

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

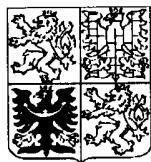
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

1790-97

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **12. 12. 95**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **13.12.94, 22.12.94**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **94/9425085, 94/9426016**

(33) Země priority: **GB, GB**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **15. 10. 97**
(Věstník č. 10/97)

(86) PCT číslo: **PCT/EP95/04910**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 96/18643**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

C 07 K 5/06
C 07 D 207/16
A 61 K 38/05
A 61 K 31/40

// **C 07 K 7/22**

(71) Přihlášovatel:

NOVARTIS AG, Basle, CH;

(72) Původce:

Ko Soo Young, London, GB;

Walpole Christopher, London, GB;

(74) Zástupce:

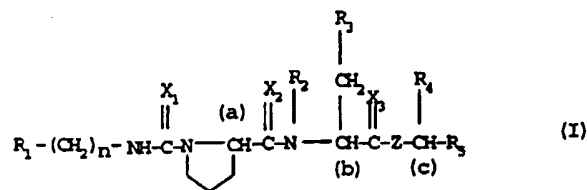
Kubát Jan Ing., Přístavní 24, Praha 7,
17000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Antagonisty tachykininu

(57) Anotace:

Sloučeniny obecného vzorce I, kde R₁ je mono- nebo di-substituovaný fenyl, n je nula nebo 1, X₁ je atom kyslíku, síry nebo skupina =NCN, X₂ a X₃ jsou atom kyslíku nebo síry, R₂ je atom vodíku nebo methyl, R₃ je fenyl, halogenem substituovaný fenyl, 2-naftyl, 1H-indol-3-yl nebo 1-methylindol-3-yl, Z je -N(CH₃)- nebo -CH₂-, R₄ je fenyl, 3,5-bis(trifluormethyl)fenyl nebo pyridyl a R₅ je atom vodíku, fenyl, 3,5-bis(trifluormethyl)fenyl nebo pyridyl, přičemž když X₃ je atom síry, Z je -N(CH₃)-, a jejich soli s kyselinou mají účinnost antagonisty tachykininu a jsou použitelné jako léčiva, například pro ošetřování bolesti.



CZ 1790-97 A3

174 959/KB

Antagonisty tachykininu

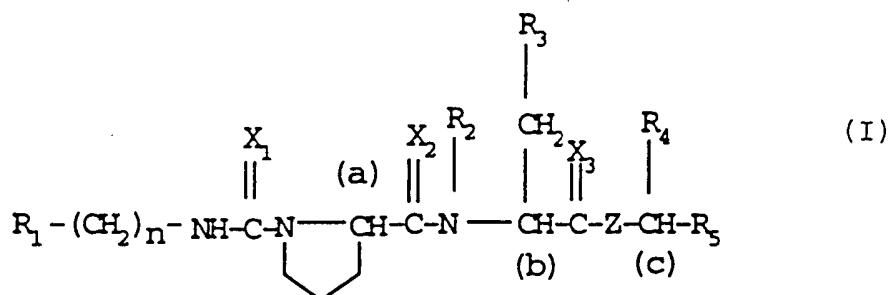
Oblast techniky

PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ PŘÍL.	U RAD	0 4 4 1 2 6	č. j.
		DOŠLO	
		11. VI. 97	

Vynález se týká nových sloučenin, které mají účinek antagonistů tachykininu, způsobů jejich přípravy, farmaceutických prostředků, které tyto sloučeniny obsahují, a jejich použití jako léčiv.

Podstata vynálezu

Podstatou vynálezu jsou sloučeniny obecného vzorce I



ve kterém

R₁ je fenylová skupina mono- nebo di-substituovaná jedním nebo dvěma substituenty vybranými ze skupiny zahrnující atom halogenu, nitroskupinu, kyanoskupinu, trifluormethylovou skupinu, hydroxyskupinu, methoxyskupinu, hydroxymethylovou skupinu, methoxymethylovou skupinu, methoxykarbonylovou skupinu, karbamoylovou skupinu a N-methylkarbamoylovou skupinu,

n je nula nebo 1,

X₁ atom kyslíku, síry nebo skupina =NCN,

X₂ a X₃ jsou nezávisle na sobě atom kyslíku nebo síry,

R₂ je atom vodíku nebo methylová skupina,

R_3 je fenylová skupina, halogenem substituovaná fenylová skupina, 2-naftylová skupina, 1H-indol-3-yl-skupina nebo 1-methylindol-3-yl-skupina,

Z je $-N(CH_3)-$ nebo $-CH_2-$,

R_4 je fenylová skupina, 3,5-bis(trifluormethyl)fenylová skupina nebo pyridylová skupina a

R_5 je atom vodíku, fenylová skupina, 3,5-bis(trifluormethyl)fenylová skupina nebo pyridylová skupina,

příčemž když X_3 je atom síry, Z je $-N(CH_3)-$,

nebo jejich soli s kyselinami.

Atomem halogenu se míní atom chloru, fluoru, bromu a jodu.

Jestliže R_1 je disubstituovaná fenylová skupina, substituenty mohou být stejné nebo různé.

1. Ve skupině sloučenin obecného vzorce I R_1 je fenylová skupina mono- nebo di-substituovaná jedním nebo dvěma substituenty vybranými ze skupiny zahrnující nitroskupinu, kyanoskupinu, trifluormethylovou skupinu, hydroxymethylovou skupinu, methoxymethylovou skupinu, karbamoylovou skupinu a N-methylkarbamoylovou skupinu.

2. V další skupině sloučenin obecného vzorce I je n nula.

2a. Jestliže n je nula, R_1 je s výhodou fenylová skupina mono- nebo di-substituovaná jedním nebo dvěma substituenty vybranými ze skupiny zahrnující nitroskupinu, kyanoskupinu, methoxymethylovou skupinu, methoxykarbonylovou skupinu, karbamoylovou skupinu a N-methylkarbamoylovou skupinu (například nitroskupinu, kyanoskupinu, methoxymethylovou skupinu, karbamoylovou skupinu a N-methylkarbamoylovou skupinu), zejména nitroskupinu a methoxymethylovou skupinu a obzvláště nitroskupinu.

2b. Jestliže n je nula, R_1 je s výhodou monosubstituovaná fenylová skupina, zvláště fenylová skupina monosubstituovaná v poloze 2.

2c. Jestliže n je nula, R_1 je nejvýhodněji fenylová skupina monosubstituovaná v poloze 2 jakýmkoliv substituentem uvedeným

v odstavci 2a výše, zejména je to 2-nitrofenyl a 2-(methoxymethyl)fenyl, zejména 2-nitrofenyl.

3. V další skupině sloučenin podle vynálezu je $n = 1$.

3a. Jestliže n je 1, R_1 je s výhodou fenylová skupina mono- nebo di-substituovaná jedním nebo více substituenty vybranými ze skupiny zahrnující atom halogenu, trifluormethylovou skupinu a methoxyskupinu, zejména atom halogenu a trifluormethylovou skupinu.

3b. Jestliže n je 1, R_1 je s výhodou fenylová skupina mono-substituovaná v poloze 2 nebo disubstituovaná v polohách 2 a 6.

3c. Jestliže n je 1, R_1 je nejvýhodněji fenylová skupina mono-substituovaná v poloze 2 nebo disubstituovaná v polohách 2 a 6 jakýmkoliv ze substituentů uvedených v odstavci 3a výše, zejména fenylová skupina monosubstituovaná v poloze 2, zvláště 2-halogenfenyl nebo 2-trifluormethylfenyl, zejména 2-chlorfenyl nebo 2-trifluormethylfenyl a obzvláště 2-chlorfenyl.

Ve sloučeninách obecného vzorce I

4. S výhodou je n nula.

5. S výhodou je X_1 atom kyslíku nebo síry, zejména atom kyslíku.

6. S výhodou je X_2 a X_3 každý atom kyslíku.

7. S výhodou je R_2 atom vodíku.

8. Jestliže R_3 je halogenem disubstituovaná fenylová skupina, je to výhodně 3,4-dihalogenfenylová skupina. Výhodným atomem halogenu je atom chloru, zejména je tedy R_3 3,4-dichlorfenyl.

9. S výhodou je R_3 2-naftylová skupina nebo halogenem substituovaná fenylová skupina, například jak je definována v odstavci 8 výše, zejména 2-naftylová skupina.

10. Z je výhodně $-N(CH_3)-$.

11. Jestliže R_5 je jiný než atom vodíku, R_4 a R_5 jsou výhodně stejné.

12. Pyridylem jako skupinou R_4 a/nebo R_5 je výhodně 2-pyridyl.

13. R_4 je výhodně fenylová skupina.

14. R_5 je výhodně atom vodíku.

15. Nejvýhodněji je R_4 fenylová skupina a R_5 atom vodíku.

Předložený vynález tedy zahrnuje sloučeniny obecného vzorce I, ve kterých významy substituentů R_1 až R_5 , X_1 až X_3 , n a Z znamenají jakoukoliv kombinaci nebo subkombinaci významů uvedených u obecného vzorce I a/nebo v jednom nebo více z odstavců 1 až 15, jak jsou uvedeny výše.

A. V podskupině sloučenin podle předloženého vynálezu

R_1 je 2-halogenfenyl nebo 2-nitrofenyl,

n je nula,

X_2 a X_3 jsou každý atom kyslíku,

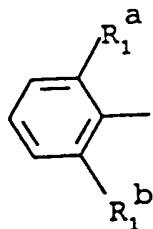
R_4 je fenyl nebo pyridyl,

R_5 je atom vodíku, fenyl nebo pyridyl a

X_1 , R_2 , R_3 a Z mají významy uvedené u obecného vzorce I.

B. V další podskupině sloučenin podle předloženého vynálezu

R_1 je skupina obecného vzorce



kde R_1^a je trifluormethylová skupina, atom halogenu, methoxyskupina nebo nitroskupina a

R_1^b je atom vodíku, trifluormethylová skupina, atom halogenu, methoxyskupina nebo nitroskupina,

n je 1,

X_2 a X_3 jsou každý atom kyslíku,

R_3 je halogenem substituovaná fenylová skupina, 2-naftylová skupina, 1H-indol-3-yl-skupina nebo 1-methylindol-3-yl-skupina,

Z je $-N(CH_3)-$ a

X_1 , R_2 , R_4 a R_5 mají významy uvedené u obecného vzorce I.

Výhodnými významy substituentů ve výše uvedených podskupinách A a B jsou substituenty uvedené výše v odstavcích 1 až 15.

Sloučeniny obecného vzorce I, ve kterém R_4 a/nebo R_5 je pyridylová skupina, existují ve volné formě a ve formě solí s kyselinou. Předložený vynález samozřejmě zahrnuje jak volné sloučeniny obecného vzorce I, tak jejich soli s kyselinami. Vhodnými farmaceuticky přijatelnými solemi s kyselinami pro použití podle vynálezu jsou například hydrochloridy.

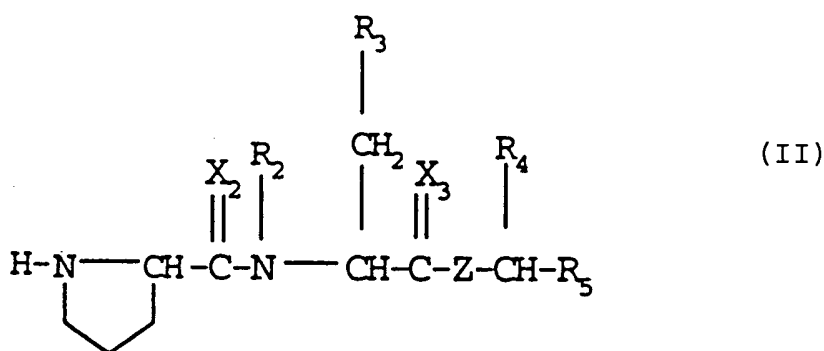
Sloučeniny podle vynálezu obsahují dva asymetrické atomy uhlíku [označené v obecném vzorci I písmeny (a) a (b)]. Jestliže R_4 a R_5 jsou rozdílné a R_5 je jiný než atom vodíku, je přítomen další asymetrický atom uhlíku [(c)]. Sloučeniny tak vykazují optický isomerismus.

Jednotlivé isomery lze získat běžným způsobem, například syntesou za použití opticky aktivních výchozích látek nebo rozdělením původně získaných isomerních směsí, například pomocí chromatografických technik za použití chirálního nosiče nebo rekrystalisací diastereoisomerních solí.

Předložený vynález samozřejmě zahrnuje jak jednotlivé isomery v čisté nebo v podstatě čisté formě, jakož i směsi, například racemické a diastereoisomerní směsi, pokud není uvedeno jinak.

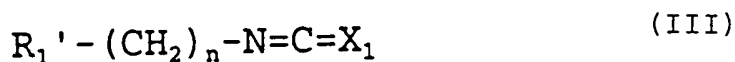
V obecném vzorci I má každý z atomů uhlíku (a) a (b) s výhodou (S)-konfiguraci. Ještě výhodněji mají jak atom uhlíku (a), tak atom uhlíku (b) (S)-konfiguraci. Podle toho jsou výhodné sloučeniny obecného vzorce I, jak jsou definovány výše, ve kterých uhlíkové atomy (a) a (b) mají oba (S)-konfiguraci a jsou v čisté nebo v podstatě čisté formě, například obsahují méně než 10 %, s výhodou méně než 5 %, například méně než 2 %, jiných isomerních forem.

Dále je podstatou vynálezu způsob přípravy sloučeniny obecného vzorce I, jak je definována výše, nebo její soli s kyselinou, který spočívá v tom, že se nechá reagovat sloučenina obecného vzorce II



ve kterém

R_2 až R_5 , X_2 , X_3 a Z mají výše uvedený význam, se sloučeninou obecného vzorce III



ve kterém

R_1' je fenylová skupina, mono- nebo di-substituovaná jedním nebo dvěma substituenty vybranými ze skupiny zahrnující atom halogenu, nitroskupinu, kyanoskupinu, trifluormethylovou skupinu, chráněnou hydroxyskupinu, methoxyskupinu, chráněnou hydroxymethylovou skupinu, methoxymethylovou skupinu nebo methoxykarbonylovou skupinu a n a X_1 mají význam uvedený u obecného vzorce I,

pokud je to třeba, odstraní se chránící skupiny z takto získané sloučeniny, kde R_1' je fenylová skupina substituovaná chráněnou hydroxyskupinou a/nebo chráněnou hydroxymethylovou skupinu, a/nebo se převede takto získaná sloučenina, kde R_1' je fenylová skupina substituovaná methoxykarbonylovou skupinou, na odpovídající sloučeninu, kde R_1' je fenylová skupina substituovaná karbamoylovou skupinou nebo N-methylkarbamoylovou skupinou, a

získaná sloučenina obecného vzorce I se izoluje ve volné formě nebo ve formě soli s kyselinou.

Reakce sloučenin obecného vzorce II se sloučeninami obecného vzorce III se s výhodou provádí v inertním organickém

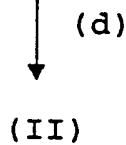
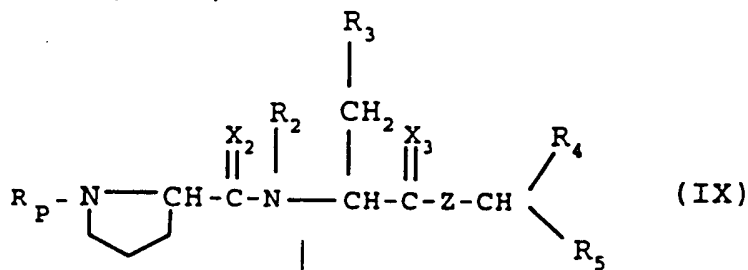
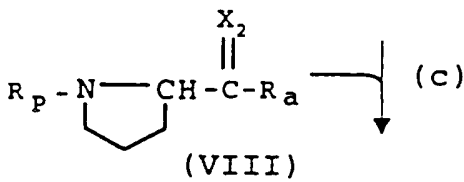
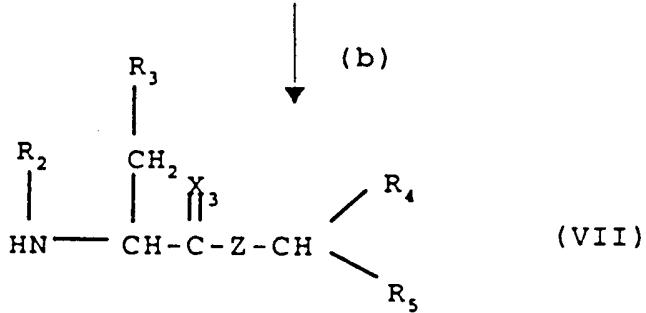
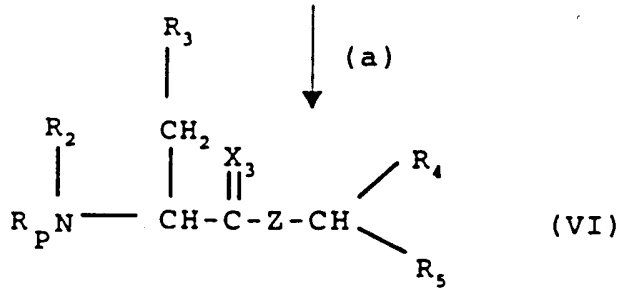
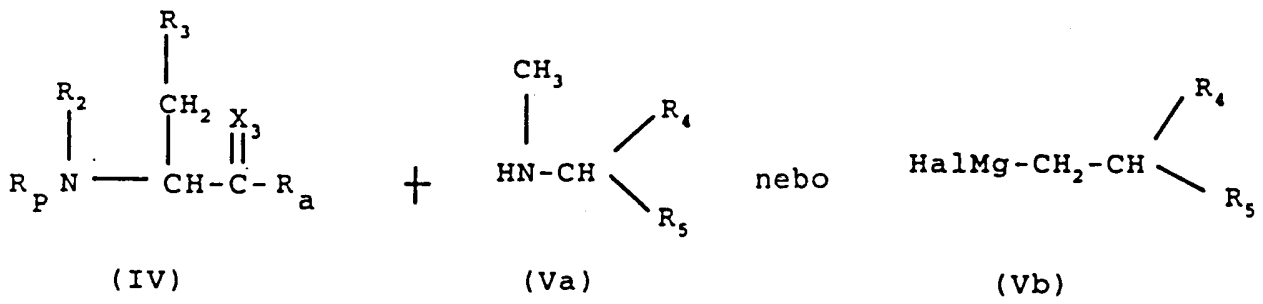
prostředí, například v dioxanu, při teplotě od 20 °C do teploty varu.

Chránícími skupinami, které chrání hydroxyskupiny nebo hydroxymethylové skupiny v substituentu R_1' , mohou být jakékoliv skupiny chránící oxyskupinu, jak jsou známy a běžně používány v oboru peptidové chemie, například terc.butyldimethylsilyloxymethylová skupina. Odstranění chránících skupin se může provádět standardními postupy, například jak je zde dále popsáno v příkladech 18 a 19.

Přeměna methoxykarbonylové skupiny se také může provádět standardními postupy známými ze stavu techniky, například hydrolysou na karboxyskupinu, převedením karboxyskupiny na reaktivní funkční derivát, například karbonylhalogenid nebo smíšený anhydrid, a reakcí tohoto derivátu s amoniakem nebo methylaminem, například jak je dále popsáno v příkladech 15 a 16.

Výchozí sloučeniny obecného vzorce III jsou známy ze stavu techniky, komerčně dostupné nebo připravitelné analogicky jako známé sloučeniny, například v případě sloučenin obecného vzorce III, kde X je =NCN, podle obecných postupů popsaných zde v příkladu 4.

Sloučeniny obecného vzorce II lze připravit podle následujícího reakčního schématu:



ve kterém R_p znamená skupinu chránící aminoskupinu, R_a znamená skupinu aktivující karboxyskupinu, Hal znamená atom chloru,

bromu nebo jodu, zejména atom bromu, a R_2 až R_5 , X_2 , X_3 a Z mají významy uvedené výše.

Vhodnými skupinami chránícími aminoskupinu v R_p jsou jakékoliv skupiny známé a používané při syntese peptidů, například terc.butoxykarbonylová skupina (Boc) je obzvláště vhodná u sloučenin obecných vzorců IV a VIII.

Reakcí sloučenin obecného vzorce IV se sloučeninami obecných vzorců Va a Vb se získají sloučeniny obecného vzorce VI (a tím sloučeniny vzorce II), ve kterých Z je $-N(CH_3)-$ a popřípadě $-CH_2-$.

Vhodnými skupinami aktivujícími karboxyskupinu v R_a pro reakci sloučeniny obecného vzorce IV se sloučeninou obecného vzorce Va, jakož i pro stupeň (c) jsou aktivující skupiny smíšených anhydridů, například isobutoxykarbonyloxyskupina. Reakce se může provádět postupy známými z chemie peptidů, například podle obecného postupu podle příkladu 1A.2.

Výchozí sloučeniny obecných vzorců Va a Vb jsou známé nebo je lze připravit analogicky jako známé sloučeniny, například jak je zde uvedeno v příkladech 5, 20 a 24.

Vhodnými skupinami aktivujícími karboxyskupinu v R_a pro reakci sloučeniny obecného vzorce IV se sloučeninou obecného vzorce Vb jsou esterové skupiny odvozené od pyridylu a pikolyly, například 2-pyridyloxyskupina. Reakce se může provádět známými postupy pro tvorbu Grignardových činidel obecného vzorce Vb in situ, například jak je zde popsáno v příkladu 28.

Výchozí sloučeniny obecného vzorce IV jsou známé nebo popsané ve stavu techniky nebo je lze připravit známými postupy, například aktivací odpovídajících N-chráněných kyselin, výhodně in situ, například jak je zde popsáno v příkladu 1A.1.

Alternativně lze sloučeniny obecného vzorce II, kde R_2 je methylová skupina, připravit ze sloučenin obecného vzorce IV, kde R_2 je atom vodíku a provedením methylačního mezistupně,

například sloučeniny obecného vzorce IX před stupněm (d), podle postupu popsaného Olsenem, J. Org. Chem., 35, 1912 až 1915 (1970). Tento postup je uveden v příkladech 27 a 29.

Stupně (b) a (d) postupu jsou běžnými postupy odstraňování chránících skupin, jak jsou běžně prováděny při syntese peptidů, například jak jsou zde popsány v příkladu IB.

Následující příklady blíže objasňují způsoby přípravy sloučenin podle vynálezu.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Příprava 2-nitrofenylkarbamoyl-[(S)-prolyl]-[(S)-3-(2-naftyl)-alanyl]-N-benzyl-N-methylamidu

[Vzorec I, kde R_1 je 2-nitrofenyl, n je nula, X_1 , X_2 a X_3 jsou každý atom kyslíku, R_2 je H, R_3 je 2-naftyl, Z je $-N(CH_3)-$, R_4 je fenyl a R_5 je H, oba uhlíkové atomy (a) a (b) mají S-konfiguraci.]

K (S)-prolyl-(S)-3-(2-naftyl)alanyl-N-benzyl-N-methylamidu (1,39 g) v ethylacetátu (15 ml) se přidá 2-nitrofenylisokyanát (551 g). Žlutý roztok se míchá při teplotě místnosti po dobu 1 hodiny. Reakční směs se zahustí. Oranžový zbytek se čistí rychlou chromatografií (2:1 ethylacetát:hexan) a získá se žlutá pěna. Tato pěna se rozpustí v ethylacetátu (20 ml) a přikape se pomalu k míchanému roztoku hexanu (200 ml). Žlutá sraženina se odfiltruje a vysuší a získá se sloučenina uvedená v názvu, teploty tání 79 až 82 °C, TLC (silikagel, cyklohexan/ethylacetát 1:2) $R_f = 0,36$.

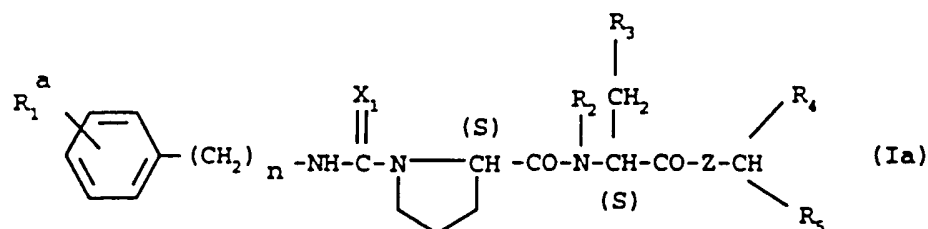
Příklad 2

Příprava 2-chlorbenzothiokarbamoyl-[(S)-prolyl]-[(S)-3-(2-naftyl)alanyl]-N-benzyl-N-methylamidu

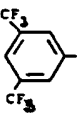
[Vzorec I, kde R_1 je 2-chlorfenyl, n je 1, X_1 je atom síry, X_2 a X_3 jsou oba atomy kyslíku, R_2 je H, R_3 je 2-naftyl, Z je $-N(CH_3)-$, R_4 je fenyl a R_5 je H, oba uhlíkové atomy (a) a (b) mají S-konfiguraci.]

(S)-prolyl-(S)-3-(2-naftyl)alanyl-N-benzyl-N-methylamid (1,03 g) se rozpustí v 10 ml CH_2Cl_2 s 2-chlorbenzylisothiokyanátem (455 mg) a roztok se míchá při teplotě místnosti po dobu 18 hodin. Rozpouštědlo se odstraní za sníženého tlaku. Produkt se čistí rychlou chromatografií (silikagel, cyklohexan/ethylacetát 1:2) a překrystaluje se z ethylacetátu a získají se jemné bílé jehličky. Ty se odfiltrují a suší za tlaku 13,3 Pa při teplotě 75 °C po dobu 18 hodin a získá se sloučenina uvedená v názvu, teploty tání 129 až 131 °C, TLC (silikagel, cyklohexan/ethylacetát 1:2) $R_f = 0,3$.

Připraví se následující sloučeniny obecného vzorce Ia



kde R_2 je atom vodíku, R_3 je 2-naftyl a Z je $-N(CH_3)-$, a to analogicky podle příkladu 1 (když n je nula) nebo podle příkladu 2 (když n je 1).

př.	R ₁ ^a	n	X ₁	R ₄	R ₅	fys. data t.t. (°C)/Rf
3	2-NO ₂	nula	S	fenyl	H	118-121/0,45 ⁽¹⁾
4*	2-NO ₂	nula	=NCN	fenyl	H	92-96/0,10 ⁽¹⁾
5	2-NO ₂	nula	O	2-pyridyl	2-pyridyl	90-92/0,18 ⁽³⁾
6	2-NO ₂	nula	O	2-pyridyl	H	69-71/0,01 ⁽³⁾
7	2-NO ₂	nula	S	2-pyridyl	H	98-100/0,01 ⁽³⁾
8	2-Cl	nula	S	fenyl	H	94-98/0,04 ⁽¹⁾
9	4-NO ₂	nula	O	fenyl	H	126-129/0,20 ⁽¹⁾
10	2-CN	nula	O	fenyl	H	124-126/0,25 ⁽¹⁾
11	3-CN	nula	O	fenyl	H	105-107/0,15 ⁽¹⁾
12	4-F	nula	O	fenyl	H	85-87/0,28 ⁽¹⁾
13	2-(CH ₃ OCO)	nula	O	fenyl	H	50-60/0,23 ⁽¹⁾
14	3-NO ₂	nula	O	fenyl	H	98-101/0,25 ⁽¹⁾
15**	2-(CH ₃ NHCO)	nula	O	fenyl	H	96-102/0,19 ⁽²⁾
16**	2-(NH ₂ CO)	nula	O	fenyl	H	109-115/0,10 ⁽²⁾
17	2-(CH ₃ OCH ₂)	nula	O	fenyl	H	58-62/0,27 ⁽¹⁾
18***	2-HO	nula	O	fenyl	H	98-104/0,24 ⁽¹⁾
19***	2-(HOCH ₂)	nula	O	fenyl	H	83-86/0,20 ⁽²⁾
20	2-Cl	1	S	2-pyridyl	2-pyridyl	95-97/0,09 ⁽³⁾
21	2-Cl	1	S	2-pyridyl	H	85-87/0,01 ⁽⁴⁾
22	2-CF ₃	1	S	fenyl	H	175-176/0,19 ⁽¹⁾
23	2-Cl	1	O	fenyl	H	69-73/0,18 ⁽¹⁾
24	2-Cl	1	S		H	125-127/0,11 ⁽⁴⁾
25	2-Cl	1	S	fenyl	fenyl	102-104/0,15 ⁽⁴⁾
26	2-Br	1	S	fenyl	H	142-143/0,45 ⁽¹⁾

Následující sloučeniny obecného vzorce Ia uvedeného výše, kde R₁^a je 2-NO₂, R₃ je 2-naftyl, R₄ je fenyl a R₅ je H, lze připravit analogicky podle příkladu 1 (když n je nula) nebo podle příkladu 2 (když n je 1).

př.	n	X ₁	R ₂	Z	fys. data t.t. °C/Rf
27	nula	O	CH ₃	N(CH ₃)	71-74/0,55 ⁽²⁾
28	nula	O	H	CH ₂	106-108/0,35 ⁽⁴⁾
29	1	S	CH ₃	N(CH ₃)	84-85/0,19 ⁽⁴⁾

Následující sloučeniny obecného vzorce Ia uvedeného výše, kde R₂ je atom vodíku, Z je -N(CH₃)-, R₄ je fenyl a R₅ je atom vodíku, lze připravit analogicky podle příkladu 1 (když n je nula) nebo podle příkladu 2 (když n je 1).

př.	R ₁ ^a	n	X ₁	R ₃	fys. data t.t. °C/Rf
30	2-NO ₂	nula	O	1H-indol-3-yl	96-98/0,36 ⁽²⁾
31	2-NO ₂	nula	O	3,4-dichlorfenyl	151-152/0,54 ⁽²⁾
32	2-Cl	1	S	3,4-dichlorfenyl	185-186/0,59 ⁽²⁾
33	2-Cl	1	S	1-methylindol-3-yl	160-162/0,06 ⁽⁴⁾

(1) = silikagel, cyklohexan/ethylacetát 1:2

(2) = silikagel, cyklohexan/ethylacetát 1:4

(3) = silikagel, CH₂Cl₂/CH₃OH 25:1

(4) = silikagel, cyklohexan/ethylacetát 1:1

* Pro přípravu sloučeniny v příkladu 4 se výchozí sloučenina vzorce III připraví in situ následujícím způsobem:

Ke kyanamidu (44 mg) v dimethylformamidu (5 ml) se přidá terc.butoxid draselný (1 ml, 1 M v tetrahydrofuranu). Vytvoří se bílá sraženina. Reakční směs se míchá při teplotě místnosti po dobu 20 minut. Přidá se 2-nitrofenylisothiokyanát (180 mg) ve formě pevné látky a reakční směs se míchá při teplotě místnosti po dobu 10 minut. Směs se ochladí ledem a přidá se triethylamin (0,42 ml) a potom (S)-prolyl-(S)-3-(2-naftyl)-alanyl-N-benzyl-N-methylamid (415 mg) a HgCl₂ (300 mg). Dále reakce probíhá stejně jako v příkladu 1, včetně zpracování připravené sloučeniny.

** Sloučeniny podle příkladů 15 a 16 se připraví přes sloučeninu podle příkladu 13 za použití následujících dodatečných stupňů:

Produkt podle příkladu 13 se hydrolysuje a získá se odpovídající kyselina, ve které R_1^a (vzorec Ia) je 2-(HOCO)-. Tato kyselina se potom nechá reagovat s isobutylchlorformiátem a N-methylmorfolinem v ethylacetátu za standardních podmínek (teplota se udržuje pod $-15\text{ }^\circ\text{C}$), přičemž se do reakční nádoby v průběhu 30 minut pomalu zavádí bezvodý methylamin (pro přípravu sloučeniny podle příkladu 15) nebo plynný amoniak (pro přípravu sloučeniny podle příkladu 16). Získané surové produkty se zpracují analogicky podle postupu popsaného v příkladu 1.

*** Sloučeniny podle příkladů 18 a 19 se připraví přes O-chráněný meziprodukt, například následovně:

(S)-prolyl-(S)-3-(2-naftyl)alanyl-N-benzyl-N-methylamid se nechá reagovat s 2-(terc.butyl(dimethyl)silyloxy)fenylisokyanátem nebo s 2-(terc.butyl(dimethyl)silyloxymethyl)fenylisokyanátem analogicky podle příkladu 1 a získají se sloučeniny podle příkladů 18 a 19 v chráněné formě pomocí terc.butyl(dimethyl)silylové skupiny. Odstranění chránících skupin ve sloučeninách podle příkladů 18 a 19 se provádí za standardních podmínek za použití tetrabutylamoniumfluoridu v tetrahydrofuranu.

Výchozí sloučenina pro postup podle příkladu 1 se připraví následujícím způsobem.

Příklad 1A [stupeň (a)]

1A.1. Příprava Boc-(S)-3-(2-naftyl)alaninisobutoxyformyl-anhydridu (vzorec IV, $R_p = \text{Boc}$, $R_2 = \text{H}$, $R_3 = 2\text{-naftyl}$, $X_3 = \text{O}$, $R_a = \text{isobutoxykarbonyloxyskupina}$)

Boc-(S)-3-(2-naftyl)alanin (480 mg) se rozpustí v 5 ml bezvodého CH_2Cl_2 s N-methylmorfolinem (170 μl , 156 mg) a ochladí se za míchání v atmosféře dusíku na $-15\text{ }^\circ\text{C}$ v solné

ledové lázni. Po kapkách se přidá isobutylchlorformiát (200 μ l, 20 mg) ve 2 ml bezvodého CH_2Cl_2 , přičemž je třeba zajistit, aby teplota zůstala pod $-10\text{ }^\circ\text{C}$, a reakční směs se míchá po dobu 30 minut.

1A.2. Příprava Boc-(S)-3-(2-naftyl)alanyl-N-benzyl-N-methylamidu (vzorec VI, $R_p = \text{Boc}$, $R_2 = \text{H}$, $R_3 = 2\text{-naftyl}$, $X_3 = \text{O}$, $Z = -\text{N}(\text{CH}_3)-$, $R_4 = \text{fenyl}$, $R_5 = \text{H}$).

N-benzylmethylamin (vzorec Va) (185 mg) ve 2 ml bezvodého CH_2Cl_2 se přidá po kapkách k produktu podle příkladu 1A.1, přičemž se opět zajistí, aby teplota zůstala pod $-10\text{ }^\circ\text{C}$, a reakční směs se míchá až do skončení reakce podle TLC. Reakční směs se zředí na 75 ml CH_2Cl_2 a promyje se 50 ml zředěné vodné HCl, 50 ml vody a 25 ml roztoku chloridu sodného. Organická fáze se vysuší síranem hořečnatým, přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní za sníženého tlaku. Produkt se čistí rychlou chromatografií na koloně (silikagel, cyklohexan/ethylacetát 4:1) a získá se sloučenina uvedená v názvu ve formě bezbarvé pěnovité pevné látky: TLC (silikagel, cyklohexan/ethylacetát 1:1) $R_f = 0,54$.

Příklad 1B [stupeň (b)]

Příprava (S)-3-(2-naftyl)alanyl-N-benzyl-N-methylamidu (vzorec VII)

Produkt podle příkladu 1A (600 mg) se rozpustí v 10 ml 4,0 M HCl v dioxanu a míchá se při teplotě místnosti po dobu asi 30 minut. HCl a dioxan se odstraní za sníženého tlaku a zbytek se rozpustí v 100 ml vody, zalkalисуje se 2 M NaOH (vodným) a extrahuje se CH_2Cl_2 (2 x 75 ml). Organická fáze se vysuší MgSO_4 , přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní za sníženého tlaku a

získá se sloučenina uvedená v názvu ve formě žlutého oleje: TLC (silikagel, CH₂Cl₂/CH₃OH/CH₃COOH 90:9:1) R_f = 0,43.

Příklad 1C [stupeň (c)]

Příprava Boc-(S)-prolyl-(S)-3-(2-naftyl)alanyl-N-benzyl-N-methylamidu (vzorec IX, R_p = Boc)

Sloučenina uvedená v názvu se připraví analogicky podle příkladu 1A.2 reakcí Boc-(S)-prolinu (310 mg) s produktem podle příkladu 1B (460 mg) a získá se viskosní olej: TLC (silikagel, cyklohexan/ethylacetát 1:1) R_f = 0,18.

Příklad 1D [stupeň (d)]

Příprava (S)-prolyl-(S)-3-(2-naftyl)alanyl-N-benzyl-N-methylamidu (vzorec II)

Sloučenina uvedená v názvu se připraví analogicky podle příkladu 1B, přičemž se vychází z produktu podle příkladu 1C (740 mg) a získá se ve formě pevné pěnovité látky: TLC (silikagel, CH₂Cl₂/CH₃OH/CH₃COOH 90:9:1) R_f = 0,29.

Produkt podle příkladu 1D se také použije jako výchozí látka pro přípravu sloučenin podle příkladů 2 až 4, 8 až 19, 22, 23 a 26 a výchozí látky vzorce II pro příklady 6, 7, 21, 25 a 30 až 33 se připraví analogicky. Výchozí látky vzorce II pro příklady 5, 20, 24 a 27 až 29 se připraví analogicky podle příkladů 1A až 1D za použití následujících prostředků a získá se výchozí látka vzorce Va a/nebo se postup přizpůsobí:

Pokud jde o příklady 5 a 20:

Příprava N-methyl-(di-2-pyridyl)methylaminu (vzorec Va, R₄ a R₅ jsou oba 2-pyridyl)

Di-2-pyridylketon (2,00 g) se rozpustí ve 20 ml CH_2Cl_2 . Přidá se heptamethyldisilazan (1,90 g) a potom trimethylsilyl-trifluormethansulfonát (0,12 g) a reakční směs se zahřívá k varu pod zpětným chladičem po dobu 12 hodin. Rozpouštědlo se odstraní za sníženého tlaku. Surový olej (2,14 g) se rozpustí ve 20 ml bezvodého $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$. Přidá se 0,65 g kyseliny octové a potom kyanborohydrid sodný (0,68 g) a reakční směs se míchá při teplotě místnosti po dobu 1 hodiny. Pak se přidává 1% roztok KHSO_4 , až je pH roztoku 2 a potom se přidává 2 M roztok NaOH , až je pH roztoku 12. $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ se odstraní za sníženého tlaku a produkt se extrahuje do ethylacetátu. Organická vrstva se vysuší MgSO_4 , přefiltruje se a filtrátem se probublává HCl . Získaná sloučenina uvedená v názvu ve formě trihydrochloridové soli se odfiltruje a vysuší pro přímou další reakci analogicky podle příkladů 1A až 1D.

Pokud jde o příklad 24:

Příprava N-methyl-3,5-bis(trifluormethyl)benzylamidu
(vzorec Va, $\text{R}_4 = 3,5\text{-bis(trifluormethyl)fenyl}$, $\text{R}_5 = \text{H}$)

Stupeň I N-Boc-3,5-bis(trifluormethyl)benzylamin

3,5-bis(trifluormethyl)benzylamin (5,00 g) a N-(benzyloxykarbonyloxy)sukcinimid (5,12 g) se rozpustí v 50 ml tetrahydrofuranu a reakční směs se míchá při teplotě místnosti po dobu 3 hodin. Rozpouštědlo se odstraní za sníženého tlaku a produkt se rozpustí v CH_2Cl_2 . Roztok se promyje 50 ml H_2O a 50 ml roztoku chloridu sodného. Organická vrstva se vysuší MgSO_4 , přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní za sníženého tlaku a získá se sloučenina uvedená v názvu.

Stupeň II N-Boc-N-methyl-3,5-bis(trifluormethyl)benzylamin

Produkt ze stupně I výše (6,87 g) se rozpustí v 50 ml bezvodého tetrahydrofuranu a ochladí se na $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Přidá se 1,5 M LDA v tetrahydrofuranu (14 ml) a reakční směs se míchá při teplotě $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 30 minut a potom se pomalu přidá 2,98 g methyljodidu. Reakční směs se míchá při teplotě místnosti po dobu 18 hodin. Rozpouštědlo se odstraní za sníženého tlaku a produkt se čistí rychlou chromatografií na koloně (silikagel, cyklohexan/ethylacetát 9:1) a získá se sloučenina uvedená v názvu.

Stupeň III N-methyl-N-3,5-bis(trifluormethyl)benzylamin

2,00 g produktu ze stupně II výše se rozpustí ve 100 ml $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ a chránicí skupina se odstraní přidáním katalytického množství 10% palladia na uhlí a umístěním roztoku do atmosféry vodíku. Katalysátor se odfiltruje po 4 hodinách a rozpouštědlo se odstraní za sníženého tlaku. Získaná sloučenina uvedená v názvu se nechá dále reagovat analogicky podle příkladů 1A až 1D.

Pokud jde o příklady 27 a 29:

Příprava Boc-(S)-prolyl-(S)-(N-methyl)-3-(2-naftyl)alanyl-N-benzyl-N-methylamidu (vzorec IX, $R_p = \text{Boc}$, $R_2 = \text{CH}_3$, $R_3 = 2\text{-naftyl}$, $Z = \text{N}(\text{CH}_3)$, $R_4 = \text{fenyl}$, $R_5 = \text{H}$)

Produkt z příkladu 1C (1,08 g) a jodmethan (1,04 ml, 2,38 g) se rozpustí v 30 ml dimethylformamidu. Přidá se oxid stříbrný (1,95 g), reakční směs se zahřívá na $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ a míchá se tak dlouho, až nezbyvá žádná výchozí látka, což se stanoví analyticky pomocí HPLC. Reakční směs se ochladí na teplotu místnosti, zředí se na 200 ml pomocí CHCl_3 a promyje se 2 x 100 ml 5% KCN (vodného), 2 x 100 ml H_2O a 50 ml roztoku chloridu sodného, potom se vysuší bezvodým MgSO_4 , přefiltruje se a

rozpouštědlo se odstraní za sníženého tlaku a získá se sloučenina uvedená v názvu ve formě čisté bezbarvé sklovité látky.

Sloučenina uvedená v názvu se nechá dále reagovat analogicky podle příkladu 1D.

Pokud jde o příklad 28:

28.A.1 Příprava 2-pyridylesteru Boc-(S)-3-(2-naftyl)alaninu (vzorec IV, $R_p = \text{Boc}$, $R_2 = \text{H}$, $R_3 = 2\text{-naftyl}$, $R_a = 2\text{-pyridyl-oxyskupina}$)

Boc-(S)-3-(2-naftyl)alanin (1,00 g) a 2-hydroxypyridin (0,33 g) se rozpustí v 5 ml bezvodého pyridinu a roztok se ochladí na 0 °C. Přidá se dicyklohexylkarbodiimid (0,72 g) a reakční směs se míchá při teplotě 0 °C po dobu 6 hodin. Rozpouštědlo se odstraní za sníženého tlaku a produkt se rozpustí ve 20 ml ethylacetátu, přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní za sníženého tlaku. Produkt se čistí rychlou chromatografií na koloně (silikagel, cyklohexan/ethylacetát, 2:1) a získá se sloučenina uvedená v názvu. TLC (silikagel, cyklohexan/ethylacetát, 1:1) $R_f = 0,41$.

28.A.2 Příprava Boc-[1-(S)-naftalen-2-yl-methyl-2-oxo-4-fenylbutyl]aminu [vzorec VI, $R_p = \text{Boc}$, $R_2 = \text{H}$, $R_3 = 2\text{-naftyl}$, $Z = -\text{CH}_2-$, $R_4 = \text{fenyl}$, $R_5 = \text{H}$]

Produkt z příkladu 28.A.1 (0,85 g) se rozpustí v 10 ml bezvodého tetrahydrofuranu v baňce vysušené nad plamenem a roztok se míchá v atmosféře dusíku. Roztok se ochladí na -78 °C a pomalu se přidá 2 M roztok fenethylmagnesiumbromidu (2 ml). Reakční směs se míchá při teplotě -78 °C po dobu 1 hodiny. Přidá se 20 ml nasyceného roztoku amoniumchloridu a produkt se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se vysuší MgSO_4 ,

přefiltruje se a rozpouštědlo se odstraní za sníženého tlaku. Produkt se čistí rychlou chromatografií na koloně (silikagel, cyklohexan/ethylacetát, 9:1) a získá se sloučenina uvedená v názvu: TLC (silikagel, cyklohexan/ethylacetát, 4:1) $R_f = 0,66$.

Sloučenina uvedená v názvu se dále nechá reagovat analogicky podle příkladů 1B až 1D.

Pro přípravu ve větším měřítku se reakční postupy podle příkladů 1A až 1D mohou příslušně upravit, jak je naznačeno v následujícím příkladu 34.

Příklad 34

Příprava 2-nitrofenylkarbamoyl-[(S)-prolyl]-[(S)-3-(2-naftyl)alanyl]-N-benzyl-N-methylamidu ve velkém měřítku:

Stupeň I (příklad (A))

0,5 litrová tříhrdlá baňka s kulatým dnem opatřená mechanickým míchadlem, digitálním teploměrem, kapací nálevkou, přívodem a odvodem dusíku se v chladicí lázni naplní 187,4 g N-benzylmethylaminu a ochladí se na 1 až 5 °C (vnitřní teplota). V průběhu 15 minut se přidá po kapkách 7,5 g ethyltrifluoracetátu, přičemž se udržuje vnitřní teplota na 1 až 5 °C. Nálevka se promyje celkově 7,5 ml ethylacetátu ve třech stejných dílech (každá 2,5 ml) a ten se přidá k reakční směsi. Chladicí lázeň se odstraní a směs se nechá ohřát během 30 minut na teplotu místnosti (21 až 23 °C). Tato směs se míchá při teplotě místnosti po dobu 30 minut a získá se olej.

12 litrová čtyřhrdlá baňka s kulatým dnem opatřená mechanickým míchadlem, digitálním teploměrem, kapací nálevkou, přívodem a odvodem dusíku se v chladicí lázni naplní 394,0 g Boc-(S)-3-(2-naftyl)alaninu a 5,6 l ethylacetátu. Roztok se ochladí na -15 °C (vnitřní teplota) a během 5 minut se přidá 174,4 g 4-methylmorfolinu. Kapací nálevka se promyje 25 ml

ethylacetátu a ten se přidá k reakční směsi. Směs se míchá po dobu 10 minut a během 30 minut se přidá roztok 172,0 ml (181,12 g) isobutylchlorformiátu ve 125 ml ethylacetátu, přičemž se vnitřní teplota udržuje na -14 až -16 °C. Nálevka se promyje 50 ml ethylacetátu ve dvou stejných dílech (každá 25 ml) a ten se přidá k reakční směsi. Suspense se míchá při teplotě -14 až -15 °C dalších 30 minut. Přidává se roztok výše připraveného N-benzylmethylaminu ve 125 ml ethylacetátu konstantní rychlostí během 40 minut, přičemž se vnitřní teplota udržuje na -14 až -15 °C. Nálevka se promyje 50 ml ethylacetátu ve dvou stejných dílech (každá 25 ml) a ten se přidá k reakční směsi. Po dalším míchání při stejné teplotě po dobu další 1 hodiny se během 10 minut přidá 34,4 ml roztoku (36,22 g) isobutylchlorformiátu v 25 ml ethylacetátu, přičemž se vnitřní teplota udržuje na -14 až -16 °C. Nálevka se promyje 10 ml ethylacetátu ve dvou stejných dílech (každá 5 ml) a ten se přidá k reakční směsi. Suspense se míchá dalších 15 minut při teplotě -14 až -16 °C. Přidává se roztok 37,4 g N-benzylmethylaminu (předem zpracovaného 1,5 g ethyltrifluoracetátu, jak je uvedeno výše) v 25 ml ethylacetátu, a to konstantní rychlostí v průběhu 10 minut, přičemž se vnitřní teplota udržuje na -14 až -15 °C. Nálevka se promyje 10 ml ethylacetátu ve dvou stejných dílech (každá 5 ml) a ten se přidá k reakční směsi. Reakční směs se nechá ohřát během 1 hodiny na teplotu místnosti (21 až 22 °C). Reakční směs se potom další 1 hodinu míchá při teplotě místnosti (21 až 22 °C). Přidá se 2,5 l vody a v míchání se pokračuje 5 až 10 minut. Organická vrstva se oddělí a promyje se 1,876 l 1 N kyseliny chlorovodíkové a potom 1,8 l vody. Organická vrstva se promyje 1,5 l 5% vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného. Vzniklá organická vrstva se promyje 1,5 l vody a potom 1,0 l roztoku chloridu sodného a filtrací přes Büchnerovu nálevku se získá 6,1 l roztoku Boc-(S)-3-(2-naftyl)alanyl-N-benzyl-N-methylamidu v

ethylacetátu. Tento roztok se nechá přes noc při teplotě místnosti v atmosféře dusíku pro reakci v dalším stupni.

Stupeň II (příklad 1B)

12 litrová čtyřhrdlá baňka s kulatým dnem opatřená mechanickým míchadlem, digitálním teploměrem, kapací nálevkou, sušící rourkou se v chladicí lázni naplní roztokem 455,75 g plynného chlorovodíku v 2,2 l ethylacetátu. Roztok se ochladí na 10 °C (vnitřní teplota) a během 25 až 30 minut se přidá 6,1 l surového produktu ze stupně I v ethylacetátu, přičemž se vnitřní teplota udržuje pod 20 °C. Směs se nechá ohřát na teplotu místnosti (22 až 23 °C) a míchá se při této teplotě další 3 hodiny. Reakční směs se zahustí za sníženého tlaku (40 až 45 °C, 13,33 až 14,66 kPa), až se odebere 5,0 l rozpouštědla, ochladí se na 20 až 22 °C a míchá se po dobu 15 až 30 minut. Pevná látka se odfiltruje na Büchnerově nálevce a promyje se celkově 1,2 l ethylacetátu ve čtyřech stejných dílech po 300 ml. Pevná látka se suší při 50 až 55 °C (103,5 kPa) po dobu 24 hodin, až se získá konstantní hmotnost čistého hydrochloridu (S)-3-(2-naftyl)alanyl-N-benzyl-N-methylamidu. Čistota: 98,4 % (HPLC), $[\alpha]_D$: +24,8° (c = 1, methanol).

Stupeň III (příklad IC)

5 litrová čtyřhrdlá baňka s kulatým dnem opatřená mechanickým míchadlem, digitálním teploměrem, kapací nálevkou se v chladicí lázni naplní 332,0 g produktu ze stupně II a 2,0 l isopropylacetátu. Suspence se ochladí na 10 až 12 °C (vnitřní teplota) za použití lázně s ledem a vodou. Za intensivního míchání se během 10 minut přidá 1,4 l 5% vodného hydroxidu sodného, přičemž se vnitřní teplota udržuje na 10 až 12 °C. Směs se nechá ohřát na 21 až 22 °C během 30 minut. Organická vrstva se oddělí a promyje se 0,7 l vody a potom 0,25 l roztoku

chloridu sodného. Organická vrstva se vysuší nad 100 g bezvodého síranu sodného a přefiltruje se přes Büchnerovu nálevku. Pevné látky se promyjí 90 ml isopropylacetátu ve třech dávkách po 30 ml. Organická vrstva se zahušťuje za sníženého tlaku (4 až 10 kPa, 43 až 45 °C), až nedestiluje žádné další rozpouštědlo, přičemž se získá 0,35 l (S)-3-(2-naftyl)alanyl-N-benzyl-N-methylamidu (volná base) ve formě oleje. Ten se uchová.

12 litrová čtyřhrdlá baňka s kulatým dnem opatřená mechanickým míchadlem, digitálním teploměrem, kapací nálevkou, přívodem a odvodem dusíku se v chladicí lázni naplní 205,4 g Boc-(S)-prolinu a 3,2 l ethylacetátu. Směs se míchá 5 minut, až se získá roztok. Během 10 minut se přidá 125,6 g 4-methylmorfolinu, přičemž se vnitřní teplota udržuje na 20 až 22 °C. Nálevka se promyje 25 ml ethylacetátu a ten se přidá k reakční směsi. Roztok se ochladí na -15 °C (vnitřní teplota) a přidá se roztok 132,9 g isobutylchlorformiátu v 75 ml ethylacetátu během 25 až 30 minut, přičemž se vnitřní teplota udržuje na -14 až -16 °C. Nálevka se promyje 60 ml ethylacetátu ve třech stejných dílech po 20 ml a ten se přidá k reakční směsi. Suspence se míchá dalších 30 až 35 minut při -14 až -15 °C. Konstantní rychlostí asi 10 ml/min. se během 70 minut přidává 0,35 l roztoku předem připraveného (S)-3-(2-naftyl)alanyl-N-benzyl-N-methylamidu v 0,35 l ethylacetátu, přičemž se vnitřní teplota udržuje na -14 až -15 °C. Nálevka se promyje celkově 75 ml ethylacetátu ve třech stejných dílech po 25 ml a ten se přidá k reakční směsi. Reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti (21 až 22 °C) během 1 hodiny. Reakční směs se míchá při teplotě místnosti (21 až 22 °C) další 1 hodinu. Při teplotě 21 až 23 °C se přidají 3,0 l vody a směs se míchá po dobu 5 až 10 minut. Organická vrstva se oddělí a promyje 1,5 l 1 N kyseliny chlorovodíkové a potom 1,5 l vody. Vzniklá organická vrstva se promyje postupně 1,5 l 5% vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného, 1,5 l vody a 1,0 l roztoku chloridu sodného. Organická

vrstva se odfiltruje pomocí Büchnerovy nálevky a získá se 3,93 l roztoku Boc-(S)-prolyl-(S)-3-(2-naftyl)alanyl-N-benzyl-N-methylamidu. Tento roztok se uchovává při teplotě místnosti přes noc v atmosféře dusíku pro další stupeň.

Stupeň IV (příklad IC)

12 litrová čtyřhrdlá baňka s kulatým dnem opatřená mechanickým míchadlem, digitálním teploměrem, kapací nálevkou, sušící rourkou se v chladicí lázni naplní roztokem 337,3 g plynného chlorovodíku v 1,63 l ethylacetátu. Roztok se ochladí na 6 °C (vnitřní teplota) a během 25 až 30 minut se přidá 3,93 l roztoku surového produktu ze stupně III, přičemž se vnitřní teplota udržuje pod 20 °C. Nálevka se promyje celkově 180 ml ethylacetátu ve třech stejných dílech po 60 ml a ten se přidá k reakční směsi. Směs se nechá ohřát na teplotu místnosti (22 až 23 °C) a míchá se při této teplotě další 2 hodiny. Reakční směs se zahustí za sníženého tlaku (40 až 44 °C, 10,66 až 14,66 kPa), až se odebere 4,7 l rozpouštědla. Vzniklý olej v množství 0,66 l se rozpustí v 1,4 l vody a extrahuje se 1,0 l ethylacetátu. Organická vrstva se extrahuje 0,2 l vody. Vodné vrstvy se spojí a přenesou se do pětilitrové čtyřhrdlé baňky s kulatým dnem opatřené mechanickým míchadlem, digitálním teploměrem, kapací nálevkou a chladicí lázní. Vodná vrstva se ochladí na 15 °C (vnitřní teplota) za použití lázně s ledem a vodou a během 20 až 30 minut se přidá předchlazený (20 až 21 °C) roztok 120 g hydroxidu sodného v 1,2 l vody, přičemž se vnitřní teplota udržuje pod 18 °C (pH by mělo být 9 až 10). Směs se nechá během 10 minut ohřát na teplotu místnosti (21 až 23 °C) a extrahuje se 3,0 l isopropylacetátu. Organická vrstva se oddělí a vodná vrstva se extrahuje celkově 1,0 l isopropylacetátu dvěma stejnými díly po 0,5 l. Spojené organické vrstvy se promyjí 0,75 l vody a potom 0,5 l roztoku

chloridu sodného. Organická vrstva se vysuší nad 125 g bezvodého síranu sodného a přefiltruje se přes Büchnerovu nálevku. Pevné látky se promyjí celkově 100 ml isopropylacetátu ve dvou stejných dílech po 50 ml a získá se 5,02 l (S)-prolyl-(S)-3-(2-naftyl)alanyl-N-benzyl-N-methylamidu. Tento roztok se udržuje v atmosféře dusíku pro další reakční stupeň.

Stupeň V (příklad 1)

12 litrová čtyřhrdlá baňka s kulatým dnem opatřená mechanickým míchadlem, digitálním teploměrem, kapací nálevkou, přívodem a odvodem dusíku se v chladicí lázni naplní 5,02 l roztoku produktu ze stupně IV v isopropylacetátu. Roztok se ochladí na 10 až 11 °C (vnitřní teplota) v lázni s ledem a vodou (teplota lázně 6 až 7 °C) a během 20 až 30 minut se přidá roztok 156 g 2-nitrofenylisokyanátu v 0,5 l isopropylacetátu, přičemž se vnitřní teplota udržuje pod 17 až 18 °C. Nálevka se promyje celkově 50 ml isopropylacetátu ve dvou stejných dílech po 25 ml a ten se přidá k reakční směsi. Směs se nechá ohřát na teplotu místnosti (22 až 23 °C) a míchá se při této teplotě další hodinu. Reakční směs se přefiltruje a zahustí za sníženého tlaku (40 až 45 °C, 9,33 až 13,33 kPa), až nedestiluje žádné rozpouštědlo. Asi 0,64 kg surového produktu se rozpustí v 0,5 l směsi ethylacetátu a hexanu (60:40 obj./obj.) zahříváním na 40 °C (teplota lázně), ochladí se a naplní se na chromatografickou kolonu obsahující 8,5 kg silikagelu. Kolona se eluuje, až hladina kapaliny dosáhne silikagelu. Baňka se promyje celkově 0,9 l směsi ethylacetátu a hexanu 60:40 obj./obj.) ve třech stejných dílech po 0,3 l a naplní se do kolony. Po každé se kolona eluuje, až hladina kapaliny dosáhne silikagelu. Kolona se eluuje 36,5 l směsi ethylacetátu a hexanu (60:40 obj./obj.) a potom 38 l ethylacetátu. Frakce 16 až 24, obsahující produkt, se spojí a rozpouštědlo se odpaří (39 až 44 °C, 9,33 až 14,66 kPa), až

nedestiluje žádné rozpouštědlo. Vzniklý olej se suspenduje v 1,8 l ethanolu (190 stupňů) a rozpouštědla se odpaří (39 až 44 °C, 9,33 až 14,66 kPa). Zbytek se rozpustí v 3,1 l ethanolu (190 stupňů) zahříváním (teplota lázně 40 až 45 °C). Vznikne 3,6 l roztoku a ten se ochladí na 29 až 30 °C (vnitřní teplota) a přidá se během 30 minut ke 13 l vody, která byla předem ochlazená na 7 až 8 °C (vnitřní teplota, teplota lázně 0 až -2 °C), ve dvanáctilitrové čtyřhrdlé baňce s kulatým dnem opatřené mechanickým míchadlem, digitálním teploměrem, kapací nálevkou, přívodem a odvodem dusíku a chladicí lázní, přičemž se vnitřní teplota udržuje na 7 až 9 °C. Nálevka se promyje celkově 100 ml ethanolu (190 stupňů) ve dvou stejných dílech po 50 ml a to se přidá k suspensi. Suspense se míchá při téže teplotě dalších 35 minut a pevná látka se odfiltruje přes polypropylenovou filtrační vrstvu v Büchnerově nálevce. Pevná látka se promyje celkově 3 l vody ve třech stejných dílech po 1 l. Pevná látka se suší na polyethylenové folii ve vakuové sušárně při 42 až 43 °C (42,5 kPa) až do konstantní hmotnosti (44 hodin) produktu, 2-nitrofenylkarbamoyl-[(S)-prolyl]-[(S)-3-(2-naftyl)alanyl]-N-benzyl-N-methylamidu ve formě žluté pevné látky. Čistota: 99,4 % (pomocí HPLC 951068), $[\alpha]_D^{20}$: -59,8° (c = 1, methanol).

Sloučeniny obecného vzorce I a jejich farmaceuticky přijatelné soli, zde dále společně označované jako "prostředky podle vynálezu", vykazují účinnost antagonistu tachykininu. Prostředky podle vynálezu vykazují zejména výraznou účinnost antagonistu na receptor NK-1 tachykininu (substance P). Prostředky podle vynálezu jsou proto použitelné jako léčiva, například jak je uvedeno dále.

Vazebnou afinitu na NK-1 receptor je možno prokázat schopností vytěsnit vazbu [3H]-substance P, například jak je uvedeno v následujícím testu:

Test I

Vytěsnění vazby [3H]-substance P z membrán transfekovaných Cos-7 buněk s klonovaným lidským NK-1 receptorem (hNK-1R).

Příprava membrán obsahujících hNK-1R.

Přechodná exprese rekombinované DNA na Cos-7 buňky a následující odběr buněk se provádí analogicky podle standardních technik (Sambrook a j., 1989, Kriegler 1990).

Membrány se připraví z transfekovaných Cos-7 buněk homogenisací při 10 000 otáčkách za minutu po dobu 30 sekund za použití homogenisátoru Kinematica. Vzniklá suspence se centrifuguje 30 minut při 28 000 xg. Peletky se promyjí a dvakrát resuspendují v Tris-HCl (50 mM, pH 7,4) a znovu centrifugují. Konečné peletky se znovu suspendují v množství 2 až 8 mg proteinu/ml v Tris-HCl (50 mM, pH 7,4), obsahujícím 5 % glycerolu a 500 μ l alikvotní podíly se rychle nechají zmrznout v suchém ledu.

Vazba [³H] substance P na membrány obsahující hNK-1R receptor

Membrány připravené výše popsaným způsobem se udržují v suspensi při -70 °C. Vazebné testy se provádějí v 1,2 ml mikronových polypropylenových zkumavkách obsahujících v konečném objemu 0,5 ml: vazebný pufr (složení v μ gm⁻¹: chymostatin, 2, leupeptin, 4, bacitracin, 40, 2 mM MnCl₂, 0,1 % albuminu z hovězího séra, 20 mM Hepes, pH 7,4), 400 μ l membránové suspence (0,019 \pm 0,003 mg proteinu na zkumavku), 50 μ l 6 nM [³H] substance P a 50 μ l 50 % dimethylsulfoxidu (do celkového objemu), 50 μ l CP96,345 (Snider a j., 1991) (10 μ M) (pro stanovení nespecifické vazby) nebo 50 μ l koncentráту testované sloučeniny v různých koncentracích. Připraví se 10 mM zásobní roztoky testovaných sloučenin v 100 % dimethylsulfoxidu (DMSO). Tyto zásobní roztoky se před použitím dále ředí na 1 mM v 50 % DMSO. Pro získání inhibičních křivek se použije 6 koncentrací každé testované sloučeniny. Veškeré testy se provádí třikrát. Specifická vazba na NK-1 receptory se definuje jako rozdíl mezi hodnotou nalezenou ve zkumavce s úplnou vazbou a ve zkumavce, ve které byla nalezena nespecifická vazba. Reakce se iniciuje přidáním radioligandu a inkubuje se 45 minut

při 24 °C. Reakce se ukončí přidáním 500 µl ledem vychlazeného Tris-HCl pufru (50 mM, pH 7,4). Vazebná směs se rychle přefiltruje přes Whatman GF/B filtrační folii (předem nasáklou v 0,3 % polyethyleniminu po dobu 2 až 3 hodin při teplotě místnosti). Zkumavky a filtrační folie se šestkrát promyjí 1 ml ledem vychlazeného pufru. Radioaktivita vázaná na filtrech se stanoví použitím kapalného scintilátoru Canberra Packard TopCount. Jako scintilační kapalina se použije Microscint-40. Vazebné parametry se vypočtou metodou Munsona a Rodbarda, 1980 za použití LIGAND.

Počáteční proteinové experimenty s lidským NK-1 receptorem transfekovaných Cos-7 buněčných membrán ukazují, že specifická vazba [³H] substance P se paralelně zvyšuje s koncentrací proteinu až do 80 až 100 µg na testovací zkumavku. Běžně je koncentrace proteinu 19 ± 3 µg na testovací zkumavku. Při této koncentraci je specifická vazba [³H] substance P obvykle >70 % celkové vazby a 3 % celkové radioaktivity přidané do inkubačního media.

Připojení [³H] substance P na lidský NK-1 receptor/Cos-7 membrány je rychlé, dosahuje rovnováhy za 20 minut a je stabilní až do doby 90 minut při teplotě místnosti. Vazba se měří po 45 minutách ve všech následujících testech.

Saturační křivky pro vazbu [³H] substance P na lidský NK-1 receptor/Cos-7 membrány se měří po 45 minutách inkubace při teplotě místnosti. Rovnovážná disociační konstanta ($K_D = 85 \pm 12$ pM) a počet vazebných míst ($B_{max} = 537 \pm 139$) se stanoví nelineární iterační regresní křivkou alespoň z alespoň tří dat současně pro každou transfekci za použití LIGAND (Munson a j., 1980) a aritmetickým průměrem vypočteným ze všech deseti transfekcí.

Odkazy:

Kriegler a j. (1990): Gene Transfer and Expression. A laboratory manual, Stockton Press.

Munson a j. (1980): Anal. Biochem. 107:220.

Sambrook a j.: (1989) Molecular Cloning: A laboratory manual (2. vydání), Cold Spring Harbour Laboratory Press. Refs. Snider a j. (1991): Science 251: 435 až 436.

Prostředky podle vynálezu jsou v tomto testu účinné při vytěsňování [³H] substance P v koncentracích řádově od K_i = asi 0,01 do asi 10,0 nM.

Farmakologická, například analgetická použitelnost prostředků podle vynálezu jako antagonistů NK-1 receptoru se může také demonstrovat použitím standardních testovacích modelů, například následujících:

Test II: model hyperalgesie

Testovací skupině 6 samců morčat Dunkin-Hartley (asi 250 g) se intraplantárně injikuje 100 μ l 1% carrageenanu. Mechanická hyperalgesie se měří použitím Ugo Basile Analgesymetru (250 g max. aplikované do tlapky) a práh odezvy se stanoví jako první známka úzkosti u zvířete. Termální hyperalgesie se stanoví umístěním zvířat do perspex klece, aplikací tepelného stimulu z rampy na chodidlový povrch tlapky a měřením doby odezvy na tlapkách [Hargreaves a j., Pain 32, 77 až 88 (1988)]. Práh odezvy na mechanické a termální stimuly se měří jak u zanícených tak u nezanícených tlapek.

Termální/mechanická hyperalgesie se měří 24 hodin po injekci carrageenanu. Testovaná látka, t. j. prostředek podle vynálezu, v 10% DMSO v tragakantu (1 %) se potom aplikuje per os v různých dávkách a termální/mechanická hyperalgesie se znovu měří po dalších 3 hodinách.

Ve výše popsaném testování prostředků podle vynálezu bylo zjištěno, že jsou účinné při snižování mechanické hyperalgesie v dávkách řádově od asi 0,1 do asi 5,0 mg/kg p. o. a termální hyperalgesie v dávkách řádově od asi 0,5 do asi 5,0 mg/kg p. o.

Prostředky podle vynálezu jsou proto použitelné jako léčiva, například jako antagonisty tachykininu, zejména NK-1 (substance P), například pro léčení onemocnění nebo klinických stavů charakterisovaných nebo majících etiologii vyznačující se

nadbytečnou nebo nežádoucí účinností zprostředkovanou substancí P.

Zejména jsou použitelné jako analgetika nebo anti-nocicepční prostředky pro ošetřování bolesti různého původu nebo etiologie. Jsou také použitelné jako protizánětlivé nebo protiedémové prostředky pro ošetřování zánětlivých reakcí, onemocnění nebo stavů.

Pokud se týká jejich analgetické účinnosti a na rozdíl od jiných antagonistů tachykininu známých ze stavu techniky, například NK-1, bylo s překvapením zjištěno, že prostředky podle vynálezu mají výraznou nebo zvýšenou účinnost po orální aplikaci. Bylo také zjištěno, že na rozdíl od jiných antagonistů tachykininu, známých ze stavu techniky, například NK-1, mají výrazný antinocicepční účinek na centrální nervový systém po systemické aplikaci, t. j. že snadněji penetrují do centrálního nervového systému.

Vzhledem k jejich analgetickým/protizánětlivým vlastnostem jsou prostředky podle vynálezu zejména použitelné pro ošetřování zánětlivých bolestí, hyperalgesie a zejména chronických bolestí, například vážných chronických bolestí. Jsou například použitelné pro ošetřování bolesti, zánětů a/nebo otoků jako důsledku úrazu, například popálenin, podvrtnutí, zlomenin a pod., jakož i při chirurgických zákrocích, například pro ošetřování pooperačních bolestí. Jsou dále použitelné pro ošetřování zánětlivých bolestí různého původu, například pro léčení arthritidy a revmatických onemocnění, tenosynovitidy, vaskulitidy a revmatických kloubových bolestí, například revmatické arthritidy, jakož i pro léčení dny.

Prostředky podle vynálezu jsou dále použitelné pro ošetřování bolestí spojených s anginou, renální nebo biliární kolikou a menstruací.

Prostředky podle vynálezu jsou také použitelné pro ošetřování bolestí spojených s migrénou. Jsou dále použitelné jako antiemetika pro ošetřování zvracení, například zvracení

způsobeného chemoterapií, jedy, těhotenstvím nebo migrénou, jakož i pro léčení inkontinence a poruch zažívacího traktu, jako jsou retardace vyprazdňování žaludku, dyspepsie, jícnový zpětný tok a nadýmání.

Prostředky podle vynálezu jsou dále použitelné pro léčení chronických nebo obstruktivních onemocnění dýchacího traktu, například pro kontrolu nebo prevenci bronchiálních otoků, pulmonární mukosní sekrece nebo hyperaktivity dýchacích cest, například pro použití jako terapeutických nebo profylaktických prostředků pro léčení astmatu. Prostředky podle vynálezu jsou použitelné pro léčení atopického a neatopického astmatu, například pro léčení alergického astmatu, astmatu vyvolaného cvičením, profesionálního astmatu, astmatu vyvolaného bakteriální infekcí nebo léky, například astmatu vyvolaného aspirinem, jakož i sípání při kojeneckém syndromu.

Další zánětlivá nebo obstruktivní onemocnění dýchacího traktu, na která je předložený vynález aplikovatelný, zahrnují pneumoconiosu (zánětlivé obvykle profesní onemocnění plic, často spojené s opakovanou inhalací prachu) jakéhokoliv typu nebo původu, včetně například aluminosy, anthrakosy, asbestosy, chalkosy, ptilosy, siderosy, silikosy, tabakosy a zejména byssinosy.

Ještě další zánětlivá nebo obstruktivní onemocnění dýchacího traktu, pro která jsou účinné látky podle vynálezu použitelné, zahrnují syndrom respirační úzkosti u dospělých (ARDS), chronické obstruktivní onemocnění plic nebo dýchacích cest (COPD nebo COAD) a bronchitidu. Účinné látky podle vynálezu lze také použít pro léčení alergických a vasomotorických rhinitid.

Prostředky podle vynálezu se dále indikují pro použití při léčení:

- poruch centrálního nervového systému, zejména stavů úzkosti, například pro léčení úzkosti, deprese, psychosy, schizofrannie, záchvatů paniky, fobiasy, jako je agrofobie, stresů vyvolaných

somatickými poruchami a návykovými poruchami, jako je alkoholismus nebo zneužívání kokainu,

- neurodegenerativních poruch, jako je demence, včetně senilní demence, Alzheimerova choroba a Downův syndrom,

- demyelinačních chorob, jako je MS, ALS, a jiných neuropatologických poruch, například periferní neuropathie, například diabetická a chemoterapeutiky vyvolaná neuropathie.

Prostředky podle vynálezu jsou dále indikovány pro použití při léčení onemocnění nebo stavů spojených s dysfunkcí imunitního systému, například autoimunitních onemocnění, zejména když jsou spojeny se zánětlivými, otokovými nebo nociceptivními případy. Jako zvláštní onemocnění nebo stavy této kategorie lze uvést například autoimunitní hematologické poruchy (včetně například hemolytické anemie, aplastické anemie, anemie červených krvinek a idopathické thrombocytopenie), systemický lupus erythematoses, polychondritidu, skleredém, Wegenerovu granulomatosu, dermatomyositidu, chronickou aktivní hepatitidu, myasthenii gravis, psoriasu, Steven-Johnsonův syndrom, idipathické sprue, autoimunitní zánětlivé onemocnění střev (včetně například vředovité kolitidy a Crohnovy choroby), endokrinní oftalmopathie, Gravesovy choroby, sarkoidosy, sklerosy multiplex, primární biliární cirhosisy, juvenilního diabetu (diabetes mellitus typ I), uveitidy (přední a zadní), suché keratokonjunktivitidy a mladické keratokonjunktivitidy, intersticiální fibrosy plic, psoriasis, psoriatické arthritidy a glomerulonefritidy (s a bez nefrotického syndromu, například včetně idopathického nefrotického syndromu nebo neuropathie s minimální změnou), jakož i vaskulitidy. Prostředky podle vynálezu lze také použít jako imunosupresanty nebo imunosupresivní pomocné látky, například pro použití ve spojení s dalšími imunosupresanty, například s cyklosporinovou nebo imunosupresivní makrolidovou terapií, pro potlačení odmítnutí aloimplantátu, například po následujících alogenních transplantacích, jako jsou trans-

plantace ledvin, jater, korneální transplantace, transplantace srdce, plic nebo srdce i plic.

Prostředky podle vynálezu jsou dále indikovány pro použití při léčení alergických onemocnění a stavů, například kůže, očí, nosohltanu nebo gastrointestinálního traktu, zejména když tyto choroby nebo stavy jsou doprovázeny se zánětlivými, otokovými nebo nociceptivními reakcemi. Jako příklady těchto chorob nebo stavů lze uvést například ekzém, přecitlivělost, jako jsou alergie na jedy, kontaktní dermatitida, konjunktivitida, mladická konjunktivitida, suchá keratokonjunktivitida, urtharia a jiné ekzematoidní dermatosy.

Prostředky podle vynálezu jsou také použitelné pro ošetřování poruch průtoku krve způsobených vasodilatací a vasospastickými chorobami, jako je angina, migréna a Reynaudova choroba.

Kromě toho bylo u prostředků podle vynálezu také zjištěno, že jsou účinné při blokování P-glykoproteinu. Lze je proto použít jako pomocné látky nebo jako ko-terapii s léčivými jině terapeutické kategorie, například:

- pro zvyšování účinnosti nebo zvyšování citlivosti při jiné chemoterapeutické terapii, zejména antimikrobiální (například antibakteriální, antivirovou, antifungální nebo antiprotozoidní) chemoterapii, chemoterapii na AIDS a zejména protikancerogenní nebo protinádorové (například anti-neoplastické nebo cytostatické) chemoterapii. Jsou proto indikovány pro použití, například jako prostředky pro snižování obvyklých chemoterapeutických dávek, například v případě antineoplastické nebo cytostatické terapie, jako prostředky pro snižování celkové toxocity léčiv a zejména jako prostředky pro změnu nebo snížení resistance, včetně jak vrozené tak získané resistance na chemoterapii,
- pro umožnění nebo zesílení jiných lékových terapií směřovaných na centrální nervový systém, například pro zvýšení penetrace léčiva bariérou krev-mozek, například pro umožnění

nebo zvýšení jiných terapií psychotropními léky, například pro podávání ve spojení s jinými analgetickými nebo psychomotorickými stimulanty nebo depresanty, například pro léčení neurodegenerativních nemocí, včetně Parkinsonovy choroby, Alzheimerovy choroby a pod., jakož i při chemoterapii vedené při nádoru v mozku,

- jako antiparasitická, zejména antiprotozoidní činidla, například zejména proti organismu rodů *Toxoplasma* (například *Toxoplasma gondii*) a *Plasmodia* (například *Plasmodium falciparum*).

Pro výše uvedené indikace se dávky prostředků podle vynálezu samozřejmě mění v závislosti například na hostiteli, způsobu podávání a na druhu a vážnosti stavu, který má být ošetřován, jakož i na relativní účinnosti příslušného použitého prostředku podle vynálezu. Obecně však bylo nalezeno, že se získají dostatečné výsledky u živočichů, například při léčení bolesti, migrény a zvracení, při denních dávkách od asi 0,1 do asi 10 mg/kg p.o. U větších savců, například u lidí, je indikovaná denní dávka v rozmezí od asi 7,0 do asi 700 mg/den p.o., například asi 100 mg/den p. o., a vhodně se podává v jedné dávce nebo v rozdělených dávkách až čtyřikrát za den nebo ve formě s pomalým uvolňováním, například pro ošetřování bolesti, migrény a zvracení. Orální dávkové formy proto vhodně obsahují od asi 1,5 do asi 150 nebo 700 mg, například od asi 25 do 100 mg prostředku podle vynálezu smíšeného s příslušným farmaceuticky přijatelným ředidlem nebo nosičem.

Vzhledem k relativně nízké rozpustnosti prostředků podle vynálezu se pro orální podávání formulují do směsi obsahující hydrofilní fázi (například propylenglykol/ethanol), hydrofobní fázi (například rostlinný olej na bázi mono-, di- nebo triglyceridů, jako jsou směsi komerčně dostupné pod názvem MAISINE) a povrchově aktivní činidlo (například polyoxyhydrogenovaný rostlinný olej, jak je komerčně dostupný pod názvem CREMOPHOR). Přípravky pro intravenosní aplikaci se mohou

připravit rozpuštěním vybraného prostředku podle vynálezu v ethanolu spolu s příslušným povrchově aktivním činidlem, (například CREMOPHOR RH 40). Následující příklad uvádí přípravu galenických forem vhodných pro orální podávání:

složka	množství/jednotková dávka
1. prostř. podle vyn., např. sloučenina podle příkl. 1	100,00 mg
2. propylenglykol	94,70 mg
3. mono-di-triglyceridy kukuřičného oleje, např. MAISINE	319,90 mg
4. polyoxyl-40-hydrogenovaný ricinový olej, např. CREMOPHOR RH 40	383,70
5. ethanol, bezvodý	<u>94,70 mg</u>
	celkově 993,00 mg

Složka 4 se zahřívá na 40 °C, až zkapalní. Přidají se složky 2, 3 a 5 a celá směs se míchá běžným způsobem, až se získá čirý roztok. K získanému roztoku se přidá rozemletá složka 1 v jemně rozmělněné formě, například sloučenina podle příkladu 1 (volná base, amorfní), popřípadě při nižší teplotě a vše se míchá až do získání čirého roztoku. Produkt je vhodný pro použití jako roztok pro pití. Alternativně se směs může zpracovat do měkkých nebo tvrdých želatinových kapslí, například že každá kapsle obsahuje 50 nebo 100 mg složky 1.

Prostředky podle vynálezu se mohou alternativně podávat například topicky ve formě krému, gelu nebo pod., například pro ošetřování stavů kůže, jaké byly popsány výše, nebo inhalací, například v suché práškové formě, například pro ošetřování obstruktivních nebo zánětlivých chorob dýchacích cest, nebo jakýmkoliv jiným vhodným způsobem, například injekcí nebo infusí.

Výhodným prostředkem podle vynálezu je produkt podle příkladu 1. V jedné serii pokusů byly stanoveny hodnoty ED₅₀

pro test II, uvedený výše, řádově $0,73 \pm 0,09$ mg/kg p. o. pro mechanickou hyperalgesii a $1,75 \pm 0,64$ mg/kg p. o. pro termální hyperalgesii. Stanovená hodnota ED_{50} pro aspirin v témže testu je řádově asi 30 mg/kg pro mechanickou hyperalgesii a asi 100 mg/kg pro termální hyperalgesii. Indikované orální dávky sloučeniny podle příkladu 1 podávané jako analgetikum jsou tak řádově 1/40 až 1/50 dávek klinicky používaného aspirinu.

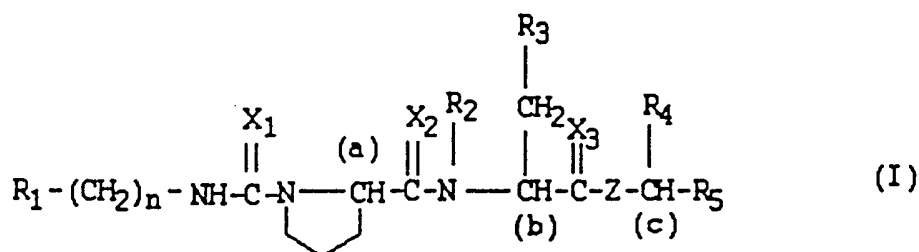
Dalším výhodným prostředkem podle vynálezu je produkt podle příkladu 17. V jedné serii pokusů byly stanoveny hodnoty ED_{50} pro test II, uvedený výše, pro tuto sloučeninu řádově 1,0 mg/kg p. o. pro mechanickou hyperalgesii. Indikované orální dávky sloučeniny podle příkladu 17 podávané jako analgetikum jsou tak řádově 1/30 dávek klinicky používaného aspirinu.

Předložený vynález se také týká:

- 1) Prostředku podle vynálezu pro použití jako léčiva, například pro použití jako antagonistu NK-1 (substance P), například pro použití při jakékoliv výše uvedené indikaci, zejména pro použití jako analgetického, protizánětlivého nebo protitokového prostředku nebo pro použití při ošetřování alergických stavů nebo reakcí, například při rýmě, nebo při ošetřování zvracení.
- 2) Farmaceutické směsi obsahující prostředek podle vynálezu jako účinnou látku spolu s farmaceuticky přijatelným ředidlem nebo nosičem.
- 3) Způsobu ošetřování jakékoliv výše uvedené indikace u subjektu, který potřebuje toto ošetření, přičemž tento způsob spočívá v tom, že se subjektu podává účinné množství prostředku podle vynálezu.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Sloučenina obecného vzorce I



ve kterém

R_1 je fenylová skupina mono- nebo di-substituovaná jedním nebo dvěma substituenty vybranými ze skupiny zahrnující atom halogenu, nitroskupinu, kyanoskupinu, trifluormethylovou skupinu, hydroxyskupinu, methoxyskupinu, hydroxymethylovou skupinu, methoxymethylovou skupinu, methoxykarbonylovou skupinu, karbamoylovou skupinu a N-methylkarbamoylovou skupinu, n je nula nebo 1,

X_1 atom kyslíku, síry nebo skupina =NCN,

X_2 a X_3 jsou nezávisle na sobě atom kyslíku nebo síry,

R_2 je atom vodíku nebo methylová skupina,

R_3 je fenylová skupina, halogenem substituovaná fenylová skupina, 2-naftylová skupina, 1H-indol-3-yl-skupina nebo 1-methylindol-3-yl-skupina,

Z je -N(CH₃)- nebo -CH₂-,

R_4 je fenylová skupina, 3,5-bis(trifluormethyl)fenylová skupina nebo pyridylová skupina a

R_5 je atom vodíku, fenylová skupina, 3,5-bis(trifluormethyl)-fenylová skupina nebo pyridylová skupina,

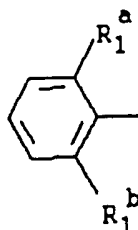
příčemž když X_3 je atom síry, Z je -N(CH₃)-,

nebo její sůl s kyselinou.

2. Sloučenina obecného vzorce I uvedeného v nároku 1, kde

R_1 je 2-halogenfenyl nebo 2-nitrofenyl,
 n je nula,
 X_2 a X_3 jsou každý atom kyslíku,
 R_4 je fenyl nebo pyridyl,
 R_5 je atom vodíku, fenyl nebo pyridyl a
 X_1 , R_2 , R_3 a Z mají významy uvedené v nároku 1,
nebo její sůl s kyselinou.

3. Sloučenina obecného vzorce I uvedeného v nároku 1, kde
 R_1 je skupina obecného vzorce



kde R_1^a je trifluormethylová skupina, atom halogenu,
methoxyskupina nebo nitroskupina a
 R_1^b je atom vodíku, trifluormethylová skupina, atom halogenu,
methoxyskupina nebo nitroskupina,
 n je 1,
 X_2 a X_3 jsou každý atom kyslíku,
 R_3 je halogenem substituovaná fenylová skupina, 2-naftylová
skupina, 1H-indol-3-yl-skupina nebo 1-methylindol-3-yl-skupina,
 Z je $-N(CH_3)-$ a
 X_1 , R_2 , R_4 a R_5 mají významy uvedené v nároku 1,
nebo její sůl s kyselinou.

4. Sloučenina obecného vzorce I uvedeného v nároku 1, kde
 R_1 je 2-nitrofenyl, n je nula, X_1 , X_2 a X_3 jsou každý atom
kyslíku, R_2 je atom vodíku, R_3 je 2-naftyl, Z je $-N(CH_3)-$, R_4 je
fenyl a R_5 je atom vodíku.

5. Sloučenina obecného vzorce I uvedeného v nároku 1, kde

R_1 je 2-(methoxymethyl)fenyl, R_2 je atom vodíku, n je nula, X_1 , X_2 a X_3 jsou každý atom kyslíku, R_3 je 2-naftyl, Z je $-N(CH_3)-$, R_4 je fenyl a R_5 je atom vodíku.

6. Sloučenina obecného vzorce I uvedeného v nároku 1, kde

a) R_1 je 2-nitrofenyl, n je nula, X_2 a X_3 jsou každý atom kyslíku, R_2 je atom vodíku, R_3 je 2-naftyl, Z je $-N(CH_3)-$ a

- X_1 je atom síry, R_4 je fenyl a R_5 je atom vodíku,

- X_1 je $=NCN$, R_4 je fenyl a R_5 je atom vodíku,

- X_1 je atom kyslíku a R_4 a R_5 jsou každý 2-pyridyl,

- X_1 je atom kyslíku, R_4 je 2-pyridyl a R_5 je atom vodíku, nebo

- X_1 je atom síry, R_4 je 2-pyridyl a R_5 je atom vodíku, nebo

b) n je nula, X_1 , X_2 a X_3 jsou každý atom kyslíku, R_2 je atom vodíku, R_3 je 2-naftyl, Z je $-N(CH_3)-$, R_4 je fenyl, R_5 je atom vodíku a R_1 je 2-chlorfenyl, 4-nitrofenyl, 2-kyanfenyl, 3-kyanfenyl, 4-fluorfenyl, 2-(methoxykarbonyl)fenyl, 3-nitrofenyl, 2-(methylkarbamoyl)fenyl, 2-karbamoylfenyl, 2-hydroxyfenyl nebo 2-hydroxymethylfenyl, nebo

c) R_1 je 2-nitrofenyl, n je nula, X_1 , X_2 a X_3 jsou každý atom kyslíku, R_3 je 2-naftyl, R_4 je fenyl, R_5 je atom vodíku a

- R_2 je methyl a Z je $-N(CH_3)-$, nebo

- R_2 je atom vodíku a Z je $-CH_2-$, nebo

d) R_1 je 2-nitrofenyl, n je nula, X_1 , X_2 a X_3 jsou každý atom kyslíku, R_2 je atom vodíku, R_3 je 2-naftyl, Z je $-N(CH_3)-$, R_5 je atom vodíku a R_4 je 1H-indol-3-yl nebo 3,4-dichlorfenyl, nebo

e) n je 1, X_1 je atom síry, X_2 a X_3 jsou každý atom kyslíku, R_2 je atom vodíku, R_3 je 2-naftyl, Z je $-N(CH_3)-$, R_4 je fenyl, R_5 je atom vodíku a R_1 je 2-chlorfenyl, 2-trifluormethylfenyl nebo 2-bromfenyl, nebo

f) R_1 je 2-chlorfenyl, n je 1, X_2 a X_3 jsou každý atom kyslíku, R_2 je atom vodíku, R_3 je 2-naftyl, Z je $-N(CH_3)-$ a

- X_1 je atom síry a R_4 a R_5 jsou každý 2-pyridyl,

- X_1 je atom síry, R_4 je 2-pyridyl a R_5 je atom vodíku,

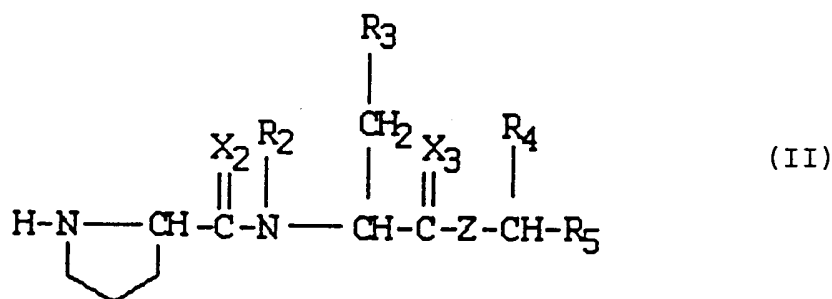
- X_1 je atom kyslíku, R_4 je fenyl a R_5 je atom vodíku,

- X_1 je atom síry, R_4 je 3,5-bis(trifluormethyl)fenyl a R_5 je atom vodíku, nebo
- X_1 je atom síry a R_4 a R_5 jsou každý fenyl, nebo
- g) n je 1, X_1 je atom síry, X_2 a X_3 jsou každý atom kyslíku, Z je $-N(CH_3)-$, R_4 je fenyl, R_5 je atom vodíku a
- R_1 je 2-nitrofenyl, R_2 je methyl a R_3 je 2-naftyl,
- R_1 je 2-chlorfenyl, R_2 je atom vodíku a R_3 je 3,4-dichlorfenyl nebo 1-methylindol-3-yl, nebo její sůl s kyselinou.

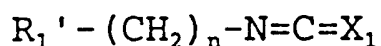
7. Sloučenina obecného vzorce I uvedeného v nároku 1, kde uhlíkové atomy (a) a (b) a, když R_4 a R_5 jsou různé a R_5 je jiný než atom vodíku, uhlíkový atom (a) mají každý (S)-konfiguraci a kde R_1 až R_5 , X_1 až X_3 , n a Z mají významy uvedené v kterémkoliv z nároků 1 až 3 nebo 6, nebo její sůl s kyselinou.

8. Sloučenina obecného vzorce I uvedeného v nároku 1, kde uhlíkové atomy (a) a (b) mají každý (S)-konfiguraci a kde R_1 až R_5 , X_1 až X_3 , n a Z mají významy uvedené v nároku 4 nebo 5.

9. Způsob přípravy sloučeniny obecného vzorce I, jak je definována v nároku 1 nebo její soli s kyselinou, v y z n a - č u j í c í s e t í m , že se nechá reagovat sloučenina obecného vzorce II



kde R_2 až R_5 , X_2 , X_3 a Z mají významy uvedené v nároku 1, se sloučeninou obecného vzorce III



(III)

kde R_1' je fenylová skupina mono- nebo di-substituovaná jedním nebo dvěma substituenty vybranými ze skupiny zahrnující atom halogenu, nitroskupinu, kyanoskupinu, trifluormethylovou skupinu, chráněnou hydroxyskupinu, methoxyskupinu, chráněnou hydroxymethylovou skupinu, methoxymethylovou skupinu nebo methoxykarbonylovou a n a X_1 mají významy uvedené v nároku 1, popřípadě se z takto získané sloučeniny, kde R_1' je fenylová skupina substituovaná chráněnou hydroxyskupinou a/nebo chráněnou hydroxymethylovou skupinou odstraní chránící skupina a/nebo se převede takto získaná sloučenina, kde R_1' je fenylová skupina substituovaná methoxykarbonylovou skupinou na odpovídající sloučeninu, kde R_1' je fenylová skupina substituovaná karbamoylovou skupinou nebo N-methylkarbamoylovou skupinou, a takto získaná sloučenina obecného vzorce I se izoluje ve volné formě nebo ve formě soli s kyselinou.

10. Farmaceutický prostředek, v y z n a č u j í c í s e t í m , že obsahuje sloučeninu obecného vzorce I, jak je definována v kterémkoliv z nároků 1 až 8, nebo její farmaceuticky přijatelnou sůl s kyselinou spolu s farmaceuticky přijatelným ředidlem nebo nosičem.

11. Sloučenina obecného vzorce I, jak je definována v kterémkoliv z nároků 1 až 8 nebo její farmaceuticky přijatelná sůl s kyselinou pro použití jako léčivo.

12. Způsob ošetřování bolesti nebo zánětu u subjektu, který potřebuje toto ošetření, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se tomuto subjektu podává analgeticky nebo protizánětlivě účinné množství sloučeniny, jak je definována v kterémkoliv z nároků 1 až 8 nebo její farmaceuticky přijatelné soli s kyselinou.