA receptormi.

ATPA, 5-terc.butyl analóg AMPA (kyselina (RS)-2-amino-3-(3-hydroxy-5-metylizoxazol-4-yl)propiónová), bola opísaná ako systemicky aktívna, zatiaľ čo nebolo zistené, že vykazuje neurotoxické účinky u zvierat (Ornstein, P.L. a spol., *J. Med. Chem.* 1993, 36, 2046 až 2048; Lauridsen, J., Honoré, T., Krogsgaard-Larsen, P., *J. Med. Chem.* 1985, 28, 668 až 672).

Podobne ako pre AMPA samotnú, pre mnohé mono- a bicyklické AMPA analógy sa zistilo, že vykazujú selektívne agonistické účinky u AMPA receptorov (Hansen, J.J., Krogsgaard-Larsen, P. *Med. Res. Rev.* 1990, 10, 55 až 94; Krogsgaard-Larsen, P., Hansen, J.J. 1992, citované vyššie). Jeden

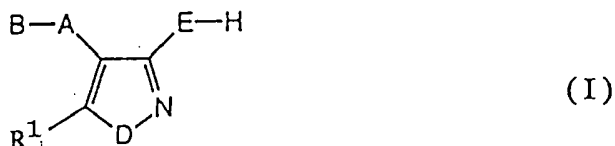
z týchto analógov, kyselina (*RS*)-2-amino-3-(3-hydroxy-5-fenylizoxazol-4-yl)propiónová (APPA), v ktorom metylová skupina AMPA bola nahradená fenylovou skupinou, vykazuje slabý, ale jedinečný čiastočný agonistický profil (Christensen, I.T. a spol. 1989, citované vyššie).

Ako vidno z vyššie uvedených dôkazov ne-neurotoxické, CNS-aktívne ligandy EAA receptorov s dobrou penetráciou do CNS sú veľmi žiadané na liečenie rôznych zmienených chorôb, preto je predmetom tohto vynálezu poskytnúť takéto nové liečivá.

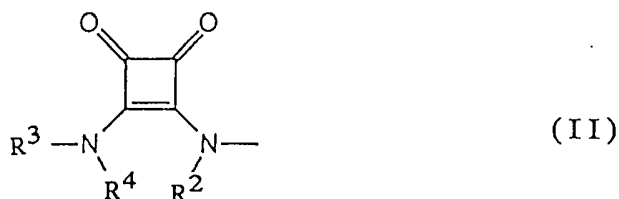
### Podstata vynálezu

Teraz sa zistilo, že nová trieda zlúčenín (5-arylizoxazol-4-yl)-substituovaných 2-aminokarboxylových kyselín sú silné ligandy EAA receptorov.

Podľa toho sa tento vynález týka novej triedy zlúčenín (5-arylizoxazol-4-yl)-substituovaných 2-aminokarboxylových kyselín všeobecného vzorca I



kde A je väzba alebo oddeľovacia skupina vybratá z  $C_{1-6}$ alkylénu,  $C_{2-6}$ alkenylénu alebo  $C_{2-6}$ alkinylénu, a cykloalkylénu; B je vybratá zo skupiny  $-CH(NR'R'')-COOH$ , kde  $R'$  a  $R''$  sú nezávisle vodík, alebo  $C_{1-6}$ alkyl a skupina vzorca II



kde  $R^2$ ,  $R^3$  a  $R^4$  sú nezávisle vybraté zo skupiny pozostávajúcej z

a) vodíka,  $C_{1-6}$ alkylu,  $C_{2-6}$ alkenylu alebo  $C_{2-6}$ alkinylu, a cykloalk(en)ylu, cykloalk(en)ylu- $C_{1-6}$ alk(en/in)ylu, fenyl- $C_{1-6}$ alkylu, tienyl- $C_{1-6}$ alkylu a

b)  $C_{1-6}$ alkylu,  $C_{2-6}$ alkenylu a  $C_{2-6}$ alkinylu, v ktorých je jeden alebo viac uhlíkových atómov nahradených s N, O a/alebo S; alebo

$R^3$  a  $R^4$  sú spojené, čím tvoria  $C_{2-6}$ alkylénovú,  $C_{2-6}$ alkenylénovú alebo  $C_{2-6}$ alkinylénovú skupinu; alebo sú

$R^4$  a  $R^2$  spojené, čím tvoria  $C_{1-3}$ alkylénovú,  $C_{2-3}$ alkenylénovú alebo  $C_{2-3}$ alkinylénovú skupinu voliteľne mono- alebo di-substituovanú hydroxylom alebo metylom alebo  $CH_2-O-CH_2$ ;

E je O, S, COO,  $(CH_2)_n-COO$ ,  $O-(CH_2)_n-COO$ , alebo  $S-(CH_2)_n-COO$ , v ktorých n je celé číslo 1 až 6, 5-tetrazolylová skupina, 5-tetrazolyl- $C_{1-6}$ alkylová skupina, 3-hydroxyizoxazolylová skupina alebo 3-hydroxyizoxazolyl- $C_{1-6}$ alkylová skupina;

D je O alebo S; a

$R^1$  je arylová alebo heteroarylová skupina alebo arylová alebo heteroarylová skupina substituovaná s jedným alebo viacerými substituentami vybratými z halogénu,  $C_{1-6}$ alkylu,  $C_{1-6}$ alkoxyly, hydroxyly,  $C_{1-6}$ alkyltioskupiny,  $C_{1-6}$ alkylsulfonyly,  $C_{1-6}$ alkylaminoskupiny alebo di- $(C_{1-6}$ alkyl)aminoskupiny, kyanoskupiny, nitroskupiny, trifluórmetyly alebo trifluórmetyltioskupiny;

za predpokladu, že A je metylén, B je skupina  $-CH(NH_2)-COOH$ , E je O, D je O a  $R^1$  je fenyl alebo fenyl substituovaný halogénom alebo metoxy skupinou; potom látka musí byť v enantiomémerne čistej forme.

V inom aspekte sa tento vynález týka spôsobu prípravy nových zlúčenín vzorca I.

V ešte inom aspekte sa tento vynález týka farmaceutických zmesí obsahujúcich zlúčeninu vzorca I spolu s vhodným farmaceuticky prijateľným nosičom alebo zriedovadlom.

V ešte inom aspekte sa tento vynález týka použitia zlúčeniny vzorca I na prípravu farmaceutických zmesí na lieče-

nie cerebrálnej ischémie, Huntingtonovej choroby, epileptických porúch, Parkinsonovej choroby, Alzheimerovej choroby, schizofrénie, bolesti, depresie a anxiózy.

Bolo zistené, že niektoré zo zlúčenín podľa tohto vynálezu sú selektívne ligandy AMPA receptorov *in vitro*, s afinitami v nízkych mikromolových koncentráciách, kým iné látky sa selektívne viažu na NMDA receptory *in vitro*. O ďalších látkach podľa tohto vynálezu sa zistilo, že vykazujú istú *in vitro* afinitu aj k AMPA aj NMDA receptorom. Ďalej bolo zistené, že niektoré z látok podľa tohto vynálezu sú agonistické, kým iné sú antagonistické. Teda látky podľa tohto vynálezu sú užitočné na liečenie cerebrálnej ischémie, Huntingtonovej choroby, epileptických porúch, Parkinsonovej choroby, Alzheimerovej choroby, schizofrénie, bolesti, depresie a anxiózy.

Niektoré zo zlúčenín vzorca I môžu existovať ako optické izoméry a takéto optické izoméry sú tiež zahrnuté do vynálezu.

Vo všeobecnom vzorci I pojem  $C_{1-6}$ alkyl je určený na označenie alkylovej skupiny s priamym alebo rozvetveným reťazcom, ktorá má od 1 do 6 uhlíkových atómov včítane, ako sú napríklad metyl, etyl, 1-propyl, 2-propyl, 1-butyl, 2-butyl, 2-metyl-2-propyl atď. Podobne  $C_{2-6}$ alkenyl a  $C_{2-6}$ alkinyl označujú takéto skupiny s priamym alebo rozvetveným reťazcom, ktoré majú 2 až 6 uhlíkových atómov a  $C_{1-6}$ alkylén,  $C_{2-6}$ alkenylén a  $C_{2-6}$ alkinylén označuje takéto divalentné skupiny s rozvetveným alebo priamym reťazcom. Cykloalkyl označuje takúto skupinu s 3 až 7 uhlíkovými atómami.

Pojem "alk(en/in)yl" znamená, že skupinou môže byť alkylová, alkenylová alebo alkinylová skupina.

Pojem "väzba" (definovaný pre A) znamená, že B je naviazané priamo v polohe 4 izoxazolového kruhu.

Halogén znamená fluór, chlór, bróm alebo jód.

Pojem "aryl" je určený na označenie karbocyklickej aromatickej monocyklickej skupiny alebo bicyklickej skupiny s kondenzovanými jadrami alebo bifenylovej skupiny a pojem "heteroaryl" je určený na označenie aromatickej monocyklickej

kej alebo bicyklickej skupiny obsahujúcej najmenej jeden heteroatóm. Príkladmi takýchto skupín sú päťčlenné aromatické heteroarylové skupiny obsahujúce 1 až 4 heteroatómy vybraté z N, O a S, ako je napríklad tienyl, furyl, pyrolyl, oxazolyl, izoxazolyl, tiazolyl, izotiazolyl, pyrazolyl, imidazolyl, triazolyl, oxadiazolyl, tiadiazolyl a tetrazolyl. Ďalšími príkladmi sú benzotienyl, benzofuranyl, indolyl, fenyl, pyridyl, pyrimidinyl, pyridazinyl, pyrazinyl, naftyl, chinolyl, chinazolinyl, chinoxalinyl a cinolinyl.

Niektoré zo zlúčenín všeobecného vzorca I môžu existovať ako farmaceuticky prijateľné soli, ktoré sú tiež zahrnuté do vynálezu.

Soli zlúčenín všeobecného vzorca I sú soli s netoxickými organickými alebo anorganickými kyselinami, ako napríklad s kyselinou maleínovou, fumárovou, benzoovou, askorbovou, šťavelovou, vínou, mliečnou a jablčnou, alebo s anorganickými kyselinami, ako napríklad s kyselinou chlorovodíkovou, bromovodíkovou, sírovou, fosforečnou a dusičnou, alebo to môžu byť soli anorganických zásad, ako sú napríklad soli alkalických kovov, napríklad soli sodné, draselné alebo lítne, soli kovov alkalických zemín, napríklad vápnika alebo horčíka, alebo amónne soli alebo soli organických zásad.

A vo vzorci I je výhodne väzba alebo  $C_1-C_3$  alkylén.

B je výhodne  $-CH(NR'R'')-COOH$ , kde  $R'$  a  $R''$  sú vodík alebo skupina so vzorcom II, kde  $R^2$ ,  $R^3$  a  $R^4$  je vodík alebo nižší alkyl, alebo  $R^4$  a  $R^2$  spojené tvoria  $C_1-C_3$ alkylénovú skupinu. Najvýhodnejšie je B  $-CH(NH_2)-COOH$  alebo skupina vzorca II, kde všetky  $R^2$ ,  $R^3$  a  $R^4$  sú vodíky.

E je výhodne O, COO,  $-O-(CH_2)_n-COO$  ( $n = 1, 2$  alebo  $3$ ) alebo tetrazolyl a D je kyslík.

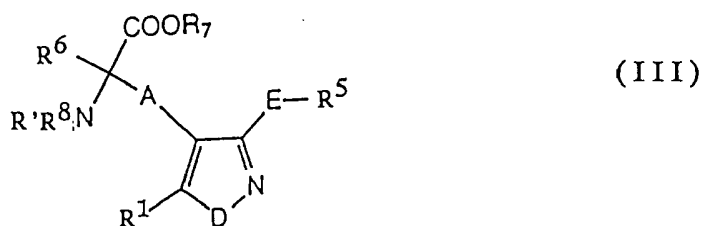
Zvlášť vhodnou skupinou  $R^1$  sú tienyl, substituovaný tienyl, oxazolyl, izoxazolyl, tiazolyl, izotiazolyl, pyrazolyl, imidazolyl, oxadiazolyl, substituovaný oxadiazolyl, tiadiazolyl, triazolyl, tetrazolyl, pyridyl, fenyl, bifenyl a naftyl. Výhodnými skupinami sú 2-tienyl, 3-tienyl, fenyl, 2-pyridyl, 4-pyridyl, a 2-tienyl a fenyl substituovaný halogénom alebo metylom.



Vo výhodnom uskutočnení vynálezu je A väzba alebo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>alkylén, B je -CH(NH<sub>2</sub>)-COOH alebo skupina vzorca II, kde všetky R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> a R<sup>4</sup> sú vodíky, E a D sú oba kyslíky a R<sup>1</sup> je 2-pyridyl, 4-pyridyl, tienyl, fenyl, substituovaný tienyl alebo substituovaný fenyl.

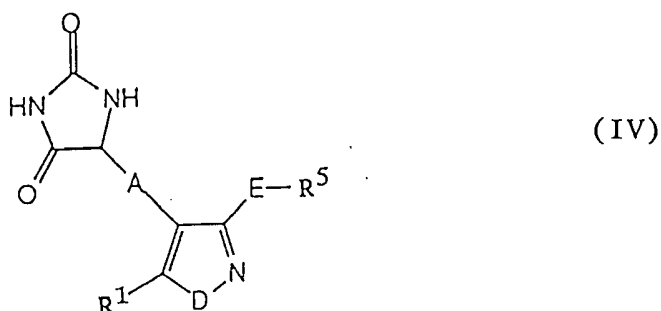
Podľa tohto vynálezu sa nové zlúčeniny vzorca I pripravujú spôsobom, ktorý zahrnuje:

a) na získanie zlúčeniny vzorca I, kde B je skupina -CH(NR'R'')-COOH, kde R' a R'' sú podľa skôr uvedenej definície, deprotektovanie zlúčeniny všeobecného vzorca III



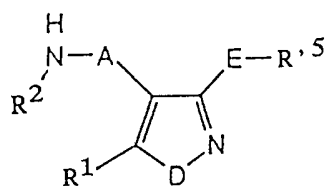
kde R<sup>1</sup>, R', D a E sú podľa skôr uvedenej definície, R<sup>5</sup>, R<sup>7</sup> a R<sup>8</sup> sú ochranné skupiny, R<sup>6</sup> je vodík alebo ochranná skupina;

b) na získanie zlúčeniny vzorca I, kde B je skupina -CH(NR'R'')-COOH, kde R' a R'' sú oba vodíky, deprotektovanie zlúčeniny všeobecného vzorca IV

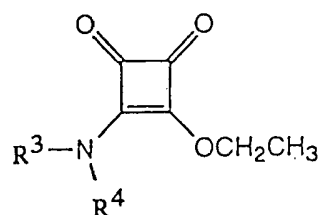


kde  $R^1$ ,  $R^5$ , A, D a E sú podľa skôr uvedenej definície;

c) na získanie zlúčeniny vzorca I, kde B je skupina vzorca II, adično-eliminačnú reakciu zlúčeniny všeobecného vzorca V so zlúčeninou všeobecného vzorca VI:



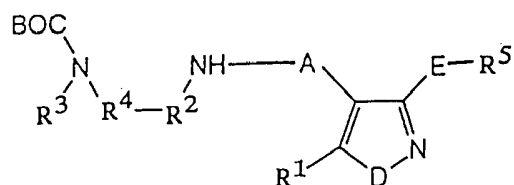
(V)



(VI)

kde  $R^1$  až  $R^4$ , A, D a E sú podľa skôr uvedenej definície a  $R^5$  je vodík alebo ochranná skupina;

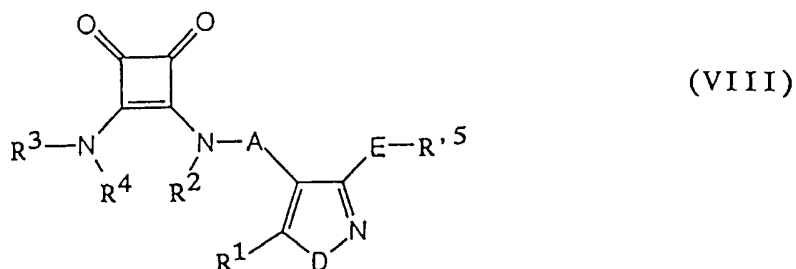
d) na získanie zlúčeniny vzorca I, kde B je skupina vzorca II, kde  $R^4$  a  $R^2$  spojené tvoria  $C_{1-3}$ alkylénovú,  $C_2-C_3$ alkenylénovú alebo  $C_2-C_3$ alkinylénovú skupinu voliteľne mono- alebo di-substituovanú hydroxyskupinou alebo metylom, reakciu zlúčeniny vzorca VII



(VII)

kde  $R^1$ ,  $R^3$ , A, D a E sú podľa skôr uvedenej definície;  $R^4$  a  $R^2$  sú spolu spojené a tvoria skupinu, ako je definované vyššie, a BOC je terc.butoxykarbonyl, s 3,4-dietoxy-3-cyklobutén-1,2-diómom a následne uzavretie kruhu a deprotektovanie;

e) na získanie zlúčeniny vzorca I, kde B je skupina vzorca II a jeden alebo viaceré  $R^2$  až  $R^4$  sú iné ako vodík, alkyláciu zlúčeniny všeobecného vzorca VIII:



kde  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ , A, D a E sú podľa skôr uvedenej definície, najmenej jeden  $R^2$  až  $R^4$  je však vodík a  $R^5$  je vodík alebo ochranná skupina.

V spôsobe podľa tohto vynálezu sú výhodné nasledujúce ochranné skupiny:

$R^5$  a  $R'^5$ : nižší alkyl, benzyl alebo benzénsulfonylová skupina;  $R^6$ : nižší alkoxykarbonyl,  $R^7$ : nižší alkyl a  $R^8$  nižší alkylkarbonyl.

Jednotlivý krok deprotektovania spôsobu podľa a) sa uskutočňuje opracovaním zlúčeniny vzorca II s vhodnou vodnou kyselinou, výhodne vo vodnom roztoku HBr (48 % hmotnostných), nasýtenom roztoku HBr v kyseline octovej alebo 2 - 12 mol/l vodným roztokom HCl. Deprotekcia sa tiež môže uskutočniť postupnými krokmi pomocou vodných roztokov kyselín, ako je napríklad 1 až 12 mol/l HCl, vodných roztokov zásad, ako je napríklad 1 až 8 mol/l NaOH a vodných roztokov kyselín, ako je napríklad 1 až 12 mol/l HCl, alebo postupne vo vodnom roztoku zásady, ako je napríklad 1 až 8 mol/l NaOH a vodnom roztoku kyseliny, ako je napríklad 1 až 12 mol/l HCl. Ak  $R^5$  je benzyl deprotekcia skupiny E sa alternatívne uskutočňuje katalytickou hydrogenáciou, vhodne pomocou paládia ako katalyzátora, buď pred alebo po deprotekcii  $\alpha$ -aminokyseliny.

Východiskové materiály všeobecného vzorca III sa výhod-

ne získajú ako je opísané Christensenom, I.T. a spol., *Drug Design and Delivery* 1989, 5, 57 až 71 a Christensenom, S. B. a spol., *Acta Chem. Scand.* 1978, B32, 27 až 30. Východiskové materiály vzorca III, kde E je COO,  $(\text{CH}_2)_n\text{-COO}$ ,  $\text{O}-(\text{CH}_2)_n\text{-COO}$ ,  $\text{S}-(\text{CH}_2)_n\text{-COO}$ , kde n je 1 až 6, 5-tetrazolyl- $\text{C}_{1-6}$ alkylová skupina alebo 3-hydroxyizoxazolyl- $\text{C}_{1-6}$ alkylová skupina sa výhodne získajú tak, ako je opísané v Krogsgaard-Larsen, P. a spol., *J. Med. Chem.*, 1991, 34, 123 až 130, Madsen, U., *Med. Chem. Lett.*, 1993, 8, 1649 až 1654 a Madsen, U. a Wong, E., *J. Med. Chem.*, 1992, 35, 107 až 111.

Východiskové materiály vzorca III, kde  $\text{R}^1$  je heteroarylová skupina, ktorá je nestabilná v kyslom prostredí, sa výhodne pripravujú z kyseliny (3-alkoxy-4-metylizoxazol-5-yl)-karboxylovej tvorbou heteroarylu v polohe 5, bromáciou 4-metylizoxazolovej skupiny a následne alkyláciou s prekursorom aminokyseliny, napríklad dietylacetamidomalonátom. Alkylovaná chránená 3-hydroxyizoxazolová skupina môže alebo nemusí byť znovu chránená s vhodnou ochrannou skupinou, ako napríklad benzénsulfonylovou skupinou, pred syntézou, počas alebo po syntéze heteroarylu v polohe 5 izoxazolu. Kyselina (3-alkoxy-4-metylizoxazol-5-yl) karboxylová sa výhodne získava z 3-alkoxy-4,5-dimetylizoxazolu pripraveného tak, ako je opísané Hansenom, J.J., *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, 1, 1980, 1826 až 33, bromáciou a následnou oxidáciou 5-metylizoxazolovej skupiny na zodpovedajúci derivát 5-izoxazolkarboxylovej kyseliny.

V iných prípadoch sa východiskové materiály vzorca III, kde  $\text{R}^1$  je napríklad pyridylová skupina, vhodne získajú spôsobom opísaným K. Tomitom, *Ann. Sankyo Res. Lab.*, 1973, 25, 3 až 5. Ochrana 3-hydroxyskupiny v získanom 3-hydroxy-5-arylizoxazole, nasledovaná zavedením hydroxymetylovej skupiny v polohe 4 izoxazolového kruhu vedie k medziproduktu, ktorý sa ľahko konvertuje na východiskový materiál vzorca III.

V b) sa jednotlivý krok deprotektovania uskutočňuje operovaním zlúčeniny vzorca IV s vhodným vodným roztokom kyseliny alebo zásady, vhodne 2 až 8 mol/l vodným roztokom ky-

seliny chlorovodíkovej. Deprotekcia sa tiež môže vykonať v postupných krokoch pomocou vodných roztokov kyselín a vodných roztokov zásad, ako je zmienené vyššie pre spôsob a). Hydantoínový kruh sa tiež môže štiepiť pomocou vodného roztoku  $\text{Ba(OH)}_2$ , vodnej 10 až 70 % kyseliny sírovej alebo použitím enzýmov, ako napríklad hydantoináz. Štiepenie hydantoínového kruhu sa môže uskutočňovať buď pred alebo po deprotekcii skupiny E.

Hydantoínové kruhy v zlúčeninách všeobecného vzorca IV sa vhodne tvoria podľa metód opísaných Wareom. E., *Chem. Rev.*, 1950, 46, 403 až 470. Štiepenie hydantoínového kruhu sa vhodne uskutočňuje analogicky ako v spôsoboch opísaných Currym, K., a spol., *J. Med. Chem.* 1988, 31, 864 až 867, Farringtonom, G.K. a spol., *J. Med. Chem.* 1987, 30, 2062 až 2067, Grunewaldom, G.L. a spol., *J. Med. Chem.* 1980, 23, 754 až 758, Hiroiom, K. a spol., *Chem. Pharm. Bull.* 1968, 16, 444 až 447 alebo Starkom, G. R. a spol., *J. Biol. Chem.* 1963, 238, 214 až 225.

Východiskový materiál na prípravu zlúčenín vzorca IV sa môže získať analogicky ako v spôsobe opísanom Madsenom, U., *Eur. J. Med. Chem.* 1993, 28, 791 až 800.

Ak  $\text{R}^5$  je benzyl, deprotekcii skupiny E sa vhodne uskutočňuje hydrogenáciou pomocou paládia ako katalyzátora.

Adično-eliminácia reakcia podľa spôsobu c) sa výhodne uskutočňuje v protickom organickom rozpúšťadle, ako je napríklad alkohol, výhodne v prítomnosti vhodnej anorganickej zásady, ako napríklad vodného roztoku NaOH pri laboratórnej teplote. Medziprodukty vzorca VI sa môžu pripraviť spôsobmi opísanými Cohenom. S. a spol., *J. Amer. Chem. Soc.* 1966, 88, 1533 až 1536, EP-A2-0496561 alebo Kinneyom W. A. a spol., *J. Med. Chem.* 1992, 35, 4720 až 4726.

Medziprodukt všeobecného vzorca V sa ľahko získa Gabrielovou syntézou primárnych amínov, ako je opísané Sheehanom, J.C. a spol., *J. Am. Chem. Soc.* 1950, 72, 2786 až 88. Alkylhalogenidové východiskové materiály pre túto syntézu sa výhodne získajú tak, ako je opísané vzhľadom na východiskové materiály použité v spôsobe a), pozri vyššie.

Deprotekcia sa vhodne vykoná pomocou vodného roztoku kyseliny alebo vodného roztoku zásady, výhodne 0,5 až 8 mol/l HCl alebo 0,5 až 8 NaOH, buď pri laboratórnej teplote alebo pri zvýšených teplotách. Ak R'<sup>5</sup> je benzyl, deprotekcia sa alternatívne uskutočňuje hydrogenáciou pomocou paládia ako katalyzátora.

Pri spôsobe d) sa reakcia a následné uzavretie kruhu a deprotekcia uskutočňujú tak, ako je opísané Kinneyom a spol., EP-A2-0496561.

Východiskové materiály vzorca VII sa môžu získať reaganím napríklad 6-brómmetylizoxazolu získaného tak, ako je opísané vzhľadom na východiskové materiály v spôsobe a) s mono-BOC-chráneným alkyléndiamínom, pozri EP-A2-0496561.

Alkylácia zlúčenín všeobecného vzorca VIII podľa spôsobu e) sa výhodne uskutočňuje v inertnom organickom rozpúšťadle, ako je napríklad vhodný alkohol, ketón alebo dimetylformamid, výhodne v prítomnosti vhodného roztoku zásady, ako je napríklad hydrid sodný, uhličitan draselný alebo trietylamin, ako je opísané Kinneyom, W.A., EP-A2-0496561. Východiskové materiály vzorca VIII sa získajú spôsobom c).

Ak sa na prípravu 3-hydroxyizoxazolov, ktoré sa znova použijú ako východiskový materiál na získanie zlúčeniny III, V a VII-VIII, použijú ako východiskové materiály  $\beta$ -ketoestery, sú tieto buď komerčne dostupné alebo sa môžu vhodne pripraviť podľa metód opísaných Casonom, J. a spol., *J. Org. Chem.* 1953, 18, 1594 až 1600 a Hannickom S.M. a spol., *J. Org. Chem.* 1983, 48, 3833 až 3835. Zodpovedajúce izotiazolové východiskové materiály sa môžu pripraviť podľa spôsobov opísaných v EP-A1-0 336 555.

Rozlíšenie na optické antipódy zlúčenín všeobecného vzorca I sa vhodne uskutočňuje pomocou tvorby diastereoizomérnych solí pomocou opticky aktívnych kyselín alebo zásad, napríklad 1-fenyletylamínu. V niektorých prípadoch sa rozlíšenie na optické antipódy vhodne uskutočňuje tvorbou diastereoizomérnych zlúčenín alebo postupne separáciou diastereoizomérov kolónovou chromatografiou alebo kryštalizáciou.

Solí látok podľa tohto vynálezu sa môžu ľahko pripraviť

metódami dobre známymi v tejto oblasti, t.j. reagovaním buď s ekvivalentným množstvom kyseliny alebo zásady v rozpúšťadle miešateľnom s vodou, ako je napríklad acetón alebo etanol, s oddelením soli zakoncentrovaním a chladením, alebo reagovaním s prebytkom kyseliny alebo zásady v rozpúšťadle nemiešateľnom s vodou, ako je napríklad etyléter alebo chloroform, s oddelením požadovanej soli priamo. Tieto soli sa môžu tiež pripraviť klasickou metódou podvojného rozkladu vhodných solí.

Zlúčeniny všeobecného vzorca I a ich farmaceuticky prijateľné kyslé adičné soli môžu byť podávané akýmkoľvek vhodným spôsobom, napríklad orálne alebo parenterálne, a tieto látky môžu byť v akejkoľvek vhodnej forme pre takéto podávanie, napríklad vo forme tabliet, kapsúl, práškov, sirupov alebo roztokov alebo disperzií pre injekcie.

Účinná denná dávka zlúčeniny všeobecného vzorca I alebo jej farmaceuticky prijateľnej soli je od 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  do 50  $\text{mg}/\text{kg}$  hmotnosti tela.

#### Príklady uskutočnenia vynálezu

Vynález je ďalej ilustrovaný pomocou príkladov, ktoré nie sú zostavené ako ohraničenie vynálezu.

Všetky teploty topenia sa určili na prístroji Büchi SMP-20 a sú nekorigované. Spektrá  $^1\text{H}$  NMR a  $^{13}\text{C}$  NMR sa zaznamenali na spektrometri Bruker 250 MHz (250,13 MHz pre  $^1\text{H}$ -NMR a 62,90 MHz pre  $^{13}\text{C}$  NMR) za použitia TMS ako interného štandardu, ak to nie je uvedené inak. V prípade látok z názvu odstavcov 13a, 13b, 14c a 14d, sa spektrá  $^1\text{H}$  NMR a  $^{13}\text{C}$  NMR zaznamenali na spektrometri Bruker 200 MHz (200,0 MHz pre  $^1\text{H}$ -NMR a 50,3 MHz pre  $^{13}\text{C}$  NMR) za použitia TMS ako interného štandardu, ak to nie je uvedené inak.

Hmotnostné spektrá sa získali na Quattro MS-MS systéme od VG Biotech, Fisons Instruments, Manchester, GB. Systém MS-MS bol spojený s HP 1050 modulárnym HPLC systémom. Vzorka s objemom 20 až 50  $\mu\text{l}$  (0,1 až 0,05  $\text{mg}/\text{l}$ ) rozpustená v zmesi acetonitril/voda/koncentrovaný vodný roztok amoniaku (25 %

hmotnostných) = 25:25:1 (v/v/v) sa zaviedla pomocou automatického dávkovača pri toku 30  $\mu$ l/min do iónového zdroja. Spektrá sa získali za štandardných pracovných podmienok na získanie informácie o molekulovej hmotnosti (MH<sup>+</sup>). Pozadie sa odčítalo.

Enantiomérený exces (ee) enantiomérených látok sa určoval pomocou chirálnej HPLC, pomocou chirálnej kolóny s crown étermi. Chirálna HPLC sa uskutočňovala na kolónach 150 x 4 mm Crownpak CR(-) alebo Crownpak CR(+) (Diacel) eluovaných pri 15 až 40 °C s 0,4 až 1,0 ml/min zmesou vodný roztok kyseliny chloristej/metanol (100 až 85 % hmotnostných/0 až 15 % hmotnostných). Používal sa jeden z nasledujúcich prístrojov:

1) čerpadlo Jasco 880-PU, dávkovač Rheodyne 7125 a detektor Waters 480 UV, nastavený na 210 nm, spojený s integrátorom Merch-Hitachi D-2000 Chromato-Integrator.

2) čerpadlo Merch-Hitachi L-6200, dávkovač autosampler Hitachi-Merch 655A-40 a detektor Hitachi-Merch L-4000 UV, nastavený na 205 nm, spojený s integrátorom Merch-Hitachi D-2500.

Enantiomérené čistoty sa počítali z plôch píkovo.

#### Príklad 1

Kyselina (RS)-2-amino-3-[3-hydroxy-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl]propiónová, 1a.

Zmes 2-brómtiofénu (250,0 g, 1,53 mol) a CuCN (157,5 g, 1,76 mol) sa varila pod refluxom v NMP (625 ml) počas 90 minút. Zmes sa ochladila na 100 °C a vyliala na horúci roztok NaCN vo vode (150 g NaCN v 2,5 l vody). Zmes sa prudko premiešavala pri teplote 80 °C počas 30 minút a horúca sa prefiltrovala. Ochladená zmes sa extrahovala dietyléterom (3 x 2 l) a odparením zmenšila za vákua na 1,5 l. Organická fáza sa premyla s vodou (750 ml a vodným nasýteným roztokom NaCl (750 ml). Organická fáza sa sušila (MgSO<sub>4</sub>) a skoncentrovaná za vákua poskytla červeno/fialový olej, ktorý sa des-



tiloval za zníženého tlaku (133 Pa), čím poskytol 2-tiofénkarbonitril (105,3 g, 63 %).

Zmes 2-tiofénkarbonitrilu (25,0 g), aktivovaného zinku (22,5 g) a  $\text{CuBr}_2$  (0,2 g; 0,9 mmol) v benzéne (350 ml) sa zahrievala na teplotu refluxu (83 °C). Počas 60 minút pri 83 °C sa pridala etyl-2-brómpropionát (62,2 g) v benzéne (150 ml). Výsledná zmes sa refluxovala počas 2 hodín a ochladila na 0 °C. Počas 60 minút (teplota < 10 °C) sa pridala vodná  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (400 ml) a zmes sa 20 hodín premiešavala pri teplote 20 °C. Zmes sa prefiltrovala a fázy sa oddelili. Vodná fáza sa extrahovala dietyléterom (2 x 500 ml) a spojené organické fázy sa sušili ( $\text{MgSO}_4$ ) a odparili za vákuu. Kolónová chromatografia (silikagél, eluent: etylacetát/n-heptán/metanol = 4:4:1) poskytla etyl-2-metyl-3-(2-tienyl)-3-oxopropionát ako olej (35,0 g; 72 %).

Zmes etyl-2-metyl-3-(2-tienyl)-3-oxopropionátu (25,3 g) a NaOH (5,0 g; 0,12 mol) v zmesi metanol/voda (10:1, 200 ml) sa ochladila na -30 °C. Pridal sa ľadovo-ochladený (0 °C) prefiltrovaný roztok  $\text{NH}_2\text{OH}$ , HCl (16,6 g) a NaOH (10,0 g) v zmesi metanol/voda (10:1, 200 ml) a výsledný roztok sa premiešaval počas 3 hodín pri -30 °C. Roztok sa ponechal dosiahnuť teplotu 5 °C a potom sa pridala koncentrovaná HCl (280 ml) pri 80 °C počas 45 minút. Výsledná zmes sa refluxovala počas 1 hodiny pri 80 °C. Metanol sa odparil a pridala sa voda (250 ml). Roztok sa ochladil na 5 °C a výsledné kryštaly sa oddelili filtráciou. Kryštaly sa rozpustili v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (500 ml). Organická fáza sa sušila ( $\text{MgSO}_4$ ) a odparila za vákuu, čím poskytla 4-metyl-5-(2-tienyl)izoxazol-3-ol (12,0 g; 55 %).

Suspenzia 4-metyl-5-(2-tienyl)izoxazol-3-olu (12,5 g) a  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (14,4 g) v acetóne (250 ml) sa zahrievala na teplotu refluxu. Pri teplote refluxu sa počas 25 minút pridala etylbromid (8,0 g) a výsledná zmes sa refluxovala počas 3 hodín. Jednou dávkou sa pridala ďalší etylbromid (8,0 g) a výsledná zmes sa refluxovala počas ďalších 3 hodín. Po filtrácii a odstránení rozpúšťadla sa zvyšok podrobil kolónovej chromatografii (silikagél, eluent: etylacetát/n-heptán = 1:1) a

izoloval sa 3-etoxy-4-metyl-5-(2-tienyl)izoxazol ako olej (7,3 g; 51 %).

Zmes 3-etoxy-4-metyl-5-(2-tienyl)izoxazolu (5,1 g) a N-brómsukcínimidu (NBS) (5,1 g) v  $\text{CCl}_4$  (400 ml) sa refluxovala počas 18 hodín. Filtrácia a odstránenie rozpúšťadla za vákua poskytli 4-brómmetyl-3-etoxy-5-(2-tienyl)izoxazol (7,8 g; 100 %).

K zmesi dietylacetamidomalonátu (4,6 g) a terc.butoxi-  
du draselného (2,4 g) v N-metyl-2-pyrolidóne (NMP) (100 ml) sa pridala k roztoku 4-brómmetyl-3-etoxy-5-(2-tienyl)izoxazolu (3,0 g) v NMP (25 ml) pri 22 °C. Výsledná zmes sa premiešavala počas 1 h pri 22 °C a vyliala na zmes voda/lad. Vodná fáza sa extrahovala dietyléterom a spojené organické fázy sa premyli vodným nasýteným roztokom NaCl. Organické fázy sa sušili ( $\text{MgSO}_4$ ) a odparili za vákua. Zvyšok sa podrobil kolónovej chromatografii (silikagél, eluent: etylacetát/n-heptán/metanol = 5:5:1), čím poskytla etyl-2-acetyl-amino-2-etoxykarbonyl-3-[3-etoxy-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl]propionát (3,0 g; 68 %).

Zmes 2-acetyl-amino-2-etoxykarbonyl-3-[3-etoxy-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl]propionátu (2,7 g) a HBr (48 % hmotnostných) (20 ml) sa refluxovala počas 1 hodiny. Zmes sa odparila za vákua a zvyšok sa rozpustil vo vode (50 ml) a opracoval aktívnym uhlím. Po filtrácii sa pH nastavilo na hodnotu 3 pomocou 4 mol/l vodného roztoku NaOH. Výsledné kryštaly sa oddelili filtráciou a sušili za vákua, čím poskytli látku z názvu tohto príkladu 1a (0,5 g; 30 %). T.t. 237 - 239 °C (rozklad), CHN: Vypočítané: 47,23; 3,97; 11,02, nájdené: 47,21; 4,02; 10,92.

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  9,90 (b, 1H), 7,82 (dd, 1H), 7,55 (dd, 1H), 7,24 (dd, 1H), 3,70 (dd, 1H), 2,95 - 2,88 (m, 2H).

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  171,42, 171,23, 159,62, 129,27, 128,65, 128,22, 127,15, 101,89, 52,59, 24,99.

Podobným spôsobom bola pripravená nasledujúca látka: kyselina (RS)-2-amino-3-[3-hydroxy-5-(3-tienyl)izoxazol-4-yl]propionová, 1b, t.t. 239 - 240 °C (rozklad).

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8,03 - 7,96 (m, 1H), 7,76 - 7,70 (m, 1H), 7,48 - 7,43 (m, 1H), 3,70 - 3,63 (m, 1H), 3,00 - 2,76 (m, 2H).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  171,42, 171,23, 159,62, 129,27, 128,65, 128,22, 127,15, 101,89, 52,59, 24,99.

Nasledujúce látky boli pripravené podobným spôsobom za použitia benzénsulfonylovej skupiny ako ochrannej skupiny pre 3-hydroxyizoxazolovú skupinu:

Kyselina (RS)-2-amino-3-[3-hydroxy-5-(2-naftyl)izoxazol-4-yl]propiónová, hydrát 1c, t.t. 235 - 237 °C (rozklad).

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  2,89 - 3,16 (m, 2H), 3,70 - 3,77 (m, 1H), 7,56 - 7,63 (m, 2H), 7,74 (dd, 1H), 7,92 - 8,09 (m, 3H), 8,22 (s, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  25,10; 53,03; 103,03; 124,30; 125,90; 126,89; 126,96; 127,45; 127,79; 128,70 (2C); 132,74; 133,18; 164,67; 171,41; 171,54.

MS (MH+)  $m/z$ : 299.

Kyselina (RS)-2-amino-3-[3-hydroxy-5-(4-trifluórmetylfenyl)izoxazol-4-yl]propiónová, 1d, t.t. 237 - 239 °C (rozklad).

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  2,88 (dd, 1H); 2,97 (dd, 1H); 3,71 (dd, 1H); 7,87 (s, 4H).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 5 %  $\text{CF}_3\text{COOH}$ ):  $\delta$  23,35; 50,94; 101,72; 121,94; 126,11; 126,16; 127,77 (2C); 130,34 (q,  $\text{CF}_3$ ); 131,74; 164,13; 170,29 (2C).

MS (MH+)  $m/z$ : 317.

Kyselina (RS)-2-amino-3-[3-hydroxy-5-(3-benzo[b]tienyl)izoxazol-4-yl]propiónová, hemihydrát 1e, t.t. 222 - 224 °C (rozklad).

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  2,75 (dd, 1H); 2,96 (dd, 1H); 3,70 (dd, 1H); 7,43 - 7,55 (m, 2H), 7,96 - 8,03 (m, 1H), 8,05 - 8,14 (m, 1H); 8,21 (s, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  25,02; 52,95; 104,05; 123,17; 123,34; 123,67; 125,27 (2C); 129,49; 136,80; 139,35; 161,49;

171,11; 171,31.

MS (MH+)  $m/z$ : 305.

Nasledujúca látka bola pripravená podobným spôsobom z 2-acetylamino-2-etoxykarbonyl-3-[3-etoxy-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl]propionátu lítiovaním a metyláciou v polohe 5 tienylovej skupiny a následne deprotektovaním varením v HBr (47 % hmotnostných, vodný roztok).

Kyselina (RS)-2-amino-3-[3-hydroxy-5-(5-metyl-2-tienyl)izoxazol-4-yl]propionová, hydrát, 1f, t.t. 242 - 244 °C.

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  2,51 (s, 3H); 2,84 - 2,93 (m, 2H); 3,63 - 3,72 (m, 1H); 6,94 (dd, 1H), 7,33 (d, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  14,91; 24,95; 52,62; 101,24; 126,63; 126,88; 127,23; 142,33; 159,71; 171,20; 171,31.

MS (MH+)  $m/z$ : 269.

## Príklad 2

Kyselina (RS)-2-amino-2-(3-hydroxy-5-fenylizoxazol-4-yl)octová, 2a

Zmes 3-etoxy-4-metyl-5-fenylizoxazolu (3,0 g; 15 mmol) pripraveného tak, ako je opísané Christensenom, I. T. 1989, citované vyššie, NBS (5,5 g; 31 mmol) a dibenzoylperoxidu (0,2 g; 0,8 mmol) v  $\text{CCl}_4$  (100 ml) sa refluxovala počas 20 hodín. Zmes sa ochladila na laboratórnu teplotu, prefiltrovala a odparila za vákua. Zvyšok sa rozpustil vo vode (95 ml) a refluxoval počas 20 hodín. Po ochladení sa vodná fáza extrahovala dietyléterom (3 x 100 ml). Spojené organické fázy sa sušili ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) a odparili za vákua, čím poskytli 4-(3-etoxy-5-fenylizoxazol)karbaldehyd (2,4 g; 75 %).

Zmes 4-(3-etoxy-5-fenylizoxazol)karbaldehydu (1,9 g; 8,7 mmol), KCN (2,7 g, 40,5 mmol),  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  (7,8 g; 81,1 mmol) v 50 % vodnom metanole (250 ml) sa refluxovala počas 6 hodín. Metanol sa odparil za vákua a vodná fáza sa extrahovala etylacetátom (3 x 150 ml). Spojené organické fázy sa

sušili ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) a rozpúšťadlo sa odparilo za vákua. Zvyšok sa podrobil kolónovej chromatografii (silikagél, eluent: etylacetát/n-heptán/metanol = 5:5:1), čím poskytol 3-etoxy-4-[5-(imidazolidin-2,4-dión)]-5-fenylizoxazol (1,0 g; 40%).

Zmes 3-etoxy-4-[5-(imidazolidin-2,4-dión)]-5-fenylizoxazolu (800 mg; 2,8 mmol) v 6 mol/l vodnom roztoku HCl (20 ml, 120 mmol) sa refluxovala 48 hodín. Zmes sa odparila za vákua a zvyšok sa rozpustil vo vode (200 ml) a trietylamíne (TEA) (870 mg; 8,5 mmol). Pridal sa di-terc.butyldikarbonát (930 mg; 4,3 mmol) v tetrahydrofuráne (THF) (50 ml) a výsledný roztok sa premiešaval pri 20 °C počas 20 hodín. THF sa odparil za vákua a pH sa upravilo na hodnotu 6,5 pomocou 0,1 mol/l vodného roztoku HCl. Vodná fáza sa extrahovala dietyléterom, ktorý sa vylial. pH vodnej fázy sa upravilo na hodnotu 2 pomocou 0,1 mol/l vodného roztoku HCl a vodná fáza sa extrahovala dietyléterom (3 x 100 ml). Spojené organické fázy sa sušili ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) a odparili za vákua. Zvyšok sa rozpustil v dietyléteri (40 ml) a pridala sa nasýtený roztok HCl v dietyléteri. Výsledná zmes sa premiešavala pri 20 °C počas 20 hodín. Zrazenina sa oddelila filtráciou a sušila. Kryštaly sa rozpustili vo vode (5 ml) a pH sa upravilo na hodnotu 3. Zrazenina sa oddelila filtráciou, čím poskytla látku z názvu tohto príkladu, 2a, (100 mg; 15 %). T.t. 228 až 230 °C (rozklad).

CHN: Vypočítané: 56,40; 4,31; 11,96, nájdené: 56,20; 4,37; 11,74.

$^1\text{H}$  NMR a  $^{13}\text{C}$  NMR údaje pre 2a, HCl:

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  7,83 - 7,68 (m, 2H); 7,64 - 7,40 (m, 3H); 5,12 - 4,95 (m, 1H); 3,90 (široký).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  169,10; 168,38; 168,31, 131,39, 129,60 (2C); 127,73 (2C); 126,95; 99,69; 46,06.

Nasledujúce látky boli pripravené podobným spôsobom s prípravou 4-izoxazolkarbaldehydov zo zodpovedajúcich 4-izoxazolbrómmetylových zlúčenín za použitia horúceho (115°C) dimetylsulfoxidu a hydrogénuhličitanu sodného:

Kyselina (RS)-2-amino-2-[3-hydroxy-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl]octová, 2b, t.t. 191 - 193 °C (rozklad).

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  4,50 (s, 1H), 7,26 (dd, 1H), 7,77 (d, 1H), 7,84 (d, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (HCl sol) (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  46,16; 98,87; 127,62; 129,15; 131,20; 163,56; 168,45; 169,39.

MS (MH+)  $m/z$ : 241.

Kyselina (RS)-2-amino-2-[3-hydroxy-5-(4-trifluórmetylfenyl)-izoxazol-4-yl]octová, hydrát, 2c, t.t. 200 - 201 °C.

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  4,46 (s, 1H), 7,92 (d, 2H), 8,11 (d, 2H).

$^{13}\text{C}$  NMR (HCl sol) (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  45,84; 101,16; 121,98; 126,43; 126,50; 128,76 (2C); 130,75; 131,00 (q,  $\text{CF}_3$ ); 166,75; 168,20; 169,21.

MS (MH+)  $m/z$ : 303.

### Príklad 3

Kyselina (RS)-2-amino-5-(3-hydroxy-5-fenylizoxazol-4-yl)-pentánová, hydrát, 3a.

Látka z názvu tohto príkladu sa pripravila analogicky spôsobom, ktorý je opísaný Christensenom, I. T. a spol., *Drug Design and Delivery* 1989, 5, 57 až 71, s nasledujúcimi úpravami: 1) Ako východiskový materiál sa použil benzoylacetát. 2) Izoxazolový kruh v medziprodukte 5-fenyl-4-(2-propenyl)-3-izoxazolole sa pripravil spôsobom podľa Satoa, K. a spol., *Agric. Biol. Chem.* 1986, 50, 1831 až 1837. 3) Zwitterión látky z názvu tohto odstavca 3a sa získal úpravou pH vodnej fázy na hodnotu 3,5 pomocou vodného 0,1 mol/l NaOH. T.t. 210 až 212 °C (rozklad). CHN: Vypočítané: 54,62; 6,40; 9,10, nájdené: 54,67; 6,36; 9,13.

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  7,72 - 7,61 (m, 2H); 7,59 - 7,43 (m, 3H); 3,64 - 3,40 (m, 2H); 3,50 (široký), 3,31 - 3,19 (m, 1H), 1,82 - 1,53 (m, 4H).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  170,75; 163,44; 161,65, 129,72; 129,23 (2C); 128,58 (2C); 126,19 (2C); 105,68; 53,93; 30,57,

25,13, 20,88.

#### Príklad 4

Kyselina (RS)-2-amino-4-[5-(4-fluórfenyl)-3-hydroxyizoxazol-4-yl]butánová, 4a.

$\beta$ -ketoester, etyl-3-oxo-3-(4-fluórfenyl)propionátu bol pripravený analogickým spôsobom, ako je opísaný v Príklade 1, za použitia 4-fluórbenzonitrilu (25,0 g; 0,21 mol), etyl-2-brómacetátu (51,7 g; 0,31 mol), aktivovaného zinku (20,3 g; 0,31 mol),  $\text{CuBr}_2$  (0,2 g; 0,9 mmol) a benzénu (500 ml). Kolónová chromatografia (silikagél, eluent: etylacetát/n-heptán/metanol = 5:5:1) zvyšku poskytla etyl-3-oxo-3-(4-fluórfenyl)propionát ako olej (28,0 g; 65 %).

K roztoku NaH (4,4 g; 0,15 mol, 80 % v minerálnom oleji) v etanole (500 ml) sa pridal etyl-3-oxo-3-(4-fluórfenyl)propionát (28,0 g; 0,13 mol). Výsledný roztok sa premiešaval počas 1,5 hodiny pri 25 °C. Počas 30 minút pri 25 °C sa pridal etyl-3-chlórpropionát (20,0 g; 0,15 mol) a zmes sa refluxovala počas 20 hodín. Rozpúšťadlo bolo odstránené odparením a zvyšok bol rozpustený vo vode (400 ml) a extrahovaný etylacetátom. Spojené organické fázy sa sušili ( $\text{MgSO}_4$ ) a odparili za vákua. Kolónová chromatografia (silikagél, eluent: etylacetát/n-heptán/metanol = 4:4:1) zvyšku poskytla etyl-4-etoxykarbonyl-5-(4-fluórfenyl)-5-oxopentanoát (27,5 g; 67 %).

Etyl-3-[5-(4-fluórfenyl)-3-hydroxyizoxazol-4-yl]propionát bol pripravený analogicky spôsobom, ako je opísaný v Príklade 1, s nasledujúcimi úpravami: 1) Ako východiskový materiál sa použil etyl-4-etoxykarbonyl-5-(4-fluórfenyl)-5-oxopentanoát (27,5 g; 89 mmol). 2) po odparení metanolu z metanol/vodného roztoku sa vodná fáza extrahovala dietyléterom. Spojené organické fázy sa sušili ( $\text{MgSO}_4$ ) a odparila za vákua. Zvyšok sa rozpustil v etanole (400 ml) a pridal sa acetylchlorid (40 ml) výsledná zmes sa refluxovala počas 20 hodín a rozpúšťadlo sa odstránilo odparením za vákua. Koló-

nová chromatografia (silikagél, eluent: etylacetát/n-heptán/metanol = 2:2:1) zvyšku poskytla etyl-3-[5-(4-fluórfenyl)-3-hydroxyizoxazol-4-yl]propionát (9,3 g; 31 %).

Etyl-3-[3-etoxy-5-(4-fluórfenyl)-izoxazol-4-yl]propionát bol pripravený analogicky spôsobom ako je opísaný v Príklade 1 s nasledujúcimi úpravami: 1) Ako východiskový materiál sa použil etyl-3-[5-(4-fluórfenyl)-3-hydroxyizoxazol-4-yl]propionát (5,5 g; 20 mmol). 2) namiesto dvoch ekvivalentov sa pridal len jeden ekvivalent etylbromidu. Kolónová chromatografia (silikagél, eluent: etylacetát/n-heptán/metanol = 10:10:1) zvyšku poskytla etyl-3-[3-etoxy-5-(4-fluórfenyl)izoxazol-4-yl]propionát (4,0 g; 65 %).

3-[3-etoxy-5-(4-fluórfenyl)izoxazol-4-yl]propanal bol pripravený z etyl-3-[3-etoxy-5-(4-fluórfenyl)izoxazol-4-yl]propionátu podľa spôsobu opísaného Richom, D.H. a spol., *J. Org. Chem.* 1978, 43, 3624 až 3626.

3-etoxy-5-(4-fluórfenyl)-4-[2-[5-(imidazolidin-2,4-di-ón)]etyl]izoxazol bol pripravený tak, ako je opísané v Príklade 2 za použitia zodpovedajúceho aldehydu ako východiskového materiálu. Získaný surový produkt sa dvakrát rekryštalizoval z etanolu, čím poskytol čistú látku.

Látka z názvu tohto príkladu 4a bola pripravená z hydantoínu analogickým spôsobom, ako je opísané v Príklade 2 s výťažkom 19 %. T.t. 235 až 237 °C (rozklad).

CHN: Vypočítané: 55,71; 4,68; 10,00, nájdené: 54,59; 4,61; 9,97.

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 340 K): δ 7,78 - 7,54 (m, 2H); 7,39 - 7,19 (m, 2H); 5,92 (b), 3,35 - 3,16 (m, 1H); 2,81 - 2,53 (m, 2H), 2,04 - 1,70 (m, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 172,19; 170,79; 164,70 a 160,76 (C-F), 162,96, 128,64; 128,50; 125,13; 116,55; 116,21; 104,52, 52,35; 31,44, 17,81.

Podobným spôsobom boli pripravené nasledujúce látky:

Kyselina (RS)-2-amino-4-(3-hydroxy-5-fenylizoxazol-4-yl)butánová, hydrochlorid, 4b.



T.t. 230 až 233 °C (rozklad)

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  7,59 - 7,48 (m, 2H); 7,47 - 7,32 (m, 3H); 3,61 - 3,50 (m, 1H); 2,57 - 2,41 (m, 2H), 2,08 - 1,90 (m, 2H).

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  179,12; 176,64; 161,12; 130,41; 128,79 (2C); 128,13; 125,72 (2C); 107,13; 53,31; 32,97; 18,62.

Kyselina (RS)-2-amino-4-(3-hydroxy-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl)butánová, hydrát, 4c.

T.t. 214 až 216 °C (rozklad)

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO-d}_6$ , 340 K):  $\delta$  7,84 - 7,73 (m, 1H); 7,59 - 7,45 (m, 1H); 7,29 - 7,18 (m, 1H); 3,50 (velmi široký); 3,32 - 3,10 (m, 1H); 2,93 - 2,60 (m, 2H), 2,00 - 1,75 (m, 2H).

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  172,11; 170,64; 159,47; 129,41; 128,41 (2C); 126,35; 103,73; 52,42; 30,76, 17,93.

Kyselina (RS)-2-amino-4-(3-hydroxy-5-(3-tienyl)izoxazol-4-yl)butánová, 4d.

T.t. 212 až 214 °C (rozklad)

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  8,02 - 7,95 (m, 1H); 7,78 - 7,72 (m, 1H); 7,48 - 7,43 (m, 1H); 3,28 - 3,16 (m, 1H); 2,93 - 2,77 (m, 1H), 2,75 - 2,54 (m, 1H); 2,00 - 1,75 (m, 2H).

Kyselina (RS)-2-amino-4-(3-hydroxy-5-(2-naftyl)izoxazol-4-yl)butánová, hydrát, 4e.

T.t. 209 až 211 °C (rozklad)

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  1,87 - 2,05 (m, 2H); 2,60 - 2,85 (m, 2H); 2,90 - 3,06 (m, 1H); 7,56 - 7,66 (m, 2H); 7,88 (dd, 1H); 7,93 - 8,16 (m, 3H); 8,26 (s, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  17,92; 31,50; 52,40; 105,02; 123,21; 125,66; 125,95; 127,04; 127,44; 127,76; 128,75; 128,91; 132,82; 133,09; 163,71; 170,70; 172,30.

MS (MH+)  $m/z$ : 313.

Príklad 5

4-[(2-amino-3,4-dioxo-1-cyklobuten-1-yl)aminometyl]-3-hydroxy-5-fenylizoxazol, hemihydrát, 5a.

Do zmesi ftalimidu draselného (1,0 g; 5,4 mmol) v DMF (50 ml) sa pridal 4-brómmetyl-3-etoxy-5-fenylizoxazol (1,4 g; 5,0 mmol) v DMF (25 ml) pri 90 °C. 4-brómmetyl-3-etoxy-5-fenylizoxazol bol pripravený analogicky ako je vyššie zmieneny spôsob použitý na prípravu 4-brómmetyl-3-etoxy-5-(2-tienyl)izoxazolu. Výsledná zmes sa premiešavala počas 40 minút pri 90 °C. Pridal sa CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (200 ml) a zmes bola vyliata do vody. Fázy sa oddelili a vodná fáza sa extrahovala dietyléterom. Spojené organické fázy sa premyli 0,1 mol/l vodným roztokom NaOH a vodou, sušili (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) a odparili za vákua, čím poskytli *N*-[(3-etoxy-5-fenylizoxazol-4-yl)metyl]ftalimid (1,5 g; 88 %).

Suspenzia *N*-[(3-etoxy-5-fenylizoxazol-4-yl)metyl]ftalimidu (1,3 g; 3,7 mmol) vo vodnom roztoku 48 % hmotnostných HBr (20 ml) a kyseline octovej (20 ml) sa premiešavala počas 6 hodín pri 110 °C. Zmes bola odparená za vákua a zvyšok sa rozpustil vo vode. Vodná fáza sa extrahovala dietyléterom, ktorý bol vyliaty. Vodná fáza bola odparená za vákua a ku zvyšku sa pridal acetón (5 ml). Zrazenina bola oddelená filtráciou a sušená, čím poskytla 4-aminometyl-5-fenyl-3-izoxazolol, hydrobromid (700 mg; 70 %).

K roztoku 3-amino-4-etoxy-3-cyklobutén-1,2-diónu (365 mg) pripraveného podľa metódy opísanej Cohenom, S. a spol., *J. Amer. Chem. Soc.* 1966, 88, 1533 až 1536 a 4-aminometyl-5-fenyl-3-izoxazololhydrobromidu (700 mg; 2,6 mmol) v etanole (75 ml) sa pridal roztok NaOH (210 mg, 5,2 mmol) vo vode (5 ml) pri 22 °C. Výsledná zmes sa premiešavala počas 4 hodín pri 22 °C. Rozpúšťadlo bolo odparené a zvyšok bol rozpustený vo vode (200 ml) pH vodnej fázy bolo upravené na 8,5. Vodná fáza sa extrahovala dietyléterom, ktorý sa vylial. pH sa upravilo na hodnotu 3,75 a zrazenina sa oddelila filtráciou a sušila, čím poskytla látku z názvu tohto príkladu 5a, (675 mg; 92 %). T.t. 259 až 61 °C (rozklad) CHN: Vypočítané: 57,13; 4,12; 14,28, nájdené: 57,70; 3,85; 14,29.

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,81 - 7,24 (m, 5H); 4,78 - 4,56 (m, 2H); 5,92 (b), 3,5 (s, veľmi široký).

<sup>13</sup>C NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 183,34; 183,21; 170,14; 169,29;

168,29; 165,84, 130,58; 129,32 (2C); 127,51; 126,72 (2C);  
102,52, 35,46.

Podobným spôsobom boli pripravené nasledujúce látky:

4-[(2-amino-3,4-dioxo-1-cyklobuten-1-yl)aminometyl]-3-hydroxy-5-(2-tienyl)izoxazol, 5b.

T.t. 237 až 239 °C (rozklad)

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  7,88 (dd, 1H); 7,67 (dd, 1H); 7,26 (dd, 1H); 4,78 - 4,63 (m, 2H); 3,30 (s, veľmi široký).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  183,36; 183,18; 169,97; 169,51; 168,23; 161,29, 129,80; 128,59; 128,25; 127,82; 101,41, 35,20.

4-[(2-amino-3,4-dioxo-1-cyklobuten-1-yl)aminometyl]-3-hydroxy-5-(3-tienyl)izoxazol, 5c.

T.t. 276 až 278 °C (rozklad)

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8,16 - 8,13 (m, 1H); 7,82 - 7,77 (m, 1H); 7,56 - 7,50 (m, 1H); 4,76 - 4,66 (m, 2H).

4-[(2-amino-3,4-dioxo-1-cyklobuten-1-yl)aminometyl]-3-hydroxy-5-(4-trifluórmetylfenyl)izoxazol, 5d.

T.t. 269 až 272 °C (rozklad)

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  4,72 (d, 2H); 7,93 (dd, 4H).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  35,29; 104,19; 121,75; 126,12; 126,17; 127,60 (2C); 130,25 (q,  $\text{CF}_3$ ); 131,11; 164,09; 168,21; 169,51; 170,11; 183,29 (2C).

MS (MH+)  $m/z$ : 354.

#### Príklad 6

4-[2-[(2-amino-3,4-dioxo-1-cyklobuten-1-yl)amino]etyl]-3-hydroxy-5-(2-tienyl)izoxazol, hydrát, 6a.

Zmes kyanidu sodného (4,0 g; 81 mmol) v DMSO (50 ml) sa zahriala na 90 °C. Do horúcej reakčnej zmesi sa po kvapkách pridal 4-brómmetyl-3-etoxy-5-(2-tienyl)izoxazol (4,9 g; 16

mmol) rozpustený v DMSO (50 ml). Reakčná zmes sa premiešavala ďalších 30 minút, a bola vyliata na zmes voda/lad. Vodná fáza sa extrahovala s  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  a spojené organické fázy sa premyli s vodným nasýteným roztokom NaCl. Organické fázy sa sušili ( $\text{MgSO}_4$ ) a odparili za vákua. Zvyšok sa podrobil kolónovej chromatografii (silikagél, eluent: etylacetát/n-heptán = 1:3), ktorá poskytla (3-etoxy-5-(2-tienyl)izoxazol)-acetonitril (2,2 g; 58 %).

Zmes  $\text{AlCl}_3$  (1,2 g; 9 mmol) v suchom dietyléteri (50 ml) sa pridala po kvapkách do zmesi  $\text{LiAlH}_4$  (0,34 g; 9 mmol) v suchom dietyléteri (50 ml). Reakčná zmes sa zahrievala ďalších 10 minút pri laboratórnej teplote. Do premiešavaného roztoku sa pridala zmes (3-etoxy-5-(2-tienyl)izoxazol)acetonitrilu (2,0 g; 9 mmol) v suchom dietyléteri (50 ml) a reakčná zmes sa premiešavala počas ďalších 45 minút. Reakčná zmes sa ochladila na 5 °C a pridala sa voda (30 ml) a 6 mol/l  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (5 ml). pH kyslého vodného roztoku sa zvýšilo na 11 pomocou 6 mol/l NaOH. Fázy sa oddelili a vodná fáza sa extrahovala dietyléterom. Spojené organické fázy sa sušili ( $\text{MgSO}_4$ ) a odparili za vákua. Zvyšok sa podrobil kolónovej chromatografii (silikagél, eluent: etylacetát/n-heptán/metanol/trietylamin = 90:10:5:5), ktorá poskytla 4-(2-aminoetyl)-3-etoxy-5-(2-tienyl)izoxazol (1,7 g; 76 %).

Zmes 4-(2-aminoetyl)-3-etoxy-5-(2-tienyl)izoxazolu (1,7 g; 7 mmol) a HBr 47 % hmotnostných (vodný roztok) sa refluxovala počas 1 hodiny. Reakčná zmes sa odparila za vákua a pridal sa acetón. Výsledné kryštaly sa oddelili filtráciou a sušili za vákua, čím poskytl 4-(2-aminoetyl)-3-hydroxy-5-(2-tienyl)izoxazol, hydrobromid (1,9 g; 94 %).

K roztoku 3-amino-4-etoxy-3-cyklobutén-1,2-diónu (480 mg, 3,4 mmol) pripraveného tak, ako je opísané skôr, a hydrogénbromidu 4-(2-aminoetyl)-3-hydroxy-5-(2-tienyl)izoxazolu (1,0 g; 3,4 mmol) v etanole (30 ml) sa pridal roztok NaOH (270 mg; 6,8 mmol) vo vode (5 ml) pri 22 °C. Výsledný roztok sa premiešaval pri laboratórnej teplote počas 18 hodín. Reakčná zmes sa odparila za vákua a pridala sa voda a dietyléter. Fázy sa oddelili a vodná fáza sa extrahovala dietyléte-

rom, ktorý sa vylial. Vodná fáza sa okyslila pomocou 2 mol/l HCl na pH 2,5 a ponechala sa pri 5 °C počas 18 hodín. Vytvorené kryštaly sa oddelili filtráciou a premyli vodou, acetónom a dietyléterom. Kryštaly sa sušili za vákua, čím poskytli látku z názvu tohto príkladu, 6a, (906 mg, 87 %). T.t. 248 až 250 °C (rozklad)

CHN: Vypočítané 50,39; 3,75; 13,57, nájdené: 50,66; 3,72, 13,55.

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 2,77 (dd, 2H); 3,51 - 3,78 (m, 2H); 7,22 (dd, 1H); 7,57 (d, 1H); 7,81 (d, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 24,12; 42,06; 102,06; 126,65; 127,94; 128,53; 129,00; 160,41; 168,65; 169,41; 170,05; 182,82; 183,00.

MS (MH+) m/z: 306.

#### Príklad 7

Kyselina (RS)-2-amino-3-[3-(karboxymetoxy)-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl]propiónová, monohydrát, 7a.

Suspenzia 4-metyl-5-(2-tienyl)izoxazol-3-olu (10,0 g, 55 mmol) pripraveného tak, ako je opísané skôr, a K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (19,1 g, 138 mmol) v acetóne 350 ml) sa premiešavala pri laboratórnej teplote počas 30 minút a potom sa zahriala na teplotu refluxu. Počas 45 minút sa pridal etylchlóracetát (17,6 ml, 166 mmol) v acetóne (125 ml) a výsledná zmes sa varila pod refluxom počas 210 minút. Zmes sa ochladila na 5 °C, prefiltrovala a skoncentrovala za vákua. Zvyšok sa rozpustil v CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (500 ml), premyl vodou (2 x 500 ml) a vodným nasýteným roztokom NaCl (500 ml). Organická fáza sa sušila (MgSO<sub>4</sub>) a odparila za vákua. Kolónová chromatografia (silikagél, eluent: n-heptán/etylacetát/metanol = 20:10:1) nasledovaná skoncentrovaním za vákua poskytla [4-metyl-5-(2-tienyl)-3-izoxazolyloxy]acetát (8,7 g, 59 %).

Zmes [4-metyl-5-(2-tienyl)-3-izoxazolyloxy]-acetátu (2,5 g, 9,4 mmol) a NBS (2,0 g, 11,2 mmol) v CCl<sub>4</sub> (125 ml) sa varila pod refluxom počas 8 hodín. Zmes sa ochladila,

prefiltrovala a skoncentrovala za vákua, čím poskytla etyl-[4-brómmetyl-5-(2-tienyl)-3-izoxazolyloxy]acetát (2,8 g, 88 %).

Zmes dietylacetamidomalonátu (3,5 g, 16,2 mmol) a terc. butoxidu draselného (0,9 g, 17,0 mmol) v NMP (30 ml) sa premiešavala pri laboratórnej teplote (25 °C) počas 30 minút. Pridal sa etyl-[4-brómmetyl-5-(2-tienyl)-3-izoxazolyloxy]acetát (2,8 g, 8,1 mmol) v NMP (5 ml) (teplota 25 až 28 °C) a výsledná zmes sa premiešavala pri 28 °C počas 1 hodiny a vyliala na zmes voda/lad (250 ml). Vodná fáza sa extrahovala dietyléterom (3 x 200 ml) a spojené organické fázy sa premyli vodným nasýteným roztokom NaCl (200 ml), sušili (MgSO<sub>4</sub>) a skoncentrovali za vákua. Kolónová chromatografia (silikagél, eluent: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/etylacetát = 7:1) poskytla etyl-2-acetylamino-2-etoxykarbonyl-3-[3-[(etoxykarbonyl)-metoxy]-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl]propionát (2,3 g, 59 %).

Suspenzia etyl-2-acetylamino-2-etoxykarbonyl-3-[3-[(etoxykarbonyl)metoxy]-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl]propionátu (2,0 g, 4,1 mmol) v 1 mol/l HCl (130 ml) sa varila pod refluxom počas 24 hodín. Reakčná zmes sa ochladila, extrahovala s CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 150 ml) a opracovala aktívnym uhlím. Skoncentrovanie za vákua poskytlo látku z názvu tohto príkladu ako kyslú hydrochloridovú soľ (1,2 g, 86 %). Látka z názvu tohto príkladu sa získala pridaním vody (1,0 g, 71 %).

T.t. 228 až 230 °C (rozklad) CHN: Vypočítané 43,64; 4,27; 8,48, nájdené: 43,07; 4,17, 8,43.

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 2,86 - 3,28 (m, 2H); 3,79 (dd, 1H); 4,69 (s, 2H), 7,26 (dd, 1H); 7,69 (dd, 1H); 7,86 (dd, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 23,50; 52,42; 67,39; 100,45; 127,91; 128,23; 128,48; 129,47; 161,44; 169,63; 170,14; 170,57.

MS (MH<sup>+</sup>) *m/z*: 313.

Nasledujúca látka bola pripravená podobným spôsobom za použitia etyl-4-brómbutyrátu ako alkylačného reagentu namiesto etylchlóracetátu:

Kyselina (RS)-2-amino-3-[3-(karboxypropoxy)-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl]propiónová, 7b.

T.t. 197 až 198 °C (rozklad)

CHN: Vypočítané 49,41; 4,74; 8,23, nájdené: 49,27; 4,73, 8,30.

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 2,01 (qui, 2H); 2,23 - 2,60 (m, 2H); 2,71 - 3,08 (m, 2H); 3,56 (dd, 1H); 4,25 (t, 2H), 7,26 (dd, 1H); 7,70 (dd, 1H); 7,85 (dd, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 24,37; 25,20; 32,44; 53,03; 69,65; 101,01; 127,921; 128,69; 128,79; 129,37; 161,15; 170,39; 170,97; 175,44.

MS (MH+) m/z: 341.

#### Príklad 8

Kyselina 4-[(2-amino-3,4-dioxo-1-cyklobuten-1-yl)aminometyl]-5-(2-tienyl)-3-izoxazolyloxy]octová, monohydrát, 8a.

Ftalimid draselný (0,71 g, 3,8 mmol) sa suspendoval v DMF (30 ml) a zahrial na 90 °C. Počas 15 minút sa pridal etyl-[4-brómmetyl-5-(2-tienyl)-3-izoxazolyloxy]acetát (1,2 g, 3,5 mmol), pripravený tak, ako je opísané skôr, v DMF (20 ml) a výsledná zmes sa pri 90 °C premiešavala počas 40 minút. Zmes sa ochladila a pridal sa CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (200 ml) a voda (200 ml). Fázy sa oddelili a organická fáza sa premyla nasýteným roztokom CaCl<sub>2</sub> (2 x 150 ml), sušila (MgSO<sub>4</sub>) a skoncentrovala za vákua. Kolónová chromatografia (silikagél, eluent: n-heptán/etylacetát = 2:1) poskytla etyl-[4-(N-ftalimidometyl)-5-(2-tienyl)-3-izoxazolyloxy]acetát, ktorý sa rozpustil v CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (200 ml), premyl nasýteným vodným roztokom CaCl<sub>2</sub> (2 x 200 ml), sušil (MgSO<sub>4</sub>) a skoncentroval za vákua a kryštalizoval z EtOH, čím poskytol biele kryštaly ihlovitého tvaru (0,9 g, 64 %).

Etyl-[4-(N-ftalimidometyl)-5-(2-tienyl)-3-izoxazolyloxy]acetát (0,60 g, 1,5 mmol) sa varil pod refluxom s 1 mol/l NaOH (60 ml) počas 45 minút. Roztok sa ochladil, extrahoval dietyléterom (3 x 60 ml) a okyslil na pH 1 až 2 s koncentrovanou HCl (5 ml). Vodná fáza sa extrahovala s CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 80 ml) a dietyléterom (4 x 80 ml). Spojené organické fázy sa odparili za vákua, čím poskytl kyselinu

[4-[N-(2-karboxybenzamido)metyl]-5-(2-tienyl)-3-izoxazolyloxy]octovú (0,60 g, 100 %)

Kyselina [4-[N-(2-karboxybenzamido)metyl]-5-(2-tienyl)-3-izoxazolyloxy]octová (0,60 g, 1,5 mmol) sa varila pod refluxom v 1 mol/l HCl (125 ml) počas 45 minút. Roztok sa ochladil, extrahoval dietyléterom (4 x 200 ml) a odparil za vákua, čím poskytol kyselinu [4-aminometyl-5-(2-tienyl)-3-izoxazolyloxy]octovú, hydrochlorid (0,30 g, 100 %).

K zmesi kyseliny [4-aminometyl-5-(2-tienyl)-3-izoxazolyloxy]octovej, hydrochloridu (0,30 g, 1,0 mmol) a 3-amino-4-etoxy-3-cyklobutén-1,2-diónu (0,16 g, 1,1 mmol) pripraveného tak, ako je opísané skôr, v EtOH (50 ml) sa pridal NaOH (0,08 g, 2,1 mmol) (rozpustený vo vode (3 ml)). Zmes sa premiešavala pri 22 °C počas 18 hodín. Výsledná suspenzia sa odparila za vákua, rozpustila vo vode a extrahovala dietyléterom (2 x 150 ml). Vodná fáza (50 ml) bola upravená na pH 3 pomocou 1 mol/l HCl. Výsledné kryštaly sa oddelili filtráciou a sušili za vákua, čím poskytlí látku z názvu tohto príkladu, 8a (0,26, g 69 %). T.t. 222 až 223 °C (rozklad).

CHN: Vypočítané 45,78; 3,57; 11,44, nájdené: 45,13; 3,61, 11,16

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 4,75 (d, 2H); 4,86 (s, 2H); 7,30 (dd, 1H); 7,70 (d, 1H); 7,94 (d, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 34,88; 66,27; 100,97; 127,45; 128,52; 128,67; 130,48; 162,42; 168,19; 168,74; 169,55; 169,95; 183,29

MS (MH+) *m/z*: 350.

#### Príklad 9

Kyselina 2-amino-3-[3-karboxy-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl]-propiónová, hydrát, 9a.

K ochladenému roztoku sodíka (4,1 g, 0,18 mol) v EtOH (100 ml) sa pridal dietyloxalát (24 ml, 0,18 mol). K ochladenému roztoku sa počas 15 minút pridal 1-(2-tienyl)-1-propanón (20 ml, 0,16 mol) v EtOH (10 ml) a výsledná zmes



sa premiešavala pri 0 °C počas 2 hodín a potom 16 hodín pri 22 °C. Zmes sa skoncentrovala za vákua a zvyšok sa rozpustil vo vode (400 ml). Vodná fáza sa okyslila pomocou 1 mol/l HCl na pH 3 až 4 a extrahovala s CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 300 ml). Spojené organické fázy sa sušili (MgSO<sub>4</sub>) a odparili za vákua. Kolónová chromatografia (silikagél, eluent: n-heptán/etylacetát = 3:1) poskytla etyl-2,4-dioxo-3-metyl-4-(2-tienyl)butyrát (20,5 g, 53 %).

K vriacemu roztoku hydroxylamóniumchloridu (12,6 g, 0,18 mol) v EtOH (200 ml) sa pridala etyl-2,4-dioxo-3-metyl-4-(2-tienyl)butyrát v EtOH (60 ml). Výsledná zmes sa varila pod refluxom počas 2 hodín, ochladila a skoncentrovala za vákua. Kolónová chromatografia (silikagél, eluent: n-heptán/etylacetát = 4:1) poskytla [4-metyl-5-(2-tienyl)izoxazol-3-yl]karboxylát (13,2 g, 92 %).

Zmes [4-metyl-5-(2-tienyl)izoxazol-3-yl]karboxylátu (8,0 g, 34 mmol), NBS (6,6 g, 37 mmol) a dibenzoylperoxidu (0,1 g, 0,4 mmol) v CCl<sub>4</sub> sa varila pod refluxom počas 6 hodín a ponechala pri 22 °C počas 14 hodín. Zmes sa ochladila, prefiltrovala a skoncentrovala za vákua, čím poskytla [4-brómmetyl-5-(2-tienyl)izoxazol-3-yl]karboxylát (10,7 g, 100 %).

Etyl-2-acetylamino-2-etoxykarbonyl-3-[3-etoxykarbonyl]-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl]propionát bol pripravený z [4-brómmetyl-5-(2-tienyl)izoxazol-3-yl]karboxylátu analogickým spôsobom, ako je opísané v Príklade 7.

Zmes etyl-2-acetylamino-2-etoxykarbonyl-3-[3-etoxykarbonyl]-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl]propionátu (1,0 g, 2,2 mmol) a 47 % HBr (vodný roztok) (50 ml) sa zahrievala na teplotu refluxu a varila počas 40 minút. Výsledný roztok sa odparil za vákua a pridala sa voda (20 ml). Pridal sa vodný roztok NaOH (0,1 mol/l, 22 ml) a zmes sa premiešavala pri 22 °C počas 2 hodín. Reakčná zmes sa odparila za vákua a pridala sa voda (20 ml). Vytvorené kryštaly sa oddelili filtráciou a sušili za vákua. Kryštaly sa rozpustili v 47 % HBr a roztok sa extrahoval dietyléterom, ktorý sa vylial. Vodný roztok sa odparil za vákua a pridala sa dietyléter. Reakčná

zmes sa premiešavala pri 22 °C počas 16 hodín a kryštaly sa oddelili dekantáciou od dietyléteru. Kryštaly sa sušili za vákua a po kvapkách pridal sa vodný NaOH (0,1 mol/l) do pH 2,5. Vytvorené kryštaly sa oddelili filtráciou a suspendovali vo vode (15 ml). Reakčná zmes sa premiešavala pri 22 °C počas 48 hodín a výsledné kryštaly sa oddelili filtráciou, čím poskytli látku z názvu tohto príkladu, 9a (270 mg, 43 %). T.t. 227 až 228 °C (rozklad).

CHN: Vypočítané 46,07; 3,69; 9,77, nájdené: 46,15; 3,68, 9,74.

<sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O; DSS) δ 2,93 - 3,06 (m, 1H); 3,15 - 3,24 (m, 1H); 3,46 (dd, 1H); 7,26 (dd, 1H); 7,66 - 7,72 (m, 2H).

<sup>13</sup>C NMR (D<sub>2</sub>O, pH=12 (NaOD); dioxán): δ 29,06; 57,18; 111,38; 129,00; 129,01 (2C); 129,79; 162,28; 163,26; 167,76; 182,65.

MS (MH+) m/z: 283.

#### Príklad 10

Kyselina (RS)-2-amino-3-[3-(5-tetrazolyl)-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl]propiónová, hydrát, 10a.

K roztoku etyl-[4-metyl-5-(2-tienyl)izoxazol-3-yl]karboxylátu (3,7 g, 15,6 mmol) pripraveného tak, ako je opísané skôr, v THF (20 ml) sa pridal vodný roztok HCl (6 mol/l, 100 ml). Reakčná zmes sa varila pod refluxom počas 6 hodín. Ochladená reakčná zmes sa extrahovala dietyléterom (3 x 100 ml) a spojené organické fázy sa premyli s vodným nasýteným roztokom NaCl, sušili (MgSO<sub>4</sub>) a skoncentrovali za vákua. Ku zvyšku sa pridal CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> a výsledné kryštaly sa oddelili filtráciou. Filtrát sa odparil za vákua a pridal sa nasýtený vodný roztok NaHCO<sub>3</sub>. Vodná fáza sa premyla s CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 60 ml) a okyslila pomocou 6 mol/l HCl na pH 1 až 2. Vodná fáza sa extrahovala dietyléterom (3 x 80 ml). Spojené organické fázy sa sušili (MgSO<sub>4</sub>) a odparili za vákua. Spojené výťažky kyseliny [4-metyl-5-(2-tienyl)izoxazol-3-yl]karboxylovej boli 1,6 g (48 %).

Zmes kyseliny [4-metyl-5-(2-tienyl)izoxazol-3-yl]kar-

boxylovej (4,0 g, 19,1 mmol),  $\text{SOCl}_2$  (40 ml) a DMF (0,1 ml) sa refluxovala počas 60 minút. Roztok sa odparil za vákua. Zvyšok sa rozpustil v THF (50 ml) a organická fáza sa vyliala na vodný roztok amoniaku (25 % hmotnostných) pri 0 až 5 °C. Reakčná zmes sa premiešavala pri 22 °C počas 1 hodiny a extrahovala dietyléterom (4 x 250 ml). Spojené organické fázy sa premyli s vodou a vodným nasýteným roztokom NaCl, a sušili ( $\text{MgSO}_4$ ) a skoncentrovali za vákua, čím poskytli [4-metyl-5-(2-tienyl)izoxazol-3-yl]karboxamid (3,7 g, 93 %).

Roztok 4-metyl-5-(2-tienyl)izoxazol-3-yl]karboxamidu (3,4 g, 16,3 mmol) a  $\text{POCl}_3$  (40 ml) sa refluxoval počas 20 minút. Reakčná zmes sa odparila za vákua a zvyšok sa rozpustil v dietyléteri. Organická fáza sa vyliala na zmes ľad/voda. Fázy sa oddelili a vodná fáza sa extrahovala dietyléterom (3 x 100 ml). Spojené organické fázy sa premyli s vodou a vodným nasýteným roztokom NaCl, sušili ( $\text{MgSO}_4$ ) a skoncentrovali za vákua, čím poskytlo 4-metyl-5-(2-tienyl)izoxazol-3-yl]karbonitril (2,9 g, 95 %).

[4-brómmetyl-5-(2-tienyl)izoxazol-3-yl]karbonitril bol pripravený z 4-metyl-5-(2-tienyl)izoxazol-3-yl]karbonitriľu analogickým spôsobom, ako je opísané v Príklade 7.

Etyl-2-acetylamino-2-etoxykarbonyl-3-[3-kyano-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl]propionát bol pripravený z [4-brómmetyl-5-(2-tienyl)izoxazol-3-yl]karbonitriľu analogickým spôsobom, ako je opísané v Príklade 7.

Suspenzia etyl-2-acetylamino-2-etoxykarbonyl-3-[3-kyano-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl]propionátu (2,0 g, 4,9 mmol),  $\text{NaN}_3$  (0,4 g, 6,2 mmol) a trietylamínhydrochloridu (0,9 g, 6,2 mmol) v dimetoxyetáne (80 ml) sa varila pod refluxom počas 48 hodín. Pridal sa ďalší  $\text{NaN}_3$  (0,4 g, 6,2 mmol) a trietylamínhydrochlorid (0,9 g, 6,2 mmol) a reakčná zmes sa refluxovala počas ďalších 20 hodín. Ochladená reakčná zmes sa odparila za vákua a zvyšok sa podrobil kolónovej chromatografii (silikagél, eluent: etylacetát/kyselina octová = 10:1). Odparenie rozpúšťadla poskytlo etyl-2-acetylamino-2-etoxykarbonyl-3-[3-(tetrazolyl)-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl]propionát (0,7 g, 32 %).

Zmes etyl-2-acetylamino-2-etoxykarbonyl-3-[3-(tetrazolyl)-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl]propionátu (0,6 g, 1,3 mmol) a 47 % vodného roztoku HBr (20 ml) sa refluxovala počas 30 minút. Reakčná zmes sa ochladila a pridala sa voda (50 ml). Vodná fáza sa extrahovala dietyléterom (3 x 75 ml). Spojené organické fázy sa extrahovali vodou (50 ml). Spojené vodné fázy sa odparili za vákua. Pridala sa voda (25 ml) a vodný roztok NaOH (0,1 mol/l, 16 ml) a výsledné kryštaly sa oddelili filtráciou. Kryštaly sa sušili za vákua, čím poskytlí látku z názvu tohto príkladu, 10a (0,4 g, 90 %). T.t. 209 až 211 °C (rozklad).

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  3,27 - 3,54 (m, 2H); 4,37 - 4,47 (m, 1H); 7,33 (dd, 1H); 7,76 (d, 1H); 7,94 (d, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  24,51; 51,81; 108,03; 127,80; 127,95; 128,57; 129,71; 151,63; 155,91; 161,96; 170,40.

MS (MH+)  $m/z$ : 307.

#### Príklad 11

Kyselina (RS)-2-amino-3-[3-hydroxy-5-(2-oxazolyl)izoxazol-4-yl]propiónová, acetát, 11a.

3-hydroxy-4,5-dimetylizoxazol bol pripravený spôsobom, ako je opísaný Jaquierom, R. a spol., *Bull. Soc. Chim. Fr.* 1970, 2685 až 90, modifikovaným Satom, K. a spol., *Agric. Biol. Chem.* 1986, 50(7), 1831 až 1837.

Suspenzia 3-hydroxy-4,5-dimetylizoxazolu (68,5 g, 0,6 mol) a  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (125,6 g, 0,9 mol) v acetóne (1000 ml) sa zahriala na teplotu refluxu. Do vriacej reakčnej zmesi sa po kvapkách pridal roztok etylbromidu (99,1 g, 0,9 mol) v acetóne. Reakčná zmes sa premiešavala ďalších 8 hodín, ochladila, prefiltrovala a odparila za vákua. Kolónová chromatografia (silikagél, eluent: etylacetát/heptán = 1:3) zvyšku poskytla 3-etoxy-4,5-dimetylizoxazol (52,7 g, 62 %).

K ochladenej zmesi (5 °C) 3-etoxy-4,5-dimetylizoxazolu (65,6 g, 0,5 mol) v  $\text{CCl}_4$  (500 ml) bol pridávaný  $\text{Br}_2$  (150 g, 0,9 mol). Reakčná zmes sa premiešavala počas 96 hodín v tme.

Pridala sa voda (200 ml) a reakčná zmes sa odfarbila prídavkom siričitanu sodného. Fázy sa oddelili a vodná fáza sa extrahovala s  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Spojené organické fázy sa premyli s vodným nasýteným roztokom NaCl, sušili ( $\text{MgSO}_4$ ) a odparili za vákua. Zvyšok sa rozpustil v zmesi voda/NMP (15:85, 700 ml) a reakčná zmes sa premiešavala pri 100 °C počas 24 hodín. Pridala sa voda a vodný roztok sa extrahoval dietyléterom. Spojené organické fázy sa premyli s vodným nasýteným roztokom NaCl, sušili ( $\text{MgSO}_4$ ) a odparili za vákua. Zvyšok sa podrobil kolónovej chromatografii (silikagél, eluent: etylacetát/n-heptán = 1:2), čím poskytol 3-etoxy-5-hydroxymetyl-4-metylizoxazol (26,3 g, 36 %).

K roztoku 3-etoxy-5-hydroxymetyl-4-metylizoxazol (25,0 g, 0,16 mol) v zmesi  $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}$ /kyselina octová (1:2:7, 200 ml) sa pridala zmes  $\text{CrO}_3/\text{H}_2\text{O}$ /kyselina octová (1:1:2), 160 ml). Výsledná reakčná zmes sa premiešavala počas 18 hodín pri 22 °C. Pridala sa voda a vodná fáza sa extrahovala dietyléterom. Spojené organické fázy sa premyli s vodným nasýteným roztokom NaCl, sušili ( $\text{MgSO}_4$ ) a odparili za vákua, čím poskytli kyselinu (3-etoxy-4-metylizoxazol-5-yl)karboxylovú (22,7 g, 83 %).

Roztok kyseliny (3-etoxy-4-metylizoxazol-5-yl)karboxylovej (5,0 g, 29 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (250 ml),  $\text{SOCl}_2$  (4,3 ml) a DMF (0,2 ml) sa varili pod refluxom počas 2 hodín. Reakčná zmes sa odparila za vákua, rozpustila v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (100 ml) a po kvapkách sa pridala do ochladenej (5 °C) zmesi aminoacetaldehyddimetylacetalu (3,5 ml, 3,2 mmol) a  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (6,0 g, 4,4 mmol) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (100 ml). Výsledný roztok sa premiešaval 4 hodiny pri 22 °C. Pridala sa voda a fázy sa oddelili. Organická fáza sa premyla vodou a vodným nasýteným roztokom NaCl, sušila ( $\text{MgSO}_4$ ) a odparila za vákua, čím poskytla 5-[N-(acetaldehyddimetylacetal)karboxamid]-3-etoxy-4-metylizoxazol (7,0 g, 93 %).

Zmes 5-[N-(acetaldehyddimetylacetal)karboxamid]-3-etoxy-4-metylizoxazolu (6,4 g, 25 mmol),  $\text{P}_2\text{O}_5$  (7,1 g, 50 mmol) a koncentrovanej  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (150 ml) sa varila pod refluxom počas 30 minút. Ochladená (5 °C) reakčná zmes sa vyliala na zmes

ľad/voda a vodná fáza sa extrahovala dietyléterom (2 x 500 ml). Spojené organické fázy sa premyli s vodným nasýteným roztokom NaCl, sušili ( $\text{MgSO}_4$ ) a odparili za vákua. Zvyšok sa podrobil kolónovej chromatografii (silikagél, eluent:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /etylacetát/metanol = 1:1:0,5), čím poskytol 3-hydroxy-4-metyl-5-(2-oxazolyl)izoxazol (340 mg, 8,3 %).

K ochladenému (-5 °C) roztoku 3-hydroxy-4-metyl-5-(2-oxazolyl)izoxazolu (340 mg, 2,0 mmol) v TEA (0,33 ml) a THF (40 ml) sa pridal roztok benzénsulfonylchloridu (0,27 ml, 2,1 mmol) v THF (40 ml). Výsledná reakčná zmes sa premiešavala pri 22 °C počas 18 hodín. Odparenie rozpúšťadla za vákua a kolónová chromatografia (silikagél, eluent: etylacetát/n-heptán = 1:3) poskytli 3-benzénsulfonyloxy-4-metyl-5-(2-oxazolyl)izoxazol (520 mg, 85 %).

Zmes 3-benzénsulfonyloxy-4-metyl-5-(2-oxazolyl)izoxazolu (500 mg, 1,6 mmol), NBS (300 mg, 1,7 mmol) a dibenzoylperoxid (0,1 g, 0,4 mmol) v  $\text{CCl}_4$  (100 ml) sa varil pod refluxom počas 24 hodín. Ochladená reakčná zmes sa prefiltrovala a odparila za vákua, čím poskytla 3-benzénsulfonyloxy-4-brómmetyl-5-(2-oxazolyl)izoxazol (440 mg, 70 %).

Etyl-2-acetylamino-2-etoxykarbonyl-3-[3-benzénsulfonyloxy-5-(2-oxazolyl)izoxazol-4-yl]propionát (120 mg, 22 %) bol pripravený z 3-benzénsulfonyloxy-4-brómmetyl-5-(2-oxazolyl)izoxazolu (440 mg) analogickým spôsobom, ako je opísané v Príklade 7.

K roztoku etyl-2-acetylamino-2-etoxykarbonyl-3-[3-benzénsulfonyloxy-5-(2-oxazolyl)izoxazol-4-yl]propionátu (120 mg, 0,25 mmol) v metanole (10 ml) sa pridal NaOH (20 mg, 0,5 mmol) v metanole (10 ml). Reakčná zmes sa premiešavala počas 2 hodín pri 22 °C a rozpúšťadlo sa odparilo za vákua. Pridala sa voda a vodná fáza sa extrahovala s  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Vodná fáza sa okyslila na pH 2 pomocou 0,1 mol/l HCl a extrahovala s  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Vodná fáza sa odparila za vákua a pridal sa vodný roztok 1 mol/l HCl (10 ml). Reakčná zmes sa varila pod refluxom počas 3 hodín. Reakčná zmes sa odparila za vákua a pridal sa éter (10 ml). Výsledné kryštaly sa oddelili filtráciou a sušili za vákua. Kryštaly sa rozpustili v 1 mol/l

vodnom roztoku HCl a vodná fáza sa premyla dietyléterom. Vodná fáza sa odparila za vákuu a zvyšok sa rozpustil vo vode. Vodná fáza sa prepustila cez kolónu obsahujúcu vymieňač iónov [Amberlit IRA 400, (Cl, 150 ml)] za použitia kyseliny octovej (1 mol/l) ako eluenta. Odparenie rozpúšťadla poskytlo látku z názvu tohto príkladu, 11a, (15 mg, 27 %).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , dioxán),  $\delta$  3,26 - 3,36 (m, 1H), 4,11 - 4,21 (m, 1H), 7,40 (s, 1H), 8,04 (s, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , dioxán),  $\delta$  23,41; 54,17; 105,83; 128,96; 142,16; 152,56; 171,55; 177,26; 177,74.

MS(MH+)  $m/z$ : 240.

#### Príklad 12

Kyselina (RS)-2-amino-3-[3-hydroxy-5-(2-tiazolyl)izoxazol-4-yl]propiónová, 12a.

Zmes 5-[N-(acetaldehyddimetylacetal)karboxamid]-3-etoxy-4-metylizoxazolu (6,5 g, 25,2 mmol) pripraveného tak, ako je opísané v Príklade 11 a  $\text{P}_2\text{S}_5$  (5,6 g, 25,2 mmol) v toluéne sa varila pod refluxom počas 2 hodín. Reakčná zmes sa odparila a zvyšok sa podrobil kolónovej chromatografii (silikagél, eluent: toluén/etylacetát = 11:1), čím poskytla 3-etoxy-4-metyl-5-(2-tiazolyl)izoxazol (0,5 g, 9 %).

Zmes 3-etoxy-4-metyl-5-(2-tiazolyl)izoxazol (0,5 g, 2,6 mmol) v  $\text{CCl}_4$  (50 ml) sa varila pod refluxom počas 36 hodín. Ochladená reakčná zmes sa prefiltrovala a odparila za vákuu, čím poskytla 4-brómmetyl-3-etoxy-5-(2-tiazolyl)izoxazol (0,6 g, 87 %).

Etyl-2-acetylamino-2-etoxykarbonyl-3-[3-etoxy-5-(2-tiazolyl)izoxazol-4-yl]propionát (320 mg, 41 %) bol pripravený z 3-etoxy-5-(2-tiazolyl)izoxazol (540 mg) analogickým spôsobom, ako je opísané v Príklade 7.

Suspenzia etyl-2-acetylamino-2-etoxykarbonyl-3-[3-etoxy-5-(2-tiazolyl)izoxazol-4-yl]propionátu (245 mg, 0,6 mmol) v 47 % HBr (5 ml) sa varila pod refluxom počas 30 minút. Reakčná zmes sa odparila za vákuu a pridala sa voda (30 ml).

Vodný roztok sa opracoval aktívnym uhlím, prefiltroval a odparil za vákua. Zvyšok sa rozpustil vo vode a vodný roztok sa prepustil cez kolónu obsahujúcu vymieňač iónov [Amberlit IRA 400, (Cl, 150 ml)] za použitia kyseliny octovej (2 mol/l) ako eluenta. Odparenie rozpúšťadla poskytlo látku z názvu tohto príkladu, 12a, (66 mg, 45 %).

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 10 %,  $\text{CF}_3\text{COOH}$ ):  $\delta$  3,13 - 3,27 (m, 1H), 3,30 - 3,45 (m, 1H), 4,14 - 4,28 (m, 1H), 8,03 (d, 1H), 8,10 (d, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 10 %,  $\text{CF}_3\text{COOH}$ ):  $\delta$  22,98; 51,03; 102,43; 122,64; 144,76; 154,97; 159,81; 170,81; 170,50.

MS(MH+)  $m/z$ : 256.

Kyselina (RS)-2-amino-3-[3-hydroxy-5-(5-tetrazolyl)izoxazol-4-yl]propiónová bola pripravená podobným spôsobom s nasledujúcimi úpravami:

Kyselina (3-etoxy-4-metylizoxazol-5-yl)karboxylová pripravená tak, ako je skôr opísané, sa konvertuje na zodpovedajúci karboxamid konvenčnými metódami pomocou  $\text{SOCl}_2$  a vodného roztoku amoniaku (25 % hmotnostných). Zodpovedajúca nitrilová zlúčenina (3-etoxy-4-metylizoxazol-5-yl)karbonitril sa získa dehydratovaním amidu pomocou  $\text{POCl}_3$ . Bromácia (3-etoxy-4-metylizoxazol-5-yl)karbonitrilu pomocou NBS a následne reakcia s dietylacetamidomalonátom poskytla etyl-2-acetylamino-2-etoxykarbonyl-3-(5-kyano-3-etoxyizoxazol-4-yl)propionát. Tvorba zodpovedajúcej 5-(5-tetrazolylovej) zlúčeniny sa výhodne urobila reakciou etyl-2-acetylamino-2-etoxykarbonyl-3-(5-kyano-3-etoxyizoxazol-4-yl)propionátu s  $\text{NaN}_3$  a hydrochloridom trietylaminu v dimetoxymetáne. Deprotekcia etyl-2-acetylamino-2-etoxykarbonyl-3-(3-etoxy-5-(5-tetrazolyl)izoxazol-4-yl)propionátu sa uskutočňuje pomocou vodného roztoku HBr (47 % hmotnostných), čím sa získa kyselina (RS)-2-amino-3-[3-hydroxy-5-(5-tetrazolyl)izoxazol-4-yl]propiónová.



Príklad 13

Kyselina (RS)-2-amino-3-[3-hydroxy-5-(2-pyridyl)izoxazol-4-yl]propiónová, hydrát, 13a.

Roztok 5-(2-pyridyl)izoxazol-3-olu (1,14 g, 7,0 mmol) (pripraveného z hydrobromidu metyl-2,3-dibróm-3-(2-pyridyl)propanoátu upraveným postupom opísaným K. Tomitaom, *Ann. Sankyo Res. Lab.* 1973, 25, 3 - 5) a NaOH (0,28 g, 7,0 mmol) vo vode (10 ml) a etanole (10 ml) sa odparil dosucha a ďalej sa sušil počas 2 hodín pri 1,33 Pa. Zvyšok sa suspendoval v suchom DMF (10 ml) a ochladil na -10 °C. Po kvapkách sa pridal dimetylsulfát (0,73 ml, 7,7 mmol) a zmes sa premiešavala pri -10 °C počas 1 hodiny a potom pri 22 °C počas 15 hodín. Výsledný roztok sa odparil za vákua. Ku zvyšku sa pridala voda (15 ml) a zmes sa extrahovala dichlórmetánom (3 x 30 ml). Spojené organické fázy sa sušili a odparili za vákua. Zvyšok sa podrobil kolónovej chromatografii (silikagél, eluent: toluén/etylacetát/ladová kyselina octová = 1:1:1%), čím poskytol 3-metoxy-5-(2-pyridyl)izoxazol (0,73 g, 59 %).

Roztok 3-metoxy-5-(2-pyridyl)izoxazol (1,53 g, 8,68 mmol) v suchom THF (40 ml) sa ochladil na -78 °C. Roztok n-butyllítia v hexáne (9,0 ml, 1,6 mol/l, 14 mmol) sa pridal počas 5 minút, nasledoval paraformaldehyd (2,48 g, 83 mmol). Zmes sa premiešavala pri -78 °C počas 15 minút a potom pri 22 °C počas 2 hodín. Reakčná zmes sa odparila za vákua a pridala sa voda (25 ml) a dichlórmetán (40 ml) a pH bolo upravené na hodnotu 6 zriedenou HCl. Fázy sa oddelili a vodná fáza sa extrahovala dichlórmetánom (2 x 30 ml). Spojené organické fázy sa sušili a odparili za vákua. 4-hydroxymetyl-3-metoxy-5-(2-pyridyl)izoxazol sa izoloval pomocou kolónovej chromatografie (silikagél, eluent: toluén/etylacetát = 19:1); výťažok 357 mg (20 %).

Zmes 4-hydroxymetyl-3-metoxy-5-(2-pyridyl)izoxazolu (357 mg, 1,73 mmol) a tionylchloridu (10 ml) sa varila pod refluxom počas 2 hodín. Reakčná zmes sa odparila za vákua.

K zvyšku sa pridal vodný roztok hydrogénuhličitanu sodného (5 %, 15 ml) a zmes sa extrahovala dichlórmetánom (2 x 25 ml). Spojené organické fázy sa sušili a odparili za vákua, čím poskytli 4-chlórmetyl-3-metoxy-5-(2-pyridyl)izoxazol (388 mg, 100 %).

Malými dávkami sa k roztoku dimetylacetamidomalonátu (361 mg, 1,91 mmol) v suchom DMF (4 ml) pridal hydrid sodný (84 mg, 60 % hmotnostných v oleji, 2,09 mmol). Zmes sa premiešavala pri 22 °C počas 45 minút. Do reakčnej zmesi sa po kvapkách pridal roztok 4-chlórmetyl-3-metoxy-5-(2-pyridyl)izoxazolu (390 mg, 1,74 mmol) v suchom DMF (4 ml) a výsledná reakčná zmes sa premiešavala pri 22 °C počas ďalších 6 hodín. Zmes sa odparila za vákua a k zvyšku sa pridala voda (10 ml). Vodná reakčná zmes sa extrahovala dichlórmetánom. Spojené organické fázy sa sušili a odparili za vákua. Kolónová chromatografia zvyšku (silikagél, eluent: toluén/etylacetát = 19:1) poskytla metyl-2-acetylamino-2-metoxykarbonyl-3-[3-metoxy-5-(2-pyridyl)izoxazol-4-yl]propionát (500 mg; 76 %). Zmes metyl-2-acetylamino-2-metoxykarbonyl-3-[3-metoxy-5-(2-pyridyl)izoxazol-4-yl]propionátu (500 mg, 1,3 mmol) a vodnej kyseliny bromovodíkovej (47 % hmotnostných, 20 ml) sa varila pod refluxom počas 1 hodiny. Zmes sa odparila za vákua a k zvyšku sa pridala voda (10 ml). Vodný roztok sa opracoval aktívnym uhlím a opatrne sa k filtrátu pridal vodný roztok uhličitanu sodného (2 mol/l), kým pH nedosiahlo hodnotu 3. Po 24 hodinách pri 5 °C sa zrazenina oddelila, premyla vodou a sušila za vákua, čím poskytla látku z názvu tohto príkladu, 13a (174 mg, 54 %).

CHN: Vypočítané 52,07; 4,57; 16,56, nájdené: 52,03; 4,50, 16,38.

<sup>1</sup>H NMR (200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,70 (d, 1H); 7,95 (m, 1H); 7,80 (d, 1H); 7,45 (m, 1H); 3,75 (m, 1H); 3,40 (dd, 1H); 3,15 (dd, 1H).

<sup>13</sup>C NMR (200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ, 171,83; 171,53; 162,88; 149,68; 147,64; 137,82; 124,41; 121,17; 104,86; 53,30; 24,24.

Nasledujúca látka bola pripravená podobným spôsobom:

Kyselina (RS)-2-amino-3-[3-hydroxy-5-(4-pyridyl)izoxazol-4-yl]propiónová, hydrát, 13b.

CHN: Vypočítané 49,44; 4,90; 15,72, nájdené: 49,49; 4,88, 15,83.

$^1\text{H}$  NMR (200 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8,70 (d, 2H); 7,65 (d, 2H); 3,75 (m, 1H); 3,05 (dd, 1H); 2,90 (dd, 1H).

$^{13}\text{C}$  NMR (200 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  172,97; 171,20; 161,73; 150,52; 135,30; 121,01; 105,39; 52,70; 24,69.

#### Príklad 14

Kyselina (S)-(+)-2-amino-3-(3-hydroxy-5-fenylizoxazol-4-yl)-propiónová, 14a.

Diastereoizomérna soľ kyseliny (RS)-2-amino-3-(3-hydroxy-5-fenylizoxazol-4-yl)propiónovej, 0,5 H<sub>2</sub>O (11,0 g, 44 mmol) pripravená podľa Christensena, I.T. 1989, citované vyššie, a (R)-(+)-1-fenyletylamín (5,1 g, 44 mmol) sa zrážali z etanolu (300 ml) pri 0 °C.

Kryštaly sa rozpustili vo vode a zmes sa okyslila na pH 2,5 pomocou 0,1 mol/l kyseliny chlorovodíkovej. Kryštalická látka z názvu tohto príkladu sa oddelila filtráciou (320 mg, 6 %). T.t. 251 až 253 °C,  $[\alpha]_D$ : +35,5 ° (c = 0,25, 1 mol/l HCl, 20 °C), ee = 99,0 %;

CHN: Vypočítané 58,05; 4,88; 11,29, nájdené: 58,03; 5,22, 11,33.

Kyselina (R)-(+)-2-amino-3-(3-hydroxy-5-fenylizoxazol-4-yl)-propiónová, hydrát 14b, bola pripravená podobným spôsobom za použitia (S)-(-)-1-fenyletylamín (5,1 g, 44 mmol). Výťažok látky z názvu tohto príkladu, H<sub>2</sub>O bol 1,4 g; 26 %. Zistilo sa že obsah vody je 7,7 %. T.t. 252 až 254 °C,  $[\alpha]_D$ : -37,8 ° (c = 0,25, 1 mol/l HCl, 20 °C), ee = 99,8 %;

CHN: Vypočítané 54,12; 5,31; 10,52, nájdené: 54,10; 5,27, 10,54.

Nasledujúce látky boli pripravené podobným spôsobom z kyseliny (RS)-2-amino-3-[5-(4-fluórfenyl)-3-hydroxyizoxazol-4-yl]propiónovej pripravenej analogickým spôsobom ako kyselina (RS)-2-amino-3-[3-hydroxy-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl]propiónová, ako je opísané v Príklade 1:

Kyselina (-)-2-amino-3-[5-(4-fluórfenyl)-3-hydroxyizoxazol-4-yl]propiónová, 14c.

T.t. 247 °C (rozklad), ee = 99,6 %,

CHN: Vypočítané 54,12; 4,16; 10,56, nájdené: 54,16; 4,12, 10,48.

<sup>1</sup>NMR (200 MHz, D<sub>2</sub>O, NaOD, dioxán) δ 2,56 (dd, 1H); 2,82 (dd, 1H), 3,40 (dd, 1H), 7,22 (dd, 2H), 7,67 (dd, 2H).

Kyselina (+)-2-amino-3-[5-(4-fluórfenyl)-3-hydroxyizoxazol-4-yl]propiónová, 14d.

T.t. 246 °C (rozklad), [α]<sub>D</sub>: +37,9 ° (c = 0,25, 1 mol/l HCl, 20 °C), ee = 99,8 %,

CHN: Vypočítané 54,12; 4,16; 10,56, nájdené: 54,12; 4,06, 10,45.

<sup>1</sup>NMR (200 MHz, D<sub>2</sub>O, NaOD, dioxán) δ identické ako pre 14c.

#### Príklad 15

Kyselina (-)-2-amino-3-[3-hydroxy-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl]propiónová, 15a.

Látka 1a (20,8 g; 81,8 mmol) pripravená tak, ako je opísané v príklade 1, bola pridaná do zmesi etanolu (350 ml) a acetylchloridu (35 ml) pri 25 °C. Výsledná reakčná zmes sa varila pod refluxom počas 3,5 hodiny. Ochladený roztok sa odparil za vákua, čím poskytol kyselinu (RS)-2-amino-3-[3-etoxy-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl]propiónovú (25,0 g, 96 %).

Roztok kyseliny (RS)-2-amino-3-[3-etoxy-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl]propiónovej (24,9 g, 78,1 mmol) v CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1200 ml) a TEA (45 ml) sa zahrieval na teplotu refluxu. Do horúcej reakčnej zmesi sa počas 40 minút pridal (S)-(+)-2-

metoxy-2-fenylacetylchlorid (16,2 g, 87,9 mmol) pripravený konvenčnými metódami z kyseliny (S)-(+)-2-metoxy-2-fenylacetovej v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (250 ml). Výsledná reakčná zmes sa varila pod refluxom počas ďalšej 1 hodiny. Ochladená reakčná zmes sa odparila za vákua a podrobila kolónovej chromatografii (silikagél, eluent: n-heptán/etylacetát/kyselina octová = 55:45:1), čím poskytla (RS)-etyl-2-[N-(2-metoxy-2-fenylacetamido)]-3-[3-hydroxy-5-(2-tienyl)-izoxazol-4-yl]-propionát (27,2 g, 81 %).

K ochladenému (0 °C) roztoku (RS)-etyl-2-[N-(2-metoxy-2-fenylacetamido)]-3-[3-hydroxy-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl]-propionátu (27,2 g, 61,1 mmol) v suchom THF (600 ml) a TEA (10 ml) bol pridaný benzénsulfonylchlorid (12,5 g, 70,8 mmol) v suchom THF (300 ml) počas 160 minút. Výsledný roztok sa premiešaval pri 22 °C počas 18 hodín. Reakčná zmes sa odparila za vákua a pridali sa voda a  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Fázy sa oddelili a organická fáza sa sušila ( $\text{MgSO}_4$ ) a odparila za vákua. Zvyšok obsahujúci dva diastereoizoméry (RS)-etyl-2-[N-(2-metoxy-2-fenylacetamido)]-3-[3-benzénsulfonyloxy-5-(2-tienyl)-izoxazol-4-yl]propionátu bol podrobený kolónovej chromatografii (silikagél, eluent: toluén/etylacetát = 7:1). Výťažok prvého eluovaného izoméru (Izomér 1) bol 10,4 g (60 %) a výťažok druhého eluovaného izoméru (Izomér 2) bol 9,0 g (51 %). Izomér 1 (10,4 g, 18,2 mmol) sa rozpustil v metanole (600 ml). Pridal sa NaOH (0,8 g, 20,0 mmol) v metanole (20 ml) a výsledná reakčná zmes sa premiešavala pri 22 °C počas 10 minút. Do reakčnej zmesi sa pridala voda (5000 ml) a pH vodného roztoku sa upravilo na hodnotu 1 pomocou koncentrovanej HCl. Vodný roztok sa extrahoval dietyléterom a  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Spojené organické fázy sa sušili a odparili za vákua. Kolónová chromatografia (silikagél, eluent: etylacetát/n-heptán/kyselina octová = 50:50:1) poskytla Izomér 1 (RS)-etyl-2-[N-(2-metoxy-2-fenylacetamido)]-3-[3-hydroxy-5-(2-tienyl)-izoxazol-4-yl]propionátu (5,8 g, 74 %).

Zmes takto získaného 1-izoméru (5,8 g, 13,5 mmol) a vodného roztoku HBr (47 % hmotnostných) (250 ml) sa varila pod refluxom počas 1 hodiny. Reakčná zmes sa odparila za vá-

kua a pridala sa voda. Vodný roztok sa premyl  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  a opracoval aktívnym uhlím. Objem vodného roztoku bol zmenšený na 200 ml odparením za vákua. Zwitterión Izoméru 1 kryštalizoval z vodného roztoku prídavkom vodného NaOH na pH 3. Výsledné kryštaly sa oddelili filtráciou, čím poskytli kyselinu (-)-2-amino-3-[3-hydroxy-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl]propiónovú, 15a (1,0 g, 30 %). T.t. 258 až 260 °C (rozklad).

$[\alpha]_D$ : -26,8 ° (c = 0,25, 1 mol/l HCl, 20 °C), ee = 96,9 %;

CHN: Vypočítané 47,23; 3,97; 11,02, nájdené: 46,88; 3,97, 10,89;

MS (MH+)  $m/z$ : 255,2.

Podobný spôsob opracovania poskytol kyselinu (+)-2-amino-3-[3-hydroxy-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl]propiónovú, 15b. T.t. 259 až 261 °C (rozklad).

$[\alpha]_D$ : +24,4 ° (c = 0,25, 1 mol/l HCl, 20 °C), ee = 98,9 %;

CHN: Vypočítané 47,23; 3,97; 11,02, nájdené: 47,15; 4,05, 10,88;

MS (MH+)  $m/z$ : 255,2.

Látka 4c bola opracovaná podobným spôsobom, čím sa získali:

Kyselina (-)-2-amino-4-[3-hydroxy-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl]butánová, 15c. T.t. 217 až 219 °C (rozklad).

$[\alpha]_D$ : -16,3 ° (c = 0,25, 1 mol/l HCl, 20 °C), ee = 85,1 %;

Kyselina (+)-2-amino-4-[3-hydroxy-5-(2-tienyl)izoxazol-4-yl]butánová, 15d. T.t. 217 až 219 °C (rozklad).

$[\alpha]_D$ : +15,6 ° (c = 0,25, 1 mol/l HCl, 20 °C), ee = 81,9 %;

#### Farmakológia

Látky podľa tohto vynálezu sa testovali podľa nasledujúcich dobre známych a spoľahlivých skúšobných metód. Výsledky testov pri skúškach viazania receptorov sú uvedené v Tabuľke 1 a výsledky testov elektrofyzilogických preparátov potkanieho kortikálneho klinu sú uvedené v Tabuľke 2.

### Viazanie [<sup>3</sup>H]AMPA

V tejto skúške sa určuje afinita liečiva na AMPA receptory meraním schopnosti nahradiť [<sup>3</sup>H]AMPA z AMPA receptorov.

Skúška sa uskutočňovala podľa upravenej verzie metódy Honoré, T. a Nielsena, M., *Neurosci. Lett.* 1985, 54, 27-32. Skúška sa vykonávala v prítomnosti KSCN. To znamená, že boli označené len miesta s vysokou afinitou viazania [<sup>3</sup>H]AMPA.

Použité membránové preparáty sa získali podľa metódy Ransoma, R.W. a Steca, J. *Neurochem.* 1988, 51, 830 - 836.

### Viazanie [<sup>3</sup>H]CPP

Toto je skúška na určenie afinity liečiva ku NMDA-receptoru. V skúške sa meria schopnosť liečiva nahradiť [<sup>3</sup>H]CPP (4-(3-fosfonopropyl)piperazín-2-karboxylová kyselina) z miest viazania transmitéru NMDA-receptora.

Skúška sa uskutočnila podľa metódy opísanej Murphym, D.E., a spol., *J. Pharm. Exp. Ther.* 1987, 240, 778-784. Použité membránové preparáty boli pripravené tak, ako je opísané vyššie.

### Model kortikálneho klinu

"Model kortikálneho klinu" je skúška, pri ktorej sa plátky z mozgu potkana skúšajú *in vitro* s cieľom kvantifikovať účinok ligandov na Glu-receptoroch a vyhodnotiť farmakologický profil ligandov (t.j. agonisticko/antagonistické vlastnosti). Skúška sa uskutočňovala tak, ako je opísané Harrisonom, N.L. a Simondsom, M.A., *Br. J. Pharmacol.* 1986, 87, 159P.

Tabuľka 1: Údaje viazania receptora

Látka	viazanie [ <sup>3</sup> H]AMPA hodnoty IC <sub>50</sub> v μM	viazanie [ <sup>3</sup> H]CPP hodnoty IC <sub>50</sub> v μM
1a	0,28	>100
1b	3,5	>100
2a	43,0	7,5
3a	9,0	21,0
4a	>100	0,76
4b	>100	2,5
4c	>100	0,19
4d	>100	0,7
5a	33,0	22,0
5b	38,0	6,9
14a	5,5	>100

Tabuľka 2: Elektrofyziológické údaje (preparát kortikálneho klinu potkana)

Látka	profil	EC <sub>50</sub> (μM)	IC <sub>50</sub> (μM)	subtyp receptora
1a	agonista	5,8		AMPA
1b	agonista	43,0		AMPA
1f	agonista	130		AMPA
2a	čiasť. ago. #	300		NMDA
2b	agonista	30,0		NMDA
3a	agonista	240		AMPA
4a	antagonista		9,0	NMDA
4b	antagonista		18,0	NMDA
4c	antagonista		2,5	NMDA
4d	antagonista		8,6	NMDA
5a	antagonista		ND	NMDA/AMPA/KAIN
5b	antagonista		30	NMDA
5c	antagonista		ND	NMDA/AMPA
13a	agonista	55,0		AMPA
13b	agonista	7,4		AMPA
14a	agonista	230		AMPA
14b	antagonista		290*/950*	AMPA/KAIN
14c	antagonista		337*	AMPA
14d	agonistick.	170		AMPA
15a	antagonista		300	AMPA
15b	agonista	2,7		AMPA

\*) K<sub>i</sub> hodnota; ND = neurčené; # čiasť. ago. = čiastočný agonista



Pri farmakologickej charakterizácii na preparátoch kortikálneho klinu sa zistilo, že niektoré látky sú agonistické k AMPA a NMDA receptorom, iné látky sú selektívne NMDA antagonistické a ešte iné sú neselektívne antagonistické látky k AMPA a NMDA receptorom. Tieto látky vykazovali aktivitu v rozsahu  $\mu\text{mol/l}$ .

## Výsledky

Z Tabuľky 1 vidno, že niektoré látky podľa tohto vynálezu selektívne nahrádzujú  $[^3\text{H}]\text{AMPA}$  z AMPA receptorov *in vitro* s afinitami v nízkych mikromolových koncentráciách. Iné látky selektívne nahrádzujú  $[^3\text{H}]\text{CPP}$  z NMDA receptorov *in vitro*. O ešte iných látkach podľa tohto vynálezu sa zistilo, že nahrádzujú aj  $[^3\text{H}]\text{AMPA}$  aj  $[^3\text{H}]\text{CPP}$  z AMPA a NMDA receptorov *in vitro*.

Na preparátoch kortikálneho klinu sa zistilo, že niektoré látky podľa tohto vynálezu sú agonistické alebo čiastočne agonistické, kým iné sú antagonistické. Podľa toho vynález zahrnuje látky, ktoré majú rôzne agonisticko/antagonistické profily pre receptory kyseliny glutámovej s aktivitami s nízkymi mikromolovými koncentraciami.

## Príklady prípravkov

Farmaceutické prípravky podľa tohto vynálezu sa môžu pripraviť metódami, ktoré sú konvenčné v tejto oblasti.

Napríklad: tablety sa môžu pripraviť zmiešaním aktívnej zložky s obvyklými adjuvansami a/alebo zriedovadlami a následne zlisovaním zmesi v konvenčnom tabletovacom stroji. Príklady adjuvansov alebo zriedovadiel zahrnujú: kukuričný škrob, laktózu, mastenec, stearát horečnatý, želatínu, laktózu, gumy, a podobne. Môže sa použiť akýkoľvek iný adjuvans alebo prídavok na farbenie, arómu, konzervovanie a podobne, za predpokladu, že je kompatibilný s aktívnymi zložkami.

Roztoky pre injekcie sa môžu pripraviť rozpustením aktívnej zložky a možných aditív v časti vehikula, výhodne

sterilnej vody, doplnením roztoku na požadovaný objem, sterilizáciou roztoku a plnením do vhodných ampulí alebo fliaštičiek. Môže sa použiť akákoľvek vhodná aditívna látka konvenčne používaná v tejto oblasti, ako napríklad tonizujúce reagenty, konzervačné látky, antioxidanty atď.

Typické príklady predpisov prípravkov podľa tohto vynálezu sú nasledujúce:

1) Tablety obsahujúce 5 miligramov Látky 1a:

Látka 1a	5,0 mg
Laktóza	60 mg
Kukuričný škrob	30 mg
Hydroxypropylcelulóza	2,4 mg
Mikrokryštalická celulóza	19,2 mg
Kroskarmelóza sodná Typ A	2,4 mg
Stearát horečnatý	0,84 mg

2) Tablety obsahujúce 1 miligram Látky 4c:

Látka 4c	1,0 mg
Laktóza	46,9 mg
Kukuričný škrob	23,5 mg
Povidon	1,8 mg
Mikrokryštalická celulóza	14,4 mg
Kroskarmelóza sodná Typ A	1,8 mg
Stearát horečnatý	0,63 mg

3) Sirup obsahujúci v mililitri:

Látka 1a	5,0 mg
Sorbitol	500 mg
Hydroxypropylcelulóza	15 mg
Glycerol	50 mg
Metyl-parabén	1 mg
Propyl-parabén	0,1 mg
Etanol	0,005 ml
Príchut'	0,05 mg
Sacharín sodný	0,5 mg
Voda	do 1 ml

4. Roztok pre injekciu obsahujúci v mililitri:

Látka 4a	0,5 mg
Sorbitol	5,1 mg
Kyselina octová	0,08 mg
Voda pre injekciu	do 1 ml

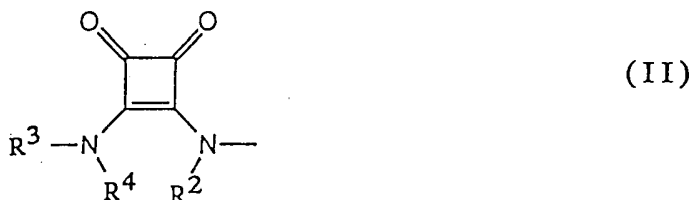
## P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. (5-arylizoxazol-4-yl)-substituovaná 2-aminokarboxylová kyselina všeobecného vzorca I



kde A je väzba alebo oddeľovacia skupina vybratá z C<sub>1-6</sub>alkylénu, C<sub>2-6</sub>alkenylénu alebo C<sub>2-6</sub>alkinylénu, a cykloalkylénu;

B je vybratá zo skupiny -CH(NR'R'')-COOH, kde R' a R'' sú nezávisle vodíky, alebo C<sub>1-6</sub>alkyl a skupina vzorca II



kde R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> a R<sup>4</sup> sú nezávisle vybraté zo skupiny pozostávajúcej z

a) vodíka, C<sub>1-6</sub>alkylu, C<sub>2-6</sub>alkenylu alebo C<sub>2-6</sub>alkinylu, a cykloalk(en)ylu, cykloalk(en)ylu-C<sub>1-6</sub>alk(en/in)ylu, fenyl-C<sub>1-6</sub>alkylu, tienyl-C<sub>1-6</sub>alkylu a

b) C<sub>1-6</sub>alkylu, C<sub>2-6</sub>alkenylu a C<sub>2-6</sub>alkinylu, v ktorých je jeden alebo viac uhlíkových atómov nahradených s N, O a/alebo S, alebo

R<sup>3</sup> a R<sup>4</sup> sú spojené, čím tvoria C<sub>2-6</sub>alkylénovú, C<sub>2-6</sub>alkenylénovú alebo C<sub>2-6</sub>alkinylénovú skupinu; alebo sú

R<sup>4</sup> a R<sup>2</sup> spojené, čím tvoria C<sub>1-3</sub>alkylénovú, C<sub>2-3</sub>alkenylénovú alebo C<sub>2-3</sub>alkinylénovú skupinu voliteľne mono- alebo

di-substituovanú s hydroxyskupinou alebo metylom alebo  $\text{CH}_2\text{-O-CH}_2$ ;

E je O, S, COO,  $(\text{CH}_2)_n\text{-COO}$ ,  $\text{O-}(\text{CH}_2)_n\text{-COO}$ , alebo  $\text{S-}(\text{CH}_2)_n\text{-COO}$ , v ktorých n je celé číslo 1 až 6, 5-tetrazolylová skupina, 5-tetrazolyl- $\text{C}_{1-6}$ alkylová skupina, 3-hydroxy-izoxazolylová skupina alebo 3-hydroxyizoxazolyl- $\text{C}_{1-6}$ alkylová skupina;

D je O alebo S; a

$\text{R}^1$  je arylová alebo heteroarylová skupina alebo arylová alebo heteroarylová skupina substituovaná s jedným alebo viacerými substituentami vybratými z halogénu,  $\text{C}_{1-6}$ alkylu,  $\text{C}_{1-6}$ alkoxyly, hydroxyly,  $\text{C}_{1-6}$ alkyltioskupiny,  $\text{C}_{1-6}$ alkylsulfonyly,  $\text{C}_{1-6}$ alkylaminoskupiny alebo di- $(\text{C}_{1-6}$ alkyl)aminoskupiny, kyanoskupiny, nitroskupiny, trifluórmetyly alebo trifluórmetyltioskupiny;

za predpokladu, že A je metylén, B je skupina  $\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$ , E je O, D je O a  $\text{R}^1$  je fenyl alebo fenyl substituovaný halogénom alebo metoxylovou skupinou; potom zlúčenina musí byť v enantiomérne čistej forme;

alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ.

2. Zlúčenina podľa nároku 1, kde A je väzba alebo  $\text{C}_1\text{-C}_3$ alkylén.

3. Zlúčenina podľa nároku 1, kde B je  $\text{-CH(NR}^1\text{R}^2\text{)-COOH}$  alebo skupina vzorca II, kde  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$  a  $\text{R}^4$  vodík alebo nižší alkyl, alebo  $\text{R}^4$  a  $\text{R}^2$  spojené tvoria  $\text{C}_1\text{-C}_3$ alkylénovú skupinu, voliteľne substituovanú hydroxyskupinou.

4. Zlúčenina podľa nároku 3, kde B je  $\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$  alebo skupina vzorca II, kde všetky  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$  a  $\text{R}^4$  sú atómy vodíka.

5. Zlúčenina podľa nároku 1, kde E je O, COO,  $\text{-O-}(\text{CH}_2)_n\text{-COO}$  ( $n = 1, 2$  alebo 3) alebo tetrazolyl a D je kyslík.

6. Zlúčenina podľa nároku 1, kde  $R^1$  je arylová alebo heteroarylová skupina vybratá zo skupiny pozostávajúcej z 5-členných aromatických heteroarylových skupín obsahujúcich 1 až 4 heteroatómy vybraté z N, O a S, ako sú napríklad tienyl, furyl, pyrolyl, oxazolyl, izoxazolyl, tiazolyl, izotiazolyl, pyrazolyl, imidazolyl, triazolyl, oxadiazolyl, tiadiazolyl a tetrazolyl, benzotienyl, benzofuranyl, indolyl, fenyl, bifenyl, pyridyl, pyrimidinyl, pyridazinyl, pyrazinyl, naftyl, chinolyl, chinazoliny, chinoxaliny a cinolinolyl a takéto arylové alebo heteroarylové skupiny substituované s jedným alebo viacerými substituentami vybratými z halogénu,  $C_{1-6}$ alkylu,  $C_{1-6}$ alkoxy, hydroxy,  $C_{1-6}$ alkyltioskupiny,  $C_{1-6}$ alkylsulfony,  $C_{1-6}$ alkylaminoskupiny alebo di- $(C_{1-6}$ alkyl)aminoskupiny, kyanoskupiny, nitroskupiny, trifluórmetylu alebo trifluórmetyltioskupiny.

7. Zlúčenina podľa nároku 6, kde  $R^1$  je tienyl, oxazolyl, izoxazolyl, tiazolyl, izotiazolyl, pyrazolyl, imidazolyl, oxadiazolyl, tiadiazolyl, tetrazolyl, triazolyl, pyridyl, fenyl, bifenyl alebo naftyl alebo tienyl, oxadiazolyl alebo fenyl substituovaný halogénom alebo metylom.

8. Zlúčenina podľa nároku 7, kde  $R^1$  je 2-tienyl, 3-tienyl, fenyl, 2-pyridyl alebo 4-pyridyl alebo 2-tienyl, alebo fenyl substituovaný halogénom alebo metylom.

9. Zlúčenina podľa nároku 1, kde A je väzba alebo  $C_1-C_3$ alkylén, B je  $-CH(NH_2)-COOH$  alebo skupina vzorca II, kde všetky  $R^2$ ,  $R^3$  a  $R^4$  sú vodíky, E a D sú oba kyslíky a  $R^1$  je 2-pyridyl, 4-pyridyl, tienyl, fenyl, substituovaný tienyl alebo substituovaný fenyl.

10. Farmaceutická zmes vyznačujúca sa tým, že zahrnuje látku podľa ktoréhokolvek z nárokov 1 až 9 spolu s farmaceuticky prijateľným nosičom alebo zriedovadlom.

11. Použitie látky podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 9 na prípravu farmaceutickej zmesi v y z n a č u j ú c e s a t ý m, že je určené na liečenie cerebrálnej ischemie, Huntingtonovej choroby, epileptických porúch, Parkinsonovej choroby, Alzheimerovej choroby, schizofrénie, bolesti, depresie a anxiózy.