

# PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

## 283 564

(19)

ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **1510-96**

(22) Přihlášeno: **26. 10. 94**

(30) Právo přednosti:  
**26. 11. 93 US 93/157248**  
**17. 06. 94 US 94/262086**

(40) Zveřejněno: **15. 01. 97**  
**(Věstník č. 1/97)**

(47) Uděleno: **05. 03. 98**

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: **13. 05. 98**  
**(Věstník č. 5/98)**

(86) PCT číslo: **PCT/IB94/00333**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 95/14681**

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>:  
**C 07 D 261/04**  
**A 61 K 31/42**

(73) Majitel patentu:

PFIZER INC., New York, NY, US;

(72) Původce vynálezu:

Kleinman Edward F., Pawcatuck, CT, US;

(74) Zástupce:

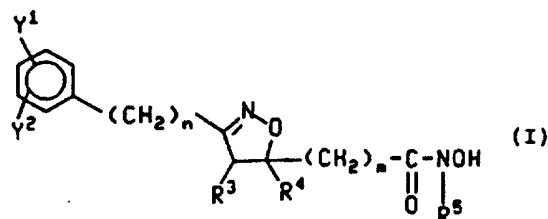
Hořejš Milan Dr. Ing., Národní 32, Praha 1,  
10100;

(54) Název vynálezu:

**3-Aryl-2-isoxazolin-5-hydroxamové  
kyseliny a farmaceutické prostředky na  
jejich bázi**

(57) Anotace:

3-Aryl-2-isoxazolin-5-hydroxamové kyseliny obecného vzorce I, kde jednotlivé symboly mají specifický význam. Tyto sloučeniny jako selektivní inhibitory fosfodiesterázy typu IV (PDE<sub>IV</sub>) a jako léčiva pro léčení AIDS, astma, artritida, bronchitida, chronické obstrukční choroby plic, psoriasis, alergické rhinitis, dermatitis a jiných inflamatorních chorob. Farmaceutické prostředky na jejich bázi.



### 3-Aryl-2-isoxazolin-5-hydroxamové kyseliny a farmaceutické prostředky na jejich bázi

#### Oblast techniky

5

Vynález se týká řady sloučenin 3-aryl-2-isoxazolin-5-hydroxamové kyseliny, které jsou selektivními inhibitory fosfodiesterázy typu IV (PDE<sub>IV</sub>) a jako takové jsou užitečné při léčbě AIDS, astma, artritida, bronchitida, chronické obstruktivní choroby plic, psoriasis, alergické rhinitida, dermatitida a jiných inflamatorních chorob.

10

Vynález se týká také farmaceuticky vhodných solí těchto sloučenin, způsobu používání těchto sloučenin při inhibici PDE<sub>IV</sub> a při léčbě inflamatorních chorob, AIDS, astma, artritida, bronchitida, chronické obstruktivní choroby plic, psoriasis, alergické rhinitida a dermatitida, u savců, zejména lidí a farmaceutických prostředků, které se hodí k tomuto účelu.

15

Jako neomezující příklady inflamatorních chorob, které lze léčit podle vynálezu, je možno uvést chronickou obstruktivní chorobu plic, šok, atopickou dermatitida, bronchitida, rheumatoidní artritida a osteoartritida.

20

#### Dosavadní stav techniky

25

Od té doby, co se zjistilo, že cyklická AMP je intracelulárním sekundárním mediátorem (E. W. Sutherland and T. W. Rall. Pharmacol Rev., 1960, 12, 265), se stala inhibice fosfodiesteras cílem pro modulaci a v důsledku toho pro terapeutickou intervenci u řady chorobných procesů. V pozdější době byly zjištěny určité třídy PDE (J. A. Beavo a D. H. Reifsnyder, TiPS, 1990, 11, 150) a jejich selektivní inhibice vedla ke zlepšené chemoterapii (C. D. Nicholson, R. A. Challiss a M. Shahid, TiPS, 1991, 12, 19). Zejména se zjistilo, že inhibice PDE typu IV může vést k inhibici uvolňování inflamatorního mediátoru (M. W. Verghese et al., J. Mol. Cell Cardiol., 1989, 12 (suppl. II) S 61) a relaxaci hladkého svalstva dýchacích cest (T. J. Torphy, Directions for New Anti-Astma Drugs, ed. S. R. O'Donnell a C. G. A. Persson, 1988, 37, Birkhauser-Verlag). Sloučeniny, které inhibují PDE typu IV, ale které mají špatnou účinnost proti jiným typům PDE, budou tedy inhibovat uvolňování inflamatorních mediátorů a vyvolávat relaxaci hladkého svalstva dýchacích cest bez toho, že by měly kardiovaskulární účinky nebo účinky proti krevním destičkám.

35

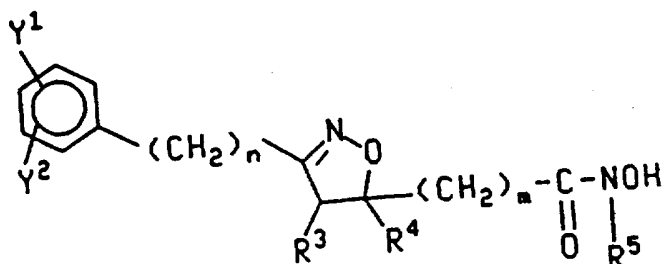
40

Určité pyrimidonové sloučeniny užitečné jako antidepresiva jsou popsány v Saccomano et al., v evropské patentové přihlášce EP 247 725 A2 publikované 2. prosince 1987. Stejně pyrimidonové sloučeniny účinné proti astma a některým kožním chorobám jsou popsány v mezinárodní patentové přihlášce PCT/US90/02162, publikované 30. května 1991 pod číslem WO 91/07178.

#### Podstata vynálezu

45

Předmětem vynálezu jsou 3-aryl-2-isoxazolin-5-hydroxamové kyseliny obecného vzorce I



(I),

kde

- 5 m představuje číslo 0, 1, 2 nebo 3;  
n představuje číslo 0, 1, 2 nebo 3;

10 Y<sup>1</sup> a Y<sup>2</sup> představuje nezávisle vždy atom vodíku, alkylskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, fenyalkylskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylové části, jejíž fenylová část je popřípadě substituována, fenoxylalkylskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylové části, jejíž fenylová část je popřípadě substituována, cykloalkylskupinu se 3 až 7 atomy uhlíku, difluormethylskupinu, trifluormethylskupinu, fluor, chlor, brom, jod nebo skupinu obecného vzorce -OR<sup>1</sup> nebo -OR<sup>2</sup>, kde případný substituent fenylové části fenyalkylskupiny a/nebo fenoxylalkylskupiny je zvolen ze souboru zahrnujícího alkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, alkoxyalkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, halogen a trifluormethylskupinu;

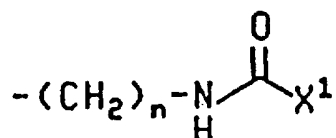
20 R<sup>1</sup> představuje alkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, fenyalkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, fluormethylskupinu, difluormethylskupinu, trifluormethylskupinu nebo skupinu vzorce -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-chinolin, kde q představuje číslo 1, 2 nebo 3;

25 R<sup>2</sup> představuje alkylskupinu s 1 až 3 atomy uhlíku, cykloalkylskupinu se 3 až 7 atomy uhlíku, alkoxyalkylskupinu se 3 až 7 atomy uhlíku v alkoxylové části a 2 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, fenoxylalkylskupinu se 2 až 6 atomy uhlíku v alkylové části jejíž fenylová část je popřípadě substituována, fenyalkylskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylové části jejíž fenylová část je popřípadě substituována, bicykloalkylskupinu se 6 až 9 atomy uhlíku nebo popřípadě substituovanou indanylskupinu; kde případný substituent fenylové části fenyalkylskupiny a/nebo fenoxylalkylskupinu a/nebo indanylskupiny je zvolen ze souboru zahrnujícího alkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, alkoxyalkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, halogen a trifluormethylskupinu;

30 R<sup>3</sup> představuje atom vodíku, alkylskupinu s 1 až 3 atomy uhlíku, fluoralkylskupinu s 1 až 3 atomy uhlíku a 1 až 3 atomy fluoru, monohydroxyalkylskupinu s 1 až 3 atomy uhlíku nebo alkoxyalkylskupinu s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylové a 1 až 3 atomy uhlíku v alkoxylové části;

35 R<sup>4</sup> představuje atom vodíku, alkylskupinu s 1 až 5 atomy uhlíku, fluoralkylskupinu s 1 až 5 atomy uhlíku a 1 až 3 atomy fluoru, monohydroxyalkylskupinu s 1 až 3 atomy uhlíku, fenylskupinu, alkoxyalkylskupinu s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylové a 1 až 3 atomy uhlíku v alkoxylové části, aminoalkylskupinu s 1 až 3 atomy uhlíku, skupinu vzorce

40



5 kde  $\text{X}^1$  představuje alkylskupinu s 1 až 3 atomy uhlíku a  $n$  je celé číslo 1 až 3, N-alkylaminoalkylskupinu s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylaminové a 1 až 3 atomy uhlíku v alkylové části, cykloalkylskupinu se 3 až 7 atomy uhlíku nebo N,N-dialkylaminoalkylskupinu s celkem 2 až 6 atomy uhlíku v dialkylaminové části a 1 až 3 atomy uhlíku v alkylové části;

$\text{R}^5$  představuje atom vodíku nebo alkylskupinu s 1 až 3 atomy uhlíku; nebo

10  $\text{R}^3$  a  $\text{R}^4$  dohromady s atomy uhlíku, k nimž jsou vázány, tvoří karboxyklický kruh se 4 až 7 atomy uhlíku;

a racemické, racemicko-diastereomerické směsi a optické isomery sloučenin obecného vzorce I a jejich farmaceuticky vhodné soli.

15 Přednost se dává sloučeninám obecného vzorce I, kde  $\text{Y}^1$  představuje skupinu vzorce  $-\text{OR}^1$  a je vázán v poloze 4 fenylového kruhu;  $\text{Y}^2$  představuje skupinu vzorce  $-\text{OR}^2$  a je vázán v poloze 3 fenylového kruhu a  $m$ ,  $n$ ,  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^4$  a  $\text{R}^5$  mají význam uvedený u obecného vzorce I nebo jejich farmaceuticky vhodným solím.

20 Větší přednost se dává sloučeninám obecného vzorce I, kde  $\text{Y}^1$  představuje skupinu vzorce  $-\text{OR}^1$  a je vázán v poloze 4 fenylového kruhu;  $\text{Y}^2$  představuje skupinu vzorce  $-\text{OR}^2$  a je vázán v poloze 3 fenylového kruhu, kde  $\text{R}^1$  představuje alkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, fenylalkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části nebo  $-(\text{CH}_2)_q$ -chinolinskupinu;  $m$  představuje číslo 0;  $n$  představuje číslo 0 a  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^4$  a  $\text{R}^5$  mají význam uvedený u obecného vzorce I; a jejich farmaceuticky vhodným solím.

30 Větší přednost se dále dává sloučeninám obecného vzorce I, kde  $\text{Y}^1$  představuje skupinu vzorce  $-\text{OR}^1$  a je vázán v poloze 4 fenylového kruhu;  $\text{Y}^2$  představuje skupinu vzorce  $-\text{OR}^2$  a je vázán v poloze 3 fenylového kruhu, kde  $\text{R}^1$  představuje alkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, fenylalkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části nebo  $-(\text{CH}_2)_q$ -chinolinskupinu;  $\text{R}^2$  představuje fenylalkylskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylové části, cykloalkylskupinu se 3 až 7 atomy uhlíku nebo alkylskupinu s 1 až 3 atomy uhlíku;  $m$  představuje číslo 0;  $n$  představuje číslo 0 a  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^4$  a  $\text{R}^5$  mají význam uvedený u obecného vzorce I; a jejich farmaceuticky vhodným solím.

35 Větší přednost se dále dává ještě sloučeninám obecného vzorce I, kde  $\text{Y}^1$  představuje skupinu vzorce  $-\text{OR}^1$  a je vázán v poloze 4 fenylového kruhu;  $\text{Y}^2$  představuje skupinu vzorce  $-\text{OR}^2$  a je vázán v poloze 3 fenylového kruhu, kde  $\text{R}^1$  představuje alkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, fenylalkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části nebo  $-(\text{CH}_2)_q$ -chinolinskupinu;  $\text{R}^2$  představuje 5-fenylpentylskupinu, benzylskupinu, cyklopentylskupinu nebo methylskupinu;  $m$  představuje číslo 0;  $n$  představuje číslo 0 a  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^4$  a  $\text{R}^5$  mají význam uvedený u obecného vzorce I; a jejich farmaceuticky vhodným solím.

45 Zvláštní přednost se dává sloučeninám obecného vzorce I, kde  $\text{Y}^1$  představuje skupinu vzorce  $-\text{OR}^1$  a je vázán v poloze 4 fenylového kruhu;  $\text{Y}^2$  představuje skupinu vzorce  $-\text{OR}^2$  a je vázán v poloze 3 fenylového kruhu, kde  $\text{R}^1$  představuje alkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, fenylalkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, fenylalkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části nebo  $-(\text{CH}_2)_q$ -chinolinskupinu;  $\text{R}^2$  představuje 5-fenylpentylskupinu, benzylskupinu, cyklopentylskupinu nebo methylskupinu;  $m$  představuje číslo 0;  $n$  představuje číslo 0;  $\text{R}^3$  představuje atom

vodíku;  $R^4$  a  $R^5$  mají význam uvedený u obecného vzorce I; a jejich farmaceuticky vhodným solím.

Zvláštní přednost se dává také sloučeninám obecného vzorce I, kde  $Y^1$  představuje skupinu vzorce  $-OR^1$  a je vázán v poloze 4 fenylového kruhu;  $Y^2$  představuje skupinu vzorce  $-OR^2$  a je vázán v poloze 3 fenylového kruhu, kde  $R^1$  představuje alkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, fenyalkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části nebo  $-(CH_2)_q$ -chinolinskupinu;  $R^2$  představuje 5-fenylpentylskupinu, benzylskupinu, cyklopentylskupinu nebo methylskupinu; m představuje číslo 0; n představuje číslo 0;  $R^3$  představuje atom vodíku;  $R^4$  představuje atom vodíku nebo alkylskupinu s 1 až 5 atomy uhlíku a  $R^5$  má význam uvedený u obecného vzorce I; a jejich farmaceuticky vhodným solím.

Konkrétněji se zvláštní přednost dává sloučeninám obecného vzorce I, kde  $Y^1$  představuje skupinu vzorce  $-OR^1$  a je vázán v poloze 4 fenylového kruhu;  $Y^2$  představuje skupinu vzorce  $-OR^2$  a je vázán v poloze 3 fenylového kruhu, kde  $R^1$  představuje alkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, fenyalkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části nebo  $-(CH_2)_q$ -chinolinskupinu;  $R^2$  představuje 5-fenylpentylskupinu, benzylskupinu, cyklopentylskupinu nebo methylskupinu; m představuje číslo 0; n představuje číslo 0;  $R^3$  představuje atom vodíku;  $R^4$  představuje atom vodíku nebo alkylskupinu s 1 až 5 atomy uhlíku a  $R^5$  představuje atom vodíku nebo alkylskupinu s 1 až 3 atomy uhlíku a jejich farmaceuticky vhodným solím; sloučeninám obecného vzorce I, kde  $Y^1$  představuje skupinu vzorce  $-OR^1$  a je vázán v poloze 4 fenylového kruhu;  $Y^2$  představuje skupinu vzorce  $-OR^2$  a je vázán v poloze 3 fenylového kruhu, kde  $R^1$  představuje metylskupinu;  $R^2$  představuje cyklopentylskupinu; m představuje číslo 0; n představuje číslo 0;  $R^3$  představuje atom vodíku;  $R^4$  představuje atom vodíku a  $R^5$  představuje atom vodíku, a jejich farmaceuticky vhodným solím; a levotočivým (s negativní rotací) isomerům obecného vzorce I, kde  $Y^1$  představuje skupinu vzorce  $-OR^1$  a je vázán v poloze 4 fenylového kruhu;  $Y^2$  představuje skupinu vzorce  $-OR^2$  a je vázán v poloze 3 fenylového kruhu, kde  $R^1$  představuje metylskupinu;  $R^2$  představuje cyklopentylskupinu; m představuje číslo 0; n představuje číslo 0;  $R^3$  představuje atom vodíku;  $R^4$  představuje atom vodíku a  $R^5$  představuje atom vodíku, a jejich farmaceuticky vhodným solím.

Konkrétněji se zvláštní přednost dále dává sloučeninám obecného vzorce I, kde  $Y^1$  představuje skupinu vzorce  $-OR^1$  a je vázán v poloze 4 fenylového kruhu;  $Y^2$  představuje skupinu vzorce  $-OR^2$  a je vázán v poloze 3 fenylového kruhu, kde  $R^1$  představuje methylskupinu;  $R^2$  představuje cyklopentylskupinu; m představuje číslo 0; n představuje číslo 0;  $R^3$  představuje atom vodíku;  $R^4$  představuje methylskupinu a  $R^5$  představuje atom vodíku, a jejich farmaceuticky vhodným solím; a levotočivým (s negativní rotací) isomerům sloučenin obecného vzorce I, kde  $Y^1$  představuje skupinu vzorce  $-OR^1$  a je vázán v poloze 4 fenylového kruhu;  $Y^2$  představuje skupinu vzorce  $-OR^2$  a je vázán v poloze 3 fenylového kruhu, kde  $R^1$  představuje methylskupinu;  $R^2$  představuje cyklopentylskupinu; m představuje číslo 0; n představuje číslo 0;  $R^3$  představuje atom vodíku;  $R^4$  představuje methylskupinu a  $R^5$  představuje atom vodíku; a jejich farmaceuticky vhodným solím.

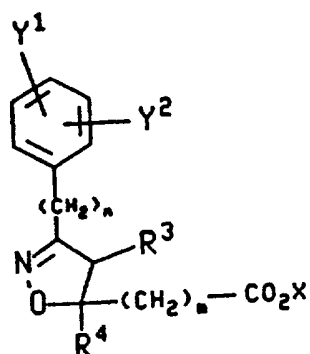
Výraz „alkyl“ zahrnuje zbytky s řetězcem přímým i rozvětveným. Aromatické části popřípadě substituovaných fenyalkylskupin, aromatické části popřípadě substituovaných fenoxylskupin a popřípadě substituované indanylskupiny mohou být substituovány jedním nebo více substituenty.

Následuje podrobnější popis vynálezu.

Do rozsahu sloučenin podle vynálezu spadají racemické a racemicko-diastereomerické směsi a optické isomery sloučenin obecného vzorce I, jakož i jejich farmaceuticky vhodné soli.

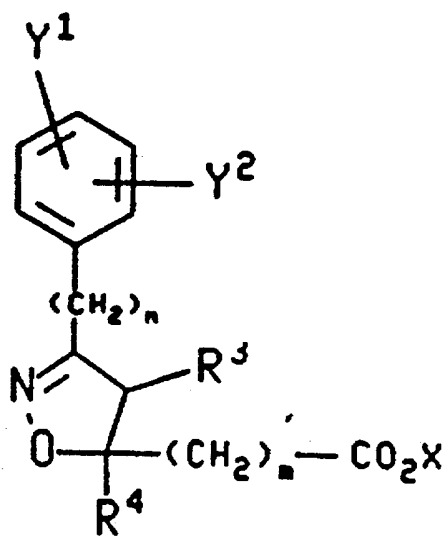
Sloučeniny podle vynálezu obecného vzorce I, definovaného výše, je obecně možno snadno připravovat podle následujícího reakčního postupu.

K alkoholickému roztoku methoxidu sodného se přidá alkoholický roztok hydrochloridu hydroxylaminu a sloučenina obecného vzorce

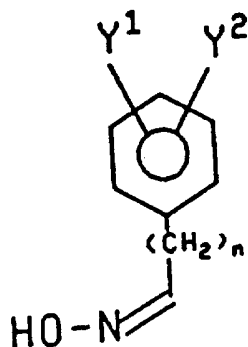


5 kde  $Y^1$ ,  $Y^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $m$  a  $n$  mají význam uvedený u obecného vzorce I a X představuje alkylskupinu. Reakční směs se míchá po dobu asi 12 až asi 24, přednostně 16 hodin, při teplotě místnosti. Rozpouštědlo se odpaří a zbytek se zpracuje postupy dobře známými odborníkům v tomto oboru.

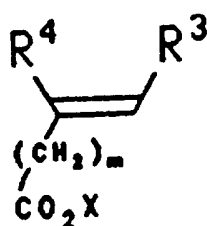
10 Intermediární esterovou sloučeninu obecného vzorce



15 kde  $Y^1$ ,  $Y^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $m$  a  $n$  mají význam uvedený u obecného vzorce I a X představuje alkylskupinu, je možno syntetizovat následujícím postupem: Ke směsi N-chlorsukcinimidu a pyridinu v inertním rozpouštědle, jako methylenchloridu, se přidá oxim obecného vzorce



kde  $Y^1$  a  $Y^2$  mají význam uvedený u obecného vzorce I. Směs se asi 2 až asi 5, přednostně 2 hodiny, míchá a přidá se k ní sloučenina obecného vzorce



5 kde  $R^3$  a  $R^4$  mají význam uvedený u obecného vzorce I a X představuje alkylskupinu. Ke vzniklé směsi se následně přidá triethylamin. Reakční směs se míchá další asi 2 hodiny při teplotě místnosti a zpracuje postupy dobře známými odborníkům v tomto oboru.

10 Způsoby, jichž lze použít pro přípravu sloučenin podle vynálezu, ilustrují shora popsané syntetické postupy, jakož i dále uvedené příklady.

Odborníkům v tomto oboru je na základě tohoto popisu zřejmé, že některé sloučeniny podle  
 15 vynálezu mohou tvořit farmaceuticky vhodné adiční soli s kyselinami. Jako neomezuující příklady farmaceuticky vhodných solí sloučenin podle vynálezu je možno uvést soli s kyselinou chlorovodíkovou, kyselinou bromovodíkovou, kyselinou dusičnou, kyselinou sírovou, kyselinou fosforečnou, kyselinou methansulfonovou, kyselinou p-toluensulfonovou, kyselinou octovou, kyselinou glukonovou, kyselinou vinnou, kyselinou maleinovou a kyselinou jantarovou. V případě sloučenin obecného vzorce I, které obsahují další bazický dusík, mohou samozřejmě  
 20 vznikat adiční soli se dvěma ekvivalenty kyseliny (například dihydrochloridy), stejně tak jako obvyklé adiční soli s jedním ekvivalentem kyseliny. Některé ze sloučenin podle vynálezu mohou také tvořit farmaceuticky vhodné soli s kationty. Jako neomezuující příklady takových solí je možno uvést soli se sodíkem, draslíkem, vápníkem, hořčíkem, amoniem, N,N'-dibenzylethylen-diaminem, N-methylglukaminem (megluminem), ethanolaminem a diethanolaminem.

25 Výchozí látky a reakční činidla potřebná pro syntézu sloučenin pole vynálezu jsou snadno dostupné buď obchodně, nebo metodami popsanými v literatuře nebo metodami ilustrovanými v následujících preparativních postupech.

30 Schopnost sloučenin podle vynálezu nebo jejich farmaceuticky vhodných solí inhibovat fosfodiesterázu IV ( $PDE_{iv}$ ), a tedy jejich účinnost při léčbě inflamatorních chorob, je možno demonstrovat pomocí následujících zkoušek in vitro.

## Biologické zkoušky

PDE<sub>IV</sub> z lidských plic

- 5 30 až 40 g plicní tkáně člověka se umístí do 50 ml pufru Tris/fenylmethylsulfonylfluorid (PMSF)/sacharosa o pH 7,4 a homogenizuje za použití zařízení Tekmar Tissumizer<sup>®</sup> (Tekmar Co., 7143 Kemper Road, Cincinnati, Ohio 45249) po dobu 30 sekund při nejvyšší rychlosti. Homogenát se odstředí 70 minut při 48 000 x g při teplotě 4 °C. Supernatant se 2 x přefiltruje přes filtr s průměry pórů 0,22 μm a nanese na sloupec Mono-Q FPLC (Pharmacia LKB
- 10 Biotechnology, 800, Centennial Avenue, Piscataway, New Jersey 08854), který je předem ekvilibrován v pufru Tris/PMSF o pH 7,4. Pro nanášení vzorku na sloupec se používá průtok 1 ml/min a následující promývání a eluce se provádí průtokovou rychlostí 2 ml/min. Vzorek se eluuje ze sloupce za použití vzestupného stupňovitého gradientu chloridu sodného v pufru Tris/PMFS o pH 7,4. Sbírají se frakce o objemu 8 ml. Frakce se zkoušejí na specifickou aktivitu PDE<sub>IV</sub>, což se provádí hydrolyzou [<sup>3</sup>H]cAMP, přičemž se využívá schopnosti známého inhibitoru PDE<sub>IV</sub> (například rolipramu) inhibovat tuto hydrolyzu. Vhodné frakce se spojí, zředí ethylenglykolem (2 ml ethylenglykolu/5 ml enzymatického přípravku) a zředěný roztok se skladuje až do použití při teplotě -20 °C.
- 20 Sloučeniny se rozpustí v dimethylsulfoxidu na koncentraci 10mM a roztoky se zředí v poměru 1 : 25 vodou (400 μM koncentrace sloučeniny, 4% koncentrace dimethylsulfoxidu). Požadované koncentrace se nastaví následujícím sériovým ředěním ve 4% roztoku dimethylsulfoxidu. Výsledná koncentrace dimethylsulfoxidu ve zkumavce je 1%. Pokus se zopakuje za použití dále uvedených látek, které se v uvedeném pořadí přidají do skleněné zkumavky o rozměrech
- 25 12 x 75 mm (všechny uváděné koncentrace jsou výsledné koncentrace ve zkumavce):
- i) 25 μl sloučeniny nebo dimethylsulfoxidu (1% v případě kontrolního a slepého pokusu)
  - ii) 25 μl Tris pufru o pH 7,5
  - iii) [<sup>3</sup>H]cAMP (1 μM)
  - 30 iv) 25 μl roztoku enzymu PDE<sub>IV</sub> (v případě slepého pokusu se enzym předběžně inkubuje 5 minut ve vroucí vodě).

- Obsah zkumavek se protřepe a potom se zkumavky umístí na 20 minut do vodní lázně o teplotě 37 °C, načež se reakce zastaví přenesením zkumavek do lázně s vroucí vodou na dobu 4 minut.
- 35 Do každé zkumavky umístěné v ledové lázni se přidá promývací pufr (0,5 ml, 0,1M roztok 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinethansulfonové kyseliny (HEPES)/0,1M roztok chloridu sodného, pH 8,5). Obsah každé zkumavky se nanese na sloupec Affi-gel 601 (Biorad Laboratories, P.O. Box 1229, 85A Marcus Drive, Melville, New York, 11 747) (boronátový afinitní gel, objem lože 1 ml), který byl předběžně ekvilibrován v promývacím pufru. [<sup>3</sup>H]cAMP se vymyje 2 x 6 ml promývacího pufru a potom se eluuje [<sup>3</sup>H]5'AMP pomocí 4 ml 0,25M kyseliny octové. Po vířivém promíchání se 1 ml eluátu přidá ke 3 ml scintilační kapaliny umístěné ve vhodné nádobě, směs se promíchá vířením a potom se spočítá [<sup>3</sup>H].
- 40

Procentická inhibice se vypočítá z následujícího vzorce:

45

$$\text{inhibice (\%)} = \left[ 1 - \frac{\text{průměr cpm (zkouš. slouč.)} - \text{průměr cpm (slepý pokus)}}{\text{průměr cpm (kontrol. pokus)} - \text{průměr cpm (slepý pokus)}} \right] \times 100$$

cpm = počet radioaktivních impulsů/min

- 50 Hodnota IC<sub>50</sub> je definována jako koncentrace sloučeniny, která inhibuje z 50 % specifickou hydrolyzu [<sup>3</sup>H]cAMP na [<sup>3</sup>H]5'AMP.



Zkouška inhibice fosfodiesterázy (PDE<sub>IV</sub>) z humánních eosinofilů

## Purifikace eosinofilů z humánní periferní krve

5 Humánní periferní krev se shromáždí v kyselině ethylendiamintetraoctové, zředí pufrém PIPES (dextróza, chlorid sodný, chlorid draselný) v poměru 1 : 1 a potom se vzniklou směsí převrství roztok Percoll (Pharmacia). Přibližně 30minutovou centrifugací při frekvenci otáčení 2000 min<sup>-1</sup> a teplotě asi 4 °C se vytvoří gradient. Zbytek izolačního postupu se provádí při asi 4 °C. Vrstva neutrofilů/eosinofilů se oddělí z Percollova gradientu a červené krvinky se podrobí lysi.

10 Zbývající buňky se promyjí PIPES (s 1 % fetálního telecího séra), inkubují s mikroperličkami anti-CD16 po dobu asi 1 hodiny a nechají projít magnetickým sloupcem pro odstranění neutrofilů. Eosinofily se shromáždí v eluátu a analyzují na životaschopnost barvením Trypanovou modří (Gibco) a čistotu barvením Diff-Quik<sup>®</sup> (Baxter Scientific). Za použití této metody je stanovená čistota eosinofilů rutinně nad 99 %.

15

## Příprava eosinofilových membrán

Purifikované eosinofily se resuspendují v 750 µl pufru pro lysi fosfodiesterázou (20mM triethylamin, 1mM ethylendiamin-tris acetát, 100 µg/ml bacitracinu, 2mM benzamidin, 50µM leupeptin, 50µM fenylmethylsulfonylfluorid, 10 µg/ml inhibitoru sojového trypsinu) a rychle zmrazí v kapalném dusíku. Potom se buňky nechají pomalu roztát a zpracují se ultrazvukem. Membrány se podrobí vířivému mechanickému zpracování (rozbití se potvrdí obarvením fragmentů Trypanovou modří). Rozbité buňky se odstředí asi 30 minut při frekvenci otáčení 3700 min<sup>-1</sup> a teplotě asi 4 °C, aby se izolovaly membrány. Cytosol se dekantuje a membrány se

20 resuspendují na koncentraci 500 µg/ml pro použití jako zdroj fosfodiesterázy při hydrolytické zkoušce (získá se okénko v rozmezí od 3000 do 5000 impulsů).

25

## Příprava zkoušených sloučenin

30 Sloučeniny se rozpustí v dimethylsulfoxidu (na koncentraci 10<sup>-2</sup>M) a zředí v poměru 1 : 25 vodou na výslednou koncentraci 4 x 10<sup>-4</sup>M. Vzniklá suspenze se sériově ředí v poměru 1 : 10 4% dimethylsulfoxidem až na konečnou koncentraci dimethylsulfoxidu při zkoušce 1%.

## Zkouška inhibice fosfodiesterázy

35

Do skleněné zkumavky o rozměrech 12 x 75 mm se přidá: 1) 25 µl pufru pro stanovení fosfodiesterázy (200mM Tris/40mM chlorid hořečnatý), 2) 25 µl zásobního roztoku CAMP o koncentraci 4 nmol/ml, 3) 25 µl zkoušené sloučeniny, 4) 25 µl zdroje fosfodiesterázy (membrány). Pro zajištění kontrolní hodnoty pozadí se membrány asi 10 minut vaří. Nevařené

40 membrány slouží jako pozitivní kontrola. Směs se inkubuje 25 minut ve vodní lázni o teplotě asi 37 °C. Reakce se zastaví asi pětiminutovým povařením vzorku. Vzorek se nanese na sloupec Affi-Gel 601 (objem sloupce 1 ml), který byl předem ekvilibrován s 0,25M kyselinou octovou a poté s promývacím pufrém (0,1mM HEPES/0,1mM chlorid sodný) (pH 8,5). cAMP se vymyje ze sloupce pomocí HEPES/NaCl, 5'-AMP se eluuje ve 4 ml 0,25M kyseliny octové. 1 ml eluátu se

45 smíchá se 3 ml scintilační kapaliny a po dobu 1 minuty se počítají radioaktivní impulsy ([<sup>3</sup>H]).

## Výpočet dat a jejich interpretace

50 konverze substrátu = 
$$\frac{\text{cpm pozitivní kontroly} \times 4}{\text{celková aktivita}}$$

Stupeň konverze musí být vyšší než 3 %, aby byl experiment platný.

$$\text{Inhibice (\%)} = \left[ 1 - \frac{\text{cpm eluátu} - \text{cpm pozadí}}{\text{cpm kontroly} - \text{cpm pozadí}} \right] \times 100$$

5 cpm = počet radioaktivních impulsů/min

Hodnoty IC<sub>50</sub> se získají lineární regresí křivky titru inhibice (její lineární části) a vyjadřují se v μM.

10 Výsledky dosažené při výše uvedených zkouškách u některých reprezentativních sloučenin podle vynálezu jsou uvedeny dále.

| Sloučenina<br>z příkladu č. | PDE <sub>IV</sub> z lidských<br>plic; IC <sub>50</sub> (μM) | Zkouška inhibice PDE <sub>IV</sub><br>z humánních eosinofilů; IC <sub>50</sub> (μM) |
|-----------------------------|---|---|
| 15                          | 1   | není k dispozici  |
|                             | 2   | 0,0448  |
|                             | 3   | 0,34  |
|                             | 4   | 0,0332  |
|                             | 5   | 1,37  |
| 20                          | 6   | 0,290   |
|                             | 7   | 0,220   |
|                             | 8   | 1,49  |
|                             | 9   | 4,92  |
|                             | 10  | 0,19  |
| 25                          | 11  | 1,61  |
|                             | 12  | 74,9  |
|                             | 13  | 1,95  |
|                             | 14  | 3,14  |
|                             | 15  | 48 % při 100μM  |
| 30                          | 16  | 1,91  |
|                             | 17  | 7,39  |
|                             | 18  | 0,10  |
|                             | 19  | 0,0103  |
|                             | 20  | 0,0332  |
| 35                          | 21  | 0,20  |
|                             | 22  | 5,93  |

40 Pro podávání člověku za účelem inhibice PDE<sub>IV</sub> a léčení inflamatorních chorob, AIDS, astma, artritida, bronchitida, chronické obstruktivní pulmonární choroby, psoriasis, alergické rhinitis nebo dermatitis jsou obvykle vhodné orální dávky sloučenin obecného vzorce I a jejich farmaceuticky vhodných solí podle vynálezu (tyto sloučeniny jsou dále označovány názvem „účinné sloučeniny podle vynálezu“) ležící v rozmezí od 0,1 do 500 mg za den, vztaheno na průměrného dospělého pacienta o hmotnosti 70 kg. Pro typického dospělého pacienta se tedy hodí tablety a kapsle, z nichž každá obsahuje 0,1 až 50 mg účinné sloučeniny ve vhodném farmaceutickém vehikulu

45 nebo nosiči. Pro dosažení požadovaného dávkování může být zapotřebí podávat více tablet nebo kapslí. Dávky v případě intravenózního podávání obvykle leží v rozmezí od 0,1 do 10 mg (jedna dávka). Pro intranasální nebo inhalační podávání přichází v úvahu farmaceutický prostředek obsahující účinnou sloučeninu v množství 1 až 10 g/litr. Skutečnou dávku, která se bude nejlépe

50 hodit pro každého jednotlivého pacienta, stanoví v praxi ošetřující lékař. Tato dávka se bude měnit podle věku, hmotnosti a odpovědi léčeného pacienta. Výše uvedené dávky mají povahu příkladů vhodných pro průměrné případy, ale v jednotlivých konkrétních případech je

samozřejmě možno používat jak vyššího, tak nižšího dávkování. Do rozsahu vynálezu spadá použití sloučeniny podle vynálezu v libovolném dávkování.

5 Pro aplikaci člověku se účinné sloučeniny podle vynálezu mohou podávat samotné, ale obvykle se podávají ve směsi s farmaceutickým ředidlem nebo nosičem, který je zvolen s ohledem na zamýšlenou cestu podávání v souladu se standardní farmaceutickou praxí. Tak například, když se má použít orálního dávkování, jsou vhodnými farmaceutickými prostředky tablety, které jako excipienty obsahují škrob nebo laktosu, nebo kapsle či ovule, obsahující účinnou látku buď samotnou, nebo ve směsi s excipienty. Pro orální podávání se může použít také elixírů nebo 10 suspenzí, které obsahují aromatizační látky nebo barvicí činidla. Sloučeniny obecného vzorce I se také mohou podávat ve formě parenterálních injekcí, například intravenosně, intramuskulárně nebo subkutánně. Pro parenterální podávání se nejlépe hodí farmaceutické prostředky v podobě sterilního vodného roztoku, který může také obsahovat jiné přísady, například dostatečné množství solí nebo glukosy pro isotonizaci roztoku. Pro topické podávání se nejlépe hodí 15 roztoky, lotiony, masti, hojivé masti apod.

Předmětem vynálezu jsou tedy také farmaceutické prostředky, jejichž podstata spočívá v tom, že obsahují sloučeniny obecného vzorce I nebo jejich farmaceuticky vhodné soli spolu s farmaceuticky vhodnými ředidly nebo nosiči.

20 Předmětem vynálezu jsou také farmaceutické prostředky pro inhibici  $PDE_{IV}$  nebo pro léčení inflamatorních chorob nebo léčení AIDS, astma, artritida, bronchitida, chronické obstrukční choroby plic, psoriasis, alergické rhinitida a dermatitida u savců, zejména člověka, jejichž podstata spočívá v tom, že obsahují účinné množství sloučeniny obecného vzorce I nebo její farmaceuticky vhodné soli spolu s farmaceuticky vhodnými nosiči.

Předmětem vynálezu je dále také způsob inhibice  $PDE_{IV}$  u savců, kteří takovou inhibici potřebují, jehož podstata spočívá v tom, že se takovému savci podá množství sloučeniny obecného vzorce I nebo její farmaceuticky vhodné soli účinné pro inhibici  $PDE_{IV}$ .

30 Předmětem vynálezu je dále také způsob léčby inflamatorních chorob u savců, jehož podstata spočívá v tom, že se těmto savcům podává sloučenina obecného vzorce I nebo její farmaceuticky vhodná sůl v antiinflamatorně účinném množství.

35 Dále je předmětem vynálezu také způsob léčby nebo prevence chorob zvolených ze souboru zahrnujícího astma, artritida, bronchitida, chronickou obstrukční chorobu plic, psoriasis, alergickou rhinitida, dermatitida a šok u savců, kteří takovou léčbu vyžadují, jehož podstata spočívá v tom, že se savci podá účinné množství sloučeniny obecného vzorce I nebo její farmaceuticky vhodné soli.

40 Vynález je blíže objasněn v následujících příkladech provedení. Uvedené příklady mají výhradně ilustrativní charakter, ale rozsah vynálezu v žádném ohledu neomezují.

#### 45 Příklady provedení vynálezu

##### Příklad 1

3-(3-Cyklopentyloxy-4-methoxy)fenyl-2-isoxazolin-5-hydroxamová kyselina

50 K roztoku methoxidu sodného, připravenému z 97 mg (4,2 mmol) sodíku a 10 ml methanolu, se přidá roztok 146 mg (2,1 mmol) hydrochloridu hydroxylaminu ve 3 ml methanolu a poté 500 mg (1,5 mmol) sloučeniny z preparativního postupu 10. Reakční směs se míchá 16 hodin při teplotě místnosti a poté odpaří. Zbytek se rozpustí v 50 ml vody a roztok se promyje dvakrát etherem

(2 x 50 ml). Vodná vrstva se okyslí vodnou kyselinou chlorovodíkovou na pH 1 a vyloučená sraženina (231 mg) se odfiltruje a překrystaluje dvakrát ze směsi dichlormethanu a ethylacetátu. Získá se 52 mg sloučeniny uvedené v nadpisu o teplotě tání 167 až 168 °C.

- 5  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  1,54 - 1,92 (8H, m), 3,48 - 3,67 (2H, m), 3,78 (3H, s), 4,79 - 4,85 (1H, m), 4,95 (1H, t,  $J = 8$ ), 6,99 (1H, d,  $J = 9$ ), 7,17 (1H, d,  $J = 9$ ), 7,23 (1H, s), 9,03 (1H, s).

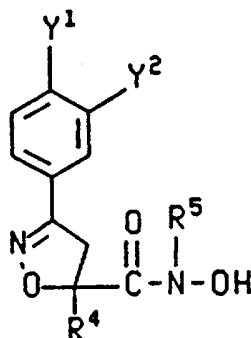
Analýza pro  $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5$ :

vypočteno: C 59,99, H 6,29, N 8,74

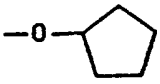
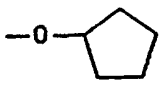

- 10 nalezeno: C 59,82, H 6,05, N 8,65

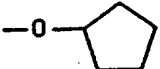
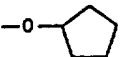
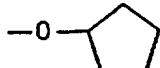
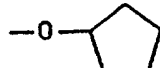
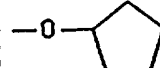
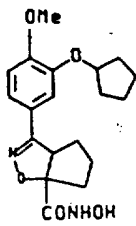
Příklady 2 až 16

- 15 Následující sloučeniny, jejich struktura odpovídá dále uvedenému obecnému vzorci se vyrobí v podstatě způsobem pospaným v příkladu 1, přičemž se však uvedeného esteru použije místo esteru z preparativního postupu 10. V příkladu 5 se místo hydrochloridu hydroxylaminu použije hydrochloridu N-methylhydroxylaminu.



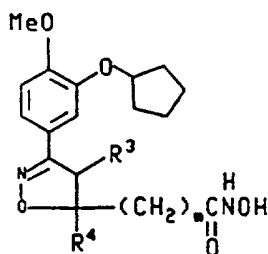
| Př. | Y <sup>1</sup> | Y <sup>2</sup>                       | R <sup>4</sup> | R <sup>5</sup> | Ester<br>z prep. | t. t. (°C) | Data   |
|-----|----------------|--------------------------------------|----------------|----------------|------------------|------------|--|
| 2   | -OMe           | -O(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> Ph | H              | H              | 8                | 130-132    | Anal. vyp. pro<br>$\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5$ : C,<br>66,32; H, 6,58; N,<br>7,03. Nalez: C,<br>66,23; H, 6,50; N,<br>6,94                                     |
| 3   | -OMe           | -O(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> Ph | Et             | H              | 9                | 169-171    | Anal. vyp. pro<br>$\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_5 \cdot \frac{1}{4}\text{H}_2\text{O}$ :<br>C, 66,82; H,<br>7,07; N, 6,49.<br>Nalez: C, 67,13; H,<br>7,03; N, 6,15 |

| Př. | Y <sup>1</sup>  | Y <sup>2</sup>  | R <sup>4</sup> | R <sup>5</sup> | Ester<br>z prep. | t.t. (°C) | Data   |
|-----|---|---|----------------|----------------|------------------|-----------|--|
| 4   | -OMe  |  | Me             | H              | 12               | 171-173   | Anal. vyp. pro C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ·½H <sub>2</sub> O : C, 59,41; H, 6,70; N, 8,15. Nalez: C, 59,78; H, 6,38; N, 8,27  |
| 5   | -OMe  |  | H              | Me             | 11               | 146-148   | Anal. vyp. pro C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> : C, 61,07; H, 6,63; N, 8,38. Nalez: C, 60,87; H, 6,52; N, 8,45   |
| 6   | -OMe  | -OMe  | H              | H              | 22               | 180-182   | Anal. vyp. pro C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> : C, 54,13; H, 5,30; N, 10,52. Nalez: C, 54,03; H, 5,12; N, 10,60   |
| 7   | -OMe  | -OCH <sub>2</sub> Ph  | H              | H              | 23               | 166-168   | Anal. vyp. pro C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> : C, 63,15; H, 5,30; N, 8,18. Nalez: C, 63,32; H, 5,37; N, 8,09   |
| 8   |  | H   | H              | H              | 24               | -         | <sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ): δ 3,48-3,68 (2H, m), 4,95 (1H, t, J=8), 5,43 (2H, s), 7,15 (2H, d, J=9), 7,59-7,69 (4H, m), 7,80 (1H, t, J=8), 8,01 (2H, t, J=7), 8,42 (1H, d, J=9), 9,04 (1H, s), 10,99 (1H, s). MS (m/e): 363 (M <sup>+</sup> ) |
| 9   | -OCH <sub>2</sub> Ph  | H   | H              | H              | 25               | 190-192   | <sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ): δ 3,44-3,63 (2H, m), 4,94 (1H, t, J=8), 5,15 (2H, s), 7,08 (2H, d, J=8), 7,32-7,46 (5H, m), 7,62 (2H, d, J=8), 9,03 (1H, s); MS (m/e): 313 (M <sup>+</sup> +1)  |

| Př. | Y <sup>1</sup>  | Y <sup>2</sup>  | R <sup>4</sup> | R <sup>5</sup> | Ester<br>z prep. | t. t. (°C) | Data  |
|-----|---|---|----------------|----------------|------------------|------------|---|
| 10  | H   |    | H              | H              | 13               | 151-153    | <i>Anal.</i> vyp. pro C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> : C, 62,06; H, 6,25; N, 9,65. Nalez: C, 62,00; H, 6,15; N, 9,36   |
| 11  |    | -OMe  | H              | H              | 14               | 136-138    | <i>Anal.</i> vyp. pro C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> : C, 59,99; H, 6,29; N, 8,74. Nalez: C, 59,66; H, 6,21; N, 8,69   |
| 12  | H   | H   | H              | H              | 17               | 166-168    | <i>Anal.</i> vyp. pro C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> : C, 58,25; H, 4,89; N, 13,59. Nalez: C, 58,24; H, 4,49; N, 13,45 |
| 13  | OMe   |  | Pr             | H              | 18               | 154-157    | <i>Anal.</i> vyp. pro C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> : C, 62,97; H, 7,23; N, 7,73. Nalez: C, 62,61; H, 7,19; N, 7,54.  |
| 14  | OMe   |  | Bu             | H              | 19               | 135-138    | HRMS. vyp. pro C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> : 376,19982. nalez: 376,20104.   |
| 15  | OMe   |  | Ph             | H              | 20               | 180-182    | <i>Anal.</i> vyp. pro C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> : C, 66,65; H, 6,10; N, 7,07. Nalez: C, 66,32; H, 6,30; N, 7,12.  |
| 16  |  |   |                |                | 21               | 111-133    | HRMS: vyp. pro C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> : 360,1685; nalez: 360,1684.   |

## Příklady 17 až 22

- 5 Sloučeniny dále uvedeného obecného vzorce se vyrobí v podstatě stejným postupem, jaký je popsán v příkladu 1 za použití uvedeného esteru namísto esteru z preparativního postupu 10.



| Příklad | Ester<br>z prep. příkladu č. | R <sup>3</sup> | R <sup>4</sup> | m | t. t. (°C) | [α] <sub>D</sub> <sup>25</sup> | Anal.   |
|---------|------------------------------|----------------|----------------|---|------------|--------------------------------|---|
| 17      | 28                           | H              | H              | 0 | 137-140°   | +77°<br>MeOH                   | Vypoč.: C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ; C, 59,99; H, 6,29; N, 8,74. Nalez.: C, 59,98; H, 6,62; N, 8,80. |
| 18      | 29                           | H              | H              | 0 | 138-140°   | -82°<br>MeOH                   | Vypoč.: C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ; C, 59,99; H, 6,29; N, 8,74. Nalez.: C, 59,66; H, 6,44; N, 8,61. |

| Příklad         | Ester<br>z prep. příkladu č. | R <sup>3</sup> | R <sup>4</sup> | m | t. t. (°C) | [α] <sub>D</sub> <sup>25</sup>         | Anal.   |
|-----------------|------------------------------|----------------|----------------|---|------------|--|---|
| 19              | 33                           | H              | H              | 1 | 139-141°   | racemic                                | Vypoč.: C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ·¼H <sub>2</sub> O; C, 60,02; H, 6,64; N, 8,26. Nalez.: C, 59,63; H, 6,48; N, 8,15. |
| 20 <sup>a</sup> | 31                           | Me             | H              | 0 | 184-186°   | racemic                                | Vypoč.: C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ; C, 61,01; H, 6,58; N, 8,38. Nalez.: C, 61,08; H, 6,88; N, 8,04.                   |
| 21              | 39                           | H              | Me             | 0 | 167-168°   | +9° <sup>b</sup><br>CHCl <sub>3</sub>  | Vypoč.: C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ·¼H <sub>2</sub> O; C, 60,25; H, 6,69; N, 8,27. Nalez.: C, 60,43; H, 6,70; N, 8,23. |
| 22              | 40                           | H              | Me             | 0 | 153-155°   | -14° <sup>b</sup><br>CHCl <sub>3</sub> | Vypoč.: C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ·¼H <sub>2</sub> O; C, 59,41; H, 6,70; N, 8,15. Nalez.: C, 59,64; H, 6,65; N, 8,03. |

10 <sup>a</sup> transomer

<sup>b</sup> Tyto sloučeniny představují oddělené enantiomery sloučeniny z příkladu 4. Enantiomerní čistota je 99 % (podle stanovení chirální HPLC za použití chirálního sloupce Chrom Tech; mobilní fáze: směs 10mM pufru na bázi octanu amonného o pH 4,1 a propanolu v poměru 98 : 2; průtoková rychlost: 1 ml/min; detekce: 230 nm; teplota: teplota okolí; vstřikovací objem: 20 μl)

## Preparativní postup 1

## 4-Methoxy-3-(5-fenylpentyloxy)benzaldehydoxid

- 5 Směs 25,0 g (0,164 mol) isovanilinu, 26,9 g (0,164 mol) 5-fenyl-1-pentanolu, 64,5 g (0,246 mol) trifenylofosfinu a 250 ml tetrahydrofuranu se po kapkách smísí s 42,8 g (0,246 mol) diethylazodikarboxylátu. Vzniklá směs se asi 6 hodin zahřívá na asi 90 °C a poté míchá přes noc při teplotě místnosti. Rozpouštědlo se odpaří a zbytek se zředí 500 ml ethylacetátu. Zředěná směs se promyje vodou (1 x 400 ml), 1N roztokem hydroxidu sodného (2 x 400 ml) a roztokem chloridu sodného (1 x 400 ml), vysuší síranem hořečnatým a odpaří. Vzniklý hnědý olej (119 g) se přečistí mžikovou chromatografií na 750 g silikagelu za použití směsi ethylacetátu a hexanu v poměru 3 : 7, jako elučního činidla. Získá se 29,8 g (61 %) oleje.

- 15  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,42 - 1,92 (6H, m), 2,61 (2H, t,  $J = 7$ ), 3,91 (3H, s), 4,03 (2H, t,  $J = 7$ ), 6,91 (1H, d,  $J = 8$ ), 7,10 - 7,40 (m, 87H), 9,77 (s, 1H).

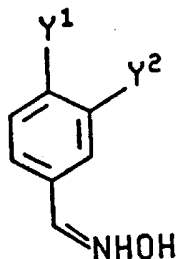
- 20 K roztoku 29,8 g (0,100 mol) výše uvedeného aldehydu ve 300 ml 95% ethanolu se přidá 13,7 g (0,197 mol) hydrochloridu hydroxylaminu ve 100 ml vody a poté po malých dávkách (vývoj plynu) 16,6 g (0,197 mol) hydrogenuhličitanu sodného. Výsledná směs se míchá asi 4 hodiny při teplotě místnosti, načez se z ní odpařením odstraní ethanol. Zbytek se zředí 250 ml vody a extrahuje ethylacetátem (2 x 200 ml). Spojené extrakty se vysuší síranem hořečnatým a odpaří. Žlutý olejovitý zbytek se překrystaluje ze směsi hexanu a etheru. Získá se 15,0 g sloučeniny uvedené v nadpisu o teplotě tání 65 až 67 °C.

- 25  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,46 - 1,93 (6H, m), 2,62 (2H, t,  $J = 7$ ), 3,88 (3H, s), 4,02 (2H, t,  $J = 7$ ), 6,99 - 7,62 (m, 6H), 7,49 (1H, s), 8,04 (1H, s).




- 30 Jako druhá frakce se z filtrátu získá 2,00 g produktu o teplotě tání 67 až 69 °C. Filtrát se odpaří a zbytek se přečistí mžikovou chromatografií za použití směsi ethylacetátu a hexanu v poměru 2 : 3, jako elučního činidla. Takto se získá dalších 4,18 g produktu o teplotě tání 64 až 66 °C.

## Preparativní postupy 2 až 4

- 35 Následující sloučeniny dále uvedeného obecného vzorce se vyrobí v podstatě postupem popsaným v preparativním postupu 1 za použití uvedeného fenolu namísto isovanilinu a příslušného alkoholu namísto 5-fenyl-1-pentanolu. Sloučeniny získané ve formě oleje se přečistí mžikovou chromatografií.

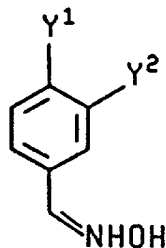




| Prep. př. | Y <sup>1</sup>  | Y <sup>2</sup>  | Fenol                        | Alkohol       | t. t. (°C) | <sup>1</sup> H NMR (CDCl <sub>3</sub> ) δ:   |
|-----------|---|---|------------------------------|---------------|------------|--|
| 2         | -OMe  |  | isovanillin                  | cyklopentanol | olej       | 1,50-2,02 (8H, m), 3,94 (3H, s), 4,62-4,80 (1H, m), 6,91 (1H, d, J=8), 6,97 (1H, dd, J=8 a 1), 7,17 (1H, d, J=1), 8,02 (1H, s), 8,16 (1H, s) |
| 3         | H   |  | <i>m</i> -hydroxybenzaldehyd | cyklopentanol | olej       | 1,50-1,95 (8H, m), 4,70-4,78 (1H, m), 6,88 (1H, dd, J=3, 8), 7,05-7,28 (3H, m), 8,09 (1H, s), 8,43 (1H, s)                                   |
| 4         |  | -OMe  | vanillin                     | cyklopentanol | 110-111    | 1,55-2,02 (8H, m), 3,88 (3H, s), 4,78-4,88 (1H, m), 6,86 (1H, d, J=8), 7,01 (1H, dd, J=2, 8), 7,21 (1H, d, J=2), 7,65 (1H, s), 8,07 (1H, s)  |

Preparativní postupy 5 až 6

- 5 Následující sloučeniny dále uvedeného obecného vzorce se vyrobí kondenzací uvedeného aldehydu s hydrochloridem hydroxylaminu v podstatě způsobem popsaným v preparativním postupu 1.



| Prep. př. | Y <sup>1</sup> | Y <sup>2</sup> | Aldehyd                      | t. t. (°C) | <sup>1</sup> H NMR (DMSO-d <sub>6</sub> ) δ:  |
|-----------|----------------|----------------|------------------------------|------------|---|
| 5         | -OMe           | -OH            | isovanillin                  | 146-148    | 3,77 (3H, s), 6,92 (2H, s), 7,08 (1H, s), 7,96 (1H, s), 9,16 (1H, s), 10,90 (1H, s) |
| 6         | -OH            | H              | <i>p</i> -hydroxybenzaldehyd | 115-118    | 6,77 (2H, d, J=9), 7,40 (2H, d, J=9), 8,00 (1H, s), 9,74 (1H, s), 10,83 (1H, s)     |

## Preparativní postup 7

## Ethyl-2-methylenbutyrát

5 Směs 5,0 g (0,019 mol) triethyl-2-fosfonobutyátu, 5,5 g (0,039 mol) uhličitanu draselného, 6,2 g (0,076 mol) 37% vodného roztoku formaldehydu a 15 ml vody se zahřívá po dobu asi 45 minut na asi 80 °C. Po ochlazení na teplotu místnosti se ke směsi přidá 75 ml etheru. Organická vrstva se oddělí, promyje roztokem chloridu sodného (1 x 20 ml) vysuší síranem hořečnatým a přefiltruje. Ether se opatrně oddestiluje, čímž se získá 2,1 g (87 %) sloučeniny  
10 uvedené v nadpisu ve formě čirého oleje, kterého se použije přímo, bez dalšího přečištění.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 1,01 (3H, t, J = 7), 1,24 (3H, t, J = 7), 2,26 (2H, q, J = 7), 4,14 (2H, q, J = 7), 5,45 (1H, s), 6,06 (1H, s).

15

## Preparativní postup 8

## Ethylester 3-[4-methoxy-3-(5-fenylpentyloxy)]fenyl-2-isoxazolin-5-karboxylové kyseliny

20 Ke směsi 1,28 g (9,57 mmol) N-chlorsukcinimidu, 200 μl pyridinu a 200 ml dichlormethanu se přidá roztok 2,00 g (6,38 mmol) sloučeniny z preparativního postupu 1 v 15 ml dichlormethanu. Po asi 10 minutách je pozorována exotermická reakce, načež se směs míchá asi 2 hodiny při teplotě místnosti a přidá se k ní 644 mg (698 μl, 6,38 mmol) ethylakrylátu a poté 966 mg (1,33 ml, 9,57 mmol) triethylaminu. Po odeznění exotermické reakce se směs míchá asi 2 hodiny  
25 při teplotě místnosti, zředí 250 ml dichlormethanu a promyje 1N vodnou kyselinou chlorovodíkovou, nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného, vysuší síranem sodným a odpaří. Olejovitý zbytek se přečistí mžikovou chromatografií na 100 g silikagelu za použití směsi ethylacetátu a hexanu v poměru 2 : 3, jako elučního činidla. Získá se 1,82 g (69 %) sloučeniny uvedené v nadpisu ve formě oleje.

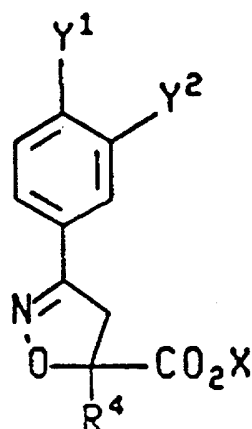
30

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 1,29 (3H, t, J = 7), 1,40 - 1,91 (6H, m), 2,60 (2H, t, J = 7), 3,55 - 3,58 (2H, m), 3,95 (3H, s), 3,99 (2H, t, J = 7), 4,22 (2H, q, J = 7), 5,05 - 5,12 (1H, m), 6,79 (1H, d, J = 8), 6,95 - 7,31 (7H, m).

35




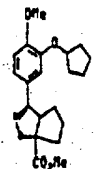
## Preparativní postupy 9 až 21

Sloučeniny dále uvedeného obecného vzorce se připraví v podstatě způsobem popsaným v preparativním postupu 8 za použití uvedených oximů namísto oximu z preparativního postupu 1 a  
40 uvedených olefinů namísto ethylakrylátu.



| Prep. př. | Y <sup>1</sup> | Y <sup>2</sup>                       | R <sup>4</sup> | X  | Oxim                   | Olefin                 | t. t. (°C) | <sup>1</sup> H NMR (CDCl <sub>3</sub> ) δ nebo elementární analýza   |
|-----------|----------------|--------------------------------------|----------------|----|------------------------|------------------------|------------|--|
| 9         | -OMe           | O(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -Ph | Et             | Et | sloučenina z prep.př.1 | sloučenina z prep.př.7 | olej       | 0,98 (3H, t, J=7), 1,30 (3H, t, J=7), 1,48-2,03 (8H, m), 2,82 (2H, t, J=7), 3,18 (1H, d, J=17), 3,76 (1H, d, J=17), 3,86 (3H, s), 4,01 (2H, q, J=7), 6,82 (1H, d, J=8), 7,01 (1H, dd, J=2, 8), 7,15-7,33 (6H, m) |
| 10        | -OMe           |                                      | H              | Et | sloučenina z prep.př.2 | ethylakrylát           | olej       | 1,27 (3H, t, J=7), 1,45-2,00 (8H, m), 3,56 (2H, d, J=10), 3,82 (3H, s), 4,22 (2H, q, J=7), 4,72-4,80 (1H, m), 5,09 (1H, t, J=10), 6,78 (1H, d, J=8), 6,98 (1H, d, J=8), 7,32 (1H, s)                             |

| Prep. př. | Y <sup>1</sup> | Y <sup>2</sup> | R <sup>4</sup> | X  | Oxim                   | Olefin           | t. t. (°C) | <sup>1</sup> H NMR (CDCl <sub>3</sub> ) δ nebo elementární analýza  |
|-----------|----------------|----------------|----------------|----|------------------------|------------------|------------|---|
| 11        | -OMe           |                | H              | Me | sloučenina z prep.př.2 | methylakrylát    | 101-102    | 1,45-2,00 (8H, m), 3,56 (2H, d, J=10), 3,82 (3H, s), 3,87 (3H, s), 5,16 (1H, t, J=10), 6,82 (1H, d, J=8), 7,03 (1H, dd, J=2, 8), 7,37 (1H, d, J=2)  |
| 12        | -OMe           |                | Me             | Et | sloučenina z prep.př.2 | ethylmethakrylát | 77-79      | 1,25 (3H, t, J=7), 1,50-2,00 (8H, m), 1,63 (3H, s), 3,11 (1H, d, J=17), 3,78 (1H, d, J=17), 3,91 (3H, s), 4,18 (2H, q, J=7), 4,68-4,77 (1H, m), 6,75 (1H, d, J=8), 6,92 (1H, dd, J=8, 2), 7,27 (1H, d, J=2) |
| 13        | H              |                | H              | Me | sloučenina z prep.př.3 | methylakrylát    | olej       | 1,45-1,95 (8H, m), 3,55-3,58 (2H, m), 3,85 (3H, s), 4,65-4,74 (1H, m), 5,09 (1H, t, J=9), 6,85 (1H, dd, J=2, 8), 7,07 (1H, d, J=8), 7,12-7,22 (2H, m)   |
| 14        |                | OMe            | H              | Me | sloučenina z prep.př.4 | methylakrylát    | olej       | 1,45-1,95 (8H, m), 3,58-3,62 (2H, m), 3,79 (3H, s), 3,85 (3H, s), 4,65-4,74 (1H, m), 5,14 (1H, t, J=9), 6,83 (1H, d, J=8), 7,00 (1H, dd, J=2, 8), 7,34 (1H, d, J=2)   |
| 15        | -OMe           | -OH            | H              | Me | sloučenina z prep.př.5 | methylakrylát    | 75-95      | 3,56-3,60 (2H, m), 3,79 (3H, s), 3,90 (3H, s), 5,12 (1H, t, J=10), 5,66 (1H, s), 6,83 (1H, d, J=9), 7,13 (1H, dd, J=2, 9), 7,24 (1H, d, J=2)*   |
| 16        | -OH            | H              | H              | Me | sloučenina z prep.př.6 | methylakrylát    | 149-153    | 3,61-3,65 (2H, m), 3,83 (3H, s), 5,17 (1H, t, J=9), 5,80 (1H, bd s), 6,88 (2H, d, J=8), 7,56 (2H, d, J=9)   |

| Prep. př. | Y <sup>1</sup> | Y <sup>2</sup>  | R <sup>4</sup> | X  | Oxim                     | Olefin                    | t. t. (°C) | <sup>1</sup> H NMR (CDCl <sub>3</sub> ) δ nebo elementární analýza  |
|-----------|----------------|---|----------------|----|--------------------------|---------------------------|------------|---|
| 17        | H              | H   | H              | Et | Benzaldehyde oxim        | ethylakrylát              | 40-41      | 1,50 (3H, t, J=7), 3,60-3,65 (2H, m), 4,28 (2H, q, J=7), 5,15 (1H, t, J=9), 7,37-7,42 (3H, m), 7,64-7,70 (2H, m)  |
| 18        | OMe            |  | Pr             | Et | sloučenina z prep. př. 2 | sloučenina z prep. př. 34 | olej       | 0,94 (3H, t, J=8), 1,30 (3H, t, J=8), 1,32-1,99 (12 H, m), 3,20 (1H, d, J=17), 3,76 (1H, d, J=17), 3,85 (3H, s), 4,18-4,32 (2H, m), 4,72-4,82 (1H, m), 6,82 (1H, d, J=8), 7,00 (1H, dd, J=2 a 8), 7,34 (1H, d, J=2) |
| 19        | OMe            |  | Bu             | Et | sloučenina z prep. př. 2 | sloučenina z prep. př. 35 | 53-36      | 0,90 (3H, t, J=8), 1,30 (3H, t, J=8), 1,22-1,98 (14H, m), 3,20 (1H, d, J=17), 3,78 (1H, d, J=17), 3,86 (3H, s), 4,20-4,29 (2H, m), 4,75-4,85 (1H, m), 6,82 (1H, d, J=8), 7,01 (1H, dd, J=2 a 8), 7,34 (1H, d, J=2)  |
| 20        | OMe            |  | Ph             | Et | sloučenina z prep. př. 2 | sloučenina z prep. př. 36 | 98-100     | Vypoč. pro: C <sub>20</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>2</sub> ; C, 70,39; H, 6,66; N, 3,42. Nalez. C, 70,30; H, 6,61; N, 3,58   |
| 21        |                |  |                |    | sloučenina z prep. př. 2 | methyl-1-cyklopentanoát   | olej       | 1,60-2,37 (14H, m), 3,79 (3H, s), 3,86 (3H, s), 4,21 (1H, dd, J=3 a 7), 4,75-4,80 (1H, m), 6,82 (1H, d, J=8), 7,05 (1H, dd, J=2 a 8), 7,34 (1H, d, J=2)   |

\* NMR ukazuje nečistotu, která je nejpravděpodobněji produktem získaným chlorací aromatického kruhu.

### Preparativní postup 22

#### 5 Methylester 3-(3,4-dimethoxyfenyl)-2-isoxazolin-5-karboxylové kyseliny

K roztoku 1,5 g (6,00 mmol) sloučeniny z preparativního postupu 15 ve 25 ml dimethylformamidu se přidá 910 mg uhličitanu draselného (6,60 mmol) a 0,41 ml (940 mg, 6,6 mmol) methyljodidu. Vzniklá směs se zahřívá na 50 °C a průběh reakce se monitoruje chromatografií na tenké vrstvě. Po první a druhé hodině se ke směsi přidá vždy 0,4 ml dalšího methyljodidu. Po asi dvouhodinovém dalším zahřívání se reakční směs ochladí a zředí 250 ml vody. Vodná směs se extrahuje ethylacetátem (3 x 100 ml), vysuší síranem hořečnatým a odpaří. Olejovitý zbytek se přečistí mžikovou chromatografií za použití směsi ethylacetátu a hexanu v poměru 1 : 3, jako elučního činidla. Získá se 270 mg sloučeniny uvedené v nadpisu o teplotě tání 106 až 108 °C.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 3,59 - 3,63 (2H, m), 3,79 (3H, s), 3,89 (3H, s), 5,15 (1H, t, J = 8), 6,83 (1H, d, J = 8), 7,03 (1H, dd, J = 2,8), 7,37 (1H, d, J = 8)

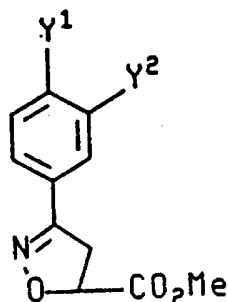
MS (m/e): 266 (M<sup>+</sup>+1).

20

### Preparativní postupy 23 až 25

Následující sloučeniny dále uvedeného obecného vzorce se vyrobí v podstatě způsobem popsaným v preparativním postupu 22 za použití uvedeného fenolu namísto sloučeniny z preparativního postupu 15 a uvedeného alkylačního činidla namísto methyljodidu.

25



| Prep<br>př. | Y <sup>1</sup>       | Y <sup>2</sup> | Fenol      | Alkylač-<br>ní činidlo | t. t. (°C) | Data   |
|-------------|----------------------|----------------|------------|------------------------|------------|--|
| 23          | OMe                  | OBn            | Prep. 15   | PhCH <sub>2</sub> Br   | 183-185    | <sup>1</sup> H NMR (CDCl <sub>3</sub> ): δ 3,54-3,58 (2H,m), 3,79 (3H,s), 3,89 (3H,s), 5,10-5,26 (1H,m), 5,13 (2H,s), 6,86 (1H, d, J=9), 7,06 (1H, dd, J=2,8), 7,32-7,40 (6H,m); MS (m/e): 342 (M <sup>+</sup> +1)         |
| 24          |                      | H              | z prep. 16 |                        | 112-113    | <sup>1</sup> H NMR (CDCl <sub>3</sub> ): δ 3,56-3,59 (2H, m), 3,78 (3H, s), 5,12 (1H, t, J=8), 5,34 (2H, s), 7,02 (2H, d, J=9), 7,54-7,82 (6H, m), 8,06 (1H, d, J=8), 8,17 (1H, d, J=8); MS (m/e): 363 (M <sup>+</sup> +1) |
| 25          | -OCH <sub>2</sub> Ph | H              | z prep. 16 | PhCH <sub>2</sub> Br   | 127-128    | Analýza vypoč. pro: C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>4</sub> : C, 69,43; H, 5,50; N, 4,50. Nalez: C, 69,18; H, 5,31; N, 4,59  |

## 5 Preparativní postup 26

[3aR-(3α, 6α, 7αβ)]-Hexahydro-8,8-dimethyl-1-(1-oxo-2-propenyl)-3H-3a,6-methano-2,1-benzisothiazol-2,2-dioxid

- 10 Sloučenina uvedená v nadpisu se vyrobí postupem podle Currana a Heffnera (Curran, D. P., Heffner, T. A., J. Org. Chem., 1990, 55, 4585) za použití (+)-L-2,10-kafrsultamu získaného od Fluka.

- 15 Do jedolitrové tříhrdlé baňky s kulatým dnem vybavené zpětným chladičem, přívodem plynného dusíku, gumovým septem a skleněnou zátkou se umístí 4,03 g (0,084 mol) 50% disperse natriumhydridu, 400 ml toluenu a 12,0 g (0,056 mol) (+)-10,2-kafrsultamu. Získaná směs se míchá 1 hodinu při teplotě místnosti, přidá se k ní 594 mg (0,006 mol) chloridu měďného a poté

9,10 ml (0,056 mol) akryloylchloridu a v míchání při teplotě místnosti se pokračuje přes noc. Poté se směs smísí s 15 ml vody, vodná směs se odpaří, zředí vodou (200 ml) a extrahuje ethylacetátem (3 x 200 ml). Spojené extrakty se vysuší síranem hořečnatým a odpaří. Pevný zbytek se přečistí mžíkovou chromatografií na 1 kg silikagelu za použití směsi ethylacetátu a hexanu v poměru 3 : 7, jako elučního činidla. Získaná bílá pevná látka se trituruje s etherem, čímž se získá 7,4 g sloučeniny uvedené v nadpisu o teplotě tání 179 až 182 °C.

## Preparativní postup 27

10

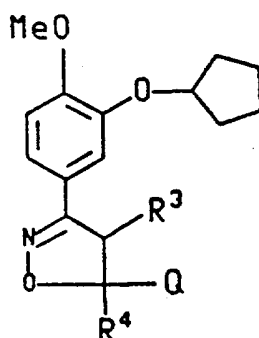
[3aS-(3α, 6α, 7αβ)]-Hexahydro-8,8-dimethyl-1-(1-oxo-2-propenyl)-3H-3a,6-methano-2,1-benzisothiazol-2,2-dioxid

Sloučenina uvedená v nadpisu se vyrobí postupem popsáným v příkladu 26, ale za použití (-)-D-2,10-kafrsultamu dostupného od Fluka, jako výchozí látky.

15

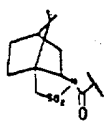
## Preparativní postup 28 až 31

Sloučeniny dále uvedeného obecného vzorce se připraví v podstatě způsobem popsáným v preparativním postupu 8, ale za použití sloučeniny z preparativního postupu 2 namísto sloučeniny z preparativního postupu 1 a uvedeného olefinu namísto ethylakrylátu.



| Prep. př.       | R <sup>3</sup> | R <sup>4</sup> | Q | Olefin   | t. t. (°C) | $[\alpha]_D^{25}$<br>CHCl <sub>3</sub> | Data   |
|-----------------|----------------|----------------|---|----------|------------|--|--|
| 28 <sup>a</sup> | H              | H              |   | Prep. 26 | pěna       | +187 <sup>a</sup>                      | <sup>1</sup> H-NMR(CDCl <sub>3</sub> ): δ 0,97 (3H, s), 1,19 (3H, s), 1,28-2,22 (15H, m), 3,41-3,95 (5H, m), 3,85 (3H, s), 4,74-4,82 (1H, m), 5,63 (1H, dd, J=8, 10), 6,80 (1H, d, J=8), 7,02 (1H, dd, J=2, 8), 7,33 (1H, d, J=2). |

25

| Prep. pr.       | R <sup>3</sup> | R <sup>4</sup> | Q   | Olefin  | t.t.(°C) | $[\alpha]_D^{25}$<br>CHCl <sub>3</sub> | Data   |
|-----------------|----------------|----------------|---|---|----------|--|--|
| 29 <sup>a</sup> | H              | H              |  | Prep. 27  | pěna     | +46°                                   | <sup>1</sup> H-NMR(CDCl <sub>3</sub> ): δ 0,94 (3H, s), 1,17 (3H, s), 1,25-2,21 (15H, m), 3,39-3,93 (5H, m), 3,83 (3H, s), 4,73-4,81 (1H, m), 5,61 (1H, dd, J=8, 10), 6,79 (1H, d, J=8), 7,01 (1H, dd, J=2, 8), 7,32 (1H, d, J=2). |
| 30              | H              | H              | (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OH  | CH <sub>2</sub> =CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OH | 89-91    | racemická                              | An. vypoč. pro: C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> NO <sub>2</sub> : C, 66,86; H, 7,59; N, 4,59. Nalez.: C, 66,71; H, 7,77; N, 4,64.  |
| 31 <sup>b</sup> | H              | Me             | CO <sub>2</sub> Me  | ethyl-krotonát  | olej.    | racemická                              | <sup>1</sup> H-NMR(CDCl <sub>3</sub> ): 1,40-2,05 (8H, m), 1,43 (3H, d, J=7), 3,69 (3H, s), 3,84 (3H, s), 4,01 (1H, d, J=7), 4,74-4,82 (1H, m), 4,95-5,06 (1H, m), 6,79 (1H, d, J=8), 7,05 (1H, dd, J=2, 8), 7,31 (1H, d, J=2).    |

<sup>a</sup>méně polární diastereomer (R<sub>f</sub> 0,61; 1:1 ether-toluen); <sup>b</sup>trans stereochemie

### Preparativní postup 32

#### 3-(3-Cyklopentyloxy-4-methoxy)fenyl-2-isoxazolin-5-octová kyselina

5

K roztoku 1,85 g (6,06 mmol) sloučeniny z preparativního postupu 30 v 50 ml acetonu ochlazenému v ledové lázni na asi 0 °C se přikape 9,70 ml (12,1 mmol) 1,25M roztoku Jonesova reakčního činidla. Ledová lázeň se nechá roztát. Po asi 4 hodinách míchání se přidá dalších 2,00 ml Jonesova reakčního činidla a v míchání se pokračuje přes noc. Přebytek reakčního činidla se rozloží přidávkem 10 ml isopropylalkoholu a vyloučená pevná látka se odfiltruje. Filtrát se zkoncentruje a zbytek se vyjme do 150 ml ethylacetátu. Ethylacetátová směs se promyje vodou (2 x 100 ml), vysuší síranem hořečnatým a odpaří. Žlutý olejovitý zbytek se překrystaluje ze směsi etheru a hexanu, čímž se získá 1,06 g sloučeniny uvedené v nadpisu o teplotě tání 123 až 126 °C.

15

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 1,55 - 2,06 (8H, m), 2,66 - 3,59 (4H, m), 3,87 (3H, s), 4,78 - 4,87 (1H, m), 5,02 - 5,15 (1H, m), 6,84 (1H, d, J = 8), 7,02 (1H, dd, J = 2,8), 7,37 (1H, d, J = 2).

### 20 Preparativní postup 33

#### Methylester 3-(3-cyklopentyloxy-4-methoxy)fenyl-2-isoxazolin-5-octové kyseliny

25

Roztok 530 mg sloučeniny z preparativního postupu 32 v 5 ml methanolu se nasatí plynným chlorovodíkem. Vzniklá směs se 3 hodiny míchá při teplotě místnosti, přičemž se pro její ochranu před atmosférickou vlhkostí použije rourka s chloridem vápenatým. Reakční směs se zkoncentruje a zbytek se vyjme do 50 ml ethylacetátu. Ethylacetátová směs se promyje nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (2 x 50 ml), vysuší síranem hořečnatým a odpaří na 530 mg oleje. Olejovitý zbytek se přečistí mžikovou chromatografií na 25 g silikagelu za použití směsi ethylacetátu a hexanu v poměru 2 : 3, jako elučního činidla.

30

Získaný olej se překrystaluje ze směsi hexanu a etheru, čímž se vyrobí 323 mg sloučeniny uvedené v nadpisu ve formě bílé pevné látky o teplotě tání 78 až 80 °C.

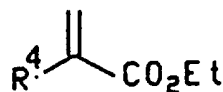
Analýza pro  $C_{18}H_{23}NO_3$ :

5 vypočteno: C 64,85, H 6,95, N 4,20  
nalezeno: C 64,49, H 7,08, N 4,13.

Preparativní postupy 34 až 36

10

Následující sloučeniny dále uvedeného obecného vzorce se vyrobí ve formě olejů v podstatě způsobem popsaným v preparativním postupu 7 za použití uvedeného esteru namísto triethylfosfonobutyrátu.



| Prep. př. | R <sup>4</sup> | Ester                       | <sup>1</sup> H-NMR(CDCl <sub>3</sub> ):δ   |
|-----------|----------------|-----------------------------|--|
| 34        | Pr             | triethylfosfono-pentanoát   | 0,90 (3H, t, J=7),<br>1,28 (3H, t, J=7),<br>1,40-1.53 (2H, m),<br>2,25 (2H, dt, J=1<br>a 7), 4,17 (2H, q,<br>J=7), 5,48 (1H, q,<br>J=1), 6,11 (1H, t,<br>J=11) |
| 35        | Bu             | triethylfosfono-hexanoát    | 0,90 (3H, t, J=7),<br>1,29 (3H, t, J=7),<br>1,26-1.48 (4H, m),<br>2,28 (2H, t, J=7),<br>4,19 (2H, q, J=7),<br>5,49 (1H, q, J=1),<br>6,11 (1H, t, J=1)          |
| 36        | Ph             | triethylfosfono-fenylacetát | 1,32 (3H, t, J=7),<br>4,28 (2H, q, J=7),<br>5,88 (1H, d, J=1),<br>6,34 (1H, d, J=1),<br>7,20-7,45 (5H, m)  |

15

Preparativní postupy 37 a 38

Méně polární diastereomer N-[(S)-α-methylbenzyl]-3-(3-cyklo-pentyloxy-4-methoxy)fenyl-5-methyl-2-isoxazolin-5-karboxamidu (preparativní postup 37)

20

Polárnější diastereomer N-[(S)-α-methylbenzyl]-3-(3-cyklo-pentyloxy-4-methoxy)fenyl-5-methyl-2-isoxazolin-5-karboxamidu (preparativní postup 38)



- 5 Roztok 5,00 g (14 mmol) sloučeniny z preparativního postupu 12 ve 100 ml absolutního ethanolu se smísí s 2,36 g (42 mmol) hydroxidu draselného. Vzniklá směs se míchá asi 4 hodiny při teplotě místnosti, přidá se k ní další ekvivalent hydroxidu draselného a v míchání se pokračuje asi 3 dny. Poté se směs zkoncentruje a zředí vodou. Vodná směs se okyselí 1N vodným roztokem kyseliny chlorovodíkové a extrahuje ethylacetátem (2 x 100 ml). Spojené extrakty se vysuší síranem hořečnatým a odpaří. Zbytek se trituruje se směsí hexanu a etherů. Získá se 3,46 g 3-[3-cyklopentyloxy-4-methoxy]fenyl-5-methyl-2-isoxazolin-5-karboxylové kyseliny o teplotě tání 153 až 154 °C.
- 10 Směs 3,00 g (94 mmol) výše uvedené sloučeniny, 100 ml benzenu a 2,46 ml (28,2 mmol) oxalylchloridu se 3 hodiny zahřívá ke zpětnému toku. Směs se zkoncentruje a zbytek se zředí 100 ml dichlormethanu. Dichlormethanová směs se smísí s 2,42 ml (18,8 mmol) S-(–)-α-methylbenzylaminu. Výsledná směs se míchá asi 16 hodin při teplotě místnosti a zkoncentruje. Zbytek se zředí 200 ml ethylacetátu, zředěná směs se promyje 1N vodnou kyselinou chlorovodíkovou (2 x 100 ml), nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (2 x 100 ml), vysuší síranem sodným a odpaří. Pevný zbytek (5,76 g) se přečistí mžikovou chromatografií na 600 g silikagelu za použití 15 až 20% etheru v toluenu, jako elučního činidla. Po 500 ml přední frakce se sbírají 35 ml frakce.
- 20 Frakce 59 až 68 se spojí a odpaří. Získá se 630 mg titulní sloučeniny z preparativního postupu 37 o teplotě tání 154 až 156 °C a  $R_f$  0,20, 20% ether v toluenu.

Analýza pro  $C_{25}H_{30}N_2O_4$ :  
 vypočteno: C 71,06, H 7,16, N 6,63  
 25 nalezeno: C 71,13, H 7,42, N 6,76

- 30 Frakce 82 až 144 se spojí a zkoncentrují na 720 mg bílé pevné látky, která se trituruje se směsí hexanu a etheru. Získá se 596 mg bílé pevné látky o teplotě tání 165 až 167 °C, která se překrystaluje ze směsí etheru a dichlormethanu, čímž se vyrobí 435 mg titulní sloučeniny z preparativního postupu 38 o teplotě tání 167 až 168 °C. Další 1,03 g titulní sloučeniny z preparativního postupu 38 o teplotě tání 166 až 167 °C se získá tak, že se spojené matečně louhy a frakce 69 až 81 odpaří a zbytek se překrystaluje ze směsí etheru a dichlormethanu.

35 Analýza pro  $C_{25}H_{30}N_2O_4$ :  
 vypočteno: C 71,06, H 7,16, N 6,63  
 nalezeno: C 70,89, H 7,40, N 6,77.

#### 40 Preparativní postup 39

Methylester (+)-3-(3-Cyklopentyloxy-4-methoxy)fenyl-5-methyl-2-isoxazolin-5-karboxylové kyseliny

- 45 Do plamenem vysušené tříhrdlé baňky s kulatým dnem se pod atmosférou dusíku umístí suspenze 549 mg (3,56 mmol) 26% kaliumhydridu v minerálním oleji. Po dvojnásobném postupném promytí hexanem, čímž se odstraní minerální olej, se očištěný hydrid suspenduje ve 35 ml tetrahydrofuranu. K suspenzi se přikape roztok 750 mg (1,78 mmol) sloučeniny z preparativního postupu 37 ve 35 ml suchého tetrahydrofuranu. Po odeznění šumivé reakce se ke směsi přidá 161  $\mu$ l (2,67 mmol) sirouhliku. Výsledná směs se asi 16 hodin míchá při teplotě místnosti a poté rozloží přidávkem 6 ml vody. Tetrahydrofuran se odpaří a zbytek se zředí nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného. Zředěná směs se promyje ethylacetátem (2 x 100 ml). Vodná vrstva se okyselí 6N vodnou kyselinou chlorovodíkovou na

pH 3 a extrahuje ethylacetátem (2 x 100 ml), vysuší síranem hořečnatým a odpaří na 217 mg oranžového oleje.

5 Roztok výše uvedeného oleje ve 20 ml methanolu se nasýtí plynným chlorovodíkem a míchá asi 16 hodin při teplotě místnosti. Získaná směs se zkoncentruje, zředí 50 ml ethylacetátu, vysuší síranem hořečnatým a odpaří. Žlutý pevný zbytek se přečistí mžikovou chromatografií na 12 g silikagelu za použití 60% ethylacetátu v hexanu, jako elučního činidla. Získá se 131 mg sloučeniny uvedené v nadpisu, která má po trituraci se směsí hexanu a etheru teplotu tání 127 až 128 °C.

10

$[\alpha]_D^{25} = +100^\circ$  (c = 0,64, trichlormethan)

Analýza pro  $C_{18}H_{23}NO_5 \cdot 0,25 H_2O$

vypočteno: C 63,99, H 7,01, N 4,15

15

nalezeno: C 64,03, H 6,96, N 4,15

Preparativní postup 40

20

(-)-3-(3-Cyklopentyl-4-methoxy)fenyl-5-methyl-2-isoxazolin-5-karboxamid

Sloučenina uvedená v nadpisu o teplotě tání 124 až 125 °C se získá v podstatě způsobem popsaným v preparativním postupu 39 za použití sloučeniny z preparativního postupu 38 namísto sloučeniny z preparativního postupu 37.

25

$[\alpha]_D^{25} = -101^\circ$  (c = 0,64, trichlormethan)

Analýza pro  $C_{18}H_{23}NO_5 \cdot 0,25 H_2O$

vypočteno: C 63,99, H 7,01, N 4,15

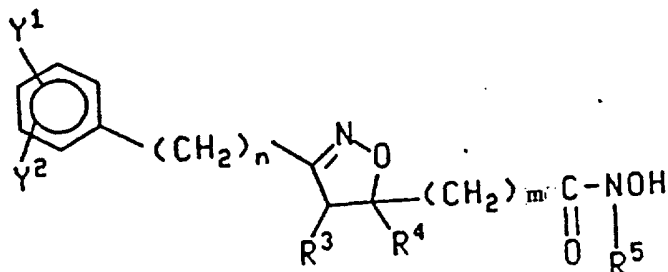
30

nalezeno: C 64,04, H 7,00, N 4,17

35

## PATENTOVÉ NÁROKY

1. 3-Aryl-2-isoxazolin-5-hydroxamové kyseliny obecného vzorce I



40

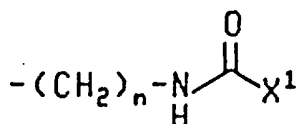
kde

m představuje číslo 0, 1, 2 nebo 3;

n představuje číslo 0, 1, 2 nebo 3;

(I).

- 5  $Y^1$  a  $Y^2$  představuje nezávisle vždy atom vodíku, alkylskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku, fenyalkylskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylové části, jejíž fenylová část je popřípadě substituována, fenoxylalkylskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylové části, jejíž fenylová část je popřípadě substituována, cykloalkylskupinu se 3 až 7 atomy uhlíku, difluormethylskupinu, trifluormethylskupinu, fluor, chlor, brom, jod nebo skupinu obecného vzorce  $-OR^1$  nebo  $-OR^2$ , kde případný substituent fenylové části fenyalkylskupiny a/nebo fenoxylalkylskupiny je zvolen ze souboru zahrnujícího alkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, alkoxy skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, halogen a trifluormethylskupinu;
- 10  $R^1$  představuje alkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, fenyalkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, fluormethylskupinu, difluormethylskupinu, trifluormethylskupinu nebo skupinu vzorce  $-(CH_2)_q$ -chinolin, kde q představuje číslo 1, 2 nebo 3;
- 15  $R^2$  představuje alkylskupinu s 1 až 3 atomy uhlíku, cykloalkylskupinu se 3 až 7 atomy uhlíku, alkoxyalkylskupinu se 3 až 7 atomy uhlíku v alkoxylové části a 2 až 4 atomy uhlíku v alkylové části, fenoxylalkylskupinu se 2 až 6 atomy uhlíku v alkylové části jejíž fenylová část je popřípadě substituována, fenyalkylskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylové části jejíž fenylová část je popřípadě substituována, bicykloalkylskupinu se 6 až 9 atomy uhlíku nebo popřípadě substituovanou indanylskupinu; kde případný substituent fenylové části fenyalkylskupiny a/nebo fenoxylalkylskupiny a/nebo indanylskupiny je zvolen ze souboru zahrnujícího alkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, alkoxy skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, halogen a trifluormethylskupinu;
- 20  $R^3$  představuje atom vodíku, alkylskupinu s 1 až 3 atomy uhlíku, fluoralkylskupinu s 1 až 3 atomy uhlíku a 1 až 3 atomy fluoru, monohydroxyalkylskupinu s 1 až 3 atomy uhlíku nebo alkoxyalkylskupinu s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylové a 1 až 3 atomy uhlíku v alkoxylové části;
- 25  $R^4$  představuje atom vodíku, alkylskupinu s 1 až 5 atomy uhlíku, fluoralkylskupinu s 1 až 5 atomy uhlíku a 1 až 3 atomy fluoru, monohydroxyalkylskupinu s 1 až 3 atomy uhlíku, fenylskupinu, alkoxyalkylskupinu s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylové a 1 až 3 atomy uhlíku v alkoxylové části, aminoalkylskupinu s 1 až 3 atomy uhlíku, skupinu vzorce
- 30



- 35 kde  $X^1$  představuje alkylskupinu s 1 až 3 atomy uhlíku a n je celé číslo 1 až 3, N-alkylaminoalkylskupinu s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylaminové a 1 až 3 atomy uhlíku v alkylové části, cykloalkylskupinu se 3 až 7 atomy uhlíku nebo N,N-dialkylaminoalkylskupinu s celkem 2 až 6 atomy uhlíku v dialkylaminové části a 1 až 3 atomy uhlíku v alkylové části;

- 40  $R^5$  představuje atom vodíku nebo alkylskupinu s 1 až 3 atomy uhlíku; nebo

- $R^3$  a  $R^4$  dohromady s atomy uhlíku, k nimž jsou vázány, tvoří karbocyklický kruh se 4 až 7 atomy uhlíku;

- 45 a racemické, racemicko-diastereomerické směsi a optické isomery sloučenin obecného vzorce I a jejich farmaceuticky vhodné soli.

2. 3-Aryl-2-isoxazolin-5-hydroxamové kyseliny podle nároku 1 obecného vzorce I, kde  $Y^1$  představuje skupinu vzorce  $-OR^1$  a je vázán v poloze 4 fenylového kruhu;  $Y^2$  představuje skupinu vzorce  $-OR^2$  a je vázán v poloze 3 fenylového kruhu a jejich farmaceuticky vhodné soli.
- 5 3. 3-Aryl-2-isoxazolin-5-hydroxamové kyseliny podle nároku 2 obecného vzorce I, kde  $R^1$  představuje alkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, fenyalkylskupinu s 1 až 4 atomy uhlíku v alkylové části nebo skupinu vzorce  $-(CH_2)_n$ -chinolin, m je číslo 0 a n je číslo 0, jakož i jejich farmaceuticky vhodné soli.
- 10 4. 3-Aryl-2-isoxazolin-5-hydroxamové kyseliny podle nároku 3 obecného vzorce I, kde  $R^2$  představuje fenyalkylskupinu s 1 až 6 atomy uhlíku v alkylové části, cykloalkylskupinu se 3 až 7 atomy uhlíku nebo alkylskupinu s 1 až 3 atomy uhlíku, jakož i jejich farmaceuticky vhodné soli.
- 15 5. 3-Aryl-2-isoxazolin-5-hydroxamové kyseliny podle nároku 4 obecného vzorce I, kde  $R^2$  představuje 5-fenylpentylskupinu, benzylskupinu, cyklopentylskupinu nebo methylskupinu, jakož i jejich farmaceuticky vhodné soli.
- 20 6. 3-Aryl-2-isoxazolin-5-hydroxamové kyseliny podle některého z nároků 1 až 5 obecného vzorce I kde obecné symboly mají význam uvedený v příslušném nároku 1 až 5 s vyloučením sloučenin, v nichž  $R^3$  a  $R^4$  dohromady s atomy uhlíku, k nimž jsou vázány, tvoří karboxyklický kruh se 4 až 7 atomy uhlíku, jakož i jejich farmaceuticky vhodné soli.
- 25 7. 3-Aryl-2-isoxazolin-5-hydroxamové kyseliny podle nároku 5 obecného vzorce I, kde  $R^3$  představuje atom vodíku, jakož i jejich farmaceuticky vhodné soli.
- 30 8. 3-Aryl-2-isoxazolin-5-hydroxamové kyseliny podle nároku 7 obecného vzorce I, kde  $R^4$  představuje atom vodíku nebo alkylskupinu s 1 až 5 atomy uhlíku, jakož i jejich farmaceuticky vhodné soli.
- 35 9. 3-Aryl-2-isoxazolin-5-hydroxamové kyseliny podle nároku 8 obecného vzorce I, kde  $R^5$  představuje atom vodíku nebo alkylskupinu s 1 až 3 atomy uhlíku, jakož i jejich farmaceuticky vhodné soli.
- 40 10. 3-Aryl-2-isoxazolin-5-hydroxamové kyselina podle nároku 9 obecného vzorce I, kde  $R^1$  představuje methylskupinu,  $R^2$  představuje cyklopentylskupinu,  $R^4$  představuje atom vodíku a  $R^5$  představuje atom vodíku, jakož i její farmaceuticky vhodné soli.
- 45 11. 3-Aryl-2-isoxazolin-5-hydroxamová kyselina podle nároku 10 ve formě levotočivého enantiomeru, tj. enantiomeru s negativní rotací, jakož i její farmaceuticky vhodné soli.
- 50 12. 3-Aryl-2-isoxazolin-5-hydroxamová kyselina podle nároku 9 obecného vzorce I, kde  $R^1$  představuje methylskupinu,  $R^2$  představuje cyklopentylskupinu,  $R^4$  představuje methylskupinu a  $R^5$  představuje atom vodíku, jakož i její farmaceuticky vhodné soli.
13. 3-Aryl-2-isoxazolin-5-hydroxamová kyselina podle nároku 12 ve formě levotočivého enantiomeru, tj. enantiomeru s negativní rotací, jakož i její farmaceuticky vhodné soli.
14. Farmaceutický prostředek pro léčení inflamatorních chorob, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že obsahuje účinné množství 3-aryl-2-isoxazolin-5-hydroxamové kyseliny podle nároku 1 nebo její farmaceuticky vhodné soli a farmaceuticky vhodné ředidlo nebo nosič.

15. Farmaceutický prostředek pro léčení inflamatorních chorob, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že obsahuje účinné množství 3-aryl-2-isoxazolin-5-hydroxamové kyseliny podle nároku 6 nebo její farmaceuticky vhodné soli a farmaceuticky vhodné ředidlo nebo nosič.
- 5 16. 3-Aryl-2-isoxazolin-5-hydroxamové kyseliny podle nároku 1 a jejich farmaceuticky vhodné soli jako léčiva pro inhibici fosfodiesterázy typu IV u savců.
17. 3-Aryl-2-isoxazolin-5-hydroxamové kyseliny podle nároku 6 a jejich farmaceuticky vhodné soli jako léčiva pro inhibici fosfodiesterázy typu IV u savců.
- 10 18. 3-Aryl-2-isoxazolin-5-hydroxamové kyseliny podle nároku 1 a jejich farmaceuticky vhodné soli jako léčiva pro léčení inflamatorních chorob.
- 15 19. 3-Aryl-2-isoxazolin-5-hydroxamové kyseliny podle nároku 6 a jejich farmaceuticky vhodné soli jako léčiva pro léčení inflamatorních chorob.
- 20 20. 3-Aryl-2-isoxazolin-5-hydroxamové kyseliny podle nároku 1 a jejich farmaceuticky vhodné soli jako léčiva pro léčení AIDS, astma, artritida, bronchitida, chronické obstruktivní choroby plic, psoriasis, alergické rhinitida, dermatitida nebo šoku u savců.
- 25 21. 3-Aryl-2-isoxazolin-5-hydroxamové kyseliny podle nároku 6 a jejich farmaceuticky vhodné soli jako léčiva pro léčení AIDS, astma, artritida, bronchitida, chronické obstruktivní choroby plic, psoriasis, alergické rhinitida, dermatitida nebo šoku u savců.

---

Konec dokumentu

---

30