

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(21) Číslo dokumentu:

2069-98

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **16. 12. 96**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **29.12.95**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **95/580553**

(33) Země priority: **US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **14. 04. 99**
(Věstník č. 4/99)

(86) PCT číslo: **PCT/US96/20511**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 97/24116**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

A 61 K 31/19
A 61 K 31/215
A 61 K 31/34
A 61 K 31/44

(71) Přihlášovatel:

VISION PHARMACEUTICALS L. P., Irvine,
CA, US;

(72) Původce:

Teng Ming, San Diego, CA, US;
Duong Tien T., Irvine, CA, US;
Chandraratna Roshantha A., Mision Viejo,
CA, US;

(74) Zástupce:

Smola Josef Ing., Mendlovo nám. 1a, Brno,
60300;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Použití retinoidních sloučenin s RAR alfa
receptorovou specifickou nebo selektivní
aktivitou**

(57) Anotace:

Retinoidní sloučeniny, které působí specificky
nebo selektivně na RAR_{alfa} receptorové pod-
typy přednostně před RAR_β a RAR_γ retinoidní-
mi receptorovými podtypy, mají požadované
farmaceutické vlastnosti spojené s retinoidy,
a jsou zvláště vhodné pro výrobu léčiva pro lé-
čení tumorů, například akutní monocytové le-
ukémie, krčního karcinomu, myelomu, karci-
nomů vaječníků a karcinomů hlavy a krku,
bez toho, že by měly jeden nebo více nežádou-
cích vedlejších účinků retinoidů, jako jsou
například vyvolání ztráty hmotnosti, muko-
kutánní toxicita, podráždění kůže a teratoge-
nita.

CZ 2069-98 A3

Použití retinoidních sloučenin s RAR_{α} receptorovou specifickou nebo selektivní aktivitou

Oblast techniky

Tento vynález se týká použití sloučenin, které mají specifickou nebo selektivní agonistickou aktivitu pro RAR_{α} retinoidní receptory, pro výrobu léčiva k léčbě nemocí nebo stavů, které jsou citlivé na léčbu těmito retinoidy. Zvláště je tento vynález zaměřen na užití činidel specifických nebo selektivních pro RAR_{α} receptory pro léčbu tumorů.

Dosavadní stav techniky

Sloučeniny, které mají retinoidům podobnou aktivitu jsou dobře známy v oblasti techniky, a jsou popsány v početných patentech Spojených států amerických a jiných patentech a ve vědeckých publikacích. V oblasti techniky je obecně známo a přijato, že retinoidům podobná aktivita je užitečná pro ošetřování zvířat savčích druhů, včetně člověka, pro léčbu nebo zmírnění symptomů nebo stavů početných nemocí nebo stavů. Jinými slovy, v oblasti techniky je obecně přijato, že farmaceutické komposity s retinoidům podobnou sloučeninou nebo sloučeninami jako aktivní složkou jsou užitečné jako regulátory buněčné proliferace a diferenciaci, a zvláště jako činidla pro léčbu kožních nemocí, zahrnující aktiniové keratózy, arsenové keratózy, zánětlivé nebo nezápětlivé akné, lupénku, šupinatost kůže a jiné keratinizační a hyperproliferativní poruchy kůže, ekzém, atopickou dermatitidu, Darriersovu nemoc, lišel plochý, prevenci nebo zvrát glukokortikoidního poškození (steroidní atrofie), jako topické antimikrobiální, jako kožní antipigmentační činidla a pro léčbu a zvrát účinků věku a světelného poškození na kůži. Retinoidní sloučeniny jsou také užitečné pro prevenci a léčbu rakovinných a předrakovinných stavů, zahrnující premaligní a maligní hyperproliferativní nemoci jako například rakovinu prsu, kůže, prostaty, hrdla, dělohy, tračníku, měchýře, jícnu, žaludku, plic, hrtanu, ústní dutiny, krevního a lymfatického systému, metaplasii, dysplasii, neoplasii, leukoplasii a papilom mukózních membrán a při léčbě Kaposiho sarkomu. Navíc, retinoidní sloučeniny mohou být použity jako činidla pro léčbu nemocí oka, zahrnující, bez omezení, proliferativní vitreoretinopatii (PVR), odloučení sítnice, suché oko a jiná onemocnění rohovky, stejně jako v léčbě a

prevenci různých kardiovaskulárních chorob, zahrnující, bez omezení, choroby spojené s metabolismem lipidů jako například dyslipidémii, prevenci post-angioplastické restenozy a jako činidlo pro zvýšení úrovně cirkulujícího tkáňového aktivátoru plasminogenu (TPA). Jiná použití pro retinoidní sloučeniny zahrnují prevenci a léčbu stavů a nemocí spojených s lidským papilloma virem (HPV), zahrnující bradavice a genitální bradavice, různé zánětlivé choroby jako například fibrózu plic, zánět kyčelníku, zánět tlustého střeva a Krohnovu chorobu, neurodegenerativní choroby jako například Alzheimerovu nemoc, Parkinsonovu nemoc a mrtvici, nesprávnou funkci hypofýzy, zahrnující nedostatečnou produkci růstového hormonu, modulaci apoptózy, zahrnující jak indukci apoptózy, tak inhibici apoptózy aktivované T-buňkami, obnovení růstu vlasů, zahrnující kombinované terapie s těmito sloučeninami a s jinými agens jako například Minoxidil^R, nemoci spojené s imunitním systémem, zahrnující užití těchto sloučenin jako imunosupresiv a imunostimulátorů, zmírnění odvržení orgánových transplantátů a usnadnění léčení ran, včetně zmírnění chelózy.

Patent Spojených států č. 4, 740, 519 (Shroot a kol.), 4, 826, 969 (Maignan a kol.), 4, 326, 055 (Loeliger a kol.), 5, 130, 335 (Chandraratna a kol.), 5, 037, 825 (Klaus a kol.), 5, 231, 113 (Chandraratna a kol.), 5, 324, 840 (Chandraratna), 5, 344, 959 (Chandraratna), 5, 130, 335 (Chandraratna a kol.), publikované evropské patentové přihlášky č. 0 170 105 (Shudo), 0 176 034 A (Wuest a kol.), 0 350 846 A (Klaus a kol.), 0 176 032 A (Frickel a kol.), 0 176 033 A (Frickel a kol.), 0 253 302 A (Klaus a kol.), 0 303 915 A (Bryce a kol.), UK patentová přihláška Velké Británie 2190378 A (Klaus a kol.), německá patentová přihláška č. DE 3715955 A1(Klaus a kol.), DE 3602473 A1(Wuest a kol.), a články J. Amer. Acad. Derm. 15: 756-764 (1986) (Sporn a kol.), Chem. Pharm. Bull. 33: 404-407 (1985) (Shudo a kol.), J. Med. Chem. 1988 31, 2182-2192 (Kagechika a kol.), Chemistry and Biology of Synthetic Retinoids CRC Press Inc. 1990 str. 334-335, 354 (Dawson a kol.), popisují nebo se týkají sloučenin , které zahrnují tetrahydronaftylový zbytek a mají retinoidům podobnou nebo příbuznou biologickou aktivitu.

Patenty Spojených států č. 4,980,369, 5,006,550, 5,015,658, 5,045,551, 5,089,509, 5,134,159, 5,162,546, 5,234,926, 5,248,777, 5, 264,578, 5, 272,156, 5,278,318, 5,324,744, 5, 346,895, 5,346,915, 5,348,972, 5,348,975, 5,380,877, 5,399,561, 5,407,937, (přířknuté stejnému postupníku jako tato přihláška) a patenty a publikace tam citované, popisují nebo se týkají chromanu, thiochromanu a derivátů

1,2,3,4-tetrahydrochinolinu, které mají retinoidům podobnou biologickou aktivitu.

Patent Spojených států č. 4,723,028 (Shudo), publikovaná evropská patentová přihláška č. 0 170 105 (Shudo), německá patentová přihláška č. DE 3524199 A1(Shudo), PCT WO 91/16051 (Spada a kol.), PCT WO 85/04652 (Polus) a J. Med. Chem. 1988 31, 2182-2192 (Kagechika a kol.), popisují nebo se týkají arylových a heteroarylových nebo diarylových substituovaných olefinů nebo amidů s retinoidům podobnou nebo příbuznou biologickou aktivitou.

Patenty Spojených států č. 4,992,468, 5,013,744, 5,068,252, 5,175,185, 5,202,471, 5,264,456, 5,324,840, 5,326,898, 5,349,105, 5,391,753, 5,414,007 a 5,434,173 (postoupené stejnému nabyvateli jako tato přihláška) a patenty a publikace tam citované, popisují nebo se týkají sloučenin, které mají retinoidům podobnou biologickou aktivitu a strukturu, kde fenyl a heteroaryl nebo fenyl a druhá fenylová skupina je spojena s olefinovou nebo acetylenovou vazbou. Dále, přihlášky společně očekávající vyřízení a v nedávné době vydané patenty, postoupené stejnému nabyvateli jako tato přihláška, jsou zaměřeny na další sloučeniny s retinoidům podobnou aktivitou.

V současné době je obecnou znalostí v oblasti techniky, že u savců (a jiných organismů) existují dva hlavní typy retinoidových receptorů. Tyto dva hlavní typy neboli rodiny receptorů jsou označovány RARs a RXRs. V rámci každého typu existují podtypy; v RAR rodině jsou subtypy označovány RAR_{α} , RAR_{β} a RAR_{γ} , v RXR rodině jsou subtypy označovány RXR_{α} , RXR_{β} a RXR_{γ} . V oblasti techniky bylo také zjištěno, že distribuce dvou hlavních typů retinoidových receptorů, a několika podtypů není v různých tkáních a orgánech savčích organismů jednotná.

Je také známo v oblasti techniky, že použití retinoidům podobných sloučenin pro léčbu různých chorob a stavů není bez problémů nebo vedlejších účinků. Vedlejší účinky při úrovních terapeutické dávky zahrnují bolest hlavy, teratogenitu, mukokutánní toxicitu, toxicitu pro kosterní svalstvo, dyslipidémie, podráždění kůže, hepatotoxicitu, atd. Tyto vedlejší účinky omezují přijatelnost a použitelnost retinoidů pro léčbu nemocí. Stále probíhá výzkum v oblasti techniky pro stanovení, která z rodin RAR nebo RXR a v rámci každé rodiny, který nebo které z podtypů zodpovídají za zprostředkování určitých terapeutických účinků, a který typ nebo které podtypy jsou zodpovědné za zprostředkování jednoho nebo více nežádoucích vedlejších účinků. Tudíž, mezi sloučeninami schopnými vazby na retinoidové receptory, je specifita nebo selektivita

pro jeden z hlavních typů nebo rodin, a dokonce specifita nebo selektivita pro jeden nebo více podtypů v rámci rodiny receptorů, považována za požadovanou farmakologickou vlastnost. Taková selektivita nebo specifita je užitečná jako výzkumný nástroj pro odhalení rolí několika receptorových typů a podtypů při zprostředkování různých účinků retinoidů v biologických systémech, a také jako pomůcka pro navrhování retinoidových léčiv se specifickými léčebnými účinky a/nebo s omezenými vedlejšími účinky a toxicitou. Spolu s těmito řádky popisuje patent Spojených států č. 5,324,840 třídu sloučenin, ve kterých je retinoidům podobná aktivita doprovázena sníženou kožní toxicitou a sníženými teratogenními účinky. Patent Spojených států č. 5,399,586 popisuje užití sloučenin s RXR retinoidní receptorovou agonistickou aktivitou pro léčbu savců postižených tumory. Patent Spojených států č. 5,455,265 popisuje metody léčby savců sloučeninami s agonistickou aktivitou na RXR receptorech. Publikovaná PCT přihláška č. WO 93/11755 je také zaměřena na použití sloučenin, které jsou selektivními RXR receptorovými agonisty.

Vynález poskytuje způsoby léčby tumorů sloučeninami, které jsou specifické nebo selektivní k RAR_{α} receptorům.

Podstata vynálezu

Bylo zjištěno, podle vynálezu, že sloučeniny podobné retinoidům, které působí selektivně, nebo ještě výhodněji specificky na podtypy RAR_{α} receptorů přednostně před podtypy RAR_{β} a RAR_{γ} receptorů, mají požadované farmaceutické vlastnosti spojené s retinoidy, a jsou zvláště vhodné pro léčbu tumorů, jako například akutní monocytové leukémie, krčního karcinomu, myelomu, karcinomů vaječníků a karcinomů hlavy a krku, aniž by měly jeden nebo více nežádoucích vedlejších účinků retinoidů, jako například vyvolání ztráty hmotnosti, mukokutánní toxicitu, podráždění kůže a teratogenitu.

Tudíž, vynález se týká užití RAR_{α} specifických nebo selektivních retinoidních sloučenin pro léčbu chorob nebo stavů, které reagují na léčbu těmito sloučeninami, a zvláště na léčbu tumorů, primární akutní monocytové leukémie, krčního karcinomu, myelomu, karcinomů vaječníků a karcinomů hlavy a krku RAR_{α} specifickými nebo selektivními retinoidními sloučeninami. Podle vynálezu jsou také RAR_{α} selektivní sloučeniny zvláště výhodně užívány pro léčbu proliferativní vitreoretinopatie (PVR) a k věku se vztahující makulární degenerace (AMD).

Pro účely tohoto popisu je sloučenina považována za RAR_{α} specifickou nebo selektivní, jestliže při transaktivním důkazu (popsán níže) sloučenina transaktivuje RAR_{α} receptory při významně nižší koncentraci než RAR_{β} a RAR_{γ} receptory. Místo měření transaktivace je proveditelné měření navazování sloučeniny postupně ke třem RAR receptorovým podtypům. Data o vazbě vyjádřená v K_d číslech získaných ve vazebném stanovení (popsán níže) také udávají schopnost sloučeniny působit specificky nebo selektivně na RAR_{α} receptory přednostně před RAR_{β} a RAR_{γ} receptory. Sloučenina je považována za RAR_{α} specifickou nebo selektivní pro účely tohoto vynálezu, jestliže K_d číslo pro její vazbu na RAR_{α} receptory je přibližně 500 krát menší než K_d pro její afinitu k RAR_{β} a RAR_{γ} receptorům.

Přehled obrázků na výkresech

Obrázek 1 je graf ukazující výsledky stanovení RPMI 8226 buněčné kultury provedeného s all-trans retinovou kyselinou (ATRA) a dvěma RAR_{α} selektivními sloučeninami podle vynálezu.

Obrázek 2 je další graf ukazující výsledky stanovení AML 193 buněčné kultury provedeného se dvěma RAR_{α} selektivními sloučeninami podle vynálezu, a se dvěma sloučeninami, které nejsou RAR_{α} selektivní.

Obrázek 3 je další graf ukazující výsledky stanovení AML 193 buněčné kultury provedeného se třemi RAR_{α} selektivními sloučeninami podle vynálezu a s all-trans retinovou kyselinou (ATRA).

Obrázek 4 je graf ukazující proliferaci vaječnickových tumorových buněk při stanovení buněčné kultury (EDR stanovení) za přítomnosti měnící se koncentrace sloučeniny 2 podle vynálezu.

Obrázek 5 je graf ukazující proliferaci RPE buněk za přítomnosti all-trans retinové kyseliny nebo sloučeniny 42 v kultivačním médiu.

Obrázek 6 je graf ukazující hmotnost skupiny pokusných krys, kterým byly podávány po 3 dny měnící se dávky RAR_{α} selektivní sloučeniny podle vynálezu.

Obrázek 7 je sloupcový graf ukazující hmotnost skupiny pokusných krys na konci 4 denní periody, ve které byly krysám po dobu 3 dnů podávány měnící se dávky sloučeniny 18 podle vynálezu.

Obrázek 8 je graf ukazující hmotnost morčat, která byla podrobena působení

měnicích se dávek sloučeniny 42 po dobu 15 dnů.

Příklady provedení vynálezu

Obecná provedení

Charakteristika týkající se chemických sloučenin použitých ve vynálezu.

Termín alkyl se vztahuje na kteroukoli a pokrývá všechny skupiny, které jsou známy jako normální alkyl, alkyl s rozvětveným řetězcem a cykloalkyl. Termín alkenyl se vztahuje a pokrývá skupiny normálních alkenylů, alkenylů s rozvětveným řetězcem a cykloalkenylů s jedním nebo několika nenasycenými místy. Podobně, termín alkynyl se vztahuje a pokrývá skupiny normálních alkynylů a alkynylů s rozvětveným řetězcem s jednou nebo více trojnými vazbami.

Nižší alkyl označuje výše definovanou širokou definici alkylových skupin s 1 až 6 uhlíky v případě normálního nižšího alkyly, a jako vhodný pro 3 až 6 uhlíkaté nižší skupiny s rozvětveným řetězcem a cykloalkylové skupiny. Nižší alkenyl je definován podobně, 2 až 6 uhlíků pro normální nižší alkenylové skupiny, a 3 až 6 uhlíků pro nižší rozvětvené a cyklo- alkenylové skupiny. Nižší alkynyl je také definován podobně, 2 až 6 uhlíků pro normální nižší alkinylové skupiny, a 4 až 6 uhlíků pro rozvětvené nižší alkinylové skupiny.

Termín "ester", jak je užit zde, se vztahuje a pokrývá jakoukoli sloučeninu spadající do definice toho termínu, jak je užíván v klasifikaci organické chemie. Zahrnuje organické a anorganické estery. Kde B v obecném vzorci výhodnějších sloučenin užitých v tomto vynálezu je -COOH , pokrývá tento termín produkty odvozené od reakce této funkce s alkoholy nebo thioalkoholy, s výhodou s alifatickými alkoholy s 1-6 uhlíky. Kde ester je odvozen od sloučenin, kde B je $\text{-CH}_2\text{OH}$, pokrývá tento termín sloučeniny odvozené od organických kyselin schopných tvorby esterů včetně kyselin založených na fosforu a kyselin založených na síře, nebo sloučeniny vzorce $\text{-CH}_2\text{OCOR}_{11}$, kde R_{11} je jakákoli substituovaná nebo nesubstituovaná alifatická, aromatická, heteroaromatická nebo alifatická aromatická skupina, s výhodou s 1-6 uhlíky v alifatických částech.

Pokud není v této přihlášce uvedeno jinak, výhodnější estery jsou odvozeny od nasycených alifatických alkoholů nebo kyselin o deseti nebo méně uhlíkových atomech

nebo cyklických nebo nasycených alifatických cyklických alkoholů nebo kyselin o 5 až 10 uhlíkových atomech. Zvláště výhodné alifatické estery jsou ty, jež jsou odvozeny od kyselin nebo alkoholů nižších alkylů. Dále jsou výhodné fenyl nebo nižší alkylfenyl estery.

Amidy mají význam klasifikačně se shodující s tímto termínem v organické chemii. V tomto případě zahrnuje nesubstituované amidy a všechny alifatické a aromatické mono- a di- substituované amidy. Pokud není v přihlášce uvedeno jinak, výhodnější amidy jsou mono- a di- substituované amidy odvozené od nasycených alifatických zbytků o deseti nebo méně uhlíkových atomech nebo cyklické nebo nasycené alifatické cyklické zbytky o 5 až 10 uhlíkových atomech. Zvláště výhodné jsou amidy odvozené od substituovaných nebo nesubstituovaných nižších alkyl aminů. Výhodné jsou také mono- a disubstituované amidy odvozené od substituovaných a nesubstituovaných fenyl nebo nižších alkylfenyl aminů. Nesubstituované amidy jsou také výhodné.

Acetaly a ketaly zahrnují uhlovodíkové zbytky vzorce CK, kde K je $(-OR)_2$. Zde, R je nižší alkyl. Také, K může být $-OR_7O-$, kde R_7 je nižší alkyl o 2-5 uhlíkových atomech, s přímým řetězcem nebo rozvětvený.

Farmaceuticky přijatelná sůl může být připravena pro jakoukoli sloučeninu použitou ve vynálezu s funkcí schopnou tvorby takové soli, například kyselou funkcí. Farmaceuticky přijatelná sůl je jakákoli sůl, která uchovává aktivitu původní sloučeniny a nepředává žádný rušivý nebo nepříznivý účinek subjektu, kterému je podána a v souvislosti, ve které je podána. Farmaceuticky přijatelné soli mohou být odvozeny od organických nebo anorganických zásad. Sůl může být mono nebo polyvalentní ion. Zvláště zajímavé jsou anorganické ionty, sodný, draselný, vápenatý a hořečnatý. Organické soli mohou být utvořeny s aminy, zvláště amonné soli jako například mono-, di- a trialkyl aminy a ethanol aminy. Soli mohou být také tvořeny s kofeinem, tromethaminem a podobnými molekulami. Kde je dusík v podstatě bazický tak, že je schopen tvořit soli přidavkem kyseliny, tyto mohou být tvořeny s jakýmkoli anorganickými nebo organickými kyselinami nebo alkylujícím činidlem jako například methyljodidem. Výhodné soli jsou ty, které jsou tvořeny s anorganickými kyselinami jako například chlorovodíkovou kyselinou, kyselinou sírovou nebo kyselinou fosforečnou. Může být také použita kterákoli z počtu jednoduchých organických kyselin jako například jedno-, dvoj- a trojsytná kyselina.

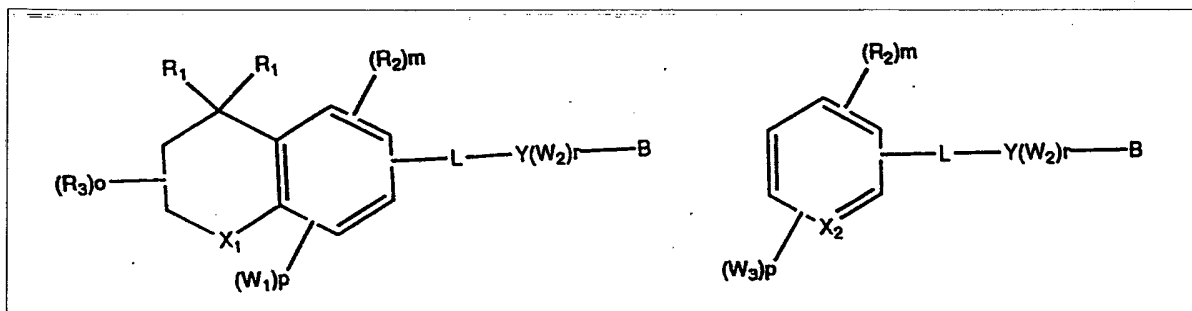
Některé ze sloučenin použitých ve vynálezu mohou mít trans a cis (E a Z)

isomery. Navíc, sloučeniny použité ve vynálezu mohou obsahovat jedno nebo více chirálních center a tudíž mohou existovat v enantiomerní a diastereomerní formě. Pole působnosti vynálezu je určeno k pokrytí použití všech těchto isomerů jako takových, stejně jako směsí cis a trans isomerů, směsí diastereomerů a stejně jako racemických směsí enantiomerů (optických isomerů).

Popis sloučenin s výhodou používaných ve způsobech podle vynálezu

Retinoidní sloučeniny používané ve způsobech léčby podle vynálezu jsou specifické nebo selektivní pro RAR_{α} receptory. Že je sloučenina specifická nebo selektivní pro RAR_{α} receptory, může být zjištěno transaktivačními stanoveními popsanými níže, kde RAR_{α} specifická nebo selektivní sloučenina transaktivuje RAR_{α} receptory při významně nižších koncentracích než RAR_{β} nebo RAR_{γ} receptory. Při vazebném stanovení, kde je měřena schopnost sloučeniny vázat se na tento podtyp receptoru, se sloučenina, která je považována za RAR_{α} specifickou nebo selektivní pro účely vynálezu, váže nejméně 500 krát silněji k RAR_{α} receptorům než k RAR_{β} nebo RAR_{γ} receptorům. Eventuálně, sloučenina je považována za RAR_{α} specifickou nebo selektivní, jestliže při vazebném stanovení je jeho hodnota K_d přibližně v 10^{-1} až 5×10^2 nanomolárním rozmezí a hodnota K_d pro RAR_{β} nebo RAR_{γ} receptory je větší než 1000 nanomolární. Tato druhá možnost je indikována jako 0,00 v níže poskytnutých tabulkách, kde jsou ilustrována vazebná data (hodnoty K_d) pro jisté ukázkové sloučeniny podle vynálezu.

Příklady RAR_{α} selektivních sloučenin, které jsou s výhodou používány podle vynálezu, jsou ilustrovány vzorcem 1 a vzorcem 2,



Vzorec 1

Vzorec 2

kde X_1 je O nebo X_1 je $[C(R_1)_2]_n$, kde n je celé číslo mezi 0 a 2;

R_1 je nezávisle H nebo alkyl o 1 až 6 uhlících;

R_2 je nezávisle vodík, nebo nižší alkyl o 1 až 6 uhlících;

R_3 je vodík, nižší alkyl o 1 až 6 uhlících nebo F;

m je celé číslo hodnoty 0 - 5;

o je celé číslo hodnoty 0 - 4;

p je celé číslo hodnoty 0 - 2;

r je celé číslo hodnoty 0 - 2;

X_2 je fenylová nebo naftylová skupina, nebo heteroaryl vybraný ze skupiny skládající se z pyridylu, thienylu, furylu, pyridazinyly, pyrimidinyly, pyrazinyly, thiazolyly, oxazolyly, imidazolyly a pyrrazolyly, uvedené skupiny fenylyl, naftyl a heteroaryl jsou volitelně substituované jednou nebo dvěma R_2 skupinami;

W_1 je substituent vybraný nezávisle ze skupiny skládající se z F, Br, Cl, I, fluoro substituovaného C_{1-6} alkylu, NO_2 , a OH, s výhradami, že:

(i) když je sloučenina podle vzorce 1 a Z je O, pak součet p a r je nejméně 1 a W_1 není fluoro skupina v posici 3 tetrahydronaftalenového kruhu;

(ii) když je sloučenina podle vzorce 1 a r je nula a p je 1 a W_1 je OH, pak OH skupina je umístěna α k L skupině;

W_2 je substituent vybraný nezávisle ze skupiny skládající se z F, Br, Cl, I, fluoro substituovaného C_{1-6} alkylu, NO_2 , a OH;

W_3 je substituent vybraný nezávisle ze skupiny skládající se z F, Br, Cl, I, C_{1-6} alkylu, fluoro substituovaného C_{1-6} alkylu, NO_2 , a OH s výhradou, že když je sloučenina podle vzorce 2 a X_2 je CH a r je 0, pak p není 0 a nejméně jedna W_3 skupina není alkyl;

L je $-(C=Z)-NH-$ nebo $-NH-(C=Z)-$

Z je O nebo S, a

B je COOH nebo její farmaceuticky přijatelná sůl, $COOR_8$, $CONR_9R_{10}$, $-CH_2OH$, CH_2OR_{11} , CH_2OCOR_{11} , CHO, $CH(OR_{12})_2$, $CHOR_{13}O$, $-COR_7$, $CR_7(OR_{12})_2$, $CR_7OR_{13}O$, kde R_7 je alkylová, cykloalkylová nebo alkenylová skupina obsahující 1 až 5 uhlíků, R_8 je alkylová skupina o 1 až 10 uhlících nebo trimethylsilylalkyl, kde alkyl alkylová skupina má 1 až 10 uhlíků, nebo cykloalkylová skupina o 5 až 10 uhlících, nebo R_8 je fenylyl nebo nižší alkylfenyl, R_9 a R_{10} nezávisle jsou vodík, alkylová skupina o 1 až 10

uhlících, nebo cykloalkylová skupina o 5-10 uhlících, nebo fenyl nebo nižší alkylfenyl, R_{11} je nižší alkyl, fenyl nebo nižší alkylfenyl, R_{12} je nižší alkyl, a R_{13} je dvojbazný alkylový zbytek o 2-5 uhlících.

S odkazem na symbol X_1 ve vzorci 1, ve způsobech podle vynálezu jsou výhodnější ty sloučeniny, kde X_1 je $[C(R_1)_2]_n$ a n je 1 (tetrahydronaftalenové deriváty) a také kde X_1 je O (chromanové deriváty). S odkazem na symbol X_2 ve vzorci 2, stejně jsou preferovány sloučeniny, kde X_2 je CH nebo N. Když X_2 je CH, pak benzenový kruh je s výhodou 1, 3, 5 substituovaný s L skupinou obsazující posici 1 a W_3 a/nebo R_2 skupinami obsazujícími 3 a 5 posice. Když symbol X_2 je N, pak je pyridinový kruh s výhodou 2, 4, 6 substituovaný s L skupinou obsazující posici 4 a W_3 a/nebo R_2 skupinami obsazujícími 2 a 6 posice.

R_1 skupiny ve vzorci 1 jsou s výhodou H nebo CH_3 . R_3 skupina ve vzorci 1 je s výhodou H. Skupina B výhodnějších sloučenin podle vynálezu je $COOH$ nebo její farmaceuticky přijatelná sůl, $COOR_8$ nebo $CONR_9R_{10}$, kde R_8 , R_9 a R_{10} jsou definovány výše.

Toto upozornění se týká skupin W_1 a W_2 ve vzorci 1, tyto skupiny jsou, obecně řečeno, elektrony přitahující skupiny, které se nacházejí ve sloučeninách podle vynálezu jak v aromatické části kondenzovaného cyklického systému, nebo jako substituent arylové nebo heteroarylové skupiny Y. S výhodou je W_2 skupina přítomna v Y skupině, a W_1 je také přítomna v aromatické části kondenzovaného cyklického systému. Když je Z skupina S (thioamidy), W_1 nebo W_2 skupina nemusí být nezbytně přítomna ve sloučeninách podle vynálezu ve shodě se vzorcem 1, ačkoli s výhodou nejméně jedna ze skupin W_1 nebo W_2 je nicméně přítomna. V arylovém nebo heteroarylovém Y zbytku ve sloučeninách vzorce 1 a stejně tak vzorce 2, je W_2 skupina s výhodou umístěna v posici sousední k B skupině; s výhodou je B skupina v para poloze fenylového cyklu vzhledem k "amidovému" zbytku, a tudíž W_2 skupina je s výhodou v meta poloze vzhledem k amidovému zbytku. Tam, kde je W_1 skupina přítomna v aromatické části kondenzovaného cyklického systému sloučenin vzorce 1, obsazuje s výhodou polohu 8 chromanového jádra se $Z=C-NH-$ skupinou obsazující polohu 6. V tetrahydronaftalenových sloučeninách vzorce 1, je skupina $Z=C-NH-$ s výhodou v poloze 2, a W_1 skupina je s výhodou v poloze 4. Nicméně, když W_1 skupina ve sloučeninách vzorce 1 je OH, pak OH je s výhodou v poloze 3

tetrahydronaftalenového kruhu.

Výhodné W_1 a W_2 skupiny jsou F, NO_2 , Br, I, CF_3 , CIN_3 , a OH. Přítomnost jednoho nebo dvou fluoro substituentů v Y skupině (W_2) je zvláště výhodná. Když je Y skupinou fenyl, fluoro substituenty jsou s výhodou v ortho a ortho' polohách vzhledem k B skupině, která je s výhodou COOH nebo COOR_8 .

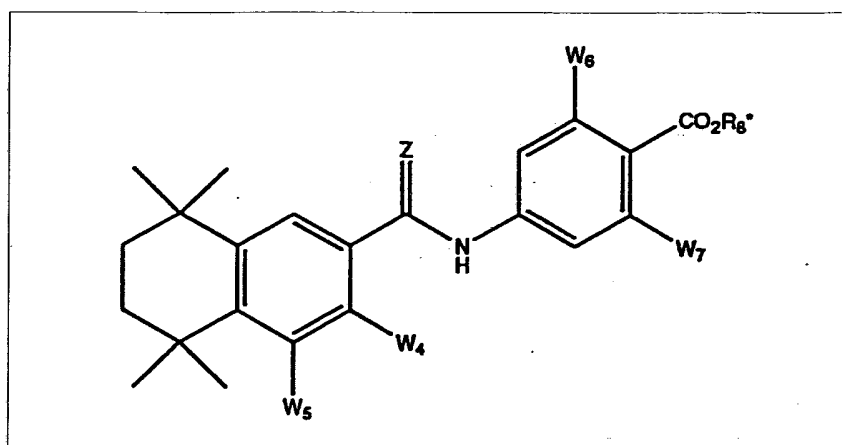
Tato poznámka se týká W_3 skupiny ve vzorci 2, tato skupina je, obecně řečeno, také elektrony přitahující skupinou nebo alkylovou skupinou, specifitěji výhodnými W_3 skupinami jsou F, NO_2 , Br, I, CF_3 , N_3 a OH. Eventuálně, ve fenylovém nebo pyridylovém kruhu (ukázáno ve vzorci 2 jako substituent " $(W_3)_p$ ") je W_3 alkylová skupina, s výhodou alkyl s rozvětveným řetězcem, jako například terciární butyl, a p je s výhodou 2.

Tato poznámka se týká symbolu Y ve vzorci 1 a stejně tak vzorci 2, sloučeniny použité s výhodou ve způsobech podle vynálezu jsou ty, kde Y je fenyl, pyridyl, 2-thiazolyl, thienyl, nebo furyl, výhodněji fenyl. Pokud jde o substituce na Y (fenyl) a Y (pyridyl) skupinách, výhodné jsou sloučeniny, kde je fenylová skupina 1,4 (para) substituovaná L a B skupinami, a kde pyridinový kruh je 2,5 substituovaný L a B skupinami. (Substituce v polohách 2,5 v nomenklatuře "pyridinu" odpovídá substituci v poloze 6 nomenklatury "nikotinové kyseliny".) Ve výhodných sloučeninách podle vynálezu není žádný volitelný R_1 substituent (jiný než H) na Y skupině.

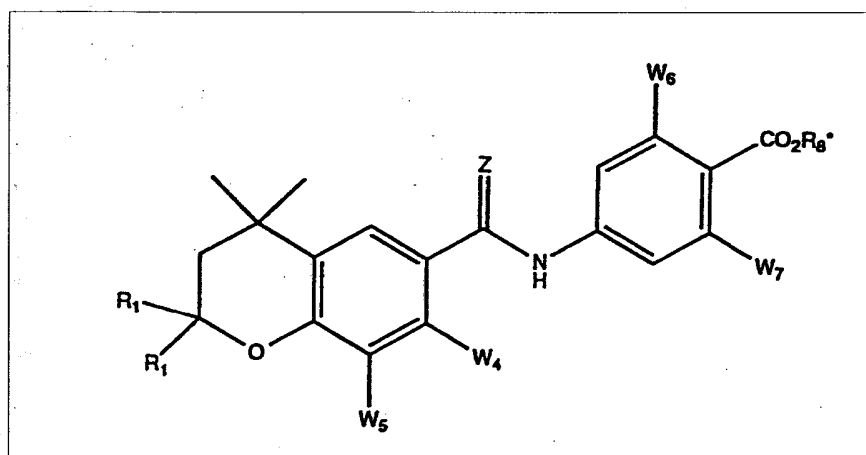
L skupina ve vzorci 1 a vzorci 2 je s výhodou $-(\text{C}=\text{Z})-\text{NH}-$, a Z je s výhodou O. Jinými slovy, výhodné jsou karbamoylové nebo amidové sloučeniny podle vynálezu, kde $-\text{NH}-$ zbytek je navázán na Y skupinu.

Sloučeniny, které jsou současně nejvýhodněji používány ve způsobech léčby podle vynálezu, jsou ukázány níže v tabulce 1 s odkazem na vzorce 3 a 4 a v tabulce s odkazem na vzorec 5.

Vzorec 3



Vzorec 4



Vzorec 5

Tabulka 1

Sloučenina

č.	Vzorec	R ₁ [*]	W ₄	W ₅	Z	W ₆	W ₇	R ₈ [*]
1	3	--	H	H	O	F	H	Et
2	3	--	H	H	O	F	H	H
3	3	--	H	Br	O	F	H	Et
4	3	--	H	Br	O	F	H	H
5	3	--	OH	H	O	F	H	Et
6	3	--	OH	H	O	F	H	H
7	4	H	H	Br	O	F	H	Et
8	4	H	H	Br	O	F	H	H
9	4	CH ₃	H	Br	O	F	H	Et
10	4	CH ₃	H	Br	O	F	H	H
11	4	CH ₃	H	CF ₃	O	F	H	Et
12	4	CH ₃	H	CF ₃	O	F	H	H
13	4	CH ₃	H	N ₃	O	F	H	Et
14	4	CH ₃	H	N ₃	O	F	H	H
15	4	CH ₃	H	CF ₃	O	F	F	CH ₃
16	4	CH ₃	H	CF ₃	O	F	F	H
17	4	CH ₃	H	I	O	F	H	Et
18	4	CH ₃	H	I	O	F	H	H
19	4	CH ₃	H	CH ₃	O	F	H	Et
20	4	CH ₃	H	CH ₃	O	F	H	H
21	3	--	H	H	S	H	H	Et
22	3	--	H	H	S	H	H	H
23	3	--	H	H	S	F	H	Et
24	3	--	H	H	S	F	H	H
25	3	--	H	Br	O	NO ₂	H	CH ₃
26	3	--	H	Br	O	NO ₂	H	H
27	4	CH ₃	H	H	O	F	H	Et
28	4	CH ₃	H	H	O	F	H	H
29	3	--	OH	Br	O	F	H	Et
30	3	--	OH	Br	O	F	H	H
31	3	--	OH	Br	O	F	F	Me
32	3	--	OH	Br	O	F	F	H
33	3	--	H	H	O	F	F	Me
34	3	--	H	H	O	F	F	H

Tabulka 2

Sloučenina #	X ₂	W ₈	W ₉	W ₁₀	R ₈ ⁺
41	N	H	F	H	Et
42	N	H	F	H	H
43	N	H	H	H	Et
44	N	H	H	H	H
45	CH	H	F	H	Et
46	CH	H	F	H	H
47	CH	OH	F	H	Et
48	CH	OH	F	H	H
49	N	H	F	F	Me
50	N	H	F	F	H
51	CH	H	F	F	Me
52	CH	H	F	F	H
53	N	H	NO ₂	H	Me
54	N	H	NO ₂	H	H

Způsoby podávání

RAR_α specifické a selektivní sloučeniny použité ve způsobech podle vynálezu mohou být podávány systematicky nebo místně, v závislosti na takových zřetelích jako stavu, který má být léčen, potřebě místně specifické léčby, množství léčiva, které má být podáváno, a řadě dalších zřetelů.

Při léčbě dermatóz, bude obecně výhodné podávat léčivo místně, ačkoli v určitých případech jako například při léčbě silné cystické akné nebo lupénky může být používáno také orální podávání. Může být používána jakákoli běžná topická formulace jako například roztok, suspenze, gel, mast, nebo rozpustná mast a podobně. Příprava takových topických formulací je dobře popsána v oblasti techniky farmaceutických formulací jak je znázorněno příklady, například, Remington's Pharmaceutical Science, vydání 17., Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania. Pro místní aplikaci mohou být tyto sloučeniny také podávány jako prášek nebo sprej, zvláště ve formě aerosolu. Jestliže má být léčivo podáváno systematicky, může být zpracováno jako

prášek, dražé, tableta nebo podobně nebo jako sirup nebo tinktura vhodná pro ústní podávání. Pro intravenózní nebo intraperitoneální podávání bude sloučenina připravena jako roztok nebo suspenze schopná být podávána injekčně. V jistých případech může být užitečné formulovat tyto sloučeniny injekčně. V jistých případech může být užitečné formulovat tyto sloučeniny ve formě čípku nebo jako složení s prodlouženým uvolňováním pro ukládání pod kůži nebo intramuskulární injekci.

Jiné medikamenty mohou být přidávány k takové topické formulaci pro takové druhotné účely jako léčbu kožní suchosti; poskytnutí ochrany proti světlu; jiné medikamenty pro léčbu dermatóz; medikamenty pro prevenci infekce, omezení podráždění, zánětu a podobně.

Léčba dermatóz nebo jakýchkoli jiných indikací známých nebo objevených jako přístupné léčbě sloučeninami typu kyseliny retinové bude ovlivněna podáváním terapeuticky účinné dávky jedné nebo více sloučenin podle vynálezu. Terapeutická koncentrace bude ta koncentrace, která ovlivní omezení konkrétního stavu, nebo zdrží jeho šíření. V jistých situacích může být sloučenina potenciálně používána při profylaktickém způsobu zabránění náporu konkrétního stavu.

Užitečná terapeutická nebo profylaktická koncentrace se bude měnit od stavu ke stavu a v jistých podmínkách se může měnit se závažností stavu, který je léčen, a s vnímavostí pacienta k léčbě. Tudíž, žádná jednotlivá koncentrace nebude jednotně platná, nýbrž bude vyžadovat modifikaci v závislosti na zvláštностech choroby, která má být léčena. K takovým koncentracím se může dospět rutinními experimenty. Nicméně, předpokládá se, že při léčbě, například akné, nebo podobných dermatóz, bude formulace obsahující mezi 0,01 a 1,0 miligramů na mililitr formulace představovat terapeuticky účinnou koncentraci pro veškerou aplikaci. Při systematickém podávání množství mezi 0,01 a 5 mg na kg tělesné hmotnosti na den by se mělo očekávat ovlivnění terapeutického výsledku při léčbě mnoha chorob, pro které jsou tyto sloučeniny platné.

Při léčbě tumorů se předpokládá, že dávka přibližně 0,5 až 5 mg na kg tělesné hmotnosti na den představuje terapeutickou dávku. Eventuálně, jak se často provádí při terapii zhoubných nádorů, je pacientovi poskytnuta výchozí dávka 1 mg na kg tělesné hmotnosti na den, a poté je dávka zvyšována dokud není dosaženo maximální tolerované dávky.

Stanovení RAR_{α} receptorové selektivní biologické aktivity a jejího významu při omezování vedlejších účinků a toxicity

Jak je zmíněno v úvodní části této patentové přihlášky, existují u savců (a jiných organismů) dva hlavní typy receptorů kyseliny retinové (RAR a RXR). V rámci každého typu jsou podtypy (RAR_{α} , RAR_{β} , RAR_{Γ} , RXR_{α} , RXR_{β} a RXR_{Γ}), jejichž distribuce není v různých tkáních a orgánech savčích organismů jednotná. Selektivní vazba pouze jednoho nebo dvou podtypů retinoidních receptorů v rámci jedné rodiny retinoidních receptorů může dát vzniknout prospěšným farmakologickým vlastnostem z důvodů měnící se distribuce podtypů v několika savčích tkáních nebo orgánech. Z výše shrnutých důvodů, vazba kteréhokoli nebo všech z retinoidních receptorů, stejně jako specifická nebo selektivní aktivita u kteréhokoli z receptorových podtypů jsou všechny považovány za požadované farmakologické vlastnosti.

Ve světle předchozího dosavadní stav techniky vyvinul metody stanovení pro testování agonistické aktivity sloučenin u RAR_{α} , RAR_{β} , RAR_{Γ} , RXR_{α} , RXR_{β} a RXR_{Γ} receptorových podtypů. Například, transaktivační stanovení chimérických receptorů, které testuje agonistickou aktivitu u RAR_{α} , RAR_{β} , RAR_{Γ} a RXR_{α} receptorových podtypů, a které je založeno na práci publikované P. L. Feignerem a M. Holmem (1989) Focus, 11 2, je popsáno detailně v U.S. patentu č. 5,455,265. Upřesnění Patentu Spojených států č. 5,455,265 je úmyslně začleněno zde tímto odkazem.

Transaktivační stanovení holoreceptorů a stanovení vazby ligandu, která měří schopnost sloučenin vázat se k několika podtypům retinoidních receptorů, jsou popsána v publikované PCT přihlášce č. WO WO93/11755 (zvláště na str. 30-33 a 37-41) publikované 24. června 1993, jejíž specifikace je také začleněna zde odkazem. Popis stanovení vazby ligandu je také poskytnuto níže.

Vazebné stanovení

Všechna vazebná stanovení jsou prováděna podobným způsobem. Všech šest receptorových typů bylo odvozeno od uvedeného receptorového typu (RAR_{α} , β , Γ a RXR_{α} , β a Γ) exprimovaného v Baculoviru. Zásobní roztoky všech sloučenin byly připraveny jako 10 mM ethanolické roztoky a postupná ředění prováděná do 1:1 DMSO; ethanolu. Pufry pro stanovení se skládaly z následujícího pro stanovení všech šesti receptorů: 8% glycerol, 120 mM KCl, 8 mM Tris, 5 mM CHAPS, 4 mM DTT a 0,24

mM PMSF, pH - 7,4 při teplotě místnosti.

Vazebná stanovení všech receptorů byla prováděna stejným způsobem. Konečný objem při stanovení byl 250 μ l a obsahoval 10–40 μ g extrakčního proteinu v závislosti na stanovovaném receptoru souběžně s 5 nM [3 H] all-trans retinovou kyselinou nebo 10 nM [3 H] 9-cis retinovou kyselinou a měnícími se koncentracemi soutěžícího ligandu při koncentracích, které byly v rozmezí od 0 - 10^{-5} M. Stanovení byla naformátována pro 96 jamkový mikrozkušovací systém. Inkubace byly prováděny při 4 °C dokud nebylo dosaženo rovnováhy. Nespecifická vazba byla definována jako vazba zachovaná za přítomnosti 1000 nM isomeru příslušné nezařazené retinové kyseliny. Na konci inkubační periody bylo přidáno 50 μ l 6,25 % hydroxyapatitu v příslušném promývacím pufru. Promývací pufr se skládal z 100 mM KCl, 10 mM Trisu a buď 5 mM CHAPS (RXR α , β , γ) nebo 0,5 % Tritonu X-100 (RAR α , β , γ). Směs byla rozmíchána a inkubována 10 minut při 4 °C, zcentrifugována a supernatant byl odstraněn. Hydroxyapatit byl promyt ještě třikrát příslušným promývacím pufrům. Komplex receptor-ligand byl adsorbován na hydroxyapatit. Množství komplexu receptor-ligand bylo stanoveno čítáním kapalně scintilace hydroxyapatitového peletu.

Po korekci na nespecifickou vazbu byly stanoveny hodnoty IC_{50} . Hodnota IC_{50} je definována jako koncentrace kompetujícího ligandu nutná pro snížení specifické vazby z 50 %. Hodnota IC_{50} byla stanovena graficky z dvojité logaritmického výnosu dat. Hodnoty K_d byly stanoveny užitím Cheng-Prussovy rovnice pro hodnoty IC_{50} , koncentraci značeného ligandu a K_d pro nezařazený ligand.

Výsledky stanovení vazby ligandu jsou vyjádřeny v hodnotách K_d . (Viz Cheng a kol. Biochemical Pharmacology sv. 22, str. 3099-3108, úmyslně začleněno tímto odkazem.)

Tabulka 3 ukazuje výsledky stanovení vazby ligandu pro jisté vzorové sloučeniny podle vynálezu.

Tabulka 3

Stanovení vazby ligandu

Sloučenina č.

 K_d (nanomolární)

	RAR α	RAR β	RAR γ	RXR α	RXR β	RXR γ
2	1.90	480.0	0.00	0.00	0.00	0.00
4	1.3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6	3.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10	24.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
12	14.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
14	52.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
16	51.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
18	16.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
20	57.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
22	15	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
24	7.5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
26	245.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
28	162.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
30	<3.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
32	2.30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
34	9.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
42	14.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
44	19.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
46	26.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
48	77.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
50	62.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
52	87.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
54	94.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
TTNPB¹	72		5	36		

0,00 indikuje hodnoty větší než 1000 nM (nanomolární).

¹ TTNPB je retinoid dobře známý v oblasti techniky (4-(E)-2-(5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethylnaftalen-2-yl)propen-1-yl)benzoová kyselina, která není RAR α selektivní.

Jak je možno vidět z předchozích dat, sloučeniny použité v souladu s vynálezem

se specificky nebo selektivně vážou na RAR_{α} retinoidní receptory. Bylo zjištěno ve shodě s vynálezem, že tento zvláštní typ selektivity umožňuje sloučeninám zachovat užitečné vlastnosti typu retinoidů, zatímco omezuje vedlejší účinky a toxicitu. Specifičtěji, níže jsou popsána jistá stanovení buněčných kultur in vitro, v nichž je demonstrována schopnost RAR_{α} specifických nebo selektivních sloučenin významně inhibovat růst rakovinných buněk.

Stanovení linií rakovinných buněk

Materiály a způsoby

Hormony

All-trans retinová kyselina (t-RA) (Sigma Chemicals Co., St. Louis, MO) byla skladována při -70°C . Před každým experimentem byla sloučenina rozpuštěna ve 100 % ethanolu na 1 mM a zředěna v kultivačním médiu bezprostředně před použitím. Všechny experimenty byly prováděny při tlumeném světle. Kontroly byly stanovovány za užití stejné koncentrace ethanolu jako bylo předesláno na experimentálních miskách a tato koncentrace rozpouštědla neměla žádný vliv při žádném stanovení.

Buňky a buněčná kultura

Buněčné linie, RPMI 8226, ME-180 a AML-193 byly získány od American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD). RPMI 8226 je klon lidských hematopoetických buněk získaný z periferní krve pacienta s mnohočetným myelomem. Buňky se podobají lymfoblastoidním buňkám jiných buněčných linií lidských lymfocytů a vylučují α lehké řetězce imunoglobulinu. RPMI-8226 buňky rostou v RPMI médiu (Gibco) doplněném 10 % fetálním hovězím sérem, glutaminem a antibiotiky. Buňky byly uchovávány jako suspenzní kultury rostlé při 37°C ve zvlhčené atmosféře 5 % CO_2 ve vzduchu. Buňky byly zředěny na koncentraci 1×10^5 /ml dvakrát týdně.

ME-180 je linie lidských buněk kožního karcinomu pocházející z hrdla. Tumor byl karcinomem velmi agresivních šupinatých buněk s nepravidelnými buněčnými shluky a s žádnou významnou keratinizací. Buňky ME-180 byly kultivovány a uchovávány v McCoyově 5a médiu (Gibco), doplněném 10% fetálním hovězím sérem, glutaminem a antibiotiky. Buňky byly uchovávány jako jednovrstvé kultury vyrostlé při 37°C ve zvlhčené atmosféře s 5% CO_2 ve vzduchu. Buňky byly zředěny na koncentraci 1×10^5

/ml dvakrát týdně.

AML-193 byl vytvořen z blastických buněk klasifikovaných jako M5 akutní monocytová leukémie. Růstový faktor, granulocytový kolonie stimulující faktor (GM-CSF) byl požadován pro vytvoření této buněčné linie a růstové faktory jsou nezbytné pro její nepřetržitou proliferaci v chemicky definovaném médiu. AML-193 buňky byly kultivovány a uchovávány v Iscovově modifikovaném Dulbeccově médiu doplněném 10 % fetálním hovězím sérem, glutaminem a antibiotiky s 5 µg/ml insulínu (Sigma Chemical Co.) a 2 ng/ml rh GM-CSF (R a D systémy). Buňky byly naředěny na koncentraci 3×10^5 /ml dvakrát týdně.

Inkorporace ^3H -thymidinu

Způsob používaný pro stanovení inkorporace radioaktivně značeného thymidinu byl převzat z postupu, který popsal Shrivastav a spol. RPMI-8226 buňky byly vysety do 96 jamkové mikrotitrační destičky (Costar) s kulatým dnem při hustotě 1000 buněk/jamku. Do odpovídajících jamek byly testované retinoidní sloučeniny přidávány ve výsledných koncentracích indikovaných pro konečný objem 150 µl/jamku. Destičky byly inkubovány 96 hodin při 37 °C ve zvlhčené atmosféře 5 % CO_2 ve vzduchu. Následně bylo 1 µCi [$5\text{-}^3\text{H}$]-thymidinu (Amersham, U.K., specifická aktivita 43 Ci/mmol) v 25 µl kultivačního média přidáno do každé jamky a buňky byly inkubovány dalších 6 hodin. Kultury byly dále zpracovány, jak je popsáno níže.

ME-180 buňky, sklizené trypsinizací byly vysety na 96 jamkovou mikrotitrační destičku s plochým dnem (Costar) při hustotě 2000 buněk/jamku. S kulturami bylo dále nakládáno, jak je popsáno výše pro RPMI 8226 s následujícími výjimkami. Po inkubaci s thymidinem byl supernatant pečlivě odstraněn, a buňky byly promyty 0,5 mM roztokem thymidinu ve fosfátem pufovaném fyziologickém roztoku. Na ME-180 buňky bylo krátce působeno 50 µl 2,5% trypsinu pro vypuzení buněk z destičky.

AML-193 buňky byly vysety na 96 jamkovou mikrotitrační destičku s kulatým dnem (Costar) při hustotě 1000 buněk/jamku. Do odpovídajících jamek byly přidávány testované retinoidní sloučeniny při konečných koncentracích uvedených pro 150 µl/jamku. Destičky byly inkubovány po 96 hodin při 37 °C ve zvlhčené atmosféře 5% CO_2 ve vzduchu. Následně bylo 1 µCi [$5\text{-}^3\text{H}$]-thymidinu (Amersham, U.K., specifická aktivita 43 Ci/mmol) v 25 µl kultivačního média přidáno do každé jamky a buňky byly

inkubovány dalších 6 hodin.

Buněčné linie byly zpracovány následovně: buněčná DNA byla vysrážena 10% trichloroctovou kyselinou na filtrační plachetku se skleněnými vlákny za užití mnohojamkového buněčného sklízeče SKATRON (Skatron Instruments, Sterling VA). Radioaktivita začleněná do DNA, jako přímé měření růstu buněk, byla změřena čítáním kapalně scintilace. Čísla zastupují průměrné rozpady za minutu začleněného thimidinu z trojích jamek $\pm$ SEM.

Graf na obrázku 1 přiložených výkresů ukazuje, že při výše popsaném stanovení RPMI 8226 buněčné (maligní myelomové) kultury, sloučeniny 4 a 12 (dvě ukázkové sloučeniny použité ve shodě s vynálezem) inhibovaly růst těchto maligních buněk, v podstatě stejně jako srovnávací sloučenina, all-trans retinová kyselina (ATRA). Graf na obrázku 1 také demonstruje, že zatímco v rozmezí nízkých koncentrací (10^{-12} až přibližně 10^{-9}) all-trans retinová kyselina (ATRA) vlastně usnadňuje růst těchto buněk, RAR $_{\alpha}$ selektivní sloučeniny 4 a 12 podle vynálezu nestimulují, ale spíše již při těchto nízkých koncentracích inhibují růst těchto maligních buněk.

Graf na obrázku 2 ukazuje, že při výše popsaném stanovení AML 193 (akutní monocytová leukémie) buněčné kultury, sloučeniny 22 a 42 podle vynálezu inhibovaly růst těchto maligních buněk. Dvě další sloučeniny, pro které jsou data také ukázána v tomto grafu, jsou označeny AGN 193090 a AGN 193459. (AGN číslo je libovolné označovací číslo používané společným nabyvatelem tohoto vynálezu.) Sloučeniny AGN 193090 a AGN 193459 nejsou RAR $_{\alpha}$ selektivní. Tyto sloučeniny, podle pořadí, jsou 4-[(8-kyano-5,6-dihydro-5,5-dimethylnaft-2-yl)ethinyl]benzoová kyselina a 4-[(5,6-dihydro-5,5-dimethylnaft-7(6H)-8-(1-2,2-dimethylpropyliden)naft-2-yl)ethinyl]benzoová kyselina, a jejich K_d hodnoty pro RAR $_{\alpha}$, RAR $_{\beta}$ a RAR $_{\gamma}$ receptory jsou 109, 34, 77 a 6, 2, 7, podle pořadí. Graf na obrázku 2 demonstruje, že RAR $_{\alpha}$ selektivní nebo specifické sloučeniny inhibují růst maligních buněk při nízkých koncentracích, kde všeobecné agonistické sloučeniny AGN 193090 a AGN 193459 neinhibují, ale při těchto nízkých koncentracích dokonce stimulují růst těchto buněk.

Obrázek 3 je další graf ukazující výsledky stanovení AML-193 buněčné kultury, kde byly testovány sloučeniny 4, 12 a 18 podle vynálezu, a all-trans retinová kyselina (ATRA). Data ukazují, že RAR $_{\alpha}$ selektivní sloučeniny snižují buněčnou proliferaci při nízkých koncentracích, zatímco ATRA při stejné nízké koncentraci spíše podporuje

buněčnou proliferaci.

V další linii stanovení je testován účinek retinoidních sloučenin proti buňkám získaným z pevných tumorů pacientů. Toto EDR stanovení je popsáno níže takto:

Biopsie čerstvě resektovaného pevného tumoru byly přijaty 24 hodin po chirurgickém zákroku. Druhy byly zpracovány pro stanovení po uchování části tumoru pro uložení do parafinu a histopatologické potvrzení životaschopnosti vzorku a tkáňovou diagnózu. Zbývající vzorek byl rozdělen na malé fragmenty za pomoci sterilních nůžek. Malé tkáňové fragmenty byly vystaveny působení kolagenázy a DNA-ázy po dobu 2 hodin za míchání CO₂ inkubátorem, aby došlo k uvolnění tumorových buněk z trámčiny vazivové tkáně. Výsledná buněčná suspenze byla promyta, a počty buněk byly stanoveny z cytospinového preparátu. Tumorové buňky byly rozsuspendovány na 40 000 buněk na ml v 0,3 % agaróze v RMPI 1640 doplněném 15% FCS, glutaminem a antibiotiky, a 0,5 ml bylo zaočkováno do každé jamky 24 jamkové destičky přes 0,5 ml vrstvu 0,5% agarózy. Tyto kultivační podmínky zabraňují přilnavosti buněk, a tudíž umožňují proliferaci jen transformovaným buňkám. Navíc, buňky rostou do trojrozměrných sféroidů, rekapitulující jejich morfologii in vivo.

Retinoidní léčiva byla přidávána 24 hodin po vyšetí, aby byla zabezpečena reekvilibrace vzorku na růstové prostředí po otřesech transportu a zpracování. Buňky rostly po dobu čtyř dnů za přítomnosti léčiva, s ³H-thymidinem (5 μCi/ml) přidaným 48 hodin před sklizením, aby bylo zabezpečeno náležité značení proliferujících buněk. Po zkapalnění agarosové buněčné suspenze při 90 °C, byly buňky sklizeny na filtrech ze skleněných vláken, které byly čítány v 5 ml scintilační kapaliny za užití kapalného scintilačního čítače Beckman 6500.

Výsledky jsou předloženy jako podíl kontrolní proliferace buněk nevystavených chemickému působení. Pokušné skupiny byly prováděny dvojmo nebo trojmo, zatímco kontroly byly prováděny čtyřnásobně.

Graf na obrázku 4 ukazuje vliv sloučeniny 2 na vaječnickové tumory získané ze 4 pacientek, a demonstruje, že sloučeniny inhibují proliferaci těchto tumorových buněk koncentračně závislým způsobem.

Kvalifikovaný odborník vyrozumí, že schopnost RAR_α selektivních sloučenin významně inhibovat růst maligních buněk ve výše popsaných stanoveních je známkou, že tyto sloučeniny mohou být podávány s prospěšným účinkem na savce nesoucí tumor (včetně lidí) pro léčbu tumorů, zvláště akutní monocytové leukémie, krčního

karcinomu, myelomu, karcinomů vaječníků a karcinomů hlavy a krku.

Bylo také zjištěno podle vynálezu, že proliferace buněk pigmentového epitelu sítnice je inhibována RAR_{α} selektivními sloučeninami. Jakožto prostředí je významné, že po odloučení sítnice se sítnicový pigmentový epitel (RPE) stává dediferencovaným, proliferuje a putuje do podsítnicového prostoru (Campochiaro a spol., Invest. Ophthal & Vis. Sci. 32:65-72 (1991)). Takové procesy mají tudíž dopad na úspěch procedury znovupřipojení sítnice. RAR agonisté jako například all-trans retinová kyselina (ATRA) jeví antiproliferativní účinek na růstovou rychlost primárních lidských RPE kultur (Campochiaro a spol., tamtéž) a ukázalo se, že snižují výskyt odloučení sítnice po chirurgickém zákroku znovupřipojení sítnice při studiu člověka (Fekrat a spol., Ophthalmology 102:412-418 (1994)).

Graf na obrázku 5 ukazuje koncentračně závislý inhibiční efekt all-trans retinové kyseliny (ATRA) a sloučeniny 42 na proliferaci RPE v postupu stanovení, který je popsán níže.

Analýza primárních RPE kultur

Primární kultury lidského sítnicového pigmentového epitelu (RPE) byly získány z očí, jak bylo popsáno dříve, (Campochiaro a spol., Invest. Ophthal & Vis. Sci. 32:65-72 (1991)). 5×10^4 buněk bylo vyseto do 16-mm jamek 24-jamkových vícejamkových destiček v Dulbeccově modifikovaném Eagleově médiu (DMEM Gibco) obsahujícím 10% fetální hovězí sérum (FBS). Buňky byly podrobeny působení ethanolu samotného (kontrola), ATRA (10^{-10} až 10^{-6} M) v ethanolu, a sloučeniny 42 (10^{-10} až 10^{-6} M) v ethanolu. Buňky byly vyživovány čerstvým médiem obsahujícím odpovídající koncentrace těchto sloučenin každé dva dny po dobu celkově šestidenního působení. Buňky byly odstraněny z destiček prostřednictvím působení trypsinu a počet buněk byl spočítán elektronickým počítadlem buněk. Jak je vidět na obrázku 5, jak působení ATRA tak sloučeniny 42 na primární RPE buňky vedlo k dávkově závislému poklesu v proliferaci RPE buněk.

Vliv místního podávání RAR_{α} selektivních retinoidních sloučenin podle vynálezu pokusným bezsrstým myším byl také vyhodnocen stanovením topického kožního podráždění, za užití RAR_{α} selektivní sloučeniny 18 podle vynálezu. Obzvláště bylo kožní podráždění měřeno na semikvantitativní škále denním subjektivním zhodnocením

odlupování kůže a oděrek. Jednotlivé číslo, faktor topického podráždění, shrnuje podráždění kůže vyvolané u živočicha během chodu experimentu. Faktor topického podráždění se vypočte následovně. Faktor topického podráždění je algebraický součet sdruženého faktoru odlupování a sdruženého faktoru oděrek. Sdružené faktory jsou v rozmezí od 0-9 a 0-8 pro odlupování a oděrky, podle pořadí, a berou v úvahu maximální závažnost, čas nástupu, a průměrnou závažnost pozorovaných odlupování a oděrek.

Závažnost odlupování je hodnocena na 5-bodové stupnici a závažnost oděrek je hodnocena na 4-bodové stupnici, s vyššími hodnotami odrážejícími vyšší závažnost. Složka maximální závažnosti sdružených faktorů by byla hodnota nejvyšší denní závažnosti udělená danému živočichovi v průběhu chodu pozorování.

Pro složku časového nástupu sdruženého faktoru, je faktor pohybující se v rozmezí 0 až 4 udán následovně:

Čas do objevení odlupování nebo oděrek závažnosti 2 nebo vyšší (dny)	Faktor času nástupu
8	0
6-7	1
5	2
3-4	3
1-2	4

Složka průměrné závažnosti sdruženého faktoru je součet denních faktorů odlupování nebo oděrek dělený počtem dnů pozorování. První den působení není započítáván, jelikož léčebná sloučenina neměla příležitost mít účinek v čase prvního vystavení účinkům.

K vypočtení sdružených faktorů odlupování a oděrek, jsou sečteny faktory průměrné závažnosti a času nástupu a děleny 2. Výsledek je přidán k faktoru maximální závažnosti. Sdružené faktory odlupování a oděrek jsou poté sečteny, čímž dostaneme celkový faktor topického podráždění. Každý živočich obdrží faktor topického podráždění, a hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr $\pm$ SD jednotlivých faktorů skupiny živočichů. Hodnoty jsou zaokrouhleny na nejbližší celé číslo.

Takto, samice bezsrstých myší [Crl:SKH1-hrBR] (8-12 týdnů staré, n=4) byly podrobeny místně po dobu 5 po sobě následujících dnů působení sloučeniny 18 v dávkách vyjádřených v nanomol/25 g, což je zvláště dáno v tabulce 4. Působení byla aplikována na hřbetní kůži v celkovém objemu 4 ml/kg (-0,1 ml). Myši byly pozorovány denně a počítány faktory pro odlupování a oděry až do 3 dnů po posledním působení, t.j. 8.dne, včetně.

Tabulka 4

Osmidenní topické stanovení sloučeniny 18 u bezsrstých myší

Dávka	Úmrtnost (ze čtyř)	Tělesná hmotnost % přírůstku nebo (ztráty)	Faktor odlupování	Faktor oděrek	Sdružený faktor
100	0	8 ± 7	0	1	1 ± 1
1000	0	4 ± 1	1	1	2 ± 0

TTNPB

0,9	0	5 ± 2	5	3	8 ± 2
2,7	0	(4 ± 3)	6	3	9 ± 2
9	0	(11 ± 3)	7	5	11 ± 2

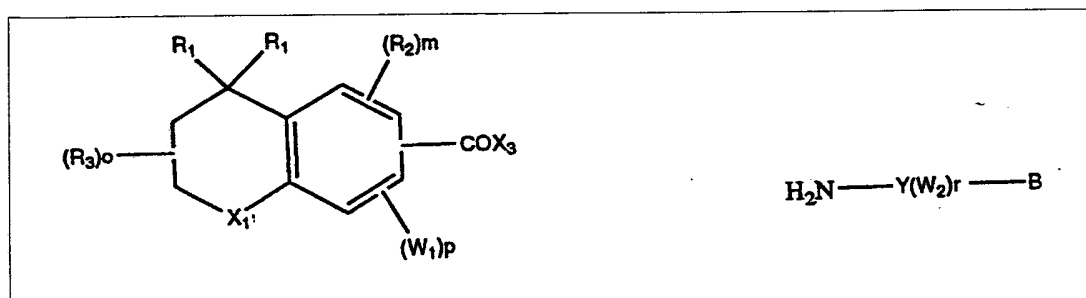
Tato data ukazují, že RAR_{α} selektivní sloučenina nezpůsobuje zdánlivě žádné kožní podráždění a žádný úbytek hmotnosti až do 1000 nmol/25 g v testovém modelu. Pro srovnání by mělo být zmíněno, že retinoidní sloučenina dobře známá v oblasti techniky 4-(E)-2-(5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethylnaftalen-2-yl)propen-1-yl) benzoová kyselina (TTNPB), která není RAR_{α} selektivní, způsobuje vážnější kožní podráždění při výše zmíněném testu, jak je ukázáno v předcházející tabulce.

Další důležitá výhoda podávání RAR_{α} selektivních retinoidních sloučenin savci spočívá ve významně snížené teratogenní síle RAR_{α} selektivních sloučenin ve

srovnání s mnoha jinými retinoidy, jak bylo změřeno biostanovením potlačení chondrogenese. Toto stanovení se provádí následovně:

Vysokohustotní plošky kultur mesenchymových buněk končetinových základů jsou používány ke srovnání schopnosti různých koncentrací testovaných léčiv potlačit chondrogenní diferenciaci jako biostanovení. Předkončetinové základy myších embryí 12. den březosti (54 ± 2 somity) jsou disociovány v roztoku trypsin-EDTA, a výsledná suspenze jednotlivých buněk je vyseta jako 20- μ l plošky (200 000 buněk/plošku) na plastické kultivační misky. Retinoid v koncentracích od 0,3 ng/ml do 3 μ g/ml (1 nM-10 μ M) je přidáván do kultivačního média (Eagleovo MEM + 10% fetální hovězí sérum, GIBCO) 24 hodin po počátečním vysetí. Kontrolní kultury přijaly jen vehikulum (ethanol, koncentrace $\leq 1\%$ objemu); retinová kyselina je používána jako pozitivní kontrola v další sadě kultur.

Kultivace jsou ukončeny 96 hodin po vysetí, v kterémžto čase je odstraněno médium a buňky jsou fixovány 1 hodinu v 10% formalínu obsahujícím 0,5% chlorid cetylpyridinia. Kultury jsou propláchnuty v kyselině octové a barveny po dobu 1 hodiny v 0,5% roztoku ftalocyaninové modři při pH 1,0, rozlišeny v 3% kyselině octové, a poté dehydrovány v ethanolu a obodovány na chondrogenesi pod mikroskopem. Nepřítomnost nebo snížení počtu chrupavčitých uzlíků v obarvených kulturách ve srovnání s kontrolními kulturami jsou brány jako míra potlačení chondrogenese. Počet chrupavčitých uzlíků obarvených v celé plošce, průměrný počet uzlíků, a směrodatné odchylky jsou vypočteny pro čtyři replikativní kultury na jedno zpracování. Střední koncentrace způsobující 50% inhibici chondrogenese ve srovnání s kontrolami (IC_{50}) je vypočtena proložení logaritmické křivky dávkově závislými daty. Hodnoty IC_{50} jsou vyjádřeny v jednotkách nanogramy na mililitr (ng/ml). Hodnota IC_{50} vyšší koncentrace v tomto stanovení značí nižší teratogenitu. Tabulka 5 uvádí výsledky získané v tomto stanovení pro sloučeniny 10, 18, a 42 podle vynálezu, stejně jako pro srovnání s all-trans retinovou kyselinou (ATRA) a 4-(E)-2-(5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethylnaftalen-2-yl)propen-1-yl)benzoovou kyselinou (TTNPB).



Tabulka 5

Sloučenina	IC ₅₀ (ng/ml)
10	250
18	220
42	65
ATRA	55
TTNPB	0,01

Jak je možno vidět, použité sloučeniny podle vynálezu jsou méně teratogenní než all-trans retinová kyselina a významně (o řádovou hodnotu 10^4) méně teratogenní než sloučenina dřívějšího stavu techniky TTNPB.

Hmotnostní úbytek nebo přírůstek, který pokusná zvířata prodělala po podání retinoidních sloučenin, je jiným testem toxicity léčiva, s významným hmotnostním úbytkem při relativně nízkých dávkách indikujícím významný toxický vedlejší účinek retinoidu. V jednom experimentu byla skupina 5 krys podrobena působení měnících se dávek (podávaných v kukuřičném oleji) testovaného retinoidu po dobu 3 dní. Krysy byly utraceny 24 hodin po poslední dávce. Graf na obrázku 6 ukazuje průměrnou hmotnost každé skupiny krys podrobených působení denní dávky 10, 30, a 90 $\mu\text{mol/kg/den}$ sloučeniny 42, stejně jako průměrnou hmotnost skupiny kontrolních krys, kterým nebyl podáván retinoid. Jak je možno vidět, RAR $_{\alpha}$ selektivní sloučenina 42 nezpůsobuje vlastně žádný hmotnostní úbytek ve srovnání s kontrolou s výjimkou velmi vysoké dávky (90 $\mu\text{mol/kg/den}$). Graf na obrázku 7 ukazuje hmotnost krys čtvrtý den (24 hodin po posledním podání retinoidu) v podobném testu s měnícími se dávkami sloučeniny 18, s nulovou dávkou indikující kontrolu. Jak je možno vidět, tento RAR $_{\alpha}$ selektivní retinoid nezpůsobuje vlastně žádný hmotnostní úbytek, dokonce ani při vysoké dávce 90 $\mu\text{mol/kg/den}$. Je pozoruhodné, že v podobných testech TTNPB, která se váže ke

všem třem RAR receptorovým podtypům (viz tabulka 3), způsobuje velmi významný hmotnostní úbytek. V tomto experimentu zahrnujícím krysy podrobené působení sloučeniny 42, nebyla pozorována významná mukokutánní toxicita.

V jiném experimentu byly tři týdny starým samcům morčat Hartleyových intraperitoneálně implantovány osmotické pumpy obsahující 20 % DMSO / 80 polyethylenglykol (vehikulum) nebo sloučeninu 42 v koncentracích 4,4; 13,3 nebo 40 mg/ml ve vehikulu. Na základě počátečních tělesných hmotností a známé rychlosti pumpování byly odhadnuty přibližné dávky sloučeniny 42 - 0, 2, 6, a 18 mg/kg/den. Tělesné hmotnosti a klinická pozorování byly zaznamenávány při nejmenším každý druhý den po dobu 14 dní po implantaci. Morčata byla po 14 dnech utracena a pumpy byly zkoumány z hlediska možného poškození. Graf na obrázku 8 ukazuje hmotnost živočichů zahrnutých v tomto experimentu v průběhu 15 dnů. Jak je možno vidět z grafu, nižší a střední dávky RAR_{α} selektivní retinoidní sloučeniny (sloučenina 42) nezpůsobovaly žádný nebo jen statisticky nevýznamný pokles hmotnostního přírůstku vzhledem ke kontrolním zvířatům. Významný pokles hmotnostního přírůstku byl pozorován jen při vysoké dávce (18 mg/kg/den) sloučeniny 42. Co je důležité, při tomto experimentu nebyly pozorovány žádné známky mukokutánní toxicity při jakékoli dávce sloučeniny 42. Předchozí, zjevně snížená mukokutánní toxicita pozorovaná byla -li zvířata podrobena působení RAR_{α} selektivních sloučenin podle vynálezu, je významnou výhodou, protože mukokutánní toxicita je hlavní a nejmrzutější vedlejší účinek či toxicita retinoidů u lidských pacientů.

Syntetické způsoby pro přípravu výhodných příkladů RAR_{α} selektivních sloučenin podle vynálezu

Obecná struktura sloučenin, které jsou s výhodou používány ve způsobech léčby podle vynálezu jsou ukázány výše ve vzorci 1a vzorci 2. Tyto sloučeniny mohou být vyrobeny zde ilustrovanými syntetickými chemickými cestami. Syntetický chemik bez váhání ocení, že zde vyložené podmínky jsou specifická provedení, která mohou být zevšeobecněna na kteroukoli a všechny sloučeniny vyznačené těmito vzorci.

Všeobecně vzato, způsob přípravy sloučenin s výhodou používaných v těchto způsobech podle vynálezu ve shodě se vzorcem 1 zahrnuje tvorbu amidu reakcí sloučeniny o obecném vzorci 6 se sloučeninou o obecném vzorci 7, nebo reakcí sloučeniny o obecném vzorci 6a se sloučeninou o obecném vzorci 7a. Podobně,

způsob přípravy sloučenin ve shodě se vzorcem 2 zahrnuje tvorbu amidu reakcí sloučeniny o obecném vzorci 8 se sloučeninou o obecném vzorci 7, nebo reakcí sloučeniny o obecném vzorci 8a se sloučeninou o obecném vzorci 7a.

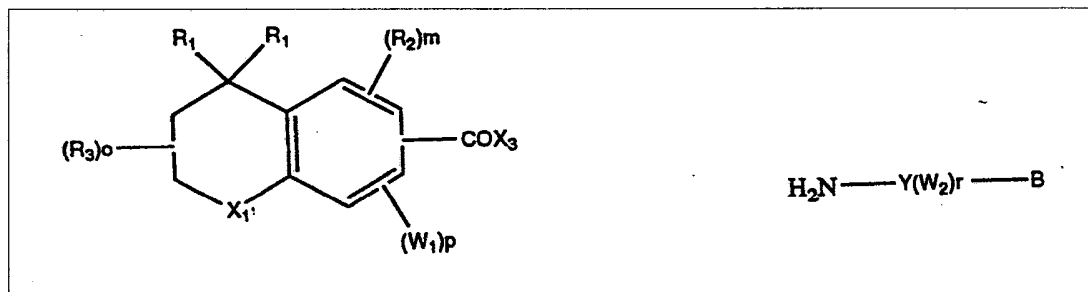
Sloučenina o vzorci 6 je kyselina nebo "aktivovaná forma" karboxylové kyseliny navázaná k aromatické části tetrahydronaftalenového, ($X_1 = [C(R_1)_2]_n$ a n je 1), dihydroindenového ($[C(R_1)_2]_n$ kde n je 0) nebo chromanového (X_1 je 0) jádra. Karboxylová kyselina nebo její "aktivovaná forma" je navázána do polohy 2 nebo 3 tetrahydronaftalenu, a do polohy 6 nebo 7 chromanových zbytků. U sloučenin podle vynálezu s výhodou používaných je navázání do polohy 2 tetrahydronaftalenu a do polohy 6 chromanu.

Termín "aktivovaná forma" karboxylové kyseliny by měl být chápán v tomto ohledu jako takový derivát karboxylové kyseliny, který je schopný tvořit amid, reaguje -li s primárním amidem o vzorci 7. V případě "opačných amidů" je aktivovaná forma karboxylové kyseliny derivát (vzorec 7a), který je schopný tvořit amid, reaguje -li s primárním aminem o vzorci 6a. Tento, všeobecně vzato, označuje takové deriváty karboxylové kyseliny, které jsou běžně známy a užívány v oblasti techniky k tvorbě amidových vazeb s aminem. Příklady vhodných forem nebo derivátů pro tento účel jsou chloridy kyselin, bromidy kyselin, a estery karboxylové kyseliny, zvláště aktivované estery, kde alkoholový zbytek esteru tvoří dobře odstupující skupinu. V současnosti nejvýhodnější činidla podle vzorce 6 (nebo vzorce 7a) jsou chloridy kyselin (X_3 je Cl). Chloridy kyselin o vzorci 6 (nebo o vzorci 7a) mohou být také připraveny tradičními metodami z odpovídajících esterů (X_3 je například ethyl) hydrolýzou a působením thionylchloridem (SO_2Cl). Chloridy kyselin o vzorci 6 (nebo o vzorci 7a) mohou být také připraveny přímým podrobením karboxylových kyselin působení thionylchloridem, kde karboxylová kyselina, spíše než její ester, je dostupná komerčně nebo známým syntetickým postupem. Chloridy kyselin o vzorci 6 (nebo o vzorci 7a) typicky reagují s aminem o vzorci 7 (nebo o vzorci 6a) v inertním rozpouštědle, jako například v dichlormethanu, za přítomnosti akceptoru kyselin, jako například pyridinu.

Karboxylové kyseliny samotné ve shodě se vzorcem 6 (nebo vzorcem 7a) jsou také vhodné pro tvorbu amidu, jestliže reagují s aminem, katalyzátorem (4-dimethylaminopyridin) za přítomnosti dehydratujícího činidla, jako například dicyklohexylkarbodiimidu (DCC) nebo výhodněji 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimid hydrochloridu (EDC).

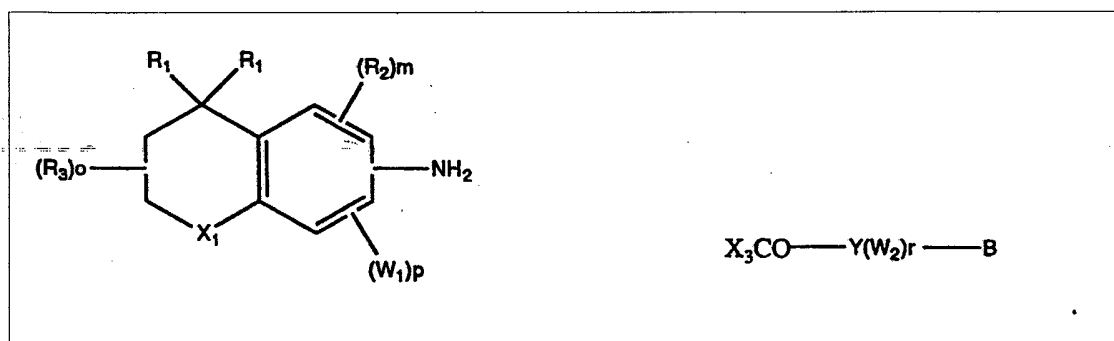
Karboxylové kyseliny nebo odpovídající estery o vzorci 6 jsou, všeobecně vzato, připraveny, jak je popsáno v chemické vědecké nebo patentové literatuře a literární postupy pro jejich přípravu mohou být modifikovány, jestliže je to nezbytné, takovými chemickými reakcemi nebo postupy, které jsou samy o sobě známy v oblasti techniky. Například, všeobecně vzato, 2,2, 4,4 a/nebo 2,2,4,4-substituovaný chroman 6-karboxylových a chroman 7-karboxylových kyselin jsou dostupné ve shodě s naukou patentů Spojených států č. 5,006,550, 5,314,159, 5,324,744, a 5,348,975, jejichž specifikace jsou přímo začleněny zde tímto odkazem. 5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-karboxylové kyseliny jsou, všeobecně vzato, dostupné ve shodě s naukou patentu Spojených států č. 5,130,335, jehož specifikace je přímo začleněna zde tímto odkazem.

Předcházející obecný popis reakcí, které vedou k tvorbě amidů o vzorci 1 je také, všeobecně vzato, použitelný pro tvorbu amidů o vzorci 2. Reagenty, které jsou používány ve shodě s obecnými principy pro tvorbu amidových sloučenin o vzorci 2 uvedenými výše jsou: aktivované formy karboxylových sloučenin ukázané ve vzorci 8 a ve vzorci 7a, a aminy o vzorci 7 a o vzorci 8a.



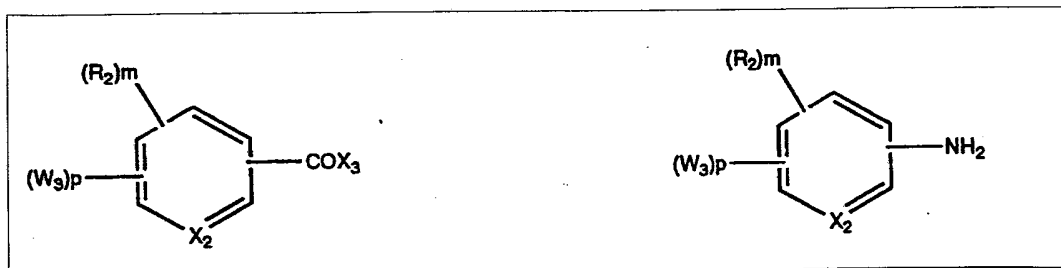
Vzorec 6

Vzorec 7



Vzorec 6a

Vzorec 7a

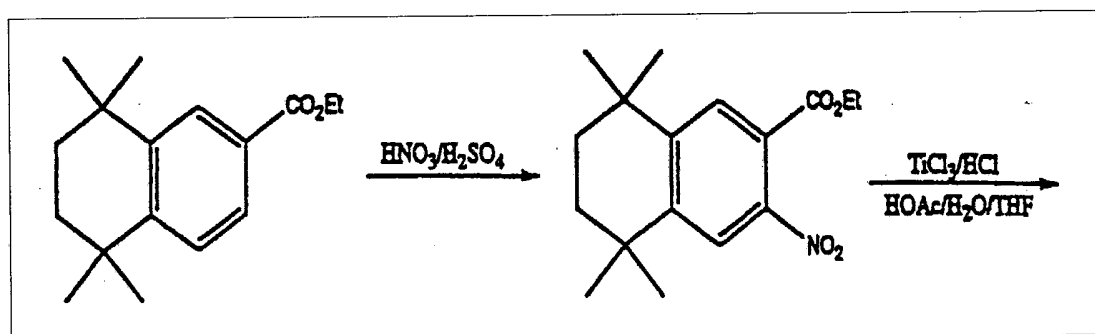


Vzorec 8

Vzorec 8a

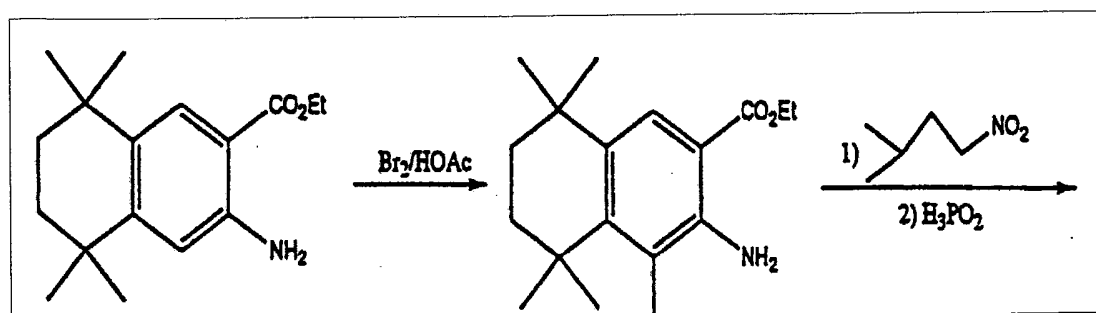
Karboxylové kyseliny nebo jim odpovídající estery o vzorci 8 jsou, všeobecně vzato, připraveny, jak je popsáno v chemické vědecké nebo patentové literatuře, a literární postupy pro jejich přípravu mohou být modifikovány, jestliže je to nezbytné, takovými chemickými reakcemi nebo postupy, které jsou samy o sobě známy v oblasti techniky.

Reakční schéma 1



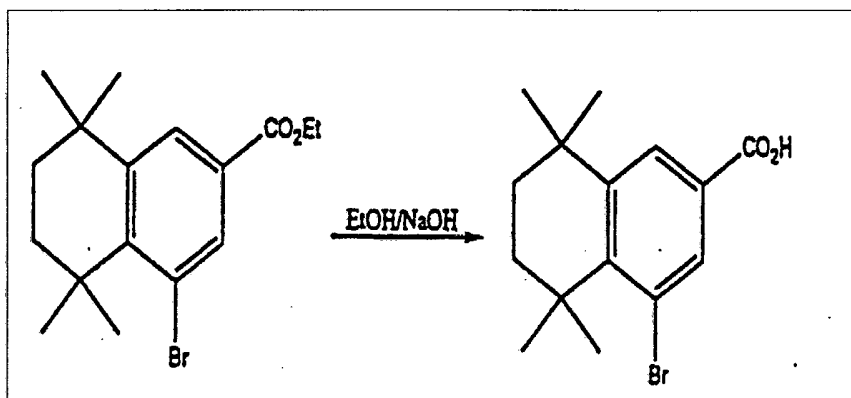
Sloučenina A

Sloučenina B



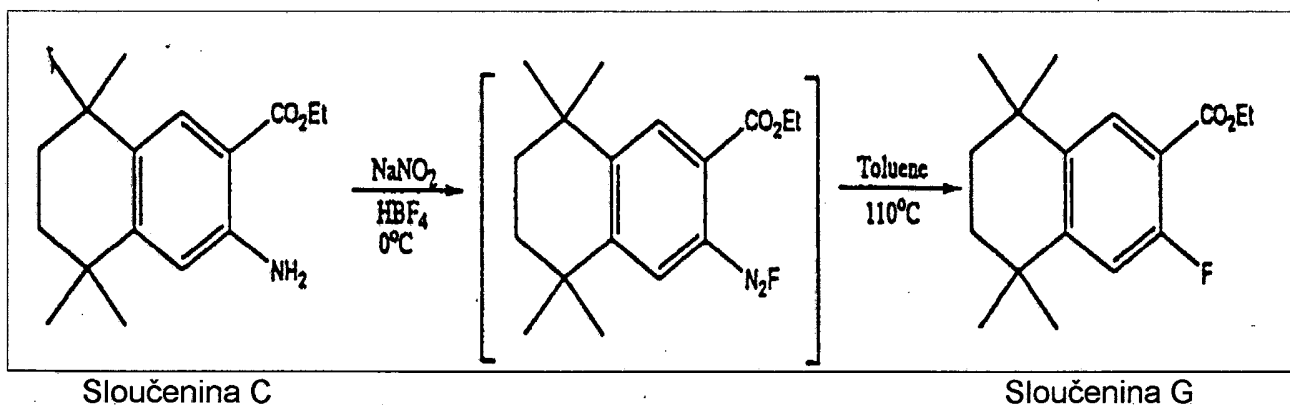
Sloučenina C

Sloučenina D

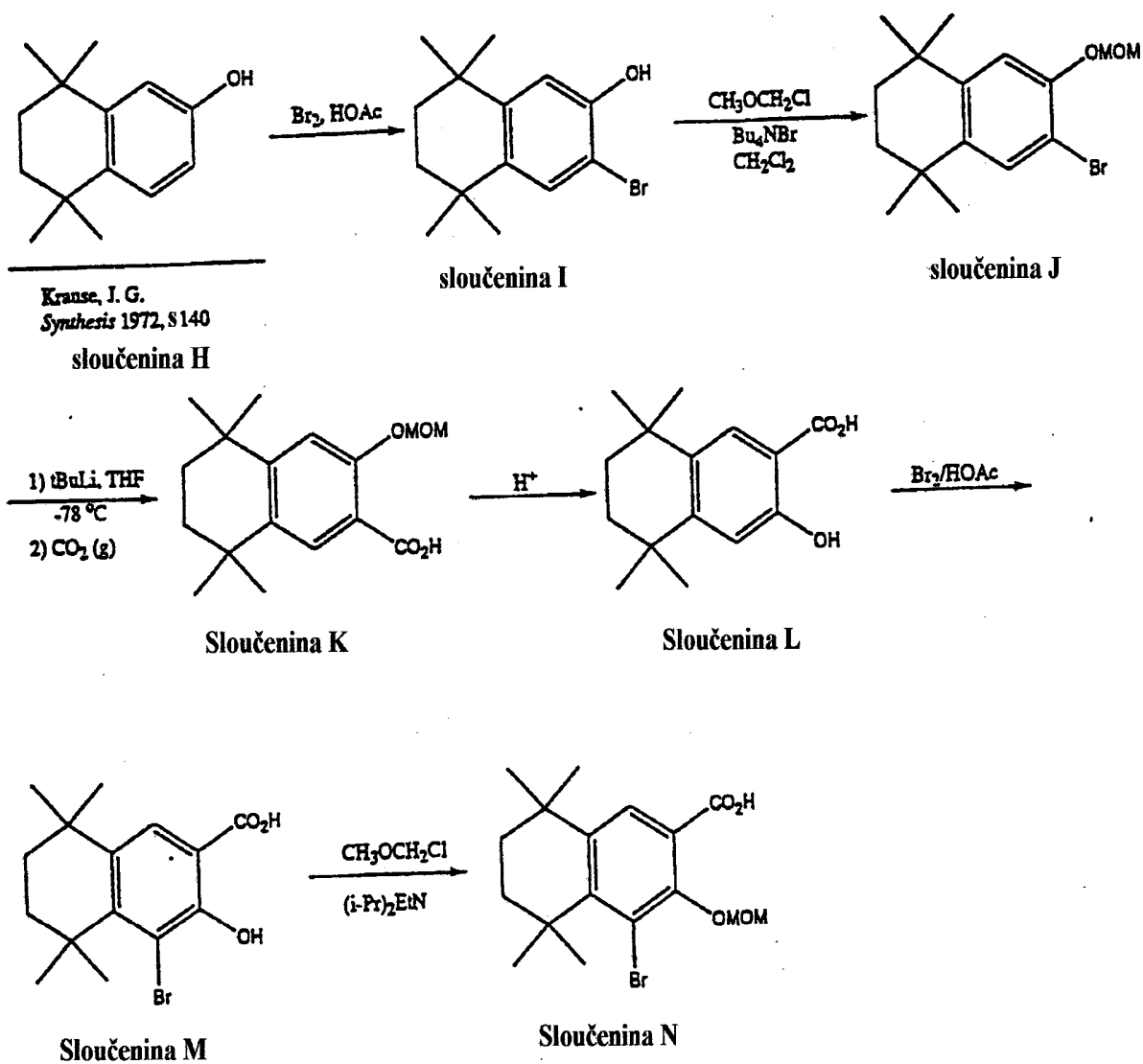


Sloučenina E

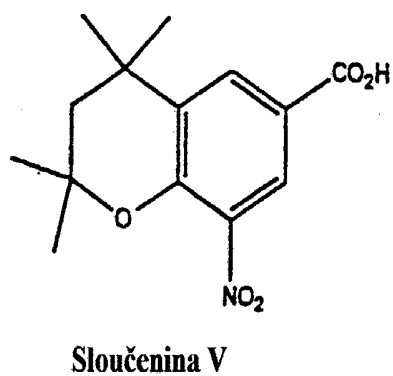
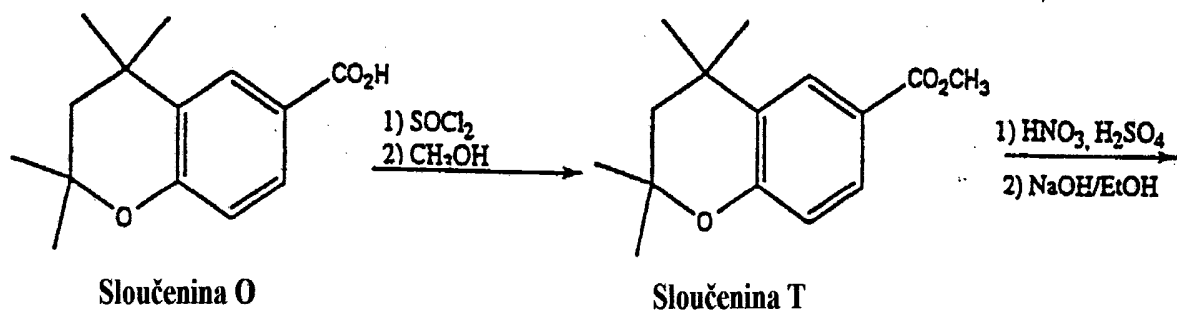
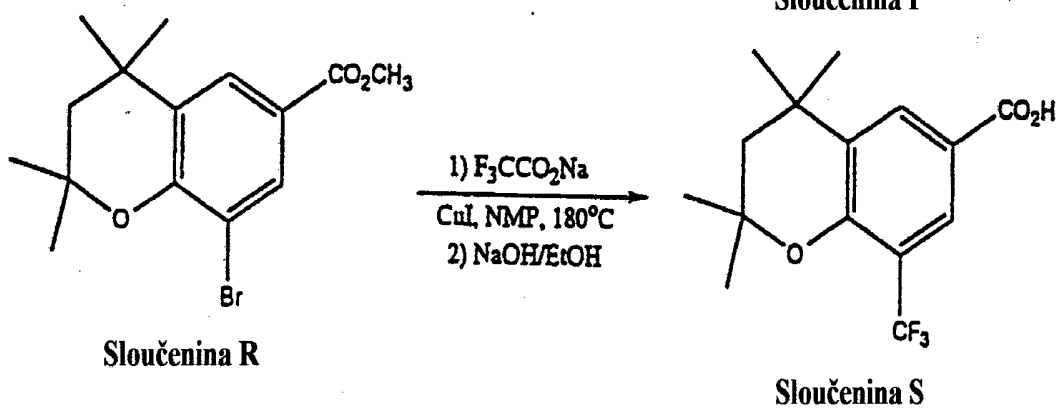
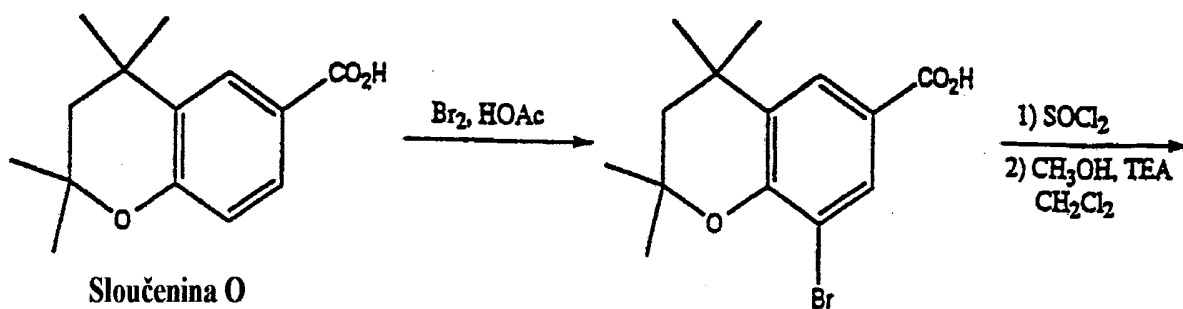
Sloučenina F



Reakční schéma 2



Reakční schéma 2 (pokračování)

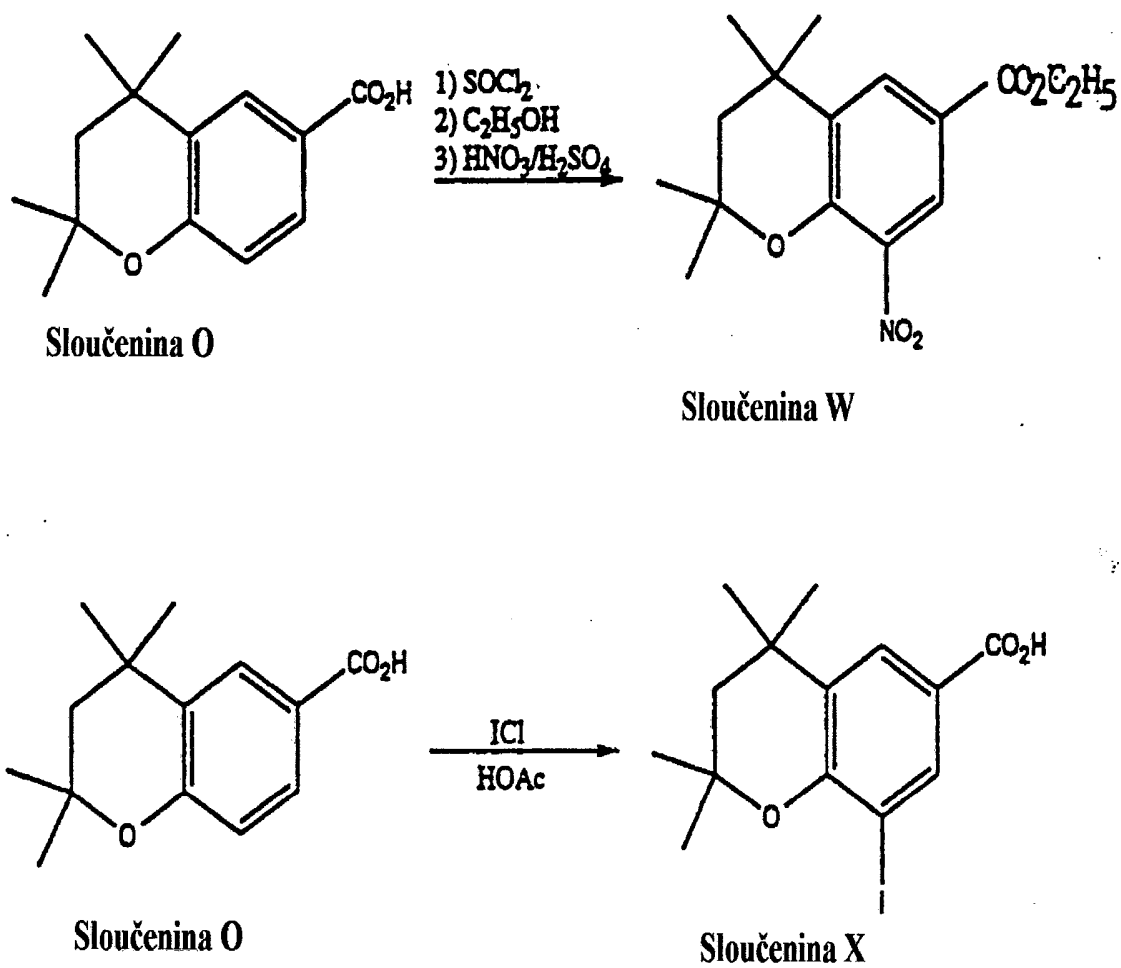


Reakční schémata 1 a 2 poskytují příklady pro syntézu derivátů 5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethylnaftalen-2-karboxylové kyseliny, které jsou v širší rozsahu

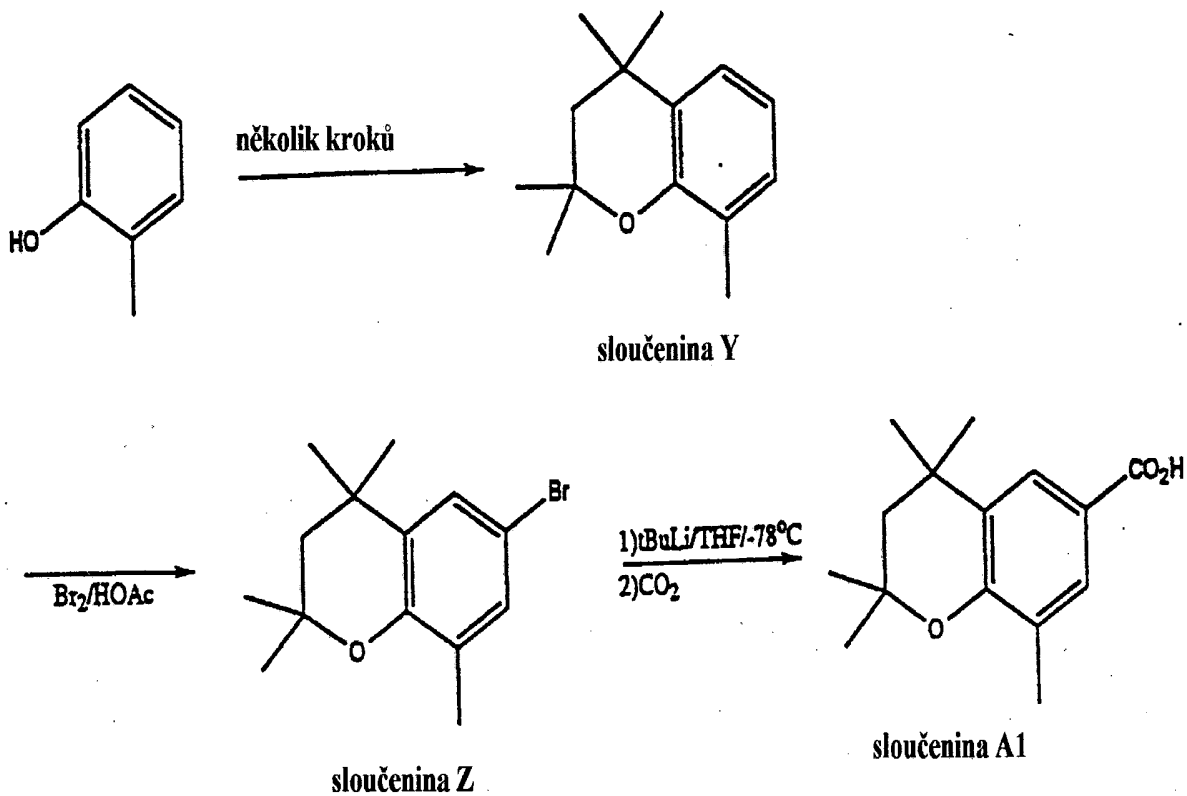
vzorci 6 a které reagují s aminem o vzorci 7 za poskytnutí (5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethylnaftalen-2-yl)karbamoylových derivátů v rozsahu vzorce 1. Tudíž, jak je ukázáno v reakčním schématu 1, ethyl-5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethylnaftalen-2-karboxylát (sloučenina A) je nitrován za poskytnutí odpovídající 3-nitro sloučeniny (sloučenina B). Nitro skupina sloučeniny B je redukována za poskytnutí odpovídající 3-amino skupiny (sloučenina C), která je popsána v publikaci Lehmann a spol. Cancer Research, 1991, 51, 4804. Ethyl-5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl-3-aminonafalen-2-karboxylát (sloučenina C) je bromován za získání odpovídajícího 4-bromo derivátu (sloučenina D), který je konvertován působením isoamylnitritu a redukcí H_3PO_2 na ethyl-5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl-4-bromnaftalen-2-karboxylát (sloučenina E). Zmýdlnění sloučeniny E poskytuje 5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl-4-bromnaftalen-2-karboxylovou kyselinu (sloučenina F), která je používána jako reagent podle vzorce 6. Ethyl-5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl-3-aminonafalen-2-karboxylát (sloučenina C) je také diazotována a ponechána reagovat s HBF_4 za poskytnutí 5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl-3-fluornaftalen-karboxylátu (sloučenina G), který slouží jak sama o sobě, tak po zmýdlnění jako činidlo podle vzorce 6.

5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl-2-hydroxynaftalen (sloučenina H, dostupná podle publikace Krause Synthesis 1972 140), je výchozí látka v příkladu ukázaném v reakčním schématu 2. Sloučenina H je bromována za poskytnutí odpovídající 3-bromo sloučeniny (sloučenina I), která je poté chráněna na hydroxylové skupině reakcí s methoxymethyl chloridem (MOMCl) za poskytnutí 5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl-3-methoxymethoxy-2-bromnaftalenu (sloučenina J). Sloučenina J se ponechá reagovat s terc.buthyllithiem a oxidem uhličitým za poskytnutí odpovídající karboxylové kyseliny (sloučenina K), ze které je chránicí methoxymethylová skupina odstraněna kyselinou za vzniku 5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl-2-hydroxynaftalen-3-karboxylové kyseliny (sloučenina L). Sloučenina L je bromována za poskytnutí 5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl-1-brom-2-hydroxynaftalen-3-karboxylové kyseliny (sloučenina M). Sloučenina L a sloučenina M slouží jako reagenty podle vzorce 6. Hydroxy skupina sloučeniny M je chráněna pro další přeměny methoxymethyl chloridem (MOMCl) za přítomnosti zásady, poskytující 5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl-1-brom-2-methoxymethoxynaftalen-3-karboxylovou kyselinu (sloučenina N).

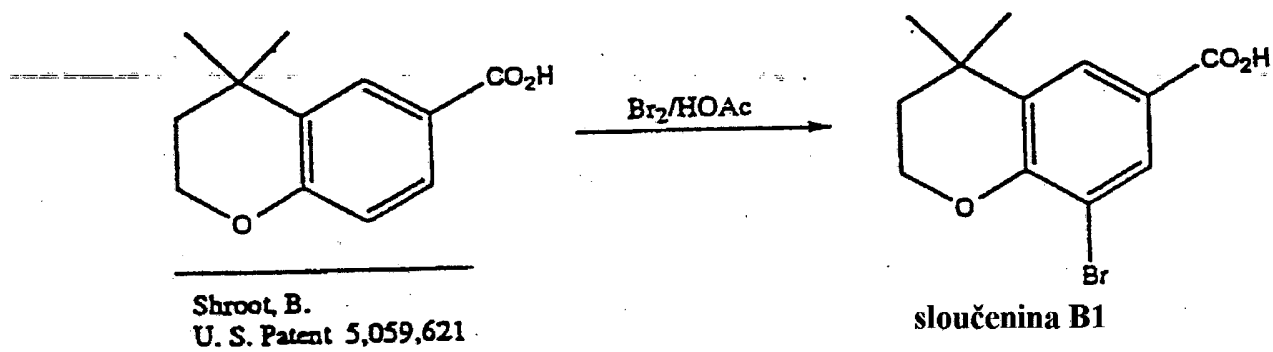
Reakční schéma 3



Reakční schéma 4



Reakční schéma 5



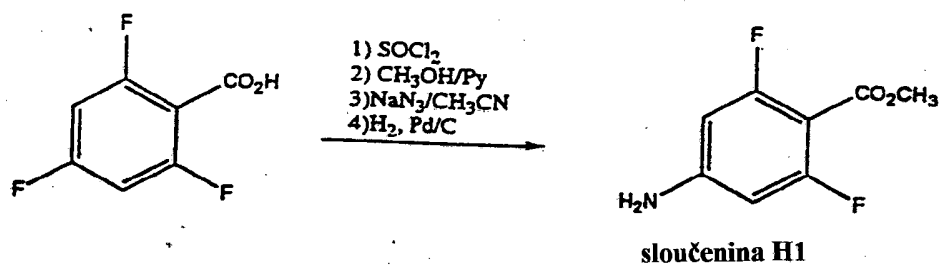
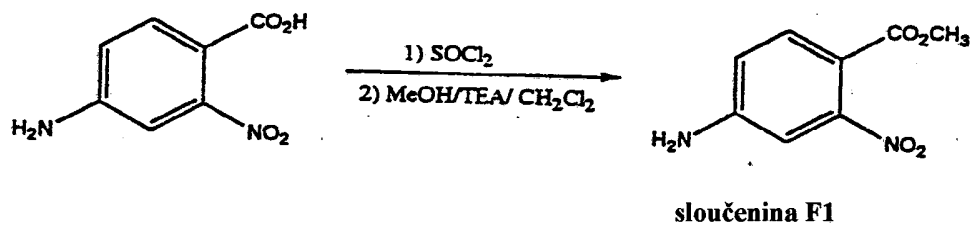
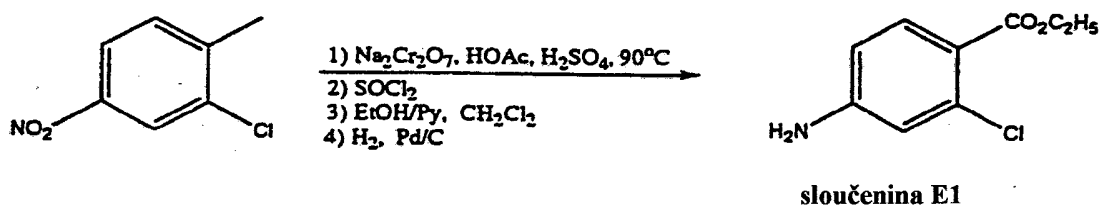
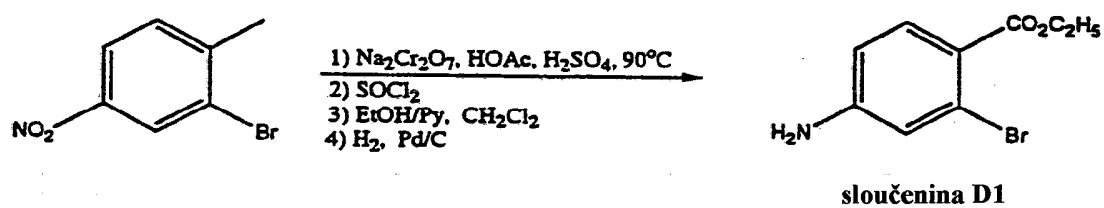
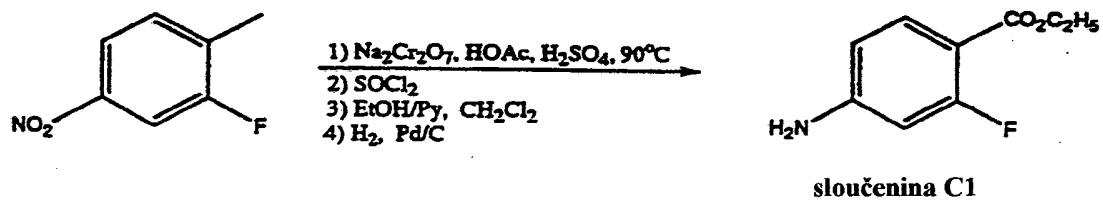
Reakční schémata 3, 4 a 5 poskytují příklady pro syntézu derivátů 2,2,4,4 a 4,4-substituovaných chroman-6-karboxylových kyselin, které mohou sloužit jako reagenty podle vzorce 6 pro syntézu karbamoylových (amidových) sloučenin v rozsahu působnosti vynálezu. Tudiž, nyní s odvoláním na reakční schéma 3, 2,2,4,4-tetramethylchroman-6-karboxylová kyselina (sloučenina O, viz U.S. patent č. 5,006,550) je bromována bromem v kyselině octové za poskytnutí odpovídajícího 8-bromo derivátu (sloučenina P). Sloučenina P je převedena na chlorid kyseliny působením thionylchloridu, a výsledný chlorid kyseliny je vhodný pro reakci s aminem o vzorci 3 poskytuje tak karbamoylové (amidové) sloučeniny podle vynálezu. Chlorid kyseliny je také ponechán reagovat s alkoholem (methanolem) v přítomnosti zásady za poskytnutí odpovídajícího esteru, methyl-2,2,4,4-tetramethyl-8-bromchroman-6-karboxylátu (sloučenina R). Funkční skupina bromu sloučeniny R je převedena na funkční skupinu trifluormethyl působením trifluoracetátu sodného v přítomnosti katalyzátoru jodidu měďného a 1-methyl-2-pyrrolidinonu (NMP), a karboxylátová esterová skupina je zmýdlněna za poskytnutí 2,2,4,4-tetramethyl-8-trifluormethylchroman-6-karboxylové kyseliny (sloučenina S). Sloučenina S je v rámci vzorce 6 a je vhodná sama o sobě nebo jako chlorid kyseliny nebo v jiné "aktivované" formě k reakci s aminy o vzorci 7 za poskytnutí karbamoylových (amidových) sloučenin podle vynálezu. 2,2,4,4-tetramethylchroman-6-karboxylová kyselina (sloučenina O) je také převedena na methylester (sloučenina T), který je poté nitrován za poskytnutí 2,2,4,4-tetramethyl-8-nitrochroman-6-karboxylové kyseliny (sloučenina V), dalšího reagentu v rámci vzorce 6. Navíc, v příkladu dále ukázaném v reakčním schématu 3, 2,2,4,4-tetramethylchroman-6-karboxylová kyselina (sloučenina O) je převedena na ethylester a poté nitrována za poskytnutí ethyl-2,2,4,4-tetramethyl-8-nitrochroman-6-karboxylátu (sloučenina W). Dále, sloučenina O reaguje s ICl za poskytnutí 2,2,4,4-tetramethyl-8-jodchroman-6-karboxylové kyseliny (sloučenina X).

Ve shodě s příkladem ukázaným v reakčním schématu 4, 2-methylfenol je podroben sledu reakcí obsaženému v patentu Spojených států č. 5,045,551 (začleněný zde tímto odkazem) za poskytnutí 2,2,4,4,8-pentamethylchromanu (sloučenina Y). Sloučenina Y je bromována bromem v kyselině octové za získání 2,2,4,4,8-pentamethyl-6-bromchromanu (sloučenina Z), který reaguje s terc.butyllithiem a poté s oxidem uhličitým za získání 2,2,4,4,8-pentamethylchroman-6-karboxylové kyseliny (sloučenina A₁).

Reakční schéma 5 ilustruje syntézu 4,4-dimethyl-8-bromchroman-6-karboxylové kyseliny (sloučenina B₁) bromací 4,4-dimethylchroman-6-karboxylové kyseliny, která je dostupná ve shodě s naukou patentu Spojených států č. 5,059,621, jejíž specifikace je začleněna zde tímto odkazem. 2,2,4,4,8-pentamethylchroman-6-karboxylová kyselina (sloučenina A₁) a 4,4-dimethyl-8-bromchroman-6-karboxylová kyselina (sloučenina B₁) slouží jako reagenty, buď samy o sobě, nebo jako odpovídající chloridy kyselin (nebo jiné "aktivované" formy), podle vzorce 6 pro syntézu karbamoylových (amidových) sloučenin podle vynálezu.

Nyní se zpětným odvoláním na reakci mezi činidlem o vzorci 6 s aminosloučeninou o vzorci 7, je zmíněno, že aminosloučeniny jsou, všeobecně vzato, dostupné ve shodě s dosavadním stavem techniky, jak je popsána ve vědecké a patentové literatuře. Specifičtěji, aminosloučeniny o vzorci 7 mohou být připraveny, jak je popsáno ve vědecké a patentové literatuře, nebo ze známých sloučenin podle literatury, takovými chemickými reakcemi nebo přeměnami, které patří mezi odborné znalosti praktického chemika. Reakční schéma 6 ilustruje příklady pro přípravu aminosloučenin o vzorci 7 (kde Y je fenyl) z komerčně dostupných výchozích látek (Aldrich Chemical Company, nebo Research Plus, Inc.). Znázorněné sloučeniny o vzorci 7 jsou používány pro syntézu několika výhodných sloučenin použitých ve způsobech podle vynálezu.

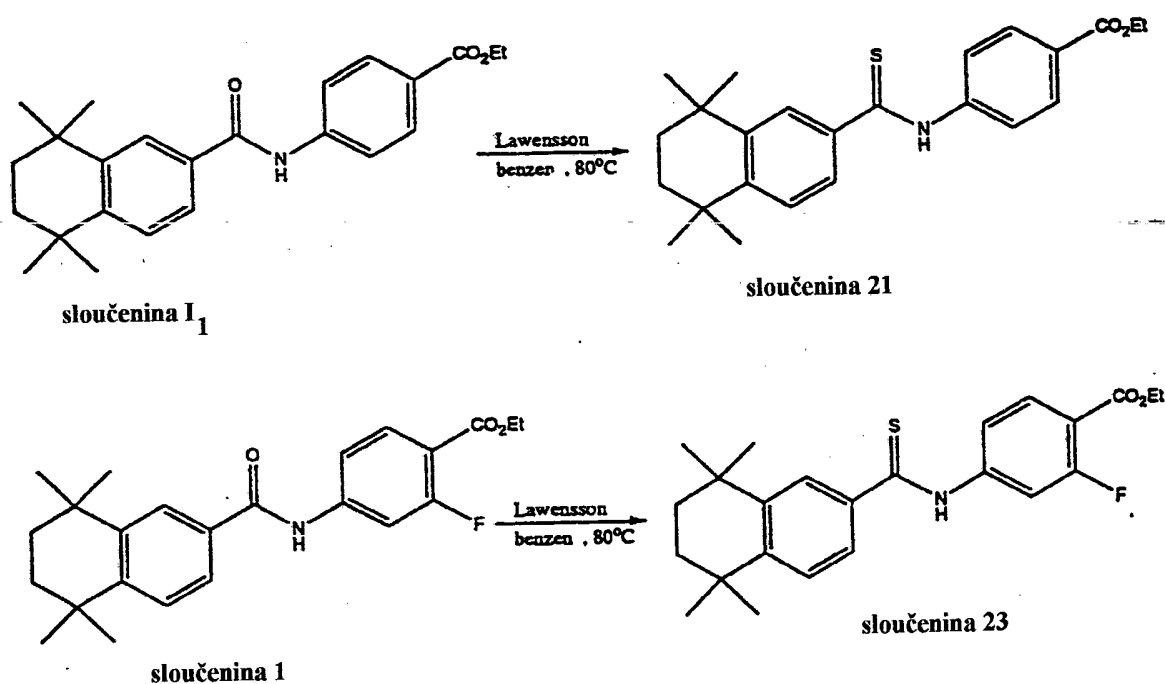
Reakční schéma 6



Tudíž, ve shodě s reakčním schématem 6, 3-nitro-6-methylfluorbenzen (Aldrich) je podroben oxidaci, přeměně výsledné karboxylové kyseliny na chlorid kyseliny a poté ethylester, následované redukcí nitro skupiny za poskytnutí ethyl-2-fluor-4-aminobenzoátu (sloučenina C₁). 3-Nitro-6-methylbrombenzen (Aldrich) a 3-nitro-6-methylchlorbenzen (Aldrich) jsou podrobeny v podstatě stejnému sledu reakcí za poskytnutí ethyl-2-brom-4-aminobenzoátu (sloučenina D₁) a ethyl-2-chlor-4-aminobenzoátu (sloučenina E₁). 2-Nitro-4-aminobenzoová kyselina (Research Plus) je převedena na její methylester (sloučenina F₁) přes odpovídající chlorid kyseliny. 2,3,5,6-Tetrafluor-4-aminobenzoová kyselina (Aldrich) je esterifikována působením ethanolu v přítomnosti 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimid hydrochloridu (EDC) a 4-dimethylaminopyridinu v CH₂Cl₂ za získání ethyl-2,3,5,6-tetrafluor-4-aminobenzoátu (sloučenina G₁). 2,4,6-Trifluorbenzoová kyselina (Aldrich) je převedena na methylester přes chlorid kyseliny, a atom 4-fluoru je odstraněn reakcí s azidem sodným, následovanou hydrogenací, za poskytnutí methyl-2,6-difluor-4-aminobenzoátu (sloučenina H₁). Sloučeniny C₁, D₁, E₁, F₁, G₁ a H₁ slouží jako aminové reagenty podle vzorce 7. Další příklady reagentů podle vzorce 7 jsou nitro, fluor, chlor, brom a trifluormethyl deriváty amino substituovaných heteroaryl karboxylových kyselin, nebo jejich nižších alkyl esterů, jako například ethyl-2-amino-4-chlorpyridin-2-karboxylát, ethyl-5-amino-3-chlorpyridin-5-karboxylát, a 3,4-dibrom-5-aminothiofen-2-karboxylová kyselina. Poslední uvedené příklady mohou být připraveny příslušnou chlorací nebo bromací 2-aminopyridin-5-karboxylové kyseliny nebo jejího esteru, 3-aminopyridin-6-karboxylové kyseliny nebo jejího esteru (popsány v WO 93/06086) a 2-aminothiofen-5-karboxylové kyseliny (popsáno v PCT/US92/06485).

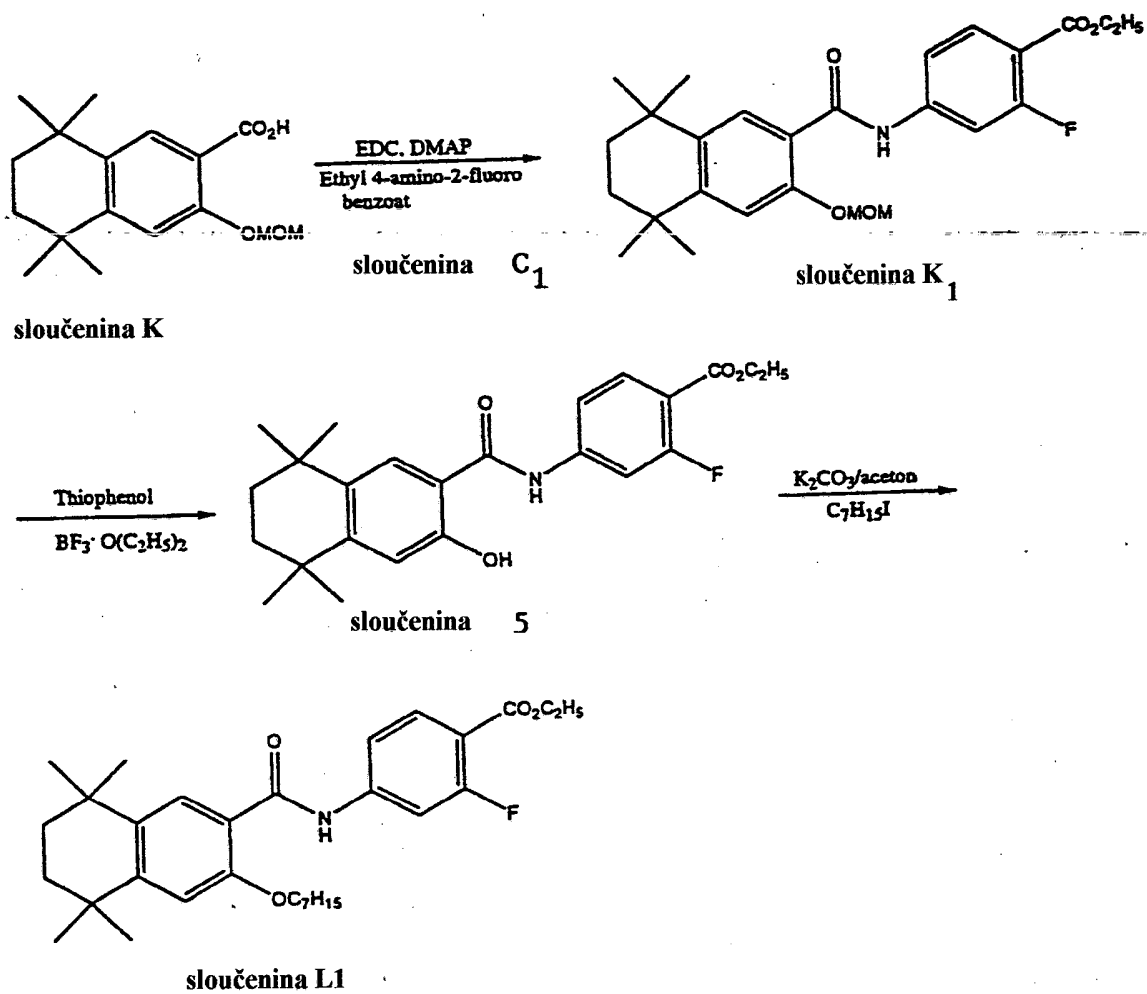
Reakce mezi sloučeninami o vzorci 6 a vzorci 7 nebo mezi sloučeninami o vzorci 6a a 7a, popsané výše, zahrnují aktuální syntézy karbamoylových (amidových) sloučenin podle vynálezu. Četné příklady této reakce jsou podrobně popsány níže v experimentální části. Karbamoylové (amidové) sloučeniny podle vynálezu mohou být převedeny na thiokarbamoylové (thioamidové) sloučeniny podle vynálezu, kde s odkazem na vzorec 1, Z je S, reakcí karbamoylové (amidové) sloučeniny s 2,4-bis(4-methoxyfenyl)-1,3-dithia-2,4-difosfetan-2,4-disulfidem (Lawessonovo činidlo). Tato reakce je znázorněna v reakčním schématu 7 pro dva specifické příklady pro sloučeniny použité ve způsobech podle vynálezu.

Reakční schéma 7

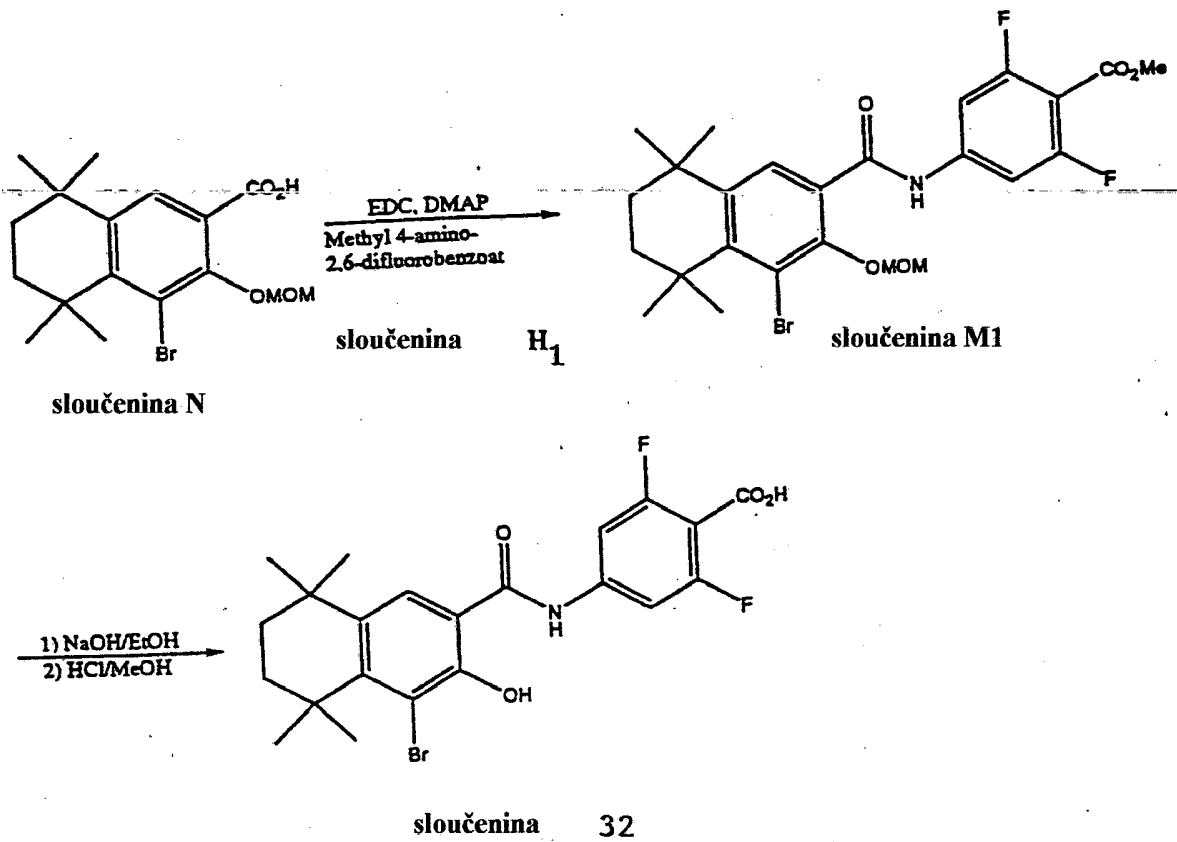


V reakčním schématu 7 je jedna z výchozích látek ethyl-4-[5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2-yl]karbamoyl]benzoát (sloučenina I₁) získávána podle publikace Kagechika a spol., J. Med. Chem. 1988 31, 2182-2192. Jiná výchozí látka, ethyl-2-fluor-4-[5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2-yl]karbamoyl]benzoát (sloučenina 1), je získávána podle vynálezu.

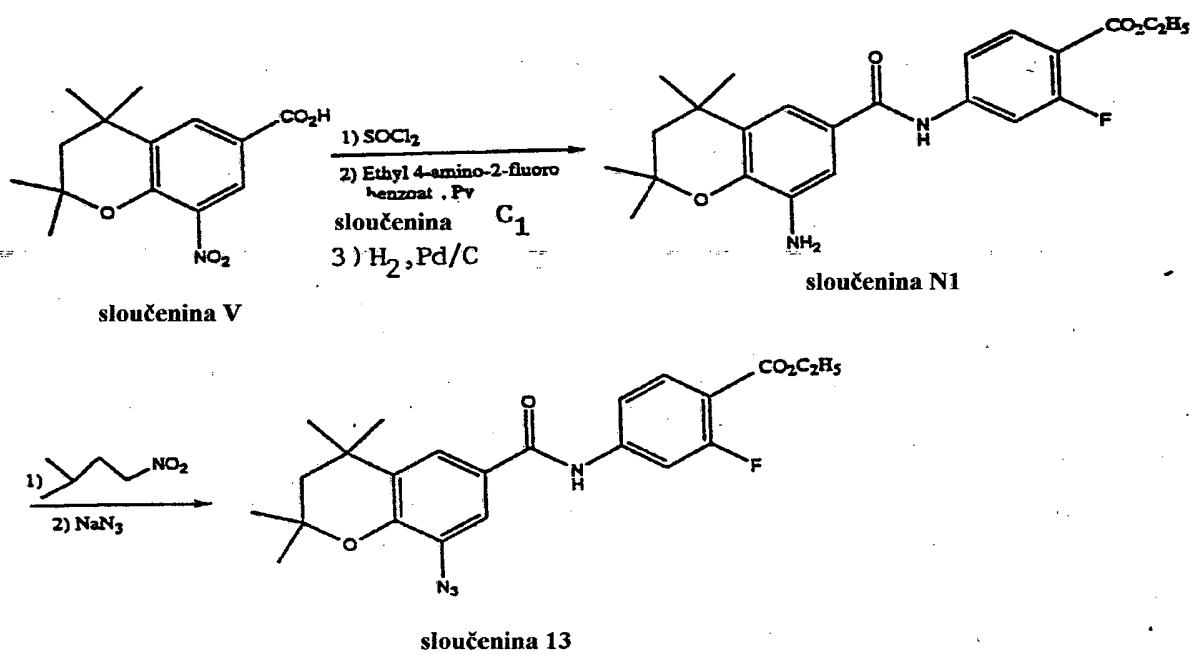
Reakční schéma 8



Reakční schéma 9



Reakční schéma 10

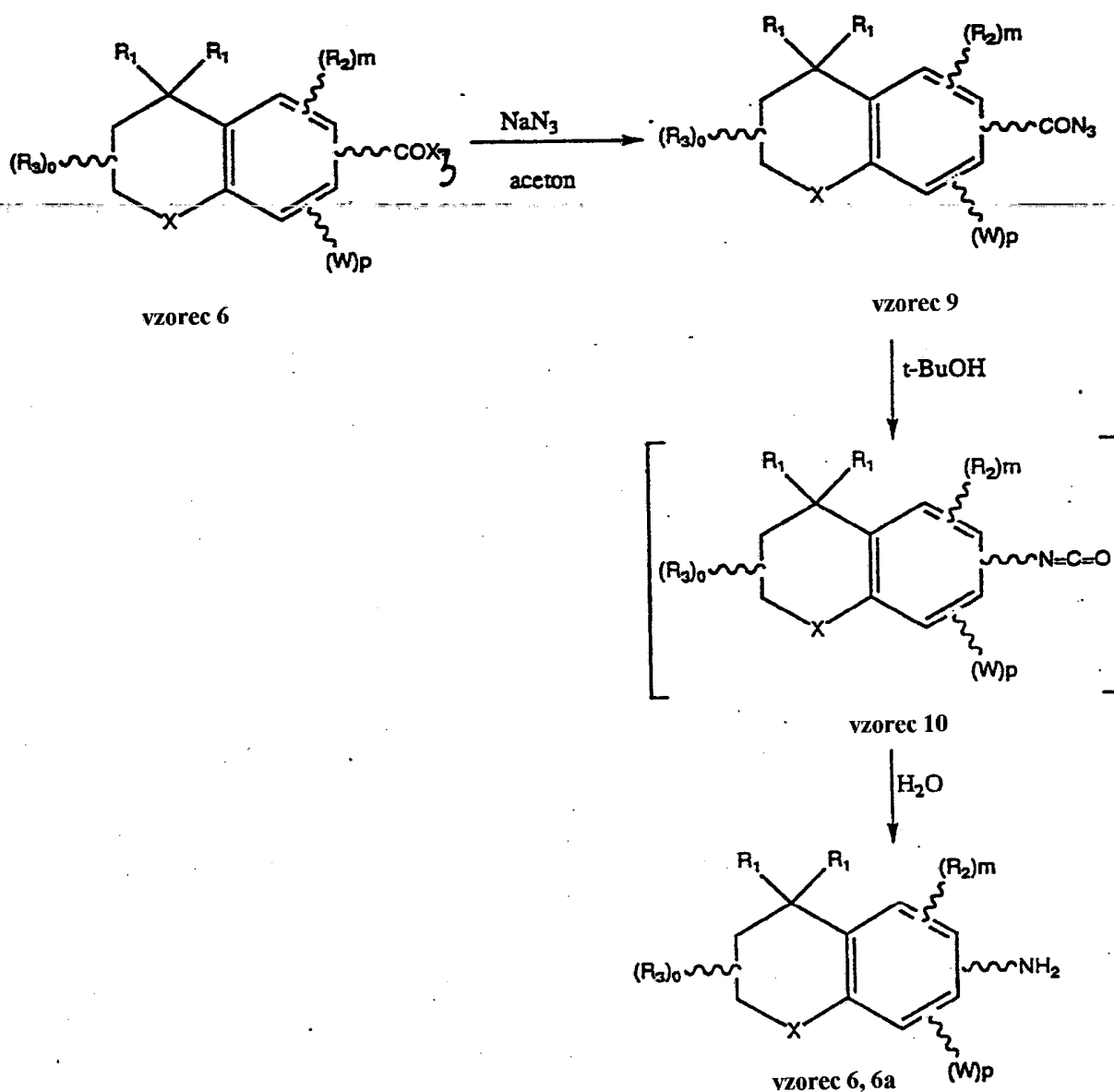


Reakční schémata 8, 9 a 10 uvádí příklady pro přípravu karbamoylových (amidových) sloučenin podle vynálezu, nejprve pomocí couplingové reakce sloučeniny o vzorci 6 se sloučeninou o vzorci 7, následované jednou nebo více reakcemi provedenými na karbamoylové (amidové) sloučenině, která byla nejprve získána přímo v couplingové reakci. Tudiž, jak je ukázáno v reakčním schématu 8, 5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl-3-methoxymethoxynaftalen-2-karboxylová kyselina (sloučenina K) je spojena s ethyl-4-amino-2-fluorbenzoátem (sloučenina C₁) v CH₂Cl₂ za přítomnosti 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimid hydrochloridu (EDC) a dimethylaminopyridinu (DMAP) za získání ethyl-2-fluor-4-[5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethyl-2'-methoxymethoxynaftalen-3'-yl]karbamoyl]benzoát (sloučenina K₁). Methoxymethylová chránicí skupina je odstraněna ze sloučeniny K₁ působením thiofenolu a etherického fluoridu boritého, které vede k ethyl-2-fluor-4-[5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethyl-2'-hydroxynaftalen-3'-yl]karbamoyl]benzoátu (sloučenina 5). Hydroxylová funkční skupina sloučeniny 5 je převedena na n-hexylether působením hexyljodidu za přítomnosti slabé zásady.

Ve shodě s reakčním schématem 9, 5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl-1-brom-2-methoxymethoxynaftalen-3-karboxylová kyselina (sloučenina N) je spojena s methyl-4-amino-2,6-difluorbenzoátem (sloučenina H₁) v CH₂Cl₂ rozpouštědle za přítomnosti ethylkarbodiimid hydrochloridu (EDC) a DMAP za poskytnutí methyl-2,6-difluor-4-[(5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethyl-1'-brom-2'-methoxymethoxynaftalen-3'-yl)karbamoyl]benzoátu (sloučenina M₁), ze kterého esterifikující methylová skupina a methoxymethylová chránicí skupina jsou odstraněny působením zásady nebo kyseliny, za poskytnutí 2,6-difluor-4-[(5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethyl-1'-brom-2'-hydroxynaftalen-3'-yl)karbamoyl]benzoové kyseliny (sloučenina 32).

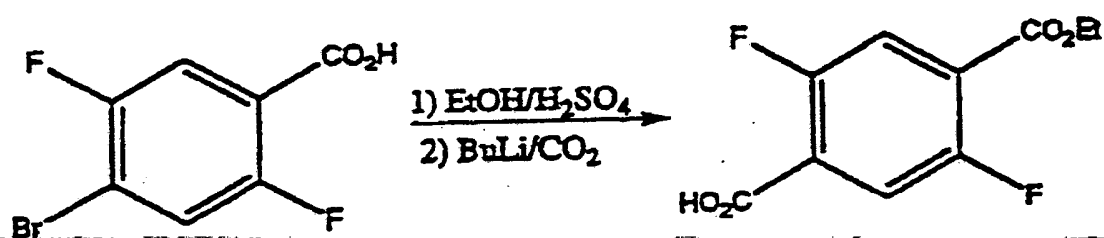
Reakční schéma 10 uvádí příklad převedení 2,2,4,4-tetramethyl-8-nitrochroman-6-karboxylové kyseliny (sloučenina V) na odpovídající chlorid kyseliny působením thionylchloridu, následovaným couplingem s ethyl-4-amino-2-fluorbenzoátem (sloučenina C₁) a hydrogenací za poskytnutí ethyl-2-fluor-4-[(2',2',4',4'-tetramethyl-8'-amino-6'-chromanyl)karbamoyl]benzoátu (sloučenina N₁). Sloučenina N₁ je převedena na odpovídající 8-azido sloučeninu, ethyl-2-fluor-4-[(2',2',4',4'-tetramethyl-8'-azido-6'-chromanyl)karbamoyl]benzoát (sloučenina 13) působením isoamyl nitrátu a NaN₃.

Reakční schéma 11

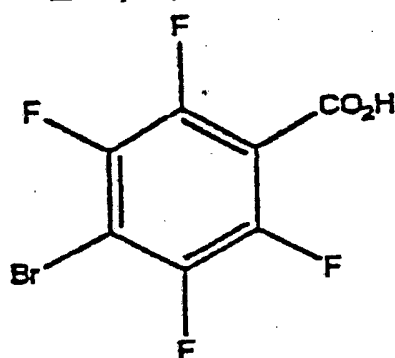


Reakční schéma 11 znázorňuje syntézu primárních aminosloučenin o vzorci 6a z chloridů kyselin ($\text{X}_3 = \text{Cl}$) nebo jiných forem aktivovaných kyselin o vzorci 6, kde primární amin o vzorci 6a není dostupný publikovaným literárním postupem. Tudíž, v podstatě ve shodě s krokem Curtiova přesmyku, chlorid kyseliny o vzorci 6 reaguje s azidem sodným v acetonu za poskytnutí azido sloučeniny o vzorci 9. Azid o vzorci 9 je zahříván v polárním vysokovroucím rozpouštědle, jako například v terc.butanolu, za poskytnutí meziproductu isokyanátu vzorce 10, který je hydrolyzován za poskytnutí sloučeniny o vzorci 6a.

Reakční schéma 12



Sugawara, S; Ishikawa, N.
Kogyo Kagaku Zasshi
 1970, 73, 972-979



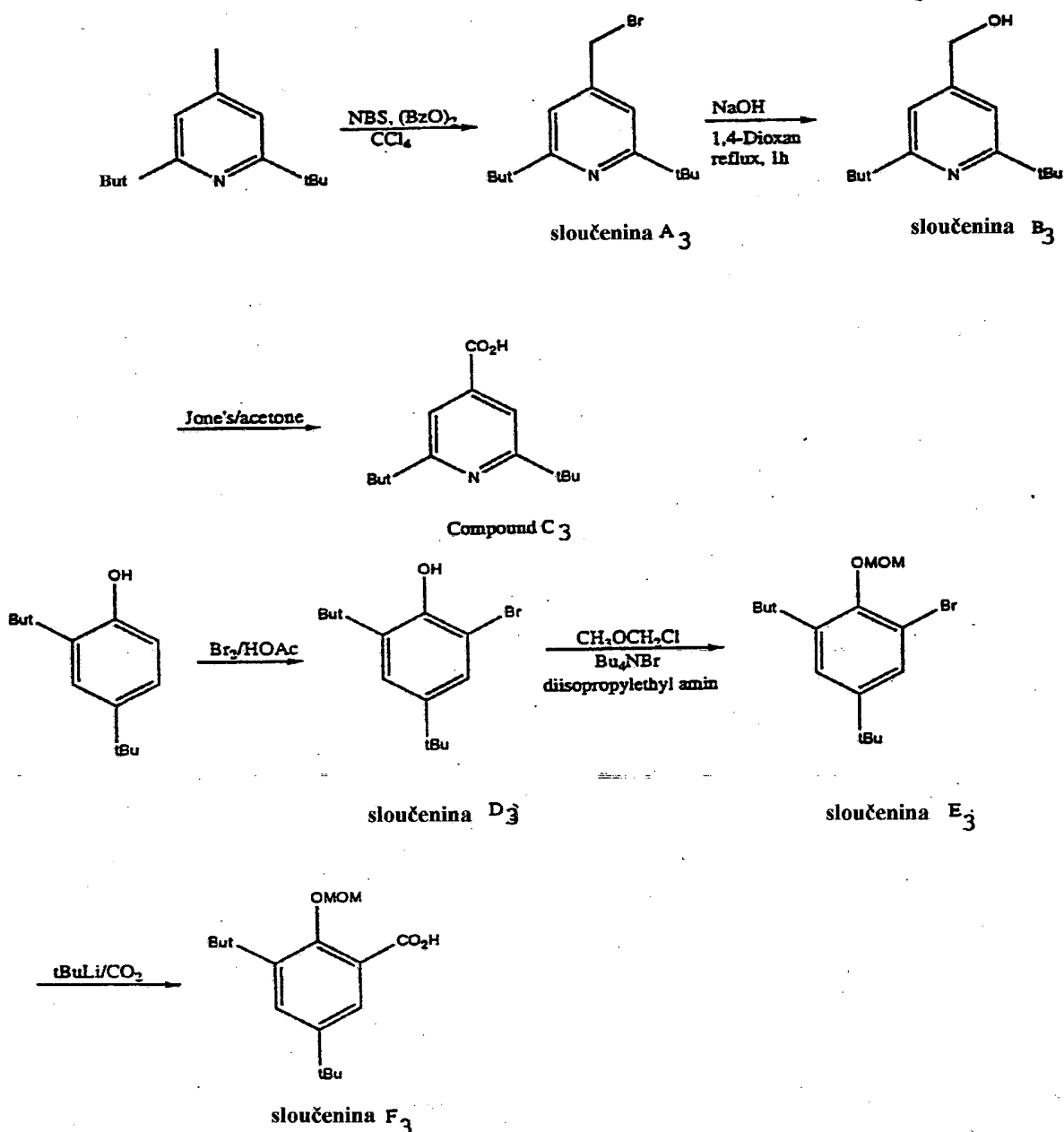
Michael Reuman *et al*
J. Med. Chem.
 1995, 38, 2531-2540

Reakční schéma 12 znázorňuje příklady pro přípravu sloučenin o vzorci 7a, kde takové sloučeniny nejsou komerčně nebo pomocí publikovaného literárního postupu dostupné. Tudíž, jakožto příklad 2,5-difluor-4-brombenzoové kyseliny (dostupná literárním postupem Sugawary a spol. *Kogyo Kagaku Zasshi* 1970, 73, 972-979) je nejprve esterifikována působením ethylalkoholu a kyseliny za poskytnutí odpovídajícího esteru, a poté reaguje s butyllithiem následovaným oxidem uhličitým za získání monoesteru 2,5-difluortereftalové kyseliny (sloučenina T_1). Podobný sled reakcí provedený na 2,3,5,6-difluor-4-benzoové kyselině (dostupná literárním postupem podle Reumana a spol. *J. Med. Chem.* 1995, 38, 2531-2540) poskytuje monoester 2,3,5,6-tetrafluortereftalové kyseliny (sloučenina V_1). Právě znázorněný reakční sled může být, všeobecně vzato, využit pro syntézu všech sloučenin o vzorci 7a s takovou modifikací, která se stane snadno zřejmou kvalifikovanému odborníkovi, kde takové sloučeniny nejsou dostupné známým literárním postupem.

Reakční schéma 13 poskytuje příklad pro přípravu 2,6-diterc.butylisonikotinové

kyseliny (sloučenina C₃), která je reagentem podle vzorce 8 pro přípravu několika výhodných sloučenin podle vynálezu. Tudíž, 2,6,-diterc.butyl-4-methylpyridin (dostupný komerčně od Aldrich Chemical Co.) reaguje s N-bromsukcinimidem a benzoylperoxidem za poskytnutí 4-brommethyl-2,6-diterc.butylpyridinu (sloučenina A₃). Sloučenina A₃ reaguje se zásadou (hydroxid sodný) za poskytnutí odpovídající hydroxymethylové sloučeniny (sloučenina B₃), která je poté oxidována při Jonesově oxidační reakci za získání 2,6-diterc.butylisonikotinové kyseliny (sloučenina C₃).

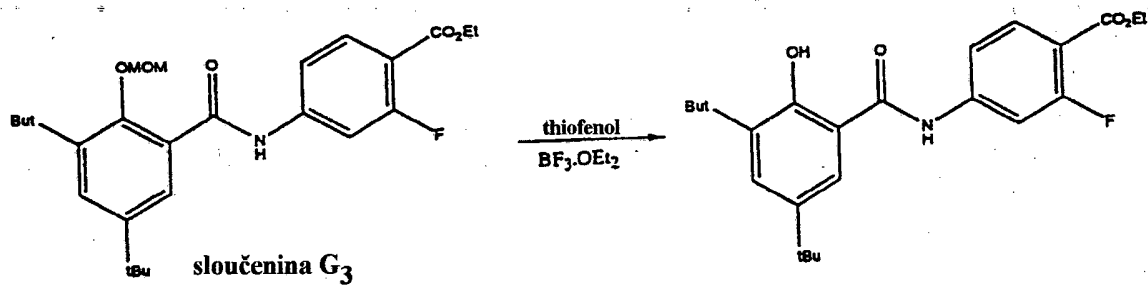
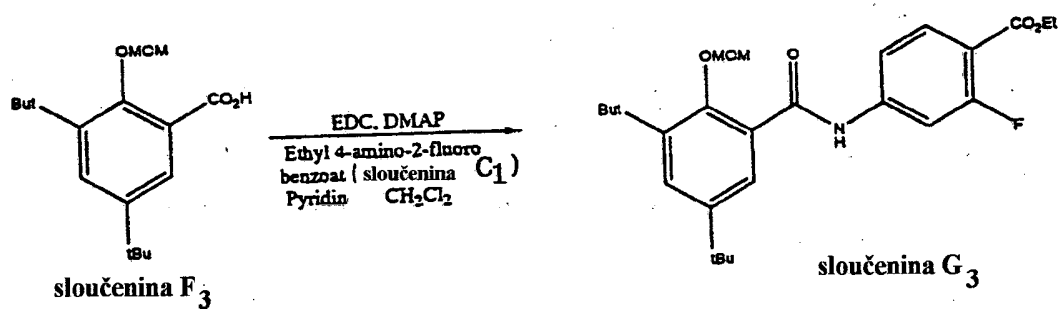
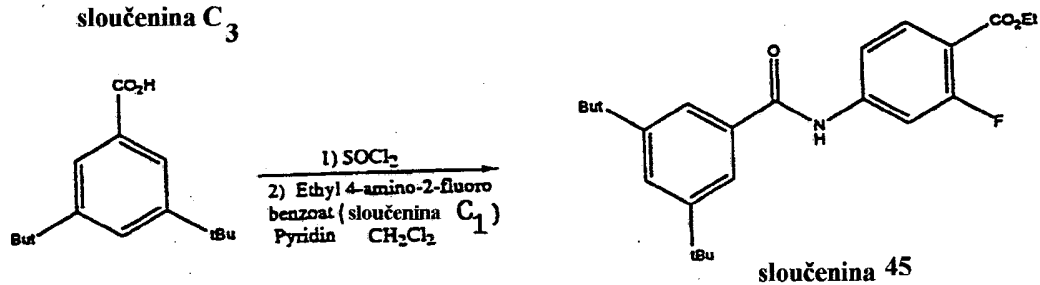
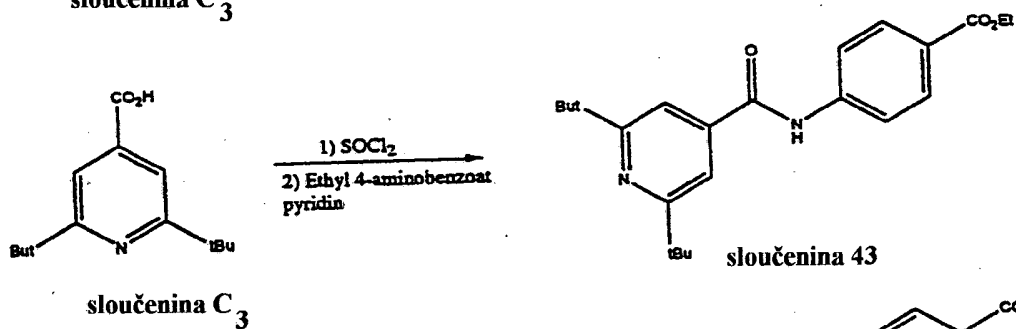
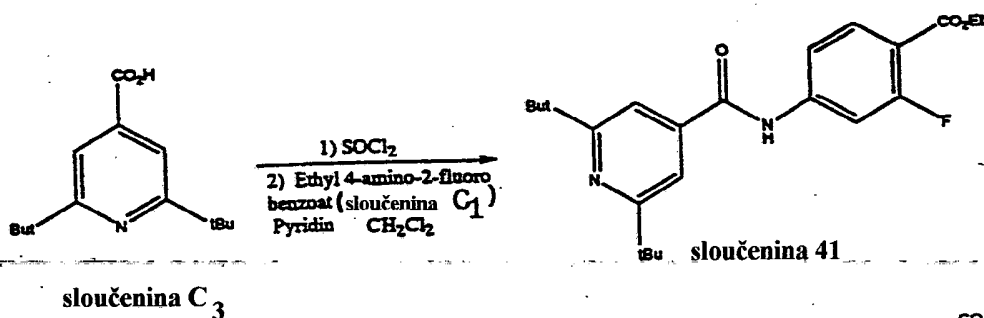
Reakční schéma 13



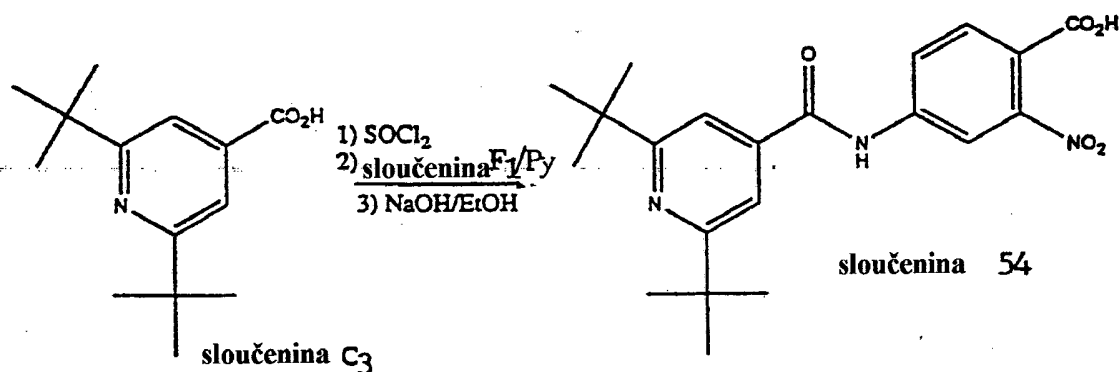
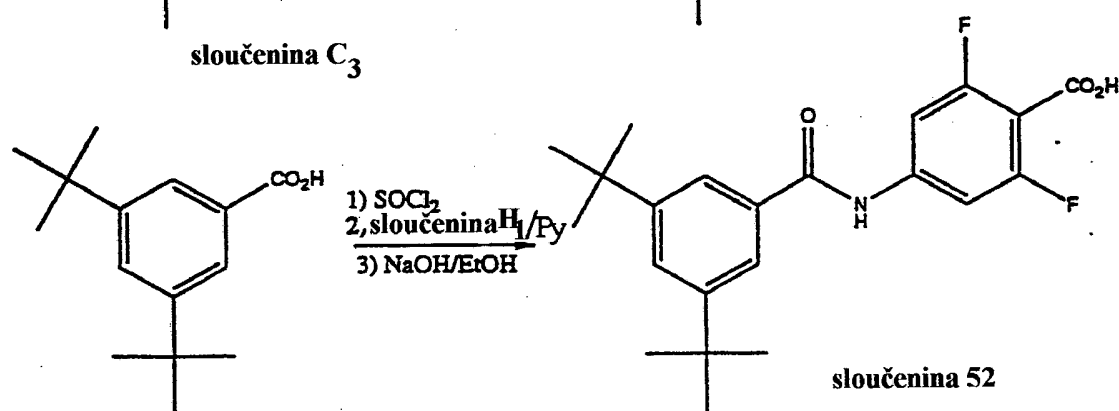
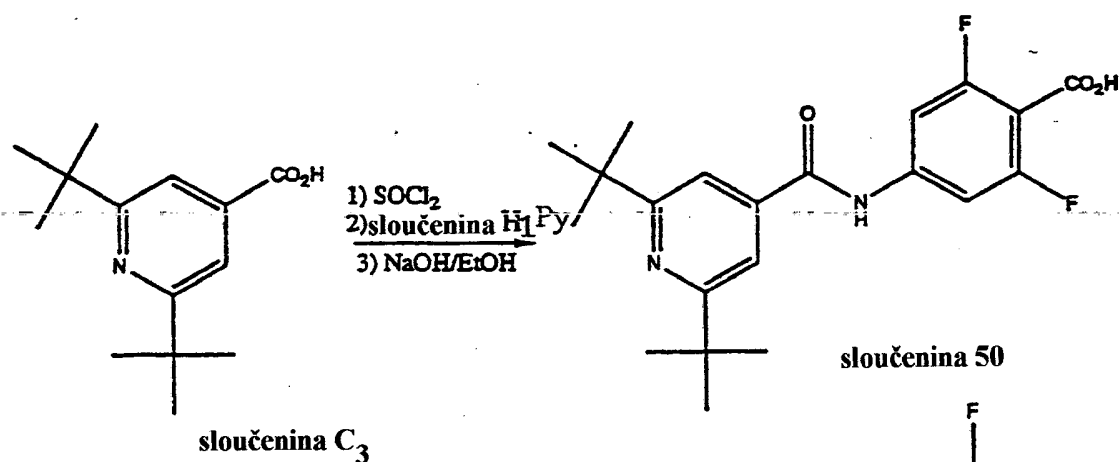
Další příklad sloučeniny, která slouží jako činidlo pro přípravu karbamoylových (amidových) sloučenin podle vynálezu je poskytnut v reakčním schématu 13. 2,4-Diterc.butylfenol (Aldrich) je bromován v ledové kyselině octové za poskytnutí 2-brom-4,6-diterc.butylfenolu (sloučenina D₃), který poté reaguje s methoxymethyl chloridem (MOMCl) za získání O-methoxymethyl-2-brom-4,6-diterc.butylfenolu (sloučenina E₃). Na sloučeninu E₃ je působeno terc.butyllithiem následovaným oxidem uhličitým za poskytnutí O-methoxymethyl-3,5-diterc.butylsalicylové kyseliny (sloučenina F₃). Sloučenina F₃ je činidlo, které se liší od sloučenin obecně zahrnutých ve vzorci 8 jen v tom, že hydroxylová funkční skupina této sloučeniny je chráněna methoxymethylovou (MOM) skupinou. Nicméně, methoxymethylová chránicí skupina je odstraněna po vytvoření karbamoylové (amidové) vazby, jak je znázorněno příkladem v reakčním schématu 14. Reakce aromatické bromo sloučeniny (například sloučeniny D₃) s terc.butyllithiem následovaným oxidem uhličitým je výhodný způsob pro přípravu několika aromatických karboxylových kyselin podle vzorce 8 a vzorce 7a, popsanych v této přihlášce.

Primární aminosloučeniny o vzorci 8a, které nejsou dostupné komerčně nebo publikovaným literárním postupem, mohou být vyrobeny z chloridů kyselin ($X_3 = Cl$) nebo jiných forem aktivovaných kyselin o vzorci 8 v podstatě ve shodě s kroky Curtiova přesmyku, v analogii k reakčním krokům popsáním výše v souvislosti s reakčním schématem 11.

Reakční schéma 14



Reakční schéma 14 (pokračování)



Reakční schéma 14 znázorňuje příklady pro tvorbu karbamoylových (amidových) sloučenin podle vzorce 2 reakcí činidla o vzorci 8 s činidlem o vzorci 7. Tudiž, 2,6-

diterc.butylisonikotinová kyselina (sloučenina C₃) reaguje s thionylchloridem (SOCl₂) za poskytnutí meziprojektu chloridu kyseliny, který pak reaguje s ethyl-2-fluor-4-aminobenzoátem (sloučenina C₁) za přítomnosti akceptoru kyseliny (pyridin) za poskytnutí ethyl-2-fluor-4-[(2',6'-diterc.butylpyrid-4'-yl)karbamoyl]benzoátu (sloučenina 41). Jako další příklad, 3,5-diterc.butylbenzoová kyselina (dostupná literárním postupem podle Kagechika a spol., J. Med. Chem. 1988, 31, 2182, začleněným zde tímto odkazem) reaguje s thionylchloridem, následně s ethyl-2-fluor-4-aminobenzoátem (sloučenina C₁) za poskytnutí ethyl-2-fluor-4-[(3',5'-diterc.butylfenyl) karbamoyl]benzoátu (sloučenina 45). Ještě další příklad, O-methoxymethyl-3,5-diterc.butylsalicylová kyselina (sloučenina F₃) reaguje s ethyl-2-fluor-4-aminobenzoátem (sloučenina C₁) za přítomnosti 4-dimethylaminopyridinu (DMAP) katalyzátoru a 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimid hydrochloridem (EDC) za získání ethyl-2-fluor-4-[(2'-methoxymethyl-3',5'-diterc.butylfenyl) karbamoyl]benzoátu (sloučenina G₃). Methoxymethylová chránící skupina je odstraněna ze sloučeniny G₃ působením etherického fluoridu boritého a thiofenolu za poskytnutí ethyl-2-fluor-4-[(2'-hydroxy-3',5'-diterc.butylfenyl) karbamoyl]benzoátu (sloučenina 47).

V ještě dalším příkladu ukázaném v reakčním schématu 14, 2,6-diterc.butylisonikotinová kyselina (sloučenina C₃) reaguje s thionylchloridem (SOCl₂), výsledný meziprodukt chlorid kyseliny reaguje s methyl-2,6-difluor-4-aminobenzoátem (sloučenina H₁), následuje zmýdelnění esterové skupiny za poskytnutí 2,6-difluor-4-[(2',6'-diterc.butylpyrid-4'-yl)karbamoyl]benzoové kyseliny (sloučenina 50). 3,5-Diterc.butylbenzoová kyselina je podrobena stejnému sledu reakcí za poskytnutí 2,6-difluor-4-[(3',5'-diterc.butylfenyl)karbamoyl]benzoové kyseliny (sloučenina 52).

Další příklad, ukázaný v reakčním schématu 14, 2,6-diterc.butylisonikotinová kyselina (sloučenina C₃) podstupuje reakci s thionylchloridem (SOCl₂), následovanou reakcí s methyl-2-nitro-4-aminobenzoátem (sloučenina F₁) a zmýdelněním esterové funkční skupiny za získání 2-nitro-4-[(2',6'-diterc.butylpyrid-4'-yl)karbamoyl]benzoové kyseliny (sloučenina 54).

Početné další reakce vhodné pro přípravu sloučenin podle vynálezu, a pro přeměnu sloučenin o vzorci 1 a/nebo o vzorci 2 na ještě další sloučeniny, které mohou být použity ve způsobech léčby podle vynálezu, a také pro přípravu činidel o vzorci 6, vzorci 7, vzorci 8, vzorci 6a, vzorci 7a a vzorci 8a, se stanou snadno zřejmými kvalifikovaným odborníkům ve světle tohoto zveřejnění. V tomto ohledu je věnována

pozornost následující obecné syntetické metodologii, použitelné pro přeměnu sloučenin o vzorci 1 a/nebo o vzorci 2 na další homology a/nebo deriváty, a také pro přípravu činidel o vzorci 6, vzorci 7, a vzorci 8, (stejně jako 6a, 7a a 8a).

Karboxylové kyseliny jsou typicky esterifikovány refluxováním kyseliny v roztoku vhodného alkoholu za přítomnosti kyselého katalyzátoru, jako například chlorovodíku nebo thionylchloridu. Eventuálně může být karboxylová kyselina kondenzována s vhodným alkoholem za přítomnosti dicyklohexylkarbodiimidu a dimethylaminopyridinu. Ester je znovuzískán a purifikován obvyklými prostředky. Acetaly a ketaly jsou snadno vyrobeny metodou popsanou v March, "Advanced Organic Chemistry", 2. vydání, McGraw-Hill Book Company, str. 810). Alkoholy, aldehydy a ketony mohou být všechny chráněny tvorbou etherů a esterů, respektive acetalů nebo ketalů známými metodami jako například metodami popsanými v McOmie, Plenum Publishing Press, 1973 a Protecting Groups, ed. Greene, John Wiley & Sons, 1981.

Kyseliny a soli odvozené od sloučenin o vzorci 1 a vzorci 2 jsou snadno získatelné z odpovídajících esterů. Zásadité zmýdelnění se zásadou alkalického kovu poskytne kyselinu. Například, ester může být rozpuštěn v polárním rozpouštědle, například alkanolu, výhodně pod inertní atmosférou při pokojové teplotě, s přibližně tří molárním přebytkem zásady, například hydroxidu draselného nebo lithného. Roztok je míchán po dosti dlouhý časový úsek, mezi 15 a 20 hodinami, ochlazen, okyselen a hydrolyzát znovuzískán obvyklými prostředky.

Amid (ve vzorci 1 nebo 2 je $B \text{ CONR}_9\text{R}_{10}$) může být vytvořen příslušným amidačním prostředkem známým v oblasti techniky z odpovídajících esterů nebo karboxylových kyselin. Jeden způsob, jak připravit takové sloučeniny, je převést kyselinu na chlorid kyseliny a pak působit na tuto sloučeninu hydroxidem amonným nebo příslušným aminem.

Alkoholy jsou vyráběny převedením odpovídajících kyselin na chlorid kyseliny thionylchloridem nebo jiným prostředkem (J. March, "Advanced Organic Chemistry", 2. vydání, McGraw-Hill Book Company), pak redukcí chloridu kyseliny tetrahydroboritanem sodným (March, tamtéž, str. 1124), která dává odpovídající alkoholy. Eventuálně mohou být estery redukovány tetrahydridohlinitanem lithným při nižších teplotách. Alkylace těchto alkoholů příslušnými alkyl halogenidy za podmínek Williamsonovy reakce (March, tamtéž, str. 357) dává odpovídající ethery. Tyto alkoholy mohou být převedeny na estery jejich reakcí s příslušnými kyselinami za přítomnosti

kyselých katalyzátorů nebo dicyklohexylkarbodiimidu a dimethylaminopyridinu.

Aldehydy mohou být připraveny z odpovídajících primárních alkoholů za užití mírných oxidačních činidel jako například dichromanu pyridinia v dichlormethanu (Corey, E.J., Schmidt, G., Tet.Lett., 399, 1979), nebo dimethylsulfoxidu/oxalylochloridu v dichlormethanu (Omura, K., Swern, D., Tetrahedron, 1978, 34, 1651).

Ketony mohou být připraveny z příslušných aldehydů působením alkyl Grignardova činidla nebo podobného činidla na aldehyd s následnou oxidací.

Acetaly nebo ketaly mohou být připraveny z odpovídajícího aldehydu nebo ketonu metodou popsanou v March, tamtéž, str. 810.

Příklady provedení vynálezu

Ethyl-4-amino-2-fluorbenzoát (sloučenina C₁)

Ke směsi 2-fluor-4-nitrotoluenu (1,0 g, 6,4 mmol, Aldrich) a Na₂Cr₂O₇ (2,74 g, 8,4 mmol) v 13,7 ml HOAc bylo pomalu přidáno 6,83 ml H₂SO₄. Tato směs byla pomalu zahřívána na 90 °C 1 hod za získání nazelenalého heterogenního roztoku. Směs byla ochlazená na pokojovou teplotu a zředěna ethylacetátem. pH roztoku bylo upraveno na 4 pomocí NaOH (aq.). Směs byla extrahována dalším ethylacetátem. Organická vrstva byla promyta NaHCO₃ (nasyc.), pak solankou a sušena nad Na₂SO₄. Po zfiltrování byl roztok zakonzentrován do sucha a pak rozpuštěn v 6 ml SOCl₂, a zahříván při 80 °C 1 hod. Nadbytek SOCl₂ byl odstraněn za sníženého tlaku a zbytek byl rozpuštěn v 5 ml CH₂Cl₂, 2 ml EtOH a 2 ml pyridinu. Směs byla míchána při pokojové teplotě 2 hod a zakonzentrována do sucha. Ethyl-2-fluor-4-nitrobenzoát byl získán jako bílá pevná látka po kolonové chromatografii zbytku s ethylacetátem/hexanem (1/9). Tato pevná látka byla pak rozpuštěna v 10 ml ethylacetátu, a Pd/C (50 mg) bylo přidáno. Hydrogenace s vodíkovým balónem převedla ethyl-2-fluor-4-nitrobenzoát na titulní sloučeninu.

¹H NMR δ 7,77 (t, J = 8,4 Hz, 1 H), 6,41 (dd, J₁ = 8,6, J₂ = 2,2 Hz, 1 H), 6,33 (dd, J₁ = 13,0, J₂ = 2,2 Hz, 1 H), 4,33 (q, J = 7,1 Hz, 2 H), 4,3 (b, 2 H), 1,37 (t, J = 7,1 Hz, 3 H).

Methyl-4-amino-2,6-difluorbenzoát (sloučenina H₁)

Roztok trifluorbenzoové kyseliny (150 mg, 0,85 mmol, Aldrich) v 0,5 ml SOCl₂ byl

zahříván pod zpětným chladičem 2 hod. Reakční směs byla ochlazena na pokojovou teplotu, a nadbytek SOCl_2 byl odstraněn za sníženého tlaku. Zbytek byl rozpuštěn v 1 ml pyridinu a 0,2 ml methanolu. Po 30 min. míchání při pokojové teplotě bylo rozpouštědlo odstraněno a zbytek byl purifikován kolonovou chromatografií (ethylacetát/hexan 1/10) za získání methyltrifluorbenzoátu jako bezbarvého oleje. Tento olej byl pak rozpuštěn v 1 ml CH_3CN , pak byl přidán roztok NaN_3 (100 mg, 1,54 mmol) v 0,5 ml vody. Reakční směs byla refluxována 2 dny. Sůl byla zfiltrována a zbývajícím roztok byl zakoncentrován na olej. Tento olej byl pak rozpuštěn v 1 ml methanolu, s následným přidáním katalytického množství Pd/C (10%, w/w). Reakční směs byla hydrogenována pod vodíkovým balonem 12 hod. Katalyzátor byl odstraněn a roztok byl zakoncentrován na olej. Po kolonové chromatografii (ethylacetát/hexan 1/3), titulní produkt byl získán jako bezbarvé krystaly.

$^1\text{H NMR}$ δ 6,17 (d, $J = 10,44$ Hz, 2 H), 4,2 (b, 2 H), 3,87 (s, 3 H).

8-brom-2,2,4,4-tetramethyl-6-chromanová kyselina (sloučenina P)

K roztoku 2,2,4,4-tetramethyl-6-chromanové kyseliny (200 mg, 0,85 mmol) v 0,5 ml AcOH byl přidán Br_2 (0,07 ml, 1,28 mmol). Výsledný tmavě oranžový roztok byl míchán při pokojové teplotě přes noc. Nadbytek bromu byl odstraněn za sníženého tlaku. Pak byl roztok nalit do 5 ml vody a extrahován s ethylacetátem (3 X 3 ml). Spojené ethylacetátové vrstvy byly dále promyty NaHCO_3 (nasyc.), solankou a sušeny nad MgSO_4 . Po zakoncentrování, byl zbytek purifikován kolonovou chromatografií (silikagel, ethylacetát/hexan 1/3) za poskytnutí požadovaného produktu (170 mg, jako bílá pevná látka.).

$^1\text{H NMR}$ δ 8,11 (d, $J = 2,2$ Hz, 1 H), 8,00 (d, $J = 2,2$ Hz, 1 H), 1,90 (s, 2 H), 1,43 (s, 6 H), 1,39 (s, 6 H).

8-jod-2,2,4,4-tetramethyl-6-chromanová kyselina (sloučenina X)

K roztoku 2,2,4,4-tetramethyl-6-chromanové kyseliny (66 mg, 0,28 mmol) v 0,8 ml AcOH byl přidán ICl (0,07 ml, 1,4 mmol). Výsledný barevný roztok byl míchán při pokojové teplotě přes noc. Následoval stejný postup jako pro syntézu 8-brom-2,2,4,4-tetramethyl-6-chromanové kyseliny (sloučenina P), reakce dala titulní sloučeninu (107 mg) jako bílou pevnou látku.

^1H NMR δ 8,35 (d, $J = 2,2$ Hz, 1 H), 8,03 (d, $J = 2,2$ Hz, 1 H), 1,87 (s, 2 H), 1,43 (s, 6 H), 1,38 (s, 6 H).

2,2,4,4-tetramethyl-8-trifluormethylchroman-6-ová kyselina (sloučenina S)

Roztok 8-brom-2,2,4,4-tetramethyl-6-chromanové kyseliny (sloučenina R, 150 mg, 0,48 mmol) v 1 ml SOCl_2 byl refluxován 2 hod. Po ochlazení na pokojovou teplotu byl nadbytek SOCl_2 odstraněn za sníženého tlaku a zbytek byl rozpuštěn v 1 ml pyridinu a 0,2 ml methanolu. Směs byla míchána při pokojové teplotě 30 min. Rozpouštědlo bylo odstraněno a zbytek se nechal projít kolonou (silikagel, ethylacetát/hexan 1/10) za získání methyl-8-brom-2,2,4,4-tetramethyl-6-chromanoátu (158 mg) jako bezbarvého oleje. K roztoku tohoto methylesteru ve 3 ml N-methylpyrrolidonu (NMP) byl přidán NaCO_2CF_3 (502 mg, 3,7 mmol) a CuI (350 mg, 1,84 mmol). Výsledná směs byla zahřívána na 175°C (teplota lázně) po 2 hod. Výsledná směs byla ochlazená na pokojovou teplotu a nalita do ledové vody. Produkt byl extrahován do ethylacetátu (3 X 3 ml). Spojené organické vrstvy byly sušeny a zakoncentrovány do sucha. Surová látka byla purifikována kolonovou chromatografií (ethylacetát/chloroform 1/10) za získání titulní sloučeniny jako bezbarvého oleje (120 mg). Tato byla hydrolyzována za standardních podmínek za získání titulní sloučeniny.

^1H NMR δ 8,21 (d, $J = 2,1$ Hz, 1 H), 8,17 (d, $J = 2,1$ Hz, 1 H), 1,92 (s, 2 H), 1,41 (s, 12 H).

Ethyl-8-nitro-2,2,4,4-tetramethyl-6-chromanoát (sloučenina W)

Ethyl-2,2,4,4-tetramethyl-6-chromanoát (150 mg, 0,57 mmol) byl pomalu přidáván k 0,3 ml koncentrované H_2SO_4 při 0°C . K této směsi bylo velmi pomalu přidáváno 0,03 ml HNO_3 . Reakční směs byla míchána při 0°C 30 min a nalita do ledové vody. Produkt byl extrahován do 5 ml ethylacetátu, promyt NaHCO_3 (nasc.), solankou a sušen nad MgSO_4 . Po zakoncentrování byl produkt purifikován kolonovou chromatografií (ethylacetát/hexan 1/10) za poskytnutí 74 mg světle žlutého oleje.

^1H NMR δ 8,24 (d, $J = 2,1$ Hz, 1 H), 8,17 (d, $J = 2,1$ Hz, 1 H), 4,38 (q, $J = 7,1$ Hz, 2 H), 1,95 (s, 2 H), 1,43 (s, 6 H), 1,42 (s, 6 H), 1,40 (t, $J = 7,1$ Hz, 3 H).

2-oxo-4,4,8-trimethylchroman (sloučenina P₁)

V 500 ml baňky s kulatým dnem byl NaH (1,66 g, 60% suspence v oleji, 0,046 mol) promyt suchým hexanem. Pak byl přidán suchý THF (22 ml) a následně o-kresol (5 g, 0,046 mol) v 10 ml suchého THF. Reakční směs byla míchána při 0 °C 30 min s následným přidáním 3,3-dimethylakryloyl chloridu v 10 ml THF. Výsledná bílá kaše byla míchána při pokojové teplotě 12 hod, pak pomalu ochlazena vodou. Směs byla extrahována ethylacetátem. Organická vrstva byla promyta solankou, vodou a sušena nad MgSO₄. Po filtraci a odstranění rozpouštědla byl získán žlutý olej (10,44 g). Tento olej byl pak rozpuštěn v 50 ml suchého CH₂Cl₂, a byl vpraven do roztoku AlCl₃ (10,8 g, 0,069 mmol) v 10 ml CH₂Cl₂. Reakční směs byla míchána při pokojové teplotě 12 hod. Pak byla opatrně přidána voda s ledem a organická vrstva byla oddělena, a promyta NaHCO₃ (nasyc.), solankou, vodou a nakonec sušena nad MgSO₄. Po odstranění sušidla a rozpouštědla byl zbytek purifikován kolonovou chromatografií (silikagel, ethylacetát/hexan 1/9) za poskytnutí titulní sloučeniny (4,408 g) jako oleje.

¹H NMR δ 7,1 (m, 3 H), 2,62 (s, 2 H), 2,33 (s, 3 H), 1,36 (s, 6 H).

2,4-Dimethyl-4-(2'-hydroxy-3'-methylfenyl)pentan-2-ol (sloučenina R₁)

K roztoku 2-oxo-4,4,8-trimethylchromanu (sloučenina P₁, 2,20 g, 11,5 mmol) ve 40 ml suchého diethyletheru byl přidán methylmagnesium bromid (12,67 ml, 38 mmol, 3 M roztok v THF). Reakční směs byla míchána při pokojové teplotě 12 hod, pak byl přiléván NH₄Cl (nasyc.) dokud se nerozpustila všechna sraženina. Směs byla extrahována diethyletherem a spojené organické vrstvy byly odděleny a promyty solankou, vodou a sušeny nad MgSO₄. Po filtraci a odstranění rozpouštědla byla získána titulní sloučenina jako žlutohnědá pevná látka (2,215 g).

¹H NMR δ 7,16 (d, J = 7,88 Hz, 1 H), 7,00 (d, J = 6,72 Hz, 1 H), 6,81 (t, J = 7,6 Hz, 1 H), 5,89 (b, 1 H), 2,21 (s, 3 H), 2,17 (s, 2 H), 1,48 (s, 6 H), 1,10 (s, 6 H).

2,2,4,4,8-pentamethyl-6-bromchroman (sloučenina Z)

Roztok 2,4-dimethyl-4-(2'-hydroxy-3'-methylfenyl)pentan-2-olu (sloučenina R₁, 2,215 g, 9,98 mmol) ve 30 ml 15% H₂SO₄ byl zahříván na 110 °C. Po ochlazení na pokojovou teplotu byla reakční směs extrahována diethyletherem. Organická vrstva byla promyta NaHCO₃ (nasyc.), solankou a vodou. Po filtraci a odstranění rozpouštědla se zbytek nechal projít kolonou (silikagel, čistý hexan) za získání titulní sloučeniny jako čirého oleje (1,636 g). Tento olej byl rozpuštěn v 1,5 ml HOAc, pak byl přidán Br₂

(0,4113 ml, 7,98 mmol). Reakční směs byla míchána při pokojové teplotě 12 hod. Rozpouštědlo bylo odstraněno za sníženého tlaku a ke zbytku byl přidán ethylacetát, a výsledná směs byla promyta NaHCO_3 (nasyc.), solankou, vodou a sušena nad MgSO_4 . Po filtraci a odstranění rozpouštědla se zbytek nechal projít kolonou (silikagel, čistý hexan) za získání titulní sloučeniny jako bílé pevné látky (2,227 g).

$^1\text{H NMR}$ δ 7,21 (s, 1 H), 7,06 (s, 1 H), 2,14 (s, 3 H), 1,79 (s, 2 H), 1,32 (s, 6 H), 1,31 (s, 6 H).

2,2,4,4,8-pentamethyl-6-chromanová kyselina (sloučenina A₁)

K roztoku 2,2,4,4,8-pentamethyl-6-bromchromanu (sloučenina Z) (1,2 g, 4,24 mmol) v 18 ml suchého THF při -78°C pod plynným argonem bylo pomalu přidáváno 5,48 ml t-BuLi (1,7 M v hexanu, 9,33 mmol). Reakční směs byla míchána při -78°C 1 hod. Pak byl roztok probubláván CO_2 po dobu 1 hod. Po odstranění přítoku CO_2 byla reakční směs byla směs míchána po další hodinu při -78°C . Pak byla přidána 10% HCl. Po ohřátí na pokojovou teplotu byla reakční směs extrahována ethylacetátem. Organická vrstva byla dále promyta solankou a sušena nad Na_2SO_4 . Po zakoncentrování byl zbytek purifikován kolonovou chromatografií (ethylacetát/hexan 5/95) za poskytnutí titulní sloučeniny jako bílé pevné látky (774 mg).

$^1\text{H NMR}$ δ 7,96 (s, 1 H), 7,75 (s, 1 H), 2,23 (s, 3 H), 1,88 (s, 2 H), 1,39 (s, 6 H).

8-Brom-4,4-dimethyl-6-chromanová kyselina (sloučenina B₁)

Za užití stejného postupu jako pro syntézu 8-brom-2,2,4,4-tetramethyl-6-chromanové kyseliny (sloučenina P), ale za užití 4,4-dimethylchromanové kyseliny (100 mg, 0,49 mmol), byla získána titulní sloučenina jako bílá pevná látka.

$^1\text{H NMR}$ δ 8,10 (d, $J = 2,1$ Hz, 1 H), 7,98 (d, $J = 2,1$ Hz, 1 H), 4,39 (t, $J = 5,44$ Hz, 2 H), 1,89 (t, $J = 5,4$ Hz, 1 H), 1,38 (s, 6 H).

Ethyl-2-amino-1-brom-5,5,8,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethylnaftalen-3-karboxylát (sloučenina D)

K roztoku ethyl-5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl-3-aminonaftalen-2-karboxylátu (sloučenina C, 58 mg, 0,21 mmol) v 2 ml HOAc byl přidán Br_2 (0,02 ml, 0,42 mmol). Oranžový roztok byl míchán při pokojové teplotě 2 dny. Nadbytek Br_2 a HOAc byly odstraněny za sníženého tlaku a zbytek se nechal projít kolonou (silikagel,

ethylacetát/hexan 1/10) za poskytnutí titulní sloučeniny jako světle oranžového oleje (59 mg, 79,5%).

$^1\text{H NMR}$ δ 7,90 (s, 1 H), 6,41 (b, 2 H), 4,36 (q, $J = 7,2$ Hz, 2 H), 1,70 (m, 4 H), 1,58 (s, 6 H), 1,40 t, $J = 7,2$ Hz, 3 H), 1,28 (s, 6 H).

Ethyl-5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl-4-bromnaftalen-2-karboxylát (sloučenina E)

Ethyl-2-amino-1-brom-5,5,8,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethylnaftalen-3-karboxylát (sloučenina D, 59 mg, 0,17 mmol) byl rozpuštěn v 2 ml EtOH při 0 °C. K tomuto roztoku byl přidán 1 ml trifluoroctové kyseliny a 1 ml isoamylnitritu. Reakční směs byla míchána při 0 °C 30min., pak byla přidána H_3PO_2 (0,325 ml, 3,14 mmol). Reakční směs bylo ponechána vřít při pokojové teplotě a míchat se 12 hod. Byl přidán NaHCO_3 (nasyc.) a reakční směs byla extrahována ethylacetátem, sušena nad MgSO_4 , zfiltrována a zakoncentrována za získání oleje. Produkt byl purifikován kolonovou chromatografií (silikagel, ethylacetát/hexan 1/10) za získání titulní sloučeniny jako bezbarvého oleje.

$^1\text{H NMR}$ δ 8,02 (d, $J = 2,0$ Hz, 1 H), 7,95 (d, $J = 2,0$ Hz, 1 H), 4,35 (q, $J = 7,1$ Hz, 2 H), 1,71 (m, 4 H), 1,56 (s, 6 H), 1,38 (t, $J = 7,1$ Hz, 3 H), 1,31 (s, 6 H).

Ethyl-5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl-3-fluornaftalen-2-yl-karboxylát (sloučenina G)

Do ethyl-5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl-3-aminonaftalen-2-karboxylátu (sloučenina C, 150 mg, 0,55 mmol) v ledové lázni bylo přidáno 0,24 ml HBF_4 (48% roztok ve vodě), a následně roztok NaNO_2 (81 mg, 1,16 mmol) v 1 ml vody. Kaše byla ponechána v ledničce 3 dny. Reakční směs byla následně promyta ethylacetátem až TLC neukazovala žádnou UV viditelnou skvrnu na startovní linii.

Ethylacetátová vrstva byla sušena s MgSO_4 a roztok byl zakoncentrován na olej. Olej byl dále rozpuštěn v 1 ml toluenu a směs byla zahřívána pod zpětným chladičem 2 hod. Po ochlazení reakční směsi na teplotu místnosti bylo odpařeno rozpouštědlo a zbytek byl nechán projít kolonou (silikagel, ethylacetát/hexan 1/10) za získání titulní sloučeniny jako oleje.

$^1\text{H NMR}$ δ 7,85 (d, $J = 7,8$ Hz, 1 H), 7,04 (d, $J = 12,3$ Hz, 1 H), 4,38 (q, $J = 7,1$ Hz, 2 H), 1,69 (s, 4 H), 1,38 (t, $J = 7,1$ Hz, 3 H), 1,30 (s, 6 H), 1,28 (s, 6 H).

2-Brom-3-hydroxy-5,5,8,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethylnaftalen (sloučenina I)

Užitím stejného postupu jako pro syntézu 8-brom-2,2,4,4-tetramethyl-6-chromanové kyseliny (sloučenina P), ale za užití 2-hydroxy-5,5,8,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyltetralinu (700 mg, 3,43 mmol) a Br₂ (0,177 ml, 3,43 mmol) v 1,5 ml HOAc, byla získána titulní sloučenina jako bílá pevná látka (747 mg).

¹H NMR δ 7,36 (s, 1 H), 6,96 (s, 2 H), 5,32 (b, 1 H), 1,66 (s, 4 H), 1,25 (s, 12 H).

5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl-3-methoxymethoxy-2-bromnaftalen (sloučenina J)

K roztoku 2-brom-3-hydroxy-5,5,8,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethylnaftalenu (sloučenina I, 600 mg, 2,12 mmol) a katalytického množství Bu₄NBr v 20 ml suchého CH₂Cl₂ při 0 °C byl přidán diisopropylethylamin (1,138 ml, 12,75 mmol), s následujícím přidáním methoxymethylchloridu (0,484 ml, 6,39 mmol). Reakční směs byla zahřívána při 45 °C 12 hod. Reakční směs byla promyta 10% roztokem kyseliny citronové, pak NaHCO₃ (nasyc.), solankou a sušena nad MgSO₄. po filtraci a odstranění rozpouštědla byl zbytek purifikován kolonovou chromatografií (ethylacetát/hexan 1/9) za poskytnutí titulní sloučeniny (722 mg) jako bílé pevné látky.

¹H NMR δ 7,43 (s, 1 H), 7,06 (s, 1 H), 5,21 (s, 2 H), 3,54 (s, 3 H), 1,66 (s, 4 H), 1,26 (s, 6 H), 1,25 (s, 6 H).

3-Methoxymethoxy-5,5,8,8-tetramethyl-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-yl-karboxylová kyselina (sloučenina K)

Užitím stejného postupu jako pro syntézu 2,2,4,4,8-pentamethyl-6-chromanové kyseliny (sloučenina A₁), ale za užití 5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl-3-methoxymethoxy-2-bromnaftalenu (sloučenina J, 722 mg, 2,21 mmol) a 2,86 ml t-BuLi (4,87 mmol, 1,7 M roztok v hexanu), byla získána titulní sloučenina jako bílá pevná látka (143 mg).

¹H NMR δ 8,12 (s, 1 H), 7,19 (s, 1 H), 5,40 (s, 2 H), 3,58 (s, 3 H), 1,70 (s, 4 H), 1,30 (s, 12 H).

Ethyl-2-fluor-4-[(5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)karbamoyl]benzoát (sloučenina 1)

K 5,5,8,8-tetramethyl-5,6,7,8-tetrahydro-2-naftoové kyselině (46 mg, 0,2 mmol) byl přidán 1 ml thionylchloridu. Tato směs byla refluxována 2 hod. Nadbytek thionylchloridu byl odstraněn za sníženého tlaku a zbytek byl rozpuštěn v 2 ml CH₂Cl₂. K tomuto

roztoku byl přidán ethyl-4-amino-2-fluorbenzoát (sloučenina C₁, 37 mg, 0,2 mmol) a následně 0,5 ml pyridinu. Reakční směs byla míchána při pokojové teplotě 4 hod a byla zakonzentrována za sníženého tlaku. Zbytek byl purifikován kolonovou chromatografií (ethylacetát/hexan 1/10) za získání titulní sloučeniny jako bílé pevné látky.

¹H NMR δ 8,06 (b, 1 H), 7,93 (t, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,85 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 7,78 (dd, J₁ = 2,0 Hz, J₂ = 12,9 Hz, 1 H), 7,55 (dd, J₁ = 2,0 Hz, J₂ = 8,2 Hz, 1 H), 7,40 (d, J = 8,3 Hz, 1 H), 7,32 (dd, J₁ = 2,02 Hz, J₂ = 8,8 Hz, 1 H), 4,38 (q, J = 7,2 Hz, 2 H), 1,71 (s, 4 H), 1,40 (t, J = 7,2 Hz), 1,32 (s, 6 H), 1,30 (s, 6 H).

Ethyl-2-fluor-4-[(5',6',7',8'-tetrahydro-4'-brom-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)karbamoyl]benzoát (sloučenina 3)

Užitím stejného postupu jako pro syntézu ethyl-2-fluor-4-[(5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)karbamoyl]benzoátu (sloučenina 1), ale za užití 5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl-4-bromnaftalen-2-karboxylové kyseliny (sloučenina F), byla získána titulní sloučenina jako bílá pevná látka.

¹H NMR δ 8,30 (b, 1 H), 7,92 (t, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,84 (d, J = 2,1 Hz, 1 H), 7,81 (d, J = 2,1 Hz, 1 H), 7,74 (dd, J₁ = 2,1 Hz, J₂ = 12,8 Hz, 1 H), 7,35 (dd, J₁ = 2,0 Hz, J₂ = 8,4 Hz, 1 H), 4,36 (q, J = 7,2 Hz, 2 H), 1,67 (m, 4 H), 1,55 (s, 6 H), 1,39 (t, J = 7,2 Hz, 3 H), 1,31 (s, 6 H).

Ethyl-2-fluor-4-[(3'-methoxymethoxy-5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)karbamoyl]benzoát (sloučenina K₁)

Užitím stejného postupu jako pro syntézu ethyl-2-fluor-4-[(3'-methoxymethoxy-4'-brom-5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)karbamoyl]benzoátu (sloučenina S₁), ale za užití 3-methoxymethoxy-5,5,8,8-tetramethyl-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-yl-karboxylové kyseliny (sloučenina K, 143 mg, 0,49 mmol) a 4-amino-2-fluorbenzoátu (sloučenina C₁, 98,5 mg, 0,54 mmol), byla získána titulní sloučenina jako bílá pevná látka.

¹H NMR δ 10,1 (b, 1 H), 8,20 (s, 1 H), 7,93 (t, J = 8,8 Hz, 1 H), 7,83 (d, J = 13,4 Hz, 1 H), 7,29 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 5,41 (s, 2 H), 4,39 (q, J = 7,1 Hz, 2 H), 3,59 (s, 3 H), 1,70 (s, 4 H), 1,31 (s, 12 H), 1,26 (t, J = 7,1 Hz, 3 H).

Ethyl-2-fluor-4-[(3'-hydroxy-5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethyl-2-naftalenyl)karbamoyl]benzoát (sloučenina 5)

K roztoku ethyl-2-fluor-4-[(3'-methoxymethoxy-5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)karbamoyl]benzoátu (sloučenina K₁, 50,7 mg, 0,11 mmol) v 2 ml CH₂Cl₂ byl přidán thiofenol (0,061 ml, 0,55 mmol). Reakční směs byla míchána při 0 °C 5 min., pak byl přidán BF₃·Et₂O (0,027 ml, 0,22 mmol). Reakční směs byla míchána při 0 °C 2 hod, pak byl přidán NaHCO₃ (nasyc.). Organická vrstva byla oddělena a promyta solankou, vodou a sušena nad MgSO₄. Po zfiltrování a odstranění rozpouštědla se nechal zbytek projít přes kolonu (silikagel, ethylacetát/hexan 1/3) za získání titulní sloučeniny jako bílé pevné látky (44,2 mg).

¹H NMR δ 8,61 (b, 1 H), 7,94 (t, J = 8,42 Hz, 1 H), 7,71 (dd, J = 10,8; 2,0 Hz, 1 H), 7,53 (s, 1 H), 7,35 (dd, J = 6,4; 2,0 Hz, 1 H), 6,96 (s, 1 H), 4,39 (q, J = 7,1 Hz, 2 H), 1,69 (s, 4 H), 1,40 (t, J = 7,1 Hz, 3 H), 1,29 (s, 6 H), 1,27 (s, 6 H).

Ethyl-2-fluor-4-[(4',4'-dimethyl-8'-bromchroman-6'-yl)karbamoyl]benzoát (sloučenina 7)

K 4,4-dimethyl-8-brom-6-chromanové kyselině (sloučenina B₁, 139 mg, 0,485 mmol) v 10 ml baňce s kulatým dnem byl přidán SOCl₂ (1 ml, velký nadbytek). Výsledný roztok byl zahříván při 90 °C 2 hod a byl ponechán zchladnout na teplotu místnosti. Nadbytek SOCl₂ byl odpařen za sníženého tlaku. Zbytek byl rozpuštěn v CH₂Cl₂ (3 ml). Byl přidán ethyl-4-amino-2-fluorbenzoát (sloučenina C₁, 90 mg, 0,49 mmol) a následně pyridin (0,5 ml, velký nadbytek). Reakční směs byla míchána přes noc a pak zakoncentrována do sucha. Zbytek byl purifikován kolonovou chromatografií s ethylacetátem/hexanem (1/5) za poskytnutí titulní sloučeniny jako bílé pevné látky (190 mg).

¹H NMR δ 7,95 (t, J = 8,31 Hz, 1 H), 7,88 (b, 1 H), 7,83 (d, J = 2,2, 1 H), 7,80 (d, J = 2,2 Hz, 1 H), 7,75 (dd, J = 12,89; 2,0 Hz, 1 H), 7,30 (dd, J = 8,55; 2,0 Hz, 1 H), 4,37 (m, 5 H), 1,89 (t, J = 5,49 Hz, 2 H), 1,40 (t, J = 7,1 Hz, 3 H), 1,39 (s, 6 H).

Ethyl-2-fluor-4-[(2',2',4',4'-tetramethyl-8'-bromchroman-6'-yl)karbamoyl]benzoát (sloučenina 9)

Užitím stejného postupu jako pro ethyl-2-fluor-4-[(4',4'-dimethyl-8'-bromchroman-6'-yl)karbamoyl]benzoát (sloučenina 7), ale za užití 2,2,4,4-tetramethyl-8-brom-6-chromanové kyseliny (sloučenina P, 70 mg, 0,22 mmol) a ethyl-4-amino-2-

fluorbenzoátu (sloučenina C₁, 38 mg, 0,22 mmol), byla získána titulní sloučenina ve formě bílé pevné látky (80 mg, 76%).

¹H NMR δ 8,25 (b, 1 H), 7,92 (t, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,83 (s, 2 H), 7,74 (dd, J₁ = 2,0 Hz, J₂ = 13,0 Hz, 1 H), 7,34 (dd, J₁ = 2,0, J₂ = 8,7 Hz, 1 H), 4,37 (q, J = 7,1 Hz, 2 H), 1,88 (s, 2 H), 1,41 (s, 6 H), 1,39 (t, J = 7,1 Hz, 3 H), 1,37 (s, 6 H).

Ethyl-2-fluor-4-[(2',2',4',4'-tetramethyl-8'-trifluormethylchroman-6'-yl)karbamoyl]benzoát (sloučenina 11)

Užitím stejného postupu jako pro ethyl-2-fluor-4-[(4',4'-dimethyl-8'-bromchroman-6'-yl)karbamoyl]benzoát (sloučenina 7), ale za užití 2,2,4,4-tetramethyl-8-trifluormethyl-6-chromanové kyseliny (sloučenina S, 57 mg, 0,19 mmol) a ethyl-4-amino-2-fluorbenzoátu (sloučenina C₁, 35 mg, 0,19 mmol), byla získána titulní sloučenina jako bílá pevná látka.

¹H NMR δ 8,06 (d, J = 2,2 Hz, 1 H), 7,99 (b, 1 H), 7,95 (t, J = 8,55 Hz, 1 H), 7,81 (d, J = 2,2 Hz, 1 H), 7,76 (dd, J = 12,8; 2,1 Hz, 1 H), 7,33 (dd, J = 8,55; 1,9 Hz, 1 H), 4,37 (q, J = 7,1 Hz, 2 H), 1,93 (s, 2 H), 1,41 (s, 12 H), 1,40 (t, J = 7,2 Hz, 3 H).

Ethyl-2-fluor-4-[(2',2',4',4'-tetramethyl-8'-aminochroman-6'-yl)karbamoyl]benzoát (sloučenina N₁)

Užitím 8-nitro-2,2,4,4-tetramethylchroman-6-karboxylové kyseliny (sloučenina V) a následujícího stejného postupu jako pro syntézu ethyl-2-fluor-4-[(4',4'-dimethyl-8'-bromchroman-6'-yl)karbamoyl]benzoátu (sloučenina 7), byl získán ethyl-2-fluor-4-[(2',2',4',4'-tetramethyl-8'-nitrochroman-6'-yl)karbamoyl]benzoát jako bílá pevná látka. Tato sloučenina (50 mg, 0,12 mmol) byla rozpuštěna v 2 ml methanolu. Do roztoku bylo přidáno katalytické množství Pd/C a roztok byl uchováván pod H₂ atmosférou (vodíkový balon) přes noc. Katalyzátor byl odstraněn filtrací a rozpouštědlo bylo odpařeno za získání titulní sloučeniny jako bílé pevné látky.

¹H NMR δ 7,93 (t, J = 8,43 Hz, 1 H), 7,90 (b, 1 H), 7,73 (dd, J = 12,9; 2,0 Hz, 1 H), 7,29 (dd, J = 8,43; 1,96 Hz, 1 H), 7,23 (d, J = 2,14 Hz, 1 H), 7,01 (d, J = 2,2 Hz, 1 H), 4,35 (q, J = 7,1 Hz, 2 H), 1,88 (s, 2 H), 1,39 (s, 6 H), 1,38 (t, J = 7,1 Hz, 3 H), 1,37 (s, 6 H).

Ethyl-2-fluor-4-[(2',2',4',4'-tetramethyl-8'-azidochroman-6'-yl)karbamoyl]benzoát

(sloučenina 13)

K roztoku ethyl-2-fluor-4-[(2',2',4',4'-tetramethyl-8'-aminochroman-6'-yl)karbamoyl]benzoátu (sloučenina N₁, 32 mg, 0,077 mmol) v 3 ml EtOH bylo přidáno 0,5 ml trifluoroctové kyseliny (TFA) a 0,5 ml isoamylinitritu při 0 °C. Reakční směs byla míchána 2 hod, když byl přidán roztok NaN₃ (5 mg) v 0,2 ml vody. Reakční směsi bylo umožněno zahřát se na pokojovou teplotu a byla míchána přes noc. Rozpouštědlo bylo odstraněno a zbytek byl purifikován kolonovou chromatografií (silikagel, ethylacetát/hexan 1/10) za získání titulní sloučeniny jako bezbarvého oleje.

¹H NMR δ 8,0 (b, 1 H), 7,94 (t, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,73 (d, J = 12,1 Hz, 1 H), 7,64 (s, 1 H), 7,31 (dd, J = 8,5; 2,0 Hz, 1 H), 7,21 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 4,37 (q, J = 7,1 Hz, 2 H), 1,90 (s, 2 H), 1,39 (t, J = 7,1 Hz, 3 H), 1,45 (s, 6 H), 1,40 (s, 6 H).

Methyl-2,6-difluor-4-[(2',2',4',4'-tetramethyl-8'-trifluormethylchroman-6'-yl)karbamoyl]benzoát (sloučenina 15)

Užitím stejného postupu jako pro ethyl-2-fluor-4-[(4',4'-dimethyl-8'-bromchroman-6'-yl)karbamoyl]benzoát (sloučenina 7), ale za užití 2,2,4,4-tetramethyl-8-trifluormethylchromanové kyseliny (sloučenina S, 11,2 mg, 0,037 mmol) a methyl-4-amino-2,6-difluorbenzoátu (sloučenina H₁, 6,6 mg, 0,035 mmol), byla získána titulní sloučenina ve formě bílých krystalů.

¹H NMR δ 8,21 (b, 1 H), 8,05 (s, 1 H), 7,82 (s, 1 H), 7,36 (d, J = 10,20 Hz, 1 H), 3,93 (s, 3 H), 1,92 (s, 2 H), 1,40 (s, 12 H).

Ethyl-2-fluor-4-[(2',2',4',4'-tetramethyl-8'-jodchroman-6'-yl)karbamoyl]benzoát (sloučenina 17)

Užitím stejného postupu jako pro ethyl-2-fluor-4-[(4',4'-dimethyl-8'-bromchroman-6'-yl)karbamoyl]benzoát (sloučenina 7), ale za užití 2,2,4,4-tetramethyl-8-jodchromanové kyseliny (sloučenina X, 81 mg, 0,25 mmol) a ethyl-4-amino-2-fluorbenzoátu (sloučenina C₁, 55 mg, 0,30 mmol), byla získána titulní sloučenina jako bílá pevná látka.

¹H NMR δ 8,05 (b, 1 H), 8,01 (d, J = 2,2 Hz, 1 H), 7,94 (t, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,86 (d, J = 2,2 Hz, 1 H), 7,75 (dd, J = 12,88; 2,1 Hz, 1 H), 7,33 (dd, J = 8,8; 2,1 Hz, 1 H), 4,37 (q, J = 7,1 Hz, 2 H), 1,89 (s, 2 H), 1,42 (s, 6 H), 1,38 (s, 6 H).

Ethyl-2-fluor-4-[(2',2',4',4',8'-pentamethylchroman-6'-yl)karbamoyl]benzoát

(sloučenina 19)

Užitím stejného postupu jako pro ethyl-2-fluor-4-[(4',4'-dimethyl-8'-bromchroman-6'-yl)karbamoyl]benzoát (sloučenina 7), ale za užití 2,2,4,4,8-pentamethyl-6-chromanové kyseliny (sloučenina A₁, 92 mg, 0,37 mmol) a ethyl-4-amino-2-fluorbenzoátu (sloučenina C₁, 75 mg, 0,41 mmol), byla získána titulní sloučenina jako bílá pevná látka (100 mg).

¹H NMR δ 8,31 (b, 1 H), 7,90 (t, J = 8,24 Hz, 1 H), 7,76 (dd, J = 14,29; 1,7 Hz, 1 H), 7,74 (s, 1 H), 7,43 (s, 1 H), 7,35 (dd, J = 8,67; 1,7 Hz, 1 H), 4,32 (q, J = 7,1 Hz, 2 H), 2,18 (s, 3 H), 1,84 (s, 2 H), 1,38 (t, J = 7,1 Hz, 3 H), 1,35 (s, 6 H), 1,34 (s, 6 H).

Ethyl-4-[(5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethyl-2-naftalenyl)thiokarbamoyl]benzoát (sloučenina 21)

K roztoku ethyl-4-[(5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2-yl)karbamoyl]benzoátu (sloučenina I₁, 61 mg, 0,16 mmol) v 2 ml bezvodého benzenu bylo přidáno Lawessonovo činidlo (45 mg, 0,112 mmol). Výsledný žlutý roztok byl refluxován pod N₂ 2 hod. Rozpouštědlo bylo odstraněno a zbytek byl purifikován kolonovou chromatografií (silikagel, ethylacetát/hexan 1/5) za získání titulní sloučeniny jako žluté pevné látky (55 mg, 87%).

¹H NMR δ 9,04 (b, 1 H), 8,11 (d, J = 8,70 Hz, 2 H), 7,85 (b, 2 H), 7,75 (b, 1 H), 7,55 (dd, J = 8,2; 1,9 Hz, 1 H), 7,36 (d, J = 8,3 Hz, 1 H), 4,38 (q, J = 7,1 Hz, 2 H), 1,71 (s, 4 H), 1,40 (t, J = 7,1 Hz, 3 H), 1,30 (s, 12 H).

Ethyl-2-fluor-4-[(5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)thiokarbamoyl]benzoát (sloučenina 23)

Užitím stejného postupu jako pro syntézu ethyl-4-[(5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethyl-2-naftalenyl)thiokarbamoyl]benzoátu (sloučenina 21), ale za užití ethyl-2-fluor-4-[(5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)karbamoyl]benzoátu (sloučenina 1, 167 mg, 0,42 mmol) v 8 ml benzenu a Lawessonova činidla (220 mg, 0,544 mmol), byla získána titulní sloučenina jako světle žlutá pevná látka (127,5 mg).

¹H NMR δ 9,30 (b, 1 H), 8,05 (b, 1 H), 7,95 (t, J = 8,37 Hz, 1 H), 7,77 (d, J = 1,89 Hz, 1 H), 7,53 (dd, J = 8,24; 2,1 Hz, 1 H), 7,49 (b, 1 H), 7,35 (d, J = 8,24 Hz, 1 H), 4,33

(q, $J = 7,1$ Hz, 1 H), 1,71 (s, 4 H), 1,32 (s, 6 H), 1,30 (s, 6 H).

3-Hydroxy-5,5,8,8-tetramethyl-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-yl karboxylová kyselina
(sloučenina L)

K roztoku 2-brom-3-methoxymethoxy-5,5,8,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl naftalenu (sloučenina J, 722 mg, 2,2 mmol) v 10 ml suchého THF při -78 °C pod argonem bylo pomalu přidáváno 2,86 ml t-BuLi (1,7 M v hexanu, 4,8 mmol). Reakční směs byla míchána při -78 °C 1 h. Pak byl roztok 1 hod probubláván CO_2 . Po odstranění přívodu CO_2 byla reakční směs míchána další hodinu při -78 °C. Pak bylo přidáno 10% HCl. Po zahřátí na pokojovou teplotu byla reakční směs nechána přes noc a pak extrahována ethylacetátem. Organická vrstva byla promyta solankou a sušena nad Na_2SO_4 . Po zakoncentrování byl zbytek purifikován kolonovou chromatografií (ethylacetát/hexan 1/3) za poskytnutí titulní sloučeniny jako bílé pevné látky.

^1H NMR δ 7,85 (s, 1 H), 6,93 (s, 1 H), 1,68 (s, 4 H), 1,28 (s, 12 H).

4-Brom-3-hydroxy-5,5,8,8-tetramethyl-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-yl karboxylová kyselina (sloučenina M)

3-Hydroxy-5,5,8,8-tetramethyl-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-yl karboxylová kyselina (sloučenina L, 155 mg, 0,62 mmol) byla rozpuštěna v 1 ml HOAc. K tomuto roztoku byl přidán Br_2 (0,033 ml, 0,62 mmol). Reakční směs byla ponechána při pokojové teplotě přes noc. Reakční směs byla probublávána proudem vzduchu pro odstranění nezreagovaného Br_2 . Zbývající pevná látka byla rozpuštěna v malém množství THF a purifikována kolonovou chromatografií (ethylacetát/hexan 1/1) za poskytnutí požadovaného produktu jako krémově zbarvené pevné látky.

^1H NMR δ 7,91 (s, 1 H), 1,75 (m, 2 H), 1,64 (m, 2 H), 1,62 (s, 6 H), 1,30 (s, 6 H).

4-Brom-3-methoxymethoxy-5,5,8,8-tetramethyl-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-yl karboxylová kyselina (sloučenina N)

K roztoku 4-brom-3-hydroxy-5,5,8,8-tetramethyl-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-yl karboxylové kyseliny (sloučenina M, 233 mg, 0,71 mmol) v 6 ml CH_2Cl_2 byl přidán chlormethylmethylether (0,162 ml, 2,1 mmol), diisopropylethylamin (0,764 ml, 4,2 mmol) a katalytické množství tetrabutylamonium bromidu. Reakční směs byla zahřívána na 45 °C 2 hod. Reakční směs byla zakoncentrována a zbytek byl purifikován kolonovou

chromatografií (ethylacetát/hexan 1/9) za poskytnutí methoxymethylesteru titulní sloučeniny jako bílé pevné látky (200 mg). Tato bílá pevná látka byla dále rozpuštěna v 20 ml EtOH. Byl přidán vodný roztok NaOH (0,5 ml, 1 M). Reakční směs byla míchána při pokojové teplotě přes noc. EtOH byl odstraněn a ke zbytku byly přidány 2 ml ethylacetátu a 3 ml vody. Tato směs byla velmi pomalu okyselována 10% HCl na pH = 7. Ethylacetátová vrstva byla oddělena a promyta solankou, sušena nad Na₂SO₄. Po zfiltrování sušícího činidla a odstranění rozpouštědla poskytla reakce titulní sloučeninu jako bílou pevnou látku (155 mg).

¹H NMR δ 7,99 (s, 1 H), 5,20 (s, 2 H), 3,66 (s, 3 H), 1,74 (m, 2 H), 1,67 (m, 2 H), 1,60 (s, 6 H), 1,32 (s, 6 H).

Ethyl-2-fluor-4-[(3'-methoxymethoxy-4'-brom-5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)karbamoyl]benzoát (sloučenina S₁)

K roztoku 4-brom-3-methoxymethoxy-5,5,8,8-tetramethyl-5,6,7,8-tetrahydro naftalen-2-yl karboxylové kyseliny (sloučenina N, 80 mg, 0,22 mmol) v 4 ml CH₂Cl₂ byl přidán DMAP (60 mg, 0,26 mmol), ethyl-2-fluor-4-aminobenzoát (sloučenina C₁, 43 mg, 0,24 mmol) a EDC (50 mg, 0,26 mmol). Reakční směs byla míchána při pokojové teplotě přes noc a pak zahuštěna do sucha. Zbytek byl purifikován kolonovou chromatografií (ethylacetát/hexan 1/3) za poskytnutí titulní sloučeniny jako čirého oleje (45 mg).

¹H NMR δ 9,92 (b, 1 H), 8,10 (s, 1 H), 7,94 (t, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,81 (dd, J = 12,9; 1,9 Hz, 1 H), 7,35 (dd, J = 8,5; 1,8 Hz, 1 H), 5,20 (s, 2 H), 4,39 (q, J = 7,1 Hz, 2 H), 3,61 (s, 3 H), 1,74 (m, 2 H), 1,64 (m, 2 H), 1,60 (s, 6 H), 1,40 (t, J = 7,1 Hz, 3 H), 1,34 (s, 6 H).

Methyl-2,6-difluor-4-[(3'-methoxymethoxy-4'-brom-5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)karbamoyl]benzoát (sloučenina M₁)

Užitím stejného postupu jako pro syntézu sloučeniny ethyl-2-fluor-4-[(3'-methoxymethoxy-4'-brom-5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)karbamoyl]benzoátu (sloučenina S₁), ale za užití 4-brom-3-methoxymethoxy-5,5,8,8-tetramethyl-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-yl karboxylové kyseliny (sloučenina N, 80 mg, 0,22 mmol), DMAP (60 mg, 0,26 mmol), methyl-2,6-difluor-4-aminobenzoátu (sloučenina H₁, 52 mg, 0,24 mmol) a EDC (50 mg, 0,26 mmol), byla získána titulní

sloučenina jako čirý olej.

^1H NMR δ 10,01 (b, 1 H), 8,11 (s, 1 H), 7,42 (d, $J = 10,0$ Hz, 2 H), 5,2 (s, 2 H), 3,95 (s, 3 H), 3,63 (s, 3 H), 1,75 (m, 2 H), 1,65 (m, 2 H), 1,61 (s, 6 H), 1,35 (s, 6 H).

4-Brommethyl-2,6-diterc.butylpyridin (sloučenina A₃)

Ke směsi 2,6-di-*t*-butyl-4-methylpyridinu (Aldrich, 2,0 g, 9,73 mmol) v 25 ml suchého CCl_4 byl přidán benzoylperoxid (24 mg, 0,097 mmol) a NBS (1,9 g, 10,7 mmol). Reakční směs byla refluxována 16 hodin. Po jejím ochlazení na pokojovou teplotu bylo vakuově odstraněno rozpouštědlo a zbytek byl purifikován kolonovou chromatografií (silikagel, hexan) za získání oleje (1,957 g), který obsahoval 82% požadovaného produktu a 18% výchozí látky. ^1H NMR δ 7,09 (s, 2 H), 4,39 (s, 2 H), 1,35 (s, 18 H).

4-Hydroxymethyl-2,6-diterc.butylpyridin (sloučenina B₃)

Heterogenní roztok 4-brommethyl-2,6-diterc.butylpyridinu (sloučenina A₃, 1,743 g, 82% čistota) v 20 ml 12% NaOH ve vodě a 10 ml 1,4-dioxanu bylo refluxováno 12 hodin. Roztok se spontánně rozdělil na dvě vrstvy, zatímco se ochlazoval na pokojovou teplotu. Horní vrstva byla oddělena a byl přidán ethylacetát. Tato organická vrstva byla pak promyta solankou, vodou a sušena s MgSO_4 . požadovaný produkt byl purifikován kolonovou chromatografií (ethylacetát/hexan 1/9) za získání bílé pevné látky. ^1H NMR δ 7,09 (s, 2 H), 4,67 (d, $J = 4,4$ Hz, 2 H), 2,3 (b, 1 H), 1,36 (s, 18 H).

2,6-Diterc.butylisonikotinová kyselina (sloučenina C₃)

Joneovo činidlo bylo přidáváno po kapkách k roztoku 4-hydroxymethyl-2,6-diterc.butylpyridinu (sloučenina B₃, 302 mg, 1,37 mmol) v 5 ml acetonu dokud roztok nezměnil zbarvení ze světle žlutého na oranžové (bylo spotřebováno 55 kapek Joneova činidla). Po 5 minutách byly k reakční směsi přidány 2 ml isopropanolu, a vytvořila se zelená sraženina Cr^{3+} soli. Sraženina byla odstraněna filtrací a roztok byl naředěn ethylacetátem, pak promyt solankou, vodou a sušen s MgSO_4 . Po zfiltrování bylo odstraněno rozpouštědlo za získání požadovaného produktu jako bílé pevné látky (227 mg). ^1H NMR δ 7,71 (s, 2 H), 1,34 (s, 18 H).

2-Brom-4,6-diterc.butylfenol (sloučenina D₃)

K roztoku 2,4-di-*t*-butylfenolu (Aldrich, 2,0 g, 9,7 mmol) v 2 ml HOAc byl přidán Br₂ (0,5 ml, 9,7 mmol). Reakční směs byla míchána při pokojové teplotě 12 hodin. Rozpouštědlo bylo odstraněno za sníženého tlaku a zbytek byl purifikován kolonovou chromatografií (ethylacetát/hexan 1/20) za poskytnutí požadovaného produktu (2,54 g) jako bílé pevné látky. ¹H NMR δ 7,33 (d, J = 2,3 Hz, 1 H), 7,24 (d, J = 2,3 Hz, 1 H), 1,41 (s, 9 H), 1,29 (s, 9 H).

O-methoxymethyl-2-brom-4,6-diterc.butylfenol (sloučenina E₃)

K roztoku 2-brom-4,6-diterc.butylfenolu (sloučenina D₃, 2,54 g, 8,88 mmol) a katalytického množství Bu₄NI v 20 ml suchého CH₂Cl₂ při 0 °C byl přidán diisopropylethylamin (9,51 ml, 53 mmol), a následným přidáním methoxymethylchloridu (2,02 ml, 26,6 mmol). Reakční směs byla zahřívána na 45 °C 12 hodin. Reakční směs byla pak promyta 10% kyselinou citronovou, pak NaHCO₃ (nasc.), solankou, a sušena s MgSO₄. Po filtraci a odstranění rozpouštědla za sníženého tlaku byl zbytek purifikován kolonovou chromatografií (čistý hexan) za poskytnutí titulní sloučeniny (2,79 g) jako bezbarvého oleje.

¹H NMR δ 7,40 (d, J = 2,44 Hz, 1 H), 7,30 (d, J = 2,4 Hz, 1 H), 5,22 (s, 2 H), 3,70 (s, 3 H), 1,43 (s, 9 H), 1,29 (s, 9 H).

O-methoxymethyl-3',5'-diterc.butylsalicylová kyselina (sloučenina F₃)

K roztoku O-methoxymethyl-2-brom-4,6-diterc.butylfenolu (sloučenina E₃, 2,79 g, 8,5 mmol) v 30 ml suchého THF při -78 °C pod Ar bylo přidáno 11 ml *t*-BuLi (1,7 M v hexanu, 18,7 mmol). Tato směs byla míchána při -78 °C 1 hodinu. Pak byl roztok probubláván při -78 °C 1 hodinu CO₂ (g). Po odstranění přívodu CO₂ byla reakční směs míchána další hodinu při -78 °C. Pak bylo přidáno 10% HCl a směs byla ponechána ohřát se na teplotu místnosti a extrahována ethylacetátem. Organická vrstva byla promyta solankou a sušena s Na₂SO₄. Po zakoncentrování byl zbytek purifikován kolonovou chromatografií (ethylacetát/hexan 1/1) za poskytnutí titulní sloučeniny jako bílé pevné látky (492 mg).

¹H NMR δ 7,75 (d, J = 2,81, 1 H), 7,60 (d, J = 2,8 Hz, 1 H), 5,07 (s, 2 H), 3,62 (s, 3 H), 1,33 (s, 9 H), 1,26 (s, 9 H).

Ethyl-2-fluor-4-[(2',6'-diterc.butylpyrid-4'-yl)karbamoyl]benzoát (sloučenina 41)

Roztok 2,6-diterc.butylisonikotinové kyseliny (sloučenina C₃, 47,3 mg, 0,20 mmol) v 2 ml SOCl₂ byl zahříván pod zpětným chladičem 2 hodiny. Přebytek SOCl₂ byl vakuově odstraněn a zbytek byl rozpuštěn v 2 ml suchého CH₂Cl₂, a byly přidány ethyl-2-fluor-4-aminobenzoát (sloučenina C₁, 40,2 mg, 0,22 mmol) a pyridin (0,0835 ml, 0,69 mmol). Reakční směs byla míchána při pokojové teplotě 12 hodin. Rozpouštědlo bylo odstraněno a zbytek byl purifikován kolonovou chromatografií (ethylacetát/hexan 1/9) za poskytnutí titulní sloučeniny (71,2 mg) ve formě bílých krystalů.

¹H NMR δ 8,56 (b, 1 H), 7,91 (t, J = 8,36 Hz, 1 H), 7,53 (dd, J = 12,82; 2,0 Hz, 1 H), 7,39 (dd, J = 8,7; 2,0 Hz, 1 H), 4,33 (q, J = 7,1 Hz, 2 H), 1,37 (t, J = 7,1 Hz, 3 H), 1,35 (s, 18 H).

Ethyl-4-[(2',6'-diterc.butylpyrid-4'-yl)karbamoyl]benzoát (sloučenina 43)

Užitím stejného postupu jako pro syntézu ethyl-2-fluor-4-[(2',6'-diterc.butylpyrid-4'-yl)karbamoyl]benzoátu (sloučenina 41), ale za užití 2,6-diterc.butylisonikotinové kyseliny (sloučenina C₃, 101 mg, 0,43 mmol) a ethyl-4-aminobenzoátu (78 mg, 0,47 mmol), byla získána titulní sloučenina jako bílá pevná látka (135 mg).

¹H NMR δ 8,43 (b, 1 H), 8,02 (d, J = 8,7 Hz, 2 H), 7,75 (d, J = 8,7 Hz, 2 H), 7,48 (s, 2 H), 4,33 (q, J = 7,1 Hz, 2 H), 1,38 (t, J = 7,1 Hz, 3 H), 1,35 (s, 18 H).

Ethyl-2-fluor-4-[(3',5'-diterc.butylfenyl)karbamoyl]benzoát (sloučenina 45)

Užitím stejného postupu jako pro syntézu ethyl-2-fluor-4-[(2',6'-diterc.butylpyrid-4'-yl)karbamoyl]benzoátu (sloučenina 41), ale za užití 3,5-diterc.butylbenzoové kyseliny (60 mg, 0,26 mmol, dostupná literárním postupem, viz Kagechika a spol., J. Med. Chem. 1988 31, 2182 - 2192), a ethyl-2-fluor-4-aminobenzoátu (sloučenina C₁, 51,5 mg, 0,28 mmol), byla získána titulní sloučenina jako bílá pevná látka (66 mg).

¹H NMR δ 8,21 (b, 1 H), 7,93 (t, J = 8,3 Hz, 1 H), 7,79 (dd, J = 12,8; 2,0 Hz, 1 H), 7,67 (d, J = 1,8 Hz, 2 H), 7,65 (t, J = 1,7 Hz, 1 H), 7,35 (dd, J = 8,7; 2,1 Hz, 1 H), 4,36 (q, J = 7,2 Hz, 2 H), 1,39 (t, J = 7,2 Hz, 3 H), 1,36 (s, 18 H).

Ethyl-2-fluor-4-[(2'-methoxymethyl-3',5'-diterc.butylfenyl)karbamoyl]benzoát
(sloučenina G₃)

Ke směsi O-methoxymethyl-3',5'-diterc.butylsalicylové kyseliny (sloučenina F₃,

150 mg, 0,51 mmol), 4-dimethylaminopyridinu (142 mg, 0,61 mmol) a ethyl-2-fluor-4-aminobenzoátu (sloučenina C₁, 102 mg, 0,56 mmol) v 5 ml suchého CH₂Cl₂ byl přidán 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimid hydrochlorid (117 mg, 0,61 mmol). Reakční směs byla míchána za pokojové teploty 12 hodin. Rozpouštědlo bylo vakuově odpařeno a zbytek byl rozpuštěn v ethylacetátu, pak promyt solankou, vodou a sušen s MgSO₄. Po zfiltrování bylo odstraněno rozpouštědlo a zbytek byl purifikován kolonovou chromatografií (ethylacetát/hexan 1/3) za získání titulní sloučeniny (58 mg).

¹H NMR δ 8,97 (b, 1 H), 7,94 (t, J = 8,37 Hz, 1 H), 7,78 (d, J = 2,7 Hz, 1 H), 7,61 (d, J = 13,0 Hz, 1 H), 7,56 (d, J = 2,6 Hz, 1 H), 7,35 (d, J = 8,7 Hz, 1 H), 5,00 (s, 2 H), 3,53 (s, 3 H), 4,38 (q, J = 7,1 Hz, 2 H), 1,47 (s, 9 H), 1,39 (t, J = 7,2 Hz, 3 H), 1,33 (s, 9 H).

Ethyl-2-fluor-4-[(2'-hydroxy-3',5'-diterc.butylfenyl)karbamoyl]benzoát (sloučenina 47)

K roztoku ethyl-2-fluor-4-[(2'-methoxymethyl-3',5'-diterc.butylfenyl) karbamoyl] benzoátu (sloučenina G₃, 34 mg, 0,07 mmol) v 1 ml THF bylo přidáno 10 kapek HOAc. Reakční směs byla zahřívána do refluxu 12 hodin. Rozpouštědlo bylo odstraněno a byl přidán ethylacetát. Roztok byl promyt NaHCO₃ (nasc.), solankou, vodou a sušen s MgSO₄. Rozpouštědlo bylo vakuově odstraněno za získání oleje. Olej byl ponechán působení atmosféry 12 hodin, během nichž se tvořily krystaly. Krystaly byly sesbírány a několikrát promyty hexanem za poskytnutí titulní sloučeniny jako bílé pevné látky (13,5 mg).

¹H NMR δ 10,73 (s, 1 H), 7,98 (d, J = 2,56 Hz, 1 H), 7,88 (b, 1 H), 7,75 (t, J = 8,26 Hz, 1 H), 7,60 (d, J = 2,44 Hz, 1 H), 7,32 (dd, J = 12,3; 2,0 Hz, 1 H), 7,02 (dd, J = 8,6; 2,0 Hz, 1 H), 4,35 (q, J = 7,2 Hz, 2 H), 1,39 (s, 9 H), 1,37 (t, J = 7,2 Hz, 3 H), 1,5 (s, 9 H).

2,6-Difluor-4-[(2',6'-diterc.butylpyrid-4'-yl)karbamoyl]benzoová kyselina (sloučenina 50)

K 2,6-di-*t*-butylisonikotinové kyselině (sloučenina C₃, 20 mg, 0,085 mmol) byl přidán 1 ml SOCl₂. Směs byla zahřívána pod zpětným chladičem 2 hodiny. Po ochlazení na pokojovou teplotu byl odstraněn přebytek SOCl₂ a zbytek byl rozpuštěn v 2 ml CH₂Cl₂. K tomuto roztoku byl přidán methyl-2,6-difluor-4-aminobenzoát (sloučenina H₁, 16 mg, 0,085 mmol) a triethylamin (0,015 ml, 0,1 mmol). Reakční směs

byla udržována při pokojové teplotě 2 hodiny a pak byla zahuštěna do sucha. Zbytek byl purifikován kolonovou chromatografií (ethylacetát/hexan 1/10) za poskytnutí methylesteru titulní sloučeniny. Tento byl zmýdlen podle obecného postupu (viz níže) za získání titulní sloučeniny jako bezbarvé pevné látky. ^1H NMR δ 7,44 (s, 2 H), 7,40 (d, J = 11,8 Hz, 2 H), 1,37 (s, 18 H).

2,6-Difluor-4-[(3',5'-diterc.butylfenyl)karbamoyl]benzoová kyselina (sloučenina 52)

Užitím stejného postupu jako pro syntézu 2,6-difluor-4-[(2',6'-diterc.butylpyrid-4'-yl)karbamoyl]benzoové kyseliny (sloučenina 50), ale za užití 3,5-diterc.butylbenzoové kyseliny (37 mg, 0,16 mmol) a methyl-2,6-difluor-4-aminobenzoátu (sloučenina H₁, 29 mg, 0,16 mmol), byla získána titulní sloučenina ve formě bezbarvých krystalů.

^1H NMR δ 7,92 (b, 1 H), 7,60 (m, 3 H), 7,42 (d, J = 10,0 Hz, 2 H), 1,38 (s, 18 H).

2-Nitro-4-[(2',6'-diterc.butylpyrid-4'-yl)karbamoyl]benzoová kyselina (sloučenina 54)

Užitím stejného postupu jako pro přípravu 2,6-difluor-4-[(2',6'-diterc.butylpyrid-4'-yl)karbamoyl]benzoové kyseliny (sloučenina 50), ale za užití 2,6-diterc.butylisonikotinové kyseliny (40 mg, 0,17 mmol) a methyl-2-nitro-4-aminobenzoátu (sloučenina F₁, 33 mg, 0,17 mmol), byla získána titulní sloučenina jako světle žlutý olej.

^1H NMR δ (aceton- d_6) 10,25 (b, 1 H), 8,32 (s, 1 H), 7,97 (d, J = 8,1 Hz, 1 H), 7,93 (b, 1 H), 7,70 (s, 2 H), 1,36 (s, 18 H).

Methyl-2-nitro-4-[(4'-brom-5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)karbamoyl]benzoát (sloučenina 25)

Užitím stejného postupu jako pro syntézu sloučeniny 1, ale za užití sloučeniny F a sloučeniny F₁, byl získán požadovaný produkt jako bílá pevná látka.

^1H NMR δ 9,24 (b, 1 H), 9,23 (d, J = 1,8 Hz, 1 H), 7,92 (dd, J = 8,4; 2,4 Hz, 1 H), 7,87 (d, J = 2,1 Hz, 1 H), 7,84 (d, J = 2,1 Hz, 1 H), 7,80 (d, J = 8,7 Hz, 1 H), 3,91 (s, 3 H), 1,75 (m, 2 H), 1,65 (m, 2 H), 1,58 (s, 3 H), 1,33 (s, 3 H).

Obecný způsob syntézy derivátů kyseliny benzoové hydrolýzou odpovídajících methyl nebo ethyl-esterů

K roztoku esteru (3,0 mmol) v 20 ml EtOH bylo přidáno 5 ml 1 M NaOH ve vodě.

Reakční směs byla míchána při pokojové teplotě přes noc a zneutralizována 10% HCl na pH = 5. Alkohol byl odstraněn odpařením a vodná vrstva byla extrahována ethylacetátem (3 X 10 ml). Spojené ethylacetátové vrstvy byly promyty NaHCO₃ (nasyt.), solankou a sušeny s MgSO₄. Po zakoncentrování byla získána požadovaná kyselina, která může být překrystalována v ethylacetátu nebo v acetonitrilu.

2-Fluor-4-[(5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)karbamoyl]benzoová kyselina (sloučenina 2)

¹H NMR δ (aceton-D₆) 9,86 (b, 1 H), 7,95 (m, 3 H), 7,75 (dd, J = 7,9; 2,2 Hz, 1H), 7,62 (dd, J = 8,5; 1,6 Hz, 1 H), 7,50 (d, J = 8,3 Hz, 1 H), 1,73 (s, 4 H), 1,32 (s, 6 H), 1,30 (s, 6 H).

2-Fluor-4-[(4'-brom-5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)karbamoyl]benzoová kyselina (sloučenina 4)

¹H NMR δ (aceton- D₆) 9,97 (b, 1 H), 8,04 (d, J = 1,89 Hz, 1 H), 8,01 (d, J = 1,90 Hz, 1 H), 7,95 (t, J = 8,55 Hz, 1 H), 7,90 (dd, J = 12,28; 2,0 Hz, 1 H), 7,59 (dd, J = 8,67; 1,50 Hz, 1 H), 1,76 (m, 4 H), 1,58 (s, 6 H), 1,35 (s, 6 H).

2-Fluor-4-[(3'-hydroxy-5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)karbamoyl]benzoová kyselina (sloučenina 6)

¹H NMR (aceton- D₆) δ 11,3 (b, 1 H), 10,2 (b, 1 H), 7,94 (m, 2 H), 7,85 (dd, J = 11,4; 1,95 Hz, 1 H), 7,53 (dd, J = 6,59; 2,08 Hz, 1 H), 6,94 (s, 1 H), 2,85 (b, 1 H), 1,70 (s, 4 H), 1,29 (s, 6 H), 1,28 (s, 12 H).

2-Fluor-4-[(8'-brom-4',4'-dimethylchroman-6'-yl)karbamoyl]benzoová kyselina (sloučenina 8)

¹H NMR (aceton- d₆) δ 9,87 (b, 1 H), 8,04 (d, J = 2,1 Hz, 1 H), 8,03 (d, J = 2,1 Hz, 1 H), 7,94 (t, J = 8,66 Hz, 1 H), 7,91 (dd, J = 13,8; 2,0 Hz, 1 H), 7,57 (dd, J = 8,6; 2,0 HZ, 1 H), 4,37 (t, J = 5,44 HZ, 2 H), 1,92 (t, J = 5,44 Hz, 2 H), 1,40 (s, 6 H).

2-Fluor-4-[(2',2',4',4'-tetramethyl-8'-bromchroman-6'-yl)karbamoyl]benzoová kyselina (sloučenina 10)

^1H NMR δ (aceton- d_6) 9,87 (b, 1 H), 8,06 (d, $J = 2,2$ Hz, 1 H), 8,04 (d, $J = 2,1$ Hz, 1 H), 7,94 (t, $J = 8,54$ Hz, 1 H), 7,91 (dd, $J = 14,0; 2,0$ Hz, 1 H), 7,59 (dd, $J = 8,5; 2,3$ Hz, 1 H), 1,96 (s, 2 H), 1,42 (s, 6 H), 1,41 (s, 6 H).

2-Fluor-4-[(2',2',4',4'-tetramethyl-8'-trifluormethylchroman-6'-yl)karbamoyl]benzoová kyselina (sloučenina 12)

^1H NMR (aceton- d_6) δ 10,02 (b, 1 H), 8,31 (s, 1 H), 8,09 (s, 1 H), 7,92 (m, 2 H), 7,56 (d, $J = 7,69$ Hz, 1 H), 2,00 (s, 2 H), 1,44 (s, 6 H), 1,41 (s, 6 H).

2-Fluor-4-[(2',2',4',4'-tetramethyl-8'-azidochroman-6'-yl)karbamoyl]benzoová kyselina (sloučenina 14)

^1H NMR δ 8,03 (t, $J = 8,4$ Hz, 1 H), 7,87 (b, 1 H), 7,79 (dd, $J = 13; 2,0$ Hz, 1 H), 7,64 (d, $J = 2,2$ Hz, 1 H), 7,32 (dd, $J = 8,66; 1,9$ Hz, 1 H), 7,22 (d, $J = 2,1$ Hz, 1 H), 1,91 (s, 2 H), 1,45 (s, 6 H), 1,41 (s, 6 H).

2,6-Difluor-4-[(2',2',4',4'-tetramethyl-8'-trifluormethylchroman-6'-yl)karbamoyl]benzoová kyselina (sloučenina 16)

^1H NMR (aceton- d_6) δ 8,30 (d, $J = 2,3$ Hz, 1 H), 8,06 (d, $J = 2,2$ Hz, 1 H), 7,59 (d, $J = 10,32$ Hz, 2 H), 1,954 (s, 2 H), 1,44 (s, 6 H), 1,41 (s, 6 H).

2-Fluor-4-[(2',2',4',4'-tetramethyl-8'-jodochroman-6'-yl)karbamoyl]benzoová kyselina (sloučenina 18)

^1H NMR δ (aceton- d_6) 10,0 (b, 1 H), 8,24 (s, 1 H), 8,07 (s, 1 H), 7,94 (m, 2 H), 7,57 (d, $J = 8,67$ Hz, 1 H), 1,95 (s, 2 H), 1,41 (s, 12 H).

2-Fluor-4-[(2',2',4',4',8'-pentamethylchroman-6'-yl)karbamoyl]benzoová kyselina (sloučenina 20)

^1H NMR δ (aceton- d_6) 9,77 (b, 1 H), 7,90 (m, 3 H), 7,65 (d, $J = 2,0$ Hz, 1 H), 7,56 (dd, $J = 8,61; 2,0$ Hz, 1 H), 2,19 (s, 3 H), 1,90 (s, 2 H), 1,38 (s, 6 H), 1,37 (s, 6 H).

4-[(5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)thiokarbamoyl]benzoová kyselina (sloučenina 22)

^1H NMR δ 9,08 (b, 1 H), 8,17 (d, J = 8,61 Hz, 2 H), 7,95 (b, 2 H), 7,77 (b, 1 H), 7,57 (dd, J = 8,1; 2,1 Hz, 1 H), 7,37 (d, J = 8,2 Hz, 1 H), 1,72 (s, 4 H), 1,32 (s, 6 H), 1,31 (s, 6 H).

2-Fluor-4-[(5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)thiokarbamoyl]benzoová kyselina (sloučenina 24)

^1H NMR δ (aceton- d_6) 11,1 (b, 1 H), 8,27 (b, J = 13,2 Hz, 1 H), 8,02 (t, J = 8,3 Hz, 1 H), 7,89 (s, 1 H), 7,86 (d, J = 10,0 Hz, 1 H), 7,62 (d, J = 8,3 Hz, 1 H), 7,41 (d, J = 8,37 Hz, 1 H), 1,72 (s, 4 H), 1,30 (s, 12 H).

2-Fluor-4-[(3'-hydroxy-4'-brom-5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)karbamoyl]benzoová kyselina (sloučenina 30)

K roztoku ethyl-2-fluor-4-[(3'-methoxymethoxy-4'-brom-5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)karbamoyl]benzoátu (sloučenina S_1 , 45 mg, 0,084 mmol) v 1 ml EtOH byl přidán 1 ml vodného roztoku NaOH (1 M). Reakční směs byla míchána při pokojové teplotě přes noc a okyselena na pH = 1 pomocí 10% HCl. EtOH byl odstraněn a k roztoku byl přidán ethylacetát a více vody. Organická vrstva byla oddělena a promyta NaHCO_3 solankou, a sušena s MgSO_4 . Po filtraci a zakoncentrování reakce poskytla 2-fluor-4-[(3'-methoxymethoxy-4'-brom-5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl) karbamoyl]benzoovou kyselinu jako bílou pevnou látku. Methoxymethylová skupina byla odstraněna rozpuštěním bílé pevné látky v 2 ml MeOH a 3 kapkách HCl (konc.). Po míchání přes noc byla reakční směs zahuštěna do sucha. Zbytek byl rozdělen mezi ethylacetát a vodu. Organická vrstva byla oddělena, promyta NaHCO_3 solankou a sušena s MgSO_4 . Po filtraci a zakoncentrování byla zbývající pevná látka purifikována v mikrokoloně s ethylacetátem/hexanem (1/1) za získání titulní sloučeniny jako bílé pevné látky (5,0 mg).

^1H NMR δ (aceton- d_6) 10,19 (b, 1 H), 8,01 (s, 1 H), 7,96 (t, J = 8,6 Hz, 1 H), 7,76 (dd, J = 11,2; 2,0 Hz, 1 H), 7,54 (dd, J = 8,8; 2,0 Hz, 1 H), 1,75 (m, 2 H), 1,65 (m, 2 H), 1,61 (s, 6 H), 1,32 (s, 6 H).

2,6-Difluor-4-[(3'-hydroxy-4'-brom-5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)karbamoyl]benzoová kyselina (sloučenina 32)

Užitím stejného postupu jako pro syntézu 2-fluor-4-[(3'-hydroxy-4'-brom-5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)karbamoyl]benzoové kyseliny (sloučenina 30) byla získána titulní sloučenina jako bílá pevná látka.

^1H NMR δ (aceton- d_6) 10,23 (b, 1 H), 8,01 (s, 1 H), 7,52 (d, $J = 10,2$ Hz, 2 H), 4,8 (b, 1 H), 1,75 (m, 2 H), 1,65 (m, 2 H), 1,60 (s, 6 H), 1,31 (s, 6 H).

2,6-Difluor-4-[(5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)karbamoyl]benzoová kyselina (sloučenina 34)

K 5,5,8,8-tetramethyl-5,6,7,8-tetrahydro-2-naftoové kyselině (43 mg, 0,19 mmol) byl přidán 1 ml thionylchloridu. Tato směs byla refluxována 2 hod. Přebytek thionylchloridu byl odstraněn za sníženého tlaku a zbytek byl rozpuštěn v 2 ml CH_2Cl_2 . K tomuto roztoku byl přidán methyl-4-amino-2,6-difluorbenzoát (sloučenina H_1 , 7 mg, 0,2 mmol) a následně 0,5 ml pyridinu. Reakční směs byla míchána při pokojové teplotě 4 hod a byla zakoncentrována za sníženého tlaku. Zbytek byl purifikován kolonovou chromatografií (ethylacetát/hexan 1/5) za získání methylesteru požadovaného produktu jako bezbarvého oleje.

^1H NMR δ 8,11 (d, $J = 1,9$ Hz, 1 H), 8,05 (b, 1 H), 7,86 (dd, $J = 6,2; 2,2$ Hz, 7,41 (m, 3 H), 3,93 (s, 3 H), 1,69 (s, 4 H), 1,29 (s, 6 H), 1,28 (s, 6 H). Tento bezbarvý olej byl hydrolyzován na požadovaný produkt pomocí $\text{NaOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$ podle obecného způsobu.

^1H NMR δ (aceton- d_6) 9,74 (b, 1 H), 7,95 (s, 1 H), 7,70 (d, $J = 6,8$ Hz, 1 H), 7,43 (d, $J = 8,4$ Hz, 3 H), 1,71 (s, 4 H), 1,29 (s, 6 H), 1,28 (s, 6 H).

2-Nitro-4-[(4'-brom-5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)karbamoyl]benzoová kyselina (sloučenina 26)

^1H NMR δ (aceton- d_6): 10,16 (b, 1 H), 8,42 (d, $J = 2,0$ Hz, 1 H), 8,09 (dd, $J = 8,6; 2,1$ Hz, 1 H), 8,06 (d, $J = 2,2$ Hz, 1 H), 8,04 (d, $J = 2,2$ Hz, 1 H), 7,93 (d, $J = 8,6$ Hz, 1 H), 1,75 (m, 2 H), 1,65 (m, 2 H), 1,57 (s, 3 H), 1,34 (s, 3 H).

2-Fluor-4-[(2',6'-diterc.butylpyrid-4'-yl)karbamoyl]benzoová kyselina (sloučenina 42)

^1H NMR δ (CD_3OD) 7,92 (t, $J = 8,36$ Hz, 1 H), 7,82 (dd, $J = 12,82; 2,0$ Hz, 1 H), 7,63 (s, 2H), 7,55 (dd, $J = 8,7; 2,1$ Hz, 1 H), 1,39 (s, 18 H).

4-[(2',6'-diterc.butylpyrid-4'-yl)karbamoyl]benzoová kyselina (sloučenina 44)

^1H NMR δ (CD_3OD) 8,02 (d, $J = 8,85$ Hz, 2 H), 7,85 (d, $J = 8,85$ Hz, 2 H), 7,63 (s, 2H), 1,40 (s, 18 H).

2-fluor-4-[(3',5'-diterc.butyl)fenylkarbamoyl]benzoová kyselina (sloučenina 46)

^1H NMR δ (CD_3OD) 7,92 (t, $J = 8,3$ Hz, 1 H), 7,80 (dd, $J = 12,8; 2,0$ Hz, 1 H), 7,79 (d, $J = 1,8$ Hz, 2H), 7,69 (t, $J = 1,7$ Hz, 1H), 7,57 (dd, $J = 8,7; 2,1$ Hz, 1H), 1,37 (s, 18 H).

2-Fluor-4-[(2'-hydroxy-3',5'-diterc.butyl)fenylkarbamoyl]benzoová kyselina (sloučenina 48)

^1H NMR δ (acetone- d_6) 12,3 (b, 1 H), 10,07 (b, 1 H), 7,98 (t, $J = 8,48$ Hz, 1 H), 7,80 (m, 2 H), 7,58 (d, $J = 2,3$ Hz, 1 H), 7,56 (dd, $J = 8,8; 2,0$ Hz, 1 H), 1,44 (s, 9 H), 1,31 (s, 9 H).

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Použití retinoidních sloučenin, které se vážou specificky nebo selektivně na RAR_{α} retinoidní receptory přednostně před RAR_{β} a RAR_{γ} retinoidními receptory, pro výrobu léčiva pro léčení nebo prevenci nemoci nebo stavu, který je citlivý na léčbu RAR_{α} specifickými nebo selektivními agonisty.

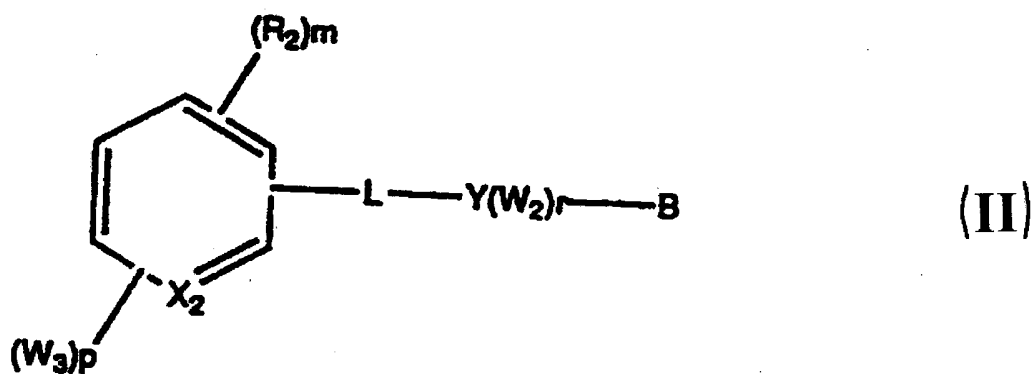
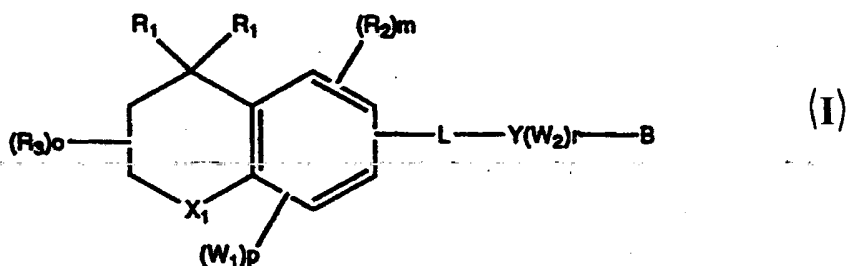
2. Použití podle nároku 1, kde se RAR_{α} specifická nebo selektivní retinoidní sloučenina váže přibližně 500 krát silněji k RAR_{α} retinoidním receptorům než k RAR_{β} a RAR_{γ} retinoidním receptorům.

3. Použití podle nároku 1, kde nemoc nebo stav je vybrán ze skupiny sestávající z akutní monocytové leukémie, krčního karcinomu, myelomu, karcinomu vaječníků a karcinomu hlavy a krku, proliferativní vitreoretinopatie (PVR) a k věku se vztahující makulární degenerace (AMD).

4. Použití podle nároku 1, kdy dávka RAR_{α} specifické nebo selektivní retinoidní sloučeniny je přibližně 0,5 až 5 mg na kg tělesné hmotnosti na den.

5. Použití podle nároku 1, kde nemoc nebo stav je vybrán ze skupiny sestávající z aktiniové keratózy, arsenové keratózy, zánětlivého nebo nezápřlivého akné, lupénky, šupinatosti kůže, ekzému, atopické dermatitidy, Darriersovy nemoci, lišeje plochého, glukokortikoidního poškození, topické mikrobiální infekce, kožní pigmentace, stařecké nebo světelné poškození kůže, premaligní a maligní hyperproliferativní nemoci, Kaposiho sarkomu, nemoci očí, proliferativní vitreoretinopatie (PVR), odloučení sítnice, suchého oka a jiných chorob rohovky, kardiovaskulárních chorob, dyslipidémie, prevence post-angioplastické restenozy, chorob spojených s lidským papilloma virem (HPV), zánětlivých chorob, neurodegenerativních chorob, nesprávné funkce hypofýzy, nedostatečného růstu vlasů, chorob spojených s imunitním systémem a léčbou zranění.

6. Použití podle nároku 1, kde RAR_{α} specifická nebo selektivní retinoidní sloučenina má obecný vzorec (I) nebo obecný vzorec (II)



kde X_1 je O nebo X_1 je $[C(R_1)_2]_n$, kde n je celé číslo mezi 0 a 2;

R_1 je nezávisle H nebo alkyl o 1 až 6 uhlících;

R_2 je nezávisle vodík, nebo nižší alkyl o 1 až 6 uhlících;

R_3 je vodík, nižší alkyl o 1 až 6 uhlících nebo F;

m je celé číslo hodnoty 0 až 5;

o je celé číslo hodnoty 0 až 4;

p je celé číslo hodnoty 0 až 2;

r je celé číslo hodnoty 0 až 2;

X_2 je N nebo CH;

Y je fenylová nebo naftylová skupina, nebo heteroaryl vybraný ze skupiny skládající se z pyridylu, thienylu, furylu, pyridazinylu, pyrimidinylu, pyrazinylu, thiazolyly, oxazolyly, imidazolyly a pyrrazolyly, uvedené skupiny fenylyl, naftyl a heteroaryl jsou volitelně substituované jednou nebo dvěma R_2 skupinami;

W_1 je substituent vybraný nezávisle ze skupiny skládající se z F, Br, Cl, I, fluoro substituovaný C_1 - C_6 alkyl, NO_2 , a OH, s výhradami, že:

(i) když je sloučenina podle obecného vzorce (I) a Z je O, pak součet p a r je nejméně 1 a W_1 není fluoro skupina v posici 3 tetrahydronaftalenového kruhu;

(ii) když je sloučenina podle obecného vzorce (I) a r je nula a p je 1 a W_1 je OH, pak OH skupina je umístěna v poloze α k L skupině;

W_2 je substituent vybraný nezávisle ze skupiny skládající se z F, Br, Cl, I, fluoro substituovaného C_1 - C_6 alkylu, NO_2 , a OH;

W_3 je substituent vybraný nezávisle ze skupiny skládající se z F, Br, Cl, I, C_1 - C_6 alkylu, fluoro substituovaného C_1 - C_6 alkylu, NO_2 , a OH s výhradou, že když je sloučenina podle vzorce 2 a X_2 je CH a r je 0, pak p není 0 a alespoň jedna W_3 skupina není alkyl;

L je $-(C=Z)-NH-$ nebo $-NH-(C=Z)-$

Z je O nebo S, a

B je COOH nebo její farmaceuticky přijatelná sůl, $COOR_8$, $CONR_9R_{10}$, $-CH_2OH$, CH_2OR_{11} , CH_2OCOR_{11} , CHO, $CH(OR_{12})_2$, $CHOR_{13}O$, $-COR_7$, $CR_7(OR_{12})_2$, $CR_7OR_{13}O$, kde R_7 je alkylová, cykloalkylová nebo alkenylová skupina obsahující 1 až 5 uhlíků, R_8 je alkylová skupina o 1 až 10 uhlících nebo trimethylsilylalkyl, kde alkylová skupina má 1 až 10 uhlíků, nebo cykloalkylová skupina o 5 až 10 uhlících, nebo R_8 je fenyl nebo nižší alkylfenyl, R_9 a R_{10} nezávisle jsou vodík, alkylová skupina o 1 až 10 uhlících, nebo cykloalkylová skupina o 5 až 10 uhlících, nebo fenyl nebo nižší alkylfenyl, R_{11} je nižší alkyl, fenyl nebo nižší alkylfenyl, R_{12} je nižší alkyl, a R_{13} je dvojbazný alkylový zbytek o 2 až 5 uhlících.

7. Použití podle nároku 6, kde RAR_α specifická nebo selektivní retinoidní sloučenina je ve shodě s obecným vzorcem (I).

8. Použití podle nároku 7, kde v obecném vzorci (I) RAR_α specifické nebo selektivní retinoidní sloučeniny X_1 je $[C(R_1)_2]_n$ a n je 1.

9. Použití podle nároku 8, kde v obecném vzorci (I) RAR_α specifické nebo selektivní retinoidní sloučeniny Y je fenyl.

10. Použití podle nároku 6, kde RAR_{α} specifická nebo selektivní retinoidní sloučenina je ve shodě s obecným vzorcem (II).

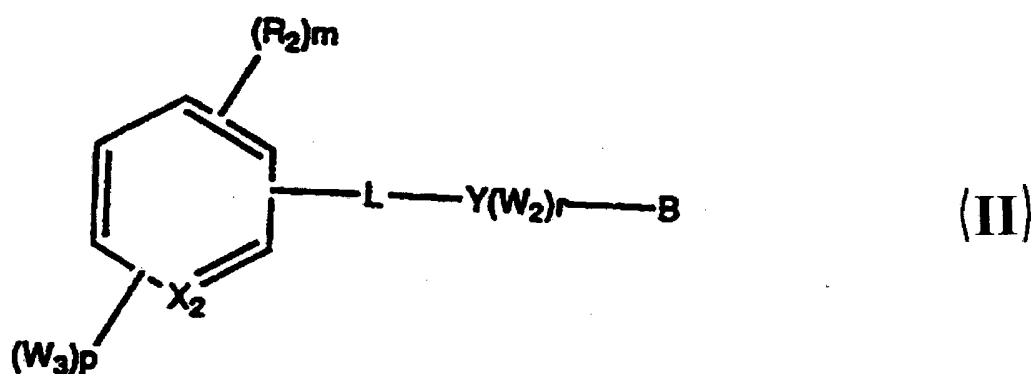
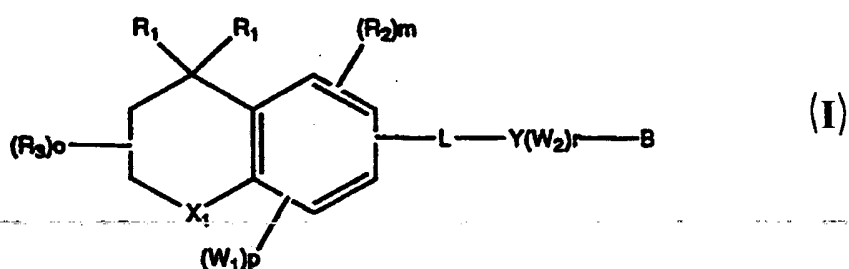
11. Použití podle nároku 10, kde v obecném vzorci (II) RAR_{α} specifické nebo selektivní retinoidní sloučeniny Y je fenyl.

12. Použití retinoidní sloučeniny, která se váže specificky nebo selektivně na RAR_{α} retinoidní receptory přednostně před RAR_{β} a RAR_{γ} retinoidními receptory pro výrobu léčiva pro léčení nemoci nebo stavu, který je citlivý k léčbě RAR_{α} specifickými nebo selektivními agonisty, přičemž retinoidní sloučenina je specifická nebo selektivní pro RAR_{α} retinoidní receptory přednostně před RAR_{β} a RAR_{γ} retinoidními receptory, pokud ve vazebném stanovení je hodnota K_d pro vazbu na RAR_{α} receptory přibližně 500 krát nižší než hodnota K_d pro vazbu na RAR_{β} a RAR_{γ} retinoidní receptory.

13. Použití podle nároku 12, kde nemoc nebo stav je vybrán ze skupiny sestávající z aktiniové keratózy, arsenové keratózy, zánětlivého nebo nezápětlivého akné, lupénky, šupinatosti kůže, ekzému, atopické dermatitidy, Darriersovy nemoci, lišeje plochého, glukokortikoidní poškození, topické mikrobiální infekce, kožní pigmentace, stařeckého nebo světelného poškození kůže, premaligní a maligní hyperproliferativní nemoci, Kaposiho sarkomu, nemoci očí, proliferativní vitreoretinopatie (PVR), odloučení sítnice, suchého oka a jiných chorob rohovky, kardiovaskulární choroby, dyslipidémie, prevence post-angioplastické restenosis, choroby spojené s lidským papilloma virem (HPV), zápětlivé choroby, neurodegenerativní choroby, nesprávné funkce hypofýzy, nedostatečného růstu vlasů, choroby spojené s imunitním systémem a léčbou zranění.

14. Použití podle nároku 13, nemoc nebo stav je vybrán ze skupiny sestávající z akutní monocytová leukémie, krčního karcinomu, myelomu, karcinomů vaječníků, karcinomů hlavy a krku, proliferativní vitreoretinopatie (PVR) a k věku vztahujícím se makulární degenerace (AMD).

15. Použití podle nároku 12, kde RAR_α specifická nebo selektivní retinoidní sloučenina má obecný vzorec (I) nebo obecný vzorec (II)



kde X_1 je O nebo X_1 je $[C(R_1)_2]_n$, kde n je celé číslo mezi 0 a 2;

R_1 je nezávisle H nebo alkyl o 1 až 6 uhlících;

R_2 je nezávisle vodík, nebo nižší alkyl o 1 až 6 uhlících;

R_3 je vodík, nižší alkyl o 1 až 6 uhlících nebo F;

m je celé číslo hodnoty 0 až 5;

o je celé číslo hodnoty 0 až 4;

p je celé číslo hodnoty 0 až 2;

r je celé číslo hodnoty 0 až 2;

X_2 je N nebo CH;

Y je fenylová nebo naftylová skupina, nebo heteroaryl vybraný ze skupiny sestávající z pyridylu, thienylu, furylu, pyridaziny, pyrimidiny, pyraziny, thiazoly, oxazoly, imidazoly a pyrrololy, uvedené skupiny feny, naftyl a heteroaryl jsou volitelně substituované jednou nebo dvěma R_2 skupinami;

W_1 je substituent vybraný nezávisle ze skupiny skládající se z F, Br, Cl, I, fluoro substituovaný C_1 - C_6 alkyl, NO_2 , a OH, s výhradami, že:

(i) když je sloučenina podle obecného vzorce (I) a Z je O, pak součet p a r je nejméně 1 a W_1 není fluoro skupina v pozici 3 tetrahydronaftalenového kruhu;

(ii) když je sloučenina podle obecného vzorce (I) a r je nula a p je 1 a W_1 je OH, pak OH skupina je umístěna v pozici α k L skupině;

W_2 je substituent vybraný nezávisle ze skupiny sestávající se z F, Br, Cl, I, fluoro substituovaného C_1 - C_6 alkylu, NO_2 , a OH;

W_3 je substituent vybraný nezávisle ze skupiny skládající se z F, Br, Cl, I, C_1 - C_6 alkylu, fluoro substituovaného C_1 - C_6 alkylu, NO_2 , a OH s výhradou, že když je sloučenina podle obecného vzorce II a X_2 je CH a r je 0, pak p není 0 a alespoň jedna W_3 skupina není alkyl;

L je $-(C=Z)-NH-$ nebo $-NH-(C=Z)-$

Z je O nebo S, a

B je $COOH$ nebo její farmaceuticky přijatelná sůl, $COOR_8$, $CONR_9R_{10}$, $-CH_2OH$, CH_2OR_{11} , CH_2OCOR_{11} , CHO , $CH(OR_{12})_2$, $CHOR_{13}O$, $-COR_7$, $CR_7(OR_{12})_2$, $CR_7OR_{13}O$, kde R_7 je alkylová, cykloalkylová nebo alkenylová skupina obsahující 1 až 5 uhlíků, R_8 je alkylová skupina o 1 až 10 uhlících nebo trimethylsilylalkyl, kde alkyl alkylová skupina má 1 až 10 uhlíků, nebo cykloalkylová skupina o 5 až 10 uhlících, nebo R_8 je fenyl nebo nižší alkylfenyl, R_9 a R_{10} nezávisle jsou vodík, alkylová skupina o 1 až 10 uhlících, nebo cykloalkylová skupina o 5 až 10 uhlících, nebo fenyl nebo nižší alkylfenyl, R_{11} je nižší alkyl, fenyl nebo nižší alkylfenyl, R_{12} je nižší alkyl, a R_{13} je dvojbazný alkylový zbytek o 2 až 5 uhlících.

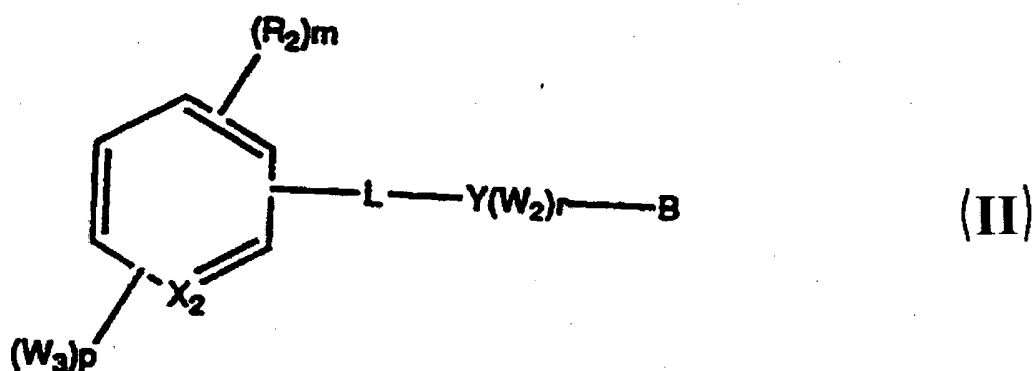
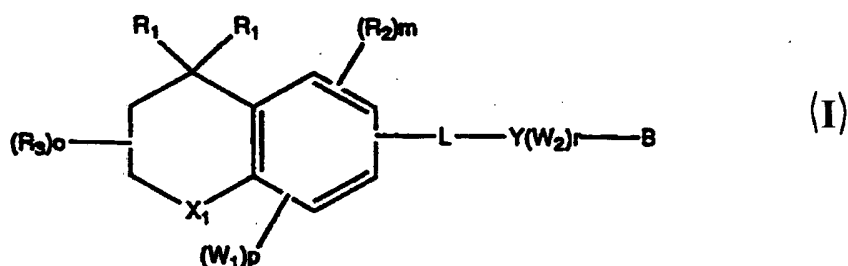
16. Použití podle nároku 15, kde RAR_α specifická nebo selektivní retinoidní sloučenina je ve shodě s obecným vzorcem (I).

17. Použití podle nároku 15, kde vzorec RAR_α specifické nebo selektivní retinoidní sloučeniny je ve shodě se obecným vzorcem (II).

18. Použití retinoidní sloučeniny, která se váže specificky nebo selektivně na RAR_α retinoidní receptory přednostně před RAR_β a RAR_γ retinoidními receptory, pro výrobu léčiva pro léčení nemoci nebo stavu vybraného ze skupiny sestávající z

akutní monocytové leukémie, krčního karcinomu, myelomu, karcinomů vaječníků a karcinomů hlavy a krku, proliferativní vitreoretinopatie (PVR) a k věku se vztahující makulární degenerace (AMD), přičemž retinoidní sloučenina je specifická nebo selektivní pro RAR_{α} retinoidní receptory přednostně před RAR_{β} a RAR_{γ} retinoidními receptory, pokud ve vazebném stanovení je hodnota K_d pro vazbu na RAR_{α} receptory přibližně 500 krát nižší než hodnota K_d pro vazbu na RAR_{β} a RAR_{γ} retinoidní receptory, retinoidní sloučenina má obecný vzorec (I) nebo obecný vzorec

(II)



kde X_1 je O nebo X_1 je $[C(R_1)_2]_n$, kde n je celé číslo mezi 0 a 2;

R_1 je nezávisle H nebo alkyl o 1 až 6 uhlících;

R_2 je nezávisle vodík, nebo nižší alkyl o 1 až 6 uhlících;

R_3 je vodík, nižší alkyl o 1 až 6 uhlících nebo F;

m je celé číslo hodnoty 0 až 5;

o je celé číslo hodnoty 0 až 4;

p je celé číslo hodnoty 0 až 2;

r je celé číslo hodnoty 0 až 2;

X_2 je N nebo CH;

Y je fenylová nebo naftyllová skupina, nebo heteroaryl vybraný ze skupiny sestávající z pyridylu, thienylu, furylu, pyridaziny, pyrimidiny, pyraziny, thiazoly, oxazoly, imidazoly a pyrazoly, uvedené skupiny fenylyl, naftyl a heteroaryl jsou volitelně substituované jednou nebo dvěma R_2 skupinami;

W_1 je substituent vybraný nezávisle ze skupiny sestávající z F, Br, Cl, I, fluoro substituovaný C_1-C_6 alkyl, NO_2 , a OH, s výhradami, že:

(i) když je sloučenina podle obecného vzorce (I) a Z je O, pak součet p a r je alespoň 1 a W_1 není fluoro skupina v pozici 3 tetrahydronaftalenového kruhu;

(ii) když je sloučenina podle obecného vzorce (II) a r je nula a p je 1 a W_1 je OH, pak OH skupina je umístěna v poloze α k L skupině;

W_2 je substituent vybraný nezávisle ze skupiny skládající se z F, Br, Cl, I, fluoro substituovaného C_1-C_6 alkylu, NO_2 , a OH;

W_3 je substituent vybraný nezávisle ze skupiny skládající se z F, Br, Cl, I, C_1-C_6 alkylu, fluoro substituovaného C_1-C_6 alkylu, NO_2 , a OH s výhradou, že když je sloučenina ve shodě s obecným vzorcem (II) a X_2 je CH a r je 0, pak p není 0 a nejméně jedna W_3 skupina není alkyl;

L je $-(C=Z)-NH-$ nebo $-NH-(C=Z)-$

Z je O nebo S, a

B je COOH nebo její farmaceuticky přijatelná sůl, $COOR_8$, $CONR_9R_{10}$, $-CH_2OH$, CH_2OR_{11} , CH_2OCOR_{11} , CHO, $CH(OR_{12})_2$, $CHOR_{13}O$, $-COR_7$, $CR_7(OR_{12})_2$, $CR_7OR_{13}O$, kde R_7 je alkylová, cykloalkylová nebo alkenylová skupina obsahující 1 až 5 uhlíků, R_8 je alkylová skupina o 1 až 10 uhlících nebo trimethylsilylalkyl, kde alkyl alkylová skupina má 1 až 10 uhlíků, nebo cykloalkylová skupina o 5 až 10 uhlících, nebo R_8 je fenylyl nebo nižší alkylfenyl, R_9 a R_{10} nezávisle jsou vodík, alkylová skupina o 1 až 10 uhlících, nebo cykloalkylová skupina o 5 až 10 uhlících, nebo fenylyl nebo nižší alkylfenyl, R_{11} je nižší alkyl, fenylyl nebo nižší alkylfenyl, R_{12} je nižší alkyl, a R_{13} je dvojnásobný alkylový zbytek o 2 až 5 uhlících.

19. Použití podle nároku 18, kde RAR_α specifická nebo selektivní retinoidní sloučenina je ve shodě s obecným vzorcem (I), a Y je fenylyl.

20. Použití podle nároku 19, kde RAR_{α} specifická nebo selektivní retinoidní sloučenina je vybraná ze skupiny sestávající z:

ethyl-2-fluor-4-[(5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)karbamoyl]benzoát;

2-fluor-4-[(5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)karbamoyl]benzoovou kyselinu;

ethyl-2-fluor-4-[(5',6',7',8'-tetrahydro-4'-brom-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)karbamoyl]benzoát;

2-fluor-4-[(4'-brom-5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)karbamoyl]benzoovou kyselinu;

ethyl-2-fluor-4-[(2',2',4',4'-tetramethyl-8'-bromchroman-6'-yl)karbamoyl]benzoát;

2-fluor-4-[(2',2',4',4'-tetramethyl-8'-bromchroman-6'-yl)karbamoyl]benzoovou kyselinu;

ethyl-2-fluor-4-[(2',2',4',4'-tetramethyl-8'-trifluormethylchroman-6'-yl)karbamoyl]benzoát;

2-fluor-4-[(2',2',4',4'-tetramethyl-8'-trifluormethylchroman-6'-yl)karbamoyl]benzoovou kyselinu;

ethyl-2-fluor-4-[(2',2',4',4'-tetramethyl-8'-azidochroman-6'-yl)karbamoyl]benzoát;

2-fluor-4-[(2',2',4',4'-tetramethyl-8'-azidochroman-6'-yl)karbamoyl]benzoovou kyselinu;

ethyl-2-fluor-4-[(2',2',4',4'-tetramethyl-8'-jodchroman-6'-yl)karbamoyl]benzoát;

2-fluor-4-[(2',2',4',4'-tetramethyl-8'-jodchroman-6'-yl)karbamoyl]benzoovou kyselinu;

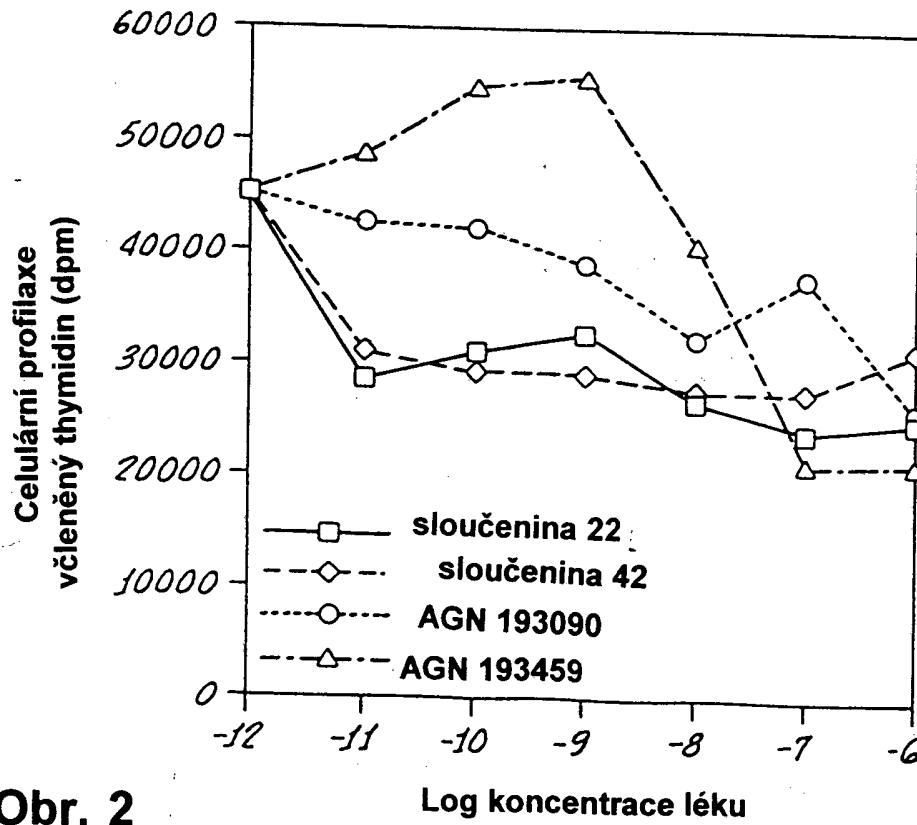
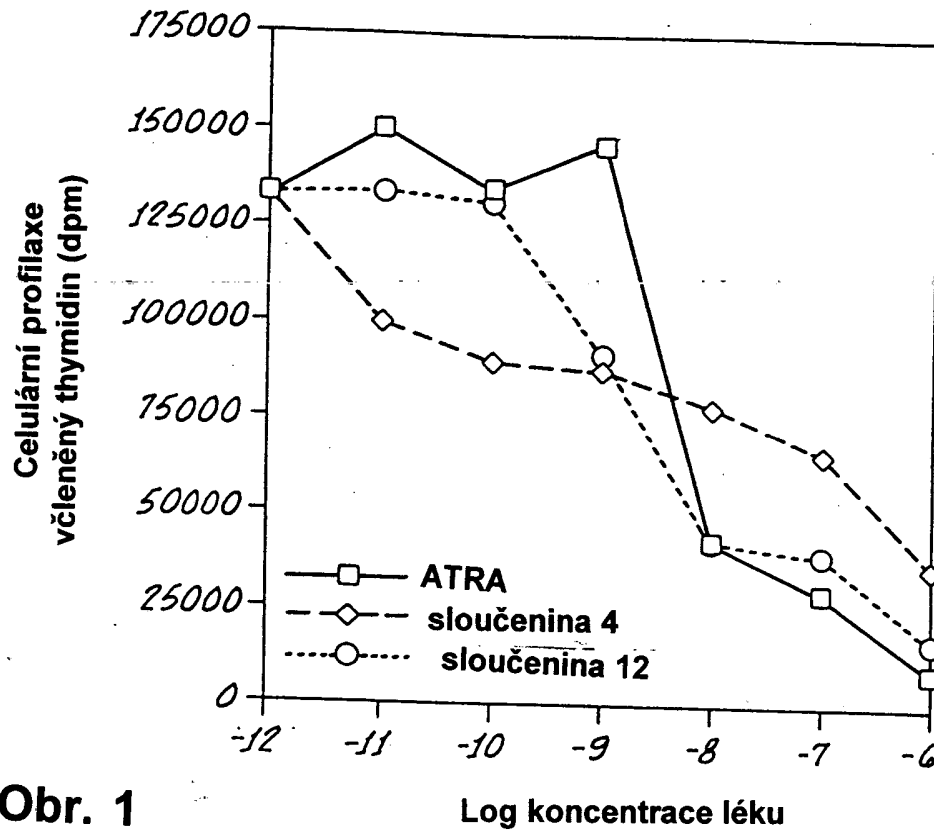
ethyl-4-[(5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethyl-2-naftalenyl)thiokarbamoyl] benzoát, a

4-[(5',6',7',8'-tetrahydro-5',5',8',8'-tetramethylnaftalen-2'-yl)thiokarbamoyl] benzoovou kyselinu.

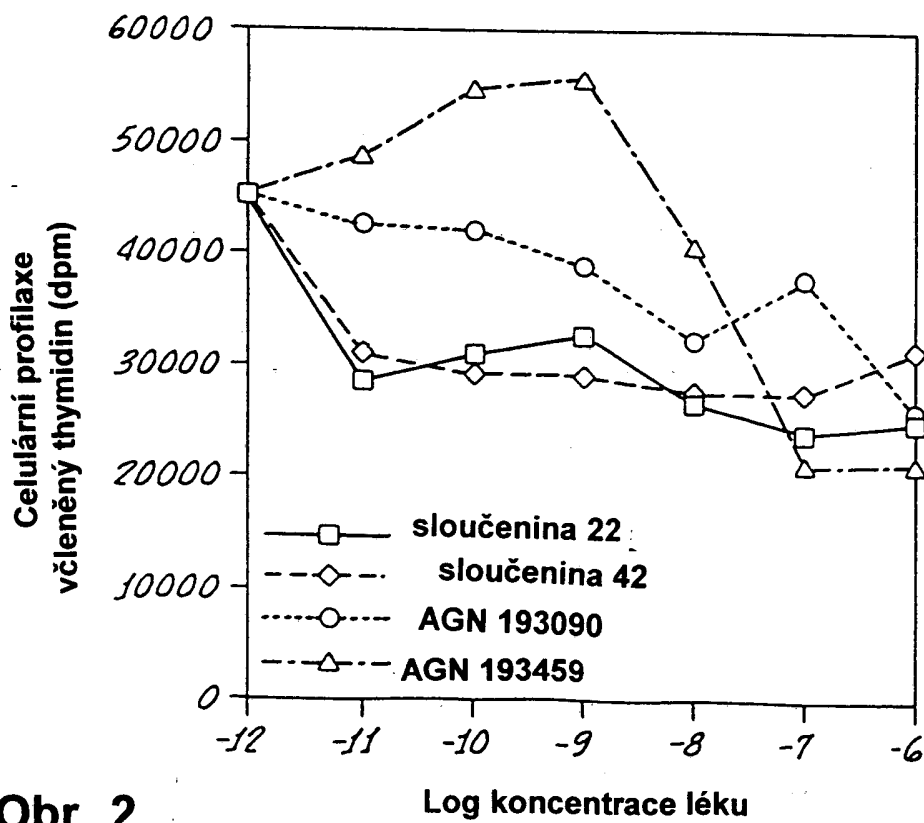
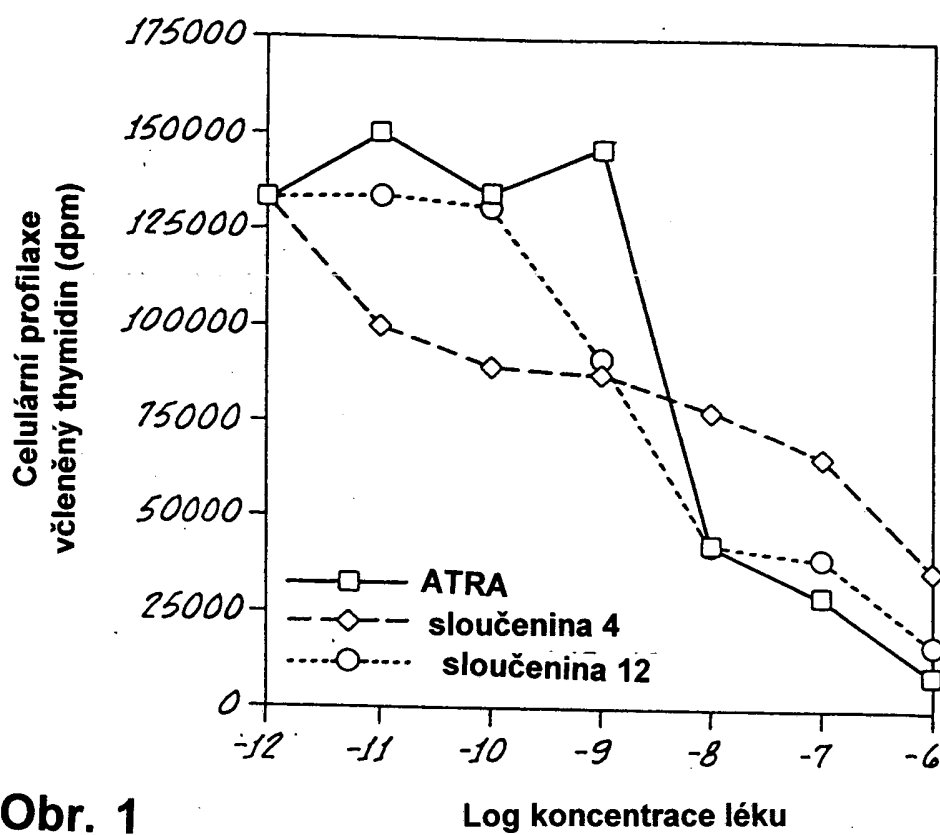
21. Použití podle nároku 18, kde RAR_{α} specifická nebo selektivní retinoidní sloučenina je ve shodě s obecným vzorcem (II), a Y je fenyl.

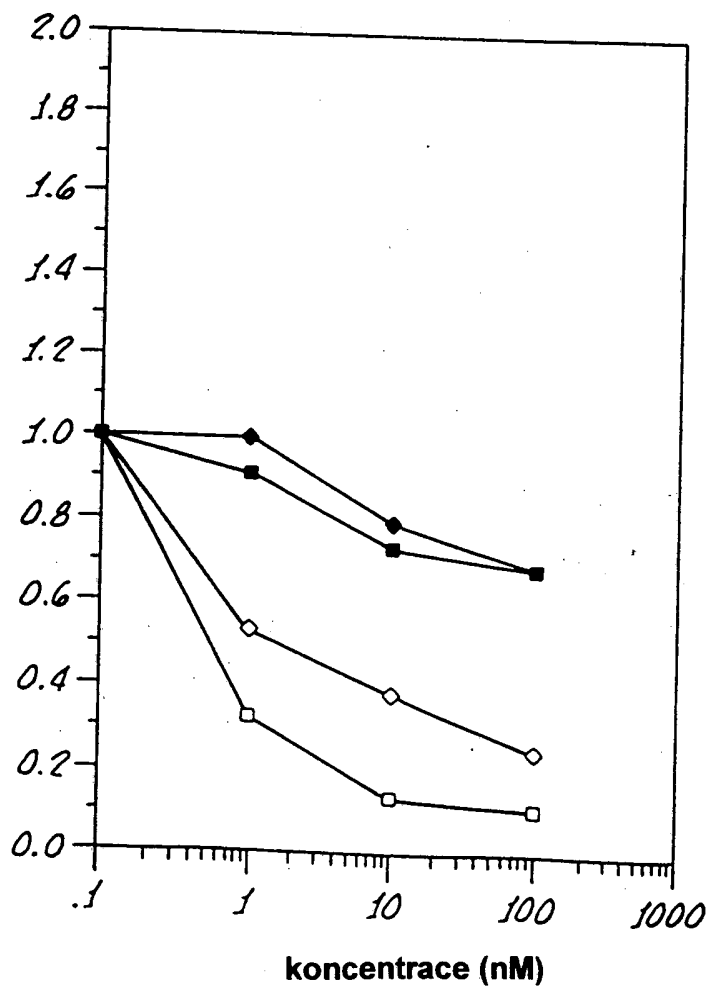
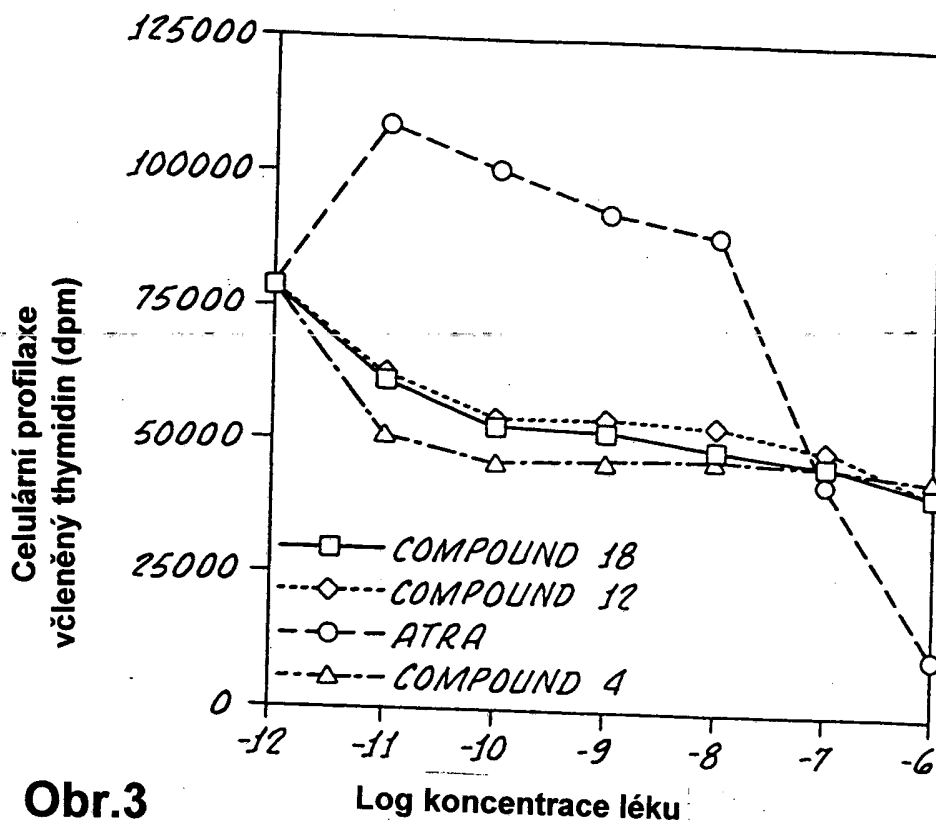
22. Použití podle nároku 19, kde RAR_{α} specifická nebo selektivní retinoidní sloučenina je:

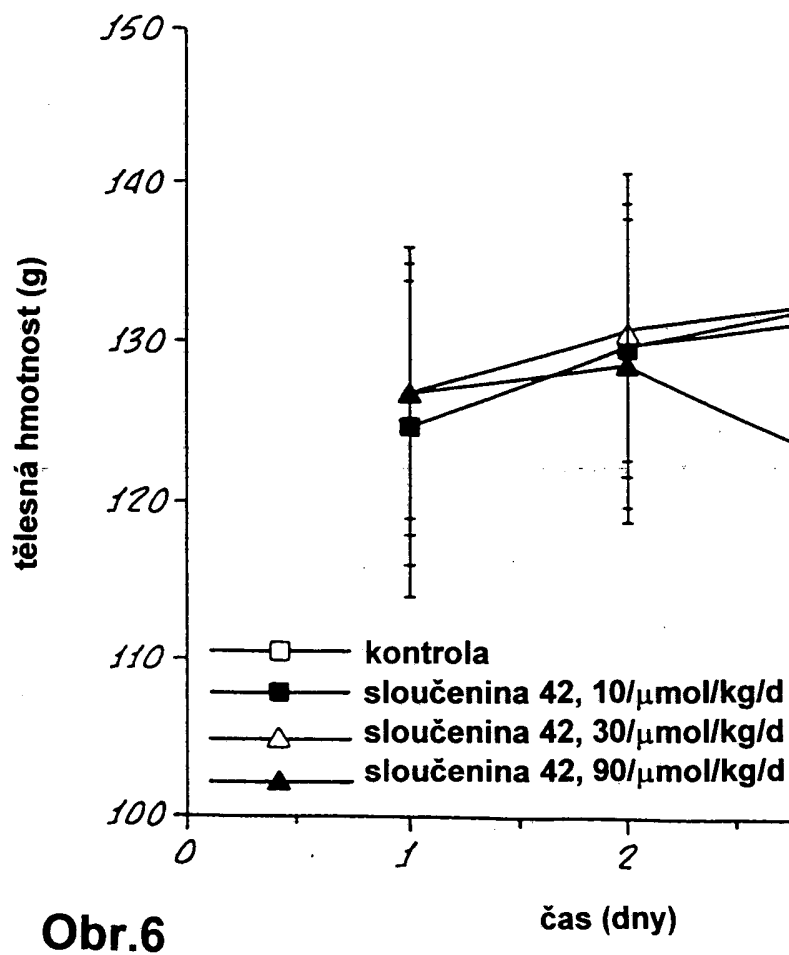
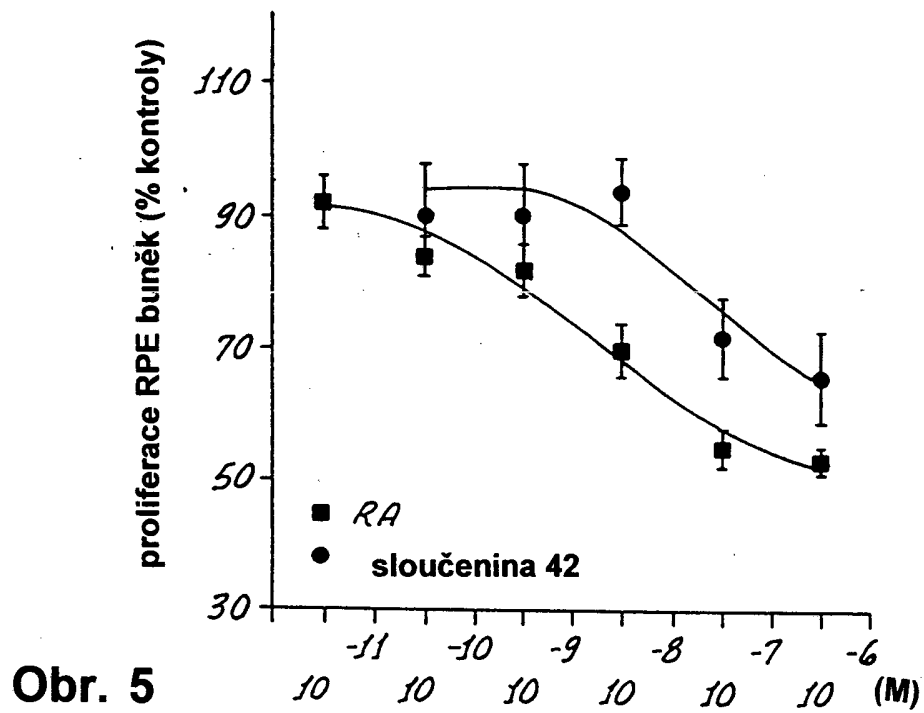
ethyl-2-fluor-4-[(2',6'-diterc.butylpyrid-4'-yl)karbamoyl]benzoát, nebo
2-fluor-4-[(2',6'-diterc.butylpyrid-4'-yl)karbamoyl]benzoová kyselina.

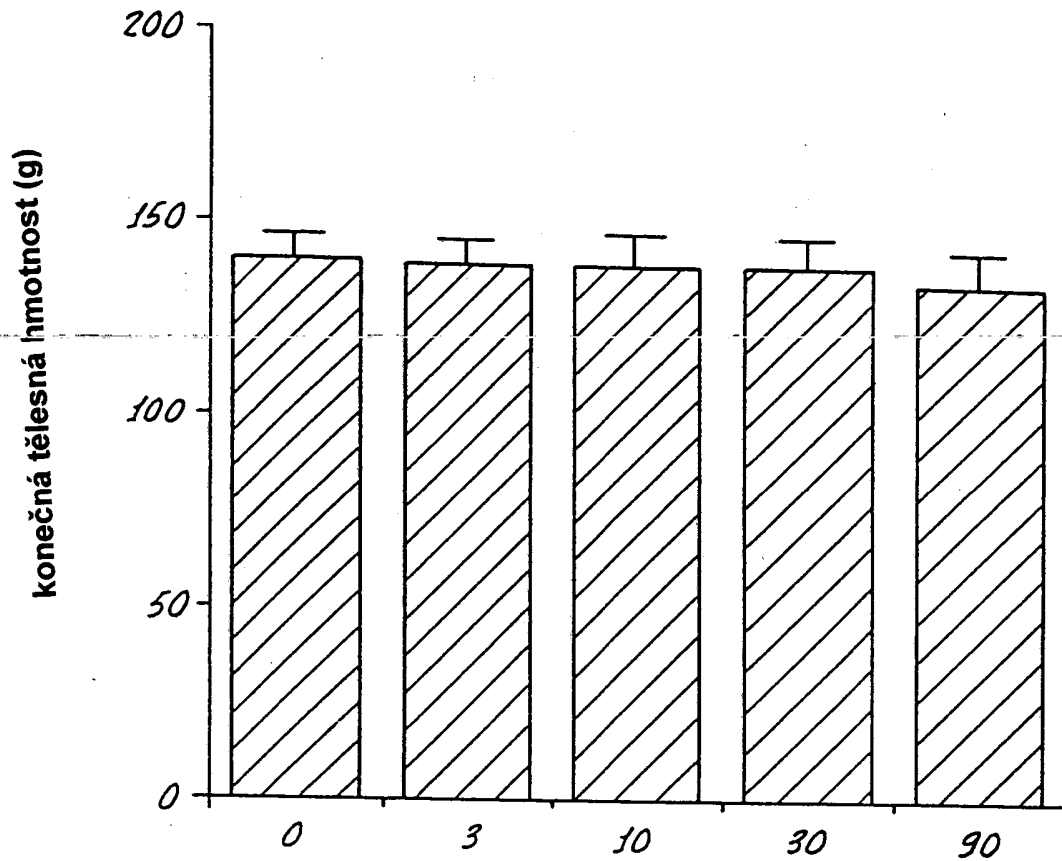


05.11.98



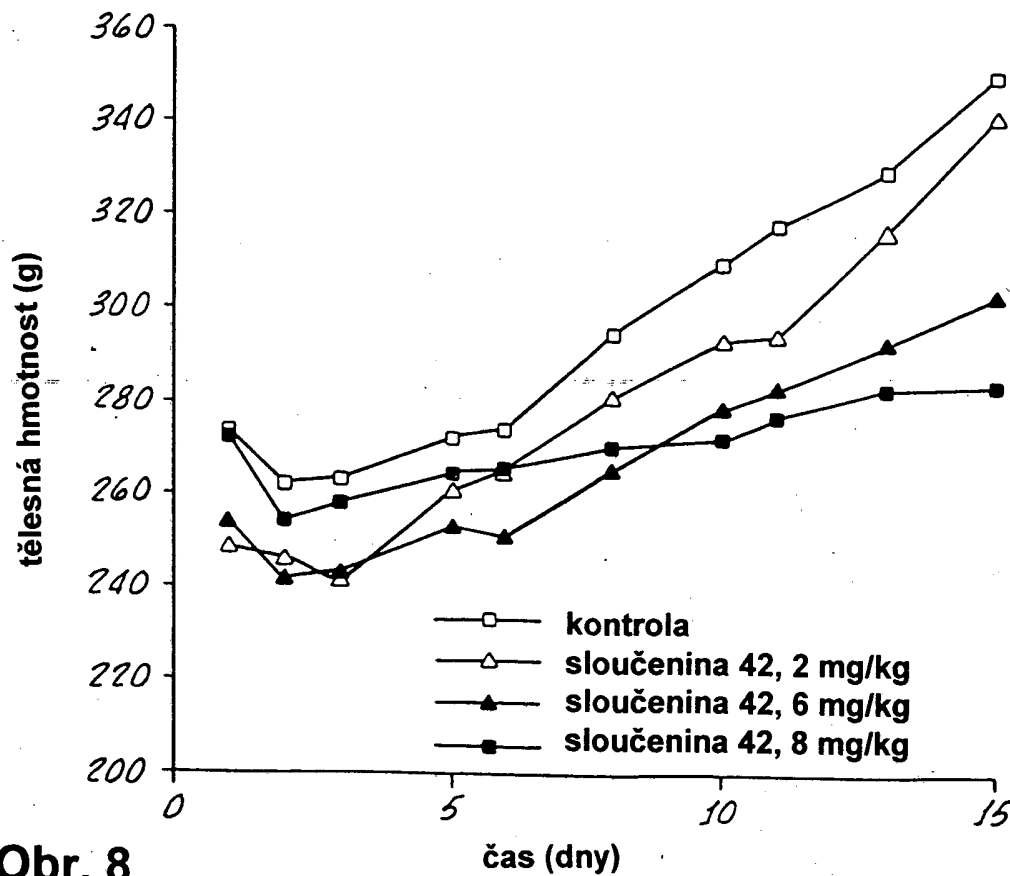






Obr. 7

dávka ($\mu\text{mol/kg/d}$)



Obr. 8

čas (dny)