

PŘÍHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(21) Číslo dokumentu:

2001 - 4290

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **01.06.2000**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **01.06.1999**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1999/137004**

(33) Země priority: **US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **15.05.2002**
(Věstník č. 5/2002)

(86) PCT číslo: **PCT/US00/15154**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO00/72846**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 D 471/04

A 61 K 31/437

A 61 P 31/04

(71) Přihlašovatel:

SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION,
Philadelphia, PA, US;

(72) Původce:

Miller William H., Collegeville, PA, US;
Newlander Kenneth A., West Chester, PA, US;
Seefeld Mark, Collegeville, PA, US;

(74) Zástupce:

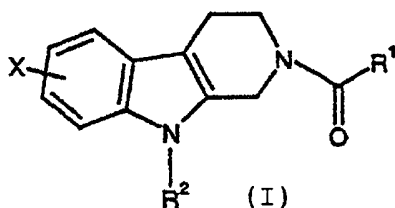
Zelený Pavel JUDr., Hálkova 2, Praha 2, 12000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Antibakteriální sloučeniny

(57) Anotace:

Sloučeniny obecného vzorce I, kde R^1 je Ar nebo Het; R je atom vodíku, alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku, nebo Ar-alkylová skupina s 0 až 6 atomy uhlíku v alkylové části; X je atom vodíku, alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, OR' , SR' , alkylsulfonylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, alkylsulfoxylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, CN , $N(R')_2$, $CH_2N(R')_2$, NO_2 , CF_2 , CO_2R' , $CON(R')$, COR' , $NR' \oslash (O)R'$, atom fluoru, atom chloru, atom bromu, atom jodu, nebo $CF_3S(O)_-$; R' je atom vodíku, alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku, nebo Ar-alkylová skupina s 0 až 6 atomy uhlíku v alkylové části; a r je 0, 1 nebo 2; nebo jejich farmaceuticky přijatelné soli; přičemž tyto sloučeniny působí jako inhibitory FabI a jsou vhodné pro léčení bakteriálních infekcí.



(I)

Antibakteriální sloučeniny

2001-9290

Oblast techniky

Přítomný vynález se týká farmaceuticky účinných sloučenin, které inhibují FabI a jsou vhodné pro léčení bakteriálních infekcí.

Dosavadní stav techniky

Zatímco kompletní cesta biosyntézy nasycených mastných kyselin je ve všech organismech podobná, systémy enzymu syntázy mastných kyselin (FAS) se značně odlišují v závislosti na jejich strukturální organizaci. Obratlovci a kvasinky mají takovou syntázu mastných kyselin, u které jsou všechny enzymatické aktivity kódovány jedním či dvěma polypeptidovými řetězci, a protein nesoucí acylovou skupinu /acyl carrier protein, ACP/ je integrální součástí zmíněného komplexu. Naproti tomu v případě bakteriální syntázy mastných kyselin je každá reakce katalyzována odlišným monofunkčním enzymem a ACP je pouze oddělený protein. Proto existuje značný potenciál pro selektivní inhibici tohoto bakteriálního systému antibakteriálními přípravky.

FabI (dříve nazývaný EnvM) funguje jako enoyl-ACP reduktáza (Bergler a kol., J. Biol. Chemistry 269, 5493 až 5496 (1994)) v konečném kroku čtyř reakcí zahrnutých v každém z cyklů biosyntézy bakteriálních mastných kyselin. V této syntéze je první krok katalyzován β -ketoacyl-ACP-syntázou, která kondenzuje malonyl-ACP s acetylkoenzymem A (acetyl-CoA, FabH, syntáza III). V dalších cyklech je malonyl-ACP kondenzován s narůstajícím řetězcem acyl-ACP (FabB a FabF, syntázy I a II). Druhý krok elongačního cyklu zahrnuje redukci ketoesteru prostřednictvím NADPH-dependentní β -ketoacyl-ACP-reduktázou (FabG). Následná

dehydratací prostřednictvím β -hydroxyacyl-ACP-dehydázy (buď FabA nebo FabZ) vede k trans-2-enoyl-ACP, který se ihned konvertuje na acyl-ACP prostřednictvím NADPH-dependentní enoyl-ACP-reduktázy (FabI). Další kola tohoto cyklu vedou, prostřednictvím adice dvou atomů uhlíku v každém cyklu, ke vzniku palmitoyl-ACP (se 16 atomy uhlíku), přičemž v této fázi je cyklus zastaven, zejména v důsledku inhibice FabI zpětnou vazbou palmitoyl-ACP (Heath a kol., J. Biol. Chem., 271, 1833 až 1836 (1996)). Proto je FabI hlavním biosyntetickým enzymem a je klíčovým regulačním bodem celé syntetické cesty biosyntézy bakteriálních mastných kyselin. Z toho plyne, že FabI je ideálním cílem pro antibakteriální intervenci.

Studie ukázaly, že diazaborinová antibiotika inhibují biosyntézu mastných kyselin, fosfolipidů a lipopolysacharidů (LPS), a že antibakteriálním cílem těchto sloučenin je FabI. Například derivát 2b18 popsáný v publikaci Grassberger a kol., J. Med. Chem., 27, 947 až 953 (1984) je uveden jako nekompetitivní inhibitor FabI (Bergler a kol., J. Biol. Chem., 269, 5493 až 5496 (1994)). Také plazmidy obsahující gen pro FabI ze *S. typhimurium* rezistentní na diazaborin udělují rezistenci na diazaborin *E. coli* (Turnowsky a kol., J. Bacteriol., 171, 6555 až 6565 (1989)). Navíc inhibice FabI buď diazaborinem nebo zvyšováním teploty u mutanty FabI citlivé na teplotu je letální. Tyto výsledky demonstrují, že FabI je nezbytná pro přežití mikroorganismu (Bergler a kol., J. Biol. Chem., 269, 5493 až 5496 (1994)).

Nedávné studie ukázaly, že FabI je též cílem pro širokospektrý antibakteriální přípravek triclosan (McMurry a kol., Nature, 394, 531 až 532 (1998)). Krystalická struktura FabI *E. coli* v komplexu s NAD a triclosanem ukazuje, že triclosan působí jako do konkrétního místa namířený velmi účinný inhibitor FabI a to prostřednictvím

napodobení přírodního substrátu (Levy a kol., Nature, 398, 383 až 384 (1999)) (v pořádku) Ward a kol., Biochem., 38, 12514 až 12525 (1999) ukázal, že neexistuje žádná evidence vytváření kovalentního komplexu mezi FabI a triclosanem, která by byla analogická působení diazaborinů; triclosan se odlišuje od těchto sloučenin v tom, že je reversibilním inhibítorem FabI. Strukturální vlastnosti komplexu FabI s NAD a triclosanem poskytují důležitou informaci o FabI jako o terapeutickém cíli.

Důležité též je, že nyní bylo nalezeno, že určité sloučeniny působí jako inhibitory FabI a mají antibakteriální účinky, čímž mohou být účinné v léčení bakteriálních infekcí u savců, obzvláště pak člověka.

Podstata vynálezu

Přítomný vynález zahrnuje sloučeniny obecného vzorce I, jak je popsáno dále, které inhibují FabI a jsou vhodné pro léčení bakteriálních infekcí.

Přítomný vynález zahrnuje též farmaceutický prostředek, který obsahuje sloučeninu obecného vzorce I a farmaceuticky přijatelný nosič.

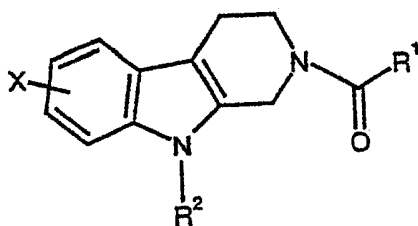
Přítomný vynález zahrnuje též způsob léčby bakteriálních infekcí prostřednictvím inhibice FabI. Sloučeniny podle přítomného vynálezu jsou obzvláště vhodné pro použití jako antibakteriální prostředky.

Podrobný popis vynálezu

Přítomný vynález se týká sloučenin obecného vzorce I

18.02.02

(I)



kde

R^1 je Ar nebo Het;

R je atom vodíku, alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku, nebo Ar-alkylová skupina s 0 až 6 atomy uhlíku v alkylové části;

X je atom vodíku, alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, OR' , SR' , alkylsulfonylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, alkylsulfoxylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, CN , $N(R')_2$, $CH_2N(R')_2$, NO_2 , CF_3 , CO_2R' , $CON(R')$, COR' , $NR'C(O)R'$, atom fluoru, atom chloru, atom bromu, atom jodu, nebo $CF_3S(O)_r$;

R' je atom vodíku, alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku, nebo Ar-alkylová skupina s 0 až 6 atomy uhlíku v alkylové části; a

r je 0, 1 nebo 2;

nebo jejich farmaceuticky přijatelných solí.

Přítomný vynález též zahrnuje farmaceuticky přijatelné adiční soli a komplexy sloučenin podle přítomného vynálezu. V případech, kdy sloučeniny podle přítomného vynálezu mohou mít jedno či více chirálních center, pokud není specifikováno jinak, zahrnuje přítomný vynález také každou jednotlivou racemickou sloučeninu, stejně jako každou jednotlivou neracemickou sloučeninu.

V případech, kdy sloučeniny obsahují nenasycené

18.02.02

dvojně vazby mezi dvěma atomy uhlíku, jsou do rámce přítomného vynálezu zahrnuty jak cis (Z), tak trans (E) izomery. V případech, kdy se sloučeniny mohou vyskytovat v tautomerních formách, jako jsou keto-enol tautomery, například  a , je každá tautomerní forma považována za součást přítomného vynálezu, ať existují v rovnováze či je jedna forma udržována v převaze příslušnou substitucí R'. Význam jakéhokoliv substituentu v jakémkoliv jeho místě závisí na jeho typu, nebo na typu jiného substituentu, v jakémkoliv dalším místě.

Přítomný vynález též zahrnuje prekurzory léčiv tvořených sloučeninami podle přítomného vynálezu. Prekurzory léčiv se míní jakékoliv kovalentně navázané nosiče, které in vivo uvolňují účinné základní léčivo obecného vzorce I.

Sloučeniny obecného vzorce I inhibují FabI. Inhibice tohoto enzymu je účinná při léčení bakteriálních infekcí. Sloučeniny podle přítomného vynálezu mohou být též účinné jako antimykotické prostředky. Tyto sloučeniny mohou být navíc použitelné v kombinaci s ostatními známými antibiotiky.

K obecnému vzorci I:

R¹ je s výhodou fenylová skupina, nesubstituovaná či substituovaná methylenedioxy skupinou nebo jedním až třemi substituenty, které se vyberou ze skupiny sestávající z alkylové skupiny s 1 až 4 atomy uhlíku, OR', N(R')₂, atomu fluoru, atomu chloru, atomu bromu, atomu jodu a CF₃, kde R' je atom vodíku nebo alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku.

Alternativně je R¹ benzimidazolylová skupina nebo pyridylová skupina, nesubstituovaná či substituovaná

alkylovou skupinou s 1 až 4 atomy uhlíku, OR' , $N(R')$,
atomem fluoru, atomem chloru, atomem bromu, atomem jodu a
 CF_3 , kde R' je atom vodíku nebo alkylová skupina s 1 až 6
atomy uhlíku.

R je s výhodou atom vodíku, alkylová skupina s 1 až
6 atomy uhlíku nebo fenyalkylová skupina s 0 až 6 atomy
uhlíku v alkylové části, přičemž fenylová skupina je
nesubstituovaná či substituovaná methylenedioxy skupinou nebo
jedním až třemi substituenty, které se vyberou ze skupiny
sestavající z alkylové skupiny s 1 až 4 atomy uhlíku, OR'' ,
 CO_2R' , $N(R')$, atomu fluoru, atomu chloru, atomu bromu,
atomu jodu a CF_3 , kde R' je atom vodíku nebo alkylová
skupina s 1 až 6 atomy uhlíku a R'' je atom vodíku,
alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku nebo benzylová
skupina.

X je vhodně atom vodíku, alkylová skupina s 1 až 4
atomy uhlíku, OR' , CN , $N(R')_2$, NO_2 , CF_3 , CO_2R' , $CON(R')$,
 CO_2R' , atom fluoru, atom chloru, atom bromu, atom jodu, kde
 R' je atom vodíku nebo alkylová skupina s 1 až 6 atomy
uhlíku.

Reprezentativní z nových sloučenin podle přítomného
vynálezu jsou sloučeniny vyjmenované v příkladech 1 až 24
uvedených níže.

Zkratky a symboly, které se v oboru běžně používají
pro peptidy a chemické látky, jsou i v tomto spisu použity
pro popis sloučenin podle přítomného vynálezu. Obecně
zkratky aminokyselin se řídí pravidly uvedenými IUPAC-IUB
Joint Commission on Biochemical Nomenclature (IUPAC-IUB
Spojená komise pro biochemické názvosloví), jak je popsáno
v Eur. J. Biochem., 158, 9 (1984).

Termín alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, jak

18.02.02

je zde používán, znamená popřípadě substituovanou alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, která zahrnuje methylovou skupinu, ethylovou skupinu, n-propylovou skupinu, isopropylovou skupinu, n-butylovou skupinu, isobutylovou skupinu a terc.-butylovou skupinu. Termín alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku dále zahrnuje pentylovou skupinu, n-pentylovou skupinu, isopentylovou skupinu, neopentylovou skupinu a hexylovou skupinu a jejich jednoduché alifatické izomery. Termín alkylová skupina s 0 až 4 atomy uhlíku a alkylová skupina s 0 až 6 atomy uhlíku dále vyjadřují, že nemusí být přítomna žádná alkylová skupina (je například přítomna kovalentní vazba).

Jakákoliv alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku nebo alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku může být popřípadě substituována skupinou R^* , která může být navázána na jakýkoliv atom uhlíku, tak, aby byla vytvořena stabilní struktura, přičemž tohoto lze docílit běžnými způsoby syntézy. Vhodné skupiny pro R^* jsou alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, arylsulfenylová skupina, arylsulfaxylová skupina, zbytek alkylsulfonamidu s 1 až 4 atomy uhlíku, zbytek arylsulfonamidu, OR' , SR' , alkylsulfonylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, alkylsulfoxylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, $-CN$, $N(R')$, $CHN(R')$, NO_2 , CF_3 , CO_2R' , $CON(R')_2$, COR' , $NR'C(O)R'$, atom fluoru, atom chloru, atom bromu, atom jodu, nebo $CF_3S(O)_2$, kde R' a r mají význam definovaný pro obecný vzorec I.

Atom halogenu znamená atom fluoru, atom chloru, atom bromu a atom jodu.

Ar neboli arylová skupina, jak je zde používáno, znamená fenylovou nebo naftylovou skupinu, nebo fenylovou nebo naftylovou skupinu substituovanou jedním až třemi substituenty, jako jsou ty, které jsou popsány výše pro

18.02.02

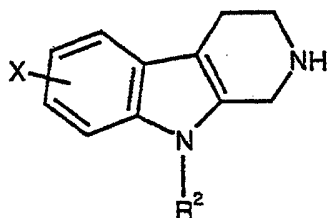
alkylovou skupinu, nebo substituovanou methyendioxy-skupinou.

Het, neboli heterocyklická skupina znamená popřípadě substituovaný pěti- nebo šestičlenný monocyklický kruh či devíti- nebo desetičlenný bicyklický kruh obsahující jeden až tři heteroatomy vybrané ze skupiny sestávající z atomu dusíku, kyslíku a síry, přičemž tyto skupiny jsou stabilní a lze je připravit běžnými způsoby chemické syntézy. Ilustrativními heterocyklickými skupinami jsou benzofurylová skupina, benzimidazoylová skupina, benzopyranylová skupina, benzothienylová skupina, furylová skupina, imidazoylová skupina, indolylová skupina, morfolinylová skupina, piperidinylová skupina, piperazinylová skupina, pyrrolylová skupina, pyrrolidylová skupina, tetrahydropyridylová skupina, pyridylová skupina, thiazolylová skupina, thienylová skupina, chinolylová skupina, isochonolylová skupina a tetra- a perhydrochinolinylová a tetra- a perhydroisochinolylová skupina. V rámci přítomného vynálezu je zahrnuta jakákoliv dostupná kombinace až tří substituentů Het kruhu, například těch substituentů, které jsou definované výše pro alkylovou skupinu, které lze připravit chemickou syntézou a jsou stabilní.

Určité radikálové skupiny jsou zde uváděny jako zkratky. Zkratka t-Bu značí terc.-butylovou skupinu, Boc značí terc.-butoxykarbonylovou skupinu, Fmoc značí fluorenylmethoxykarbonylovou skupinu, Ph značí fenylovou skupinu, Cbz značí benzyloxykarbonylovou skupinu, Bn značí benzylovou skupinu, Me značí metylovou skupinu, Et značí ethylovou skupinu, Ac značí acetylovou skupinu, Alk značí alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, Nph značí 1- nebo 2-naftylovou skupinu a cHex značí cyklohexylovou skupinu. Tet značí 5-tetrazolylovou skupinu.

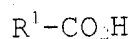
Určitá činidla jsou v tomto spisu také uvedena zkráceně. DCC znamená dicyklohexylkarbodiimid, DMAP znamená dimethylaminopyridin, EDC znamená hydrochlorid 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimidu, HOBt znamená 1-hydroxybenzotriazol, THF znamená tetrahydrofuran, DIEA znamená diisopropylethylamin, DEAD znamená diethylazodikarboxylat, PPh₃ znamená trifenylfosfin, DIAD znamená diisopropylazodikarboxylat, DME znamená dimethoxyethan, DMF znamená dimethylformamid, NBS znamená N-bromsukcinimid, Pd/C znamená palladium na aktivním uhlí jako katalyzátor, PPA znamená kyselinu polyfosforečnou, DPPA znamená difenylfosforylazid, BOP znamená benz-1-triazolyloxy-tris(dimethylamino)fosfonium-hexafluorofosfat, HF znamená kyselinu fluorovodíkovou, TEA znamená triethylamin, TFA znamená kyselinu trifluoroctovou, PCC znamená pyridinium chlorchromat.

Sloučeniny obecného vzorce I se obecně připraví reakcí sloučeniny obecného vzorce II



(II)

se sloučeninou obecného vzorce III



(III)

v kterýchžto vzorcích

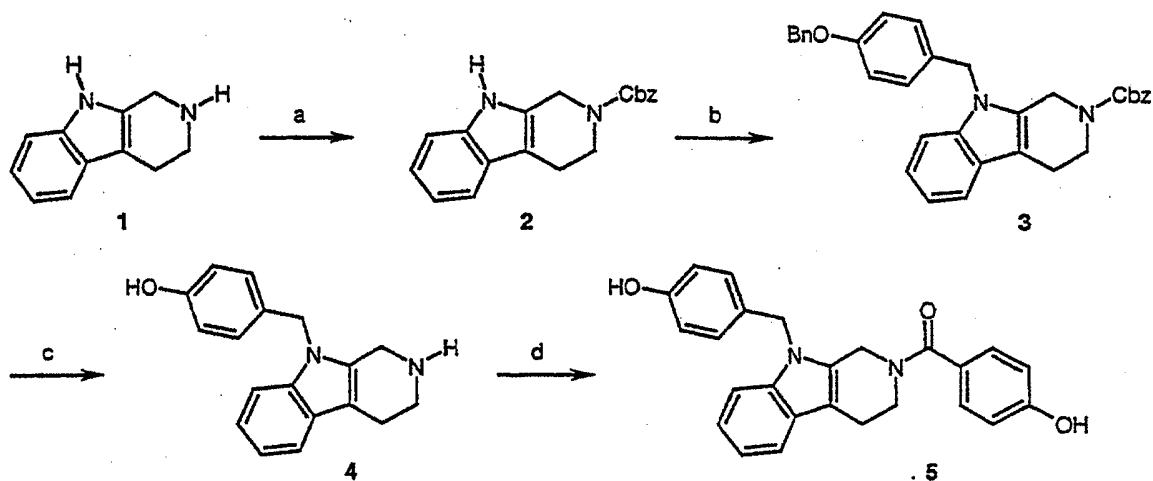
R¹ a R mají význam popsany u obecného vzorce I;

s jakýmkoliv reaktivními funkčními skupinami, které jsou chráněné, za přítomnosti EDC a HOBT, a poté sejmutím

jakékoliv ochranné skupiny a popřípadě přípravu farmaceuticky přijatelné soli.

Sloučeniny obecného vzorce I se zvláště připraví obecnými způsoby popsányi ve schématu I.

Schéma I



Činidla a podmínky:

- a) N-(benzyloxykarbonyl)oxysukcinimid, Et_3N , DMF;
- b) 4-benzyloxybenzylchlorid, NaH, DMF;
- c) H_2 , 10% Pd/C, HCl, MeOH, dioxan;
- d) kyselina 4-hydroxybenzoová, EDC, HOBT· H_2O , $(i\text{-Pr})_3\text{NET}$, DMF.

Komerčně dostupný 1,2,3,4-tetrahydro-9H-pyrido-[3,4-b]indol (sloučenina 1 ze schématu I) je chráněn na atomu dusíku piperidinu vhodnou ochrannou skupinou, například benzyloxykarbonylovou skupinou (Cbz), čímž se dostane sloučenina 2 ze schématu I. Použití ochranných skupin pro zamaskování reaktivní funkční skupiny je odborníkovi v oboru dobře známé a další ochranné skupiny jsou vyčteny ve standardních odkazových spisech, jako například v publikaci Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, publikovalo nakladatelství Willey Interscience.

Atom dusíku indolové skupiny je příslušně funkcionalizován, například alkylovými skupinami, aralkylovými skupinami, acylovými skupinami nebo sulfonylovými skupinami, za účelem přípravy N-substituovaných derivátů. Atom dusíku indolu může být například alkylován vhodným benzyloxybenzylchloridem, čímž se dostane benzylovaný derivát 3 ze schématu I. Alkylační reakce obecně vyžaduje deprotonaci indolu silnou bází, například hydridem sodným, LDA nebo $\text{LiN}(\text{TMS})_2$, a obvykle se provádí v polárním aprotickém rozpouštědle, například THF, DMF nebo jejich směsích. Cbz ochranná skupina je sejmuta hydrogenací za kyselých podmínek, za přítomnosti katalytického množství kovového palladia na aktivním uhlí (Pd/C), za účelem přípravy hydrochloridu aminu 4 ze schématu I. Další standardní způsoby sejmutí Cbz ochranné skupiny jsou popsány v publikaci autora Greena, která je citována výše. Aminový derivát se poté konvertuje na amid, 5 ze schématu I, reakcí s aktivovaným derivátem vhodné karboxylové kyseliny. Například kyselina 4-hydroxybenzoová se konvertuje na aktivní formu reakcí s EDC a HOBT, a aktivovaná forma následně reaguje s aminem, 4 ze schématu I, ve vhodném rozpouštědle, například DMF, CH_2Cl_2 nebo CH_3CN . V závislosti na tom, zdali je nezbytná neutralizace kyseliny, je možno přidat bází, například triethylamin (Et_3N), diisopropylethylamin ($(i\text{-Pr})_2\text{NEt}$) nebo pyridin.

Je známo mnoho dalších způsobů konverze karboxylové kyseliny na amid, a tyto postupy lze nalézt ve standardních odkazových publikacích, například v publikaci "Compendium of Organic Synthetic Methods", svazek I až VI, vyd. Wiley Interscience, nebo v publikaci Bodansky, The "Practice of Peptide Synthesis", vyd. Springer-Verlag, tyto publikace jsou zde zahrnuty do odkazů.

Amidová kondenzační činidla zde zmiňovaná znamenají činidla, která lze použít za účelem vytváření peptidových

vazeb. Obvyklé kondenzační způsoby používají karbodiimidy, aktivované anhydridy, estery a acylhalogenidy. Běžně používaná činidla jsou EDC, DCC, DPPA, PPA, BOP, HOBT, N-hydroxysukcinimid a oxalylchlorid.

Aminová skupina se obvykle kondenzuje prostřednictvím její volné aminoskupiny na příslušný substrát karboxylové kyseliny za použití vhodného karbodiimidového kondenzačního činidla, například N,N'-dicyklohexylkarbodiimidu (DCC), popřípadě za přítomnosti katalyzátoru, jako je 1-hydroxybenzotriazol (HOBT) a dimethylaminopyridin (DMAP). Lze použít i jiné způsoby, například vytváření aktivovaných esterů, anhydridů nebo halogenidů kyseliny, volné karboxylové skupiny vhodně chráněného kyselého substrátu, a následnou reakci s volným aminem, popřípadě za přítomnosti vhodné báze. Například kyselina benzoová se zpracuje v bezvodém rozpouštědle, jako je například methylenchlorid nebo tetrahydrofuran (THF), za přítomnosti báze, například N-methylmorpholinu, DMAP nebo trialkylaminu, s isobutyl-chlorformiátem, za účelem přípravy "aktivovaného anhydridu", který následně reaguje s volným aminem.

Adiční soli zmíněných sloučenin s kyselinou se připraví standardním způsobem, ve vhodném rozpouštědle, ze základní sloučeniny v přebytku kyseliny, například kyseliny chlorovodíkové, kyseliny bromovodíkové, kyseliny fluorovodíkové, kyseliny sírové, kyseliny fosforečné, kyseliny octové, kyseliny trifluoroctové, kyseliny maleinové, kyseliny jantarové nebo kyseliny methan-sulfonové. Některé ze sloučenin vytváří vnitřní soli neboli obojetné ionty, které mohou být přijatelné. Kationtové soli se připravuje zpracováním základní sloučeniny s přebytkem alkalického činidla, například hydroxidem, uhličitánem nebo alkoxidem, který obsahuje příslušný kation, nebo zpracováním s příslušným organickým aminem. Kationty jako Li^+ , Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} a NH_4^+ jsou specifickými příklady

kationtu přítomných ve farmaceuticky přijatelných solích.

Přítomný vynález také poskytuje farmaceutický prostředek obsahující sloučeninu obecného vzorce I a farmaceuticky přijatelný nosič. Následně mohou být sloučeniny obecného vzorce I použity pro výrobu léčiva. Farmaceutické prostředky obsahující sloučeniny obecného vzorce I připravené způsobem, který je popsán výše, mohou být formulovány jako roztoky nebo lyofilizované prášky pro parenterální podání. Prášky mohou být před použitím rekonstituovány přidáním vhodného ředidla nebo jiného farmaceuticky přijatelného nosiče. Kapalná formulace může být ve formě pufrovaného izotonického vodného roztoku. Příklady vhodných ředidel zahrnují běžný izotonický fyziologický roztok, standardní 5% roztok glukózy ve vodě nebo pufrovaný roztok octanu sodného nebo octanu amonného. Takováto formulace je obzvláště vhodná pro parenterální způsob podání, avšak může být též použita pro perorální podání, nebo může být obsažena v inhalátoru nebo nebulizátoru s odměřováním dávky pro insuflaci. Může být vhodné přidat excipienty, jako jsou polyvinylpyrrolidon, želatina, hydroxycelulóza, arabská guma, polyethylenglykol, mannitol, chlorid sodný nebo citrát sodný.

Alternativně mohou být tyto sloučeniny enkapsulovány, tabletovány nebo připraveny ve formě emulze nebo sirupu pro perorální podání. Mohou být přidány farmaceuticky přijatelné pevné či kapalné nosiče, a to za účelem posílení či stabilizace prostředku, či za účelem usnadnění přípravy prostředku. Pevné nosiče zahrnují škrob, laktózu, dihydrat síranu vápenatého, terru albu, stearat hořečnatý nebo kyselinu stearovou, mastek, pektin, arabskou gumu, agar nebo želatinu. Kapalně nosiče zahrnují sirup, podzemnicový olej, olivový olej, fyziologický roztok a vodu. Nosič může také zahrnovat látku řídící uvolňování, jako je glycerylmonostearat nebo glyceryldistearat, jako

18.02.02

takové nebo s voskem. Množství pevného nosiče se mění, avšak s výhodou bude mezi asi 20 mg až přibližně 1 g na jednotkovou dávku. Farmaceutické prostředky se připraví běžnými farmakologickými způsoby zahrnujícími mletí, mixování, granulování a stlačování, pokud je nutné, do tabletových forem; nebo mletím, mixováním a plněním pro formulace v podobě tvrdých želatinových kapslí. Pokud se použije kapalný nosič, bude prostředek ve formě sirupu, elixíru, emulze nebo vodné či nevodné suspenze. Takováto kapalná formulace může být podána přímo perorálně nebo naplněna do měkké želatinové kapsle.

Pro rektální způsob podání mohou být sloučeniny podle přítomného vynálezu také kombinovány s excipienty, jako s kakaovým máslem, glycerinem, želatinou nebo polyethylenglykoly, a tvarovány do čípku.

Pro lokální způsob podání mohou být sloučeniny podle přítomného vynálezu kombinovány s ředidly, za účelem formace mastí, gelů, past, krémů, prášků nebo sprejů. Prostředky ve formě mastí, gelů, past nebo krémů obsahují ředidla, například živočišné či rostlinné tuky, vosky, parafíny, škrob, tragánthovou gumu, deriváty celulózy, polyethylenglykoly, silikony, bentonity, kyselinu křemičitou, mastek a oxid zinečnatý, nebo směsi těchto látek. Prostředky, které jsou ve formě prášků nebo sprejů obsahují ředidla, například laktózu, mastek, kyselinu křemičitou, hydroxid hlinitý, křemičitan vápenatý a polyamidový prášek nebo směsi těchto látek. Dále v případě lokálního podávání v oftalmologii jsou obvyklými nosiči voda, směsi vody s vodou mísitelnými rozpouštědly, jako jsou nižší alkanoly nebo rostlinné oleje, a ve vodě rozpustné netoxické polymery, například celulózové deriváty, jako je methylcelulóza.

Sloučeniny popsané v tomto spisu jsou inhibitory

FabI a jsou vhodné pro léčení bakteriálních infekcí. Tyto sloučeniny jsou vhodné pro léčení bakteriálních infekcí, jako jsou například infekce horních cest dýchacích (například otitis media, bakteriální tracheitida, akutní epiglottitida, thyroiditida), infekce dolních cest dýchacích (například empyem, plicní absces), infekce srdeční (například infekční endokarditida), infekce gastrointestinální (například sekretorický průjem, absces sleziny, retroperitoneální absces), infekce CNS (například mozkový absces), infekce oka (například blefaritida, konjunktivitida, keratitida, endoftalmitida, preseptální a orbitální celulitida, dakryocystitida), infekce ledvin a močových cest (například epididymitida, intrarenální a perinefritický absces, syndrom toxického šoku), infekce kuže (například impetigo, folikulitida, kožní abscesy, celulitida, rané infekce, bakteriální myositida) a infekce kostí a kloubů (například septická artritida, osteomyelitida). Dále mohou být sloučeniny podle přítomného vynálezu vhodné jako antimykotické přípravky. Navíc mohou být zmiňované sloučeniny vhodné pro použití v kombinaci se známými antibiotiky.

Sloučeniny podle přítomného vynálezu se podávají pacientovi takovým způsobem, aby koncentrace léčiva byla dostatečná pro léčení bakteriálních infekcí. Farmaceutický prostředek obsahující sloučeninu se podává v perorální dávce v rozmezí od přibližně 10 mg do přibližně 1000 mg, která se podává jednou či vícekrát za den, způsobem odpovídajícím stavu pacienta. Perorální dávka bude s výhodou přibližně 50 mg až přibližně 500 mg, ačkoliv dávka se může odlišovat v závislosti na věku, tělesné hmotnosti a symptomech pacienta. V případě potřeby akutní terapie je výhodnější parenterální způsob podání. Nejúčinnější je intravenózní infuze sloučeniny obecného vzorce I v 5% dextráze ve vodě nebo v běžném fyziologickém roztoku, nebo obdobná formulace s vhodnými excipienty, ačkoliv

18.02.02

intramuskulární injekce jako bolus je též použitelná. Odborník v oboru snadno stanoví přesnou hladinu a způsob, jakým se sloučeniny podají.

Sloučeniny mohou být testovány prostřednictvím jednoho z několika biologických stanovení k určení takové koncentrace sloučeniny, která má mít stanovený farmakologický účinek.

Klonování FabI *S. aureus*

Gen pro FabI se klonuje z chromosomální DNA *S. aureus* kmene WCUH29 za použití polymerázové řetězové reakce. Amplifikace se provede za použití Taq DNA polymerázy (BRL) a následujících primerů:
 5'-CGCCTCGAGATGTTAAATCTTGAAAACAAAACATATGTC-3' a
 5'-CGCGGATCCAATCAAGTCAGGTTGAAATATCCA-3' (XhoI a BamHI místa jsou podtržena). Výsledný fragment se poté natráví XhoI a BamHI a naváže se na XhoI- a BamHI-natrávený expresní vektor pET-16b (Novagen), čímž vznikne pET-His₁₀-fabI. Genová sekvence fabI se potvrdí automatickým cyklickým sekvenováním za použití přístroje Applied Biosystems model 377. Neoznačená verze pET-fabI se připraví natrávením pET-His₁₀-fabI prostřednictvím NcoI a NdeI za účelem odstranění fragmentu o velikosti 97 párů bází kódujícího charakteristickou sekvenci (označení) His 10, štěpící místo faktoru Xa a prvních 8 aminokyselin FabI, a poté se tento fragment nahradí pojící sekvencí (linkerem) kódující prvních 8 aminokyselin FabI a glycinovým residuem umístěným mezi iniciátor methioninu a lysinu v poloze 2. Tento plazmid se nazývá pET-fabI. Pojící sekvence se vytvoří spojením dvou oligonukleotidů:

5'-CATGGGCTTAAATCTTGAAAACAAAACA-3' a

5'-TATGTTTTGTTTTCAAGATTTAAGCC-3'. Pojící sekvence pET-fabI se potvrdí dideoxy-sekvenováním. Pro testování sloučeniny se použije pouze nativní FabI. Pro nadprodukcí nativního

FabI se plazmid pET-fabI transformuje na BL21(DE3) (Novagen) buňky za účelem vzniku kmene BL21(DE3):pET-fabI.

Purifikace FabI *S. aureus*

FabI bakterie *S. aureus* se exprimuje jako rozpustný protein představující do 10 % celkového celulárního proteinu, 400 g buněk se obnoví z 15 litrů fermentačního roztoku v tryptonovém fosfátovém médiu. Buňky se lyzují a vzorek se odstřeďuje. Výsledný supernatant se přefiltruje a čistí se postupně na třech konsektivních chromatografických sloupcích, na kterých probíhá: iontová výměna (Source 15Q), navázání barviva (Blue Sepharose) a exkluze (výběr) velikosti (Superose 12). Po každém sloupci se frakce obsahující FabI spojí, odpaří a zkontroluje se jejich čistota a biologická účinnost.

Klonování FabI *E. coli*

PCR fragment správné velikosti pro FabI *E. coli* se amplifikuje metodou PCR z chromozomální DNA *E. coli*, vklonuje se do TOPO TA klonovacího vektoru a jeho přítomnost se ověří PCR určité kolonie + restriční endonukleázovou analýzou. Předpokládaný PCR fragment obsahující FabI *E. coli* se vklonuje do expresního vektoru pBluePet. FabI klon se transformuje do *E. coli* kmene BL21(DE3). Small Scale expresní studie vykazují over-exprimovaný proteinový proužek s vyhovující molekulární hmotností (cca 28 kDa) odpovídající FabI *E. coli*, který je zřetelně viditelný po obarvení SDS PAGE gelů barvivem Coomassie. Sekvenování DNA expresních konstruktů FabI *E. coli* ilustruje, že nedochází ke zjevných chybám. Sekvenování N' terminální aminokyseliny potvrzuje, že over-exprimovaný proteinový proužek odpovídá FabI *E. coli*.

Purifikace FabI *E. coli*

FabI *E. coli* je exprimován jako rozpustný protein představující do 15 % celkové hmotnosti proteinů, 120 g buněk se obnoví ze 3 litrů fermentačního roztoku v třepacích láhvích s modifikovaným terrific-bujónem. Buňky se lyzují a vzorek se odstřeďuje. Výsledný supernatant se přefiltruje a čistí se postupně na třech konsektivních chromatografických sloupcích, na kterých probíhá: iontová výměna (Source 15Q), navázání barviva (Blue Sepharose) a exkluze (výběr) velikosti (Superose 12). Po každém sloupci se frakce obsahující FabI spojí, odpaří a zkontroluje se jejich čistota a biologická účinnost.

Stanovení inhibice enzymu FabI *S. aureus* (NADH)

Stanovení se provedou na " plochy mikrotitrační plotny o 96 jamkách. Sloučeniny jsou hodnoceny v 50 μ l testovacích směsí obsahujících 100 mM NaADA s pH = 6,5 (ADA = kyselina N-(2-acetamido)-2-iminodioctová), 4 % glycerolu, 0,25 mM krotonylCoA, 1 mM NADH a příslušnou koncentraci FabI *S. aureus*. Množství inhibitorů se obvykle pohybuje v rozmezí 0,01 až 10 μ M. Spotřeba NADH se monitoruje po dobu 20 minut při teplotě 30 °C a to prostřednictvím změny absorbance při vlnových délkách 340 nm. Počáteční rychlosti se stanoví metodou exponenciální shody nelineárních křivek progresu reprezentovaných sklonem tečen v bodě $t = 0$ minut. Hodnoty IC_{50} se stanoví proložením počátečních rychlostí se standardním 4-parametrovým modelem a obvykle se uvádí jako střední hodnota $\pm$ směrodatná odchylka duplicitních stanovení. Triclosan, komerčně dostupný antibakteriální prostředek a inhibitor FabI je nyní zahrnut ve všech stanoveních jako pozitivní kontrola. Sloučeniny podle přítomného vynálezu mají hodnoty IC_{50} v rozmezí od přibližně 30,0 do přibližně 0,010 v mikromolárním vyjádření.

Stanovení inhibice enzymu FabI *S. aureus* (NADPH)

Stanovení se provedou na " plochy mikrotitrační plotny o 96 jamkách. Sloučeniny jsou hodnoceny ve 150 μ l testovacích směsích obsahujících 100 mM NaADA s pH = 6,5 (ADA = kyselina N-(2-acetamido)-2-iminodioctová), 4 % glycerolu, 0,25 mM krotonylCoA, 50 μ M NADPH a příslušné ředění (příslušnou koncentrací) FabI *S. aureus*. Množství inhibitorů se obvykle pohybuje v rozmezí 0,01 až 10 μ M. Spotřeba NADPH se monitoruje po dobu 20 minut při teplotě 30 °C a to prostřednictvím změny absorbance ve vlnových délkách 340 nm. Počáteční rychlosti se stanoví metodou exponenciální shody nelineárních křivek progrese reprezentovaných sklonem tečen v bodě $t = 0$ minut. Hodnoty IC_{50} se stanoví proložením počátečních rychlostí se standardním 4-parametrovým modelem a obvykle se uvádí jako střední hodnota $\pm$ směrodatná odchylka duplicitních stanovení. Triclosan, komerčně dostupný antibakteriální prostředek a inhibitor FabI je nyní zahrnut ve všech stanoveních jako pozitivní kontrola.

Stanovení inhibice enzymu FabI *E. coli*

Stanovení se provedou na " plochy mikrotitrační plotny o 96 jamkách. Sloučeniny jsou hodnoceny ve 150 μ l testovacích směsích obsahujících 100 mM NaADA s pH = 6,5 (ADA = kyselina N-(2-acetamido)-2-iminodioctová), 4 % glycerolu, 0,25 mM krotonylCoA, 50 μ M NADH a příslušnou koncentrací FabI *E. coli*. Množství inhibitorů se obvykle pohybuje v rozmezí 0,01 až 10 μ M. Spotřeba NADH se monitoruje po dobu 20 minut při teplotě 30 °C a to prostřednictvím změny absorbance při vlnových délkách 340 nm. Počáteční rychlosti se stanoví metodou exponenciální shody nelineárních křivek progrese reprezentovaných sklonem tečen v bodě $t = 0$ minut. Hodnoty IC_{50} se stanoví proložením počátečních rychlostí se standardním 4-

parametrovým modelem a obvykle se uvádí jako střední hodnota $\pm$ směrodatná odchylka duplicitních stanovení. Triclosan, komerčně dostupný antibakteriální prostředek a inhibitor FabI je nyní zahrnut ve všech stanoveních jako pozitivní kontrola. Sloučeniny podle přítomného vynálezu mají hodnoty IC_{50} v rozmezí od přibližně 45,0 do přibližně 2,0, uvedeno mikromolárně.

Stanovení antimikrobiální aktivity

Antimikrobiální účinky na buňky jako celek se stanoví prostřednictvím mikrodiluce bujónu za použití doporučeného postupu Národního výboru pro klinické laboratorní standardy (National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)), a to v dokumentu M7-A4 - "Způsoby provádění dilučních testů citlivosti pro aerobní bakterie". Sloučenina se testuje v sérii dvojnásobných ředění v rozmezí od 0,06 do 64 $\mu\text{cg/ml}$ (mcg/ml). Antibakteriální aktivita se stanoví porovnáním účinku sloučeniny na reprezentativní bakterie vybrané z následujících vyčtených: *Staphylococcus aureus* Oxford, *Staphylococcus aureus* WCUH29, *Streptococcus pneumoniae* R6, *Streptococcus pneumoniae* ERY2, *Streptococcus pneumoniae* 1629, *Streptococcus pneumoniae* N 1387, *Streptococcus pyogenes* CN10, *Enterococcus faecalis* I, *Enterococcus faecalis* 7, *Haemophilus influenzae* Q1, *Haemophilus influenzae* NEMC1, *Moraxella Catarrhalis* 1502, *Escherichia coli* DC0, *Escherichia coli* ESS, *Escherichia coli* 7623 AcrAB+, *Escherichia coli* 120 AcrAB-, *Escherichia coli* MG1655, *Escherichia coli* MG1658, *Klebsiella pneumoniae* E70, *Pseudomonas aeruginosa* K799wt. Minimální inhibiční koncentrace (MIC) se stanoví jako nejnižší koncentrace sloučeniny, která inhibuje viditelný růst. Jako pomoc pro stanovení hranice MIC se použije zrcadlové odčítací zařízení.

18.03.02

Odborník v oboru považuje jakoukoliv sloučeninu s hodnotou MIC menší než 256 $\mu\text{g/ml}$ jako potenciálně účinnou sloučeninu. Sloučeniny použité v antimikrobiálních stanoveních podle přítomného vynálezu mají s výhodou hodnotu MIC menší než 128 $\mu\text{g/ml}$. Nejvýhodněji mají zmíněné sloučeniny hodnotu MIC menší než 64 $\mu\text{g/ml}$.

Následující příklady jsou poskytnuty za účelem ilustrace jak připravit a používat sloučeniny podle přítomného vynálezu, v žádném případě však nevymezují rámec přítomného vynálezu. Odborníkovi v oboru bude jasných mnoho dalších provedení.

Příklady provedení vynálezu

Obecné poznámky

Spektra protonové nukleární magnetické rezonance (^1H NMR) se zaznamenávají při frekvenci 300 MHz a chemické posuny se uvádějí v částech na milion (delta) směrem dolů od vnitřního standardu tetrametylsilanu (TMS). Zkratky pro NMR údaje jsou následující: s znamená singlet, d znamená dublet, t znamená triplet, q znamená kvartet, m znamená multiplet, dd znamená dvojitý dublet, dt znamená dvojitý triplet, app znamená zjevný, br znamená široký. J znamená NMR kuplovací konstantu měřenou v hertzech. CDCl_3 znamená deuteriochloroform, $\text{DMSO}-d_6$ znamená hexadeuteriodimethylsulfoxid a CD_3OD znamená tetrauteriomethanol. Hmotnostní spektra se získají za použití ionizačních metod elektroprchy (electrospray, ES). Elementární analýzy se provedou na přístroji Quantitative Technologies Inc., Whitehouse, N.J. Teploty tání se stanoví na Thomas-Hooverově přístroji pro měření teploty tání a nejsou korigované. Všechny údaje teploty se uvádí ve stupních celsia. Pro chromatografii na tenké vrstvě se použijí plotny s tenkou vrstvou Analtech Silica Gel GF a E. Merck

Silica Gel 60 F-254. Blesková chromatografie se provede na E. Merck Kieselgel 60 silikagelu s velikostí částic 0,038 až 0,066 mm. Analytická HPLC se provede na Beckmann chromatografických systémech. Preparativní HPLC se provede na Gilsonových chromatografických systémech. ODS znamená chromatografickou podporu z oktadecylsilyl-derivatizovaného silikagelu. YMC ODS-AQ[®] je ODS chromatografická podpora a je registrovanou ochrannou známkou společnosti YMC Co. Ltd., Kyoto, Japonsko. PRP-1[®] je polymerní (styren-divinylbenzen) chromatografická podpora a je registrovanou ochrannou známkou společnosti Hamilton Co., Reno, Nevada. Celite[®] je filtrační vložka sestávající z kyselinou promyté rozsivkové zeminy a je to registrovaná ochranná známka společnosti Manville Corp., Denver, Colorado.

Příprava 1

Příprava monohydrochloridu 9-[4-(hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

a) 2-Benzyloxykarbonyl-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido-[3,4-b]indol

K míchanému roztoku 20,0 g (116,2 mmol) 1,2,3,4-tetrahydro-9H-pyrido-[3,4-b]indolu ve 150 ml suchého DMF se při teplotě místnosti přidá 31,84 g (127,76 mmol) N-(benzyloxykarbonyloxy)sukcinimidu a 13,0 g (127,76 mmol) triethylaminu. Po 12 hodinách se reakční směs vlije do 150 ml vody a extrahuje se dvakrát 200 ml EtOAc. Spojené organické fáze se popořadě promyjí vodou a vodným roztokem chloridu sodného a poté se vysuší Na₂SO₄. Odpařením za sníženého tlaku se dostane žlutý olej. Čištěním na oxidu křemičitém za eluování směsí hexanů a EtOAc v poměru 4:1 se dostane 34,48 g (97%) sloučeniny pojmenované v podtitulku, jako pevné látky bílé barvy.

MS (ES) m/e 307 ($M + H$)⁺.

b) 2-Benzyloxykarbonyl-9-[4-(benzyloxyfenyl)methyl]-
-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol

K míchanému roztoku 17,75 g (58,0 mmol) 2-benzyloxykarbonyl-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu ve 150 ml suchého DMF se přidá 14,85 g (63,8 mmol) N-benzyloxybenzylchloridu. Po 10 minutách se přidá 2,78 g (69,6 mmol) 60% NaH a reakční suspenze se nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se po dobu 12 hodin. Reakční směs se vlije do 200 ml vody a extrahuje se dvakrát 200 ml EtOAc. Spojené organické fáze se popořadě promyjí vodou a vodným roztokem chloridu sodného a poté se vysuší Na_2SO_4 . Odpařením za sníženého tlaku se dostane voskovitá pevná látka. Čištěním na oxidu křemičitém za eluování směsí hexanu a EtOAc v poměru 4:1 se dostane 27,13 g (93%) sloučeniny pojmenované v podtitulku, jako pevné látky bílé barvy.

MS (ES) m/e 503 ($M + H$)⁺.

c) Monohydrochlorid 9-[4-(hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

K roztoku 5,0 g (9,96 mmol) 2-benzyloxykarbonyl-9-[4-(benzyloxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu ve 25 ml methanolu a 50 ml dioxanu obsahujícího 10 ml 1M HCl v dioxanu v Parrově hydrogenacním přístroji se při teplotě místnosti přidá 0,5 g 10% Pd/C. Reakční směs se protřepává pod plynným vodíkem při tlaku 30,9 kPa po dobu 5 hodin. Suspenze se přefiltruje přes celite[®] a filtrační vložka se promyje methanolem. Filtrát se odpaří na rotační odparce a odparek se vysuší ve vysokém vakuu, čímž se dostane sloučenina pojmenovaná v nadpisu

18.09.02

jako pevná látka bílé barvy, v množství 2,79 g (89%).

MS (ES) m/e 279 ($M + H - HCl$)⁺.

Příprava 2

Příprava monohydrochloridu 9-methyl-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

a) 2-Benzyloxykarbonyl-9-methyl-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol

K míchanému roztoku 5,0 g (16,3 mmol) 2-benzyl-oxykarbonyl-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu v 75 ml suchého DMF se při teplotě 5 °C přidá 0,7 g (17,5 mmol) 60% NaH. Po 10 minutách se přidá 11,57 g (81,5 mmol) methyljodidu, reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se po dobu 12 hodin. Reakční směs se vlije do 100 ml vody a extrahuje se dvakrát 100 ml EtOAc. Spojené organické fáze se popořadě promyjí vodou a vodným roztokem chloridu sodného a poté se vysuší Na_2SO_4 . Odpařením za sníženého tlaku a čištěním na oxidu křemičitém za eluování směsí hexanů a EtOAc v poměru 1:1 se dostane 5,17 g (99%) sloučeniny pojmenované v podtitulku, jako pevné látky bílé barvy.

MS (ES) m/e 321 ($M + H$)⁺.

b) Monohydrochlorid 9-methyl-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

K roztoku 5,17 g (16,2 mmol) 2-benzyloxykarbonyl-9-methyl-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu ve 100 ml methanolu, 25 ml EtOAc a 17 ml 1M HCl v dioxanu v Parrově hydrogenačním přístroji se při teplotě místnosti přidá 0,5 g 10% Pd/C. Reakční směs se protřepává pod

18.02.03

plynným vodíkem při tlaku 30,9 kPa po dobu 6 hodin. Suspenze se přefiltruje přes celite® a filtrační vložka se promyje methanolem. Filtrát se odpaří na rotační odparce a odparek se vysuší ve vysokém vakuu, čímž se dostane sloučenina pojmenovaná v nadpisu jako pevná látka bílé barvy, v množství 3,19 g (92%).

MS(ES) m/e 187 (M + H - HCl)⁺.

Příprava 3

Příprava monohydrochloridu 9-([4-(trifluormethyl)fenyl]-methyl)-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

a) 2-Benzoyloxykarbonyl-9-([4-(trifluormethyl)fenyl]-methyl)-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol

K míchanému roztoku 5,82 g (19,0 mmol) 2-benzyl-oxykarbonyl-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu v 75 ml suchého DMF se při teplotě 5 °C přidá 1,10 g (28,5 mmol) 60% NaH. Po 10 minutách se přidá 5,0 g (20,9 mmol) 4-trifluormethylbenzylbromidu, reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se po dobu 12 hodin. Reakční směs se vlije do 100 ml vody a extrahuje se dvakrát 100 ml EtOAc. Spojené organické fáze se popořadě promyjí vodou a vodným roztokem chloridu sodného a poté se vysuší Na₂SO₄. Odpařením za sníženého tlaku a čištěním na oxidu křemičitém za eluování směsí hexanů a EtOAc v poměru 4:1 se dostane 8,73 g (99%) sloučeniny pojmenované v podtitulku, jako pevné látky bílé barvy.

MS (ES) m/e 465 (M + H)⁺.

b) Monohydrochlorid 9-([4-(trifluormethyl)fenyl]methyl)-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

K roztoku 8,73 g (18,81 mmol) 2-benzyloxykarbonyl-9-([4-(trifluormethyl)fenyl]methyl)-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu v 50 ml methanolu, 50 ml dioxanu a 19 ml 1M HCl v dioxanu v Parrově hydrogenacním přístroji se při teplotě místnosti přidá 0,5 g 10% Pd/C. Reakční směs se protřepává pod plynným vodíkem při tlaku 30,9 kPa po dobu 6 hodin. Suspenze se přefiltruje přes celite® a filtrační vložka se promyje methanolem. Filtrát se odpaří na rotační odparce a odparek se vysuší ve vysokém vakuu, čímž se dostane sloučenina pojmenovaná v nadpisu jako pevná látka bílé barvy, v množství 6,33 g (92%).

MS(ES) m/e 331 (M + H - HCl)⁺.

Příprava 4

Příprava 2-benzoyl-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]-indolu

a) 2-Benzoyl-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol

K míchanému roztoku 2,0 g (11,6 mmol) 1,2,3,4-tetrahydro-9H-pyrido-[3,4-b]indolu ve 20 ml suchého DMF se při teplotě místnosti přidá 1,56 g (12,77 mmol) kyseliny benzoové, 1,72 g (12,77 mmol) hydratu 1-hydroxybenzotriazolu a 1,65 g (12,77 mmol) diisopropylethylaminu. Po 10 minutách se přidá 2,44 g (12,77 mmol) EDC a reakční směs se míchá po dobu 12 hodin. Reakční směs se vlije do 100 ml vody a extrahuje se dvakrát 100 ml EtOAc. Spojené organické fáze se popořadě promyjí vodou a nasyceným vodným roztokem chloridu sodného a poté se vysuší Na₂SO₄. Odpařením za sníženého tlaku a čištěním na oxidu křemičitém za eluování směsí hexanů a EtOAc v poměru 1:1 se dostane 3,0 g (94%) sloučeniny pojmenované v nadpisu, jako pevné látky bílé barvy.

MS (ES) m/e 277 ($M + H$)⁺.

Příprava 5

Příprava monohydrochloridu 9-{[4-(fluor)fenyl]methyl}-
-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

a) 2-Benzyloxykarbonyl-9-{[4-(fluor)fenyl]methyl}-1,3,4,9-
-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol

K míchanému roztoku 5,0 g (16,33 mmol) 2-benzyloxykarbonyl-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu v 75 ml suchého DMF se při teplotě 5 °C přidá 0,98 g (24,5 mmol) 60 NaH. Po 10 minutách se přidá 3,40 g (18,0 mmol) 4-fluorbenzylbromidu, reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se po dobu 12 hodin. Reakční směs se vlije do 100 ml vody a extrahuje se dvakrát 100 ml EtOAc. Spojené organické fáze se popořadě promyjí vodou a vodným roztokem chloridu sodného a poté se vysuší Na₂SO₄. Odpařením za sníženého tlaku a čištěním na oxidu křemičitém za eluování směsí hexanů a EtOAc v poměru 4:1 se dostane 6,42 g (95%) sloučeniny pojmenované v podtitulku, jako pevné látky bílé barvy.

MS (ES) m/e 415 ($M + H$)⁺.

b) Monohydrochlorid 9-{[4-(fluor)fenyl]methyl}-1,3,4,9-
-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

K roztoku 5,28 g (12,7 mmol) 2-benzyloxykarbonyl-9-{[4-(fluor)fenyl]methyl}-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu v 50 ml methanolu, 50 ml dioxanu a 19 ml 1M HCl v dioxanu v Parrově hydrogenačním přístroji se při teplotě místnosti přidá 0,5 g 10% Pd/C. Reakční směs se protřepává pod plynným vodíkem při tlaku 30,9 kPa po dobu 6

hodin. Suspenze se přefiltruje přes celite® a filtrační vložka se promyje methanolem. Filtrát se odpaří na rotační odparce a odparek se vysuší ve vysokém vakuu, čímž se dostane sloučenina pojmenovaná v nadpisu jako pevná látka bílé barvy, v množství 3,61 g (90%).

MS(ES) m/e 281 (M + H - HCl)⁺.

Příprava 6

Příprava monohydrochloridu methyl-4-(1,2,3,4-tetrahydro-beta-9-karbolinyl)methylbenzoatu

a) 2-Benzyloxykarbonyl-9-([4-methoxykarbonyl)fenyl]methyl)-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol

K míchanému roztoku 5,0 g (16,33 mmol) 2-benzyloxykarbonyl-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu v 75 ml suchého DMF se při teplotě 5 °C přidá 0,98 g (24,5 mmol) 60% NaH. Po 10 minutách se přidá 4,12 g (18,0 mmol) 4-(brommethyl)benzoatu, reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se po dobu 12 hodin. Reakční směs se vlije do 100 ml vody a extrahuje se dvakrát 100 ml EtOAc. Spojené organické fáze se popořadě promyjí vodou a vodným roztokem chloridu sodného a poté se vysuší Na₂SO₄. Odpařením za sníženého tlaku a čištěním na oxidu křemičitém za eluování směsí hexanů a EtOAc v poměru 4:1 se dostane 6,91 g (93%) sloučeniny pojmenované v podtitulku, jako pevné látky bílé barvy.

MS (ES) m/e 455 (M + H)⁺.

b) Monohydrochlorid 9-([4-methoxykarbonyl)fenyl]methyl)-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol

K roztoku 6,91 g (15,22 mmol) 2-benzyloxykarbonyl-9-

-{[4-methoxykarbonyl)fenyl]methyl}-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu v 50 ml methanolu, 50 ml dioxanu a 19 ml 1M HCl v dioxanu v Parrově hydrogenacním přístroji se při teplotě místnosti přidá 0,5 g 10% Pd/C. Reakční směs se protřepává pod plynným vodíkem při tlaku 30,9 kPa po dobu 6 hodin. Suspenze se přefiltruje přes celite® a filtrační vložka se promyje methanolem. Filtrát se odpaří na rotační odparce a odparek se vysuší ve vysokém vakuu, čímž se dostane sloučenina pojmenovaná v nadpisu jako pevná látka bílé barvy, v množství 5,22 g (90%).

MS(ES) m/e 345 (M + H - HCl)⁺.

Následující příklady ilustrují způsob přípravy biologicky účinných sloučenin podle přítomného vynálezu z intermediárních sloučenin, jako jsou ty, které jsou popsány v předcházejících přípravách.

Příklad 1

Příprava 2-benzoyl-9-methyl-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

a) 2-Benzoyl-9-methyl-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol

K míchanému roztoku 3,0 g (10,9 mmol) 2-benzoyl-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido-[3,4-b]indolu v 75 ml suchého DMF se při teplotě 5 °C přidá 0,52 g (13,1 mmol) 60% NaH. Po 10 minutách se přidá 7,80 g (55 mmol) methyljodidu, reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se po dobu 12 hodin. Reakční směs se vlije do 50 ml vody a extrahuje se dvakrát 100 ml EtOAc. Spojené organické fáze se popořadě promyjí vodou a vodným roztokem chloridu sodného a poté se vysuší Na₂SO₄. Odpařením za sníženého tlaku a čištěním na oxidu křemičitém za eluování směsí

18.02.03

hexanu a EtOAc v poměru 1:1 se dostane 3,14 g (99%)
sloučeniny pojmenované v nadpisu, jako pevné látky bílé
barvy.

MS (ES) m/e 291 ($M + H$)⁺.

Příklad 2

Příprava 2-benzoyl-9-[(4-benzyloxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

a) 2-Benzoyl-9-[(4-benzyloxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol

K míchanému roztoku 17,75 g (58,0 mmol) 2-benzoyl-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido-[3,4-b]indolu v 75 ml suchého DMF se při teplotě 5 °C přidá 2,78 g (69,6 mmol) 60% NaH. Po 10 minutách se přidá 14,85 g (63,8 mmol) 4-benzyloxybenzylchloridu, reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se po dobu 12 hodin. Reakční směs se vlije do 150 ml vody a extrahuje se dvakrát 150 ml EtOAc. Spojené organické fáze se popořadě promyjí vodou a vodným roztokem chloridu sodného a poté se vysuší Na_2SO_4 . Odpařením za sníženého tlaku a čištěním na oxidu křemičitém za eluování směsí hexanů a EtOAc v poměru 1:1 se dostane 26,61 g (97%) sloučeniny pojmenované v nadpisu, jako pevné látky bílé barvy.

MS (ES) m/e 473 ($M + H$)⁺.

Příklad 3

Příprava 2-(3-amino)benzoyl-9-methyl-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

a) 2-(3-Amino)benzoyl-9-methyl-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyri-

do[3,4-b]indol (385820)

K míchanému roztoku 0,35 g (1,59 mmol) monohydrochloridu 9-methyl-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]-indolu v 20 ml suchého DMF se při teplotě místnosti přidá 0,24 g (1,75 mmol) kyseliny 3-aminobezoové, 0,24 g (1,75 mmol) hydrátu 1-hydroxybenzotriazolu a 0,45 g (3,50 mmol) diisopropylethylaminu. Po 10 minutách se přidá 0,33 g (1,75 mmol) EDC a reakční směs míchá po dobu 12 hodin. Reakční směs se vlije do 100 ml vody a extrahuje se dvakrát 100 ml EtOAc. Spojené organické fáze se popořadě promyjí vodou a vodným roztokem chloridu sodného a poté se vysuší Na_2SO_4 . Odpařením za sníženého tlaku se dostane olej žluté barvy. Čištěním na oxidu křemičitém za eluování směsí CHCl_3 a CH_3OH v poměru 95:5 se dostane 0,45 g (92%) sloučeniny pojmenované v nadpisu, jako pevné látky bílé barvy.

MS (ES) m/e 306 ($\text{M} + \text{H}$)⁺.

Příklad 4

Příprava 2-(4-hydroxy)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

a) 2-(4-Hydroxy)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol

K míchanému roztoku 0,50 g (1,59 mmol) monohydrochloridu 9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu ve 25 ml suchého DMF se při teplotě místnosti přidá 0,24 g (1,75 mmol) kyseliny 4-hydroxybezoové, 0,24 g (1,75 mmol) hydrátu 1-hydroxybenzotriazolu a 0,45 g (3,50 mmol) diisopropylethylaminu. Po 10 minutách se přidá 0,33 g (1,75 mmol) EDC a reakční směs míchá po dobu 12 hodin. Reakční směs se vlije do 100 ml vody a extrahuje se dvakrát 150 ml EtOAc. Spojené organické fáze

se popořadě promyje vodou vodným roztokem chloridu sodného a poté se vysuší Na_2SO_4 . Odpařením za sníženého tlaku a čištěním na oxidu křemičitém za eluování směsí hexanů a EtOAc v poměru 1:2 se dostane 0,55 g (91%) sloučeniny pojmenované v nadpisu, jako pevné látky bílé barvy.

MS (ES) m/e 383 ($M + H$)⁺.

Příklad 5

Příprava 2-benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

a) 2-Benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol

Postupuje se jako v příkladu 4, avšak s tím rozdílem, že místo kyseliny 4-hydroxybenzoové se použije 0,21 g (1,75 mmol) kyseliny benzoové, a sloučenina pojmenovaná v nadpisu se připraví bleskovou chromatografií na silikagelu za eluování směsí hexanů a EtOAc v poměru 1:2, v množství 0,60 g (90%), jako pevná látka bílé barvy.

MS (ES) m/e 383 ($M + H$)⁺.

Příklad 6

Příprava 2-(3,4-methylenedioxy)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

a) 2-(3,4-Methylenedioxy)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol

Postupuje se jako v příkladu 4, avšak s tím rozdílem, že místo kyseliny 4-hydroxybenzoové se použije 0,29 g (1,75 mmol) kyseliny piperonylové, a sloučenina

pojmenovaná v nadpisu se připraví bleskovou chromatografií na silikagelu za eluování směsí hexanů a EtOAc v poměru 1:2, v množství 0,69 g (93%), jako pevná látka bílé barvy.

MS (ES) m/e 427 ($M + H$)⁺.

Příklad 7

Příprava 2-(2-hydroxy)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

a) 2-(2-Hydroxy)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol

Postupuje se jako v příkladu 4, avšak s tím rozdílem, že místo kyseliny 4-hydroxybenzoové se použije 0,24 g (1,75 mmol) kyseliny 2-hydroxybenzoové, a sloučenina pojmenovaná v nadpisu se připraví bleskovou chromatografií na silikagelu za eluování směsí hexanů a EtOAc v poměru 1:2, v množství 0,62 g (89%), jako pevná látka bílé barvy.

MS (ES) m/e 399 ($M + H$)⁺.

Příklad 8

Příprava 2-(3-imidazo)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

a) 2-(3-Imidazo)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol

Postupuje se jako v příkladu 4, avšak s tím rozdílem, že místo kyseliny 4-hydroxybenzoové se použije 0,28 g (1,75 mmol) kyseliny 5-benzimidazolkarboxylové, a

18.02.02

sloučenina pojmenovaná v nadpisu se připraví bleskovou chromatografií na silikagelu za eluování směsí hexanů a EtOAc v poměru 1:2, v množství 0,63 g (85%), jako pevná látka bělavé barvy.

MS (ES) m/e 423 (M + H)⁺.

Příklad 9

Příprava 2-(6-hydroxy)nikotinoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

a) 2-(6-Hydroxy)nikotinoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol

Postupuje se jako v příkladu 4, avšak s tím rozdílem, že místo kyseliny 4-hydroxybenzoové se použije 0,24 g (1,75 mmol) kyseliny 6-hydroxynikotinové, a sloučenina pojmenovaná v nadpisu se připraví bleskovou chromatografií na silikagelu za eluování směsí hexanů a EtOAc v poměru 1:2, v množství 0,58 g (83%), jako pevná látka ne zcela bělavé barvy.

MS (ES) m/e 400 (M + H)⁺.

Příklad 10

Příprava 2-(6-amino)nikotinoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

a) 2-(6-Amino)nikotinoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol

Postupuje se jako v příkladu 4, avšak s tím rozdílem, že místo kyseliny 4-hydroxybenzoové se použije 0,24 g (1,75 mmol) kyseliny 6-aminonikotinové, a sloučenina

18.02.02

pojmenovaná v nadpisu se připraví bleskovou chromatografií na silikagelu za eluování směsí hexanů a EtOAc v poměru 1:2, v množství 0,60 g (87%), jako pevná látka nezcěla bělavé barvy.

MS (ES) m/e 399 (M + H)⁺.

Příklad 11

Příprava 2-(4-methylamino)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)-methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

a) 2-(4-Methylamino)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol

Postupuje se jako v příkladu 4, avšak s tím rozdílem, že místo kyseliny 4-hydroxybenzoové se použije 0,26 g (1,75 mmol) kyseliny 7-methylaminobenzoové, a sloučenina pojmenovaná v nadpisu se připraví bleskovou chromatografií na silikagelu za eluování směsí hexanů a EtOAc v poměru 1:2, v množství 0,61 g (85%), jako pevná látka nezcěla bělavé barvy.

MS (ES) m/e 412 (M + H)⁺.

Příklad 12

Příprava 2-(4-amino)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

a) 2-(4-Amino)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol

Postupuje se jako v příkladu 4, avšak s tím rozdílem, že místo kyseliny 4-hydroxybenzoové se použije

18.02.02

0,24 g (1,75 mmol) kyseliny 4-aminobenzoové, a sloučenina pojmenovaná v nadpisu se připraví bleskovou chromatografií na silikagelu za eluování směsí hexanů a EtOAc v poměru 1:2, v množství 0,56 g (80%), jako pevná látka nezcela bělavé barvy.

MS (ES) m/e 398 (M + H)⁺.

Příklad 13

Příprava 2-(4-chlor)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

a) 2-(4-Chlor)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol

Postupuje se jako v příkladu 4, avšak s tím rozdílem, že místo kyseliny 4-hydroxybenzoové se použije 0,27 g (1,75 mmol) kyseliny 4-chlorbenzoové, a sloučenina pojmenovaná v nadpisu se připraví bleskovou chromatografií na silikagelu za eluování směsí hexanů a EtOAc v poměru 1:2, v množství 0,63 g (96%), jako pevná látka bílé barvy.

MS (ES) m/e 417 (M + H)⁺.

Příklad 14

Příprava 2-(3,5-dichlor-4-hydroxy)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

a) 2-(3,5-Dichlor-4-hydroxy)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol

Postupuje se jako v příkladu 4, avšak s tím rozdílem, že místo kyseliny 4-hydroxybenzoové se použije 0,36 g (1,75 mmol) kyseliny 3,5-dichlor-4-hydroxybenzoové,

13.02.02

a sloučenina pojmenovaná v nadpisu se připraví bleskovou chromatografií na silikagelu za eluování směsí hexanů a EtOAc v poměru 1:2, v množství 0,70 g (94%), jako pevná látka bílé barvy.

MS (ES) m/e 468 (M + H)⁺.

Příklad 15

Příprava 2-(3-chlor-4-hydroxy)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

a) 2-(3-Chlor-4-hydroxy)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol

Postupuje se jako v příkladu 4, avšak s tím rozdílem, že místo kyseliny 4-hydroxybenzoové se použije 0,32 g (1,75 mmol) hemihydrátu kyseliny 3-chlor-4-hydroxybenzoové, a sloučenina pojmenovaná v nadpisu se připraví bleskovou chromatografií na silikagelu za eluování směsí hexanů a EtOAc v poměru 1:2, v množství 0,62 g (91%), jako pevná látka bílé barvy.

MS (ES) m/e 434 (M + H)⁺.

Příklad 16

Příprava 2-(4-hydroxy)benzoyl-9-[[4-(trifluormethyl)fenyl]methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

a) 2-(4-Hydroxy)benzoyl-9-[[4-(trifluormethyl)fenyl]methyl]-1,3,4,9--tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol

Postupuje se jako v příkladu 4, avšak s tím rozdílem, že se místo monohydrochloridu 9-[(4-(hydroxy-

18.02.02

fenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu použije 0,50 g (1,37 mmol) monohydrochloridu 9-([4-(tri-fluormethyl)fenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu, a sloučenina pojmenovaná v nadpisu se připraví bleskovou chromatografií na silikagelu za eluování směsí hexanů a EtOAc v poměru 1:2, v množství 0,55 g (90%), jako pevná látka bílé barvy.

MS (ES) m/e 451 (M + H)⁺.

Příklad 17

Příprava methyl-4-({2-[(4-hydroxyfenyl)karbonyl]-1,2,3,4-tetrahydrobeta-9-karbolinyl)methyl)benzoatu

Postupuje se jako v příkladu 4, avšak s tím rozdílem, že se místo monohydrochloridu 9-[(4-hydroxy-fenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu použije 0,76 g (2,0 mmol) monohydrochloridu 9-([4-(methoxykarbonyl)fenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu, a sloučenina pojmenovaná v nadpisu se připraví bleskovou chromatografií na silikagelu za eluování směsí hexanů a EtOAc v poměru 1:2, v množství 0,87 g (94%), jako pevná látka bílé barvy.

MS (ES) m/e 466 (M + H)⁺.

Příklad 18

Příprava 2-(4-chlor-2-hydroxy)benzoyl-9-[(4-hydroxy-fenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

Postupuje se jako v příkladu 4, avšak s tím rozdílem, že se místo kyseliny 4-hydroxybenzoové použije 0,19 g (1,10 mmol) kyseliny 4-chlor-2-hydroxybenzoové, a sloučenina pojmenovaná v nadpisu se připraví bleskovou

18.02.02

chromatografií na silikagelu za eluování směsí hexanů a EtOAc v poměru 1:2, v množství 0,44 g (95%), jako pevná látka bílé barvy.

MS (ES) m/e 469 ($M + H$)⁺.

Příklad 19

Příprava 2-(5-chlor-2-hydroxy)benzoyl-9-[(4-hydroxy-fenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

Postupuje se jako v příkladu 4, avšak s tím rozdílem, že se místo kyseliny 4-hydroxybenzoové použije 0,19 g (1,10 mmol) kyseliny 5-chlor-2-hydroxybenzoové, a sloučenina pojmenovaná v nadpisu se připraví bleskovou chromatografií na silikagelu za eluování směsí hexanů a EtOAc v poměru 1:2, v množství 0,44 g (94%), jako pevná látka bílé barvy.

MS (ES) m/e 469 ($M + H$)⁺.

Příklad 20

Příprava 2-(4-hydroxy)benzoyl-9-[(4-fluorfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

Postupuje se jako v příkladu 4, avšak s tím rozdílem, že se místo monohydrochloridu 9-[(4-hydroxy-fenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu použije 0,50 g (1,58 mmol) monohydrochloridu 9-[(4-fluor-fenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu, a sloučenina pojmenovaná v nadpisu se připraví bleskovou chromatografií na silikagelu za eluování směsí hexanů a EtOAc v poměru 1:1, v množství 0,58 g (92%), jako pevná látka bílé barvy.

18.02.02

MS (ES) m/e 401 (M + H)⁺.

Příklad 21

Příprava 2-(3-chlor-4-hydroxy)benzoyl-9-[(4-fluor-fenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

Postupuje se jako v příkladu 4, avšak s tím rozdílem, že se místo monohydrochloridu 9-[(4-hydroxy-fenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu použije 0,50 g (1,58 mmol) monohydrochloridu 9-[(4-fluor-fenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu, a místo kyseliny 4-hydroxybenzoové se použije 0,32 g (1,75 mmol) kyseliny 3-chlor-4-hydroxybenzoové, sloučenina pojmenovaná v nadpisu se připraví bleskovou chromatografií na silikagelu za eluování směsí hexanů a EtOAc v poměru 1:1, v množství 0,60 g (95%), jako pevná látka bílé barvy.

MS (ES) m/e 436 (M + H)⁺.

Příklad 22

Příprava 2-(3,5-dichlor-4-hydroxy)benzoyl-9-[(4-fluor-fenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

Postupuje se jako v příkladu 4, avšak s tím rozdílem, že se místo monohydrochloridu 9-[(4-hydroxy-fenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu použije 0,50 g (1,58 mmol) monohydrochloridu 9-[(4-fluor-fenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu, a místo kyseliny 4-hydroxybenzoové se použije 0,36 g (1,75 mmol) kyseliny 3,5-dichlor-4-hydroxybenzoové, sloučenina pojmenovaná v nadpisu se připraví bleskovou chromatografií na silikagelu za eluování směsí hexanů a EtOAc v poměru 1:1, v množství 0,68 g (92%), jako pevná látka bílé barvy.

MS (ES) m/e 470 (M + H)⁺.

Příklad 23

Příprava 2-(3-chlor-4-hydroxy)benzoyl-9-([4-(trifluoromethyl)fenyl]methyl)-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

Postupuje se jako v příkladu 4, avšak s tím rozdílem, že se místo monohydrochloridu 9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu použije 0,50 g (1,37 mmol) monohydrochloridu 9-([4-(trifluormethyl)fenyl]methyl)-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu, a místo kyseliny 4-hydroxybenzoové se použije 0,27 g (1,51 mmol) hemihydratu kyseliny 3-chlor-4-hydroxybenzoové, sloučenina pojmenovaná v nadpisu se připraví bleskovou chromatografií na silikagelu za eluování směsí hexanu a EtOAc v poměru 1:1, v množství 0,56 g (90%), jako pevná látka bílé barvy.

MS (ES) m/e 453 (M + H)⁺.

Příklad 24

Příprava 2-(2-hydroxy-4-methyl)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indolu

Postupuje se jako v příkladu 4, avšak s tím rozdílem, že místo kyseliny 4-hydroxybenzoové se použije 0,27 g (1,75 mmol) kyseliny 2-hydroxy-4-methylbenzoové, sloučenina pojmenovaná v nadpisu se připraví bleskovou chromatografií na silikagelu za eluování směsí hexanu a EtOAc v poměru 1:2, v množství 0,62 g (95%), jako pevná látka bílé barvy.

MS (ES) m/e 413 (M + H)⁺.

Příklad 25

Parenterální prostředek obsahující jednotkovou dávku

Prostředek obsahující 20 mg sloučeniny z příkladu 1 jako sterilní suchý prášek se připraví následujícím způsobem: 20 mg sloučeniny se rozpustí v 15 ml destilované vody. Roztok se přefiltruje za sterilních podmínek do vícedávkové ampule o objemu 25 ml a lyofilizuje se. Prášek se pro intravenózní či intramuskulární injekci rekonstituuje přidáním 20 ml roztoku 5% dextrózy ve vodě (D5W). Dávka je tedy determinována injikovaným objemem. Přidáním vyměřeného objemu této jednotkové dávky k dalšímu objemu D5W pro injekce může být provedeno další zředění, nebo může být vyměřená dávka přidána do jiného mechanismu pro uchovávání léčiv, jako je například láhev či vak pro i.v. infusi či jiný injekční-infusní systém.

Příklad 26

Perorální prostředek obsahující jednotkovou dávku

Kapsle pro perorální podání se připraví smísením a mletím 50 mg sloučeniny z příkladu 1 se 75 mg laktózy a 5 mg stearatu hořečnatého. Takto připravený prášek se proseje a naplní se do tvrdé želatinové kapsle.

Příklad 27

Perorální prostředek obsahující jednotkovou dávku

Tableta pro perorální podání se připraví smísením a granulováním 20 mg sacharózy, 150 mg dehydrátu síranu vápenatého a 50 mg sloučeniny z příkladu 1 s 10% roztokem

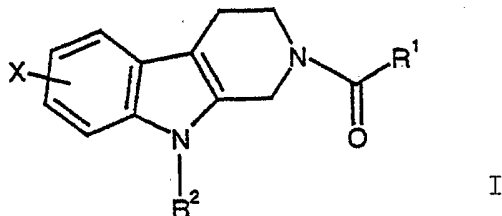
18.02.02

želatiny. Vlhké granule se prosejí, vysuší, smísí s 10 mg škrobu, 5 mg mastku a 3 mg kyseliny stearové a stlačí se do tablety.

Výše uvedený popis plně odhaluje jak provést a využít přítomný vynález. Přítomný vynález nicméně není omezen na výše popsaná konkrétní provedení a zahrnuje též všechny jeho modifikace, které spadají do rámce následujících nároků. Rozličné odkazy na časopisy, patenty a ostatní publikace, které jsou zde citovány, reprezentují dosavadní stav techniky a jsou zahrnuty v tomto spisu v celém svém znění v odkazech.

P A T E T O V É N Á R O K Y

1. Sloučenina obecného vzorce I



kde

R^1 je Ar nebo Het;

R je atom vodíku, alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku, nebo Ar-alkylová skupina s 0 až 6 atomy uhlíku v alkylové části;

X je atom vodíku, alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, OR' , SR' , alkylsulfonylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, alkylsulfoxylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, CN , $N(R')_2$, $CH_2N(R')_2$, NO_2 , CF_3 , CO_2R' , $CON(R')_2$, COR' , $NR'C(O)R'$, atom fluoru, atom chloru, atom bromu, atom jodu, nebo $CF_3S(O)_r$;

R' je atom vodíku, alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku, nebo Ar-alkylová skupina s 0 až 6 atomy uhlíku v alkylové části; a

r je 0, 1 nebo 2;

nebo její farmaceuticky přijatelná sůl.

2. Sloučenina podle nároku 1, kde R^1 je fenylová skupina, nesubstituovaná či substituovaná methylenedioxy-skupinou nebo jedním až třemi substituenty vybranými ze

souboru sestávajícího z alkylové skupiny s 1 až 4 atomy uhlíku, OR' , $N(R')$, atomu fluoru, atomu chloru, atomu bromu, atomu jodu, nebo CF_3 , kde R' je atom vodíku nebo alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku.

3. Sloučenina podle nároku 1, kde R^1 je benzimidazolyllová skupina nebo pyridyllová skupina, nesubstituovaná či substituovaná alkylovou skupinou s 1 až 4 atomy uhlíku, OR' , $N(R')$, atomem fluoru, atomem chloru, atomem bromu, atomem jodu, nebo CF_3 , kde R' je atom vodíku nebo alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku.

4. Sloučenina podle nároku 1, kde R^2 je atom vodíku, alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku nebo fenylalkylová skupina s 0 až 6 atomy uhlíku v alkylové části, přičemž fenylová skupina je nesubstituovaná či substituovaná methylenedioxy skupinou nebo jedním až třemi substituenty vybranými ze souboru sestávajícího z alkylové skupiny s 1 až 4 atomy uhlíku, OR'' , CO_2R' , $N(R')_2$, atomu fluoru, atomu chloru, atomu bromu, atomu jodu a CF_3 , kde R' je atom vodíku nebo alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku a R'' je atom vodíku, alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku nebo benzylová skupina.

5. Sloučenina podle nároku 1, kde X je atom vodíku, alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, OR' , CN , $N(R')_2$, NO , CF_3 , CO_2R' , $CON(R')_2$, COR' , atom fluoru, atom chloru, atom bromu, atom jodu, kde R' je atom vodíku nebo alkylová skupina s 1 až 6 atomy uhlíku.

6. Sloučenina podle nároku 1, kterou je

2-benzoyl-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol;

2-benzoyl-9-methyl-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]-indol;

2-benzoyl-9-[(4-benzyloxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-

18.02.02

-2H-pyrido[3,4-b]indol;
2-benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-
-pyrido[3,4-b]indol;
2-(3,4-methylenedioxy)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-
-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol;
2-(2-hydroxy)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-
-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol;
2-(3-imidazo)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-te-
trahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol;
2-(6-hydroxy)nikotinoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-
-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol;
2-(3-amino)nikotinoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-
-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol;
2-(3-amino)benzoyl-9-methyl-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido-
[3,4-b]indol;
2-(4-hydroxy)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-
-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol;
2-(4-methylamino)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-
-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol;
2-(4-amino)benzoyl-9-[(4-trifluormethylfenyl)methyl]-
1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol;
2-(4-chlor)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-1,3,4,9-
-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol;
2-(4-hydroxy)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)-methyl]-1,3,4,9-
-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol;
2-(3,5-dichlor-4-hydroxy)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)-me-
thyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol;
2-(3-chlor-4-hydroxy)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)-methyl]-
-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol;
methyl-[4-({2-[(4-hydroxyfenyl)karbonyl]-1,2,3,4-tetra-
hydro-beta-9-karbolinyl)methyl}benzoat];
2-(4-chlor-2-hydroxy)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-
-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol;
2-(5-chlor-2-hydroxy)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-
-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol;
2-(4-hydroxy)benzoyl-9-[(4-fluorfenyl)methyl]-1,3,4,9-te-

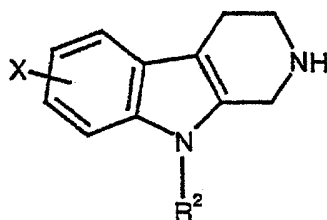
trahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol;
 2-(3-chlor-4-hydroxy)benzoyl-9-[(4-fluorfenyl)methyl]-
 -1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol;
 2-(3,5-dichlor-4-hydroxy)benzoyl-9-[(4-fluorfenyl)methyl]-
 -1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol;
 2-(3-chlor-4-hydroxy)benzoyl-9-[[4-(trifluormethyl)fenyl]-
 methyl]-1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol; nebo
 2-(2-hydroxy-4-methyl)benzoyl-9-[(4-hydroxyfenyl)methyl]-
 -1,3,4,9-tetrahydro-2H-pyrido[3,4-b]indol;
 nebo její farmaceuticky přijatelná sůl.

7. Farmaceutický prostředek, v y z n a č u j í c í
 s e t í m, že obsahuje sloučeninu podle nároku 1 a
 farmaceuticky přijatelný nosič.

8. Způsob inhibice FabI, v y z n a č u j í c í s e
 t í m, že zahrnuje podání jedinci, který to potřebuje,
 sloučeniny podle nároku 1.

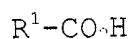
9. Způsob léčení bakteriálních infekcí, v y z n a
 č u j í c í s e t í m, že zahrnuje podání jedinci, který
 to potřebuje, sloučeniny podle nároku 1.

10. Způsob přípravy sloučeniny obecného vzorce I
 podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že
 zahrnuje reakci sloučeniny obecného vzorce II



(II)

se sloučeninou obecného vzorce III



(III)

18.02.02

v kterýchžto vzorcích

R^1 a R mají význam definovaný u obecného vzorce I;

s jakýmkoliv reaktivními funkčními skupinami, které jsou chráněné, za přítomnosti EDC a HOBT;

a poté sejmutí jakékoliv ochranné skupiny a popřípadě přípravu farmaceuticky přijatelné soli.

11. Sloučenina podle jakéhokoliv z nároků 1 až 6 pro použití jako léčivo.

12. Použití sloučeniny obecného vzorce I podle nároku 1 pro výrobu léčiva pro léčení bakteriálních infekcí.

13. Použití sloučeniny obecného vzorce I podle nároku 1 pro výrobu léčiva pro léčení chorob, v jejichž případě je inhibice FabI indikována.