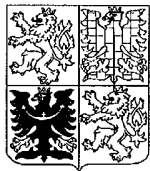


PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **11.12.1998**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **12.12.1997 07.12.1998**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1997/989353 1998/206245**

(33) Země priority: **US US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **11.10.2000**
(Věstník č. 10/2000)

(86) PCT číslo: **PCT/GB98/03712**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO99/31065**

(21) Číslo dokumentu:

2000 -2157

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 D 213/56 A 61 K 31/505
C 07 D 215/14 A 61 K 31/495
C 07 D 237/08 A 61 P 35/00
C 07 D 239/26
C 07 D 241/12
C 07 D 213/56
A 61 K 31/44
A 61 K 31/50

(71) Přihlašovatel:

CELL PATHWAYS, INC., Horsham, PA, US;
THE UNIVERSITY OF ARIZONA, Tucson, AZ, US;

(72) Původce:

Sperl Gerhard, North Wales, PA, US;
Gross Paul, Stockton, CA, US;
Brendel Klaus, Tucson, AZ, US;
Piazza Gary, Doylestown, PA, US;
Pamukcu Rifat, Spring House, PA, US;

(74) Zástupce:

Čermák Karel Dr., Národní třída 32, Praha 1, 11000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Deriváty n-benzyl-3-indenylacetamidu pro léčbu
novotvarů**

(57) Anotace:

Substituované kondenzační produkty n-benzyl-3-indenylacetamidu charakterizované vzorcem I s heterocyklickými aldehydy jsou užitečné pro vyvolání či podporu apoptózy a pro zastavení nekontrolované proliferace nádorových buněk a jsou dále specificky užitečné pro zastavení růstu a léčbu novotvarů zahrnujících prekancerózní i nádorové léze.

CZ 2000 - 2157 A3

Deriváty n-benzyl-3-indenylacetamidu pro léčbu novotvarů

Oblast techniky

Tento vynález se týká sloučenin a způsobů indukce a podpory apoptózy a zastavení nekontrolovaného nádorového růstu, způsobů, které jsou specificky užitečné pro zastavení růstu a léčbu novotvarů zahrnujících prekancerózní i nádorové léze.

Dosavadní stav techniky

Farmaceutické látky, které jsou účinné proti časným stádiím nádorových onemocnění tvoří rozšiřující se oblast výzkumu a potenciálního komerčního rozvoje. Tyto farmaceutické látky mohou zpomalit nebo zastavit rozvoj prekancerózních lézí ve vlastní nádorová onemocnění. Každým rokem pouze ve Spojených státech se vyvinou u obrovského množství lidí prekancerózní léze, které přecházejí ve statisticky významném procentu v maligní nádory. Tyto léze zahrnují léze prsu, (které se mohou vyvinout v rakovinu prsu), kožní léze, (které se mohou vyvinout v maligní melanom nebo bazaliom), adenomatózní polypy střeva, (které se mohou vyvinout v rakovinu tlustého střeva), cervikální dysplázii (rakovinu hrdla děložního) a další podobné novotvary.

Sloučeniny, které zabraňují nebo vyvolávají remisi existujících prekanzerózních a nádorových lézí nebo karcinomů, zpomalují začátek nádorového onemocnění a významně snižují morbiditu i mortalitu alespoň určitých forem nemocí.

Tyto sloučeniny i způsoby jsou zejména výhodné pro subpopulace pacientů, u kterých se opakovaně rozvíjejí prekancerózní léze, a proto mají statisticky vyšší pravděpodobnost rozvoje nádorového onemocnění. Takové subpopulace pacientů existují u mnoha typů nádorů (například prsu, tlustého střeva, prostaty, atd.). Jedním z příkladů subpopulace, u které dochází vždy k rozvoji nádorového onemocnění (pokud nejsou tyto pacienti léčeni), jsou pacienti s familiární polypózou tlustého střeva.

U pacientů s familiární polypózou se typicky vyvíjí od dospívání velké množství (například stovky nebo tisíce) polypů v tlustém střevě. Protože každý polyp tlustého střeva (familiární i nefamiliární) má během života zhruba 5% riziko rozvoje v nádor, je dosud pro pacienty s familiární polypózou léčbou volby chirurgické odstranění tlustého střeva časně po dvacátém roku života.

I u mnoha dalších onemocnění existují subpopulace, které mají vyšší riziko rozvoje nádorového onemocnění v časném věku a také rekurence nádoru ve srovnání s běžnou populací pacientů, u kterých dochází k rozvoji nádorového onemocnění. Tyto subpopulace byly identifikovány například mezi pacienty s rakovinou prsu nebo tlustého střeva. V subpopulaci pacientů s rakovinou tlustého střeva je odstranění jednotlivých vyvíjejících se polypů léčbou volby. Odstranění polypů u pacientů s nefamiliárními polypy je prováděno buď chirurgickou nebo endoskopickou polypektomií, tedy postupy, které jsou nepohodlné a drahé (cena jedné polypektomie se pohybuje v případě endoskopické léčby mezi 1000 až 1500 americkými dolary, chirurgická léčba stojí ještě více) a zahrnují malé, ale významné riziko perforace tlustého střeva.

Hledání užitečných léků pro terapii a prevenci nádorových onemocnění v jejich nejčasnějších stádiích je velmi intenzivní, protože chemoterapie a chirurgická léčba nádorů není sama o sobě často účinná a současná chemoterapie má vážné nežádoucí účinky. Proto se obzvláště intenzivně hledají sloučeniny účinné proti prekancerózním lézím, které by byly bez vedlejších účinků konvenční chemoterapie. Tyto sloučeniny jsou také zkoumány u uzdravených pacientů, u kterých přetrvává vyšší riziko rekurence nádoru, a dokonce i u pacientů, kteří by mohli mít prospěch ze sloučenin selektivně vyvolávajících apoptózu u neoplastických, avšak nikoli u normálních buněk.

Standardní nádorová chemoterapeutika nejsou považována za vhodné léky pro chemoprevenci nádoru, protože jakkoli tyto léky mohou zabráňovat rozvoji nádoru (na rozdíl od léčby nádorů již vytvořených), nepřevažují tyto vlastnosti nad jejich závažnými vedlejšími účinky. Jak se dnes obecně usuzuje, usmrcuje většina standardních chemoterapeutik nádorové buňky indukci apoptózy (která je také někdy nazývaná jako programová buněčná smrt). Apoptóza se přirozeně vyskytuje ve skutečně všech tělesných tkáních. Apoptóza hraje kritickou úlohu v homeostáze tkání, která zajišťuje, že produkce novotvořených buněk je vyvážena stejným počtem buněk, které odumírají. Apoptóza je obzvláště zvýrazněna v rychle se obnovujících se tkáních, jako jsou například kostní dřeň, buňky imunitního systému, střeva a kůže. Kupříkladu buňky střevní výstelky se dělí tak rychle, že organismus musí tyto buňky odstraňovat už po třech dnech, aby se zabránilo jejímu přerůstání.

Standardní chemoterapeutika podporují apoptózu nikoli pouze u nádorových buněk, ale také v normálních lidských tkáních, a proto mají obzvláště závažné účinky na buňky, které se normálně rychle v těle dělí (například buňky vlasů, střeva a kůže). Tyto účinky na normální buňky vedou ke ztrátě vlasů, k úbytku na váze, zvracení a útlumu kostní dřeně. Toto je jeden z důvodů, proč jsou standardní chemoterapeutika nevhodná pro prevenci nádorových onemocnění.

Pro chybění okamžité kauzální léčby (například genová terapie) je další nevýhodou nádorové preventivní léčby, že k potlačení tvorby nádoru vyžaduje chronické podávání léku, což je v případě standardních chemoterapeutik samozřejmě kontraindikováno kvůli nežádoucím účinkům diskutovaným výše.

Abnormality v apoptóze mohou vést ke vzniku prekancerózních lézí a karcinomů. Výzkumy z poslední doby také ukazují, že defekty v apoptóze hrají významnou úlohu i u dalších onemocněních než jen u nádorů. Následně mohou být sloučeniny,

které modulují apoptózu použity v prevenci nebo ke kontrole nádorových onemocnění, stejně tak jako i jiných onemocnění.

U některých nesteroidních protizánětlivých léků původně vyvinutých k léčbě artritidy bylo prokázáno, že účinně inhibují růst a zamezují vzniku polypů tlustého střeva. Polypy se skutečně ztrácejí, pokud pacient užívá tyto léky, zejména je-li podáván nesteroidní protizánětlivý lék sulindak. Ovšem kontinuální profylaktické podávání v současnosti dostupných nesteroidních protizánětlivých léků, a to dokonce i u pacientů s polypózou, se vyznačuje závažnými vedlejšími příznaky, které zahrnují gastrointestinální iritaci, perforace a ulcerace, a také renální toxicitu, tedy příznaky vzniklé pravděpodobně inhibicí aktivity prostaglandin syntetázy (PGE-2). Tato inhibice je charakteristická pro účinek nesteroidních protizánětlivých léků, protože zvýšené hladiny PGE-2 jsou sdružené se záněty. PGE-2 hraje protektivní funkci v gastrointestinálním traktu, což je důvodem, proč dochází ke zvýšení nežádoucích účinků v oblasti žaludku u pacientů na chronické léčbě nesteroidními protizánětlivými léky. Chronická léčba těmito léky je vzácně indikována u pacientů s artritidou, na rozdíl od léčby akutní. Avšak chronické podávání sulindaku je pro pacienty s polypózou důležité, protože může eliminovat růst a zabránit vzniku dalších polypů, což ovšem vede k nežádoucím účinkům v oblasti žaludku u mnoha pacientů. Pokud je léčba nesteroidními protizánětlivými léky ukončena pro rozvoj těchto komplikací, dochází k rekurenci polypů, zejména u pacientů se syndromem polypózy.

Sloučeniny, jako jsou například ty, které jsou uvedeny v patentu US Patent č. 5643959, jsou výhodné pro léčbu nádorových lézí, neboť u těchto sloučenin bylo prokázáno, že indukují u člověka apoptózu nádorových buněk, avšak nikoli buněk zdravých. Proto jsou závažné nežádoucí účinky způsobené indukcí apoptózy normálních buněk konvenčními chemoterapeutiky při použití těchto nových chemoterapeutik vyloučeny (viz

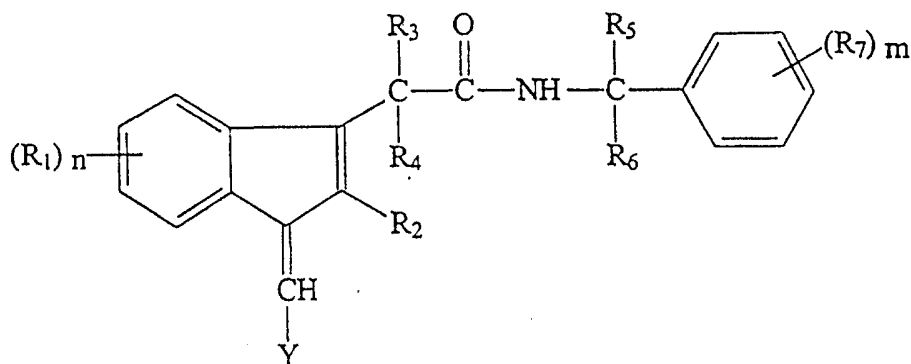
Klinická studie Fáze I se Sulindac Sulfonem u pacientů s familiární polypózou s rektálními polypy: Optimální dávka a bezpečnost. Digestive Disease Week, Abstrakt č. 2457, květen 10-16, 1997, American Gastroenterological Association et al.). Tyto sloučeniny navíc nevykazují vedlejší účinky týkající se žaludku, které se vyskytují při používání nesteroidních protizánětlivých léků, protože tyto léky neinhibují významně PGE-2. Je proto žádoucí získat účinnější sloučeniny s takovou nádorovou specifitou bez významné PGE-2 aktivity.

Popis vynálezu

Tento vynález představuje účinné sloučeniny, které indukují apoptózu v neoplastických buňkách (ale nevýznamně v normálních buňkách), a které jsou určeny k léčbě pacientů s nádorovými lézemi, ovšem bez významné inhibice PGE-2. Tento vynález také zahrnuje způsoby indukce takto specifické apoptózy nádorových buněk vystavením těchto buněk farmakologicky účinnému množství sloučenin popsaných níže u pacienta, který tuto léčbu potřebuje. Tyto preparáty jsou účinné v modulaci apoptózy a růstu prekancerózních lézí a nádorů, ale nevykazují nežádoucí účinky konvenčních chemoterapeutik a nesteroidních protizánětlivých léků.

Detailní popis vynálezu

Jak je diskutováno výše, předkládaný vynález zahrnuje sloučeniny definované vzorcem I (stejně tak jako jejich farmaceuticky přijatelné soli) určené k léčbě pacientů s nádorovými, zejména prekancerózními lézemi:



kde R_1 je v každém případě nezávisle vybráno ze skupiny tvořené vodíkem, halogenem, nižším alkylem, nižší alkoxy, amino, nižší alkylamino, nižší dialkylamino, nižší alkylmerkaptó, nižší alkylsulfonyl a kyano skupinou, karboxamidem, karboxylovou kyselinou, merkaptó skupinou, kyselinou sulfonovou, xantátem a hydroxy skupinou;

R_2 je vybrán ze skupiny tvořené vodíkem a nižším alkylem;

R_3 je vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, halogenem, amino, hydroxy, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou;

R_4 je vodík, nebo R_3 a R_4 spolu jsou kyslík;

R_5 a R_6 spolu jsou nezávisle vybrány ze skupiny tvořené vodíkem, nižším alkylem, nižším hydroxy substituovaným alkylem, nižším aminoalkylem, nižším alkylamino nižším alkylem, nižším alkylamino nižším dialkylem, nižším alkylnitridem, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ a C_2 až C_6 aminokyselinou;

R_7 je v každém případě nezávisle vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, nižším aminoalkylem, nižší alkoxy skupinou, nižším alkylem, hydroxy, amino, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou, halogenem, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ a $-\text{SO}_2$ (nižším alkylem);

m a n jsou nezávisle vybrána celá čísla od 0 do 3;

Y je vybráno ze skupiny tvořené chinolinylem, izochinolinylem, pyridinylem, pyrimidinylem, pyrazinylem, imidazolylem, indolylem, benzimidazolylem, triazinylem, tetrazolylem, thiofenylem, furanylem, thiazolylem, pyrazolylem nebo pyrolylem, nebo jejich substituovanými variantami, kde substituenty jsou jeden nebo dva substituenty vybrané ze skupiny tvořené halogenem, nižším alkylem, nižší alkoxy, amino, nižší alkylamino, nižší dialkylamino, hydroxy, $-\text{SO}_2$ (nižším alkylem) a $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ skupinou.

Přednostní sloučeniny tohoto vynálezu určené pro použití se způsoby zde popsány zahrnují sloučeniny definované vzorcem I, kde:

R_1 je v každém případě nezávisle vybráno ze skupiny tvořené halogenem, nižší alkoxy, amino, hydroxy, nižší alkylamino, nižší dialkylamino skupinou, přednostně halogenem, nižší alkoxy, amino a hydroxy skupinou;

R_2 je nižší alkyl;

R_3 je vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, halogenem, hydroxy, amino, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou, přednostně vodíkem, hydroxy, a nižší alkylamino skupinou;

R_5 a R_6 jsou nezávisle vybrány ze skupiny tvořené vodíkem, nižším hydroxy substituovaným alkylem, nižším aminoalkylem, nižším alkylamino nižším alkylem, nižším alkylamino nižším dialkylem, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, přednostně vodíkem, nižším hydroxy substituovaným alkylem, nižším alkylamino nižším dialkylem, $-\text{CO}_2\text{H}$ a $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$;

R_7 je v každém případě nezávisle vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, nižší alkoxy, hydroxy, amino, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou, halogenem, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ a $-\text{SO}_2$ (nižším alkylem); přednostně vodíkem, nižší alkoxy, hydroxy, amino, nižší aminoalkyl skupinou, halogenem, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ a $-\text{SO}_2$ (nižším alkylem);

Přednostně je alespoň jeden R_7 radikál umístěn v poloze para nebo orto, zejména pak v poloze orto;

Y je vybrán ze skupiny tvořené chinolinylem, izochinolinylem, piridinylem, pirimidinylem a pyrazinylem nebo jejich řečenými substituovanými variantami.

Substituenty na Y jsou přednostně jeden nebo dva substituenty vybrané ze skupiny tvořené nižší alkoxy, amino, nižší alkylamino, nižší dialkylamino skupinou, hydroxy, $-\text{SO}_3$ (nižším

alkylem) a $-\text{SO}_2\text{NH}_2$; přednostně nižší alkoxy, nižší dialkylamino, hydroxy skupinou, $-\text{SO}_3$ (nižším alkylem) a $-\text{SO}_2\text{NH}_2$.

Předkládaný vynález se také týká způsobu léčby pacientů s výše zmíněnými onemocněními, který spočívá v podání farmakologicky účinného množství farmaceutického preparátu pacientovi, kterýžto preparát obsahuje sloučeninu definovanou vzorcem I, kde R_1 až R_7 jsou definovány výše. Tento preparát je přednostně podáván bez terapeutických dávek nesteroidních protizánětlivých léků.

Předkládaný vynález se také týká způsobu léčby jedinců s nádorovými onemocněními. Tento způsob spočívá v podání farmakologicky účinného množství entericky potaženého farmaceutického preparátu, který zahrnuje sloučeniny tohoto vynálezu.

Tento vynález se také týká způsobu inhibice růstu nádorových buněk vystavením buněk účinnému množství sloučenin definovaných vzorcem I, kde R_1 až R_7 a Y jsou definovány výše.

V další formě se vynález týká způsobu indukce apoptózy v lidských buňkách vystavením těchto buněk účinnému množství sloučenin definovaných vzorcem I, kde R_1 až R_7 a Y jsou definovány výše, kde tyto buňky jsou citlivé k těmto sloučeninám.

V ještě další formě se vynález týká způsobu léčby pacientů trpících onemocněním, jehož průběh lze příznivě ovlivnit regulací apoptózy léčením pacienta účinným množstvím sloučenin definovaných vzorcem I, kde R_1 až R_8 jsou definovány výše. Regulace apoptózy hraje pravděpodobně důležitou roli v onemocněních sdružených s abnormalitami buněčného růstu, jako jsou například benigní hyperplazie prostaty, neurodegenerativní onemocnění, jako je například Parkinsonova nemoc, autoimunní onemocnění zahrnující roztroušenou sklerózu a revmatoidní

artritidu, infekční choroby, jako je například AIDS a také jiná onemocnění.

Sloučeniny tohoto vynálezu jsou také inhibitory aktivity cGMP specifické fosfodiesterázy, která se vyskytuje v nádorových buňkách. Mezi tyto fosfodiesterázy patří PDE5, stejně tak jako nová PDE popsaná v patentové přihlášce US Patent č. 09/173375 zaregistrované 15. října 1998, autoři Pamukcu et al. Výhodné je, že PDE inhibiční aktivita těchto sloučenin může být testována, jak je popsáno v probíhající patentové přihlášce US Patent, č. 09/046739, zaregistrované 24. března 1998, autoři Pamukcu et al., která je tímto začleněna do předkládaného vynálezu jako reference. Sloučeniny tohoto vynálezu jsou proto užitečnými inhibitory PDE5 a mohou být užitečné v lékařských indikacích, kde je žádoucí inhibice této enzymové aktivity.

Jak je používáno v předkládaném vynálezu, zahrnuje termín "prekancerózní léze" syndromy reprezentované neoplastickými i dysplastickými změnami tkáně. Příklady zahrnují dysplastický růst v tkáních tlustého střeva, prsu, močového měchýře nebo plic, nebo stavy, jako jsou například syndrom dysplastického névu, prekanceróza maligního melanomu kůže. Navíc k syndromu dysplastického névu zahrnují tyto příklady také syndromy polypózy, polypy tlustého střeva, prekancerózní léze děložního hrdla (tj. cervikální dysplázií), jícnu, dysplázie prostaty, bronchů, prsu, močového měchýře a/nebo kůže, a podobné stavy (například aktinická keratóza, kde tyto léze jsou klinicky identifikovatelné či nikoli).

Jak je používáno v předkládaném vynálezu, týká se termín "karcinomy" rakovinných lézí. Příklady zahrnují maligní melanomy, rakovinu prsu, prostaty a tlustého střeva.

Jak je používáno v předkládaném vynálezu, týká se termín "novotvar" prekancerózních i nádorových lézí a také hyperplázie.

Jak je používáno v předkládaném vynálezu, týká se termín "halo" nebo "halogen" chloro, bromo, fluoro a jodo skupin, a termín "alkyl" nevětvených, větvených nebo cyklických alkylových skupin a substituovaných aryl alkylových skupin. Termín "nižší alkyl" se týká C_1 až C_8 alkylových skupin.

Termín "hydroxy substituovaný nižší alkyl" se týká nižších alkylových skupin, které jsou substituované alespoň jednou hydroxy skupinou, přednostně ne více než třemi hydroxy skupinami.

Termín " $-SO_2$ (nižší alkyl)" se týká sulfonylové skupiny, která je substituovaná nižší alkylovou skupinou.

Termín "nižší alkoxy skupina" se týká alkoxy skupin s 1 až 8 uhlíky, majících nevětvené, větvené nebo cyklické uspořádání.

Termín "nižší alkylmerkaptó skupina" se týká sulfidové skupiny, která je substituovaná nižší alkylovou skupinou a termín "nižší alkyl sulfonyl skupina" se týká sulfonové skupiny, která je substituovaná nižší alkylovou skupinou.

Termín "farmaceuticky přijatelná sůl" se týká netoxických kyselých adičních solí a solí kovů alkalických zemin sloučenin definovaných vzorcem I. Sole mohou připraveny *in situ* v průběhu finální izolace a purifikace těchto sloučenin, nebo například odděleně reakcí volné zásady nebo kyseliny s vhodnou organickou kyselinou nebo zásadou. Příklady kyselých adičních solí zahrnují hydrochloridy, hydrobromidy, sulfáty, acetáty, valeráty, oleáty, palmitáty, stearáty, lauráty, boráty, benzoáty, laktáty, fosfáty, tosyláty, mesyláty, citráty, maleáty, fumaráty, succináty, tartaráty, glukohexonáty, laktobionáty, sole laurylsulfátu, a podobně.

Příklady alkalických solí a solí kovů alkalických zemin zahrnují sodné, vápenaté, draselné a hořečnaté soli.

Výhodné je, že určité sloučeniny definované vzorcem I mají asymetrický uhlíkový atom a jsou tedy schopné existovat ve formě enantiomerů. Pouze pokud je specifikováno jinak, zahrnuje tento vynález tyto enantiomery, včetně racemátů. Oddělené enantiomery mohou být syntetizovány z výchozího chirálního materiálu, nebo mohou být racemáty rozděleny konvenčními postupy, které jsou dobře známé v oboru chemie, jako jsou například chirální chromatografie, frakcionovaná krystalizace diastereomerních solí a podobně.

Sloučeniny definované vzorcem I mohou také existovat jako geometrické izomery (Z a E), přednostním izomerem je Z izomer.

Sloučeniny tohoto vynálezu spolu farmaceuticky přijatelnými nosiči mohou být základem farmaceutických preparátů pro perorální podání ve formě pevné nebo tekuté, nebo pro podání rektální či topické, ačkoli přednost je dávana nosičům pro perorální podávání.

Farmaceuticky přijatelné nosiče pro perorální podání zahrnují kapsle, tablety, pilulky, prášky, pastilky a granula. V těchto pevných dávkovacích formách může nosič zahrnovat alespoň jednu inertní ředící látku, jako je například sacharóza, laktóza nebo škrob. Tyto nosiče mohou také zahrnovat, jak je také normální praxí, další látky jiné než látky ředící, jako jsou například lubrikační látky, např. magnézium stearát. V případě kapslí, tablet, pastilek a pilulek mohou nosiče zahrnovat také pufrovací látky. Nosiče, jako jsou například tablety, pilulky a granula mohou být připraveny ve formě preparátů s enterickým potahem povrchu. Alternativně mohou být entericky potažené sloučeniny stlačeny do tablet, pilulek nebo granulí určených k podání pacientovi. Přednostní formy enterických potahů zahrnují takové, které se rozpouštějí, nebo dezintegrují při

pH, které je v tlustém střevě, jako jsou například šelak nebo Eudraget S.

Farmaceuticky přijatelné nosiče zahrnují tekuté dávkovací formy pro perorální podávání, např. farmaceuticky přijatelné emulze, roztoky, suspenze, sirupy a elixíry obsahující inertní ředících látky běžně používané v oboru jako je například voda. Kromě těchto inertních ředících látek mohou preparáty také obsahovat adjuvantní látky, jako například zvlhčovací, emulzifikující a rozpouštějící látky, dále sladidla, dochucující a parfemační látky.

Farmaceuticky přijatelné nosiče pro topické podání zahrnují DMSO, alkohol nebo propylen glykol a podobně, které mohou být použity v náplastech nebo v jiných materiálech udržujících tekutinu za účelem udržení léku na místě na kůži tak, že lék nevyschne.

Farmaceuticky přijatelnými nosiči pro rektální podání jsou přednostně čípky, které mohou obsahovat navíc ke sloučeninám tohoto vynálezu excipientní látky, jako je například kakaové máslo nebo čípkový vosk či gel.

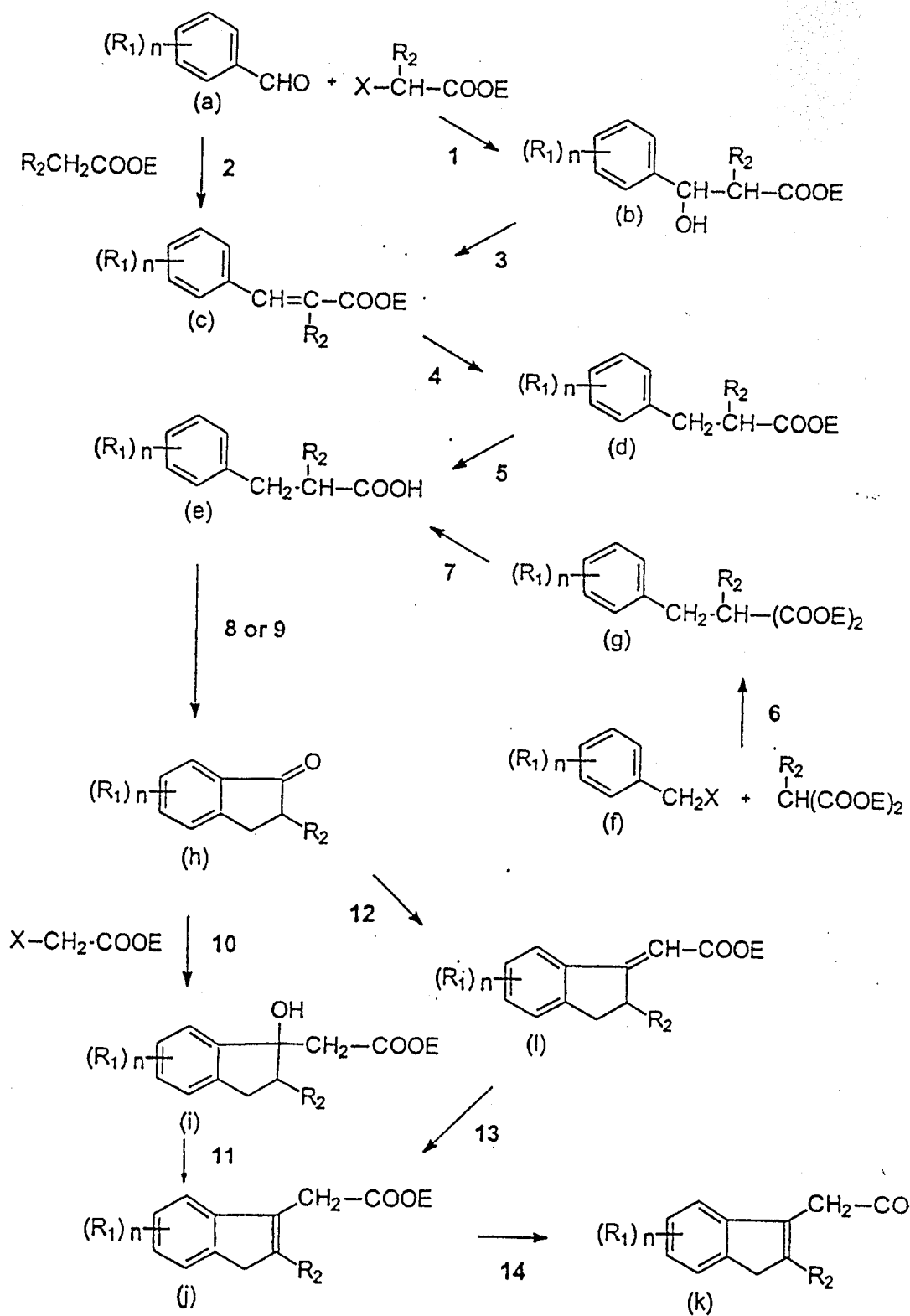
Farmaceuticky přijatelný nosič a sloučeniny tohoto vynálezu jsou základem jednotkových dávkovacích forem určených pro podání pacientovi. Koncentrace aktivní látky (tj. sloučenin tohoto vynálezu) v dávkovací jednotce se mohou lišit podle množství účinné látky nezbytné k dosažení požadovaného účinku při použití požadovaného způsobu podání (tj. perorálního nebo rektálního). Zvolená koncentrace aktivní látky tedy závisí na povaze podávané aktivní sloučeniny, způsobu podání, požadovaném trvání léčby a dalších faktorech. Je-li to žádoucí, může jednotková dávka splňovat denní požadavek na množství aktivní sloučeniny, tj. aktivní látka je podávána v jedné dávce, nebo může být rozdělena mezi několik dávek, např. pro podání dva až čtyři krát denně.

Farmaceutické preparáty tohoto vynálezu jsou přednostně baleny do obalu (např. krabice nebo láhve, nebo obojího) s vhodným tištěným materiálem (např. vložený příbalový leták) obsahující indikace, návod k použití atd.

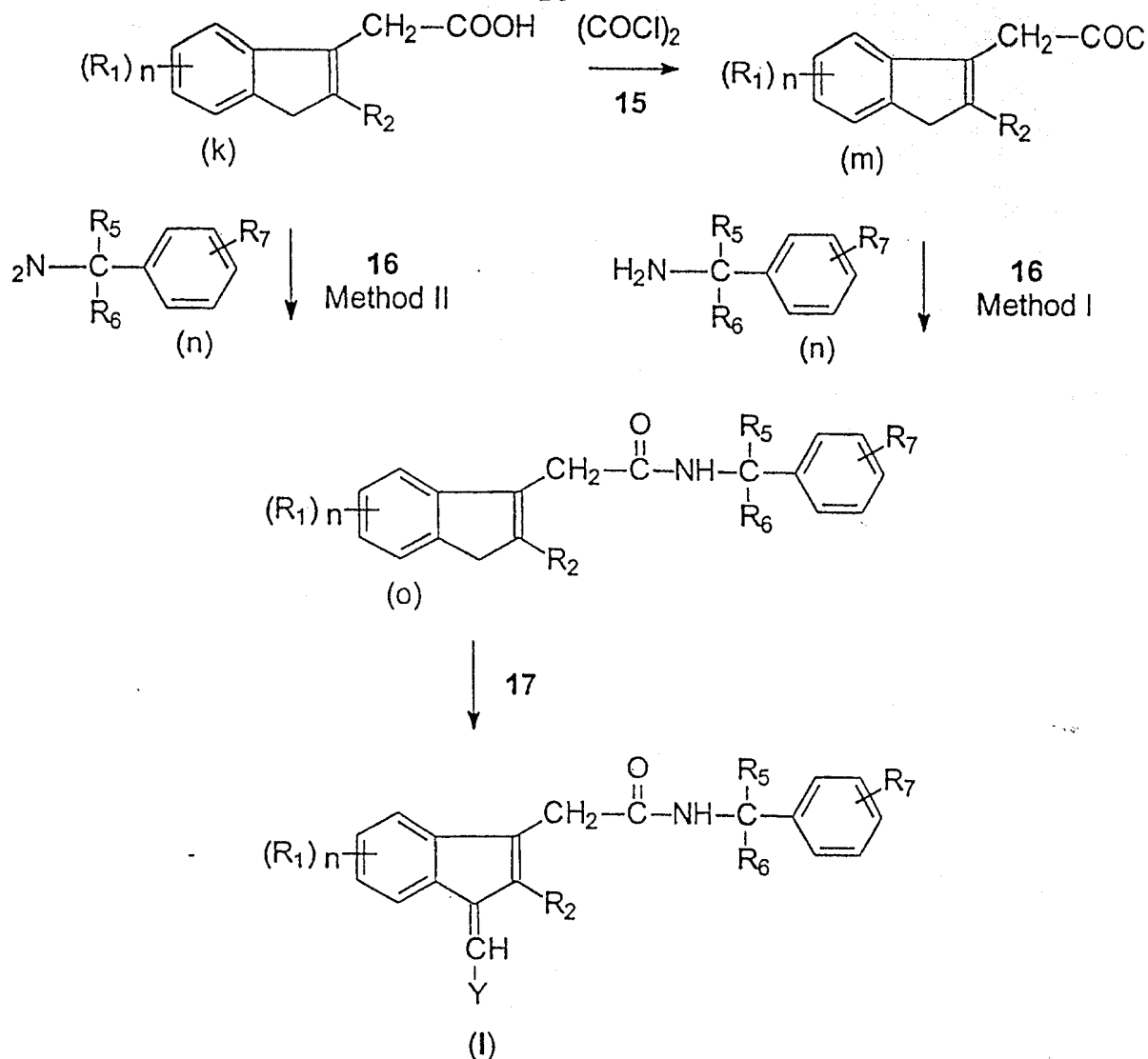
Existuje několik obecných schémat pro výrobu sloučenin tohoto vynálezu. Jedno obecné schéma (které má několik variant) zahrnuje případ, kde R_3 i R_4 jsou vodík. První schéma je popsáno pod vyobrazením Schématu I. Další obecné schéma (které má také několik variant) zahrnuje případ, kde alespoň jeden z R_3 a R_4 je skupina jiná než vodík, v rozsahu vzorce I uvedeného výše. Toto druhé schéma je popsáno níže jako Schéma II.

Obecné schéma přípravy sloučenin, kde R_3 i R_4 jsou vodík, je ilustrováno ve Schématu I, který je částečně popsán v patentu US Patent č. 3312730, který je tímto začleněn do předkládaného vynálezu jako reference. Ve Schématu I je R_1 definován stejně jako ve vzorci I uvedeném výše. Avšak ve Schématu I může být substituent také reaktivní skupina (např. nitroskupina), která může v nitro substituovaných indenech později zreagovat za vzniku velkého množství dalších substituovaných indenů.

Schéma I



07.07.00



Ve Schématu I může být použito několik variant. V jedné variantě může být (a) kondenzován substituovaný benzaldehyd se substituovaným esterem kyseliny octové v Knoevenagelově reakci (viz reakce 2) nebo s α -halogeno esterem kyseliny propionové v Reformantského reakci (viz reakce 1 a 3). Výsledný nenasycený ester (c) je hydrogenován a hydrolyzován za vzniku substituované benzyl propionové kyseliny (e) (viz reakce 4 a 5). Alternativně vede substituovaný ester kyseliny malonové v typické syntéze esteru kyseliny malonové (viz reakce 6 a 7) a dekarboxylační hydrolýze výsledného substituovaného esteru (g) přímo ke vzniku benzyl propionové kyseliny (e). Posledně zmiňovanému způsobu je obzvláště dávana přednost pro nitro a alkylthio substituenty benzenového kruhu.

Dalším krokem je uzavření kruhu β -aryl propionové kyseliny (e) za vzniku indanonu (h), které může být provedeno Friedel-Craftsovou reakcí za použití Lewisova kyselého katalyzátoru (srovnej s Organic Compounds Vol 2, str. 130), nebo zahříváním s polyfosforovou kyselinou (viz reakce 8 a 9). Indanon (h) může být kondenzován s α -halo esterem v Reformatského reakci za účelem začlenění alifatického kyselého vedlejšího řetězce nahrazením karboxylové skupiny (viz reakce 10). Alternativně může být začlenění provedeno za použití Wittigovy reakce, v které je činidlem α -trifenylfosfinyl ester, činidlo, které nahrazuje karbonylovou skupinu dvojnou vazbou na uhlíku (viz reakce 12). Tento produkt (l) je poté okamžitě přeskupen na inden (j) (viz reakce 13). Je-li použito způsobu za použití Reformatského reakce, derivát meziprojektu 3-hydroxy-3-alifatické kyseliny musí být dehydratován na inden (j) (viz reakce 11).

Indenyloctová kyselina (k) v THF je poté podrobena reakci s oxanyl nebo thionyl chloridem nebo podobným činidlem za vzniku kyselého chloridu (m) (viz reakce 15) po odpaření rozpouštědla. Existují dva způsoby provedení reakce 16, při které dochází k adici benzylaminového vedlejšího řetězce (n).

Způsob I

V prvním způsobu je k roztoku 5-fluoro-2-metyl-3-indenylacetylchloridu v CH_2Cl_2 pomalu přidán při pokojové teplotě benzylamin (n). Reakční směs je přes noc zahřívána pod zpětným chlazením a extrahována vodnou kyselinou chlorovodíkovou (10%), vodou a vodným NaHCO_3 (5%). Organická fáze je vysušena (Na_2SO_4) a odpařena za vzniku amidové sloučeniny (o).

Způsob II

V druhé metodě je při pokojové teplotě kyselina indenyloctová (k) v DMA podrobena reakci probíhající po dobu dvou dnů s karbodiimidem (např. N-(3-dimetylamino-propyl)-N'-etylkarbodiimid hydrochloridem) a benzylaminem. Reakční směs je

po kapkách přidána k promíchané ledové vodě. Žlutý precipitát je zfiltrován, promyt vodou a vysušen ve vakuu. Rekrystalizace vede ke vzniku amidové sloučeniny (o).

Sloučeniny typu a' (Schéma III, o (Schéma I), t (Schéma II), y (Schéma IIB) mohou být všechny použity v kondenzační reakci zobrazené na Schématu III.

Substituenty

X = halogen, obvykle Cl nebo Br.

E = metyl, etyl nebo benzyl, nebo nižší acyl.

R₁, R₂, R₆, R₅ a R₇ = definovány jako ve vzorci I.

Y, n a m = definovány jako ve vzorci I.

Činidla a obecné podmínky pro Schéma I (čísla se týkají očíslovaných reakcí):

- 1) Zn prach v bezvodém inertním rozpouštědle, jako je například benzen a éter.
- 2) KHSO₄ nebo p-toluen sulfonová kyselina.
- 3) NaOC₂H₅ v bezvodém etanolu při pokojové teplotě.
- 4) H₂ palladium na aktivním uhlí, 40 psi při pokojové teplotě.
- 5) NaOH ve vodném alkoholu při teplotě 20-100°.
- 6) NaOC₂H₅ nebo jakákoli jiná silná zásada jako je například NaH nebo K-t-butoxid.
- 7) Kyselina.
- 8) Friedel-Craftsova reakce za použití Lewisova kyselého katalyzátoru (srovnej Organic Reactions, Vol II, str. 130.)
- 9) Zahřívát s polyfosforovou kyselinou.
- 10) Reformatského reakce: Zn v inertním rozpouštědle, zahřívát.
- 11) p-Toluen sulfonová kyselina a CaCl₂ nebo I₂ při teplotě 200°.
- 12) Wittigova reakce za použití (C₆H₅)₃ P=C-COOE 20-80° v éteru nebo benzenu.
- 13) a) NBS/CCL₄/benzoyl peroxid
b) PtO₂/H₂ (1 atm.)/kyselina octová

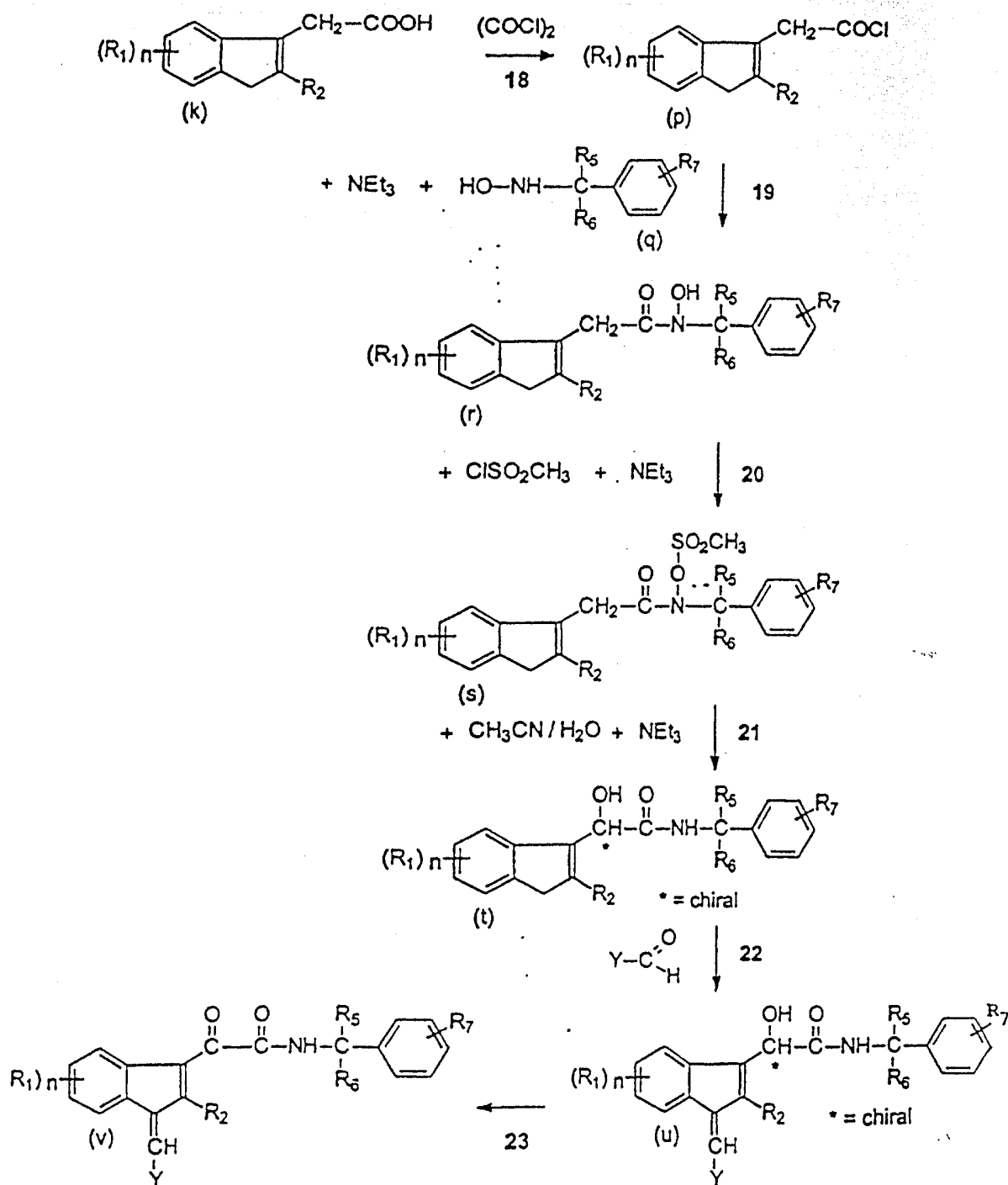
- 14) a) NaOH
b) HCl
- 15) Oxalyl nebo thionyl chlorid v CH_2Cl_2 nebo THF
- 16) Způsob I: 2 ekvivalenty $\text{NH}_2\text{-C(R}_5\text{R}_6\text{)-Ph-(R}_7\text{)}_m$
Způsob II: karbodiimid v THF
- 17) 1N NaOCH_3 v MeOH za podmínek zahřívání pod zpětným chlazením

Indanony v rozsahu sloučeniny (h) ve Schématu I jsou známy v literatuře a jsou tedy snadno dostupné jako meziprodukty pro zbytek syntézy, takže reakce 1-7 nemusí být prováděny. Mezi tyto známé indanony patří:

5-metoxyindanon
6-metoxyindanon
5-metylindanon
5-metyl-6-metoxyindanon
5-metyl-7-chloroindanon
4-metoxy-7-chloroindanon
4-izoproyl-2,7-dimetylindanon
5,6,7-trichloroindanon
2-n-butyloindanon
5-metylthioindanon

Schéma II má dvě vzájemně vylučná podschémata: Schéma IIA a Schéma IIB. Schéma IIA je použito, je-li R_3 hydroxy a R_4 je vodík, nebo tvoří-li oba substituenty oxo skupinu. Je-li R_3 nižší alkylamino, je použito Schéma IIB.

Schéma IIA



Podobně jako u Schématu I je i ve Schématu IIA podrobena kyselina indenyloctová (k) v THF reakci s oxalylchloridem za podmínek varu pod zpětným chlazením za vzniku kyselého chloridu (p) (viz reakce 18), zatímco rozpouštědlo je odpařeno. V reakci 19 je směs benzyl hydroxylamin hydrochloridu (q) a Et₃N podrobena reakci při teplotě 0°C se studeným roztokem kyselého chloridu v CH₂Cl₂ po dobu 45-60 minut. Směs je zahřáta na pokojovou teplotu a promíchávána po dobu jedné hodiny a podrobena reakci s vodou. Výsledná organická vrstva je promyta

1N HCl a salinickým roztokem, vysušena síranem hořečnatým a odpařena. Hrubý produkt N-hydroxy-N-benzyl acetamid (r) je purifikován krystalizací nebo chromatograficky. Obecný postup je popsán Hoffmanem et al. JOC 1992, 57, 5700-5707.

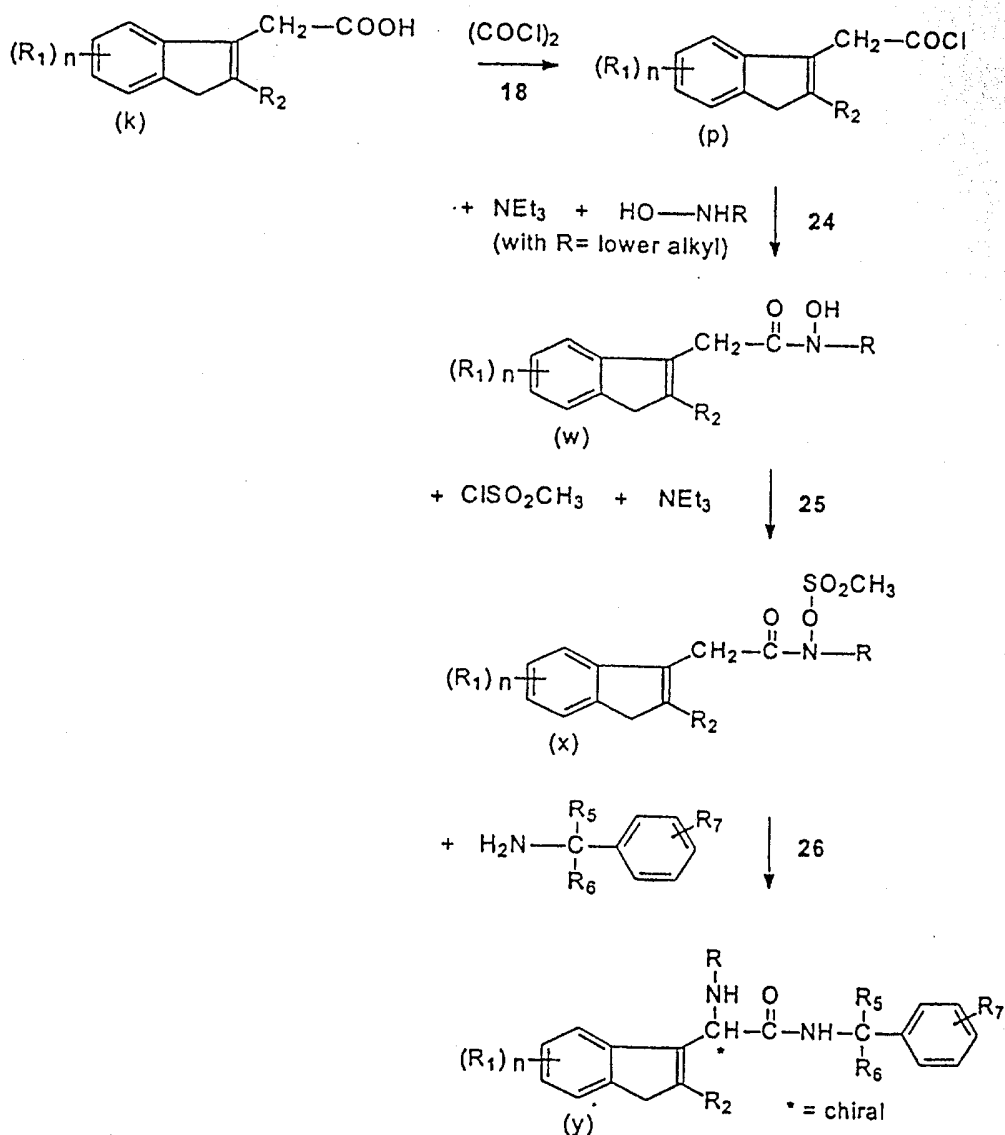
Dalším krokem je příprava N-mesyloxyamidu (s) v reakci 20, která je také popsána Hoffmanem et al. JOC 1992, 57, 5700-5707. K roztoku kyseliny hydroxamové (r) v CH_2Cl_2 při teplotě 0°C je specificky přidán triethylamin. Směs je promíchávána při teplotě 0°C po dobu 2 hodin, vytemperována na pokojovou teplotu a promíchávána po dobu dalších 2 hodin. Organická vrstva je promyta vodou, 1N HCl a salinickým roztokem a vysušena síranem hořečnatým. Po rotačním odpařování je(jsou) produkt(y) obvykle purifikován(y) krystalizací nebo chromatograficky.

Příprava N-benzyl- α -(hydroxy)amidu (t) v reakci 21 je také popsána Hoffmanem et al., JOC, 57, 5700-5707 a Hoffmanem et al., JOC 1995, 60, 4121-4125. K roztoku N-(mesyloxy)amidu (s) v $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ je specificky přidán triethylamin v CH_3CN po dobu 6-12 hodin. Směs je přes noc promíchávána. Rozpouštědlo je odstraněno a reziduum je rozpuštěno v etylacetátu. Roztok je promyt vodou, 1N HCl a salinickým roztokem, a vysušen síranem hořečnatým. Po rotačním odpaření je produkt (t) obvykle purifikován rekrystalizací.

Reakce 22 ve Schématu IIA zahrnuje kondenzaci s určitými aldehydy, která je popsána ve Schématu III níže, které je společné pro produkty vytvořené podle Schémat I, IIA a IIB.

Finální reakcí 23 ve Schématu IIA je příprava N-benzyl- α -ketoamidu (v), která zahrnuje oxidaci sekundárního alkoholu (u) na keton, např. Pfitzner-Moffatovu oxidaci, ve které dochází k selektivní oxidaci alkoholu bez oxidace skupiny Y. Sloučeniny (u) a (v) mohou být derivatizovány za účelem získání sloučenin se skupinami R_3 a R_4 definovaných stejně jako ve vzorci I.

Scheme IIB



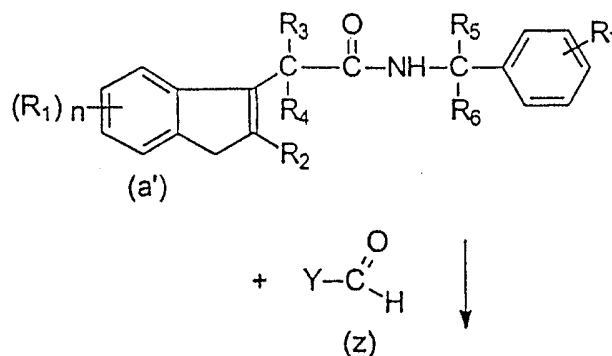
Jak je vysvětleno výše je Schéma IIB použito, je-li R_3 nižší alkylamino skupina. Podobně jako u Schématu I je i ve Schématu IIB podrobena kyselina indenyloctová (k) v THF reakci s oxalylchloridem za podmínek varu pod zpětným chlazením za vzniku kyselého chloridu (p) (viz reakce 18), zatímco rozpouštědlo je odpařeno. V reakci 24 je směs alkyl hydroxylamin hydrochloridu (tj. HO-NHR, kde R je nižší alkyl, přednostně izopropyl) a Et_3N podrobena reakci při teplotě 0°C se studeným roztokem kyselého chloridu v CH_2Cl_2 po dobu 45-60 minut. Směs je zahřáta na pokojovou teplotu a promíchávána po dobu jedné hodiny a poté naředěna vodou. Výsledná organická vrstva je promyta 1N HCl a salinickým roztokem, vysušena

síranem hořečnatým a odpařena. Hrubý produkt N-hydroxy-N-alkyl acetamid (w) je purifikován krystalizací nebo chromatograficky. Obecný postup je popsán Hoffmanem et al. JOC 1992, 57, 5700-5707.

Dalším krokem je příprava N-mesyloxyamidu (x) v reakci 25, která je také popsána Hoffmanem et al. JOC 1992, 57, 5700-5707. Roztok kyseliny hydroxamové (w) v CH_2Cl_2 při teplotě 0°C je podroben reakci s triethylaminem, směs je promíchávána po dobu 10-12 minut a po kapkách je přidán metansulfonyl chlorid. Směs je promíchávána při teplotě 0°C po dobu 2 hodin, vytemperována na pokojovou teplotu a promíchávána po dobu dalších 2 hodin. Organická vrstva je promyta vodou, 1N HCl a salinickým roztokem a vysušena síranem hořečnatým. Po rotačním odpařování je produkt obvykle purifikován krystalizací nebo chromatograficky.

Příprava N-benzyl indenyl- α -nižšího alkylamino acetamidu (y) ve Schématu IIB je popsána Hoffmanem et al., JOC 1995, 60, 4121-4125 a J. Am. Chem. Soc. 1993, 115, 5031-34 a zahrnuje reakci N-(mesyloxy)amidu (x) s benzylaminem v CH_2Cl_2 při teplotě 0°C , který je přidáván po dobu 30 minut. Výsledný roztok je promícháván při teplotě 0°C po dobu 1 hodiny a přes noc při pokojové teplotě. Rozpouštědlo je odstraněno a reziduum je podrobeno reakci s 1N NaOH. Extrakt s CH_2Cl_2 je promyt vodou a vysušen síranem hořečnatým. Po rotačním odpaření je produkt (y) purifikován chromatograficky nebo krystalizací.

Schéma III



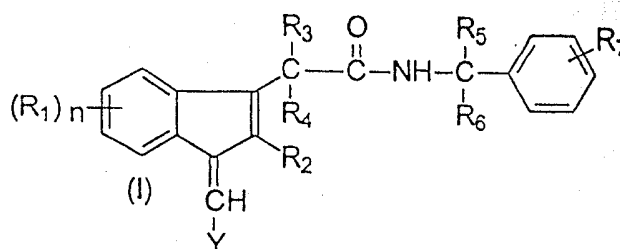


Schéma III zahrnuje kondenzaci heterocykloaldehydů (tj. Y-CHO) s indenyl amidy za vzniku finálních sloučenin definovaných vzorcem I. Tato kondenzace je použita například v reakci 17 ve Schématu I uvedeném výše a v reakci 22 ve Schématu IIA. Je také použita ke konverzi sloučeniny (y) ve Schématu IIB na finální sloučeniny definované vzorcem I.

Ve Schématu III jsou amid (a') z výše uvedených schémat, N-heterocykloaldehyd (z) a metoxid sodný (1M v metanolu) promíchávány při teplotě 60°C pod dusíkovou atmosférou po dobu 24 hodin. Po ochlazení je reakční směs nalita do ledové vody. Sraženina je zfiltrována, promyta vodou a vysušena ve vakuu. Rekrystalizace vede ke vzniku sloučeniny definované vzorcem I ve Schématu I a IIB a meziprojektu (u) ve Schématu IIA.

Jak bylo uvedeno výše, je v přípravě mnoha typů sloučenin tohoto vynálezu přednostně používán nitro substituent na benzenovém kruhu indanonového jádra, který je později přeměněn na požadovaný substituent, protože tímto způsobem může být vytvořeno velké množství substituentů. Toho je dosaženo redukcí nitro skupiny na amino skupinu s následným použitím Sandmeyerovy reakce k nahrazení aminoskupiny chlórem, brómem, kyano skupinou nebo xantátem. Hydrolýza kyano derivátů vede ke vzniku karboxamidu a karboxylové kyseliny, poté mohou být připraveny další deriváty karboxy skupiny, jako jsou například estery. Hydrolýza xantátů vede ke vzniku merkaptó skupiny, která může být snadno oxidována na sulfonovou kyselinu nebo alkylována na alkylthio skupinu, která může být poté oxidována na alkylsulfonylové skupiny. Tyto reakce mohou být provedeny buďto před nebo až po začlenění 1-substituentu.

Uvedeným faktům může být lépe porozuměno z následujících příkladů, které jsou předkládány za účelem ilustrace a nejsou zamýšleny jako nikterak omezující rozsah vynálezu. Jak je použito v následujících příkladech, odkazy na substituenty, jako jsou například R_1 , R_2 atd. se týkají odpovídajících sloučenin a substituentů definovaných výše ve vzorci I.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

(Z)-5-Fluoro-2-metyl-(4-pyridinylden)-3-(N-benzyl)-indenylacetamid

(A) p-Fluoro- α -methylcinamová kyselina

p-Fluorobenzaldehyd (200 g, 1,61 mol), anhydrid kyseliny propionové (3,5 g, 2,42 mol) a propionát sodný (155 g, 1,61 mol) jsou smíchány v 1 litrové nádobě s 3 hrdly, která byla vyfoukána dusíkem. Nádoba je postupně zahřívána v olejové lázni na teplotu 140°C. Po 20 hodinách je nádoba ochlazená na 100°C a nalita do 8 l vody. Precipitát je rozpuštěn přidáním hydroxidu draselného (302 g) ve 2l vody. Vodný roztok je extrahován éterem a éterové extrakty jsou promyty roztokem hydroxidu draselného. Zkombinované vodné vrstvy jsou zfiltrovány, okyseleny koncentrovanou HCl a zfiltrovány. Sbíraná pevná látka, p-fluoro- α -methylcinamová kyselina, je promyta vodou, vysušena a použita tak, jak je získána.

(B) p-Fluoro- α -methylhydrocinamová kyselina

K p-fluoro- α -methylcinamové kyselině (177,9 g, 0,987 mol) v 3,6 l etanolu je přidáno 11,0 g Pd/C. Směs je redukována při pokojové teplotě pod tlakem vodíku 40 psi. Jakmile začne ustávat vychytávání vodíku, je katalyzátor zfiltrován a rozpouštědlo je odpařeno ve vakuu za vzniku produktu, p-fluoro- α -methylhydrocinamové kyseliny, která je přímo použita v dalším kroku.

(C) 6-Fluoro-2-metylindanon

K 932 g polyfosforové kyseliny je pomalu přidávána za stálého míchání a při teplotě 70°C (parní lázeň) p-fluoro- α -metylhydrocinamová kyselina (93,2 g, 0,5 mol). Teplota je postupně zvýšena na 95°C a směs je udržována na této teplotě po dobu jedné hodiny. Směs je ochlazená a jsou přidány 2l vody. Vodná suspenze je extrahována éterem. Extrakt je promyt dvakrát nasyceným roztokem chloridu sodného, 5% roztokem Na₂CO₃ a vodou, poté je vysušen a zakoncentrován na 200 g silikagelu. Vazká hmota je nanesena na 5 librovou kolonu silika gelu naplněnou 5% éter-petroléterem. Kolona je eluována 5-10% éter-petroléterem, což vede ke vzniku 6-fluoro-2-metylindanonu. Eluce je následována TLC (tenkovrstevnou chromatografií).

(D) 5-fluoro-2-metylindenyl-3-octová kyselina

Směs 6-fluoro-2-metylindanonu (18,4 g), kyseliny kyanooctové (10,5 g, 0,123 mol), kyseliny octové (6,6 g) a amonium acetátu (1,7 g) v suchém toluenu (15,5 ml) je zahřívána pod zpětným chlazením za stálého míchání po dobu 21 hodin a uvolněná voda je sbírána v Dean Starkově zařízení. Toluén je odpařen a reziduum je rozpuštěno v 60 ml horkého etanolu a 14 ml 2,2 N vodného roztoku hydroxidu draselného. Je přidáno 22 g 85% KOH v 150 ml vody směs je zahřívána pod zpětným chlazením po dobu 13 hodin pod dusíkovou atmosférou. Etanol je odstraněn ve vakuu a je přidáno 500 ml vody. Vodný roztok je extrahován éterem a poté povařen s aktivním uhlím. Vodný filtrát je okyselen na pH 2 pomocí 50% studené kyseliny chlorovodíkové. Precipitát je vysušen a je získána 5-fluoro-2-metylindenyl-3-octová kyselina (bod tání 164-166°C).

(E) 5-fluoro-2-metylindenyl-3-acetylchlorid

5-fluoro-2-metylindenyl-3-octová kyselina (70 mmol) v THF (70 ml) je podrobena reakci s oxalylchloridem (2M v CH₂Cl₂, 35 ml, 70 mmol) za podmínek varu pod zpětným chlazením (24 hodin).

Rozpouštědlo je odpařeno, což vede ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku, která je použita v dalším kroku.

(F) 5-fluoro-2-metyl-3-(N-benzyl)-indenylacetamid

K roztoku 5-fluoro-2-metylindenyl-3-acetylchloridu (2,5 mmol) v CH_2Cl_2 (10 ml) je při pokojové teplotě pomalu přidán benzylamin (5 mmol). Reakční směs je přes noc zahřívána pod zpětným chlazením a extrahována vodnou HCl (10%), vodou a NaHCO_3 (5%). Organická vrstva je vysušena (Na_2SO_4) a odpařena, což vede ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku, která je rekrystalizována z CH_2Cl_2 , což vede ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku ve formě pevné látky bílé barvy (bod tání 144°C).

(G) (Z)-5-fluoro-2-metyl-(4-pyridinyliden)-3-(N-benzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-benzyl)-indenylacetamid (3,38 mmol), 4-pyridinkarboxaldehydu (4 mmol), metoxydu sodného (1M NaOCH_3 v metanolu (30 ml)) jsou zahřívány za stálého míchání pod dusíkovou atmosférou po dobu 24 hodin při teplotě 60° . Po ochlazení je reakční směs nalita do ledové vody (200 ml). Pevná látka je zfiltrována, promyta vodou a vysušena ve vakuu. Rekrystalizace z CH_3CN vede ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku (bod tání 202°C) ve formě pevné látky žluté barvy ($\text{R}_1=\text{F}$, $\text{R}_2=\text{CH}_3$, $\text{R}_3=\text{H}$, $\text{R}_4=\text{H}$, $\text{R}_5=\text{H}$, $\text{R}_6=\text{H}$, $\text{R}_7=\text{H}$, $n=1$, $m=1$, $\text{Y}=4\text{-pyridinyl}$).

(H) (E)-5-fluoro-2-metyl-(4-pyridinyliden)-3-(N-benzyl)-indenylacetamid

Mateřská kapalina získaná z CH_3CN rekrystalizace produktu z 1G je bohatá na geometrický izomer 1G. Čistý E-izomer může být získán opakovanými rekrystalizacemi z CH_3CN .

Příklad 2

(Z)-5-fluoro-2-metyl-(3-pyridinyliden)-3-(N-benzyl)-indenylacetamid

Tato sloučenina může být získána z 5-fluoro-2-metyl-3-(N-benzyl)-indenylacetamidu (Příklad 1F) za použití postupu z Příkladu 1, část G, při nahrazení 4-pyridinkarboxaldehydu 3-pyridinkarboxaldehydem. Rekrystalizací z CH_3CN dochází ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku (bod tání 175°C) ($\text{R}_1=\text{F}$, $\text{R}_2=\text{CH}_3$, $\text{R}_3=\text{H}$, $\text{R}_4=\text{H}$, $\text{R}_5=\text{H}$, $\text{R}_6=\text{H}$, $\text{R}_7=\text{H}$, $n=1$, $m=1$, $\text{Y}=3\text{-pyridinyl}$).

Příklad 3

(Z)-5-fluoro-2-metyl-(2-pyridinylden)-3-(N-benzyl)-indenylacetamid

Tato sloučenina může být získána z 5-fluoro-2-metyl-3-(N-benzyl)-indenylacetamidu (Příklad 1F) za použití postupu z Příkladu 1, část G, při nahrazení 4-pyridinkarboxaldehydu 2-pyridinkarboxaldehydem. Rekrystalizací z etylacetátu dochází ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku (bod tání 218°C) ($\text{R}_1=\text{F}$, $\text{R}_2=\text{CH}_3$, $\text{R}_3=\text{H}$, $\text{R}_4=\text{H}$, $\text{R}_5=\text{H}$, $\text{R}_6=\text{H}$, $\text{R}_7=\text{H}$, $n=1$, $m=1$, $\text{Y}=2\text{-pyridinyl}$).

Příklad 4

(Z)-5-fluoro-2-metyl-(4-chinolinylden)-3-(N-benzyl)-indenylacetamid

Tato sloučenina může být získána z 5-fluoro-2-metyl-3-(N-benzyl)-indenylacetamidu (Příklad 1F) za použití postupu z Příkladu 1, část G, při nahrazení 4-pyridinkarboxaldehydu 4-chinolinylnkarboxaldehydem. Rekrystalizací z etylacetátu dochází ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku (bod tání 239°C) ($\text{R}_1=\text{F}$, $\text{R}_2=\text{CH}_3$, $\text{R}_3=\text{H}$, $\text{R}_4=\text{H}$, $\text{R}_5=\text{H}$, $\text{R}_6=\text{H}$, $\text{R}_7=\text{H}$, $n=1$, $m=1$, $\text{Y}=4\text{-chinolinyln}$).

Příklad 5

(Z)-5-fluoro-2-metyl-(4,6-dimetyl-2-pyridinylden)-3-(N-benzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-benzyl)-indenylacetamid z Příkladu 1, část F je podroben reakci s 4,6-dimetyl-2-pyridinkarboxaldehydem podle postupu z Příkladu 1, část G za účelem získání sloučeniny uvedené v titulku. Rekrystalizací dochází ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku ($\text{R}_1=\text{F}$, $\text{R}_2=\text{CH}_3$,

$R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=H$, $R_6=H$, $R_7=H$, $n=1$, $m=1$, $Y=4,6\text{-dimetyl-2-pyridinyl}$).

Příklad 6

(Z)-5-fluoro-2-metyl-(3-chinolinylden)-3-(N-benzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-benzyl)-indenylacetamid z Příkladu 1, část F je podroben reakci s 3-chinolinkarboxaldehydem podle postupu z Příkladu 1, část G za účelem získání sloučeniny uvedené v titulku. Rekrytalizací dochází ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=H$, $R_6=H$, $R_7=H$, $n=1$, $m=1$, $Y=3\text{-chinolinyl}$).

Příklad 7

(Z)-5-fluoro-2-metyl-(2-chinolinylden)-3-(N-benzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-benzyl)-indenylacetamid z Příkladu 1, část F je podroben reakci s 2-chinolinkarboxaldehydem podle postupu z Příkladu 1, část G za účelem získání sloučeniny uvedené v titulku. Rekrytalizací dochází ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=H$, $R_6=H$, $R_7=H$, $n=1$, $m=1$, $Y=2\text{-chinolinyl}$).

Příklad 8

(Z)-5-fluoro-2-metyl-(pyrazinylden)-3-(N-benzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-benzyl)-indenylacetamid z Příkladu 1, část F je podroben reakci s pyrazinaldehydem podle postupu z Příkladu 1, část G za účelem získání sloučeniny uvedené v titulku. Rekrytalizací dochází ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=H$, $R_6=H$, $R_7=H$, $n=1$, $m=1$, $Y=\text{pyrazinyl}$).

Příklad 9

(Z)-5-fluoro-2-metyl-(3-pyridazinylden)-3-(N-benzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-benzyl)-indenylacetamid z Příkladu 1, část F je podroben reakci s pyridazin-3-aldehydem podle postupu z Příkladu 1, část G za účelem získání sloučeniny uvedené v titulku. Rekrystalizací dochází ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=H$, $R_6=H$, $R_7=H$, $n=1$, $m=1$, $Y=3$ -pyridazinyl).

Příklad 10

(Z)-5-fluoro-2-metyl-(4-pyrimidinyliden)-3-(N-benzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-benzyl)-indenylacetamid z Příkladu 1, část F je podroben reakci s pyrimidin-4-aldehydem podle postupu z Příkladu 1, část G za účelem získání sloučeniny uvedené v titulku. Rekrystalizací dochází ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=H$, $R_6=H$, $R_7=H$, $n=1$, $m=1$, $Y=4$ -pyrimidinyl).

Příklad 11

(Z)-5-fluoro-2-metyl-(2-metyl-4-pyrimidinyliden)-3-(N-benzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-benzyl)-indenylacetamid z Příkladu 1, část F je podroben reakci s 2-metyl-pyrimidin-4-aldehydem podle postupu z Příkladu 1, část G za účelem získání sloučeniny uvedené v titulku. Rekrystalizací dochází ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=H$, $R_6=H$, $R_7=H$, $n=1$, $m=1$, $Y=2$ -metyl-4-pyrimidinyl).

Příklad 12

(Z)-5-fluoro-2-metyl-(4-pyridazinyliden)-3-(N-benzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-benzyl)-indenylacetamid z Příkladu 1, část F je podroben reakci s pyridazin-4-aldehydem podle postupu z Příkladu 1, část G za účelem získání sloučeniny uvedené v titulku. Rekrystalizací dochází ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=H$, $R_6=H$, $R_7=H$, $n=1$, $m=1$, $Y=4$ -pyridazinyl).

Příklad 13(Z)-5-fluoro-2-metyl-(1-metyl-3-indolylden)-3-(N-benzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-benzyl)-indenylacetamid z Příkladu 1, část F je podroben reakci s 1-metylindol-3-karboxaldehydem podle postupu z Příkladu 1, část G za účelem získání sloučeniny uvedené v titulku. Rekrystalizací dochází ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=H$, $R_6=H$, $R_7=H$, $n=1$, $m=1$, $Y=1\text{-metyl-3-indolyl}$).

Příklad 14(Z)-5-fluoro-2-metyl-(1-acetyl-3-indolylden)-3-(N-benzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-benzyl)-indenylacetamid z Příkladu 1, část F je podroben reakci s 1-acetyl-3-indolkarboxaldehydem podle postupu z Příkladu 1, část G za účelem získání sloučeniny uvedené v titulku. Rekrystalizací dochází ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=H$, $R_6=H$, $R_7=H$, $n=1$, $m=1$, $Y=1\text{-acetyl-3-indolyl}$).

Příklad 15(Z)-5-fluoro-2-metyl-(4-pyridinylden)-3-(N-2-fluorobenzyl)-indenylacetamid**(A) 5-fluoro-2-metyl-3-(N-2-fluorobenzyl)-indenylacetamid**

Tato sloučenina je získána z 5-fluoro-2-metylindenyl-3-acetylchloridu (Příklad 1E) podle postupu z Příkladu 1, část F při nahrazení benzylaminu 2-fluorobenzylaminem.

(B) (Z)-5-fluoro-2-metyl-(4-pyridinylden)-3-(N-2-fluorobenzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-2-fluorobenzyl)-indenylacetamid je podroben reakci s 4-pyridinkarboxaldehydem podle postupu z Příkladu 1, část G za účelem získání sloučeniny uvedené v titulku. Rekrystalizací dochází ke vzniku sloučeniny uvedené

v titulku ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=H$, $R_6=H$, $R_7=H$, $n=1$, $m=1$, $Y=4$ -pyridinyl).

Příklad 16

(Z)-5-fluoro-2-metyl-(3-pyridinyliden)-3-(N-2-fluorobenzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-2-fluorobenzyl)-indenylacetamid z
Příkladu 15, část A je podroben reakci s 3-pyridinkarboxaldehydem podle postupu z Příkladu 1, část G za účelem získání sloučeniny uvedené v titulku. Rekrystalizací dochází ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=H$, $R_6=H$, $R_7=H$, $n=1$, $m=1$, $Y=3$ -pyridinyl).

Příklad 17

(Z)-5-fluoro-2-metyl-(2-pyridinyliden)-3-(N-2-fluorobenzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-2-fluorobenzyl)-indenylacetamid z
Příkladu 15, část A je podroben reakci s 2-pyridinkarboxaldehydem podle postupu z Příkladu 1, část G za účelem získání sloučeniny uvedené v titulku. Rekrystalizací dochází ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=H$, $R_6=H$, $R_7=H$, $n=1$, $m=1$, $Y=2$ -pyridinyl).

Příklad 18

(Z)-5-fluoro-2-metyl-(4-chinolinyliden)-3-(N-2-fluorobenzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-2-fluorobenzyl)-indenylacetamid z
Příkladu 15, část A je podroben reakci s 4-chinolynkarboxaldehydem podle postupu z Příkladu 1, část G za účelem získání sloučeniny uvedené v titulku. Rekrystalizací dochází ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=H$, $R_6=H$, $R_7=H$, $n=1$, $m=1$, $Y=3$ -chinolinyl).

Příklad 19

(Z)-5-fluoro-2-metyl-(3-pyrazinyliden)-3-(N-2-fluorobenzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-2-fluorobenzyl)-indenylacetamid z
Příkladu 15, část A je podroben reakci s pyrazinaldehydem podle
postupu z Příkladu 1, část G za účelem získání sloučeniny
uvedené v titulku. Rekrystalizací dochází ke vzniku sloučeniny
uvedené v titulku ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=H$, $R_6=H$, $R_7=H$,
 $n=1$, $m=1$, $Y=3$ -pyrazinyl).

Příklad 20

(Z)-5-fluoro-2-metyl-(3-pyridazinylden)-3-(N-2-fluorobenzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-2-fluorobenzyl)-indenylacetamid z
Příkladu 15, část A je podroben reakci s 3-pyridazin-3-
aldehydem podle postupu z Příkladu 1, část G za účelem získání
sloučeniny uvedené v titulku. Rekrystalizací dochází ke vzniku
sloučeniny uvedené v titulku ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=H$,
 $R_6=H$, $R_7=H$, $n=1$, $m=1$, $Y=3$ -pyridazinyl).

Příklad 21

(Z)-5-fluoro-2-metyl-(3-pyrimidinylden)-3-(N-2-fluorobenzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-2-fluorobenzyl)-indenylacetamid z
Příkladu 15, část A je podroben reakci s pyrimidin-4-aldehydem
podle postupu z Příkladu 1, část G za účelem získání sloučeniny
uvedené v titulku. Rekrystalizací dochází ke vzniku sloučeniny
uvedené v titulku ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=H$, $R_6=H$, $R_7=H$,
 $n=1$, $m=1$, $Y=3$ -pyrimidinyl).

Příklad 22

(Z)-5-fluoro-2-metyl-(4-pyridazinylden)-3-(N-2-fluorobenzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-2-fluorobenzyl)-indenylacetamid z
Příkladu 15, část A je podroben reakci s pyridazin-4-aldehydem
podle postupu z Příkladu 1, část G za účelem získání sloučeniny
uvedené v titulku. Rekrystalizací dochází ke vzniku sloučeniny
uvedené v titulku ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=H$, $R_6=H$, $R_7=H$,
 $n=1$, $m=1$, $Y=4$ -pyridazinyl).

Příklad 23

(Z)-5-fluoro-2-metyl-(4-pyridinylden)-3-(N-(S- α -hydroxymetyl)benzyl)-indenylacetamid

(A) 5-fluoro-2-metyl-3-(N-(S- α -hydroxymetyl)benzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metylidenyl-3-octová kyselina (z Příkladu 1D) (2,6 mmol) v DMA (2 ml) je při pokojové teplotě a po dobu 2 dnů podrobena reakci s n-(3-dimethylaminopropyl)-N'-etylkarbodiimid hydrochloridem (4 mmol) a S-2-amino-2-fenyletanolem (3,5 mmol). Reakční směs je po kapkách přidávána k promíchané ledové vodě (50 ml). Bílý precipitát je zfiltrován, promyt vodou (5 ml) a vysušen ve vakuu. Rekrystalizací z etylacetátu dochází ke vzniku požadované sloučeniny.

(B) (Z)-5-fluoro-2-metyl-(4-pyridinylden)-3-(N-(S- α -hydroxymetyl)benzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-(S- α -hydroxymetyl)benzyl)-indenylacetamid z části A je podroben reakci s 4-pyridinkarboxaldehydem podle postupu z Příkladu 1, část G za účelem získání sloučeniny uvedené v titulku. Rekrystalizací dochází ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=CH_2OH$, $R_6=H$, $R_7=H$, $n=1$, $m=1$, $Y=4$ -pyridinyl).

Příklad 24

(Z)-5-fluoro-2-metyl-(3-pyridinylden)-3-(N-(S- α -hydroxymetyl)benzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-(S- α -hydroxymetyl)benzyl)-indenylacetamid z Příkladu 23, část A je podroben reakci s 3-pyridinkarboxaldehydem podle postupu z Příkladu 1, část G za účelem získání sloučeniny uvedené v titulku. Rekrystalizací dochází ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=CH_2OH$, $R_6=H$, $R_7=H$, $n=1$, $m=1$, $Y=3$ -pyridinyl).

Příklad 25

(Z)-5-fluoro-2-metyl-(2-pyridinylden)-3-(N-(S- α -hydroxymetyl)benzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-(S- α -hydroxymetyl)benzyl)-indenylacetamid z Příkladu 23, část A je podroben reakci s 2-pyridinkarboxaldehydem podle postupu z Příkladu 1, část G za účelem získání sloučeniny uvedené v titulku. Rekrystalizací dochází ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=CH_2OH$, $R_6=H$, $R_7=H$, $n=1$, $m=1$, $Y=2$ -pyridinyl).

Příklad 26

(Z)-5-fluoro-2-metyl-(4-chinolinylden)-3-(N-(S- α -hydroxymetyl)benzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-(S- α -hydroxymetyl)benzyl)-indenylacetamid z Příkladu 23, část A je podroben reakci s 4-chinolinkarboxaldehydem podle postupu z Příkladu 1, část G za účelem získání sloučeniny uvedené v titulku. Rekrystalizací dochází ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=CH_2OH$, $R_6=H$, $R_7=H$, $n=1$, $m=1$, $Y=4$ -chinolinyl).

Příklad 27

(Z)-5-fluoro-2-metyl-(pyrazidinylden)-3-(N-(S- α -hydroxymetyl)benzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-(S- α -hydroxymetyl)benzyl)-indenylacetamid z Příkladu 23, část A je podroben reakci s pyrazidinkarboxaldehydem podle postupu z Příkladu 1, část G za účelem získání sloučeniny uvedené v titulku. Rekrystalizací dochází ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=CH_2OH$, $R_6=H$, $R_7=H$, $n=1$, $m=1$, $Y=4$ -pyrazidinyl).

Příklad 28

(Z)-5-fluoro-2-metyl-(3-pyridazinylden)-3-(N-(S- α -hydroxymetyl)benzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-(S- α -hydroxymetyl)benzyl)-indenylacetamid z Příkladu 23, část A je podroben reakci s pyridazin-3-aldehydem podle postupu z Příkladu 1, část G za

účelem získání sloučeniny uvedené v titulku. Rekrystalizací dochází ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=CH_2OH$, $R_6=H$, $R_7=H$, $n=1$, $m=1$, $Y=3$ -pyridaziny).

Příklad 29

(Z)-5-fluoro-2-metyl-(4-pyrimidinyliden)-3-(N-(S- α -hydroxymetyl)benzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-(S- α -hydroxymetyl)benzyl)-indenylacetamid z Příkladu 23, část A je podroben reakci s pyrimidin-4-aldehydem podle postupu z Příkladu 1, část G za účelem získání sloučeniny uvedené v titulku. Rekrystalizací dochází ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=CH_2OH$, $R_6=H$, $R_7=H$, $n=1$, $m=1$, $Y=4$ -pyrimidinyl).

Příklad 30

(Z)-5-fluoro-2-metyl-(4-pyridazinylden)-3-(N-(S- α -hydroxymetyl)benzyl)-indenylacetamid

5-fluoro-2-metyl-3-(N-(S- α -hydroxymetyl)benzyl)-indenylacetamid z Příkladu 23, část A je podroben reakci s pyridazin-4-aldehydem podle postupu z Příkladu 1, část G za účelem získání sloučeniny uvedené v titulku. Rekrystalizací dochází ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=CH_2OH$, $R_6=H$, $R_7=H$, $n=1$, $m=1$, $Y=4$ -pyridaziny).

Příklad 31

rac-(Z)-5-fluoro-2-metyl-(4-pyridinylden)-3-(N-benzyl)indenyl- α -hydroxyacetamid

(A) 5-fluoro-2-metyl-3-(N-benzyl-N-hydroxy)-indenylacetamid

Ke směsi N-benzylhydroxylamin hydrochloridu (12 mmol) a Et_3N (22 mmol) v CH_2Cl_2 (100 ml) při teplotě $0^\circ C$ je přidán studený roztok 5-fluoro-2-metylindenyl-3-acetyl chloridu (Příklad 1, Krok E) (10 mmol) v CH_2Cl_2 (75 ml) po dobu 45-60 minut. Směs je zahřívána na pokojovou teplotu a promíchávána po dobu 1 hodiny. Směs je naředěna vodou (100 ml), vysušena ($MgSO_4$) a odpařena.

Hrubý produkt je purifikován chromatograficky, což vede ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku.

(B) 5-fluoro-2-metyl-3-(N-benzyl-N-mesyloxy)-indenylacetamid

K roztoku 5-fluoro-2-metyl-3-(N-benzyl-N-hydroxy)-indenylacetamidu (5 mmol) v CH_2Cl_2 (25 ml) při teplotě 0°C je přidán triethylamin (5 mmol). Směs je promíchávána po dobu 10 minut a po kapkách je přidáván metansulfonylchlorid (5,5 mmol). Roztok je promícháván při teplotě 0°C po dobu 2 hodin, vytemperován na pokojovou teplotu a promícháván po dobu dalších 2 hodin. Organická vrstva je promyta vodou (2x20 ml), HCl (15 ml) a salinickým roztokem (20 ml) a vysušena síranem hořečnatým. Po rotačním odpaření je produkt purifikován chromatograficky, což vede ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku.

(C) rac-5-fluoro-2-metyl-3-(N-benzyl)- α -hydroxyindenylacetamid

K roztoku 5-fluoro-2-metyl-3-(N-benzyl-N-mesyloxy)-indenylacetamidu (2 mmol) v $\text{CH}_2\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (a 12 ml) je přidáván po dobu 6 hodin triethylamin (2,1 mmol) v CH_3CN (24 ml). Směs je přes noc promíchávána. Rozpouštědlo je odstraněno a reziduum naředěno etylacetátem (60 ml), promyto vodou (4x20 ml), HCl (15 ml) a salinickým roztokem (20 ml) a vysušena síranem hořečnatým. Po rotačním odpaření je produkt purifikován rekrystalizací, což vede ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku.

(D) rac-(Z)-5-fluoro-2-metyl-(4-pyridinyliden)-3-(N-benzyl)-indenyl- α -hydroxyacetamid je získán z rac-5-fluoro-2-metyl-3-(N-benzyl)- α -hydroxyindenyl acetamid za použití postupu z Příkladu 1, část G ($\text{R}_1=\text{F}$, $\text{R}_2=\text{CH}_3$, $\text{R}_3=\text{OH}$, $\text{R}_4=\text{H}$, $\text{R}_5=\text{H}$, $\text{R}_6=\text{H}$, $\text{R}_7=\text{H}$, $n=1$, $m=1$, $\text{Y}=4\text{-pyridinyl}$).

2-[(Z)-5-fluoro-2-metyl-(4-pyridinyliden)-3-(N-benzyl)indenyl]-oxyacetamid

V rámci Pfitzner-Moffatovy oxidace je roztok rac-(Z)-5-fluoro-2-metyl-(4-pyridinyliden)-3-(N-benzyl)-indenyl- α -hydroxyacetamidu (1 mmol) v DMSO (5 ml) podroben reakci s dicyklohexylkarbodiimidem (3 mmol). Směs je promíchávána přes noc a rozpouštědlo je odpařeno. Hrubý produkt je purifikován chromatograficky, což vede ke vzniku sloučeniny uvedené v titulku ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, R_3 a R_4 spolu tvoří $C=O$, $R_5=H$, $R_6=H$, $R_7=H$, $n=1$, $m=1$, $Y=4$ -pyridinyl).

Příklad 33

rac-(Z)-5-fluoro-2-metyl-(4-pyridinyliden)-3-(N-benzyl)indenyl- α -(2-propylamino)-acetamid

(A) 5-fluoro-2-metyl-3-(N-2-propyl-N-hydroxybenzyl)-indenylacetamid je získán z 5-fluoro-2-metylindenyl-3-acetylchloridu (Příklad 1, Krok E) za použití postupu v Příkladu 31, část A a nahrazením N-benzylhydroxylamin hydrochloridu N-2-propyl hydroxylamin hydrochloridem.

(B) 5-fluoro-2-metyl-3-(N-2-propyl-N-mesyloxy)-indenylacetamid je získán za použití postupu v Příkladu 31, část B.

(C) rac-5-fluoro-2-metyl-3-(N-benzyl)- α -(2-propylamino)acetamid. K 5-fluoro-2-metyl-3-(N-2-propyl-N-mesyloxy)-indenylacetamidu (2 mmol) v CH_2Cl_2 (25 ml) při teplotě $0^\circ C$ byl přidáván po dobu 30 minut benzylamin (4,4 mmol) v CH_2Cl_2 (15 ml). Výsledný roztok je promícháván při teplotě $0^\circ C$ po dobu 1 hodiny a dále přes noc při pokojové teplotě. Rozpouštědlo je odstraněno a reziduum je podrobena reakci s 1N NaOH a extrahováno pomocí CH_2Cl_2 (100 ml). Extrakt je promyt vodou (2x 10 ml) a vysušen síranem hořečnatým. Po rotačním odpaření je produkt purifikován chromatograficky.

(D) rac-(Z)-5-fluoro-2-metyl-(4-pyridinylden)-3-(N-benzyl)indenyl- α -(2-propylamino)-acetamid je získán z rac-5-fluoro-2-metyl-3-(N-benzyl)- α -(2-propylamino) acetamidu za použití postupu z Příkladu 1, část G ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, R_3 =izopropylamino, $R_4=H$, $R_5=H$, $R_6=H$, $R_7=H$, $n=1$, $m=1$, $Y=4$ -pyridinyl).

Příklad 34

(Z)-6-metoxi-2-metyl-(4-pyridinylden)-3-(N-benzyl)indenylacetamid

(A) Etyl-2-hydroxy-2-(p-metoxyfenyl)-1-metylpropionát.

Do nádoby s 3 hrdly o objemu 500 ml je umístěno 36,2 g (0,55 mol) zinkového prášku, 250 ml zásobní trychtýř je naplněn 80 ml roztoku bezvodého benzenu, 20 ml bezvodého éteru, 80 g (0,58 mol) p-anisaldehydu a 98 g (0,55 mol) etyl-2-bromopropionátu. Za intenzivního promíchávání je přidáno k zinkovému prášku 10 ml roztoku a směs je mírně zahřívána až do zahájení exotermní reakce. Zbylý roztok je přidáván po kapkách tak, aby mohla být reakční směs snadno zahřívána pod zpětným chlazením (cca 30-35 minut). Po dokončení tohoto přidání je reakční směs umístěna do vodní lázně a zahřívána pod zpětným chlazením po dobu 30 minut. Po ochlazení na teplotu 0°C je za intenzivního míchání přidáno 250 ml 10% kyseliny sírové. Benzenová vrstva je dvakrát extrahována 50 ml porcemi kyseliny sírové a dvakrát promyta 50 ml porcemi vody. Zkombinované vodné kyselé vrstvy jsou extrahovány 2x50 ml éteru. Zkombinované éterové a benzenové extrakty jsou vysušeny síranem sodným. Odpaření rozpouštědla a frakcionace rezidua na koloně 6'' Vigreux vede ke vzniku 89 g (60%) produktu, kterým je etyl-2-hydroxy-2-(p-metoxyfenyl)-1-metylpropionát, bod varu 165-160° (1,5 mm).

(B) 6-Metoxi-2-metyllindanon

Pomocí metody popsané ve Vander Zanden, Rec. Trav. Chim., 68, 413 (1949) je sloučenina z části A přeměněna na 6-metoxi-2-metyllindanon.

Tato sloučenina může být získána alternativním způsobem po přidání α -metyl- β -(p-metoxyfenyl)propionová kyselina (15 g) k 170 g kyseliny polyfosforečné při teplotě 50° a zahříváním směsi při teplotě 83-90°C po dobu 2 hodin. Sirup je nalit do ledové vody. Směs je promíchávána po dobu půl hodiny a extrahována éterem (3x). Éterový roztok je promyt vodou (2x) a 5% NaHCO₃ (5x) až je všechn kyselý materiál odstraněn, poté je roztok vysušen síranem sodným. Odpaření roztoku vede ke vzniku 9,1 g indanonu ve formě oleje světle žluté barvy.

(C) (Z)-6-metoxy-2-metyl-(4-pyridinyliden)-3-(N-benzyl)indenylacetamid

Ve shodě s postupy popsány v Příkladu 1, části D-G, je tato sloučenina získána substitucí 6-metoxy-2-metyllindanonu za 6-fluoro-2-metyllindanon z Příkladu 1, část D.

Příklad 35

(Z)-5-metoxy-2-metyl-(4-pyridinyliden)-3-(N-benzyl)indenylacetamid

(A) Etyl-5-metoxy-2-metyl-3-indenylacetát

K roztoku 13,4 g 6-Metoxy-2-metyllindanonu a 21 g etyl bromoacetátu v 45 ml benzenu je přidáno během 5 minut 21 g zinkového amalgámu (připraveného podle Org. Syn. Coll. Vol. 3) v 110 ml benzenu a 40 ml suchého éteru. K zahájení reakce je přidáno několik krystalů jódu a reakční směs je zahřívána pod zpětným chlazením (cca 65°). V tříhodinových intervalech jsou přidány dvě dávky 10g zinkového amalgámu a 10 g bromoesteru a směs je zahřívána pod zpětným chlazením po dobu 8 hodin. Po přidání 30 ml etanolu a 150 ml kyseliny octové je směs nalita do 700 ml 50% vodné kyseliny octové. Organická vrstva je oddělena a vodná vrstva je dvakrát extrahována éterem. Zkombinované organické vrstvy jsou pečlivě promyty vodou, hydroxidem amonným a vodou. Vysušení síranem sodným a odpaření rozpouštědla ve vakuu při teplotě 80° (teplota vodní lázně) (1-2 mm) vede ke vzniku hrubého etyl-(1-hydroxy-2-metyl-6-metoxy-indenyl)acetátu (cca 18 g).

Směs výše popsaného hrubého hydroxyesteru, 20 g monohydrátu p-toluensulfonové kyseliny a 20 g bezvodého chloridu vápenatého v 250 ml toluenu je zahříváno přes noc. Roztok je zfiltrován a pevná látka je promyta toluenem. Zkombinovaný roztok toluenu je promyt vodou, bikarbonátem sodným, vodou a poté vysušen síranem sodným. Po odpaření je hrubý etyl-5-metoxy-2-metyl-3-indenylacetát chromatografován na oxidu hlinitým promytém kyselinou a produkt je eluován petroléterem-éterem (v/v 50-100%) ve formě oleje žluté barvy (11,8 g, 70%).

(B) (Z)-5-metoxy-2-metyl-(4-pyridinyliden)-3-(N-benzyl)-indenylacetát

Ve shodě s postupy popsanými v Příkladu 1, v částech E-G, tato sloučenina je získána náhradou etyl-5-metoxy-2-metyl-3-indenylacetátu za kyselinu 5-fluoro-2-metindenyl-3-octovou v Příkladu 1, část E.

Příklad 36

(Z)- α -5-metoxy-2-metyl-(4-pyridinyliden)-3-(N-benzyl)indenylpropionamid

(A) α -(5-metoxy-2-metyl-3-indenyl)propionová kyselina

Je použit postup z Příkladu 35, část. (A) za použití etyl α -bromopropionátu v ekvivalentních množstvích na místo etyl bromoacetátu použitým v tomto Příkladu. Tímto způsobem je získán etyl α -(1-hydroxy-6-metoxy-2-metyl-1-indenyl)propionát, který je stejným způsobem dehydratován na etyl α -(5-metoxy-2-metyl-3-indenyl)propionát.

Výše uvedený ester je saponifikován za vzniku α -(5-metoxy-2-metyl-3-indenyl)propionové kyseliny.

(B) (Z)- α -5-metoxy-2-metyl-(4-pyridinyl)-3-(N-benzyl)- α -metylindenylpropionamid

Ve shodě s postupy popsanými v Příkladu 1, v částech E-G, tato sloučenina je získána náhradou α -5-metoxy-2-metyl-3-

indenyl)propionové kyseliny za kyselinu 5-fluoro-2-metylindenyl-3-octovou v Příkladu 1, část E.

Příklad 37

(Z)- α -Fluoro-5-metoxi-2-metyl-(4-pyridinyliden)-3-(N-benzyl)indenylacetamid

(A) Metyl-5-metoxi-2-metyl-3-indenyl- α -fluoro acetát

Směs fluoridu draselného (0,1 mol) a metyl-5-metoxi-2-metyl-3-indenyl- α -tosyloxy acetátu (0,05 molu) v 200 ml dimetylformamidu je zahřívána pod zpětným chlazením pod dusíkovou atmosférou po dobu 2-4 hodin. Reakční směs je ochlazená, nalita do ledové vody a poté extrahována éterem. Éterový roztok je promyt vodou, bikarbonátem sodným a vysušen síranem sodným. Odpaření rozpouštědla a chromatografie rezidua na koloně oxidu hlinitého promyté kyselinou (300 g) za použití éter-petroléteru (v/v 20-50%) jako eluentu vede ke vzniku produktu metyl-5-metoxi-2-metyl-3-indenyl- α -fluoroacetátu.

(B) (Z)- α -5-metoxi-2-metyl-(4-pyridinyliden)-3-(N-benzyl)-indenylacetamid

Ve shodě s postupy popsány v Příkladu 1, v částech E-G, tato sloučenina je získána náhradou metyl-5-metoxi-2-metyl-3-indenyl- α -fluoroacetátu za 5-fluoro-2-metylindenyl-3-octovou kyselinu v Příkladu 1, část E.

Pro začlenění části skupiny =CH-Y ve Schématu III může být použit jakýkoli z vhodných heterocyklických aldehydů buďto přímo v kondenzaci katalyzované zásadou, nebo ve Wittigově reakci při použití alternativního způsobu. Aldehydy, které mohou být použity, jsou uvedeny níže v Tabulce 1:

Tabulka 1

pyrol-2-aldehyd*
 pyrimidin-2-aldehyd
 6-metylpyridin-2-aldehyd*
 1-metylbenzimidazol-2-aldehyd

izochinolin-4-aldehyd

4-pyridinkarboxaldehyd*

3-pyridinkarboxaldehyd*

2-pyridinkarboxaldehyd*

4,6-dimetyl-2-pyridinkarboxaldehyd*

4-metyl-pyridinkarboxaldehyd*

4-chinolinkarboxaldehyd*

3-chinolinkarboxaldehyd*

2-chinolinkarboxaldehyd*

2-chloro-3-chinolinkarboxaldehyd*

pyrazinaldehyd

(Připraveno podle Rutner et al., JOC 1963, 28, 1898-99)

pyridazin-3-aldehyd

(Připraveno podle Heinisch et al., Monatshefte Fuer Chemie 108,
213-224, 1977)

pyrimidin-4-aldehyd

(Připraveno podle Brederick et al, Chem. Ber. 1964, 97, 3407-
17)

2-metyl-pyrimidin-4-aldehyd

(Připraveno podle Brederick et al, Chem. Ber. 1964, 97, 3407-
17)

pyridazin-4-aldehyd

(Připraveno podle Heinisch et al., Monatshefte Fuer Chemie 104,
1372-1382, 1973)

1-metylinol-3-karboxaldehyd*

1-acetyl-3-indolkarboxaldehyd*

*dostupné od firmy Aldrich

Výše uvedené aldehydy mohou být použity ve výše uvedených reakčních schématech v kombinaci s různými vhodnými aminy k vytvoření sloučenin, které jsou v rozsahu vynálezu. Příklady vhodných aminů jsou uvedeny níže v Tabulce 2:

Tabulka 2

benzylamin

2,4-dimetoxybenzylamin

2-metoxybenzylamin
 2-fluorobenzylamin
 4-dimethylaminobenzylamin
 4-sulfoaminobenzylamin
 1-fenyletylamin (R-enantiomer)
 2-amino-2-fenyletanol (S-enantiomer)
 2-fenylglylcinonitril (S-enantiomer)

Příklad 38

(Z)-5-Fluoro-2-metyl-(4-pyridyliden)-3-(N-benzyl)
indenylacetamid hydrochlorid

(Z)-5-Fluoro-2-metyl-(4-pyridyliden)-3-(N-benzyl)
 indenylacetamid (1396 g; MW 384,45; 3,63 mol) z Příkladu 1 je
 rozpuštěn při teplotě 45°C v etanolu (28 l). Postupně je
 přidávána vodná HCl (12 M, 363 ml). Reakční směs je zahřívána
 pod zpětným chlazením po dobu 1 hodiny, poté je ochlazena na
 pokojovou teplotu a uložena při teplotě -10°C po dobu 3 hodin.
 Výsledná pevná látka je zfiltrována, promyta éterem (2x1,5 l) a
 vysušena vzduchem přes noc. Vysušení ve vakuu při teplotě 70°C
 po dobu 3 dnů vede ke vzniku (Z)-5-Fluoro-2-metyl-(4-
 pyridyliden)-3-(N-benzyl) indenylacetamid hydrochloridu s bodem
 tání 207-209°C ($R_1=F$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$, $R_4=H$, $R_5=H$, $R_6=H$, $R_7=H$, $n=1$,
 $m=1$, $Y=4$ -pyridinyl hydrochlorid). Výtěžek: 1481 g (97%; 3,51
 mol); MW: 420,91 g/mol.

^1H -NMR (DMSO- d_6): 2,18 (s, 3=C-CH₃); 3,54 (s, 2=CH₂CO); 4,28
 (d, 2, NCH₂); 6,71 (m, 1, ar.); 7,17 (m, 8, ar.); 8,11 (d, 2, ar., AB
 systém); 8,85 (m, 1, NH); 8,95 (d, 2, ar., AB systém); IR (KBr):
 3432 NH; 1635 C=O; 1598 C=C.

Biologické účinky

(A) Inhibice růstu

U sloučeniny z Příkladu 1 byla stanovena inhibiční růstová
 aktivita na buněčnou linii lidského karcinomu tlustého střeva
 SW-480 získané z ATCC (Rockville, Md.) za účelem zjištění

stupně inhibice růstu. Inhibice růstu této buněčné linie ukazuje na prospěšnost použití této sloučeniny na prekancerózní léze a nádory. Buněčná linie i stanovení růstu používané v těchto experimentech jsou dobře charakterizované a jsou používány k vyhodnocení antineoplastických vlastností nesteroidních antirevmatických léků. Toto stanovení je používáno institutem United States National Cancer Institute v jeho skrínigovém programu na nové protinádorové léky.

Zásobní roztoky léku byly připraveny v 100% DMSO a byly poté naředěny médiem RPMI pro testování buněčných kultur. Všechny roztoky s lékem byly připraveny čerstvé v den testování. Kultivované buňky byly získány pasáží č. 99 a rostly v médiu RPMI suplementovaném 5% fetálním telecím sérem, 2mM glutaminem, penicilinem v koncentraci 100 U/ml, streptomycinem v koncentraci 100 U/ml a amfotericinem v koncentraci 0,25 ug/ml. Kultury byly udržovány při teplotě 37°C ve zvlhčené atmosféře 95% vzduchu a 5% CO₂. Kultury byly pasážovány, dosáhly-li prekonfluentních denzit, za použití roztoku 0,05% trypsinu a 0,53 mM EDTA. Buňky byly umístěny do 96-jamkových mikrotitračních destiček s plochým dnem v koncentraci 1000 buněk/jamku.

Inhibice růstu nádorových buněk byla hodnocena za použití Sulforhodamin B (SRB) protein vazebné analýzy. V této analýze jsou nádorové buňky umístěny do 96-jamkových destiček a inkubovány s médiem obsahujícím lék po dobu 6 dnů (kontinuální expozice). V každé destičce bylo 6 jamek použito jako kontroly bez léku, 6 jamek jako kontroly s vehikulem (0,1% DMSO) a zbývající jamky byly použity pro naředění léku s třemi jamkami pro každou koncentraci léku. Na konci expozice byly buňky fixovány a obarveny sulforhodaminem B, protein vázajícím barvivem. Barvivo bylo poté solubilizováno a byla určena optická denzita výsledného roztoku na 96-jamkovém destičkovém analyzátoru. Průměrná intenzita barviva jamek s lékem byla poté podělena průměrnou intenzitou barvičky v kontrolních jamkách

(po 6 jamkách) za účelem určení efektu léku na buňky. Intenzita barviva je proporcionální k počtu buněk nebo množství proteinu na jamku. Výsledná "procentuální inhibice" reprezentuje stupeň inhibice růstu způsobené lékem.

Pro každý experiment byla určena hodnota IC_{50} , která byla použita pro srovnávací účely. Tato hodnota je ekvivalentem koncentrace léku potřebného k inhibici růstu nádorových buněk o 50%. Hodnota IC_{50} byla získána graficky spojením průměrných hodnot každé koncentrace léku, která byla testována. Každý experiment zahrnoval alespoň tři jamky na jednu koncentraci léku. Koncentrace byly vyneseny na X osu v logaritmickém měřítku. Hodnota IC_{50} pro sloučeninu z Příkladu 1 byla 0,724 pro buněčnou linii SW-480.

(B) Inhibice cyklooxygenázy (COX)

COX katalyzuje tvorbu prostaglandinů a tromboxanu oxidativním metabolismem kyseliny arachidonové. Sloučenina z Příkladu 1 tohoto vynálezu a pozitivní kontrola (sulindak sulfid) byly hodnoceny za účelem určení, zdali inhibují purifikovanou cyklooxygenázu Typ I (viz Tabulka 3 níže).

U sloučenin tohoto vynálezu byl hodnocen inhibiční efekt vůči purifikované COX. COX byla purifikována z beranních seminálních váčků, jak je popsáno autory Boopathy R. a Balasubramanian J. 239:371-377, 1988. Aktivita COX byla analyzována způsobem podle Evanse AT et al. "Actions of Cannabis Constituents on Enzymes of Arachidonate Metabolism Anti-Inflammatory Potential" Biochem. Pharmacol. 1987;36:2035-2037. Stručně řečeno, purifikovaná COX byla inkubována s arachidonovou kyselinou (100 μ M) po dobu 2 minut při teplotě 37°C v přítomnosti nebo v nepřítomnosti testovaných sloučenin. Analýza byla ukončena přidáním TCA a aktivita COX byla určena měřením absorbance při 530 nm.

Tabulka 3

Příklad	COX I, % inhibice (100 uM)
	(*-1000 M)
Sulindac sulfid	86
1	<25

(C) Apoptóza

Apoptóza byla měřena za použití analýzy úmrtí buněk založené na morfologických charakteristikách apoptotických buněk (tj. kondenzovaný chromatin). Příprava léku a podmínky buněčné kultivace byly stejné jako u SRB analýzy popsané výše, s výjimkou toho, že byly použity buňky lidského karcinomu tlustého střeva HT-29. Konfluentní kultury byly získány v 12,5 cm² nádobách umístěním 0,5x10⁶ buněk na nádobu. Kultury byly analyzovány na přítomnost apoptózy fluorescenční mikroskopií s následným označením akridinovou oranží a etidium bromidem. Plovoucí i přichycené buňky byly sbírány pomocí trypsinizace a promyty třikrát v PBS. 1 ml alikvóty byly zcentrifugovány (3 g). Peleta byla resuspendována v 25 ul médiu a 1 ul směsi barviva obsahující 100 ug/ml akridinové oranže a 100 ug/ml etidium bromidu v PBS a byla jemně promíchána. Deset ul směsi bylo umístěno na mikroskopické sklíčko a přikryto 22 mm² krycím sklíčkem. Tento preparát byl vyšetřen suchým objektivem (40x) za epiluminace kombinací filtrů.

Vzorky vyšetřoval člověk bez znalosti identity vzorků, v každém vzorku bylo alespoň 100 buněk. Apoptotické buňky byly identifikovány nukleární kondenzací chromatinu obarveného akridinovou oranží nebo etidium bromidem. Tyto výsledky jsou uvedeny níže v Tabulce 4.

Tabulka 4

Apoptotické účinky sloučenin

Příklad	Morfologie % apoptotických buněk (1uM)	DNA fragmentace	
		FS (100 uM)	EC ₅₀ (uM)
1	88	4,2	29

2		5,4	
3		8,5	
4		3,9	
38			15

Apoptóza může být také měřena na podkladě množství fragmentované DNA obsažené v buněčných lyzátech. Stručně řečeno byly buňky adenokarcinomu tlustého střeva SW-480 umístěny do 96-jamkových mikrotitračních destiček (MTD) v množství 10K buněk na jamku v 180 ul. Tyto buňky byly inkubovány po dobu 24 hodin. Buňky byly poté inkubovány s 20 ul alikvótami vhodně naředěné sloučeniny po dobu dalších 48 hodin.

Po inkubaci byly vzorky připraveny podle následujících kroků. MTD byly zcentrifugovány (15 minut 1000 ot/min) a supernatant byl opatrně odstraněn rychlým otočením MTD. Buněčné pelety v každé jamce byly resuspendovány v 200 ul lytického pufru a inkubovány po dobu 45 minut při pokojové teplotě za účelem buněčné lýzy. Lyzáty byly poté zcentrifugovány (15 minut, 1000 ot/min) a 20 ul alikvóty supernatantu (= cytoplasmatické frakce) byly přeneseny k analýze do streptavidinem potažených MTD. Bylo zajištěno, aby lyzované pelety v MTD (= buněčná jádra obsahující nefragmentovanou DNA o vysoké molekulové váze) nebyly protřepávány. Vzorky byly analyzovány okamžitě, protože skladování při 4°C nebo -20°C snižuje ELISA signál.

Vzorky byly poté zpracovány podle protokolu na fragmentaci DNA a na podkladě odečtení optické denzity byly stanoveny křivky odpovědi na dávce. Kvantifikace DNA byla provedena komerčně dostupným fotometrickým imunostanovením od společnosti Mannheim-Boehringer nazvaným "Detekce buněčné smrti ELISA^{plus}". Stanovení je založeno na kvantitativní sendvičové immunoanalýze za použití myších monoklonálních protilátek namířených proti DNA a histonům. To umožňuje specificky určit mono a oligonukleozómy v cytoplasmatických frakcích buněčných lyzátů. Postup stanovení je ve stručnosti následující. Vzorek (buněčný

lyzát, sérum, supernatant z kultury atd.) je umístěn do streptavidinem potažené MTD. Následně je provedena 2-hodinová inkubace směsi anti-histon-biotin a anti-DNA-POD. Během inkubace se váží antihistonové protilátky na histonovou složku nukleozomů a současně vytvářejí imunokomplex k streptavidinem potažené MTD prostřednictvím biotinylovaného konce. Navíc reaguje anti-DNA-POD protilátka s DNA složkou nukleozomů. Po odstranění nenavázaných protilátek v promývacím kroku je množství nukleozomů kvantifikováno prostřednictvím POD zadrženém v imunokomplexu. POD je určeno fotometricky pomocí ABTS® (2,2'-Azino-di[3-etylbenzthiazolin-sulfonát])* jako substrátu.

Násobek stimulace ($= OD_{max}/OD_{veh}$), indikátor apoptotické odpovědi, byl určen pro každou testovanou sloučeninu. Hodnoty EC_{50} byly určeny buďto specificky pomocí softwaru k analýze dat, nebo odhadem založeným na účinném koncentračním rozmezí každé sloučeniny (ECR = minimální účinná dávka - minimální dávka nezbytná k dosažení maximálního účinku). Násobky stimulace i hodnoty EC_{50} pro testované sloučeniny jsou uvedeny výše v Tabulce 4.

Navíc k testu fragmentace DNA uvedeném výše byla stanovena u sloučeniny z Příkladu 1 odpověď na dávku. Tato data jsou uvedena v Tabulce 5.

Tabulka 5

Dávka (uM)	Úroveň apoptózy (průměrná hodnota $OD \pm SD$)
0,5	0,186 $\pm$ 0,008
1,0	0,207 $\pm$ 0,061
5,0	0,208 $\pm$ 0,073
10	0,296 $\pm$ 0,050
50	0,500 $\pm$ 0,048
100	0,633 $\pm$ 0,053
500	0,659 $\pm$ 0,012

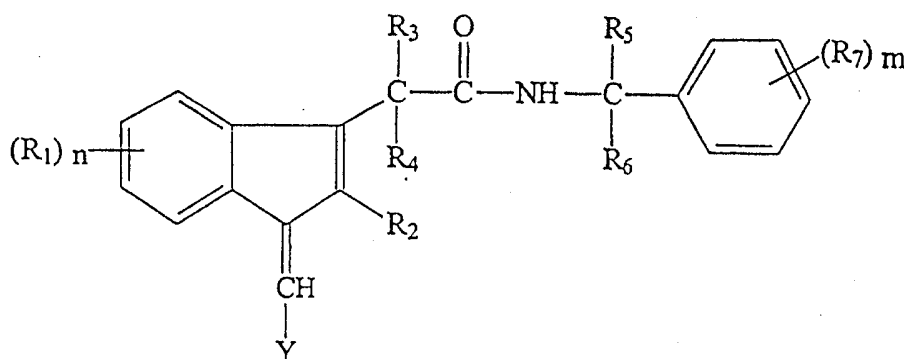
Sloučeniny tohoto vynálezu mohou být připraveny konvenčním způsobem s farmaceuticky přijatelnými nosiči do jednotkových dávkovacích forem tak, aby pacient potřebující léčbu těmito preparáty proti prekancerózním lézím mohl periodicky (např. jednou nebo vícekrát za den) užívat sloučeninu podle metod tohoto vynálezu. Přesná iniciální dávka sloučenin tohoto vynálezu může být určena experimentálně. Ten, kdo je zkušený v oboru by měl rozumět, že iniciální dávka dostatečná k dosažení plazmatické koncentrace dosahuje procenta hodnoty IC_{50} sloučeniny, které závisí na chemopreventivní nebo chemoterapeutické indikaci. Při výpočtu iniciální dávky je nutno vzít v úvahu několik faktorů, jako je například typ preparátu způsob podání konkrétní sloučeniny, např. perorální, nebo intravenózní. Například u pacienta s průměrným systémovým cirkulačním objemem okolo 4 litrů bude výpočet dávky k dosažení systémové cirkulační koncentrace ekvivalentní koncentraci IC_{50} učiněný na podkladě hodnot IC_{50} sloučeniny tohoto vynálezu činit 0,6 mg-4,0 g pro intravenózní podání.

Sloučeniny tohoto vynálezu jsou také cGMP specifické PDE inhibiční látky, jak je uváděno v patentové přihlášce US Patent Application Seriál No. 09/046739 zaregistrované 24. března 1998. Sloučeniny mohou být testovány na inhibiční efekt vůči fosfodiesterázové aktivitě za použití buďto enzymu izolovaného z jakékoli nádorové buněčné linie, jako je například HT-29 nebo SW-480. Aktivita fosfodiesterázy může být určena za použití metod známých v oboru, jako je například metoda s radioaktivním ^3H cyklickým GMP (cGMP) (cyklický 3',5'-guanosin monofosfát) jako substrátem pro PDE5 enzym. (Thompson WJ, Teraski WL, Epstein PM, Strada SJ. Advances in cyclic nucleotide research, 10:69-92, 1979. Tato práce je tímto začleněna do vynálezu jako reference). Ve stručnosti je roztok definované substrátové ^3H -cGMP specifické aktivity (0,2 uM, 100000 cpm, obsahující 40 mM Tris-HCl (pH=8,0), 5 mM $MgCl_2$ a 1 mg/ml BSA) smíchán

s testovaným lékem v celkovém objemu 400 ul. Směs je inkubována při teplotě 30°C po dobu 10 minut s částečně purifikovanou cGMP-specifickou PDE izolovanou z buněk HT-29. Reakce jsou ukončeny například povařením reakční směsi po dobu 75 sekund. Po ochlazení na ledu je přidáno 100 ul hadího jedu o koncentraci 0,5 mg/ml (O. Hannahův jed, dostupný od společnosti Sigma) a směs je inkubována při teplotě 30°C po dobu 10 minut. Tato reakce je poté ukončena přidáním alkoholu, například 1 ml 100% metanolu. Vzorky jsou poté naneseny na chromatografickou aniontovou kolonu (1 ml Dowex od společnosti Aldrich) a promyty 1 ml 100% metanolu. Množství radioaktivity v jednotlivých frakcích je měřeno scintilačním počítačem. Stupeň inhibice PDE5 je určen výpočtem množství radioaktivity v reakcích s přítomností léku ve srovnání s kontrolním vzorkem (reakční směs postrádající testovanou sloučeninu).

Za použití těchto protokolů měl v buněčných extraktech HT29 cGMP specifický PDE inhibitor z Příkladu 1 hodnotu IC_{50} 0,68 uM. Je samozřejmé, že v detailech postupů, přípravy preparátů a použití mohou být učiněny různé změny a úpravy, aniž by tím došlo k odchýlení od podstaty vynálezu, zejména jak je definováno v následujících patentových nárocích.

1. Sloučenina definovaná vzorcem:



kde R₁ je v každém případě nezávisle vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, halogenem, nižším alkylem, nižší alkoxy, amino, nižší alkylamino, nižší dialkylamino, nižší alkylmerkaptó, nižší alkylsulfonyl a kyano skupinou, karboxamidem, karboxylovou kyselinou, merkaptó skupinou, kyselinou sulfonovou, xantátem a hydroxy skupinou;

R₂ je vybrán ze skupiny tvořené vodíkem a nižším alkylem;

R₃ je vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, halogenem, amino, hydroxy, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou;

R_4 je vodík, nebo R_3 a R_4 spolu jsou kyslík;

R₅ a R₆ spolu jsou nezávisle vybrány ze skupiny tvořené vodíkem, nižším alkylem, nižším hydroxy substituovaným alkylem, nižším aminoalkylem, nižším alkylamino nižším alkylem, nižším alkylamino nižším dialkylem, nižším alkylnitridem, -CO₂H, -C(O)NH₂ a C₂ až C₆ aminokyselinou;

R₇ je v každém případě nezávisle vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, nižším aminoalkylem, nižší alkoxy skupinou, nižším alkylem, hydroxy, amino, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou, halogenem, -CO₂H, -SO₃H, -SO₂NH₂ a -SO₂ (nižším alkylem);

m a n jsou nezávisle vybrána celá čísla od 0 do 3;

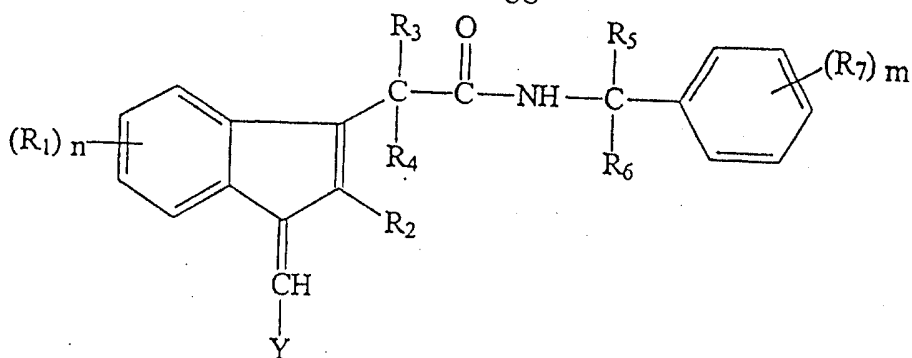
Y je vybráno ze skupiny tvořené chinolinylem, izochinolinylem, pyridinylem, pyrimidinylem, pyrazinylem, imidazolylem, indolyem, benzimidazolylem, triazinylem,

tetrazolylem, thiofenylem, furanylem, thiazolylem, pyrazolylem nebo pyrolylem, nebo jejich substituovanými variantami, kde substituenty jsou jeden nebo dva substituenty vybrané ze skupiny tvořené halogenem, nižším alkylem, nižší alkoxy, amino, nižší alkylamino, nižší dialkylamino, hydroxy, $-SO_2$ (nižším alkylem) a $-SO_2NH_2$ skupinou; a jejich farmaceuticky přijatelnými solemi.

2. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 1, kde Y je vybráno z pyridinylu nebo chinolonylu.
3. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 1, kde R_1 je vybrán ze skupiny tvořené halogenem, nižší alkoxy, amino, hydroxy, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou.
4. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 3, kde R_1 je vybrán ze skupiny tvořené halogenem, nižší alkoxy, amino a hydroxy skupinou.
5. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 1, kde R_2 je nižší alkyl.
6. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 4, kde R_2 je nižší alkyl.
7. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 1, kde R_3 je vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, halogenem, hydroxy, amino, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou.
8. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 6, kde R_3 je vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, halogenem, hydroxy, amino, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou.
9. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 7, kde R_3 je vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, hydroxy a nižší alkylamino skupinou.
10. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 8, kde R_3 je vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, hydroxy a nižší alkylamino skupinou.
11. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 1, kde R_5 a R_6 jsou nezávisle vybrané ze skupiny tvořené vodíkem, hydroxy-substituovaným nižším alkylem, nižším aminoalkylem, nižším alkylamino-nižším alkylem, nižším alkylamino nižším dialkylem, $-CO_2H$, $-C(O)NH_2$ skupinou.

12. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 10, kde R_5 a R_6 jsou nezávisle vybrány ze skupiny tvořené vodíkem, hydroxy-substituovaným nižším alkylem, nižším aminoalkylem, nižším alkylamino-nižším alkylem, nižším alkylamino nižším dialkylem, $-CO_2H$, $-C(O)NH_2$ skupinou.
13. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 1, kde R_5 a R_6 jsou nezávisle vybrány ze skupiny tvořené vodíkem, hydroxy-substituovaným nižším alkylem, nižším alkylamino nižším dialkylem, $-CO_2H$, $-C(O)NH_2$ skupinou.
14. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 12, kde R_5 a R_6 jsou nezávisle vybrány ze skupiny tvořené vodíkem, hydroxy-substituovaným nižším alkylem, nižším alkylamino nižším dialkylem, $-CO_2H$, $-C(O)NH_2$ skupinou.
15. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 1, kde R_7 je v každém případě nezávisle vybráno ze skupiny tvořené vodíkem, nižší alkoxy, hydroxy, amino, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou, halogenem, $-CO_2H$, $-SO_3H$, $-SO_2NH_2$ a $-SO_2NH_2$, nižším aminoalkylem a $-SO_2$ (nižším alkylem).
16. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 14, kde R_7 je v každém případě nezávisle vybráno ze skupiny tvořené vodíkem, nižší alkoxy, hydroxy, amino, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou, halogenem, $-CO_2H$, $-SO_3H$, $-SO_2NH_2$ a $-SO_2NH_2$, nižším aminoalkylem a $-SO_2$ (nižším alkylem).
17. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 1, kde R_7 je v každém případě nezávisle vybráno ze skupiny tvořené vodíkem, nižší alkoxy, hydroxy a amino skupinou, halogenem, $-CO_2H$, $-SO_3H$, $-SO_2NH_2$ a $-SO_2NH_2$, nižším aminoalkylem a $-SO_2$ (nižším alkylem).
18. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 14, kde R_7 je v každém případě nezávisle vybráno ze skupiny tvořené vodíkem, nižší alkoxy, hydroxy a amino skupinou, halogenem, $-CO_2H$, $-SO_3H$, $-SO_2NH_2$ a $-SO_2NH_2$, nižším aminoalkylem a $-SO_2$ (nižším alkylem).
19. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 17, kde alespoň jeden z R_7 substituentů je v poloze orto nebo para.

20. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 18, kde alespoň jeden z R_7 substituentů je v poloze orto nebo para.
21. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 19, kde alespoň jeden z R_7 substituentů je v poloze orto.
22. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 20, kde alespoň jeden z R_7 substituentů je v poloze orto.
23. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 1, kde Y je vybráno ze skupiny tvořené chinolinylem, izochinolinylem, pyridinylem, pyrimidinylem a pyrazinylem, nebo jejich substituovanými variantami.
24. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 18, kde Y je vybráno ze skupiny tvořené chinolinylem, izochinolinylem, pyridinylem, pyrimidinylem a pyrazinylem, nebo jejich substituovanými variantami.
25. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 23, kde substituenty Y jsou jeden nebo více substituentů vybraných ze skupiny tvořené nižší alkoxy, amino, nižší alkylamino, nižší dialkylamino, hydroxy, SO_2 (nižším alkylem) a $-SO_2NH_2$ skupinou.
26. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 24, kde substituenty Y jsou jeden nebo více substituentů vybraných ze skupiny tvořené nižší alkoxy, amino, nižší alkylamino, nižší dialkylamino, hydroxy, SO_2 (nižším alkylem) a $-SO_2NH_2$ skupinou.
27. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 25, kde substituenty Y jsou jeden nebo více substituentů vybraných ze skupiny tvořené nižší alkoxy, nižší dialkylamino, hydroxy, SO_2 (nižším alkylem) a $-SO_2NH_2$ skupinou.
28. Sloučenina definovaná v patentovém nároku 26, kde substituenty Y jsou jeden nebo více substituentů vybraných ze skupiny tvořené nižší alkoxy, nižší dialkylamino, hydroxy, SO_2 (nižším alkylem) a $-SO_2NH_2$ skupinou.
29. Farmaceutický preparát tvořený farmaceuticky přijatelným nosičem a sloučeninou definovanou vzorcem:



kde R_1 je v každém případě nezávisle vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, halogenem, nižším alkylem, nižší alkoxy, amino, nižší alkylamino, nižší dialkylamino, nižší alkylmerkpto, nižší alkylsulfonyl a kyano skupinou, karboxamidem, karboxylovou kyselinou, merkpto skupinou, kyselinou sulfonovou, xantátem a hydroxy skupinou;

R_2 je vybrán ze skupiny tvořené vodíkem a nižším alkylem;

R_3 je vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, halogenem, amino, hydroxy, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou;

R_4 je vodík, nebo R_3 a R_4 spolu jsou kyslík;

R_5 a R_6 spolu jsou nezávisle vybrány ze skupiny tvořené vodíkem, nižším alkylem, nižším hydroxy substituovaným alkylem, nižším aminoalkylem, nižším alkylamino nižším alkylem, nižším alkylamino nižším dialkylem, nižším alkylnitridem, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ a C_2 až C_6 aminokyselinou;

R_7 je v každém případě nezávisle vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, nižším aminoalkylem, nižší alkoxy skupinou, nižším alkylem, hydroxy, amino, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou, halogenem, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ a $-\text{SO}_2$ (nižším alkylem);

m a n jsou nezávisle vybrána celá čísla od 0 do 3;

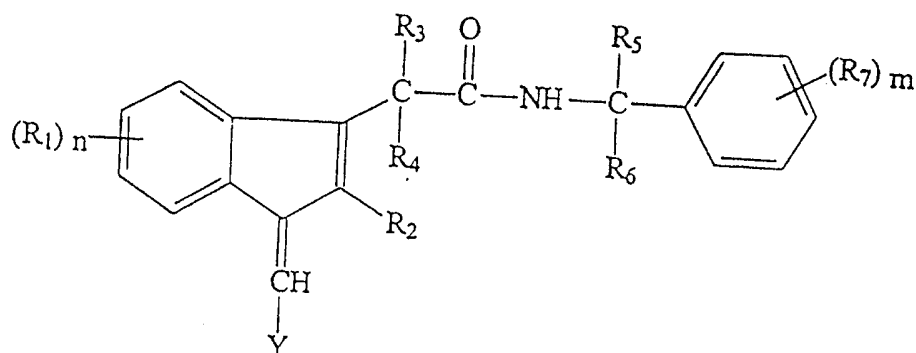
Y je vybráno ze skupiny tvořené chinolinylem, izochinolinylem, pyridinylem, pyrimidinylem, pyrazinylem, imidazolylem, indolylem, benzimidazolylem, triazinylem, tetrazolylem, thiofenylem, furanylem, thiazolylem, pyrazolylem nebo pyrolylem, nebo jejich substituovanými variantami, kde substituenty jsou jeden nebo dva substituenty vybrané ze skupiny tvořené halogenem, nižším alkylem, nižší alkoxy, amino, nižší alkylamino, nižší dialkylamino, hydroxy,

- SO₂ (nižším alkylem) a -SO₂NH₂ skupinou; a jejich farmaceuticky přijatelnými solemi.
30. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 29, kde Y je vybráno z pyridinylu nebo chinolonylu.
31. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 29, kde R₁ je vybrán ze skupiny tvořené halogenem, nižší alkoxy, amino, hydroxy, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou.
32. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 31, kde R₁ je vybrán ze skupiny tvořené halogenem, nižší alkoxy, amino a hydroxy skupinou.
33. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 29, kde R₂ je nižší alkyl.
34. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 32, kde R₂ je nižší alkyl.
35. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 29, kde R₃ je vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, halogenem, hydroxy, amino, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou.
36. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 34, kde R₃ je vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, halogenem, hydroxy, amino, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou.
37. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 35, kde R₃ je vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, hydroxy a nižší alkylamino skupinou.
38. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 36, kde R₃ je vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, hydroxy a nižší alkylamino skupinou.
39. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 29, kde R₅ a R₆ jsou nezávisle vybrány ze skupiny tvořené vodíkem, hydroxy-substituovaným nižším alkylem, nižším aminoalkylem, nižším alkylamino-nižším alkylem, nižším alkylamino nižším dialkylem, -CO₂H, -C(O)NH₂ skupinou.
40. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 38, kde R₅ a R₆ jsou nezávisle vybrány ze skupiny tvořené

- vodíkem, hydroxy-substituovaným nižším alkylem, nižším aminoalkylem, nižším alkylamino-nižším alkylem, nižším alkylamino nižším dialkylem, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ skupinou.
41. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 29, kde R_5 a R_6 jsou nezávisle vybrány ze skupiny tvořené vodíkem, hydroxy-substituovaným nižším alkylem, nižším alkylamino nižším dialkylem, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ skupinou.
42. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 40, kde R_5 a R_6 jsou nezávisle vybrány ze skupiny tvořené vodíkem, hydroxy-substituovaným nižším alkylem, nižším alkylamino nižším dialkylem, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ skupinou.
43. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 29, kde R_7 je v každém případě nezávisle vybráno ze skupiny tvořené vodíkem, nižší alkoxy, hydroxy, amino, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou, halogenem, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ a $-\text{SO}_2\text{NH}_2$, nižším aminoalkylem a $-\text{SO}_2$ (nižším alkylem).
44. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 42, kde R_7 je v každém případě nezávisle vybráno ze skupiny tvořené vodíkem, nižší alkoxy, hydroxy, amino, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou, halogenem, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ a $-\text{SO}_2\text{NH}_2$, nižším aminoalkylem a $-\text{SO}_2$ (nižším alkylem).
45. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 29, kde R_7 je v každém případě nezávisle vybráno ze skupiny tvořené vodíkem, nižší alkoxy, hydroxy a amino skupinou, halogenem, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ a $-\text{SO}_2\text{NH}_2$, nižším aminoalkylem a $-\text{SO}_2$ (nižším alkylem).
46. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 44, kde R_7 je v každém případě nezávisle vybráno ze skupiny tvořené vodíkem, nižší alkoxy, hydroxy a amino skupinou, halogenem, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ a $-\text{SO}_2\text{NH}_2$, nižším aminoalkylem a $-\text{SO}_2$ (nižším alkylem).
47. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 45, kde alespoň jeden z R_7 substituentů je v poloze orto nebo para.

48. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 46, kde alespoň jeden z R_7 substituentů je v poloze orto nebo para.
49. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 47, kde alespoň jeden z R_7 substituentů je v poloze orto.
50. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 48, kde alespoň jeden z R_7 substituentů je v poloze orto.
51. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 29, kde Y je vybráno ze skupiny tvořené chinolinylem, izochinolinylem, pyridinylem, pyrimidinylem a pyrazinylem, nebo jejich substituovanými variantami.
52. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 46, kde Y je vybráno ze skupiny tvořené chinolinylem, izochinolinylem, pyridinylem, pyrimidinylem a pyrazinylem, nebo jejich substituovanými variantami.
53. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 51, kde substituenty Y jsou jeden nebo více substituentů vybraných ze skupiny tvořené nižší alkoxy, amino, nižší alkylamino, nižší dialkylamino, hydroxy, SO_2 (nižším alkylem) a $-SO_2NH_2$ skupinou.
54. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 52, kde substituenty Y jsou jeden nebo více substituentů vybraných ze skupiny tvořené nižší alkoxy, amino, nižší alkylamino, nižší dialkylamino, hydroxy, SO_2 (nižším alkylem) a $-SO_2NH_2$ skupinou.
55. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 51, kde substituenty Y jsou jeden nebo více substituentů vybraných ze skupiny tvořené nižší alkoxy, nižší dialkylamino, hydroxy, SO_2 (nižším alkylem) a $-SO_2NH_2$ skupinou.
56. Farmaceutický preparát definovaný v patentovém nároku 52, kde substituenty Y jsou jeden nebo více substituentů vybraných ze skupiny tvořené nižší alkoxy, nižší dialkylamino, hydroxy, SO_2 (nižším alkylem) a $-SO_2NH_2$ skupinou.

57. Způsob léčby pacienta s nádorovým onemocněním zahrnující podání farmakologicky účinného množství sloučeniny definované vzorcem I pacientovi s nádorovým onemocněním, které je citlivé na tuto sloučeninu:



kde R_1 je v každém případě nezávisle vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, halogenem, nižším alkylem, nižší alkoxy, amino, nižší alkylamino, nižší dialkylamino, nižší alkylmerkaptó, nižší alkylsulfonyl a kyano skupinou, karboxamidem, karboxylovou kyselinou, merkaptó skupinou, kyselinou sulfonovou, xantátem a hydroxy skupinou;

R_2 je vybrán ze skupiny tvořené vodíkem a nižším alkylem;

R_3 je vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, halogenem, amino, hydroxy, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou;

R_4 je vodík, nebo R_3 a R_4 spolu jsou kyslík;

R_5 a R_6 spolu jsou nezávisle vybrány ze skupiny tvořené vodíkem, nižším alkylem, nižším hydroxy substituovaným alkylem, nižším aminoalkylem, nižším alkylamino nižším alkylem, nižším alkylamino nižším dialkylem, nižším alkylnitrilem, $-CO_2H$, $-C(O)NH_2$ a C_2 až C_6 aminokyselinou;

R_7 je v každém případě nezávisle vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, nižším aminoalkylem, nižší alkoxy skupinou, nižším alkylem, hydroxy, amino, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou, halogenem, $-CO_2H$, $-SO_3H$, $-SO_2NH_2$ a $-SO_2$ (nižším alkylem);

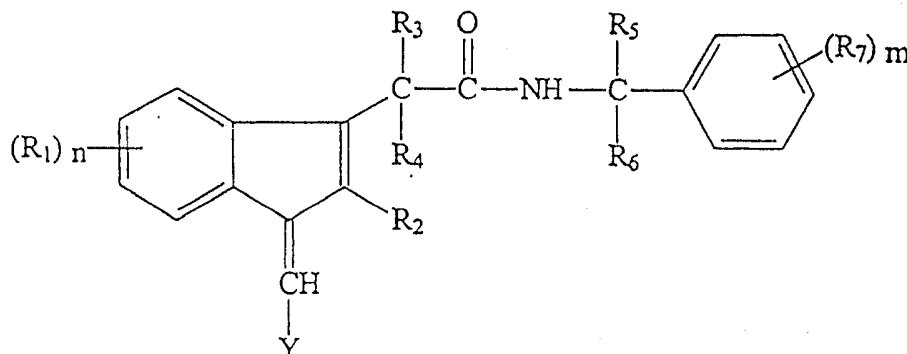
m a n jsou nezávisle vybrána celá čísla od 0 do 3;

Y je vybráno ze skupiny tvořené chinolinylem, izochinolinylem, pyridinylem, pyrimidinylem, pyrazinylem,

- imidazolylem, indolylem, benzimidazolylem, triazinylem, tetrazolylem, thiofenylem, furanylem, thiazolylem, pyrazolylem nebo pyrolylem, nebo jejich substituovanými variantami, kde substituenty jsou jeden nebo dva substituenty vybrané ze skupiny tvořené halogenem, nižším alkylem, nižší alkoxy, amino, nižší alkylamino, nižší dialkylamino, hydroxy, $-SO_2$ (nižším alkylem) a $-SO_2NH_2$ skupinou; a jejich farmaceuticky přijatelnými solemi.
58. Způsob definovaný v patentovém nároku 57, kde Y je vybráno z pyridinylu nebo chinolonylu.
59. Způsob definovaný v patentovém nároku 57, kde R_1 je vybrán ze skupiny tvořené halogenem, nižší alkoxy, amino, hydroxy, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou.
60. Způsob definovaný v patentovém nároku 58, kde R_1 je vybrán ze skupiny tvořené halogenem, nižší alkoxy, amino a hydroxy skupinou.
61. Způsob definovaný v patentovém nároku 57, kde R_2 je nižší alkyl.
62. Způsob definovaný v patentovém nároku 60, kde R_2 je nižší alkyl.
63. Způsob definovaný v patentovém nároku 57, kde R_3 je vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, halogenem, hydroxy, amino, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou.
64. Způsob definovaný v patentovém nároku 62, kde R_3 je vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, halogenem, hydroxy, amino, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou.
65. Způsob definovaný v patentovém nároku 63, kde R_3 je vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, hydroxy a nižší alkylamino skupinou.
66. Způsob definovaný v patentovém nároku 64, kde R_3 je vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, hydroxy a nižší alkylamino skupinou.
67. Způsob definovaný v patentovém nároku 57, kde R_5 a R_6 jsou nezávisle vybrány ze skupiny tvořené vodíkem, hydroxy-substituovaným nižším alkylem, nižším aminoalkylem, nižším

- alkylamino-nižším alkylem, nižším alkylamino nižším dialkylem, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ skupinou.
68. Způsob definovaný v patentovém nároku 64, kde R_5 a R_6 jsou nezávisle vybrány ze skupiny tvořené vodíkem, hydroxy-substituovaným nižším alkylem, nižším aminoalkylem, nižším alkylamino-nižším alkylem, nižším alkylamino nižším dialkylem, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ skupinou.
69. Způsob definovaný v patentovém nároku 57 kde R_5 a R_6 jsou nezávisle vybrány ze skupiny tvořené vodíkem, hydroxy-substituovaným nižším alkylem, nižším alkylamino nižším dialkylem, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ skupinou.
70. Způsob definovaný v patentovém nároku 68, kde R_5 a R_6 jsou nezávisle vybrány ze skupiny tvořené vodíkem, hydroxy-substituovaným nižším alkylem, nižším alkylamino nižším dialkylem, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ skupinou.
71. Způsob definovaný v patentovém nároku 57, kde R_7 je v každém případě nezávisle vybráno ze skupiny tvořené vodíkem, nižší alkoxy, hydroxy, amino, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou, halogenem, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ a $-\text{SO}_2\text{NH}_2$, nižším aminoalkylem a $-\text{SO}_2$ (nižším alkylem).
72. Způsob definovaný v patentovém nároku 70, kde R_7 je v každém případě nezávisle vybráno ze skupiny tvořené vodíkem, nižší alkoxy, hydroxy, amino, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou, halogenem, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ a $-\text{SO}_2\text{NH}_2$, nižším aminoalkylem a $-\text{SO}_2$ (nižším alkylem).
73. Způsob definovaný v patentovém nároku 57, kde R_7 je v každém případě nezávisle vybráno ze skupiny tvořené vodíkem, nižší alkoxy, hydroxy a amino skupinou, halogenem, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ a $-\text{SO}_2\text{NH}_2$, nižším aminoalkylem a $-\text{SO}_2$ (nižším alkylem).
74. Způsob definovaný v patentovém nároku 73, kde alespoň jeden z R_7 substituentů je v poloze orto nebo para.
75. Způsob definovaný v patentovém nároku 73, kde alespoň jeden z R_7 substituentů je v poloze orto.

76. Způsob inhibice růstu nádorových buněk zahrnující expozici buněk množství sloučeniny definované vzorcem I, které je schopno účinné inhibice růstu:



kde R_1 je v každém případě nezávisle vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, halogenem, nižším alkylem, nižší alkoxy, amino, nižší alkylamino, nižší dialkylamino, nižší alkylmerkpto, nižší alkylsulfonyl a kyano skupinou, karboxamidem, karboxylovou kyselinou, merkpto skupinou, kyselinou sulfonovou, xantátem a hydroxy skupinou;

R_2 je vybrán ze skupiny tvořené vodíkem a nižším alkylem;

R_3 je vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, halogenem, amino, hydroxy, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou;

R_4 je vodík, nebo R_3 a R_4 spolu jsou kyslík;

R_5 a R_6 spolu jsou nezávisle vybrány ze skupiny tvořené vodíkem, nižším alkylem, nižším hydroxy substituovaným alkylem, nižším aminoalkylem, nižším alkylamino nižším alkylem, nižším alkylamino nižším dialkylem, nižším alkylnitrilem, $-CO_2H$, $-C(O)NH_2$ a C_2 až C_6 aminokyselinou;

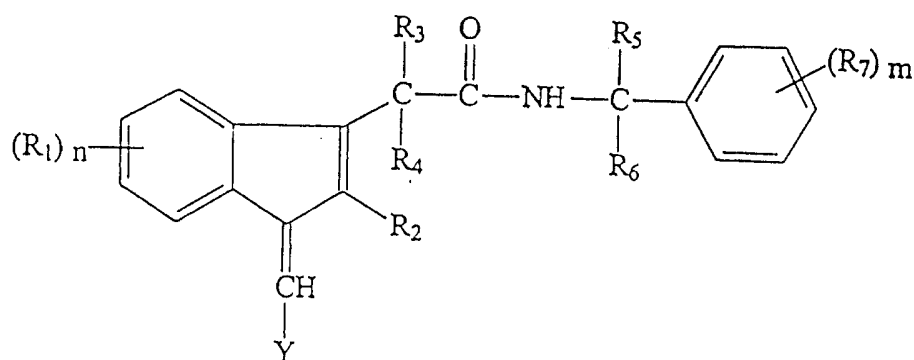
R_7 je v každém případě nezávisle vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, nižším aminoalkylem, nižší alkoxy skupinou, nižším alkylem, hydroxy, amino, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou, halogenem, $-CO_2H$, $-SO_3H$, $-SO_2NH_2$ a $-SO_2$ (nižším alkylem);

m a n jsou nezávisle vybrána celá čísla od 0 do 3;

Y je vybráno ze skupiny tvořené chinolinylem, izochinolinylem, pyridinylem, pyrimidinylem, pyrazinylem, imidazolylem, indolylem, benzimidazolylem, triazinylem,

tetrazolylem, thiofenylem, furanylem, thiazolylem, pyrazolylem nebo pyrolylem, nebo jejich substituovanými variantami, kde substituenty jsou jeden nebo dva substituenty vybrané ze skupiny tvořené halogenem, nižším alkylem, nižší alkoxy, amino, nižší alkylamino, nižší dialkylamino, hydroxy, $-SO_2$ (nižším alkylem) a $-SO_2NH_2$ skupinou; a jejich farmaceuticky přijatelnými solemi.

77. Způsob regulace apoptózy v lidských buňkách zahrnující expozici buněk množství sloučeniny definované vzorcem I, které je schopno účinné inhibice růstu:



kde R_1 je v každém případě nezávisle vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, halogenem, nižším alkylem, nižší alkoxy, amino, nižší alkylamino, nižší dialkylamino, nižší alkylmerkpto, nižší alkylsulfonyl a kyano skupinou, karboxamidem, karboxylovou kyselinou, merkpto skupinou, kyselinou sulfonovou, xantátem a hydroxy skupinou;

R_2 je vybrán ze skupiny tvořené vodíkem a nižším alkylem;

R_3 je vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, halogenem, amino, hydroxy, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou;

R_4 je vodík, nebo R_3 a R_4 spolu jsou kyslík;

R_5 a R_6 spolu jsou nezávisle vybrány ze skupiny tvořené vodíkem, nižším alkylem, nižším hydroxy substituovaným alkylem, nižším aminoalkylem, nižším alkylamino nižším alkylem, nižším alkylamino nižším dialkylem, nižším alkylnitrilem, $-CO_2H$, $-C(O)NH_2$ a C_2 až C_6 aminokyselinou;

R₇ je v každém případě nezávisle vybrán ze skupiny tvořené vodíkem, nižším aminoalkylem, nižší alkoxy skupinou, nižším alkylem, hydroxy, amino, nižší alkylamino a nižší dialkylamino skupinou, halogenem, -CO₂H, -SO₃H, -SO₂NH₂ a -SO₂ (nižším alkylem);

m a n jsou nezávisle vybrána celá čísla od 0 do 3;

Y je vybráno ze skupiny tvořené chinolinylem, izochinolinylem, pyridinylem, pyrimidinylem, pyrazinylem, imidazolylem, indolylem, benzimidazolylem, triazinylem, tetrazolylem, thiofenylem, furanylem, thiazolylem, pyrazolylem nebo pyrolylem, nebo jejich substituovanými variantami, kde substituenty jsou jeden nebo dva substituenty vybrané ze skupiny tvořené halogenem, nižším alkylem, nižší alkoxy, amino, nižší alkylamino, nižší dialkylamino, hydroxy, -SO₂ (nižším alkylem) a -SO₂NH₂ skupinou; a jejich farmaceuticky přijatelnými solemi.

78. (Z) -5- fluoro -2- metyl- (4-pyridyliden) -3- (N-benzyl) indenylacetamid hydrochlorid.

79. Použití sloučeniny definované v jakémkoli z patentových nároků 1 až 28 ve výrobě farmaceutického preparátu určeného k léčbě nádorových onemocnění.