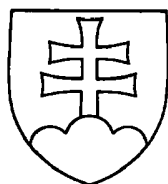


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19)

SK



ÚRAD  
PRIEMYSELNÉHO  
VLASTNÍCTVA  
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA  
VYNÁLEZU

- (22) Dátum podania: 14.10.1998  
(31) Číslo prioritnej prihlášky: 08/950 818, 09/161 653  
(32) Dátum priority: 15.10.1997, 28.09.1998  
(33) Krajina priority: US, US  
(40) Dátum zverejnenia: 07.11.2000  
(86) Číslo PCT: PCT/US98/21609, 14.10.1998

(21) Číslo dokumentu:

537-2000

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int. Cl.<sup>7</sup>:

C 07C 217/48  
C 07D 295/08  
A 61K 31/445

(71) Prihlasovateľ: AMERICAN HOME PRODUCTS CORPORATION, Madison, NJ, US;

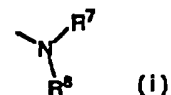
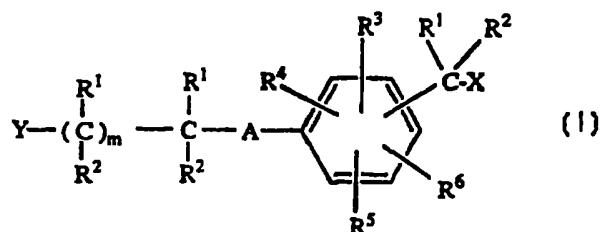
(72) Pôvodca vynálezu: Raveendranath Panolil, Monroe, NY, US;  
Zeldis Joseph, New City, NY, US;  
Vid Galina, Nanuet, NY, US;  
Potoski John Richard, West Nyack, NY, US;  
Ren Jianxin, Tenafly, NJ, US;

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

(54) Názov prihlášky vynálezu: Aryloxyalkyldialkylamínové zlúčeniny, spôsob ich výroby a farmaceutický prostriedok s ich obsahom

(57) Anotácia:

Zlúčenina všeobecného vzorca (I), kde R<sup>1</sup> a R<sup>2</sup> sú nezávisle vybrané z H, C<sub>1-12</sub>alkylu, výhodne z C<sub>1-6</sub>alkylu, alebo C<sub>1-6</sub>perfluorovaného alkylu; X je odštiepateľná skupina; A je vybrané z -O- alebo -S-, -SO- alebo -SO<sub>2</sub>-; m je celé číslo 0 až 3; R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> a R<sup>6</sup> sú nezávisle vybrané z H, atómu halogénu, -NO<sub>2</sub>, alkylu (výhodne C<sub>1-12</sub>alkylu, výhodnejšie C<sub>1-6</sub>alkylu), alkoxylu (výhodne C<sub>1-12</sub>alkoxylu, výhodnejšie C<sub>1-6</sub>alkoxylu), C<sub>1-6</sub>perfluorovaného alkylu (výhodne -CF<sub>3</sub>), OH alebo ich C<sub>4-6</sub>esterov alebo alkyléterov, -CN, -O-R<sup>1</sup>, -O-Ar, -S-R<sup>1</sup>, -S-Ar, -SO-R<sup>1</sup>, -SO-Ar, -SO<sub>2</sub>-R<sup>1</sup>, -SO<sub>2</sub>-Ar, -CO-R<sup>1</sup>, -CO-Ar, -CO<sub>2</sub>-R<sup>1</sup> alebo -CO<sub>2</sub>-Ar; Y je vybrané z a) skupiny vzorca (i), kde R<sup>7</sup> a R<sup>8</sup> sú nezávisle vybrané zo skupiny H, C<sub>1-6</sub>alkyl alebo fenyly, b) voliteľne substituovaného päťčlenného, šesťčlenného alebo sedemčlenného nasýteného, nenasýteného alebo čiastočne nenasýteného heterocyklu obsahujúceho až dva heteroatómy vybrané zo skupiny obsahujúcej -O-, NH-, -N(C<sub>1-4</sub>alkyl)-, -N= a -S(O)<sub>n</sub>. Opisuje sa spôsob výroby uvedenej zlúčeniny, ako i farmaceutický prostriedok s jej obsahom.



Aryloxyalkyldialkylamínové zlúčeniny, spôsob ich výroby a farmaceutický prostriedok s ich obsahom

### Oblasť techniky

Tento vynález sa týka nových zlúčenín užitočných pri výrobe biologicky účinných zlúčenín ako aj spôsobu ich prípravy. Vynález poskytuje nové aryloxyalkyldialkylamíny, ktoré môžu byť použité pri výrobe farmaceutických prostriedkov.

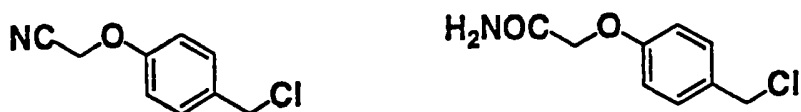
### Doterajší stav techniky

Matricové metaloproteinázy (MMPs) sú skupinou enzýmov, ktoré sa zúčastňujú na patologickom rozklade spojivových tkanív a bazálnych membrán. [Woessner, J. F., ml. FASEB J. 1991, 5, 2145; Birkedal-Hansen, H.; Moore, W. G. I.; Bodden. M. K.; Winsor, L. J.; Birkedal-Hansen, B.; DeCarlo, A.; Engler, J. A. Crit. Rev. Oral Biol. Med. 1993, 4, 197; Cawston, T. E. Pharmacol. Ther. 1996, 70, 163; Powell, W. C.; Matrisian, L. M. Cur. Top. Microbiol. and Immunol. 1996, 213, 1]. Tieto endopeptidázy obsahujúce zinok, pozostávajú z niekoľkých podskupín enzýmov zahrnujúcich kolagenázy, stromelyzíny a gelatinázy. Zistilo sa, že z týchto tried sú želatinázy MMPs najtesnejšie spojené s rastom a šírením tumorov, kým kolagenázy sú spojené s patogenézou osteoartritídy [Howell, D. S.; Pelletier, J. P. In Arthritis and Allied Conditions; McCarthy, D. J.; Koopman, W. J.; Eds.; Lea and Febiger: Philadelphia, 1993; 12<sup>th</sup> Edition zv. 2, str. 1723; Dean, D. D. Sem. Arthritis Rheum., 1991, 20, 2; Crawford, H. C; Matrisian, L. M. Invasion Metast. 1994-95, 14, 234; Ray, J. M.; Stetler-Stevenson, W. G. Exp. Opin. Invest. Drugs. 1996, 5, 323].

Na prevenciu úbytku kostnej hmoty po menopauze u žien má prioritu použitie hormonálnej terapie. Na doplnkové použitie obvyklý zoznam uvádza prostriedky obsahujúce estrón, estriol, etinylestradiol alebo konjugované estrogény izolované z prírodných zdrojov (napríklad Premarin<sup>R</sup> konjugované estrogény od Wyeth-Ayerst). U niektorých pacientov môže byť táto terapia kontraindikovaná kvôli proliferatívnym účinkom, ktoré majú nekontrastné estrogény (estrogény, ktoré nie sú

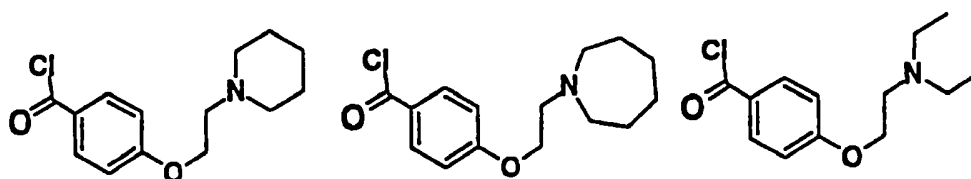
kombinované s progestínmi) na maternicové tkanivo. Proliferácia je spojená so zvyšujúcim sa rizikom endometrióznej alebo endometriálnej rakoviny. Účinky nekонтрастных estrogénov na prsníkové tkanivo sú menej zreteľné, ale tiež znepokojujú. Je potrebné nájsť estrogény, ktoré môžu inhibovať rednutie kostí s minimálnym proliferačným účinkom v maternici a prsníkoch. Ukázalo sa, že určité nesteroidné antiestrogény zachovávajú kostnú hmotu v ovarioktomizovanom potkaňom modeli ako aj pri ľudských klinických testoch. Tamoxifen (predávaný ako Novadex® obchodná značka tamoxiféncitrát od Zeneca Pharmaceuticals, Wilmington, Delaware) je napríklad užitočné paliatívum pri liečení rakoviny prsníka a bolo dokázané, že má estrogénový agonistický účinok na kosti u človeka. Je taktiež čiastočný agonista v maternici a toto je príčinou niektorých rakovín. Ukázalo sa, že raloxifén, benzotiofénový antiestrogén, stimuluje rast maternice v ovarioktomizovanom potkanovi do menšej miery ako tamoxifén, ale zachováva schopnosť rastu kostnej hmoty. Preskúmanie tkanivových selektívnych estrogénov je opísané v článku "Tissue-Selective Actions Of Estrogen Analogs", Bone zv. 17, č. 4, október 1995, 181S-190S.

Tento vynález poskytuje nové medziprodukty, ktoré môžu byť použité pri výrobe farmaceutických zlúčenín, ktoré sú užitočné ako anti-estrogénové látky a ktoré sú užitočné na inhibíciu MMP. Použitie 4-karbamoylmetoxymetoxybenzylchloridových zlúčenín vzorca

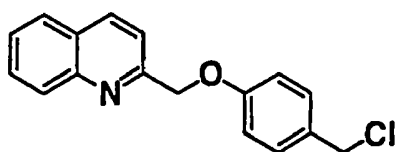


je opísané v NL 6402393, 1964 a Chem. Abstr. 1965, 62, 7698.

Použitie 4-(2-dialkylaminoetoxy)benzoylchloridových zlúčenín vzorca



je opísané v Sharpe, C. J. a ďalší, J. Med. Chem. 1972, 15, 523 a Jones, C. D. a ďalší J. Med. Chem. 1984, 27, 1057. Podobne, použitie 4-(2-chinolinylmetoxy)-benzylchloridu vzorca

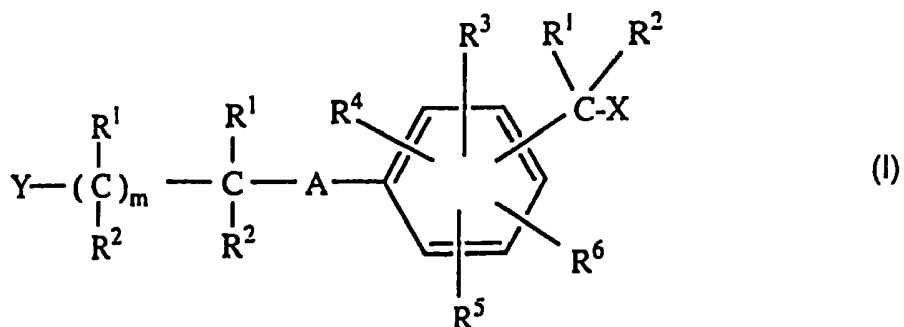


je opísané v Huang, F. C. a ďalší, J. Med. Chem. 1990, 33, 1194.

Tento vynález poskytuje nové zlúčeniny, ako aj spôsoby ich prípravy, ktoré sa môžu použiť na výrobu farmaceuticky účinných zlúčenín. Zlúčeniny podľa vynálezu môžu byť výhodne použité ako medziprodukty pri výrobe farmaceutických zlúčenín, ako sú napríklad zlúčeniny a nízkou molekulovou hmotnosťou, nepeptidové inhibítory matricových metaloproteináz (napríklad gelatinázy, stromelizíny a kolagenázy) a TNF- $\alpha$  konvertujúci enzým (TACE, enzým konvertujúci tumorový nekrotický faktor- $\alpha$ ), ktoré sú užitočné na liečenie chorôb, v ktorých tieto enzýmy sú aplikované ako je napríklad artritída, nádorové metastázy, zvrედovatenie tkaniva, abnormálne liečenie rán, choroby ozubnice, choroby kostí, proteinúria, aneuryzmálna choroba aorty, degeneratívna strata chrupiek nasledujúca traumatické poranenie kĺbov, demyelinizačná choroba nervového systému a HIV infekcie. Ďalej zlúčeniny podľa vynálezu môžu byť použité na výrobu zlúčenín, ktoré sa chovajú podobne ako estrogénové antagonisty na zníženie cholesterolu a na prevenciu kostného úbytku. Preto tieto zlúčeniny sú použité na liečenie mnohých chorôb zahrnujúcich osteoporózu, prostatickú hypertrofiu, neplodnosť, rakovinu prsníka, endometriálnu hyperpláziu a rakovinu, kardiovaskulárne choroby, pri používaní antikoncepcie, Alzheimerovu chorobu a rakovinu kože.

### Podstata vynálezu

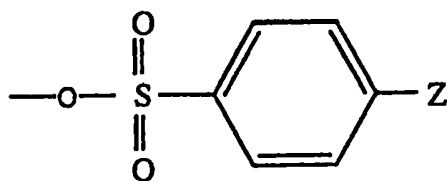
Podstatou vynálezu sú aryloxyalkyldialkylamínové zlúčeniny všeobecného vzorca I



kde

$R^1$  a  $R^2$  sú nezávisle vybrané z H,  $C_1$ - $C_{12}$ alkylu, výhodne z  $C_1$ - $C_6$ alkylu, alebo  $C_1$ - $C_6$ perfluorovaného alkylu, výhodne  $-CF_3$ ;

X je odštiepiteľná skupina, napríklad atóm halogénu,  $-O-SO_2-CH_3$ ,  $-O-SO_2-CF_3$  alebo skupina vzorca



Z je vybrané z  $-NO_2$ , atómu halogénu,  $-CH_3$  alebo  $-CF_3$ ;

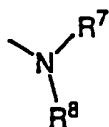
A je vybrané z  $-O-$  alebo  $-S-$ ,  $-SO-$  alebo  $-SO_2-$ ;

m je celé číslo 0 až 3, výhodne 1;

$R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$  a  $R^6$  sú nezávisle vybrané z H, atómu halogénu,  $-NO_2$ , alkylu (východne  $C_1$ - $C_{12}$ alkylu, výhodnejšie  $C_1$ - $C_6$ alkylu), alkoxyly (východne  $C_1$ - $C_{12}$ alkoxyly, výhodnejšie  $C_1$ - $C_6$ alkoxyly),  $C_1$ - $C_6$ perfluorovaného alkylu (východne  $-CF_3$ ), OH alebo ich  $C_4$ - $C_4$ esterov alebo ich alkyléterov,  $-CN$ ,  $-O-R^1$ ,  $-O-Ar$ ,  $-S-R^1$ ,  $-S-Ar$ ,  $-SO-R^1$ ,  $-SO-Ar$ ,  $-SO_2-R^1$ ,  $-SO_2-Ar$ ,  $-CO-R^1$ ,  $-CO-Ar$ ,  $-CO_2-R^1$  alebo  $-CO_2-Ar$ ;

Y je vybrané zo skupiny zahrnujúcej:

a) skupinu



(i)

kde  $R^7$  a  $R^8$  sú nezávisle vybrané zo skupiny: H,  $C_1$ - $C_6$ alkyl alebo fenyl,

b) päťčlenný nasýtený, nenasýtený alebo čiastočne nenasýtený heterocyklus obsahujúci až dva heteroatómy vybrané zo skupiny obsahujúcej -O-, -NH-, -N(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl)-, -N= a -S(O)<sub>n</sub>, kde n je celé číslo 0 až 2, voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami nezávisle vybranými zo skupiny obsahujúcej vodík, hydroxyl, atóm halogénu, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl, trihalogénmetyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkoxy, trihalogénmetoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>acyloxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyltio, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfinyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfonyl, hydroxy(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, fenyl voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami vybranými zo skupiny: (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, -CO<sub>2</sub>H, -CN, -CONHR<sup>1</sup>, -NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>dialkylamino, -NHSO<sub>2</sub>R<sup>1</sup>, -NHCOR<sup>1</sup>, -NO<sub>2</sub>;

c) šesťčlenný nasýtený, nenasýtený alebo čiastočne nenasýtený heterocyklus obsahujúci až dva heteroatómy vybrané zo skupiny obsahujúcej -O-, -NH-, -N(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl)-, -N= a -S(O)<sub>n</sub>, kde n je celé číslo 0 až 2, voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami nezávisle vybranými zo skupiny obsahujúcej vodík, hydroxyl, atóm halogénu, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl, trihalogénmetyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkoxy, trihalogénmetoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>acyloxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyltio, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfinyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfonyl, hydroxy(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, fenyl voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami vybranými zo skupiny: (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, -CO<sub>2</sub>H, -CN, -CONHR<sup>1</sup>, -NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>dialkylamino, -NHSO<sub>2</sub>R<sup>1</sup>, -NHCOR<sup>1</sup>, -NO<sub>2</sub>;

d) sedemčlenný nasýtený, nenasýtený alebo čiastočne nenasýtený heterocyklus obsahujúci až dva heteroatómy vybrané zo skupiny obsahujúcej -O-, -NH-, -N(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl)-, -N= a -S(O)<sub>n</sub>, kde n je celé číslo 0 až 2, voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami nezávisle vybranými zo skupiny obsahujúcej vodík, hydroxyl, atóm halogénu, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl, trihalogénmetyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkoxy, trihalogénmetoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>acyloxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyltio, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfinyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfonyl, hydroxy(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, fenyl voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami vybranými zo skupiny: (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, -CO<sub>2</sub>H, -CN, -CONHR<sup>1</sup>, -NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>dialkylamino, -NHSO<sub>2</sub>R<sup>1</sup>, -NHCOR<sup>1</sup>, -NO<sub>2</sub>; alebo

e) bicycklický heterocyklus obsahujúci 6 až 12 uhlíkových atómov buď premostený alebo fúzovaný a obsahujúci až dva heteroatómy vybrané zo skupiny obsahujúcej -O-, -NH-, -N(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl)-, a -S(O)<sub>n</sub>, kde n je celé číslo 0 až 2, voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami nezávisle vybranými zo skupiny obsahujúcej vodík, hydroxyl, atóm halogénu, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl, trihalogénmetyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkoxy,

trihalogénmetoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>acyloxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyltio, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfinyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfonyl, hydroxy(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, fenyl voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami vybranými zo skupiny: (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, -CO<sub>2</sub>H, -CN, -CONHR<sup>1</sup>, -NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl-amino, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>dialkylamino, -NHSO<sub>2</sub>R<sup>1</sup>, -NHCOR<sup>1</sup>, -NO<sub>2</sub>; a ich farmaceuticky prijateľné soli.

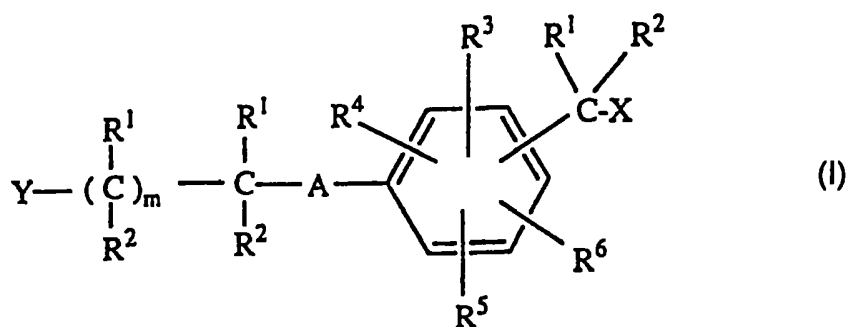
Ako je uvedené vo všeobecnom opise vyššie, R<sup>1</sup> a R<sup>2</sup> sú nezávisle vybrané zo skupiny uvedených substituentov. Akýkoľvek R<sup>1</sup> tu uvedený v akomkoľvek vzorci nemusí znamenať rovnaký substituent ako iné R<sup>1</sup>, ani akýkoľvek R<sup>2</sup> nemusí byť ten istý substituent ako iné R<sup>2</sup>, dokonca ani keď je v jednom vzorci viac ako jeden R<sup>1</sup> alebo R<sup>2</sup>.

V opise vyššie, symbol "Ar" znamená monocyklické alebo polycyklické arylové alebo heteroarylové skupiny, ktoré môžu byť voliteľne substituované jedným alebo viacerými substituentami vybranými z halogénu, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>alkylu alebo -CF<sub>3</sub>. Príklady výhodných arylových skupín zahŕňujú antracenylovú a fenantrenylovú skupinu, ako aj výhodnejšiu fenylovú, kumenylovú, mesitylovú, tolylovú, xylylovú a naftalenylovú skupinu. Príklady výhodných heteroarylových skupín zahŕňujú indolizinylovú, indazolylovú, purinylovú, chinozinylovú, izochinolinylovú, chinolinylovú, ftalozinylovú, naftyridinylovú, chinoxalinylovú, chinazolinylovú, cinnolinylovú a pteridinylovú skupinu a podobne ako aj výhodnejšiu pyridylovú, pyrazinylovú, pyrimidinylovú, pyridizinylovú a indolylovú skupinu.

Vynález zahŕňa aj farmaceuticky prijateľné soli vytvorené adičnou reakciou s buď anorganickou alebo organickou kyselinou. Medzi anorganické kyseliny patrí kyselina chlorovodíková, kyselina bromovodíková, kyselina jodovodíková, kyselina sírová, kyselina fosforová, kyselina dusičná a ako organické kyseliny je použitá kyselina octová, kyselina propiónová, kyselina citrónová, kyselina maleínová, kyselina jablčná, kyselina vínna, kyselina ftálová, kyselina jantárová, kyselina metánsulfónová, kyselina toluénsulfónová, kyselina naftalénsulfónová, kyselina gáforsulfónová, kyselina benzénsulfónová. Je známe, že zlúčeniny obsahujúce bázičský dusík môžu reagovať s mnohými rozličnými kyselinami (protickými i apriotickými) a zvyčajne je výhodné poskytnúť zlúčeninu podľa vynálezu vo forme adičnej soli s kyselinou. Navyše, tento vynález zahŕňa kvartérne amóniové soli uvedených zlúčenín, ktoré môžu byť pripravené reakciou nukleofilných amínov

bočného reťazca s vhodne reaktívnym alkylačným činidlom ako je alkylhalogenid alebo benzyhalogenid.

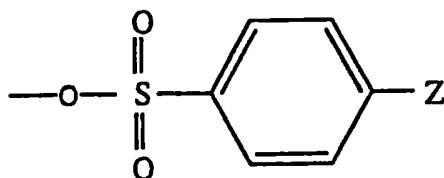
Medzi výhodné zlúčeniny podľa vynálezu patria zlúčeniny všeobecného vzorca I



kde

$R^1$  a  $R^2$  sú nezávisle vybrané z H,  $C_1$ - $C_{12}$ alkylu, výhodne z  $C_1$ - $C_6$ alkylu, alebo  $C_1$ - $C_6$ perfluorovaného alkylu, výhodne  $-CF_3$ ;

X je odštiepiteľná skupina, napríklad atóm halogénu,  $-O-SO_2-CH_3$ ,  $-O-SO_2-CF_3$  alebo skupina vzorca



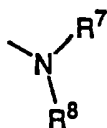
Z je vybrané z  $-NO_2$ , atómu halogénu,  $-CH_3$  alebo  $-CF_3$ ;

A je vybrané z  $-O-$  alebo  $-S-$ ,  $-SO-$  alebo  $-SO_2-$ ;

m je celé číslo 0 až 3, výhodne 1;

Y je vybrané zo skupiny zahrnujúcej:

a) skupinu



kde  $R^7$  a  $R^8$  sú nezávisle vybrané zo skupiny: H,  $C_1$ - $C_6$ alkyl alebo fenyl,

b) skupinu vybranú z tiofénu, furánu, pyrolu, imidazolu, pyrazolu, tiazolu, izotiazolu, izoxazolu alebo oxatiolánu, ktoré sú voliteľne substituované 1 až 3 substituentami nezávisle vybranými zo skupiny obsahujúcej vodík, hydroxyl, atóm halogénu, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl, trihalogénmetyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkoxy, trihalogénmetoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>acyloxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyltio, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfinyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfonyl, hydroxy(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, fenyl voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami vybranými zo skupiny: (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, -CO<sub>2</sub>H, -CN, -CONHR<sup>1</sup>, -NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>dialkylamino, -NHSO<sub>2</sub>R<sup>1</sup>, -NHCOR<sup>1</sup>, -NO<sub>2</sub>;

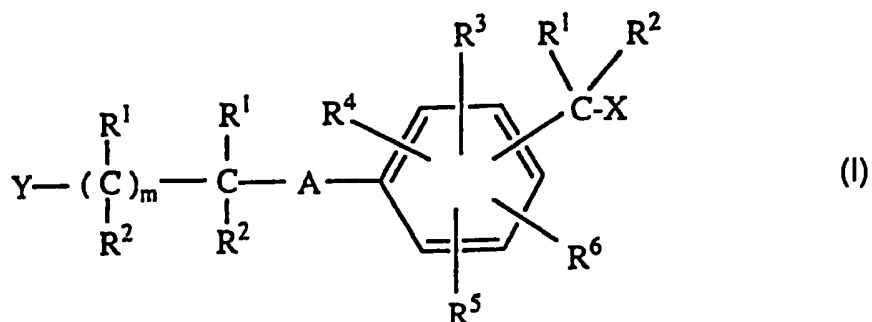
c) skupinu vybranú z pyridínu, pyrazínu, pyrimidínu, pyridazínu, piperidínu, morfolínu a pyránu, ktoré sú voliteľne substituované 1 až 3 substituentami nezávisle vybranými zo skupiny obsahujúcej vodík, hydroxyl, atóm halogénu, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl, trihalogénmetyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkoxy, trihalogénmetoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>acyloxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyltio, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfinyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfonyl, hydroxy(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, fenyl voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami vybranými zo skupiny: (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, -CO<sub>2</sub>H, -CN, -CONHR<sup>1</sup>, -NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>dialkylamino, -NHSO<sub>2</sub>R<sup>1</sup>, -NHCOR<sup>1</sup>, -NO<sub>2</sub>;

d) skupinu vybranú z azepínu, diazepínu, oxazepínu, tiazepínu, oxapínu a tiepínu, ktoré sú voliteľne substituované 1 až 3 substituentami nezávisle vybranými zo skupiny obsahujúcej vodík, hydroxyl, atóm halogénu, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl, trihalogénmetyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkoxy, trihalogénmetoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>acyloxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyltio, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfinyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfonyl, hydroxy(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, fenyl voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami vybranými zo skupiny: (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, -CO<sub>2</sub>H, -CN, -CONHR<sup>1</sup>, -NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>dialkylamino, -NHSO<sub>2</sub>R<sup>1</sup>, -NHCOR<sup>1</sup>, -NO<sub>2</sub>; alebo

e) bicycklý heterocyklus vybraný zo skupiny bezofuránu, izobenzofuránu, benzotiofénu, indolu, izoindolu, indolizínu, indazolu, purínu, chinolizínu, izochinolínu, chinolínu, ftalazínu, naftyridínu, chinoxalínu, chinazolínu a cinnolínu, ktoré sú voliteľne substituované 1 až 3 substituentami nezávisle vybranými zo skupiny obsahujúcej vodík, hydroxyl, atóm halogénu, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl, trihalogénmetyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkoxy, trihalogénmetoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>acyloxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyltio, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfinyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfonyl, hydroxy(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, fenyl voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami vybranými zo skupiny: (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, -CO<sub>2</sub>H, -CN, -CONHR<sup>1</sup>, -NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>dialkylamino, -NHSO<sub>2</sub>R<sup>1</sup>, -NHCOR<sup>1</sup>, -NO<sub>2</sub>;

a ich farmaceuticky prijateľné soli.

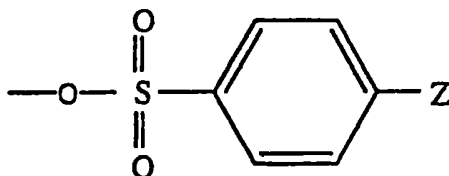
Ďalej medzi ešte výhodnejšie zlúčeniny podľa vynálezu patria tie zlúčeniny všeobecného vzorca I



kde

$R^1$  a  $R^2$  sú nezávisle vybrané z H,  $C_1$ - $C_{12}$ alkylu, výhodne z  $C_1$ - $C_6$ alkylu, alebo  $C_1$ - $C_6$ perfluorovaného alkylu, výhodne  $-CF_3$ ;

X je odštiepiteľná skupina, napríklad atóm halogénu,  $-O-SO_2-CH_3$ ,  $-O-SO_2-CF_3$  alebo skupina vzorca



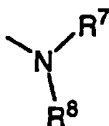
Z je vybrané z  $-NO_2$ , atómu halogénu,  $-CH_3$  alebo  $-CF_3$ ;

A je vybrané z  $-O-$  alebo  $-S-$ ,  $-SO-$  alebo  $-SO_2-$ ;

m je celé číslo 0 až 3, výhodne 1;

Y je vybrané zo zkupiny zahrnujúcej:

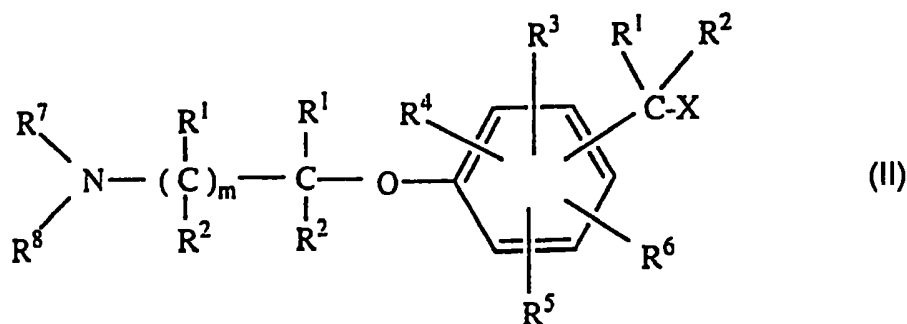
a) skupinu



kde  $R^7$  a  $R^8$  sú nezávisle vybrané zo skupiny: H,  $C_1$ - $C_6$ alkyl alebo fenyľ,

b) skupinu vybranú z tiofénu, furánu, pyrolu, imidazolu, pyrazolu, tiazolu, pyridínu, pyrazínu, pyrimidínu, pyridazínu, piperidínu, indolu alebo benzofuránu, ktoré sú voliteľne substituované 1 až 3 substituentami nezávisle vybranými zo skupiny obsahujúcej vodík, hydroxyl, atóm halogénu, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl, trihalogénmetyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkoxy, trihalogénmetoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>acyloxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyltio, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfinyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkylsulfonyl, hydroxy(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, fenyl voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami vybranými zo skupiny: (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, -CO<sub>2</sub>H, -CN, -CONHR<sup>1</sup>, -NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>dialkylamino, -NHSO<sub>2</sub>R<sup>1</sup>, -NHCOR<sup>1</sup>, -NO<sub>2</sub>; a ich farmaceuticky prijateľné soli.

Medzi najvýhodnejšie zlúčeniny podľa vynálezu patria zlúčeniny všeobecného vzorca II



kde

R<sup>1</sup> a R<sup>2</sup> sú nezávisle vybrané z H, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>alkylu, výhodne z C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>alkylu, alebo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>perfluorovaného alkylu, výhodne -CF<sub>3</sub>;

R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> a R<sup>6</sup> sú nezávisle vybrané z H, OH alebo z ich C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>esterov alebo ich alkyléterov, atómu halogénu, -CN, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>alkylu alebo trifluórmetylu,

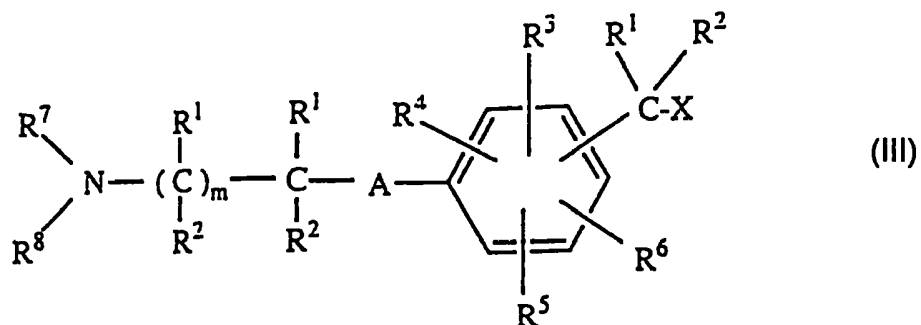
m je celé číslo 0 až 3, výhodne 1;

R<sup>7</sup> a R<sup>8</sup> sú nezávisle vybrané z H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>alkylu alebo sú spojené pomocou (CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>, kde p je celé číslo 2 až 6, aby vytvorili kruh, ktorý je voliteľne substituovaný až troma substituentami vybranými zo skupiny obsahujúcej vodík, hydroxyl, atóm halogénu, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl, trihalogénmetyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkoxy, trihalogénmetoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyltio, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfinyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfonyl, hydroxy(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, -CO<sub>2</sub>H, -CN, -CONH-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), -NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>dialkylamino, -NHSO<sub>2</sub>(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), -NHCO(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) a -NO<sub>2</sub>; a

X je definované vyššie a

a ich farmaceuticky prijateľné soli.

Takisto medzi ešte výhodnejšie zlúčeniny podľa vynálezu patria zlúčeniny všeobecného vzorca III



kde

$R^1$  a  $R^2$  sú nezávisle vybrané z H,  $C_1$ - $C_{12}$ alkylu, výhodne z  $C_1$ - $C_6$ alkylu, alebo  $C_1$ - $C_6$ perfluorovaného alkylu, napríklad je to perfluórovaná alkylová skupina  $-CF_3$ ;

$R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$  a  $R^6$  sú nezávisle vybrané z H, OH alebo z ich  $C_1$ - $C_4$ esterov alebo ich alkyléterov, atómu halogénu,  $-CN$ ,  $C_1$ - $C_6$ alkylu alebo trifluórmetylu,

$m$  je celé číslo 0 až 3, výhodne 1;

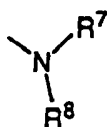
A je vybrané z  $-S-$ ,  $-SO-$  alebo  $-SO_2-$ ;

$R^7$  a  $R^8$  sú nezávisle vybrané z H,  $C_1$ - $C_6$ alkylu alebo sú spojené pomocou  $(CH_2)_p-$ , kde  $p$  je celé číslo 2 až 6, aby vytvorili kruh, ktorý je voliteľne substituovaný až troma substituentami vybranými zo skupiny obsahujúcej vodík, hydroxyl, atóm halogénu,  $C_1$ - $C_4$ alkyl, trihalogénmetyl,  $C_1$ - $C_4$ alkoxy, trihalogénmetoxy,  $C_1$ - $C_4$ alkyltio,  $C_1$ - $C_4$ alkylsulfinyl,  $C_1$ - $C_4$ alkylsulfonyl, hydroxy( $C_1$ - $C_4$ )alkyl,  $-CO_2H$ ,  $-CN$ ,  $-CONH-$  ( $C_1$ - $C_4$ ),  $-NH_2$ ,  $C_1$ - $C_4$ alkylamino,  $C_1$ - $C_4$ dialkylamino,  $-NHSO_2(C_1-C_4)$ ,  $-NHCO(C_1-C_4)$  a  $-NO_2$ ; a

X je definované vyššie a

a ich farmaceuticky prijateľné soli.

Medzi najvýhodnejšie zlúčeniny podľa vynálezu patria tie zlúčeniny všeobecného vzorca II alebo III opísané vyššie, kde  $R^3$  až  $R^6$  sú určené vyššie; X je vybrané zo skupiny pozostávajúcej z Cl,  $-CF_3$  alebo  $-CH_3$ ; a Y je skupina



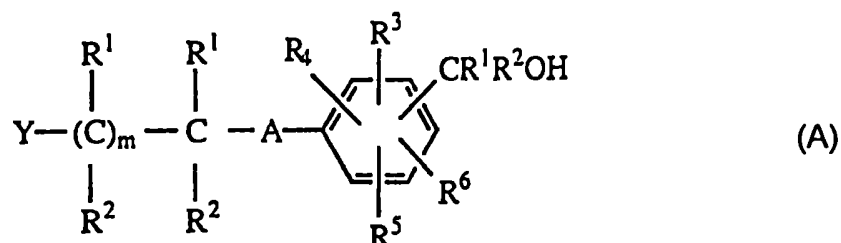
a  $R^7$  a  $R^8$  sú zreťazené spolu ako  $-(CH_2)_r-$ , kde  $r$  je celé číslo 4 až 6 za vytvorenia kruhu voliteľne substituovaného až tromi substituentami vybranými zo skupiny, ktorú tvorí vodík, hydroxyl, atóm halogénu,  $C_1$ - $C_4$ alkyl, trihalogénmetyl,  $C_1$ - $C_4$ alkoxy, trihalogénmetoxy,  $C_1$ - $C_4$ alkyltio,  $C_1$ - $C_4$ alkylsulfinyl,  $C_1$ - $C_4$ alkylsulfonyl, hydroxy- $(C_1$ - $C_4)$ alkyl,  $-CO_2H$ ,  $-CN$ ,  $-CONH(C_1-C_4)$ ,  $-NH_2$ ,  $C_1$ - $C_4$ alkylamino,  $C_1$ - $C_4$ dialkylamino,  $-NHSO_2(C_1-C_4)$ ,  $-NHCO(C_1-C_4)$  a  $-NO_2$ ; a a ich farmaceuticky prijateľné soli.

Výhodné sú tie zlúčeniny, kde  $R^7$  a  $R^8$  sú zreťazené spolu ako  $-(CH_2)_p-$  alebo  $-(CH_2)_r-$ , pričom vytvorený kruh je voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami vybranými zo skupiny obsahujúcej  $C_1$ - $C_3$ alkyl, trifluórmetyl, atóm halogénu, atóm vodíka, fenyl, nitro,  $-CN$ .

Tento vynález tiež zahŕňa spôsob výroby uvedených zlúčenín.

Zlúčeniny podľa vynálezu môžu byť pripravené spôsobom, ktorý zahŕňa:

a) konvertovanie alkoholu vzorca A



kde  $m$ ,  $A$ ,  $Y$  a  $R^1$  až  $R^6$  sú určené vyššie

na zodpovedajúcu zlúčeninu všeobecného vzorca I, kde  $X$  je odštiepiteľná skupina, pomocou vhodných prostriedkov, napríklad pomocou halogenačného, sulfonylačného alebo acylačného činidla obsahujúceho odštiepiteľnú skupinu  $X$ ;

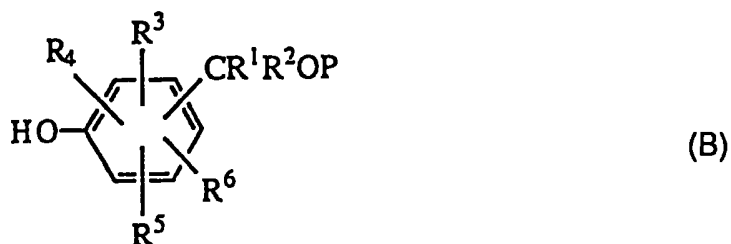
alebo

b) oxidáciu zlúčeniny všeobecného vzorca I, kde  $A$  je  $S$  za vzniku zodpovedajúcej zlúčeniny všeobecného vzorca I, kde  $A$  je  $-SO-$  alebo  $-SO_2-$ ,

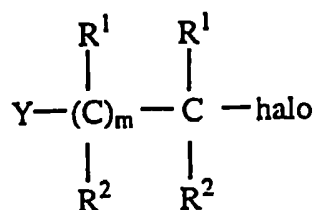
alebo

c) konvertovanie zlúčeniny všeobecného vzorca I na jej farmaceuticky prijateľnú soľ.

Zlúčeniny všeobecného vzorca A môžu byť pripravené reakciou fenolu vzorca B



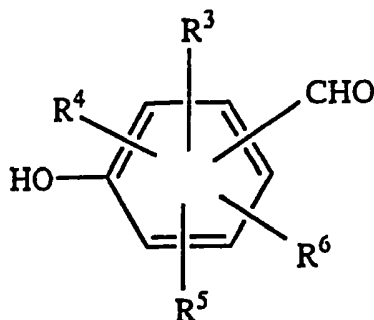
kde P je hydroxy chrániaca skupina a  $R^1$  až  $R^6$  sú určené vyššie (napríklad  $R^1$  a  $R^2$  sú každý H alebo  $C_1$ - $C_{12}$ alkyl)  
so zlúčeninou všeobecného vzorca



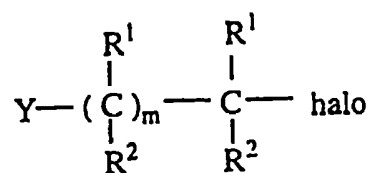
kde Y,  $R^1$ ,  $R^2$  sú určené vyššie a halogén je F, Cl, Br alebo I a odstránenie chrániacej skupiny.

Zlúčeniny podľa vynálezu, v ktorých „A“ je kyslík môžu byť syntetizované spôsobom, ktorý zahŕňa kroky:

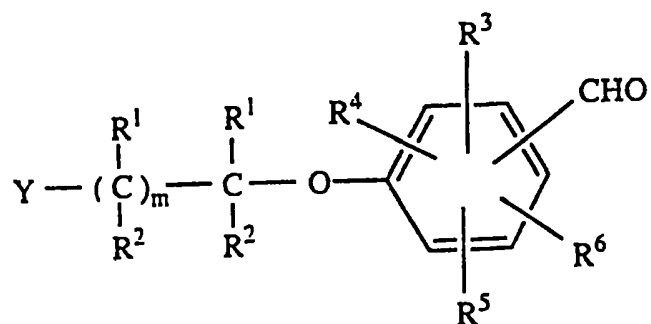
a) alkyláciu príslušného hydroxybenzaldehydu vzorca



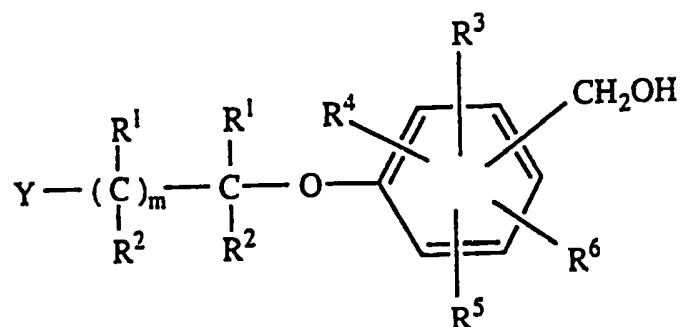
kde  $R^3$  až  $R^6$  sú určené vyššie,  
s príslušným alkylhalogenidom všeobecného vzorca



kde Y, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> a m sú definované vo všeobecnom vzorci a odvodenom vzorci uvedených vyššie a halogén môže byť Cl, F, Br alebo I, za vzniku aldehydu všeobecného vzorca



b) redukciu aldehydového produktu z kroku a), za vzniku zodpovedajúceho alkoholu vzorca

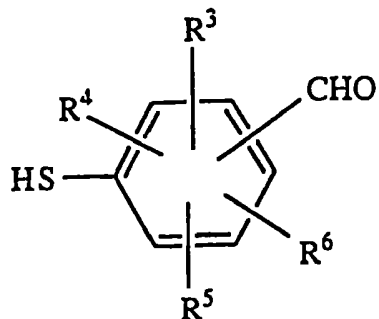


c) konvertovanie alkoholu z kroku b) na jeho hydrochloridovú soľ napríklad s HCl/THF; a

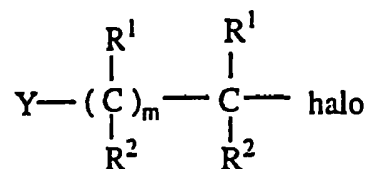
d) konvertovanie alkoholovej skupiny na výhodnú odštiepiteľnú skupinu, napríklad opracovaním s metánsulfonylchloridom alebo anhydridom trifluóroctovej kyseliny v prítomnosti bázy, napríklad pyridínu alebo trietylamínu.

Podobne tento vynález poskytuje spôsob výroby zlúčenín podľa tohto vynálezu, kde „A“ je síra, ktorý zahŕňa kroky:

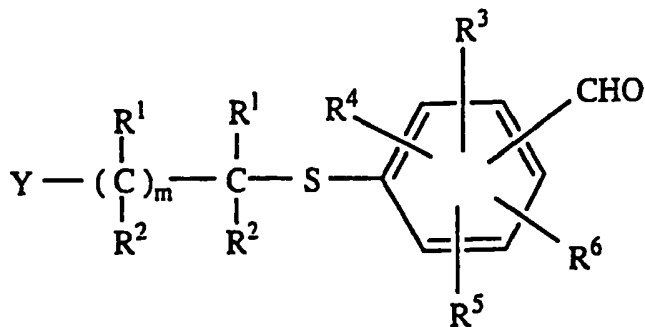
a) alkyláciu zlúčeniny všeobecného vzorca



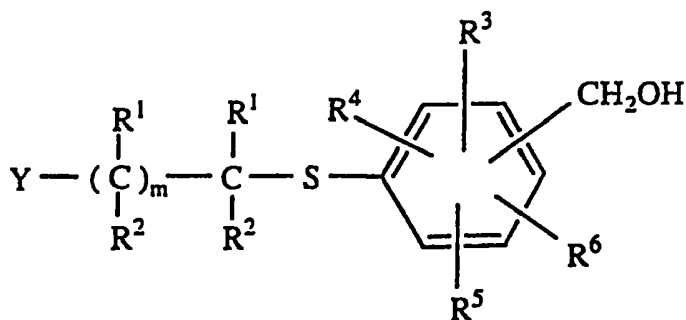
s alkylačným činidlom vzorca



kde Y a m sú definované vyššie a halogén je vybraný z Cl, F, Br alebo I za vzniku aldehydu vzorca



b) redukciu aldehydového produktu z kroku a), napríklad s bórhydridom sodným na alkohol vzorca



c) opracovanie alkoholu z kroku b) plynným HCl za vytvorenia jeho hydrochloridovej soli a

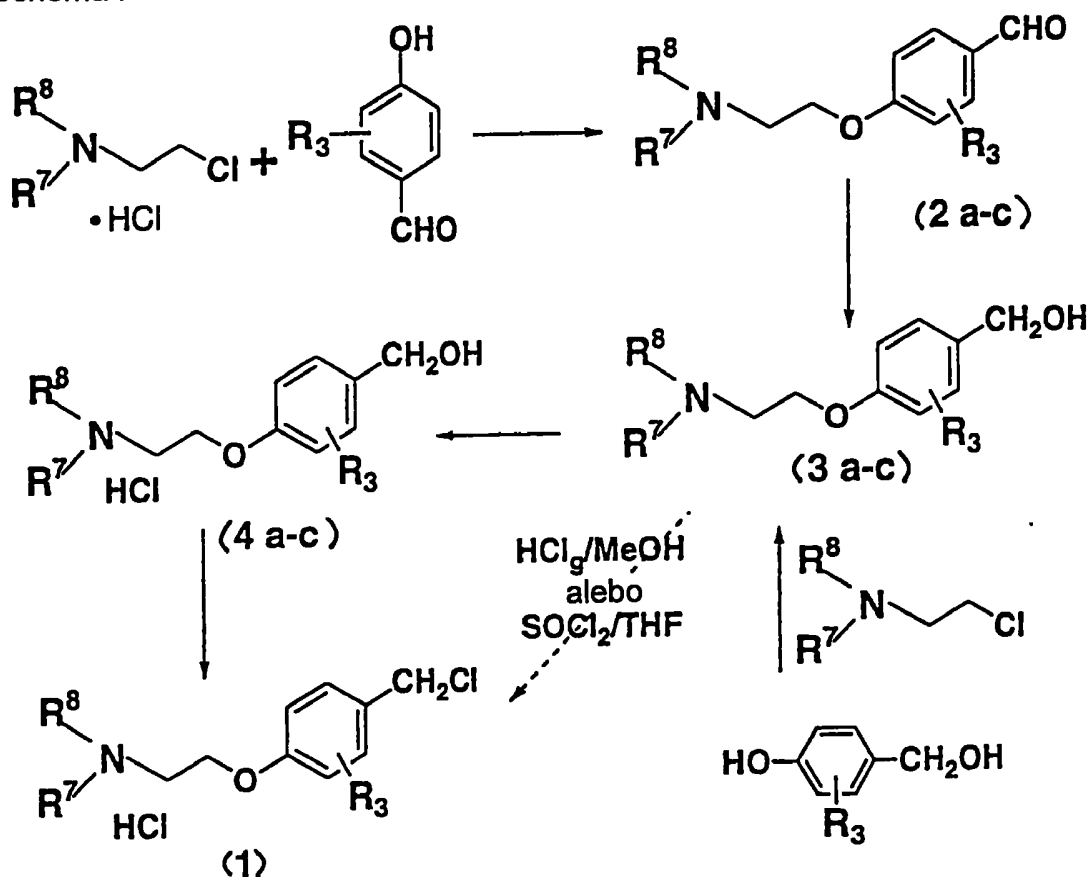
d) konvertovanie hydrochloridu alkoholového produktu z kroku c) na zlúčeninu s výhodnou odštiepiteľnou skupinou, napríklad opracovaním s metánsulfonylchloridom, toluénsulfonylchloridom alebo anhydridom trifluórooctovej kyseliny v prítomnosti bázy, napríklad pyridínu alebo trietylaminu alebo ďalej opracovaním HCl za vzniku zodpovedajúceho benzylchloridu a

e) voliteľne doplňujúca riadená oxidácia síry na sulfoxid alebo sulfón, napríklad s *m*-chlórperbenzoovou kyselinou.

Východiskový tiofénoxidaldehydový materiál z kroku a) môže byť vyrobený zo zodpovedajúceho tiofenolaldehydu, napríklad s hydridom sodným, tento krok môže ale nemusí byť uvažovaný v uvedenom spôsobe.

Nasledujúce reakčné schémy I až IV demonštrujú syntézu zlúčenín podľa vynálezu, za použitia rôznych obmien „Y“. Činidlá a rozpúšťadlá pre jednotlivé kroky sú uvedené len na ilustráciu a môžu byť nahradené inými činidlami a rozpúšťadlami známymi odborníkom v danej oblasti techniky.

Schéma I



a)  $R^7R^8 = (CH_2)_5$ ; b)  $R^7R^8 = (CH_2)_6$ ; c)  $R^7 = R^8 = CH_3$  a  $R^3 = H$ .

Schéma II

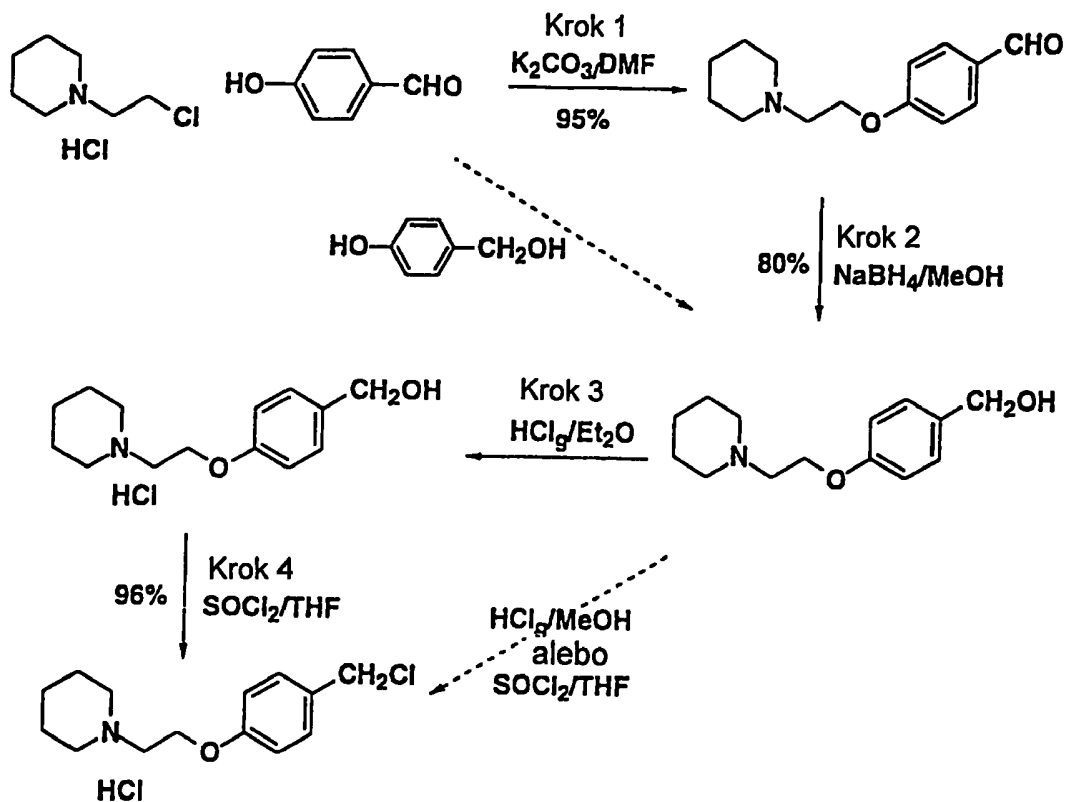


Schéma IIa

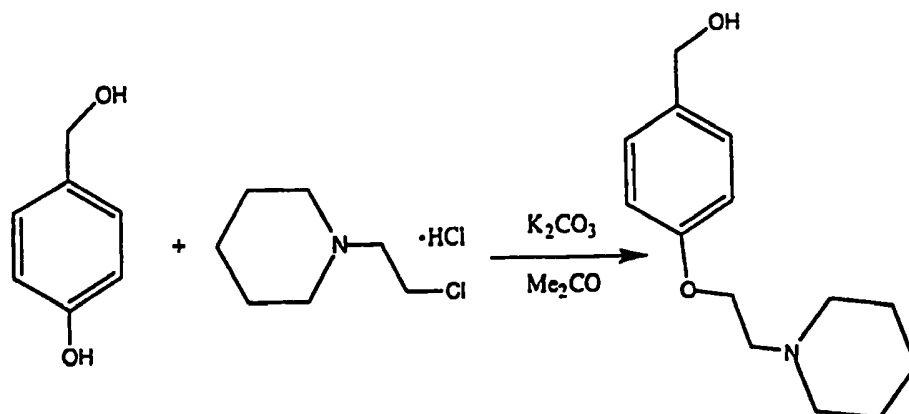
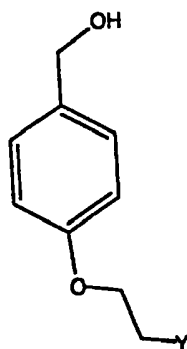


Schéma IIa ponúka alternatívnu syntézu bezylalkoholu podľa tohto vynálezu, napríklad syntézu 4-(2-piperidinyloxy)benzylalkoholu. V tejto syntéze 4-hydroxybenzylalkohol je opracovaný s vhodným arylaminoalkylchloridom za poskytnutia zodpovedajúceho alkoxybenzylalkoholom. V špecifickom príklade v schéme IIa, 4-hydroxybenzylalkohol môže byť opracovaný s hydrochloridom 1-(2-chlóretyl)-

piperidínom v prítomnosti  $K_2CO_3/Me_2CO$  za vzniku 4-(2-piperidinyloxy)benzyl-alkoholu.

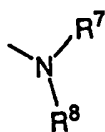
Schéma IIa tiež špecifickejšie ilustruje iné výhodné uskutočnenie vynálezu. Tento vynález tiež zahŕňa spôsob výroby výhodných alkoholov vzorca



kde Y znamená skupiny Y a ich voliteľné substituenty ako je opísané vyššie.

Vo výhodnej podskupine tohto vynálezu Y znamená:

a) skupinu



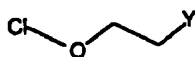
(i)

kde R<sup>7</sup> a R<sup>8</sup> sú nezávisle zvolené z H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>alkylu alebo fenylu, alebo

b) 5-, 6- alebo 7-členný nenasýtený alebo čiastočne nenasýtený heterocyklický kruh obsahujúci jeden alebo dva atómy dusíka, pričom heterocyklický kruh je pripojený etoxylovým mostíkom na atóm dusíka v kruhu a je voliteľne substituovaný 1 až 3 skupinami vybranými z halogénu, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>alkylu, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>alkoxyly, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>tioalkylu, -CF<sub>3</sub> alebo -NO<sub>2</sub>.

Výhodné skupiny Y podľa tohto vynálezu sú azepín, pyrol, imidazolín, imidazolidín, hexametylénimín, pyrolidín, pyrazolidín, pyrazolín, piperidín, pirazín.

Spôsob zahŕňa reakciu v alkalickom médiu 4-hydroxybenzylalkoholu so soľou, napríklad octanovou, hydrochloridovou, hydrobromidovou alebo hydrojodidovou soľou zlúčeniny vzorca



kde Y je uvedené vyššie.

Táto reakcia je uskutočnená v organickom rozpúšťadle alebo systéme rozpúšťadiel, napríklad v acetóne, dimetylformamide alebo tetrahydrofuráne. Výhodne pH média je udržiavané nad pH 8, výhodnejšie nad pH 9.

Schéma III

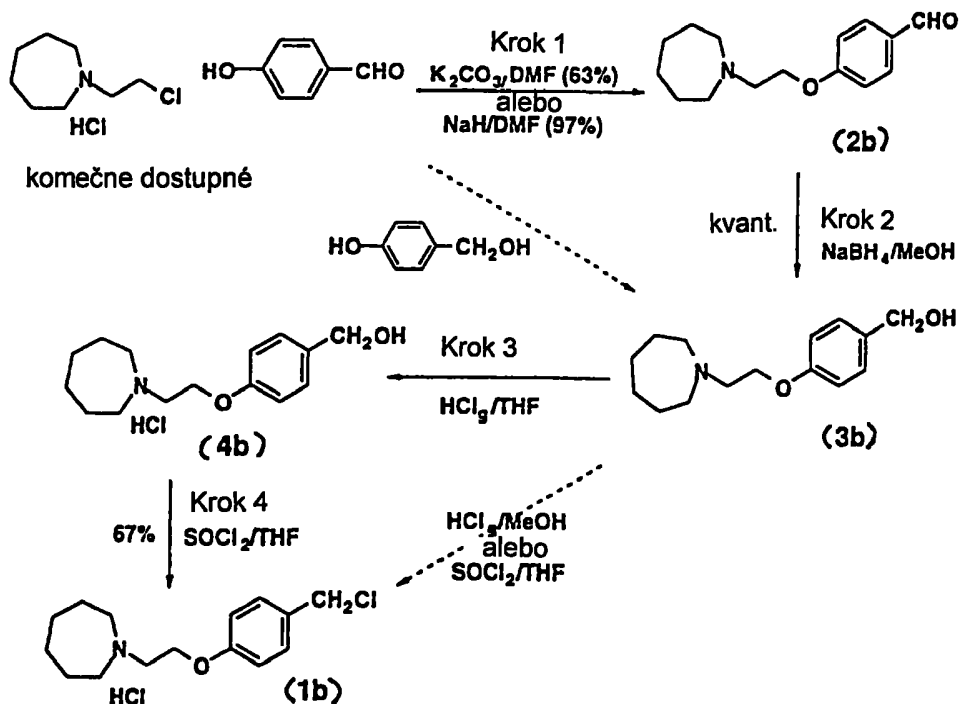
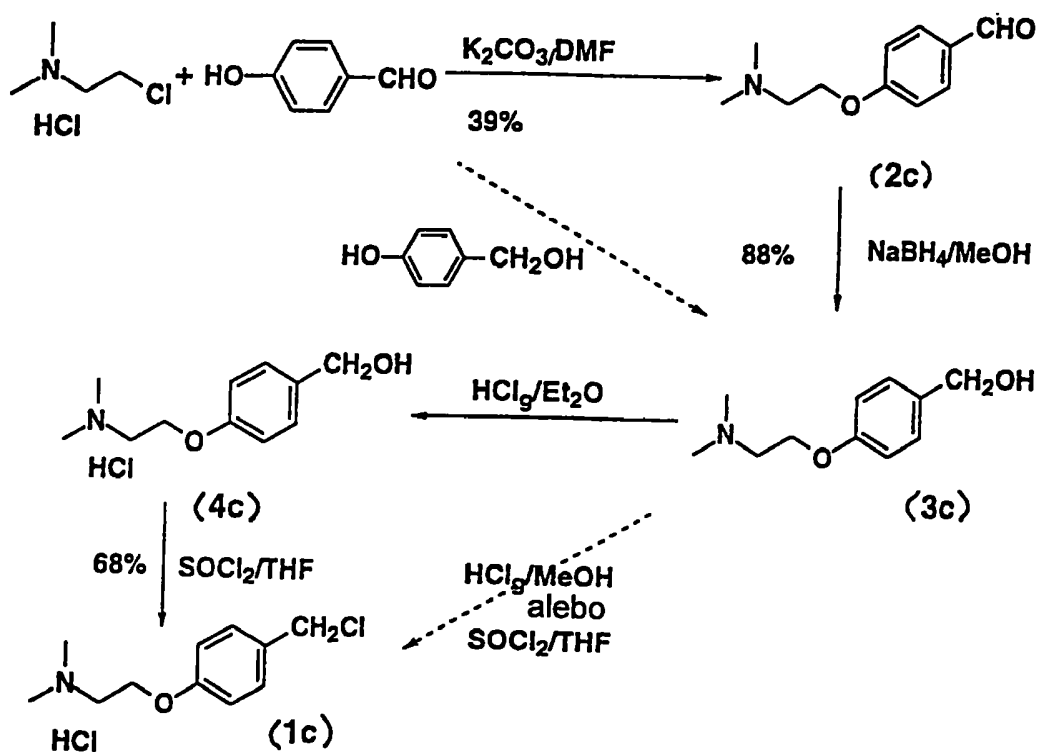
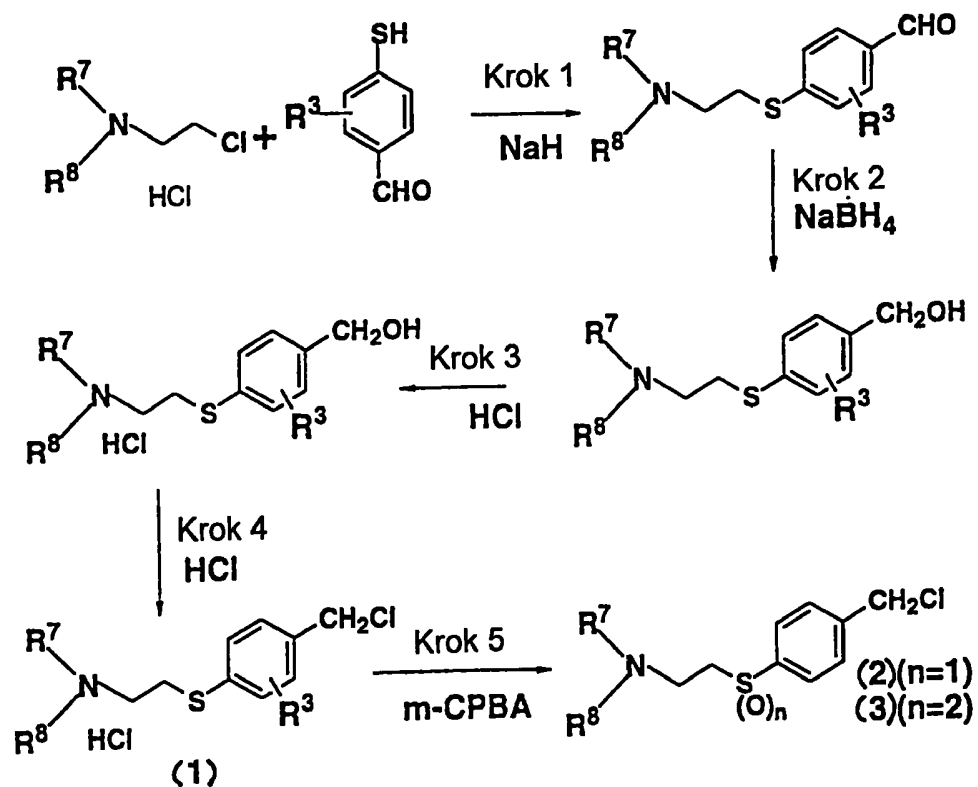


Schéma IV



Použitím podobných krokov, zlúčeniny podľa vynálezu, kde „A“ je síra môžu byť vyrobené ako je uvedené v schéme V nižšie. V prvom kroku sa môže vyrobiť tiofénoxid reakciou s hydridom sodným, nasleduje alkylácia a redukcia na príslušný aldehyd, napríklad s bórhydridom sodným alebo katalyticky s vodíkom a Raney niklom alebo platinou alebo paládiom na uhlíkovom katalyzátore. Výsledný alkohol môže byť potom opracovaný plynným HCl za vytvorenia jeho hydrochloridu, plynulým HCl opracovaním za vytvorenia benzylchloridu. Konečný produkt môže byť potom vytvorený pomocou riadenej oxidácie síry na sulfoxid a potom na sulfón, napríklad s *m*-chlórperbenzoovou kyselinou.

Schéma V



Nasledujúce príklady sú uvedené na ilustráciu a nejdú nad rozsah tohto vynálezu.

V spôsoboch výroby vyššie uvedených zlúčenín všeobecného vzorca I, kde R<sup>1</sup> a R<sup>2</sup> na príľahlej X skupine znamenajú vodík sú vyrobené z primárnych alkoholov (pozri schému I, zlúčeniny 3a-c) ktoré sú samotné vyrobené redukciou aldehydového prekursora (pozri schému I, zlúčeniny 2a-c).

Analogické zlúčeniny vzorca I, kde jeden z R<sup>1</sup> a R<sup>2</sup> pripojený na X skupinu je alkyl alebo perfluóralkyl a druhý je vodík, môžu byť pripravené z vhodných sekundárnych alkoholov, ktoré môžu byť pripravené zo zodpovedajúcich ketónov, napríklad zlúčenín, ktoré majú COR<sup>1</sup> skupinu, kde R<sup>1</sup> je alkyl alebo perfluóralkyl.

Analogické zlúčeniny všeobecného vzorca I, kde oba R<sup>1</sup> aj R<sup>2</sup> pripojené na X skupinu sú každý vybraný z alkylu a perfluóralkylu, môžu byť vyrobené z vhodných terciárnych alkoholov.

### Príklady uskutočnenia vynálezu

#### Príklad 1

##### 4-(2-Piperidín-1-yl-etoxy)benzylaldehyd (2a)

K dobre premiešanej suspenzii *p*-hydroxybenzaldehydu (83,5 g, 0,68 mol, 1,05 ekvivalentov) a K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (224 g, 1,6 mol, 2,5 ekvivalentov) v DMF (1 l) sa pridal hydrochlorid 1-(2-chlóretyl)piperidínu (120 g, 0,65 mol, 1,0 ekvivalent). Reakčná zmes sa refluxovala 2 hodiny za energického miešania. V tomto bode sa TLC (tenkovrstvová chromatografia) preukázal v prevažnej miere produkt bez východiskového materiálu (EtOAc/hexán 1:1). Reakčná zmes sa prefiltrovala cez celit, zriedila sa EtOAc (2 l) a premyla vodou (3 x 500 ml). Organická vrstva sa skoncentrovala na rotačnej odparke za vzniku 147 g (97 %) aldehydu (2a) ako žltého oleja.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>/TMS): 9,87 (s, 1H), 7,81 (d, 2H, J = 8,7 Hz), 7,01 (d, 2H, J = 8,7 Hz), 4,18 (t, 2H, J = 6,03 Hz), 2,79 (t, 2H, J = 6,03 Hz), 2,51 (m, 4H), 1,6 – 1,4 (m, 6H).

#### Príklad 2

##### 4-(2-Hexametylénimín-1-yl-etoxy)benzylaldehyd (2b)

K dobre premiešanej suspenzii NaH (65 g, 60% olejová disperzia, 1,6 mol, 2,2 ekvivalentov) v DMF (500 ml) sa pridal po kvapkách pri teplote 0 °C roztok hydrochloridu *p*-hydroxybenzaldehydu (90 g, 0,74 mol, 1,0 ekvivalent). Reakčná

zmes sa miešala 30 minút, potom sa pridal po častiach 4-[2-(hexametylénimino)]-etylchlorid. Reakčná zmes sa miešala 1 hodinu. V tomto bode sa TLC preukázal v prevažnej miere produkt a len malé množstvo východiskového materiálu (EtOAc/hexán 1:1). Reakčná zmes sa zriedila vodou (1 l) a extrahovala éterom (5 l). Organická vrstva sa sušila nad  $\text{MgSO}_4$  a skoncentrovala na rotačnej odparke za vzniku 176,8 g (97 %) aldehydu (2b) ako žltého oleja.

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3/\text{TMS}$ ): 9,87 (s, 1H), 7,81 (d, 2H,  $J = 8,7$  Hz), 7,02 (d, 2H,  $J = 8,7$  Hz), 4,14 (t, 2H,  $J = 6,09$  Hz), 2,98 (t, 2H,  $J = 6,14$  Hz), 2,78 (m, 4H), 1,66 – 1,61 (m, 8H).

### Príklad 3

#### 4-(2-Dimetylaminoetoxy)benzylaldehyd (2c)

K dobre premiešanej suspenzii *p*-hydroxybenzaldehydu (9,54 g, 0,078 mol, 1,0 ekvivalentov) a  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (27 g, 0,195 mol, 2,5 ekvivalentov) v DMF (100 ml) sa pridal hydrochlorid 1-(2-chlóretyl)dimetylamínu (11,26 g, 0,078 mol, 1,0 ekvivalent). Reakčná zmes sa miešala 2 hodiny pri 60 až 70 °C. V tomto bode sa TLC preukázal v prevažnej miere produkt bez východiskového materiálu (EtOAc/hexán/ $\text{Et}_3\text{N}$  3:7:1). Reakčná zmes sa naliala do zmesi voda/lad (200 ml) a extrahovala sa  $\text{Et}_2\text{O}$  (3 x 200 ml). Organická vrstva sa sušila nad  $\text{MgSO}_4$  a skoncentrovala na rotačnej odparke za vzniku 5,9 g (39 %) aldehydu (2c) ako ružovkastej kvapaliny.

$^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3/\text{TMS}$ ): 9,88 (s, 1H), 7,8 (d, 2H,  $J = 8,7$  Hz), 7,02 (d, 2H,  $J = 8,7$  Hz), 4,15 (t, 2H,  $J = 5,64$  Hz), 2,77 (t, 2H,  $J = 5,64$  Hz), 2,35 (s, 6H).

### Príklad 4

#### 4-(2-Piperidín-1-yl-etoxy)benzylalkohol (3a)

K miešanému roztoku aldehydu 2a (115 g, 0,494 mol, 1,0 ekvivalent) v metanole (360 ml) sa pridal po častiach pri 0 až 5 °C bórhydrid sodný (9,44 g, 0,249 mol, 0,5 ekvivalentov). Reakčná zmes sa miešala 30 minút. V tomto bode sa TLC preukázal v prevažnej miere produkt bez východiskového materiálu, (EtOAc/hexán/trietylamin 3:7:1). Reakčná zmes sa naliala do vody (1,1 l), extrahovo-

vala sa metylénchloridom (3 x 550 ml) a sušila sa nad MgSO<sub>4</sub>. Roztok sa skoncentroval na rotačnej odparke za vzniku 91,6 g (80 %) alkoholu (3a) ako hustého oleja, ktorý okamžite kryštalizoval.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>/TMS): 7,23 (d, 2H, J = 8,5 Hz), 6,80 (d, 2H, J = 8,5 Hz), 4,56 (s, 2H), 3,99 (t, 2H, J = 6,12 Hz), 2,69 (t, 2H, J = 6,14 Hz), 2,47 (m, 4H), 1,6 – 1,25 (m, 6H).

<sup>13</sup>C NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): 158,23, 135,34, 128,70, 114,84, 66,42, 63,44, 58,27, 55,29, 26,45, 24,80.

#### Príklad 5

##### 4-(2-Piperidín-1-yl-etoxy)benzylalkohol (3a)

4-Hydroxybenzylalkohol (6,2 g, 0,05 mol) sa rozpustil vo vodnom roztoku hydroxidu sodného (5N, 30 ml). Následne do pridání hydrochloridu 1-(2-chlóretyl)-piperidínu (9,29 g, 0,05 mol) a benzyltrietylamóniumbromide (0,3 g) sa pridal toluén (30 ml). Reakčná zmes sa za energického miešania zohrievala 1,5 hodiny. Oddelili sa vrstvy, vodná vrstva sa extrahovala toluénom (2 x 15 ml). Spojené organické extrakty a organická vrstva sa premyli vodou (50 ml), soľankou (50 ml), sušili sa nad síranom sodným a koncentrovali sa na rotačnej odparke za vzniku 8,725 g (75 %) alkoholu (3a) ako žltého oleja.

#### Príklad 6

##### 4-(2-Hexametylénimín-1-yl-etoxy)benzylalkohol (3b)

K miešanému roztoku aldehydu 2b (200 g, 0,72 mol, 1,0 ekvivalent) v metanole (400 ml) sa pridal po častiach pri 0 až 5 °C bórhydrid sodný (15,6 g, 0,41 mol, 0,57 ekvivalentov) . Reakčná zmes sa miešala 30 minút. V tomto bode sa TLC preukázal v prevažnej miere produkt bez východiskového materiálu (EtOAc/hexán/trietylamin 3:7:1). Reakčná zmes sa zriedila vodou (400 ml), extrahovala sa metylénchloridom (3 x 400 ml) a sušila sa nad MgSO<sub>4</sub>. Roztok sa skoncentroval na rotačnej odparke za vzniku 201 g (100 %) alkoholu 3b ako hustého oleja.

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3/\text{TMS}$ ): 7,27 (d, 2H,  $J = 8,5$  Hz), 6,87 (d, 2H,  $J = 8,5$  Hz), 4,60 (s, 2H), 4,05 (t, 2H,  $J = 6,21$  Hz), 2,93 (t, 2H,  $J = 6,15$  Hz), 2,77 (m, 4H), 1,7 – 1,5 (m, 8H).

#### Príklad 7

##### 4-(2-Dimetylaminoetoxy)benzylalkohol (3c)

K miešanému roztoku aldehydu 2c (5,9 g, 0,031 mol, 1,0 ekvivalent) v metanole (20 ml) sa pri 22 °C pridal po častiach bórhydrid sodný (0,58 g, 0,015 mol, 0,5 ekvivalentov). Reakčná zmes sa miešala 30 minút. V tomto bode sa TLC preukázal v prevažnej miere produkt žiadny východiskový materiál (EtOAc/hexán/trietylamin 5:5:1). Reakčná zmes sa zriedila vodou (50 ml), extrahovala metylénchloridom (3 x 40 ml) a sušila nad  $\text{MgSO}_4$ . Roztok sa koncentroval na rotačnej odparke za vzniku 5,25 g (88 %) alkoholu 3c ako hustého oleja.

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3/\text{TMS}$ ): 7,25 (d, 2H,  $J = 8,64$  Hz), 6,85 (d, 2H,  $J = 8,64$  Hz), 4,52 (s, 2H), 3,99 (t, 2H,  $J = 5,88$  Hz), 2,67 (t, 2H,  $J = 5,79$  Hz), 2,29 (s, 6H).

#### Príklad 8

##### Hydrochlorid (4-chlórmetylfenoxy)etylpiiperidín-1-ylu (1a)

Roztok alkoholu 3a (61,3 g, 0,26 mol, 1 ekvivalent) v THF (500 ml) sa ochladil na 0 až –5 °C (kúpeľ ľad-voda) a nechal sa prebublávať plynným HCl. Prebublávanie pokračuje až do zhustnutia reakčnej zmesi. Vodný kúpeľ sa potom odstráni. Potom sa k hustej kaši hydrochloridu 4a pridal tionylchlorid (29 ml, 0,39 mol, 1,5 ekvivalentov) a zmes sa zohriala na 50 °C až kým sa nestala čirou. Reakčná zmes sa ochladila na –3 °C a miešala sa 30 minút. Získaná biela tuhá látka sa prefiltrovala a sušila za vzniku 72 g (96 %) chloridu 1a.

4a:  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ ): 10,9 (s, HCl), 7,25 (d, 2H,  $J = 8,5$  Hz), 6,94 (d, 2H,  $J = 8,5$  Hz), 4,42 (m, 4H), 3,41 (m, 4H).

1a:  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ ): 11 (br s, HCl), 7,39 (d, 2H,  $J = 8,5$  Hz), 6,99 (d, 2H,  $J = 8,5$  Hz), 4,74 (s, 2H), 4,46 (m, 2H), 3,45 (m, 4H), 2,69 (m, 2H) a 1,9 – 1,2 (m, 6H).

### Príklad 9

#### Hydrochlorid (4-chlórmetylfenoxy)etylhexametylénimín-1-yl (1b)

K roztoku alkoholu 3b (179 g, 0,72 mol, 1 ekvivalent) v THF (300 ml) sa pridal po kvapkách pri 0 až 10 °C roztok HCl (26,3 g HCl v 263 ml THF, 0,72 mol, 1,0 ekvivalentov). Vytvorila sa biela zrazenina. K hustej suspenzii hydrochloridu 4b sa pridal tionylchlorid (80 ml, 1,1 mol, 1,5 ekvivalentov) a zmes sa zohriala na 50 °C až kým nezostala číra. Reakčná zmes sa skoncentrovala na 350 ml a nechala sa v chladničke cez noc. Získaná biela tuhá látka sa prefiltrovala, premyla studeným THF (100 ml) a sušila za vzniku 147 g (67 %) chloridu 1b.

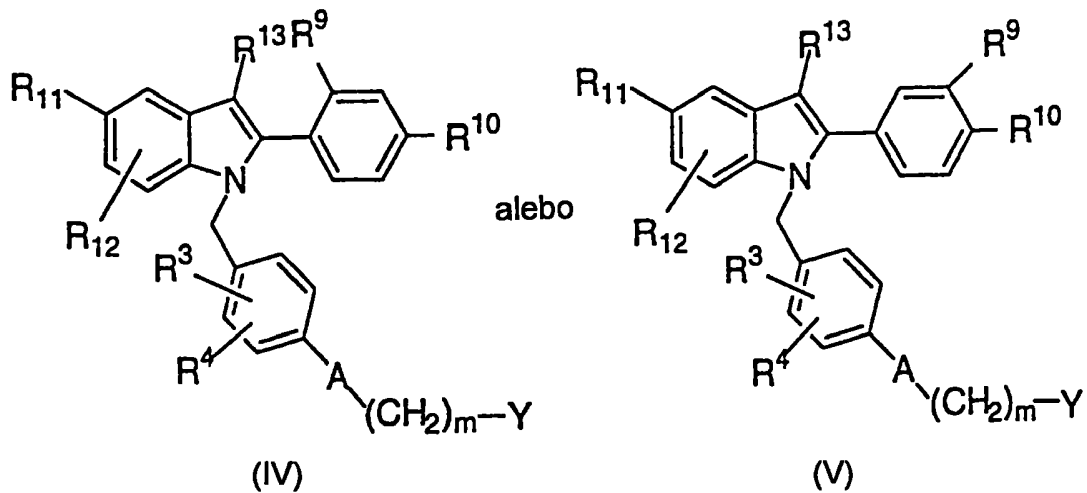
<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): 11 (br s, HCl), 7,40 (d, 2H, J = 8,6 Hz), 7,00 (d, 2H, J = 8,6 Hz), 4,74 (s, 2H), 4,44 (t, 2H, J = 5,25), 3,64 – 3,39 (m, 4H), 3,25 – 3,17 (m, 2H), 1,84 – 1,54 (m, 8H).

### Príklad 10

#### Hydrochlorid (4-chlórmetylfenoxy)etyldimetylamino (1c)

Roztokom alkoholu 3c (5,25 g, 0,027 mol, 1 ekvivalent) v THF (100 ml) sa nechal prebublávať plynny HCl pri teplote 0 až 25 °C počas 15 minút. Vytvorila sa biela zrazenina. K hustej kaši hydrochloridu 4c sa pridal tionylchlorid (6 ml, 9,6 g, 0,081 mol, 3 ekvivalenty) a zmes sa zohrievala na 30 °C, až kým nezostala číra. Reakčná zmes sa skoncentrovala na 350 ml a uložila sa do chladničky na noc. Získaná biela tuhá látka sa prefiltrovala, premyla studeným THF (100 ml) a sušila za vzniku 4,57 g (68 %) chloridu 1c.

Medzi farmaceuticky účinné zlúčeniny, ktoré môžu byť vyrobené za použitia zlúčenín podľa vynálezu sú 2-fenyl-1-[4-(2-aminoetoxy)benzyl]indolové zlúčeniny, ktoré sú užitočné ako estrogénové látky. Tieto zlúčeniny zahŕňujú zlúčeniny vzorcov IV a V uvedených nižšie:



kde

R<sup>11</sup> je vybrané zo skupiny zahrnujúcej H, OH alebo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> estery s lineárnym alebo rozvetveným reťazcom alebo ich C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> alkylétery s lineárnym alebo rozvetveným reťazcom alebo halogény alebo halogenované étery zahrnujúce trifluórmetyléter a trichlórmetyléter,

R<sup>12</sup>, R<sup>9</sup> a R<sup>10</sup> sú nezávisle vybrané zo skupiny zahrnujúcej H, OH alebo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> estery s lineárnym alebo rozvetveným reťazcom alebo ich C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> alkylétery s lineárnym alebo rozvetveným reťazcom alebo halogény alebo halogenované étery zahrnujúce trifluórmetyléter a trichlórmetyléter, kyanoskupinu, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alkyl s lineárnym alebo rozvetveným reťazcom alebo trifluórmetyl, s podmienkou, že R<sup>1</sup> je H, R<sup>2</sup> nie je OH,

R<sup>13</sup> je vybrané zo skupiny zahrnujúcej H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alkyl, kyanoskupinu, nitroskupinu, trifluórmetyl, halogén; a

Y, A, m, R<sup>3</sup> a R<sup>4</sup> sú určené vyššie.

2-Fenyl-1-[4-(2-aminoetoxy)benzyl]indolové zlúčeniny tohto typu sú čiastočné estrogénové antagonisty a preukazujú vysokú afinitu pre estrogénové receptory. Na rozdiel od mnohých estrogénov, tieto zlúčeniny nespôsobujú zvyšovanie hmotnosti maternice. Tieto zlúčeniny majú antiestrogenické účinky v maternici a môžu kompletne antagonizovať trofické účinky estrogénových agonistov v maternicovom tkanive. Tieto zlúčeniny sú užitočné pri liečení alebo predchádzaní chorobných stavov alebo syndrémov u cicavcov, ktoré sú spôsobené alebo spojené s nedostatkom estrogénov.

Tieto zlúčeniny majú možnosť správať sa ako estrogénové agonisty znižovaním cholesterolu a predchádzaním úbytku kostnej hmoty. Preto sú tieto zlúčeniny užitočné pri liečení mnohých chorôb zahrnujúc osteoporózu, prostatickú hypertrofiu, neplodnosť, rakovinu prsníka, endometriálnu rakovinu, kardiovaskulárne choroby, pri používaní antikoncepcie, Alzheimerovu chorobu a rakovinu kožu. Navyše, tieto zlúčeniny môžu byť použité pri náhradnej hormónovej liečbe u ženy po menopauze alebo pri iných nedostatkových estrogénových stavoch, kde by bol prísun estrogénu prospešný.

2-Fenyl-1-[4-(2-aminoetoxy)benzyl]indolové zlúčeniny vyrábané pomocou zlúčenín podľa vynálezu môžu byť tiež použité na liečenie úbytku kostnej hmoty, čo môže vyplývať z nerovnováhy v individuálnej tvorbe nového kostného tkaniva a resorpcie staršieho tkaniva, čo vedie k úbytku kostnej hmoty. Takéto spotrebovanie kostnej hmoty sa vyskytuje v rade prípadov, obzvlášť u žien po menopauze, u žien, ktoré podstúpili hysterektómiu, u tých, ktoré sa podrobili alebo podrobujú dlhým kortikosteroidným terapiám, u tých, ktoré prekonal gonádovú dysgenézu a u tých, ktoré trpia Cushingovým syndrómom. Špeciálna potreba obnovenia kostnej hmoty použitím týchto zlúčenín môže byť určená pacientom s fraktúrou kosti, chybnou štruktúrou kostí, a u tých, ktorí sa podrobili chirurgickým zákrokom kostí a/alebo implantácii protézy. Okrem problémov opísaných vyššie, tieto zlúčeniny môžu byť tiež použité pri liečení osteoartritidy, Pagetovej choroby, osteomalácie, osteomalácie, endometriálnej rakoviny, viacnásobného myelómu a iných foriem rakoviny, ktoré majú škodlivý účinok na kostné tkanivo. Spôsoby liečenia uvedených ochorení zahrnujú poskytnutie jedincovi pri potrebe takejto liečby farmaceuticky účinné množstvo jednej alebo viacerých zlúčenín podľa vynálezu alebo ich farmaceuticky prijateľných solí. Tento vynález tiež zahŕňa farmaceutické prostriedky obsahujúce jednu alebo viacero uvedených zlúčenín, a/alebo ich farmaceuticky prijateľných solí, spolu s jedným alebo viacerými farmaceuticky prijateľnými nosičmi, excipientami, atď.

Predpokladá sa, že dávka a spôsob podávania týchto 2-fenyl-1-[4-(2-aminoetoxy)benzyl]indolových zlúčenín sa bude meniť vzhľadom na závažnosť ochorenia a stav pacienta, ktorý je liečený a bude predmetom na posúdenie ošetrojúceho

lekára. Je výhodné, aby podávanie jednej alebo viacerých týchto zlúčenín začínalo nižšou dávkou a bolo zvyšované pokiaľ nebude dosiahnutý žiadaný účinok.

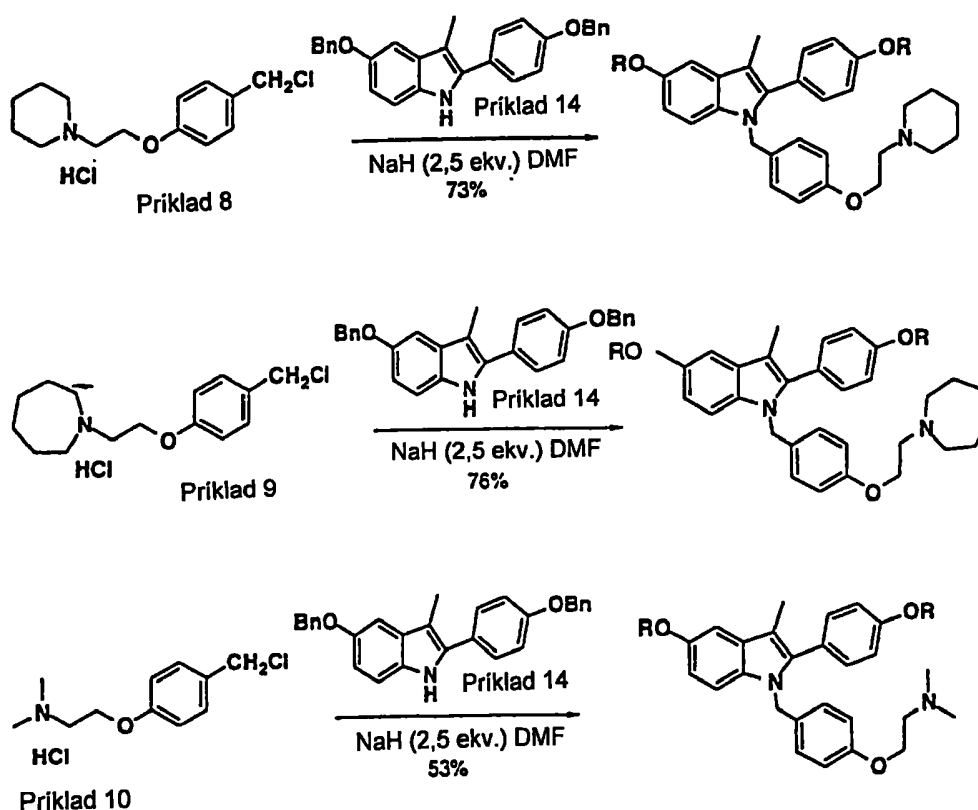
Účinná dávka týchto zlúčenín môže byť od približne 0,1 mg/deň do približne 1000 mg/deň. Výhodne bude dávka od približne 50 mg/deň do približne 600 mg/deň v jednotlivej dávke alebo v dvoch alebo viacerých oddelených dávkach. Takéto dávky môžu byť podávané akýmkoľvek spôsobom vhodným na zavedenie zlúčeniny do pacientovho krvného obehu, zahrnujúc orálne, parentálne (vrátane intravenózných, intraperitoneálnych a subkutánných injekcií) a transdermálne podanie. Rozumie sa, že transdermálne podávanie zahrnuje všetky podania cez povrch tela a vnútorné povrchy telesných dutín zahrnujúc epitelové a mukózne tkanivo. Takéto podávanie môže byť uskutočnené použitím prítomných zlúčenín alebo ich farmaceuticky prijateľných solí v pleťovej vode, kréme, pene, kvapkách, suspenziách, roztokoch a čapíkoch (rektálnych a vaginálnych).

Orálne farmaceutické prostriedky, ktoré obsahujú aktívne zlúčeniny podľa vynálezu môžu zahŕňať akýkoľvek bežne používaný orálny prostriedok, napríklad tablety, kapsuly, ústne prostriedky, pilulky, pastilky a orálne tekutiny, suspenzie a roztoky. Kapsuly môžu obsahovať zmes aktívnej zlúčeniny(nín) s inertným plnivom, a/alebo riedidlom, ako sú farmaceuticky prijateľné škroby (napr. kukuričný, zemiakový alebo tapiokový škrob), cukry, umelé sladidlá, práškové celulózy, múky, želatíny, gummy, atď. Použité tabletové prostriedky môžu byť vyrobené bežným stlačením, vlhkými granulačnými alebo suchými granulačnými metódami a použitím farmaceuticky prijateľných riedidiel, väzobných činidiel, lubrikantov, dezintegrantov, suspenzných alebo stabilizačných činidiel, ktoré zahrnujú ale nelimitujú, ako sú napríklad stearan horečnatý, kyselina stearová, mastenec, laurylsulfát sodný, mikrokryštalická celulóza, vápenatá soľ karboxymetylcelulózy, polyvinylpyrolidón, želatína, kyselina algínová, agátová guma, xantánová guma, citran sodný, komplexné kremičitany, uhličitan vápenatý, laktóza, kaolín, manitol, chlorid sodný, mastenec, suchý škrobový alebo práškový cukor. Orálne prostriedky môžu byť v štandardnej forme alebo ako prostriedky s postupným uvoľňovaním účinnej zložky za účelom pozmenenej absorpcie aktívnej zlúčeniny(nín). Čapíkové prostriedky môžu byť vyrobené z tradičných materiálov, zahrnujúc kakaové maslo, s alebo bez pridania vosku za účelom zmenenia bodu topenia čapíka a ďalej pridania glycerínu.

Vodorozpustný základ čapíkov môže byť tvorený polyetylénglykolmi rôznych molekulových hmotností.

Ako je ukázané v schéme VI, zlúčeniny tejto skupiny môžu byť vyrobené alkyláciou indolového dusíka zlúčeninami podľa vynálezu, ako je ukázané v príkladoch 11 až 13, uvedených nižšie, za použitia jednotlivo hydrochloridu (4-chlórmetylfenoxy)etyl-piperidín-1-ylu z príkladu 8, hydrochloridu (4-chlórmetylfenoxy)etylhexametylénimín-1-ylu z príkladu 9 a hydrochloridu (4-chlórmetylfenoxy)etyldimetylamínu z príkladu 10. Okrem NaH, môžu byť použité aj iné bázy, napríklad *tert*-butoxid draselný, *tert*-butoxid sodný.

Schéma VI



Schémy VII a VIII znázorňujú syntézu hydrochloridu 1-[4-(2-azepán-1-yl-etoxy)benzyl]-2-(4-hydroxyfenyl)-3-metyl-1*H*-indol-5-olu za použitia medziproduktov podľa vynálezu.

Schéma VII

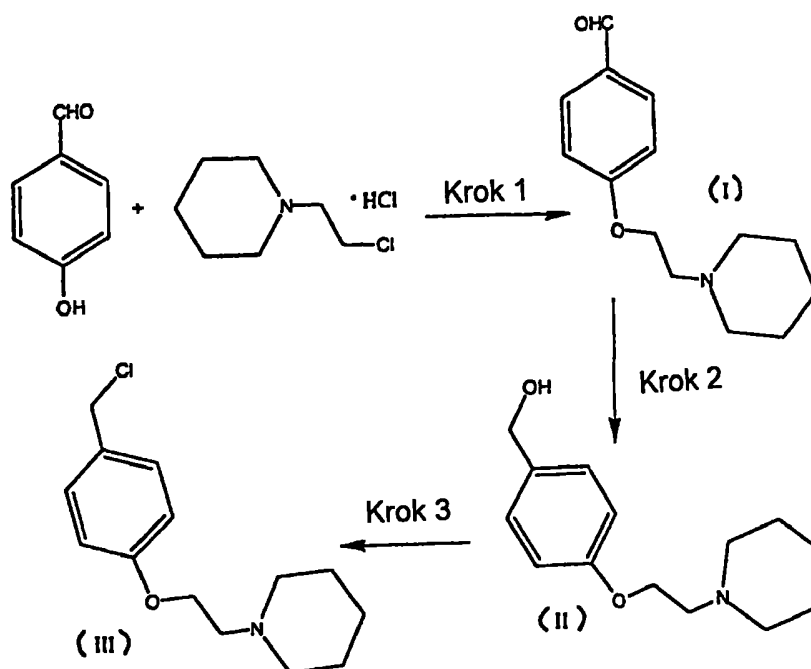
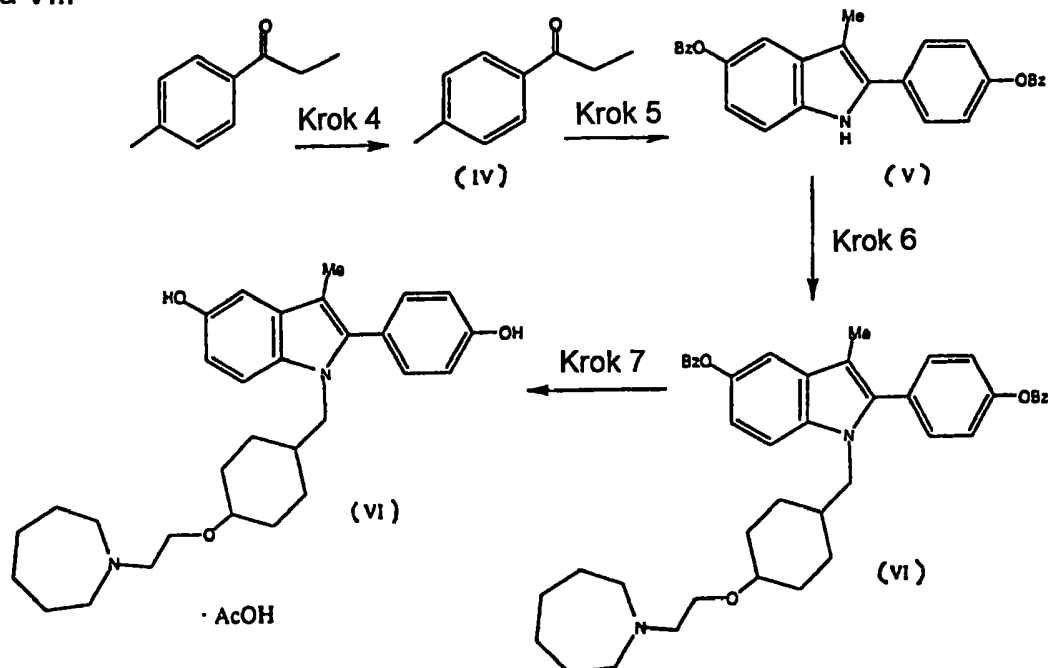


Schéma VII znázorňuje alkyláciu 4-hydroxybenzaldehydu s hydrochloridom 2-(hexametylamo)etylchloridom, ktorá môže byť dokonalá za prítomnosti uhličitanu draselného za vzniku zodpovedajúceho aldehydu (krok 1). Keď reakcia je dokončená, zmes môže byť čistená, zmiešaná s toluénom a premytá vodou. Toluénový roztok môže byť skoncentrovaný a výsledný zvyšok opracovaný izopropanolom za vzniku roztoku aldehydu I. Izopropanolový roztok zlúčeniny I môže byť opracovaný katalytickou redukciov, napríklad s Raney niklom, za poskytnutia alkoholu II (krok 2). V nasledujúcej redukcii môže byť reakčná zmes čistená a skoncentrovaná, a výsledný zvyšok rozpustený v etyléndichloride za vzniku roztoku obsahujúceho alkohol II. Tento roztok môže byť opracovaný tionylchloridom, a následnou koncentraciou. Výsledný zvyšok môže byť potom opracovaný s 1,2-dimetoxyetánom za poskytnutia kryštalickej zlúčeniny III (krok 3).

Schéma VIII



V schéme VIII, krok 4, 4-benzyloxypropiofenón je bromovaný v kyseline octovej s brómom. Keď je reakcia ukončená, do zmesi sa pridá voda a výsledná zrazenina je premytá zriedenou kyselinou octovou, vodou a heptánom. Výsledná tuhá látka je sušená za vzniku zlúčeniny IV hydrochloridu 4-benzyloxyanilínu. V kroku 5 zmes zlúčeniny IV, *N,N*-diizopropyletylamínu a toluénu sa zohriala za refluxu za odstránenia vody. Keď sa reakcia ukončí, zmes sa môže ochladiť a zriediť s metanolom. Tuhý produkt môže byť zhromaždený, premytý s metanolom a sušený za vzniku indolovej zlúčeniny V. Zmes zlúčeniny V a III môže byť zmiešaná v kroku 6 s *tert*-butoxidom sodným v *N,N*-dimetylformamide a miešaná až kým reakcia nie je ukončená. Potom k zmesi sa môže pridať soľanka a zmes sa môže extrahovať s toluénom. Extrakty sú koncentrované a zvyšok je zriedený metanolom. Zvyšná tuhá látka môže byť ochladená, rozpustená v etylacetáte, čistená a zriedená s metanolom. Tuhá látka môže byť zozbieraná s tohto roztoku a sušená za vzniku zlúčeniny VI.

V kroku 7 (neznázornený) zlúčenina VI v roztoku etanolu môže byť hydrogenovaná s Pd katalyzátorom na uhlí. Na vysvetlenie, hydrogenovaný materiál môže byť zmiešaný s malým množstvom kyseliny askorbovej a ošetrený kyselinou octovou. Výsledná kryštalická zrazenina môže byť ochladená, premytá etanolom a sušená za vzniku finálneho produktu, hydrochloridu 1-[4-(2-azepán-1-yletoxy)ben-

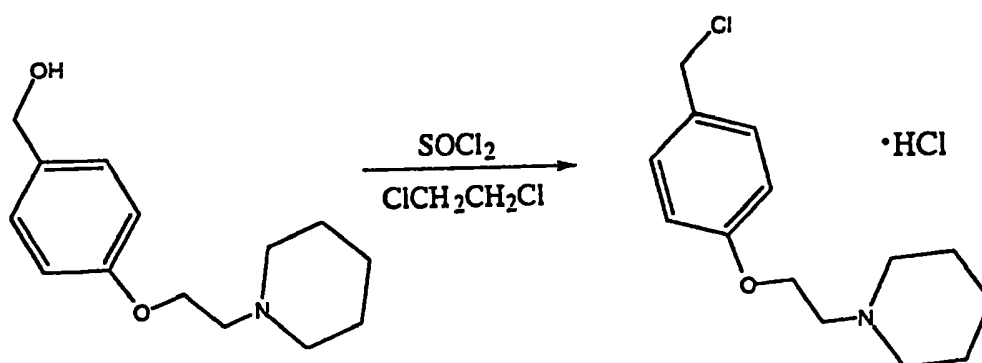
zyl]-2-(4-hydroxyfenyl)-3-metyl-1*H*-indol-5-olu. Produkt môže byť rekrystalizovaný z etanolu, prípadne obsahujúci malé množstvo kyseliny askorbovej, výhodne napríklad približne 0,5 % hmotnostných až približne 3,0 % hmotnostných.

V opise uvedenom vyššie, medziprodukty III až VI môžu byť ľahko izolované ako tuhé látky. Všetky ďalšie medziprodukty môžu byť výhodnejšie použité ako roztoky v organických rozpúšťadlách.

Schémy IX až XII znázorňujú príklady syntézy 2-(4-hydroxyfenyl)-3-metyl-1-[4-(2-piperidín-1-yl-etoxy)benzyl]-1*H*-indol-5-olu za použitia medziproduktov podľa tohto vynálezu. Schéma IIa, opísaná vyššie, môže byť považovaná ako krok 1 v schéme IX alebo ako predchádzajúci krok. V tomto kroku 4-hydroxybenzylalkohol je opracovaný s vhodným arylaminoalkylchloridom za poskytnutia zodpovedajúceho alkoxybenzylalkoholu. V špecifickom prípade schémy IIa, 4-hydroxybenzylalkohol je opracovaný hydrochloridom 1-(2-chlóretyl)piperidínu v prítomnosti  $K_2CO_3/Me_2CO$  za vzniku 4-(2-piperidinyloxy)benzylalkoholu. K výslednej zmesi alkoholu sa môže pridať toluén a soľanka za oddelenia fáz. Toluénová fáza sa môže potom premyť postupne vodným roztokom zásady a potom soľankou. Výsledná zmes môže byť potom koncentrovaná a môže sa pridať etyléndichlorid za vzniku roztoku medziproduktu, 4-(2-piperidinyloxy)benzylalkoholu.

Roztok 4-(2-piperidinyloxy)benzylalkoholu v etyléndichloride sa môže zmiešať s tionylchloridom a zohrievať až kým reakcia nie je dokončená. Po okamžitom ochladení sa zmes môže koncentrovať, opätovné pridanie 1,2-dimetoxyetánu a dodatočná koncentrácia. Zrazenina sa môže ochladiť a sušiť za vzniku medziproduktu hydrochloridu 4-(2-piperidinyloxy)benzylchloridu, ako je znázornené v schéme IX.

Schéma IX



Ako je ukázané v schéme IX, roztok 4-(2-piperidinyloxy)benzylalkoholu môže byť spojený s etyléndichloridom a tionylchloridom a zohrievaný za vytvorenia reakčnej zmesi. Po ochladení, môže byť reakčná zmes opracovaná s 1,2-dimetoxyetánom a znova koncentrovaná. Výsledná zrazenina hydrochloridu 4-(2-piperidinyloxy)benzylchloridu sa potom zhromaždí a suší.

Schéma X

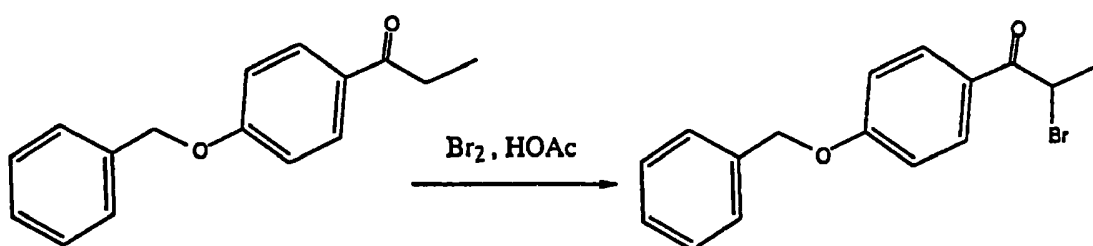
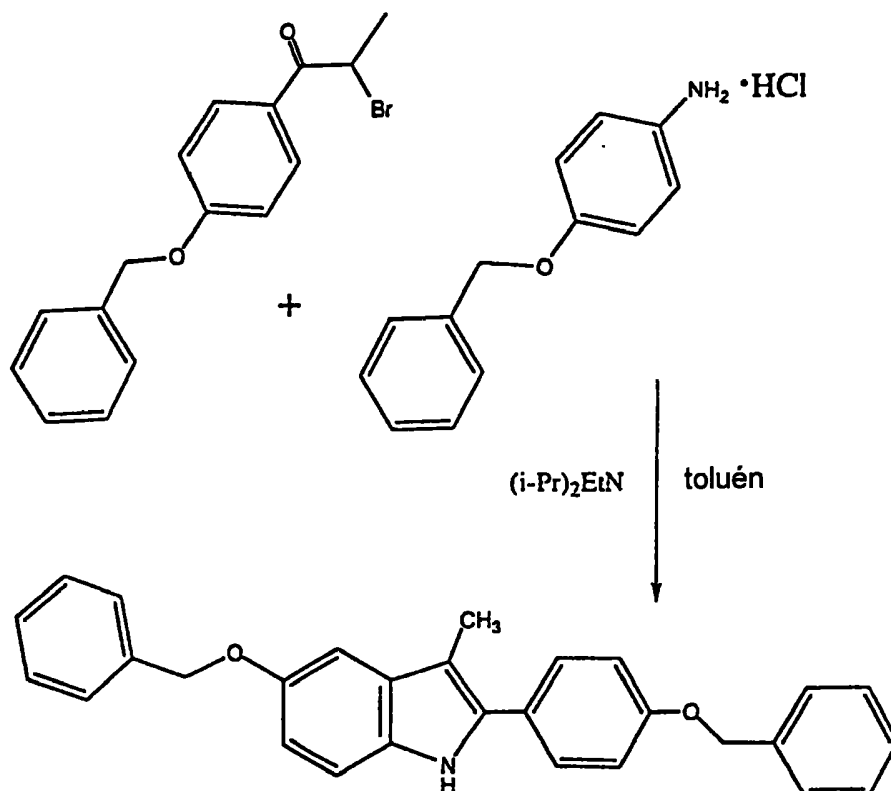


Schéma X znázorňuje bromáciu 4-benzyloxypropiofenónu v kyseline octovej s brómom za poskytnutia 4'-(benzyloxy)-2-brómpropiofenónu. Keď reakcia prebehne, stlmí sa vodou. Výsledná zrazenina sa ochladí, premyje zriedenou kyselinou octovou, vodou a heptánom a potom sa vysuší.

Schéma XI



4'-(Benzyloxy)-2-brómpropiofenónový produkt zo schémy X sa zohreje s hydrochloridom 4-benzyloxyanilínu v prítomnosti *N,N*-diizopropyletylamínu a toluénu za refluxu s azeotropickým odstránením vody, ako je znázornené v schéme XI. Keď je reakcia kompletná, zmes sa ochladí a zriedi metanolom. Výsledná tuhá látka 3-metyl-(2-(4-benzyloxy)fenyl)-5-benzyloxyindolu sa zhromaždí, premyje metanolom a suší.

Schéma XII

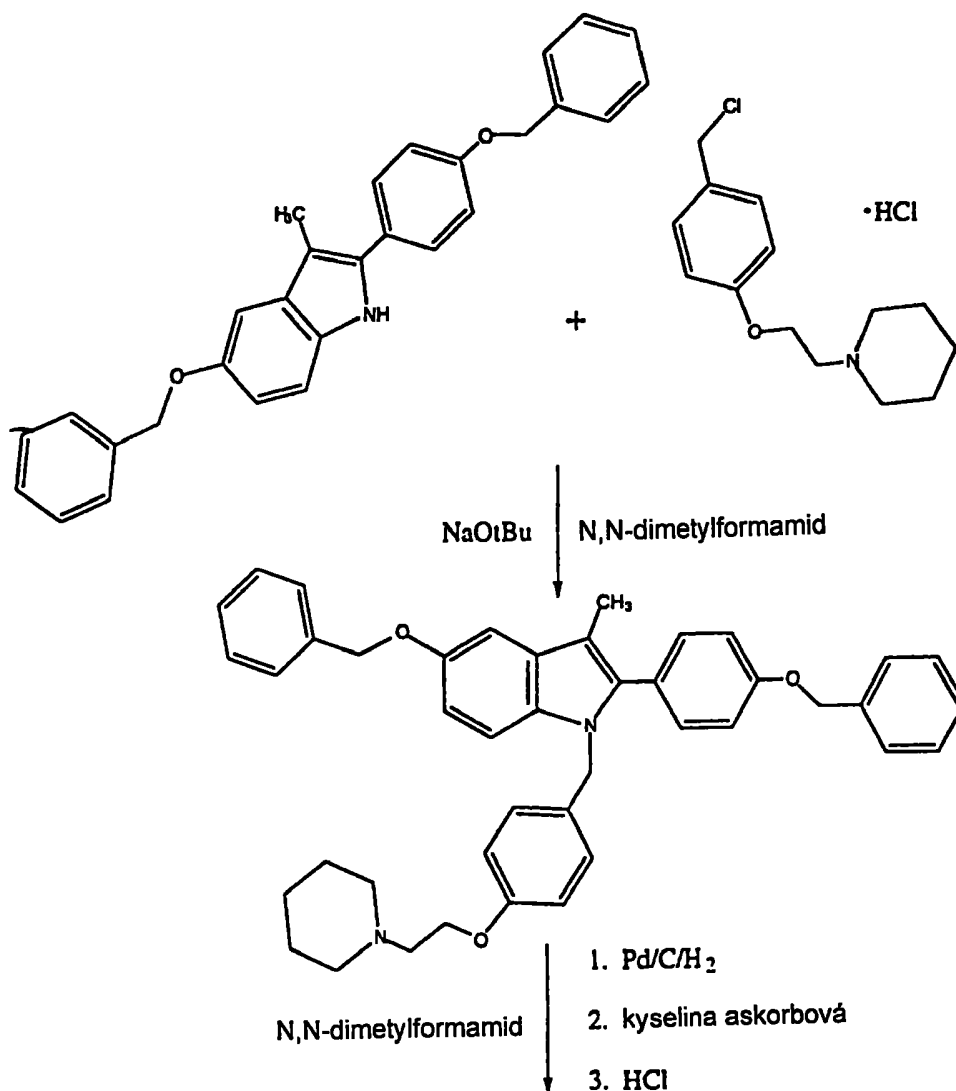
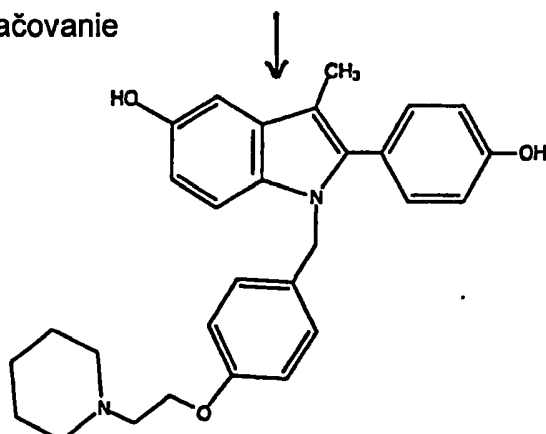


Schéma XII – pokračovanie



3-Metyl-2-(4-benzyloxy)fenyl-5-benzyloxyindolový produkt zo schémy XI potom reaguje s hydrochloridom 4-(2-piperidinyloxy)benzylchloridu v prítomnosti *tert*-butoxidu sodného v *N,N*-dimetylformamide. K výslednej zmesi sa pridá soľanka na stlmenie reakcie a zmes sa nakoniec extrahuje toluénom. Nasleduje čistenie, extrakty sa koncentrujú a zriedia metanolom. Výsledná tuhá látka 5-benzyloxy-2-(4-benzyloxyfenyl)-1-[4-(2-piperidín-1-yl-etoxy)benzyl]-1*H*-indol sa zhromaždí, rozpustí v etylacetáte, zriedi metanolom a potom sa suší. Táto tuhá látka sa rozpustí v etanol/tetrahydrofuráne a hydrogenuje sa použitím Pd katalyzátora na uhlí. Roztok sa potom čistí, prípadne sa zmieša s malým množstvom kyseliny askorbovej a potom sa ošetrí vodným roztokom HCl. Zrazenina sa potom zhromaždí, premyje etanol/tetrahydrofuránom a vodou a suší sa poskytnutia konečného produktu 2-(4-hydroxyfenyl)-3-metyl-1-[4-(2-piperidín-1-yl-etoxy)benzyl]-1*H*-indol-5-olu.

#### Príklad 11

5-(Benzyloxy-2-(4-benzyloxyfenyl)-3-metyl-1-[4-(2-piperidín-1-yl-etoxy)benzyl]-1*H*-indol

K roztoku 5-benzyloxy-2-(4-benzyloxyfenyl)-3-metyl-1*H*-indolu (117,5 g, 0,28 mol, 1,0 ekvivalent) v DMF (1,3 l) sa pridá po častiach NaH (28,0 g, 60% disperzia v oleji, 0,7 mol, 2,5 ekvivalentov) pri -5 až -8 °C počas 1 hodiny. Reakčná zmes sa miešala 2 hodiny. Potom sa po kvapkách pridá roztok chloridu z príkladu 8 v THF (1,0 l) pri teplote -10 až 0 °C počas 2 hodín. Reakčná zmes sa ďalej miešala pri 25 °C 2 cez noc. V tomto bode TLC preukázala len produkt bez východiskového materiálu EtOAc/hexán 1:5). Reakčná zmes sa zriedila vodou (6 l), extrahovala sa

EtOAc (2 x 3 l) a sušila nad MgSO<sub>4</sub>. Roztok sa skoncentroval na 1 l, čistil v MeOH (2,5 l) a miešal sa 1 hodinu. Zrazenina sa prefiltrovala a sušila za vzniku zlúčeniny uvedenej v názve (129 g, 73 %).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>/TMS): 7,64 – 6,63 (m, 21H), 5,12 (s, 2H), 5,09 (s, 2H), 5,07 (s, 2H), 4,07 (t, 2H, J = 6,06 Hz), 2,72 (t, 2H, J = 6,06 Hz), 2,48 (m, 4H), 2,24 (s, 3H), 1,62 – 1,24 (m, 6H).

#### Príklad 12

5-(Benzyloxy-2-(4-benzyloxyfenyl)-3-metyl-1-[4-(2-hexametylénimín-1-yl-etoxy)-benzyl]-1*H*-indol

K suspenzii NaH (20,0 g, 60% olejová disperzia, 0,5 mol, 2,5 ekvivalentov) sa pridal roztok 5-benzyloxy-2-(4-benzyloxyfenyl)-3-metyl-1*H*-indolu (84 g, 0,2 mol, 1,0 ekvivalent) v DMF (100 ml) pri 0 až 10 °C počas 1 hodiny. Reakčná zmes sa miešala 30 minút. Potom sa po kvapkách pridal roztok chloridu z príkladu 9 (67 g, 0,22 mol, 1,1 ekvivalent) v DMF (200 ml) pri teplote 0 až 10 °C počas 2 hodín. Reakčná zmes sa ďalej miešala pri 25 °C 2 hodiny. V tomto bode TLC preukázala najmä produkt bez východiskového materiálu EtOAc/hexán 1:5). Reakčná zmes sa zriedila vodou (1 l), extrahovala sa EtOAc (3 x 1 l) a sušila nad MgSO<sub>4</sub>. Roztok sa skoncentroval na 150 ml, čistil v MeOH (750 ml) a miešal sa cez noc. Zrazenina sa prefiltrovala a sušila za vzniku zlúčeniny uvedenej v názve (99 g, 76 %).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>/TMS): 7,48 – 6,74 (m, 21H), 5,13 (s, 2H), 5,11 (s, 2H), 5,09 (s, 2H), 4,00 (t, 2H, J = 6,24 Hz), 2,91 (t, 2H, J = 6,27 Hz), 2,75 (m, 4H), 2,24 (s, 3H), 1,71 – 1,52 (m, 8H).

#### Príklad 13

5-(Benzyloxy-2-(4-benzyloxyfenyl)-3-metyl-1-[4-(2-dimetylaminoetoxy)benzyl]-1*H*-indol

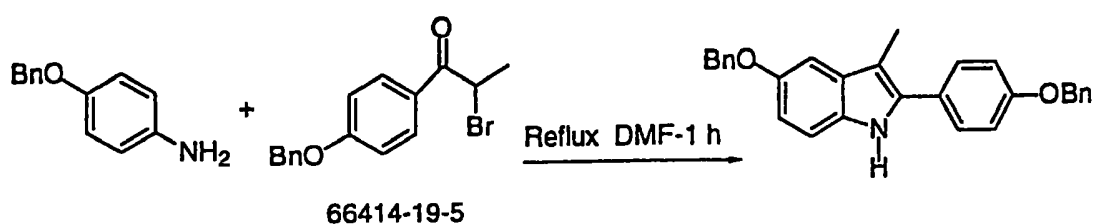
K suspenzii NaH (1,1 g, 60% olejová disperzia, 0,05 mol, 2,5 ekvivalentov) sa pridal roztok 5-benzyloxy-2-(4-benzyloxyfenyl)-3-metyl-1*H*-indolu (6,97 g, 0,017 mol, 1,0 ekvivalent) v DMF (100 ml) pri 0 až 10 °C počas 0,5 hodiny. Reakčná zmes sa

miešala 30 minút. Potom sa po častiach pridal roztok chloridu z príkladu 10 (4,57 g, 0,018 mol, 1,1 ekvivalent) pri teplote 0 až 10 °C počas 2 hodín. Reakčná zmes sa ďalej miešala pri 25 °C 0,5 hodiny. V tomto bode TLC preukázala najmä produkt bez východiskového materiálu EtOAc/hexán 1:5). Reakčná zmes sa zriedila vodou (200 ml), extrahovala sa EtOAc (3 x 200 ml) a sušila nad MgSO<sub>4</sub>. Roztok sa skoncentroval na 150 ml, čistil v MeOH (300 ml) a miešal sa cez noc. Zrazenina sa prefiltrovala a sušila za vzniku zlúčeniny uvedenej v názve (5,6 g, 53 %).

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>/TMS): 7,50 – 6,66 (m, 21H), 5,13 (s, 2H), 5,11 (s, 2H), 5,09 (s, 2H), 3,99 (t, 2H, J = 5,76 Hz), 2,69 (t, 2H, J = 5,73 Hz), 2,31 (s, 6H), 2,42 (s, 3H).

#### Príklad 14

##### 5-Benzyloxy-2-(4-benzyloxyfenyl)-3-metyl-1H-indol



Do banky sa vložil 4-(benzyloxyanilín (45 g, 0,23 mol), 4'-benzyloxy-2-bróm-fenylpropiofenón (66414-19-5) (21 g, 0,066 mol) a 50 ml DMF. Reakčná zmes sa zohriala do refluxu počas 30 minút, potom sa ochladila na teplotu miestnosti a potom sa rozdelila medzi 250 ml EtOAc a 100 ml 1N HCl (vodný roztok). EtOAc fáza sa premyla NaHCO<sub>3</sub> (vodný roztok) a soľankou a sušila nad MgSO<sub>4</sub>. Roztok sa skoncentroval a pridal sa zvyšok vybraný z CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> a hexány za vzniku 25 g surovej tuhej látky. Tuhá látka sa rozpustila v CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> a odparila na silikagéli a chromatografia za použitia CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/hexán (1:5) poskytla 9,2 g svetlohnedej tuhej látky (33 %). Teplota topenia 150 až 152 °C.

<sup>1</sup>H NMR (DMSO): 10,88 (s, 1H), 7,56 (d, 2H, J = 8,8 Hz), 7,48 (d, 4H, J = 7,9 Hz), 7,42 – 7,29 (m, 6H), 7,21 (d, 1H, J = 7,0 Hz), 7,13 (d, 2H, J = 8,8 Hz), 7,08 (d, 1H, J = 2,2 Hz), 6,94 (dd, 1H, J = 8,8, 2,4 Hz), 5,16 (s, 2H), 5,11 (s, 2H), 2,33 (s, 3H);

IR (KBr): 3470, 2880, 2820, 1620 cm<sup>-1</sup>;

MS (EI) m/z 419.

### Príklad 15

#### 2-(4-Hydroxyfenyl)-3-metyl-1-[4-(2-piperidín-1-yl-etoxy)benzyl]-1*H*-indol-5-ol

Suspensia 10% Pd/C (1,1 g) v EtOH sa opracovala roztokom zlúčeniny z názvu príkladu 11 (2,2 g, 3,4 mmol) v THF/EtOH. Pridal sa cyklohexadién (6,0 ml, 63 mmol) a reakcia sa miešala 48 hodín. Katalyzátor sa prefiltraval cez celit a reakčná zmes sa skoncentrovala a chromatografovala na silikagéli za použitia elučného gradientu MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:19 až 1:10) za vzniku 0,8 g produktu ako bielej tuhej látky s teplotou topenia 109 až 113 °C.

CHN vypočítané pre C<sub>29</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> + 0,5 H<sub>2</sub>O;

<sup>1</sup>H NMR 9.64 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 7.14 (d, 2H, J = 8,6 Hz), 7.05 (d, 1H, J = 8,6 Hz), 6.84 (d, 2H, J = 8,8 Hz), 6.79 (d, 1H, J = 2,2 Hz), 6.74 (s, 4H), 6.56 (dd, 1H, J = 8,8, 2,4 Hz), 5.09 (s, 2H), 3.95 – 3.93 (m, 2H), 2.60 – 2.51 (m, 2H), 2.39 – 2.38 (m, 4H), 2.09 (s, 3H), 1.46 – 1.45 (m, 4H), 1.35 – 1.34 (m, 2H);

IR (KBr): 3350 (br), 2920, 1620, 1510 cm<sup>-1</sup>;

MS (EI) m/z 456.

#### Skúška viazania na estrogénový receptor *in vitro*

##### Príprava receptora

CHO bunky s nadexpresiou estrogénového receptora sa pestovali v 150 mm<sup>2</sup> miskách s fetálnym telacím sérom očisteným DMEM + aktívne uhlie pokryté 10 % hmotnostnými dextransmi. Platne sa premyli dvakrát s PBS a jeden krát s 10 mmol/l Tris-HCl, pH 7,4, 1 mmol/l EDTA. Bunky sa odobrili zoškrabaním povrchu a potom sa bunková suspenzia umiestnila na fad. Bunky sa rozbili v motorovom mlyne na tkanivá za použitia dvoch 10 sekundových zapnutí mlyna. Surový preparát sa centrifugoval pri 12 000 g počas 20 minút, po čom nasledovalo 60 minút odstredovania pri 100 000 g, čím sa vytvoril cytozol bez ribozómov. Cytozol sa potom zmrazil a uložil pri -80 °C. Koncentrácia proteínu cytozolu sa odhadla pomocou BCA skúšky s referenčným štandardným proteínom.

### Podmienky skúšky viazania

Kompetitívna skúška sa uskutočnila na 96 kalíškovvej platni (polystyrén\*), ktorá viazala <2,0 % hmotnostné celkového vstupného [<sup>3</sup>H]-17- $\alpha$ -estradiolu a všetky dátové hodnoty sa zberali trikrát. Na jeden kalíšok sa použilo alikvótne množstvo 100  $\mu$ G/100  $\mu$ l receptorového prípravku. Pridala sa sýtiaca dávka 2,5 nmol/l [<sup>3</sup>H]-17- $\alpha$ -estradiolu + kompetítor (alebo pufor) v objeme 50  $\mu$ l v predbežnom meraní, keď sa hodnotil 100-násobok a 500-násobok kompetítora, použilo sa len 0,8 nmol/l [<sup>3</sup>H]-17- $\alpha$ -estradiolu. Platňa sa inkubovala pri laboratórnej teplote počas 2,5 hodiny. Na konci tejto inkubačnej doby sa pridalo do každého kalíška 150  $\mu$ l ľadovo studeného dextránu naneseného na aktívnom uhlí (5 % hmotnostných aktívneho uhlia s naneseným 0,05 % 69K dextránom) a platňa sa ihneď centrifugovala pri 99 g 5 minút pri 4 °C. Potom sa odobralo 200  $\mu$ l roztoku supernatantu na scintilačné meranie. Vzorky sa merali tak, aby chyba bola 2 % alebo 10 minút, podľa toho čo sa dosiahlo prvé. Pretože polystyrén absorbuje malé množstvo [<sup>3</sup>H]-17- $\alpha$ -estradiolu, na kvantifikovanie množstiev dostupného izotopu boli zároveň merané kalíšky obsahujúce rádioaktivitu a cytozol, ale nespracované aktívnym uhlím. Na vyhodnotenie neodstrániteľného DPM [<sup>3</sup>H]-17- $\alpha$ -estradiolu boli tiež spracované kalíšky obsahujúce rádioaktivitu, ale nie cytozol. Boli použité 96 kalíškové platne Corning #25880-96 pretože sa zistilo, že viažu najmenšie množstvo estradiolu.

### Analýza výsledkov

Počty impulzov za minútu (CPM) rádioaktivity sa automaticky konvertovali na rozpady za minútu (DPM) pomocou Beckman LS 7500 Scintillation Counter za použitia sady zhášaných štandardov na generovanie H# pre každú vzorku. Na výpočet % viazania estradiolu v prítomnosti 100 alebo 500 násobku kompetítora sa použil nasledujúci vzorec:

$$\% \text{ viazania estradiolu} = \frac{(\text{DPM vzorky} - \text{DPM nezachytený aktívnym uhlím})}{(\text{DPM estradiolu} - \text{DPM nezachytený aktívnym uhlím})} \times 100 \%$$

Na generovanie kriviek IC<sub>50</sub> sa zaznamenala závislosť % viazania od látky. Hodnoty IC<sub>50</sub> sa generovali pre látky, ktoré vykazovali >30 % kompetície pri 500-násobku koncentrácie kompetítora. Opis týchto metód pozri v publikácii Hulme, E.C., a ďalší. 1992. Receptor-Ligand Interactions: A Practical Approach. IRL Press, New York (zvlášť pozri kapitolu 8). Zmienka v tabuľkách uvedených nižšie pre zlúčeninu z príkladu 1 odkazuje na konečný produkt 2-(4-hydroxyfenyl)-3-metyl-1-[4-(2-piperidín-1-yl-etoxy)benzyl]-1*H*-indol-5-ol.

Afinita estrogénového receptora (zaznamenaná ako RBA: 17- $\alpha$ -estradiol=100)

Zlúčenina	RBA
Raloxifen	200
Tamoxifen	1,8
Equilin	5,3
Príklad 15	400

Skúška alkalické fosfatázy Ishikawových buniek

Udržiavanie a opracovanie buniek

Ishikawove bunky sa udržiavali v DMEM/F12 (50%:50%) obsahujúcom fenolovú červenú + 10 % hmotnostných fetálneho teľacieho séra a médium bolo doplnené s 2 mmol/l Glutamaxu, 1 % hmotnostným Pen/Strap a 1 mmol/l pyruvátom sodným. Päť dní pred začiatkom každého experimentu (opracovanie buniek) sa médium vymenilo za sérum očistené aktívnym uhlím pokrytým 10 % hmotnostnými dextransu, s DMEM/F12 bez fenolovej červenej. V deň pred opracovaním sa bunky zozbierali za použitia 0,5 % hmotnostných trypsínu/EDTA a naniesli sa na platne s hustotou 10<sup>4</sup> buniek/kalíšok na 96 kalíškové platne na pestovanie tkanivových kultúr. Testovaná zlúčenina sa dávkovala s koncentráciami 10<sup>-6</sup>, 10<sup>-7</sup> a 10<sup>-8</sup> mol/l a okrem toho 10<sup>-6</sup> mol/l (zlúčenina) + 10<sup>-9</sup> mol/l 17 $\alpha$ -estradiol na vyhodnotenie schopnosti látok pôsobiť ako antiestrogény. Bunky sa opracovali 48 hodín pred

skúškou. Každá 96 kališková platňa obsahovala kontrolnú vzorku 17 $\alpha$ -estradiolu. Počet vzoriek pre každú dávku bol n = 8.

#### Skúška alkalickéj fosfatázy

Na konci 48 hodín sa médium odsalo a bunky sa premyli trikrát so soľankou pufovanou fosfátom (PBS). Do každého kališka sa pridalo 50  $\mu$ l rozpúšťacieho pufru (0,1 mol/l Tris-HCl, pH 9,8, 0,2 % hmotnostného Triton X-100). Platne sa umiestnili do -80 °C na najmenej 15 minút. Platne sa rozmrazili pri 37 °C, po čom nasledovalo pridanie 150  $\mu$ l 0,1M Tris-HCl, pH 9,8, ktorý obsahoval 4 mmol/l *para*-nitrofenylfosfátu (pNPP) do každého kališka (konečná koncentrácia, 3 mmol/l pNPP). Výpočty absorbancie a smernice sa uskutočnili pomocou programu Kinetic-Calc Application (Bio-Tek Instruments, Inc., Winooski, VT). Výsledky sú vyjadrené ako stredná hodnota +/- štandardná odchýlka rýchlosti enzýmovej reakcie (smernica) určené v lineárnej časti kinetickej reakčnej krivky (odčítanie optickej hustoty každých 5 minút pre 30 minútové absorbančné meranie). Výsledky sú pre tieto zlúčeniny sumarizované ako percento odozvy vzťahnuté na 1 nmol/l 17 $\alpha$ -estradiolu. Estrogénová aktivita sa skúšala metódou alkalickéj fosfatázy pre rôzne látky a vypočítali sa zodpovedajúce ED50 hodnoty (95 % interval spoľahlivosti).

Ďalej uvedené štyri látky sa použili ako referenčné štandardy:

17 $\alpha$ -estradiol	0,03 nmol/l	17 $\alpha$ -estradiol	1,42 nmol/l
estriol	0,13 nmol/l	estrón	0,36 nmol/l

Opis týchto metód je uvedený v publikácii Holinka, C. F., Hata, H., Kuramoto, H a Gulpide, E. (1986) Účinky steroidných hormónov a antisteroidov na aktivitu alkalickéj fosfatázy u ľudských endometriálnych rakovinových buniek (Ishikawov kmeň). *Cancer Research*, 46: 2771 až 2774, a Littlefield, B. A., Gulpide, E., Markievicz, L., McKinley, B. a Hochberg, R. B. (1990). Jednoduchá a citlivá mikrotitračná estrogénová bioskúška založená na stimulácii alkalickéj fosfatázy u Ishikawových buniek; Estrogénové pôsobenie D5 adrenálnych steroidov. *Endocrinology*, 6: 2757 až 2762.

### Skúška alkalickéj fosfatázy Ishikawových buniek

Zlúčenina	% aktivácie
17 $\alpha$ -estradiol	100% aktivácia
Tamoxifen	0% aktivácia (45% s 1 nM 17 $\alpha$ -estradiolu)
Raloxifen	5% aktivácia (5% s 1 nM 17 $\alpha$ -estradiolu)
Príklad 15	1% aktivácia (1% s 1 nM 17 $\alpha$ -estradiolu)

### Skúška 2X VIT ERE transfekcie

#### Udržiavanie a opracovanie buniek

Bunky vaječníkov čínskeho škrečka (CHO), ktoré boli stabilne transfekované s ľudským estrogénovým receptorom sa udržiavali v DMEM + 10 % hmotnostných fetálneho telacieho séra (FBS). 48 hodín pred opracovaním sa rastové médium nahradilo za FBS očistené aktívnym uhlím pokrytým 10 % hmotnostnými dextransu s DMEM bez fenolovej červenej (médium na opracovanie). Bunky sa naniesli na platne s hustotou 5000 buniek/kalíšok na 96-kalíškových platniach, ktoré obsahovali 200  $\mu$ l média/kalíšok.

#### Transfekcia fosforečnanom vápenatým

Informačná DNA (Promega plazmid pGL2 obsahujúci dve tandemové kópie vitellogenínu ERE v prednej časti minimálneho tymidínkinázového promotóra nesúceho luciferázový gén) sa kombinovala s plazmidom pCH110 (Pharmacia) expresie B-galaktozidázy a nosičovou DNA (pTZ18U) v nasledujúcom pomere:

10  $\mu$ G informačnej DNA

5  $\mu$ G pCH110 DNA

5  $\mu$ G pTZ18U

20  $\mu$ G DNA/1 ml transfekčný roztok

DNA (20  $\mu$ G) sa rozpustila v 500  $\mu$ l sterilného roztoku 250 mmol/l CaCl<sub>2</sub> a po kvapkách sa pridala do 500  $\mu$ l 2X HeBS (0,28 mol/l NaCl, 50 mmol/l HEPES, 1,5

mmol/l  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , pH 7,05) a inkubovala sa pri laboratórnej teplote 20 minút. Do každého kalíška buniek sa pridalo 20  $\mu\text{l}$  zmesi a zostala na bunkách počas 16 hodín. Pri konci tejto inkubácie sa zrazenina odstránila, bunky sa premyli médiom, vymenilo sa čerstvé médium na opracovanie a bunky sa opracovali s ďalším vehikulom, 1 nmol/l  $17\alpha$ -estradiolu, 1  $\mu\text{mol/l}$  látky alebo 1  $\mu\text{mol/l}$  látky + 1 nmol/l  $17\alpha$ -estradiolu (testy na estrogénový antagonizmus). Každý spôsob opracovania sa vykonal v 8 kalíškoch ( $n = 8$ ), ktoré sa inkubovali počas 24 hodín pred luciferázovou skúškou.

#### Luciferázová skúška

Po 24 hodinách expozície látkami sa kultivačné prostredie odstránilo a každý kalíšok sa premyl s 2X so 125  $\mu\text{l}$  PBS s chýbajúcimi  $\text{Mg}^{++}$  a  $\text{Ca}^{++}$ . Po odstránení PBS sa do každého kalíška pridalo 25  $\mu\text{l}$  rozpúšťacieho pufru Promega a ponechali sa stáť pri laboratórnej teplote počas 15 minút, nasledovalo 15 minút pri  $-80\text{ }^\circ\text{C}$  a 15 minút pri  $37\text{ }^\circ\text{C}$ . 20  $\mu\text{l}$  lyzátu sa prenieslo a nepriehľadnú 96 kalíškovú platňu na hodnotenie luciferázovej aktivity a zvyšný lyzát (5  $\mu\text{l}$ ) sa použil na vyhodnotenie aktivity B-galaktozidázy (štandardizovaná transfekcia). Luciferanový substrát (Promega) sa pridala v 100  $\mu\text{l}$  alikvótoch do každého kalíška automaticky pomocou luminometra a vytvorené svetlo (relatívne svetelné jednotky) sa odčítalo po 10 sekundách po pridaní.

#### Infekčná luciferázová skúška

Zlúčenina	% aktivácie
$17\alpha$ -estradiol	100% aktivácia
estriol	38% aktivácia
Tamoxifen	0% aktivácia (10% s 1 nM $17\alpha$ -estradiolu)
Raloxifen	0% aktivácia (0% s 1 nM $17\alpha$ -estradiolu)
Príklad 15	0% aktivácia (0% s 1 nM $17\alpha$ -estradiolu)

### B-galaktozidázová skúška

K zostávajúcim 5  $\mu$ l lyzátu sa pridalo 45  $\mu$ l PBS. Potom sa pridalo 50  $\mu$ l pufru na Promega B-galaktozidázovú 2X skúšku, kalíšky sa premiešali a inkubovali sa pri 37 °C 1 hodinu. Pre každý experiment sa pripravila platňa obsahujúca štandardnú krivku (0,1 až 1,5 milijednotiek, s tromi opakovaniami). Platne sa analyzovali pri 410 nm na spektrofotometrickom vyhodnocovacom zariadení na platne Molecular Devices. Optické hustoty sa konvertovali na milijednotky aktivity pomocou matematickej extrapolácie zo štandardnej krivky.

### Analýza výsledkov

Luciferázové údaje sa generovali ako relatívne svetelné jednotky (RLU) akumulované za 10 sekúnd merania a automaticky prenesené na JMP (SAS Inc) záznam, pričom sa odčítalo pozadie v RLU. B-galaktozidázové hodnoty sa automaticky importovali do záznamu a tieto hodnoty sa podelili s RLU jednotkami, aby sa údaje normalizovali. Priemer a štandardná odchýlka sa určili z  $n = 8$  pre každé opracovanie. Aktivita látok sa porovnávala s 17 $\alpha$ -estradiolom na každej platni. Percento aktivity v porovnaní s 17 $\alpha$ -estradiolom sa počítalo za použitia vzorca  $\% = ((\text{estradiol-porovnávacía vzorka})/(\text{látková hodnota})) \times 100$ . Tieto techniky sú opísané v Tzukerman, M. T., Esty, A., Santiso-Mere, D., Danielian, P., Parker, M. G., Stein, R. P, Pike, J. W. a McDonnel, D. P. (1994). Transaktivačná kapacita ľudského estrogénového receptora sa určila pomocou bunkového aj promotórového kontextu a sprostredkovala sa dvoma zreteľnými intramolekulovými oblasťami (pozri Molecular Endocrinology, 8: 21 až 30).

### Uterotrofická/antiuterotropická bioskúška na potkanoch

Estrogénne a antiestrogénne vlastnosti látok sa určili v uterotrofickej skúške nedospelých potkanov (4 dni) tak, ako bolo opísané vyššie v L. J. Black a R. L. Goode, Life Science, 26, 1453 (1980)). Nedospelé potkany Sprague-Dawley (samice, 18 dní staré) sa testovali v skupinách po šesť. Zvieratá sa opracovali denne ip injekciou s 10  $\mu$ G látky, 100  $\mu$ G látky, (100  $\mu$ G látky + 1  $\mu$ G 17 $\alpha$ -estradiolu) na kontrolu antiestrogenicity a 1  $\mu$ G 17 $\alpha$ -estradiolu, s 50 % DMSO/50 % soľanky

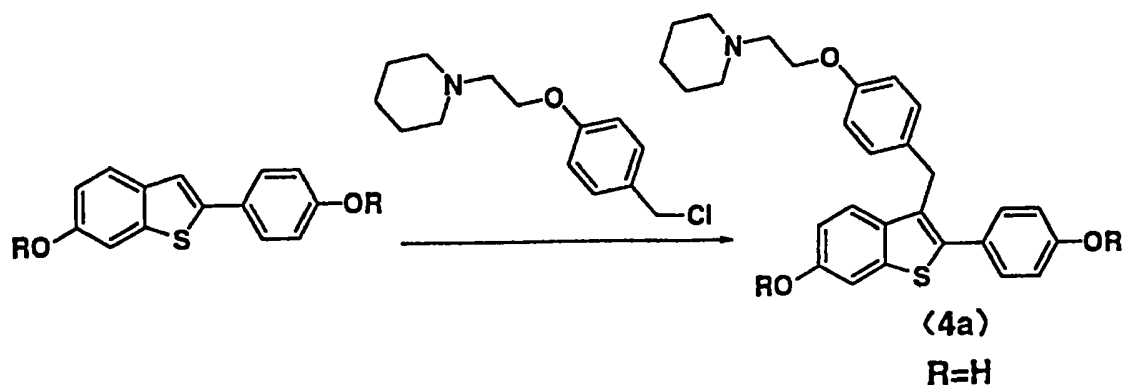
ako injekčným vehikulom. V deň 4 sa zvieratá usmrtili pomocou asfyxie CO<sub>2</sub> a ich maternice sa vybrali a premyli prebytkom lipidu, odstránila sa kvapalina a zistila sa vlhká hmotnosť maternice. Malá časť z jedného rohu sa podrobila histológii a zvyšok sa použil na izolovanie celkovej RNA na vyhodnotenie doplnkovej zložky 3 génovej expresie.

### 3-dňový model na ovarioktomizovaných potkanoch

Zlúčenina	10 µG	100 µG
Tamoxifén	69,6 mg	71,4 mg
Raloxifén	47,5 mg	43,2 mg
kontrolná vzorka = 42,7 mg		1 µG 17α-estradiol = 98,2 mg

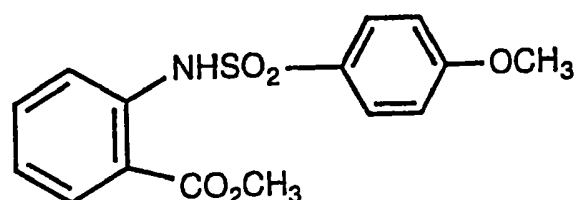
Zlúčenina	10 µG	100 µG	100 µG + 1 µG 17α-estradiol
Príklad 15	39,9 mg	27,4 mg	24,3 mg
kontrolná vzorka = 30,7 mg		1 µG 17α-estradiol = 63,2 mg	

Zlúčenina Raloxifen hydrochlorid [2-(4-hydroxyfenyl)-6-hydroxybenzo[b]tien-3-yl][4-(1-piperidinyloxy)fenylmetanónu je zástupcom triedy zlúčenín známych ako selektívne modulátory estrogénového receptora, ktoré majú podobný účinok ako estrogénové antagonisty na úbytok kostnej hmoty a vretencové lipidy, hoci prejavujú estrogénový antagonizmus v maternici a prsníkovom tkanive. Palkowitz a ďalší v J. Med. Chem. 1997, 40, 1407 uvádzajú účinné analógy Raloxifenu, ktoré môžu tiež byť vyrobené za použitia zlúčenín podľa vynálezu. Napríklad opísaná zlúčenina 4a hydrochlorid [2-(4-hydroxyfenyl)-6-hydroxybenzo[b]tien-3-yl]-[4-(1-piperidinyloxy)fenylmetánu môže byť vyrobená podľa všeobecnej schémy uvedenej nižšie.



### Príklad 16

Metylester 2-(4-metoxybenzénsulfonylamino)benzoovej kyseliny

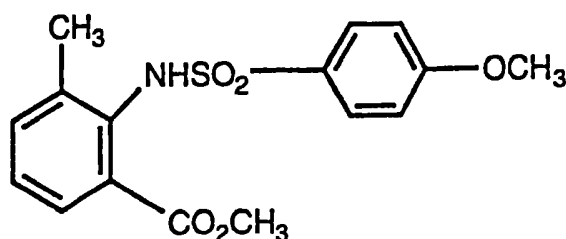


K roztoku 2,00 g (0,013 mmol) metylantranilátu rozpustenému v 20 ml chloroformu sa pridalo 3,2 ml (0,039 mol) pyridínu, potom 2,733 g (0,013 mol) *p*-metoxybenzénsulfonylchloridu. Reakčná zmes sa miešala pri teplote miestnosti 5 hodín a potom sa premyla 3N HCl a vodou. Organická vrstva sa sušila nad Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrovala a koncentrovala vo vákuu. Výsledná biela tuhá látka sa premyla éterom a sušila sa vo vákuu za poskytnutia 3,7 g (87 %) požadovaného sulfónamidu.

CI Hmotnostná spektrometria: 322 (M+H).

### Príklad 17

Metylester kyseliny 2-(4-metoxybenzénsulfonylamino)-3-metylbenzoovej

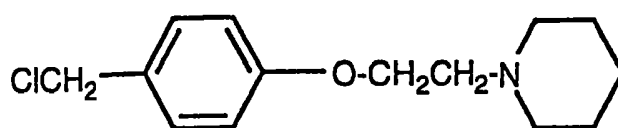


Tým istým spôsobom ako je opísané v príklade 16, 6,24 g (0,038 mol) metyl-3-metylantranilátu poskytuje 6,21 g (49 %) požadovaného sulfónamidu ako bielej tuhej látky.

Elektrospejová hmotnostná spektrometria 336,2 (M+H).

#### Príklad 18

#### 4-(2-Piperidín-1-yl-etoxy)benzylchlorid



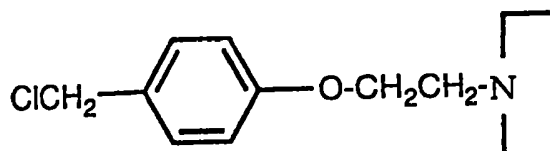
K miešanému roztoku 4-hydroxybenzaldehydu (12,2 g, 0,1 mol) a  $K_2CO_3$  (25 g, prebytok) v *N,N*-dimetylformamide (250 ml) sa pridal monohydrochlorid 1-(2-chlóretyl)piperidínu (20,0 g, 1,08 mol). Reakčná zmes sa zohriala na 80 °C počas 24 hodín a ochladila sa potom na teplotu miestnosti. Reakcia sa stlmila ľadovo studenou vodou a extrahovala sa chloroformom. Organické podiely sa premyli vodou, sušili sa nad bezvodým  $MgSO_4$ , filtrovali a koncentrovali sa vo vákuu. Zvyšok sa rozpustil v metanole a pomaly pri teplote 0 °C sa pridal bórhydrid sodný (10 g, prebytok). Reakčná zmes sa miešala pri teplote miestnosti 2 hodiny a potom sa reakcia utlmila vodou. Alkohol sa extrahoval chloroformom, organické podiely sa dobre premyli vodou, sušili sa nad  $Na_2SO_4$ , prefiltrovali a koncentrovali sa vo vákuu.

Takto získaný surový alkohol sa rozpustil v THF (200 ml) a cez neho sa nechal prechádzať 30 minút pri 0 °C plynný HCl. K takto získanej suspenzii hydrochloridu sa pomaly pridal tionylchlorid (30 ml, prebytok). Reakčná zmes sa refluxovala 30 minút a potom sa ochladila na teplotu miestnosti. Reakčná zmes sa potom koncentrovala sušením a triturovala s bezvodým éterom. Tuhá zrazenina sa prefiltrovala a sušila za vákuu pri teplote miestnosti za vzniku 25 g (86 %) produktu ako bielej tuhej látky s teplotou topenia 145 až 148 °C.

Elektrospejová hmotnostná spektrometria: 256 (M+H).

Príklad 19

4-(2-*N,N*-dietyloxy)benzylchlorid



K miešanému roztoku 4-hydroxybenzaldehydu (12,2 g, 0,1 mol) a  $K_2CO_3$  (25 g, prebytok) v *N,N*-dimetylformamide (250 ml) sa pridal monohydrochlorid 2-dietylaminoetylu (20,0 g, 1,2 mol). Reakčná zmes sa zohriala na 80 °C počas 24 hodín a ochladila sa potom na teplotu miestnosti. Reakcia sa stlmila ľadovo studenou vodou a extrahovala sa chloroformom. Organické podiely sa premyli vodou, sušili sa nad bezvodým  $MgSO_4$ , filtrovali a koncentrovali sa vo vákuu. Zvyšok sa rozpustil v metanole a pomaly pri teplote 0 °C sa pridal bórhydrid sodný (10 g, prebytok). Reakčná zmes sa miešala pri teplote miestnosti 2 hodiny a potom sa reakcia utlmila vodou. Alkohol sa extrahoval chloroformom, premyl sa dobre vodou, sušil sa, prefiltroval a koncentroval sa vo vákuu.

Takto získaný surový alkohol sa rozpustil v THF (200 ml) a cez neho sa nechal prechádzať 30 minút pri 0 °C plynň HCl. K takto získanej suspenzii hydrochloridu sa pomaly pridal tionylchlorid (30 ml, prebytok). Reakčná zmes sa refluxovala 30 minút a potom sa ochladila na teplotu miestnosti. Reakčná zmes sa potom koncentrovala sušením a triturovala s bezvodým éterom. Tuhá zrazenina sa prefiltrovala a sušila za vákuu pri teplote miestnosti za vzniku 18 g (65 %) produktu ako bielej tuhej látky s teplotou topenia 76 až 79 °C.

Elektrosprejová hmotnostná spektrometria: 244 (M+H).

Príklad 20

*N*-Hydroxy-2-[[4-metoxyfenyl)sulfonyl]-[[4-[2-(1-piperidiny)etoxy]fenyl]metyl]-amino]-3-metylbenzamid

K roztoku 1,00 g (2,985 mmol) metylesteru 2-(4-metoxybenzénsulfonylamino)-3-metylbenzoovej kyseliny v 5 ml DMF sa pridalo 0,952 g (3,284 mmol) 4-(2-piperidín-1-yl-etoxy)benzylchloridu a 1,65 g (11,9 mmol) uhličitanu draselného. Reakčná zmes sa miešala pri teplote miestnosti 18 hodín, zriedila sa vodou a extrahovala éterom. Organické podiely sa potom extrahovali 6N roztokom HCl a kyslá vodná vrstva sa potom alkalizovala 6N roztokom NaOH a extrahovala éterom. Výsledná éterová vrstva sa sušila nad síranom sodným, filtrovala sa a koncentrovala vo vákuu za poskytnutia 0,965 g esteru piperidínu ako bezfarebného oleja. Elektroprejová hmotnostná spektrometria: 553,5 (M+H)<sup>+</sup>.

K roztoku 0,889 g (1,611 mmol) esteru piperidínu v 7 ml THF sa pridalo 0,203 g monohydrátu hydroxidu lítneho. Výsledná zmes sa zohriala do refluxu počas 15 hodín a potom sa koncentrovala vo vákuu do vzniku tuhého zvyšku. Zvyšok sa zriedil vodou, neutralizoval sa 5% roztokom HCl a extrahoval sa dichlórmetánom. Organická vrstva sa sušila nad Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrovala a koncentrovala sa vo vákuu za poskytnutia 0,872 g karboxylovej kyseliny ako bielej peny. Elektrosprejová hmotnostná spektrometria: 539,2 (M+H)<sup>+</sup>.

K roztoku 0,814 g (1,513 mmol) karboxylovej kyseliny v 10 ml DMF sa pridalo 0,245 g (1,82 mmol) HOBT a 0,386 (2,01 mmol) EDC. Reakčná zmes sa miešala potom 1 hodinu pri teplote miestnosti a pridalo sa 0,46 ml (7,57 mmol) 50% roztoku hydroxylamínu vo vode. Reakčná zmes sa miešala cez noc a potom sa koncentrovala vo vákuu do zostatku usadeniny. Zvyšok sa zriedil EtOAc, premyl sa vodou a roztokom hydrogenuhličitanu sodného, sušil sa nad Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtroval sa a koncentroval vo vákuu do zvyšku. Zvyšok sa rozpustil v 5 ml dichlórmetánu a pridalo sa 0,69 ml 1N roztoku HCl v éteri. Po 1 hodine sa reakčná zmes zriedila s éterom a tuhý zvyšok sa prefiltraval a sušil vo vákuu za vzniku 0,179 g hydroxamátamínovej soli. Elektrosprejová hmotnostná spektrometria: 554,5 (M+H)<sup>+</sup>.

#### Príklad 21

2-[[4-(2-dietylaminoetoxy)benzyl](4-metoxybenzénsulfonyl)amino]-N-hydroxy-3-metylbenzamid

K roztoku 1,00 g (2,653 mmol) metylesteru 2-(4-metoxybenzénsulfonylamino)-3-metylbenzoovej kyseliny v 10 ml DMF sa pridalo 0,811 g (2,918 mmol) 4-(2-*N,N*-dietyloxy)benzylchloridu a 1,5 g (10,9 mmol) uhličitanu draselného. Reakčná zmes sa miešala pri teplote miestnosti 18 hodín, zriedila sa vodou a extrahovala éterom. Organické podiely sa potom extrahovali 6N roztokom HCl a kyslá vodná vrstva sa potom alkalizovala 6N roztokom NaOH a extrahovala éterom. Výsledná éterová vrstva sa sušila nad síranom sodným, filtrovala sa a koncentrovala vo vákuu za poskytnutia 0,575 g (37 %) *N,N*-dietylamoesteru ako svetlohnedej peny. Elektroprejová hmotnostná spektrometria: 583,1 (M+H)<sup>+</sup>.

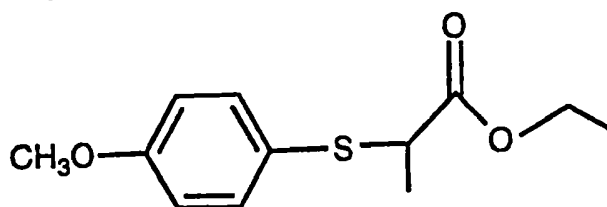
K roztoku 0,539 g (0,926 mmol) *N,N*-dietylamoesteru v dichlórmetáne sa pridali 2 ml trifluóroctovej kyseliny. Reakčná zmes sa miešala pri teplote miestnosti 2 hodiny a potom sa koncentrovala do zvyšku vo vákuu. Zvyšok sa trituroval s éterom a tuhý zvyšok sa zhromaždil filtráciou a sušil sa vo vákuu za vzniku 0,369 g karboxylovej kyseliny ako tuhej látky. Elektrosprejová hmotnostná spektrometria: 525,2 (M-H)<sup>-</sup>.

K roztoku 0,328 g (0,513 mmol) karboxylovej kyseliny v 6,5 ml dichlórmetánu sa pridalo 0,12 ml DMF, potom 0,77 ml 2,0M oxalylchloridu v CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> a reakčná zmes sa miešala pri teplote miestnosti 1 hodinu.

V samostatnej nádobe sa pri 0 °C pridalo k zmesi 0,47 ml (7,7 mmol) 50% roztoku hydroxylamínu vo vode, 8 ml THF a 1,7 ml vody. Potom táto zmes sa miešala 15 minút pri 0 °C, a k tomu sa pridali po častiach roztok HCl výsledný roztok sa nechal miešať cez noc pri teplote miestnosti. Reakčná zmes sa potom okysliila na pH 3 10% HCl a extrahovala sa EtOAc. Spojené organické vrstvy sa sušili nad Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, prefiltrovali a koncentrovali vo vákuu do zvyšku. Zvyšok sa trituroval s éterom za poskytnutia 0,194 g hydroxamátaminovej soli ako bielej tuhej látky. Elektrospejová hmotnostná spektrometria: 542,3 (M+H)<sup>+</sup>.

## Príklad 22

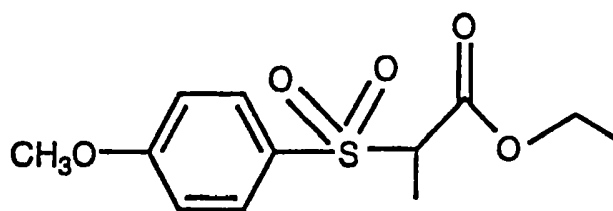
Etylester 2-(4-metoxyfenylsulfanyl)propiónovej kyseliny



K miešanej zmesi 4-metoxybenzéntiolu (2,5 g, 14 mmol) a bezvodého  $K_2CO_3$  (4,0 g, prebytok) v suchom acetóne (100 ml) v banke s guľatým dnom sa pridal etyl-2-brómpropionát (3,0 g, 16 mmol) a reakčná zmes sa zahrievala do refluxu 8 hodín za dobrého miešania. Na konci reakcie sa reakčná zmes ochladila, prefiltrovala a koncentrovala do zvyšku. Zvyšok sa extrahoval chloroformom a premyl  $H_2O$  a organická vrstva sa sušila nad  $MgSO_4$ , filtrovala a koncentrovala za poskytnutia etylesteru 2-(4-metoxyfenylsulfanyl)propiónovej kyseliny ako svetložltého oleja. Výťažok 3,6 g (94 %).

#### Príklad 23

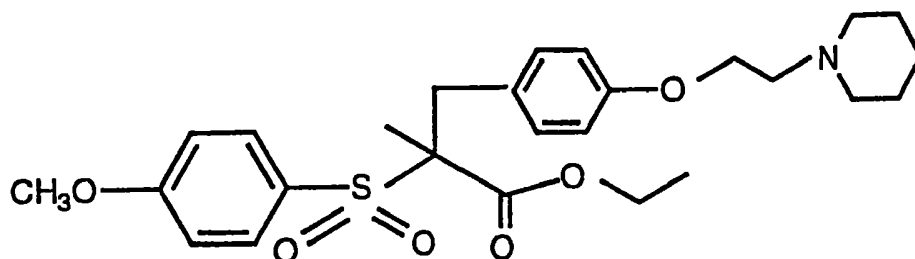
Etylester 2-(4-metoxybenzénsulfonyl)propiónovej kyseliny



K miešanému roztoku 12,0 g (50 mmol) etylesteru 2-(4-metoxyfenylsulfanyl)propiónovej kyseliny v 300 ml metylénchloridu pri 0 °C sa pomaly pridal na kontrolu exotermickej reakcie. Reakčná zmes sa miešala pri teplote miestnosti 2 hodiny a zriedila sa 600 ml hexánov. Reakčná zmes sa prefiltrovala a filtrát sa zmiešal s 500 ml nasýteného roztoku  $Na_2CO_3$  počas 3 hodín. Organická vrstva sa oddelila, premyla dôkladne vodou, sušila a odparila vo vákuu za vzniku 12 g polotuhej látky.

#### Príklad 24

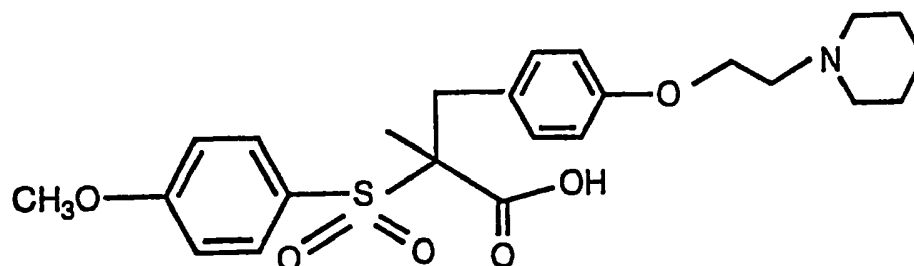
Etylester 2-(4-metoxybenzénsulfonyl)-2-metyl-3-[4-(2-piperidín-1-yl-etoxy)fenyl]propiónovej kyseliny



Miešaná zmes 2,7 g (10 mmol) etylesteru 2-(4-metoxyfenylsulfonyl)-propiónovej kyseliny, 3,03 g (10 mmol) 4-(2-piperidín-1-yl-etoxy)benzylchloridu, 10 g  $K_2CO_3$  a 500 mg 18-crown-6 v 250 ml acetónu sa refluxovala 16 hodín. Na konci sa reakčná zmes filtrovala a acetónová vrstva sa koncentrovala k zvyšku. Zvyšok sa extrahoval chloroformom, premyl sa dôkladne vodou, sušil sa nad bezvodým  $MgSO_4$ , filtroval sa a koncentroval k zvyšku. Získaný zvyšok sa čistil stĺpcovou chromatografiou na stĺpci silikagélu eluovaním s 50% etylacetát-hexány za poskytnutia 4,8 g (92 %) požadovaného produktu ako oleja. MS: 490 (M+H)<sup>+</sup>.

#### Príklad 25

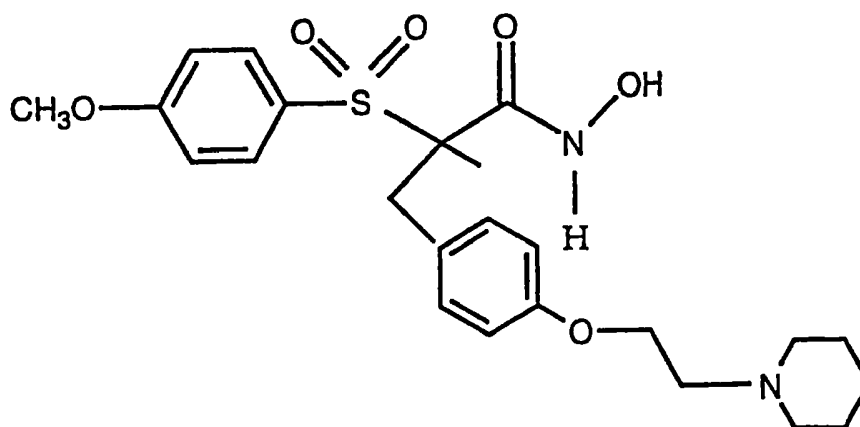
2-(4-Metoxybenzénsulfonyl)-2-metyl-3-[4-(2-piperidín-1-yl-etoxy)fenyl]propiónová kyselina



K miešanému roztoku etylesteru 2-(4-metoxybenzénsulfonyl)-2-metyl-3-[4-(2-piperidín-1-yl-etoxy)fenyl]propiónovej kyseliny (4,9 g, 10 mmol) v metylalkohole sa pridal 10N NaOH (20 ml, prebytok). Reakčná zmes sa miešala pri teplote miestnosti 48 hodín. Na konci sa reakčná zmes koncentrovala a opatrne sa neutralizovala so zriedenou HCl. Získaný zvyšok sa extrahoval chloroformom, premyl sa dôkladne vodou, sušil sa a koncentroval. Získaný produkt sa čistil stĺpcovou chromatografiou na stĺpci silikagélu eluovaním s etylacetát/metanolom (95:5) za poskytnutia produktu ako bezfarebných kryštálov s teplotou topenia 106 °C. MS: 462,5 (M+H)<sup>+</sup>. Výťažok 4,1 g, (88%).

#### Príklad 26

2-(4-Metoxybenzénsulfonyl)-2-metyl-3-[4-(2-piperidín-1-yl-etoxy)fenyl]propiónamid



K miešanému roztoku 2-(4-metoxibenzénsulfonyl)-2-metyl-3-[4-(2-piperidín-1-yl-etoxy)fenyl]propiónovej kyseliny (2,3 g, 5 mmol) DMF (2 kvapky) v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (100 ml) pri 0 °C sa pridal po kvapkách oxalylchlorid (1,2 g, 10 mmol). Po pridaní sa reakčná zmes miešala pri teplote miestnosti 1 hodinu. Súčasne sa v samostatnej banke miešala zmes hydrochloridu hydroxylamínu (3,4 g, 50 mmol) a trietylamínu (10,1 g, 100 mmol) v THF:voda (5:1, 50 ml) pri 0 °C 1 hodinu. Po hodine sa reakčná zmes oxalylchloridu koncentrovala a svetložltý zvyšok sa rozpustil v 10 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  a pomaly sa pridal k hydroxylamínu pri 0 °C. Reakčná zmes sa miešala pri teplote miestnosti 24 hodín a potom sa koncentrovala. Získaný zvyšok sa extrahoval chloroformom a premyl sa dôkladne vodou. Získaný produkt sa čistil stĺpcovou chromatografiou na stĺpci silikagélu eluovaním s etylacetátom. Produkt z príkladu bol izolovaný ako bezfarebná tuhá látka s teplotou topenia 98 °C. Výťažok 48 %.

MS: 477 ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,2 (s, 3H), 3,5 – 1,5 (m, 16H), 3,9 (s, 3H), 4,4 (m, 1H), 6,5 – 7,8 (m, 8H), 10,8 (bs, 1H).

Zlúčeniny podľa vynálezu boli testované na biologickú aktivitu nasledujúcimi spôsobmi.

#### *In vitro* želatinázová skúška

Skúška je založená na štiepení tiopeptidového substrátu ((Ac-Pr-Leu-Gly(2-merkaptó-4-metyl-pentanoyl)-Leu-Gly-OEt), Bachem Bioscience) pomocou enzýmu, želatinázy, čím sa uvoľňuje substrátový produkt, ktorý reaguje kolorimetricky s DTNB ((kyselinou 5,5'-ditio-bis(2-nitrobenzoovou)). Aktivita enzýmu sa merala

pomocou rýchlosti prírastku zafarbenia. Tiopeptidový substrát sa pripravil čerstvý ako 20 mmol/l zásobný roztok v 100% DMSO a DTNB je rozpustený v 100% DMSO ako 100 mmol/l zásobný roztok a uložil sa v tme pri laboratórnej teplote. Aj substrát aj DTNB sa pred použitím spolu zriedili na 1 mmol/l s substrátový pufo (50 mmol/l HEPES pH 7,5, 5 mmol/l CaCl<sub>2</sub>). Zásobný roztok z ľudskej neutrofilnej želatinázy B sa zriedil so skúšobným pufo (50 mmol/l HEPES pH 7,5, 5 mmol/l CaCl<sub>2</sub>, 0,02 % Brij) na konečnú koncentráciu 0,15 nmol/l. Skúšobný pufo, enzým, DTNB/substrát (500 µmol/l konečná koncentrácia) a vehikulum alebo inhibitor sa pridali do 96 kalíškovkej platne (celkový objem reakčnej zmesi z 200 µl) a vzrast zafarbenia sa monitoroval spektrofotometricky počas 5 minút pri 405 nm pomocou zariadenia na čítanie platní. Nakreslil sa graf nárastu OD<sub>405</sub> a vypočítala sa smernica priamky, ktorá predstavuje reakčnú rýchlosť. Potvrdila sa linearita reakčnej rýchlosti ( $r^2 > 0,85$ ). Vypočítal sa priemer ( $\bar{x} \pm$  smerodajná odchýlka priemeru) rýchlosti kontrolnej vzorky a porovnal sa pre štatistickú významnosť ( $p < 0,05$ ) s rýchlosťami vzoriek opracovaných liečivom použitím Dunnettovho mnohonásobného porovnávacieho testu. Vzťahy dávka-odozva sa môžu generovať použitím viacnásobných dávok liečiva a hodnoty IC<sub>50</sub> s 95 % intervalom spoľahlivosti sa odhadli použitím lineárnej regresie (IPRED, HTB). Literatúra: Weingarten, H. a Feder, J., Spectrophotometric assay for vertebrate collagenase, *Anal. Biochem.* 147, 437 - 440 (1985).

#### *In vitro* kolagenázová skúška

Táto skúška je založená na štiepení peptidového substrátu (Dnp-Pro-Gly-Cys(Me)-His-Ala-Lys(NMa)-NH<sub>2</sub>), Peptide International, Inc.) pomocou kolagenázy, pričom sa uvoľní fluorescenčná NMa skupina, ktorá je kvantifikuje fluórometrom. Dnp zhasína NMa fluorescenciu v intaktnom substráte. Skúška prebieha v HCBC testovacím pufo (50 mmol/l HEPES, pH 7,0, 5 mmol/l CaCl<sub>2</sub>, 0,02 % Brij, 0,5 % cysteín), s ľudskou rekombinantnou fibroblastovou kolagenázou (skrátaná, molekulová hmotnosť = 18828, WAR, Radnor). Substrát sa rozpustil v metanole a uskladnil sa zmrazený ako 1 mmol/l alikvóty. Kolagenáza sa uskladnila zmrazená v pufo v 25 mmol/l alikvótoch. Na skúšku sa substrát rozpustil v HCBC pufo na konečnú koncentráciu 10 µmol/l a kolagenáza na konečnú koncentráciu 5 nmol/l. Látky sa rozpustili v metanole, DMSO, alebo HCBC. Metanol a DMSO sa zriedili v

HCBC na < 1,0 %. Látky sa pridali do 96 kališkovej platne obsahujúcej enzým a reakcia sa začala pridaním substrátu. Reakcia sa vyhodnocovala (excitácia 340 nm, emisia 444 nm) počas 10 minút a nárast fluorescencie oproti času sa nakreslil ako priamka. Vypočítala sa smernica priamky a predstavuje reakčnú rýchlosť. Potvrdila sa linearita reakčnej rýchlosti ( $r^2 > 0,85$ ). Vypočítal sa priemer ( $x \pm$  smerodajná odchýlka priemeru) rýchlosti kontrolnej vzorky a porovnal sa pre štatistickú významnosť ( $p < 0,05$ ) s rýchlosťami vzoriek opracovaných liečivom použitím Dunnettovho mnohonásobného porovnávacieho testu. Vzťahy dávka-odozva sa môžu generovať použitím viacnásobných dávok liečiva a hodnoty  $IC_{50}$  s 95 % intervalom spoľahlivosti sa odhadli použitím lineárnej regresie (IPRED, HTB). Literatúra: Bickett, D. M. a spol., A high throughput fluorogenic substrate for interstitial collagenase (MMP-1) and gelatinase (MMP-9), *Anal. Biochem* 212, 58 - 64 (1993).

#### Postup merania TACE inhibície

Použili sa 96-kališkové čierne mikrotitračné platne, každý kališok obsahoval roztok zložený z 10  $\mu$ l TACE (Immunex, konečná koncentrácia 1  $\mu$ g/ml), 70  $\mu$ l Tris pufra, pH 7,4, obsahujúceho 10 % glycerolu (konečná koncentrácia 10 mmol/l), a 10  $\mu$ l roztoku testovanej látky v DMSO (konečná koncentrácia 1  $\mu$ mol/l, DMSO koncentrácia <1 %) a inkuboval sa 10 minút pri laboratórnej teplote. Reakcia sa začala pridaním fluorescenčného peptidylového substrátu (konečná koncentrácia 100  $\mu$ mol/l) do každého kališka a potom pretrepaním v trepačke počas 5 sekúnd. Reakcia sa vyhodnocovala (excitácia 340 nm, emisia 420 nm) počas 10 minút a nárast fluorescencie oproti času sa zakreslil ako priamka. Vypočítala sa smernica priamky a predstavuje reakčnú rýchlosť. Potvrdila sa linearita reakčnej rýchlosti ( $r^2 > 0,85$ ). Vypočítal sa priemer ( $x \pm$  smerodajná odchýlka priemeru) rýchlosti kontrolnej vzorky a porovnal sa pre štatistickú významnosť ( $p < 0,05$ ) s rýchlosťami vzoriek opracovaných liečivom použitím Dunnettovho mnohonásobného porovnávacieho testu. Vzťahy dávka-odozva sa môžu generovať použitím viacnásobných dávok liečiva a hodnoty  $IC_{50}$  s 95 % intervalom spoľahlivosti sa odhadli použitím lineárnej regresie.

Výsledky získané podľa týchto štandardných experimentálnych testovacích postupov sú uvedené v nasledujúcej tabuľke.

Tabuľka

IC<sub>50</sub> (nmol/l alebo % inhibície pri 1 mikromolárnej koncentrácii)

Príklad	MMP 1	MMP 9	MMP 13	TACE
26	238,6	8,9	1,4	41,00 %

Spôsoby merania MMP-1, MMP-9 a MMP-13 inhibície

Skúška je založená na štiepení tiopeptidového substrátu Ac-Pr-Leu-Gly(2-merkaptó-4-metyl-pentanoyl)-Leu-Gly-OEt pomocou matricových metaloproteináz MMP-1, MMP-13 (kolagenázy) alebo MMP-9 (želatinázy), čím sa uvoľňuje substrátový produkt, ktorý reaguje kolorimetricky s DTNB ((kyselinou 5,5'-ditio-bis(2-nitrobenzoovou)). Aktivita enzýmu sa merala pomocou rýchlosti prírastku zafarbenia. Tiopeptidový substrát sa pripravil čerstvý ako 20 mmol/l zásobný roztok v 100% DMSO a DTNB je rozpustený v 100% DMSO ako 100 mmol/l zásobný roztok a uložil sa v tme pri laboratórnej teplote. Aj substrát aj DTNB sa pred použitím spolu zriedili na 1 mmol/l s substrátový pufo (50 mmol/l HEPES pH 7,5, 5 mmol/l CaCl<sub>2</sub>). Zásobný roztok z enzýmu sa zriedil so skúšobným pufrom (50 mmol/l HEPES pH 7,5, 5 mmol/l CaCl<sub>2</sub>, 0,02 % Brij) na požadovanú konečnú koncentráciu. Skúšobný pufo, enzým, vehikulum alebo inhibítor a DTNB/substrát sa pridali do 96 kalíškovkej platne (celkový objem reakčnej zmesi z 200 µl) a vzrast zafarbenia sa monitoroval spektrofotometricky počas 5 minút pri 405 nm pomocou zariadenia čítača platní a nakreslil sa graf nárastu intenzity farby ako lineárna priamka v závislosti od času.

Alebo sa použije fluorescenčný peptidový substrát. V tomto teste peptidový substrát obsahuje fluorescenčnú skupinu a tlmiaču skupinu. Po rozštiepení substrátu pomocou MMP, fluorescencia, ktorá je vytvorená, je kvantitatívne vyjadrená na fluorescenčnom čítači platní. Test prebieha v HCBC skúšobnom pufrí (50 mmol/l HEPES, pH 7,0, 5 mmol/l Ca<sup>+2</sup>, 0,02 % Brij, 0,5 % cysteínu), s ľudským rekombinantným MMP-1, MMP-9 alebo MMP-13. Substrát je rozpustený v metanole

a uchováva sa zamrznutý v 1mM alikvótoch. Pre test sú zriedené substráty a enzýmy v HCBC pufrí na žiadané koncentrácie. Zlúčeniny sú pridané na 96-kalíškovú platňu obsahujúcu enzým a reakcia ja začatá pridaním substrátu. Reakcia prebieha 10 minút a zvyšovanie fluorescencie v závislosti od času je zakreslené ako lineárna priamka.

Pre ktorýkoľvek z tiopeptidového alebo fluorescenčného peptidového testu, sa vypočítal sklon priamky reprezentuje reakčnú rýchlosťou. Potvrdila sa linearita reakčnej rýchlosti ( $r^2 > 0,85$ ). Vypočítal sa priemer ( $x \pm$  smerodajná odchýlka priemeru) rýchlosti kontrolnej vzorky a porovnal sa pre štatistickú významnosť ( $p < 0,05$ ) s rýchlosťami vzoriek opracovaných liečivom použitím Dunnettovho mnohonásobného porovnávacieho testu. Vzťah medzi dávkou a odozvou môže byť generovaný použitím viacnásobných dávok liečiva a hodnoty  $IC_{50}$  s 95% intervalom spoľahlivosti sa odhadli použitím lineárnej regresie.

#### *In vivo* MMP inhibícia

2 cm kúsok dialýznej rúrky (molekulová hmotnosť odrezku je 12000 až 14000, 10 mm dĺžky) obsahujúci matricu metaloproteinázového enzýmu (stromelyzín, kolagenáza alebo želatináza v 0,5 ml pufru) je implantovaný buď ip alebo sc (do chrbta) potkana (Sprague-Dawley, 150 až 200 g) alebo myši (CD-1, 25 až 50 g) pod anestézou. Liečivo je podávané PO, IP, SC alebo IV cez kanylu v krčnej žile. Liečivo je podávané v dávkovom objeme 0,1 až 0,25 ml/zviera. Obsah dialýznej rúrky sa zhromaždí a testuje sa enzýmová účinnosť.

Sú vypočítané enzýmové reakčné rýchlosti pre každú dialýznu rúrku. Rúrky z najmenej 3 rôznych zvierat sa použili na vypočítanie priemeru  $\pm$  smerodajnej odchýlky priemeru. Štatistická významnosť ( $p < 0,05$ ) ošetrenia zvierat vehikulom oproti ošetreniu zvierat liečivom je stanovená variančnou analýzou. (Agents and Actions 21:331, 1987).

#### Spôsob merania TACE inhibície

Použili sa 96-kalíškové čierne mikrotitračné platne, každý kalíšok obsahoval roztok zložený z 10  $\mu$ l TACE (Immunex, konečná koncentrácia 1  $\mu$ g/ml), 70  $\mu$ l Tris pufru, pH 7,4 obsahujúceho 10 % glycerolu (konečná koncentrácia 10 mmol/l), a 10

$\mu$ l roztoku testovanej látky v DMSO (konečná koncentrácia 1  $\mu$ mol/l, DMSO koncentrácia <1 %) a inkuboval sa počas 10 minút pri laboratórnej teplote. Reakcia sa začala pridaním fluorescenčného peptidylového substrátu (konečná koncentrácia 100  $\mu$ mol/l) do každého kalíška a potom pretrepaním v trepačke počas 5 sekúnd.

Reakcia sa vyhodnocovala (excitácia 340 nm, emisia 420 nm) počas 10 minút a nárast fluorescence oproti času sa nakreslil ako priamka. Vypočítala sa smernica priamky a predstavuje reakčnú rýchlosť.

Potvrdila sa linearita reakčnej rýchlosti ( $r^2 > 0,85$ ). Vypočítal sa priemer ( $x \pm$  smerodajná odchýlka priemeru) rýchlosti kontrolnej vzorky a porovnal sa pre štatistickú významnosť ( $p < 0,05$ ) s rýchlosťami vzoriek opracovaných liečivom použitím Dunnettovho mnohonásobného porovnávacieho testu. Vzťahy dávka-odozva sa môžu generovať použitím viacnásobných dávok liečiva a hodnoty  $IC_{50}$  s 95 % intervalom spoľahlivosti sa odhadli použitím lineárnej regresie.

Výsledky získané podľa týchto štandardných experimentálnych testovacích postupov sú uvedené v nasledujúcej tabuľke.

#### Tabuľka

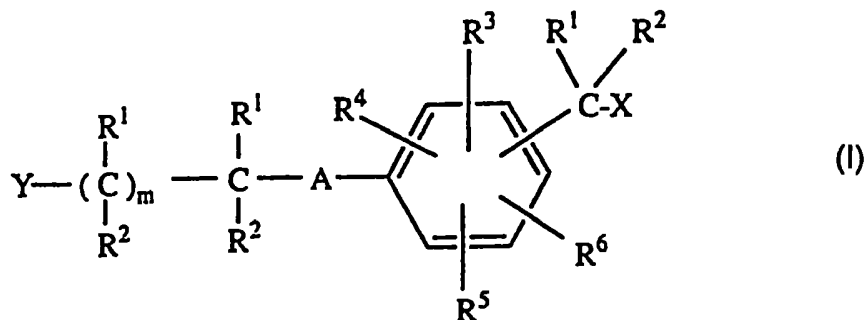
#### Inhibícia MMP a TACE

	<i>in vivo</i>				
Príklad	MMP-1 <sup>1</sup>	MMP-9 <sup>1</sup>	MMP-13 <sup>1</sup>	MMP <sup>2</sup>	TACE <sup>1</sup>
20	176	6,9	56		277
21	96	2,3	8,8		215

1.  $IC_{50}$  nM alebo % inhibície pri 1  $\mu$ M koncentrácii
2. % inhibície v závislosti na MMP-9 (dávka, mg/kg), ip = intraperitoneálne, po = orálne.

## PATENTOVÉ NÁROKY

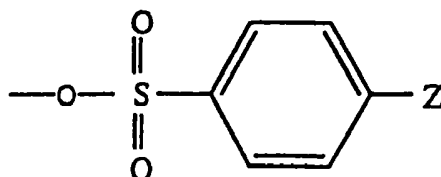
## 1. Aryloxyalkyldialkylamínové zlúčeniny všeobecného vzorca I



kde

$R^1$  a  $R^2$  sú nezávisle vybrané z H,  $C_1$ - $C_{12}$ alkylu, výhodne z  $C_1$ - $C_6$ alkylu, alebo  $C_1$ - $C_6$ perfluorovaného alkylu;

X je atóm halogénu,  $-O-SO_2-CH_3$ ,  $-O-SO_2-CF_3$  alebo skupina vzorca



Z je vybrané z  $-NO_2$ , atómu halogénu,  $-CH_3$  alebo  $-CF_3$ ;

A je vybrané z  $-O-$  alebo  $-S-$ ,  $-SO-$  alebo  $-SO_2-$ ;

m je celé číslo 0 až 3;

$R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$  a  $R^6$  sú nezávisle vybrané z H, atómu halogénu,  $-NO_2$ , alkylu, alkoxyly,  $C_1$ - $C_6$ perfluorovaného alkylu, OH alebo ich  $C_4$ - $C_4$ esterov alebo ich alkyléterov,  $-CN$ ,  $-O-R^1$ ,  $-O-Ar$ ,  $-S-R^1$ ,  $-S-Ar$ ,  $-SO-R^1$ ,  $-SO-Ar$ ,  $-SO_2-R^1$ ,  $-SO_2-Ar$ ,  $-CO-R^1$ ,  $-CO-Ar$ ,  $-CO_2-R^1$  alebo  $-CO_2-Ar$ ; a

Y je vybrané zo skupiny zahrnujúcej:

a) skupinu



kde  $R^7$  a  $R^8$  sú nezávisle vybrané zo skupiny: H,  $C_1$ - $C_6$ alkyl alebo fenyl,

b) päťčlenný nasýtený, nenasýtený alebo čiastočne nenasýtený heterocyklus obsahujúci až dva heteroatómy vybrané zo skupiny obsahujúcej -O-, -NH-, -N(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl)-, -N= a -S(O)<sub>n</sub>, kde n je celé číslo 0 až 2, voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami nezávisle vybranými zo skupiny obsahujúcej vodík, hydroxyl, atóm halogénu, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl, trihalogénmetyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkoxy, trihalogénmetoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>acyloxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyltio, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfinyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfonyl, hydroxy(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, fenyl voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami vybranými zo skupiny: (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, -CO<sub>2</sub>H, -CN, -CONHR<sup>1</sup>, -NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>dialkylamino, -NHSO<sub>2</sub>R<sup>1</sup>, -NHCOR<sup>1</sup>, -NO<sub>2</sub>;

c) šesťčlenný nasýtený, nenasýtený alebo čiastočne nenasýtený heterocyklus obsahujúci až dva heteroatómy vybrané zo skupiny obsahujúcej -O-, -NH-, -N(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl)-, -N= a -S(O)<sub>n</sub>, kde n je celé číslo 0 až 2, voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami nezávisle vybranými zo skupiny obsahujúcej vodík, hydroxyl, atóm halogénu, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl, trihalogénmetyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkoxy, trihalogénmetoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>acyloxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyltio, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfinyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfonyl, hydroxy(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, fenyl voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami vybranými zo skupiny: (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, -CO<sub>2</sub>H, -CN, -CONHR<sup>1</sup>, -NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>dialkylamino, -NHSO<sub>2</sub>R<sup>1</sup>, -NHCOR<sup>1</sup>, -NO<sub>2</sub>;

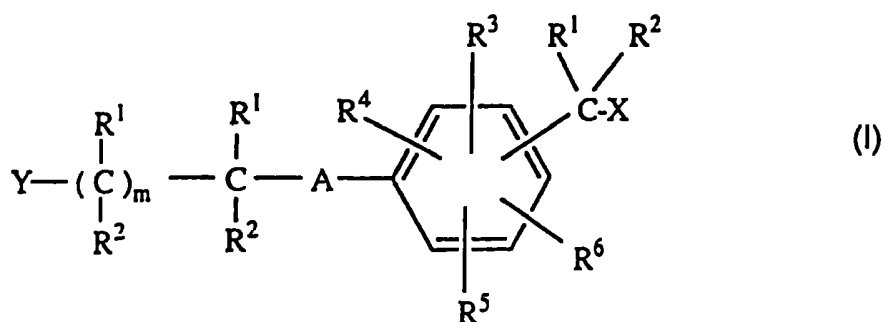
d) sedemčlenný nasýtený, nenasýtený alebo čiastočne nenasýtený heterocyklus obsahujúci až dva heteroatómy vybrané zo skupiny obsahujúcej -O-, -NH-, -N(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl)-, -N= a -S(O)<sub>n</sub>, kde n je celé číslo 0 až 2, voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami nezávisle vybranými zo skupiny obsahujúcej vodík, hydroxyl, atóm halogénu, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl, trihalogénmetyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkoxy, trihalogénmetoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>acyloxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyltio, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfinyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfonyl, hydroxy(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, fenyl voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami vybranými zo skupiny: (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, -CO<sub>2</sub>H, -CN, -CONHR<sup>1</sup>, -NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>dialkylamino, -NHSO<sub>2</sub>R<sup>1</sup>, -NHCOR<sup>1</sup>, -NO<sub>2</sub>; alebo

e) bicyklický heterocyklus obsahujúci 6 až 12 uhlíkových atómov buď premostený alebo fúzovaný a obsahujúci až dva heteroatómy vybrané zo skupiny obsahujúcej -O-, -NH-, -N(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl)-, a -S(O)<sub>n</sub>, kde n je celé číslo 0 až 2, voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami nezávisle vybranými zo skupiny obsahujúcej vodík, hydroxyl, atóm halogénu, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl, trihalogénmetyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkoxy, tri-

halogénmetoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>acyloxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyltio, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfynyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfonyl, hydroxy(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, fenyl voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami vybranými zo skupiny: (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, -CO<sub>2</sub>H, -CN, -CONHR<sup>1</sup>, -NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl-amino, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>dialkylamino, -NHSO<sub>2</sub>R<sup>1</sup>, -NHCOR<sup>1</sup>, -NO<sub>2</sub>; a ich farmaceuticky prijateľné soli.

2. Aryloxyalkyldialkylaminové zlúčeniny podľa nároku 1 všeobecného vzorca

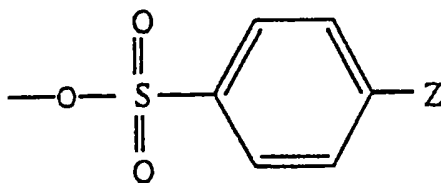
I



kde

R<sup>1</sup> a R<sup>2</sup> sú nezávisle vybrané z H, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>alkylu, výhodne z C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>alkylu, alebo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>perfluorovaného alkylu;

X je atóm halogénu, -O-SO<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>, -O-SO<sub>2</sub>-CF<sub>3</sub> alebo skupina vzorca



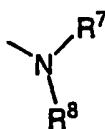
Z je vybrané z -NO<sub>2</sub>, atómu halogénu, -CH<sub>3</sub> alebo -CF<sub>3</sub>;

A je vybrané z -O- alebo -S-, -SO- alebo -SO<sub>2</sub>-;

m je celé číslo 0 až 3; a

Y je vybrané zo skupiny zahrnujúcej:

a) skupinu



kde R<sup>7</sup> a R<sup>8</sup> sú nezávisle vybrané zo skupiny: H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>alkyl alebo fenyl,

b) skupinu vybranú z tiofenu, furánu, pyrolu, imidazolu, pyrazolu, tiazolu, izotiazolu, izoxazolu alebo oxatiolánu, ktoré sú voliteľne substituované 1 až 3 substituentami nezávisle vybranými zo skupiny obsahujúcej vodík, hydroxyl, atóm halogénu, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl, trihalogénmetyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkoxy, trihalogénmetoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>acyloxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyltio, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfíny, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfonyl, hydroxy(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, fenyľ voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami vybranými zo skupiny: (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, -CO<sub>2</sub>H, -CN, -CONHR<sup>1</sup>, -NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>dialkylamino, -NHSO<sub>2</sub>R<sup>1</sup>, -NHCOR<sup>1</sup>, -NO<sub>2</sub>;

c) skupinu vybranú z pyridínu, pyrazínu, pyrimidínu, pyridazínu, piperidínu, morfolínu a pyránu, ktoré sú voliteľne substituované 1 až 3 substituentami nezávisle vybranými zo skupiny obsahujúcej vodík, hydroxyl, atóm halogénu, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl, trihalogénmetyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkoxy, trihalogénmetoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>acyloxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyltio, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfíny, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfonyl, hydroxy(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, fenyľ voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami vybranými zo skupiny: (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, -CO<sub>2</sub>H, -CN, -CONHR<sup>1</sup>, -NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>dialkylamino, -NHSO<sub>2</sub>R<sup>1</sup>, -NHCOR<sup>1</sup>, -NO<sub>2</sub>;

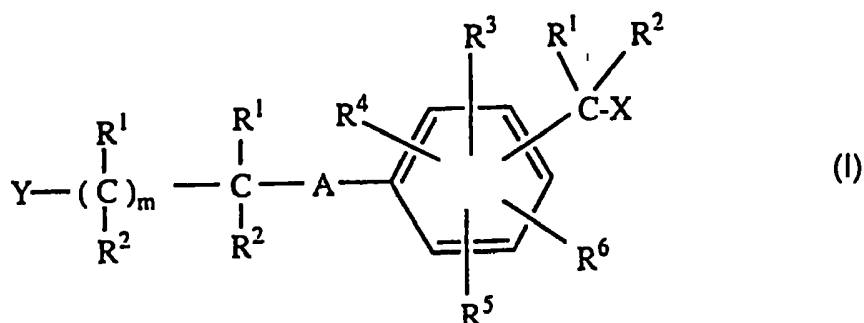
d) skupinu vybranú z azepínu, diazepínu, oxazepínu, tiazepínu, oxapínu a tiepínu, ktoré sú voliteľne substituované 1 až 3 substituentami nezávisle vybranými zo skupiny obsahujúcej vodík, hydroxyl, atóm halogénu, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl, trihalogénmetyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkoxy, trihalogénmetoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>acyloxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyltio, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfíny, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfonyl, hydroxy(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, fenyľ voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami vybranými zo skupiny: (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, -CO<sub>2</sub>H, -CN, -CONHR<sup>1</sup>, -NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>dialkylamino, -NHSO<sub>2</sub>R<sup>1</sup>, -NHCOR<sup>1</sup>, -NO<sub>2</sub>; alebo

e) bicyckický heterocyklus vybraný zo skupiny bezofuránu, izobenzofuránu, benzotiofenu, indolu, izoindolu, indolizínu, indazolu, purínu, chinolizínu, izochinolínu, chinolínu, ftalazínu, naftyridínu, chinoxalínu, chinazolínu a cinnolínu, ktoré sú voliteľne substituované 1 až 3 substituentami nezávisle vybranými zo skupiny obsahujúcej vodík, hydroxyl, atóm halogénu, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl, trihalogénmetyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkoxy, trihalogénmetoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>acyloxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyltio, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfíny, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfonyl, hydroxy(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, fenyľ voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami vybranými zo skupiny: (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, -CO<sub>2</sub>H, -CN, -CONHR<sup>1</sup>, -NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>dialkylamino, -NHSO<sub>2</sub>R<sup>1</sup>, -NHCOR<sup>1</sup>, -NO<sub>2</sub>;

a ich farmaceuticky prijateľné soli.

3. Aryloxyalkyldialkylamínové zlúčeniny podľa nároku 1 všeobecného vzorca

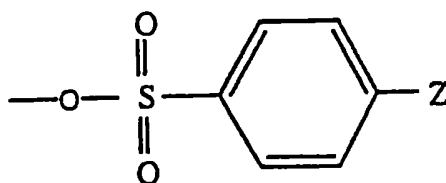
I



kde

R<sup>1</sup> a R<sup>2</sup> sú nezávisle vybrané z H, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>alkylu, výhodne z C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>alkylu, alebo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>perfluorovaného alkylu;

X je atóm halogénu, -O-SO<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>, -O-SO<sub>2</sub>-CF<sub>3</sub> alebo skupina vzorca



Z je vybrané z -NO<sub>2</sub>, atómu halogénu, -CH<sub>3</sub> alebo -CF<sub>3</sub>;

A je vybrané z -O- alebo -S-, -SO- alebo -SO<sub>2</sub>-;

m je celé číslo 0 až 3;

Y je vybrané zo skupiny zahrnujúcej:

a) skupinu



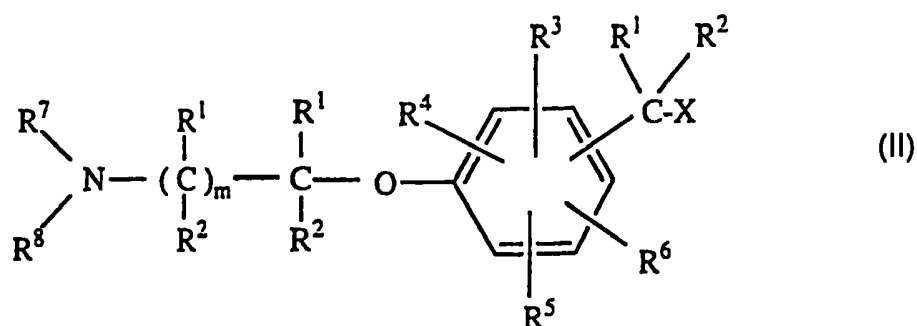
kde R<sup>7</sup> a R<sup>8</sup> sú nezávisle vybrané zo skupiny: H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>alkyl alebo fenyl, alebo

b) skupinu vybranú z tiofénu, furánu, pyrrolu, imidazolu, pyrazolu, tiazolu, pyridínu, pyrazínu, pyrimidínu, pyridazínu, piperidínu, indolu alebo benzofuránu, ktoré sú voliteľne substituované 1 až 3 substituentami nezávisle vybranými zo skupiny

obsahujúcej vodík, hydroxyl, atóm halogénu, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl, trihalogénmetyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkoxy, trihalogénmetoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>acyloxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyltio, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfinyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfonyl, hydroxy(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, fenyl voliteľne substituovaný 1 až 3 substituentami vybranými zo skupiny: (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, -CO<sub>2</sub>H, -CN, -CONHR<sup>1</sup>, -NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>dialkylamino, -NHSO<sub>2</sub>R<sup>1</sup>, -NHCOR<sup>1</sup>, -NO<sub>2</sub>; a ich farmaceuticky prijateľné soli.

#### 4. Aryloxyalkyldialkylamínové zlúčeniny podľa nároku 1 všeobecného vzorca

II



kde

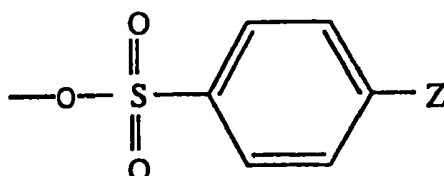
R<sup>1</sup> a R<sup>2</sup> sú nezávisle vybrané z H, C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>alkylu, výhodne z C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>alkylu, alebo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>perfluorovaného alkylu;

R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> a R<sup>6</sup> sú nezávisle vybrané z H, OH alebo z ich C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>esterov alebo ich alkyléterov, atómu halogénu, -CN, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>alkylu alebo trifluórmetylu,

m je celé číslo 0 až 3;

R<sup>7</sup> a R<sup>8</sup> sú nezávisle vybrané z H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>alkylu alebo sú spojené pomocou (CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>, kde p je celé číslo 2 až 6, aby vytvorili kruh, ktorý je voliteľne substituovaný až tromi substituentami vybranými zo skupiny obsahujúcej vodík, hydroxyl, atóm halogénu, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyl, trihalogénmetyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkoxy, trihalogénmetoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkyltio, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfinyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylsulfonyl, hydroxy(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alkyl, -CO<sub>2</sub>H, -CN, -CONH-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), -NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>dialkylamino, -NHSO<sub>2</sub>(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), NHCO-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) a -NO<sub>2</sub>; a

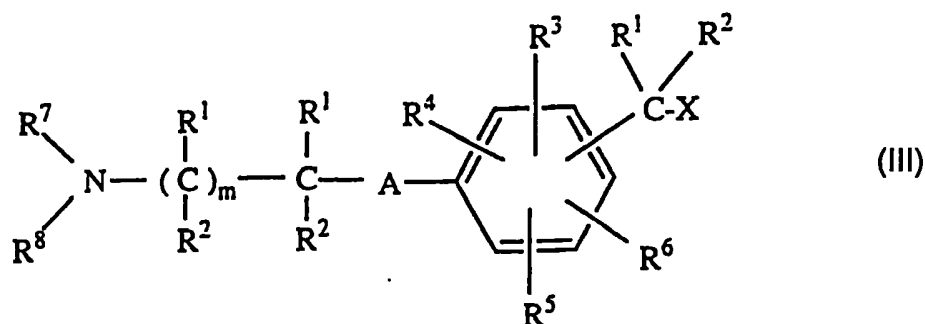
X je halogén, -O-SO<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>, -O-SO<sub>2</sub>-CF<sub>3</sub> alebo skupina vzorca



Z je vybrané z  $-\text{NO}_2$ , halogénu,  $-\text{CH}_3$  alebo  $-\text{CF}_3$ ;  
a ich farmaceuticky prijateľné soli.

5. Aryloxyalkyldialkylamínové zlúčeniny podľa nároku 1 všeobecného vzorca

III



kde

A je vybrané z  $-\text{S}-$ ,  $-\text{SO}-$  alebo  $-\text{SO}_2-$ ;

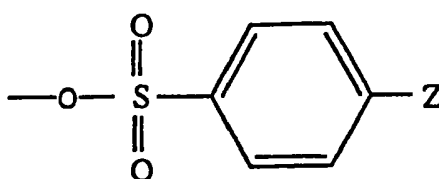
$\text{R}^1$  a  $\text{R}^2$  sú nezávisle vybrané z H,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_{12}$ alkylu, výhodne z  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ alkylu, alebo  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ perfluorovaného alkylu;

$\text{R}^3$ ,  $\text{R}^4$ ,  $\text{R}^5$  a  $\text{R}^6$  sú nezávisle vybrané z H, OH alebo z ich  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ esterov alebo ich alkyléterov, atómu halogénu,  $-\text{CN}$ ,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ alkylu alebo trifluórmetylu,

m je celé číslo 0 až 3;

$\text{R}^7$  a  $\text{R}^8$  sú nezávisle vybrané z H,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ alkylu alebo sú spojené pomocou  $(\text{CH}_2)_p$ , kde p je celé číslo 2 až 6, aby vytvorili kruh, ktorý je voliteľne substituovaný až tromi substituentami vybranými zo skupiny obsahujúcej vodík, hydroxyl, atóm halogénu,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ alkyl, trihalogénmetyl,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ alkoxy, trihalogénmetoxy,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ alkyltio,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ alkylsulfinyl,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ alkylsulfonyl, hydroxy( $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ )alkyl,  $-\text{CO}_2\text{H}$ ,  $-\text{CN}$ ,  $-\text{CONH}-$ ( $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ ),  $-\text{NH}_2$ ,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ alkylamino,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ dialkylamino,  $-\text{NHSO}_2(\text{C}_1$ - $\text{C}_4)$ ,  $-\text{NHCO}(\text{C}_1$ - $\text{C}_4)$  a  $-\text{NO}_2$ ; a

X je halogén,  $-\text{O}-\text{SO}_2-\text{CH}_3$ ,  $-\text{O}-\text{SO}_2-\text{CF}_3$  alebo skupina vzorca



Z je vybrané z  $-\text{NO}_2$ , halogénu,  $-\text{CH}_3$  alebo  $-\text{CF}_3$ ;  
a ich farmaceuticky prijateľné soli.

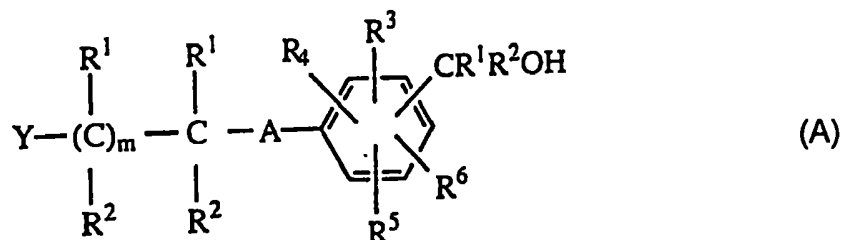
6. Aryloxyalkyldialkylamínová zlúčenina podľa nároku 1, ktorou je hydrochlorid (4-chlórmetylfenoxy)etylpiiperidín-1-ylu.

7. Aryloxyalkyldialkylamínová zlúčenina podľa nároku 1, ktorou je hydrochlorid (4-chlórmetylfenoxy)etylhexametylénimín-1-ylu.

8. Aryloxyalkyldialkylamínová zlúčenina podľa nároku 1, ktorou je hydrochlorid (4-chlórmetylfenoxy)etyldimetylaminu.

9. Spôsob výroby aryloxyalkyldialkylamínovej zlúčeniny všeobecného vzorca I podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 5 alebo jej farmaceuticky prijateľnej soli, vyznačujúci sa tým, že zahŕňa:

a) konvertovanie alkoholu vzorca A



kde m, A, Y a  $\text{R}^1$  až  $\text{R}^6$  sú určené vyššie,

na zodpovedajúcu zlúčeninu všeobecného vzorca I, kde X je odštiepiteľná skupina, pomocou vhodných prostriedkov, napríklad pomocou halogenačného, sulfonylačného alebo acylačného činidla obsahujúceho odštiepiteľnú skupinu X;

alebo

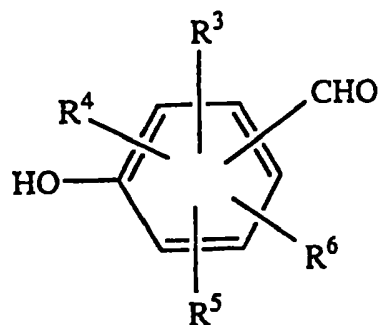
b) oxidáciu zlúčeniny všeobecného vzorca I, kde A je S za vzniku zodpovedajúcej zlúčeniny všeobecného vzorca I, kde A je  $-\text{SO}-$  alebo  $-\text{SO}_2-$ ,

alebo

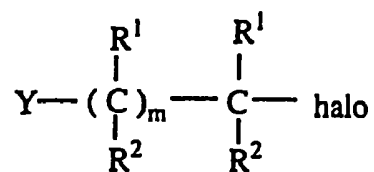
c) konvertovanie zlúčeniny všeobecného vzorca I na jej farmaceuticky prijateľnú soľ.

10. Spôsob výroby aryloxyalkyldialkylamínovej zlúčeniny podľa nároku 1, kde A je O, vyznačujúci sa tým, že zahŕňa:

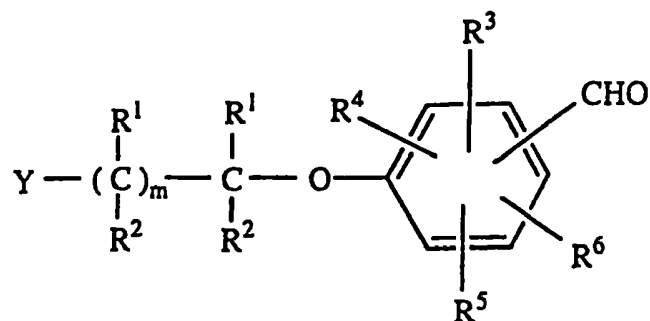
a) alkyláciu hydroxybenzaldehydu vzorca



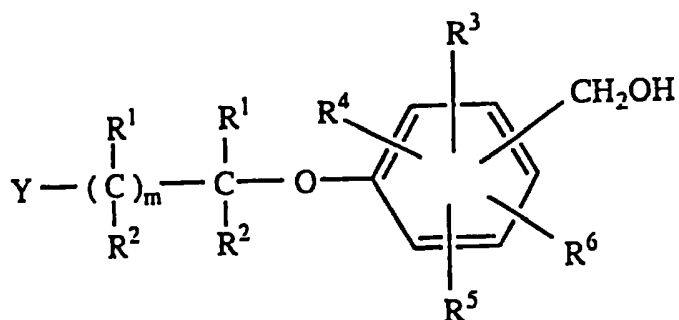
kde R<sup>3</sup> až R<sup>6</sup> sú určené pre patentový nárok 1, s alkylhalogenidom všeobecného vzorca



kde Y, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> a m sú definované pre patentový nárok 1, m je celé číslo 0 až 3 a halogén je vybraný z Cl, F, Br alebo I, za vzniku aldehydu všeobecného vzorca



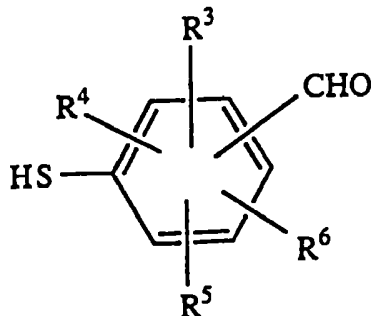
b) redukciu aldehydového produktu z kroku a), za vzniku zodpovedajúceho alkoholu vzorca



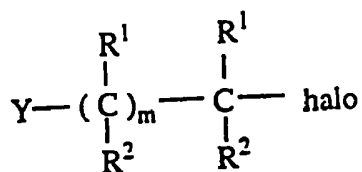
- c) konvertovanie alkoholu z kroku b) na jeho hydrochloridovú soľ; a
- d) konvertovanie alkoholovej skupiny zlúčeniny z kroku c) na odštiepiteľnú skupinu.

11. Spôsob výroby aryloxyalkyldialkylamínovej zlúčeniny podľa nároku 1, kde A je S, vyznačujúci sa tým, že zahŕňa kroky:

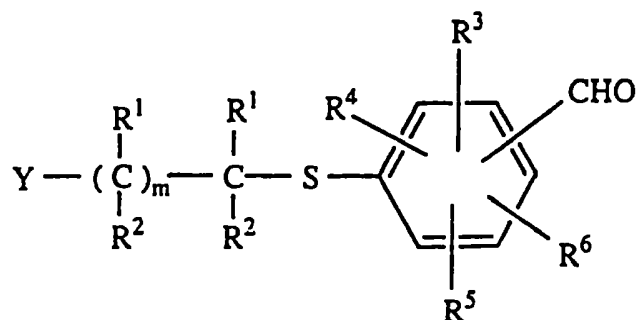
- a) alkyláciu zlúčeniny všeobecného vzorca



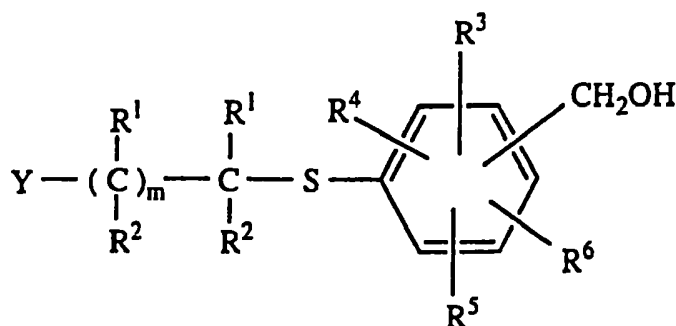
kde R<sup>3</sup> až R<sup>6</sup> sú určené v patentovom nároku 1,  
s alkylačným činidlom vzorca



kde Y, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> a m sú určené v patentovom nároku 1, halogén je vybraný z Cl, F, Br alebo I za vzniku aldehydu vzorca



b) redukcii aldehydu napríklad s bórhydridom sodným na alkohol vzorca



c) opracovanie alkoholu z kroku b) plynným HCl za vytvorenia jeho hydrochloridovej soli a

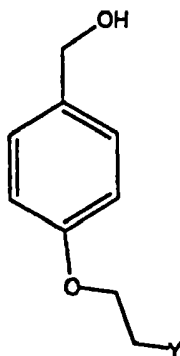
d) konvertovanie alkoholovej skupiny hydrochloridu z kroku c) na odštiepiteľnú skupinu.

12. Spôsob podľa nároku 11, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že zahŕňa krok riadenej oxidácie síry v hydrochloride alkoholu z kroku d) na sulfoxid alebo na sulfón.

13. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 9 až 12, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že alkoholová skupina je konvertovaná na odštiepiteľnú skupinu pomocou opracovania s metánsulfonylchloridom, toluénsulfonylchloridom alebo anhydridom trifluóroctovej kyseliny v prítomnosti pyridínu alebo trietylamínu.

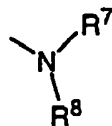
14. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 9 až 13, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že halogénom je Cl a m je 2.

15. Spôsob výroby zlúčeniny vzorca



kde Y znamená:

a) skupinu

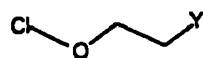


(i)

kde  $R^7$  a  $R^8$  sú nezávisle zvolené z H,  $C_1$ - $C_6$ alkylu alebo fenylu, alebo

b) 5-, 6- alebo 7-členný nenasýtený alebo čiastočne nenasýtený heterocyklický kruh obsahujúci jeden alebo dva atómy dusíka, pričom heterocyklický kruh je pripojený etoxylovým mostíkom na atóm dusíka v kruhu a je voliteľne substituovaný 1 až 3 skupinami vybranými z halogénu,  $C_1$ - $C_6$ alkylu,  $C_1$ - $C_6$ alkoxy,  $C_1$ - $C_6$ tioalkylu,  $-CF_3$  alebo  $-NO_2$ .

v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že zahŕňa reakciu v alkalickom médiu, 4-hydroxybenzylalkoholu so soľou zlúčeniny vzorca



kde Y je uvedené vyššie.

16. Spôsob podľa nároku 15, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že pH alkalického média sa udržiava na hodnote 9 alebo vyššej.

17. Farmaceutický prostriedok, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že obsahuje zlúčeninu všeobecného vzorca I alebo jej farmaceuticky prijateľnú soľ podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 8 a farmaceuticky prijateľný nosič.