

P 0 2 0 2 7 0 7

000000 A2

74.343/SZE

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

sejtdifferenciálódást előidéző szerek és hatását befolyásoló inhibitorok új szerkezetű, valamint ezeket tartalmazó gyógyszerkészítmények és alkalmazásuk

KIVONAT

A találmány tárgyát az (I) általános képletű vegyületek, valamint ezeket tartalmazó gyógyászati készítmények képezik. A találmány szerinti vegyületek és ezeket tartalmazó gyógyászati készítmények eredményesen alkalmazhatók a daganatos betegségek növekedésének leállítására és a daganatos sejtek burjánzásának gátlására.

Az (I) általános képletben

R_1 és R_2 jelentése azonos vagy egymástól eltérő hidrofób csoport;

R_3 jelentése hidroxámsav-, hidroxil-, amino-, alkil-amino- vagy alkil-oxi-csoport; és

n értéke 3-10-ig terjedő egész szám, a 10-et is beleértve.

Az (I) általános képletű vegyületek közül különösen előnyösek az (I-17) és (I-19) általános képletű vegyületek, ahol a képletekben

R_1 és R_2 jelentése az (I) általános képletben megadottal azonos;

R^5 jelentése $-C(O)-NHOH$ (hidroxámsav csoport), $-C(O)-CF_3$ (trifluor-acetil-csoport), $-NH-P(O)OH-CH_3$, $-SO_2NH_2$ (szulfonamidcsoport), $-SH$ (tiolcsoport), $-C(O)-$

R_6 , ahol R_6 jelentése hidroxil-, amino-, alkil-amino- vagy alkil-oxi-csoport, továbbá

n értéke 3-10-ig terjedő egész szám, és

L jelentése kapcsoló csoport, ahol kapcsoló csoportként jelen lehet $-(CH_2)-$, $-C(O)-$, $-S-$, $-O-$, $-(CH=CH)-$, -fenil- vagy -cikloalkilcsoport vagy ezek bármilyen kombinációja.

DK

P 0 2 0 2 7 0 7

S. B. G. & K.
Szabadalmi Ügyvivői Iroda
H-1062 Budapest, Andrássy út 113.
Telefon: 461-1000, Fax: 461-1099

A2

28330

74.343/SZE

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

Sejtdifferenciálódást előidéző szerek és hiszton dezacetiláz inhibitorok új osztálya, valamint ezeket tartalmazó gyógyászati készítmények és alkalmazásuk

A találmány tárgyát az (I) általános képletű vegyületek és ezek gyógyászatilag megfelelő sói képezik, a találmány tárgyához tartoznak közelebbről az (I-1) - (I-20) képletű vegyületek, valamint ezeket tartalmazó gyógyászati készítmények is. Ezen vegyületek sejtdifferenciálódást előidéző és hiszton dezacetiláz gátló hatásúak.

A leírásban számos közleményre és referenciára hivatkozunk, ezeket zárójelben arab számmal tüntetjük fel. A közlemények pontos ismertetése a leírás végén az igénypontok előtt található. Mindezen közleményeket találmányunknál referenciaként tekintjük.

A rák olyan rendellenesség, amelynél a sejteknek egy csoportja különböző mértékben nem képes reagálni a szaporodást és differenciálódást általában szabályozó kontroll mechanizmusokra. A rák kezelés újabb megközelítésénél kísérletek történtek arra vonatkozóan, hogy a daganatos sejteket terminális differenciálódásra készítsék (1). Több közleményben leírják, hogy sejtenyészeti modellekben differenciálódást lehetett elérni oly módon, hogy a sejteket különböző stimulusoknak tették ki, így például gyűrűs AMP-vel és retinsavval (2, 3), aklarubicinnel és egyéb antraciklin vegyülettel (4) végeztek kezelést.

Számos bizonyíték szól amellett, hogy a daganatos átalakulások nem szükségszerűen szüntetik meg a rákos sejtek azon képességét, hogy differenciálódjanak (1, 5, 6). Számos példa igazolja, hogy azon daganatos sejtek, amelyek nem reagálnak a



burjánzás normális szabályozóira, és úgy tűnik, hogy differenciálódási programjuk expresszálása blokkolva van, mégis differenciálódásra és a replikáció abbahagyására készíthetők. Különböző szerek, mint a viszonylag egyszerű poláros vegyületek (5, 7-9), D-vitamin származékok és retinsav (10-12), szteroid hormonok (13), növekedési faktorok (6, 14), proteázok (15,16), daganat promoterek (17, 18), valamint a DNS vagy RNS szintézis inhibitorai (4, 19-24) képesek különböző transzformált sejtvonalat és primer humán daganatos tenyészetet arra készíteni, hogy differenciáltabb jellemzőket expresszáljanak.

Jelen találmány feltalálói korábbi kísérleteikkel igazolták, hogy némely poláros vegyület képesnek mutatkozik számos transzformált sejtvonalat differenciálódásra készíteni (8, 9). Ezen hatásos vegyületekhez tartoznak a hibrid poláros/apoláros N,N'-hexametilén-bisz-acetamid (HMBA) (9), valamint a szuberoilanilid-hidroxámsav (SAHA) (39, 50). Ezen vegyületek alkalmazhatók az egér eritroleukémia (MEL) sejtek eritroid differenciálódásának előidézésére és az onkogenitás elnyomására; ez a modell alkalmasnak mutatkozott arra is, hogy segítségével vizsgáljuk a transzformált sejteknél a differenciálódás kiváltásának körülményeit (5, 7-9).

A HMBA-val a MEL sejteknél előidézett terminális eritroid differenciálódás több lépésből álló folyamat. HMBA-t adva a MEL sejtekhez (745A-DS19), a tenyészetben 10-12 órás látens periódus indul el, mielőtt a terminális differenciálódásra való készség észlelhetővé válna. A terminális differenciálódásra való készséget a sejtek azon viselkedése alapján határozzuk meg, hogy képesek terminális differenciálódást mutatni a HMBA serkentő anyag eltávolítása ellenére (25) is. A tenyészetet folyamatosan HMBA-val kezelve a sejtek fokozott mértékben differenciálódnak. A feltalálók beszámoltak arról, hogy viszonylag alacsony koncentrációjú vinkrisztinnel rezisztenssé tett MEL



sejtvonalak jelentősen érzékenyebbé válnak a HMBA-val szemben és látens szakasz nélkül vagy rövid ideig tartó látens periódussal differenciálódás idézhető elő (26).

A HMBA képes arra, hogy igen sokféle sejtvonalnál a differenciálódással összhangban lévő tipikus változást idézzon elő. Ezen hatóanyag segítségével elérhető eredményeket a szerzők részletesen tanulmányozták az egér eritroleukémia sejt rendszerrel (5, 25, 27, 28). A MEL sejteknél a differenciálódás elindítása idő- és koncentráció függő. A legtöbb esetben 2-3 mmól/l az a minimális koncentráció, ami szükséges ahhoz, hogy in vitro körülmények között a kívánt hatást elérjük; a differenciálódás elindításához (legalább 20 %-os részben) a sejtenyészetben legalább mintegy 36 óra szükséges.

Kísérleti eredmények igazolják, hogy a proteinkináz C részt vesz a serkentő által közvetített differenciálódási útvonal kialakításában (29). Az in vitro kísérletek kiinduló pontot képezhetnek a HMBA sejtdifferenciáló szerként való alkalmazhatóságának vizsgálatára humán rákbetegségeknél (30). Számos I-fázisú klinikai vizsgálatot végeztek HMBA-val (31-36). A klinikai kísérletek azt igazolják, hogy ez a vegyület alkalmas arra, hogy rákbetegeknél kedvező terápiás választ váltson ki (35, 36). Azonban az I-fázisú klinikai kísérletek azt is bemutatták, hogy a HMBA hatása korlátozott, mint-hogy dóziszfüggően toxicitást mutat, ami megakadályozza az optimális vérszint beállítását, további hátrányt jelent az is, hogy a szerből nagy mennyiséget kell intravénás úton beadni hosszabb perióduson keresztül. Így a feltalálók olyan vegyületek előállítását kezdeményezték, amelyek hatásosabbak és feltehetően kevésbé toxikusak, mint a HMBA (37).

Újabban a differenciálódást előidéző vegyületek egy csoportja hiszton dezacetiláz gátló hatást mutatott. Számos kísérleti daganatellenes vegyület, mint a trikosztatin A (TSA), trapoxin, szuberoilanilid-hidroxámnsav (SAHA), valamint a fenil-



-butirát legalábbis részben hiszton dezacetiláz gátló hatást mutatott (38, 39, 42). Ezen túlmenően diallil-szulfid és rokon vegyületek (43), oxamflatin (44), MS-27-275, egy szintetikus benzamid származék (45), butirát származékok (46), az FR901228 (47), depudecin (48) és m-karboxi-fahéjsav-bisz-hidroxamid (39) hiszton dezacetiláz gátló hatást mutat. In vitro körülmények között ezen vegyületek gátolhatják a fibroblaszt sejtek szaporodását, a G1 és G2 fázisban lévő sejtciklus leállítása révén (49-52), és terminális differenciálódáshoz vezethet, valamint a transzformált sejtvonalaknál a transzformálódási potenciál csökkenését idézheti elő (49-51). In vivo körülmények között a fenilbutirát eredményesen alkalmazható akut promielocita leukémia kezelésére retinsavval együtt történő adagolásban (53). Az SAHA hatásosnak mutatkozott patkányoknál gátolva az emlődaganatok kialakulását, valamint eredményes volt egereknél, aholis gátolta a tüdődaganatok képződését (54, 55).

Az 5 369 108 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban (41) jelen találmány feltalálói olyan vegyületeket mutatnak be, amelyek szelektív módon idéznek elő terminális differenciálódást daganatos sejteknél, ezen vegyületek két poláros végcsoportot tartalmaznak, amely csoportokat flexibilis metiléncsoportokból álló lánc választ el egymástól, ahol a poláros végcsoportok egyike vagy mindkettője nagyméretű hidrofób csoportot képez. Ezen vegyületekről megállapították, hogy a HMBA-nál és a HMBA-val rokon vegyületeknél hatásosabbak.

Azonban az 5 369 108 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban nem esik szó arról, hogy az adott molekulára egy további nagyméretű hidrofób csoportot felvéve az első hidrofób csoportot hordozó molekula végződésre a differenciálódási hatás mintegy százszorosára növekedik, a hatást egy enzimátikus vizsgálattal értékelve és mintegy ötvenszeres hatásnövekedés mutatkozik, a hatást egy sejtdifferenciálódási vizsgálattal ellenőrizve.



A találmány szerinti származékok a vegyületek olyan új osztályát képezik, amelyek eredményesen alkalmazhatók arra, hogy segítségükkel a daganatos sejteknél szelektív módon idézzünk elő terminális differenciálódást és így ezen vegyületek adhatók daganatos betegek kezelésére.

A találmány összefoglalása

A találmány tárgyát az (I) általános képletű vegyületek képezik, ahol a képletben R_1 és R_2 jelentése azonos vagy egymástól eltérő hidrofób csoport; R_3 jelentése hidroxámsav-, hidroxil-amino-, hidroxil-, amino-, alkil-amino- vagy alkil-oxi-csoport; n értéke 3-10-ig terjedő egész szám, a 10-et is beleértve; az (I) általános képletű vegyületekhez tartoznak ezek gyógyászatilag megfelelő sói is.

A találmány tárgyát képezik az A-val jelzett (I-2) általános képletű vegyületek és ezek gyógyászatilag megfelelő sói, ahol a képletben R_1 és R_2 jelentése adott esetben szubsztituált aril-, cikloalkil-, cikloalkil-amino-, naftil-, piridil-amino-, piperidino-, 9-purin-6-amino-, tiazol-amino-, hidroxil-, egyenes vagy elágazó láncú alkil-, alkenil-, alkil-oxi-, aril-oxi-, aril-alkil-oxi- vagy piridilcsoport; R_3 jelentése hidroxámsav-, hidroxil-amino-, hidroxil-, amino-, alkil-amino- vagy alkil-oxi-csoport; R_4 jelentése hidrogénatom, halogénatom, fenil- vagy cikloalkilcsoport, A jelentése azonos vagy eltérő, amidcsoport, -O-, -S-, -NR₅- vagy -CH₂-, ahol R_5 jelentése adott esetben szubsztituált 1-5 szénatomos alkilcsoport, n értéke 3-10-ig terjedő egész szám, a 10-et is beleértve.

A találmány szerinti vegyületek eredményesen alkalmazhatók daganatos sejtek terminális differenciálódásának szelektív előidézésére, így módon sejtek burjánzásának gátlására, ezen kezelés során megfelelő körülmények között a sejteket hatásos mennyiségű találmány szerinti vegyülettel hozzuk érintkezésbe.

Az ábrák ismertetés



1. ábra: Ezen ábra a találmány szerinti (1) képletű vegyület hatását mutatja be a MEL sejtek differenciálódásra.
2. ábra: Ezen ábra a találmány szerinti (1) képletű vegyület hatását mutatja be a hiszton dezacetiláz 1 aktivitására vonatkozóan.
3. ábra: Ezen ábra a találmány szerinti (2) képletű vegyület hatását mutatja be a MEL sejtek differenciálódására.
4. ábra: Ezen ábra a találmány szerinti (3) képletű vegyület hatását mutatja be a MEL sejtek differenciálódására.
5. ábra: Ezen ábra a találmány szerinti (3) képletű vegyület hatását mutatja be a hiszton dezacetiláz 1 aktivitására.
6. ábra: Ezen ábra a találmány szerinti (4) képletű vegyület hatását mutatja be a MEL sejtek differenciálódására.
7. ábra: Ezen ábra a találmány szerinti (4) képletű vegyület hatását mutatja be a hiszton dezacetiláz 1 aktiválására.
8. ábra: Egy fotoaffinitás jelzés (3H-498) közvetlenül a HDAC 1-hez kötődik.
9. ábra: A SAHA az acetilezett hiszton H3 és H4 akkumulációját idézi elő az egereknek beültetett CWR22 daganatban.
10. ábra: Ezen ábra szemlélteti, hogy a SAHA az acetilezett hiszton H3 és H4 akkumulációját idézi elő a betegektől vett perifériás vér mononukleáris sejtjeiben. A SAHA-t 3-szor naponta i.v. infúzió formájában adtuk be. A mintákat az infúziót megelőzően (Pre), ezt követően (Post), valamint 2 órával az infúzió után vettük le.
- 11a - 11f ábrák: Ezen ábrák a kiválasztott vegyületek hatását mutatják be az affinitás alapján tisztított humán, epitoppal jelzett (Flag) HDAC1-re.

A találmány részletes ismertetése



A találmány tárgyát az (I) általános képletű vegyületek és ezek gyógyászatilag megfelelő sói képezik, ahol a képletben

R_1 és R_2 jelentése azonos vagy egymástól eltérő hidrofób csoport; R_3 jelentése hidroxámsav-, hidroxil-amino-, hidroxil-, amino-, alkil-amino- vagy alkil-oxi-csoport; n értéke 3-10-ig terjedő egész szám, a 10-et is beleértve; az (I) általános képletű vegyületekhez tartoznak ezek gyógyászatilag megfelelő sói is.

Az (I) általános képletű vegyületeknél R_1 és R_2 közvetlenül vagy egy kapcsoló csoporton keresztül kötődik a molekulához, R_1 és R_2 jelentése adott esetben szubsztituált aril-, cikloalkil-, cikloalkil-amino-, naftil-, piridil-amino-, piperidino-, 9-purin-6-amin, tiazol-amino-, hidroxil-, egyenes vagy elágazó láncú alkil-, alkenil-, alkil-oxi-, aril-oxi-, aril-alkil-oxi- vagy piridilcsoport.

Amennyiben kapcsoló csoportot alkalmazunk, úgy ez lehet egy amidcsoport, -O-, -S-, -NH- vagy -CH₂- csoport.

A találmány szerinti megoldásnál n értéke 3-10, előnyösen 3-8, még előnyösebben 3-7, ennél is előnyösebben 4, 5 vagy 6, legelőnyösebben 5.

A találmány egy másik megoldása szerint a vegyületek (I-1) általános képletűek, ahol a képletben mindegyik R_4 jelentése adott esetben szubsztituált aril-, cikloalkil-, cikloalkil-amino-, naftil-, piridil-amino-, piperidino-, 9-purin-6-amin, tiazol-amino-, hidroxil-, egyenes vagy elágazó láncú alkil-, alkenil-, alkil-oxi-, aril-oxi-, aril-alkil-oxi- vagy piridincsoport. R_2 jelentése lehet -amid- R_5 csoport, ahol R_5 jelentése adott esetben szubsztituált aril-, cikloalkil-, cikloalkil-amino-, naftil-, piridil-amino-, piperidino-, 9-purin-6-amin, tiazol-amino-, hidroxil-, egyenes vagy elágazó láncú alkil-, alkenil-, alkil-oxi-, aril-oxi-, aril-alkil-oxi- vagy piridilcsoport.

A találmány egy további megoldását képezik az (I-2) általános képletű vegyületek és ezek gyógyászatilag megfelelő sói, ahol a képletben R_1 és R_2 jelentése adott



esetben szubsztituált aril-, cikloalkil-, cikloalkil-amino-, naftil-, piridil-amino-, piperidino-, 9-purin-6-amino-, tiazol-amino-, hidroxil-, egyenes vagy elágazó láncú alkil-, alkenil-, alkil-oxi-, aril-oxi-, aril-alkil-oxi- vagy piridilcsoport; R_3 jelentése hidroxámsav-, hidroxil-amino-, hidroxil-, amino-, alkil-amino- vagy alkil-oxi-csoport; R_4 jelentése hidrogén-atom, halogénatom, fenil- vagy cikloalkilcsoport; A jelentése azonos vagy eltérő, amidcsoport, $-O-$, $-S-$, $-NR_5-$ vagy $-CH_2-$ csoport; R_5 jelentése adott esetben szubsztituált 1-5 szénatomos alkilcsoport, és n értéke 3-10-ig terjedő egész szám.

A találmány egy további megoldását képezik az (I-3) általános képletű vegyületek.

A találmány egy további megoldását képezik az (I-4) általános képletű vegyületek.

A találmány egy további megoldását képezik az (I-5) általános képletű vegyületek, ahol a képletben R_1 és R_2 jelentése adott esetben szubsztituált: aril-, cikloalkil-, cikloalkil-amino-, naftil-, piridil-amino-, piperidino-, terc-butyl-, aril-oxi-, aril-alkil-oxi- vagy piridilcsoport és n értéke 3 és 8 közötti egész szám.

Az aril- vagy cikloalkilcsoportok szubsztituálva lehetnek metil-, ciano-, nitro-, trifluor-metil-, amino-, amino-karbonil-, metil-ciano-csoporttal, klóratommal, fluoratommal, brómatommal, jódatommal, 2,3-difluor-, 2,4-difluor-, 2,5-difluor-, 3,4-difluor-, 3,5-difluor-, 2,6-difluor-, 1,2,3-trifluor-, 2,3,6-trifluor-, 2,4,6-trifluor-, 3,4,5-trifluor-, 2,3,5,6-tetrafluor-, 2,3,4,5,6-pentafluor-, azido-, hexil-, terc-butyl-, fenil-, karboxil-, hidroxil-, metoxi-, fenil-oxi-, benzil-oxi-, fenil-amino-oxi-, fenil-amino-karbonil-, metoxi-karbonil-, metil-amino-karbonil-, dimetil-amino-, dimetil-amino-karbonil- vagy hidroxil-amino-karbonil-csoporttal.

Egy további megoldás szerint a vegyületek vagy ezek egy enantiomerje (I-6) képletű.



Egy további megoldás szerint a vegyületek vagy ezek egy enantiomerje (I-7) képletű.

Egy további megoldás szerint a vegyületek vagy ezek egy enantiomerje (I-8) képletű.

Egy további megoldás szerint a vegyületek vagy ezek egy enantiomerje (I-9) képletű.

Egy további megoldás szerint a vegyületek vagy ezek egy enantiomerje (I-10) képletű.

Egy további megoldás szerint a vegyületek vagy ezek egy enantiomerje (I-11) képletű.

Egy további megoldás szerint a vegyületek vagy ezek egy enantiomerje (I-12) képletű.

Egy további megoldás szerint a vegyületek vagy ezek egy enantiomerje (I-13) képletű.

Egy további megoldás szerint a vegyületek vagy ezek egy enantiomerje (I-14) képletű.

Egy további megoldás szerint a vegyületek vagy ezek egy enantiomerje (I-15) képletű.

Egy további megoldás szerint a vegyületek vagy ezek egy enantiomerje (I-16) képletű.

A találmány tárgyához tartoznak a fentiekben bemutatott vegyületek enantiomerjei és sói is.

Egy további megoldás szerint a találmány szerinti vegyület vagy ennek gyógyszerileg megfelelő sója (I-17) általános képletű, ahol a képletben



R_1 és R_2 jelentése azonos vagy egymástól eltérő hidrofób csoport;

R_5 jelentése $-C(O)-NHOH$ (hidroxámsavcsoport), $-C(O)-CF_3$ (trifluor-acetil-csoport), $-NH-P(O)OH-CH_3$, $-SO_2NH_2$ (szulfonamidcsoport), $-SH$ (tiolcsoport), $-C(O)-R_6$, ahol R_6 jelentése hidroxil-, amino-, alkil-amino- vagy alkil-oxi-csoport, továbbá

n értéke 3-10-ig terjedő egész szám, a 10-et is beleértve.

A fentiekben bemutatott (I-17) általános képletű vegyületeknél mindegyik R_1 és R_2 közvetlenül vagy egy kapcsoló csoporton keresztül kötődik a molekulához, R_1 és R_2 jelentése adott esetben szubsztituált aril-, cikloalkil-, cikloalkil-amino-, naftil-, piridil-amino-, piperidino-, 9-purin-6-amino-, tiazol-amino-, hidroxil-, egyenes vagy elágazó láncú alkil-, alkenil-, alkil-oxi-, aril-oxi-, aril-alkil-oxi- vagy piridilcsoport.

Kapcsoló csoportként jelen lehet amidcsoport, $-O-$, $-S-$, $-NH-$ vagy $-CH_2-$ csoport.

Egy másik megoldást képeznek azok a találmány szerinti (I-18) általános képletű vegyületek, ahol a képletben R_7 jelentése adott esetben szubsztituált aril-, cikloalkil-, cikloalkil-amino-, naftil-, piridil-amino-, piperidino-, 9-purin-6-amino-, tiazol-amino-, hidroxil-, egyenes vagy elágazó láncú alkil-, alkenil-, alkil-oxi-, aril-oxi-, aril-alkil-oxi- vagy piridilcsoport.

Az előzőekben bemutatott vegyületekben R_2 jelenthet -szulfonamid- R_6 vagy -amid- R_8 csoportot, ahol R_8 jelentése adott esetben szubsztituált: aril-, cikloalkil-, cikloalkil-amino-, naftil-, piridil-amino-, piperidino-, 9-purin-6-amino-, tiazol-amino-, hidroxil-, egyenes vagy elágazó láncú alkil-, alkenil-, alkil-oxi-, aril-oxi-, aril-alkil-oxi- vagy piridilcsoport.

R_2 jelenthet $-NH-C(O)-Y$, $-NH-SO_2-Y$ csoportot, ahol Y jelentése (Y-1), (Y-2), (Y-3), (Y-4), (Y-5), (Y-6), (Y-7), (Y-8), (Y-9) vagy (Y-10) képletű csoport; R_7 jelentése lehet (R-1), (R-2), (R-3), (R-4), (R-5), (R-6), (R-7) vagy (R-8) képletű csoport.



Egy további megoldás szerint a találmány szerinti vegyületek és ezek gyógyászatiilag megfelelő sói (I-19) általános képletűek, ahol a képletben R_1 és R_2 jelentése azonos vagy egymástól eltérő hidrofób csoport;

R_5 jelentése $-C(O)-NHOH$ (hidroxámsavcsoport), $-C(O)-CF_3$ (trifluor-acetil-csoport), $-NH-P(O)OH-CH_3$, $-SO_2NH_2$ (szulfonamidcsoport), $-SH$ (tiolcsoport), $-C(O)-R_6$, ahol R_6 jelentése hidroxil-, amino-, alkil-amino- vagy alkil-oxi-csoport és

az L kapcsolócsoport jelentése $-CH_2-$, $-C(O)-$, $-S-$, $-O-$, $-(CH=CH)-$, -fenil- vagy -cikloalkilcsoport vagy ezek bármely kombinációja.

az L kapcsolócsoport jelentése lehet $-(CH_2)_n-$, $-C(O)-$, $-S-$, $-O-$, $-(CH=CH)_m-$, -fenil- vagy -cikloalkil- csoport is vagy ezek bármely kombinációja, ahol n értéke 3-10-ig terjedő egész szám és m értéke 0 vagy 1-10-ig terjedő egész szám a 10-et is beleértve.

A fentiekben bemutatott vegyületeknél n értéke 4-7, és m értéke 0-7. Előnyösen n értéke 5 vagy 6, még előnyösebben n értéke 6. Előnyösen m értéke 1-6, még előnyösebben m értéke 2-5, legelőnyösebben m értéke 3 vagy 4.

A fenti vegyületekben mindegyik R_1 és R_2 közvetlenül vagy egy kapcsoló csoporton keresztül kötődhet a molekulához, továbbá R_1 és R_2 jelentése adott esetben szubsztituált aril-, cikloalkil-, cikloalkil-amino-, naftil-, piridil-amino-, piperidino-, 9-purin-6-amino-, tiazol-amino-, hidroxil-, egyenes vagy elágazó láncú alkil-, alkenil-, alkil-oxi-, aril-oxi-, aril-alkil-oxi- vagy piridilcsoport.

A kapcsoló csoport lehet amidcsoport, valamint $-O-$, $-S-$, $-NH-$ vagy $-CH_2$ csoport.

A találmány tárgyát képezik a bemutatott vegyületek enantiomerjei, sói és prekursorjai is.



Egy további megoldás szerint a találmány szerinti vegyületek lehetnek (I-20) általános képletűek, ahol a képletben L jelentése kapcsoló csoport $-(CH_2)-$, $-(CH=CH)-$, -fenil-, cikloalkilcsoport közül választva vagy lehet ezek bármely kombinációja és mindegyik R_7 és R_8 jelentése egymástól függetlenül adott esetben szubsztituált aril-, cikloalkil-, cikloalkil-amino-, naftil-, piridil-amino-, piperidino-, 9-purin-6-amino-, tiazol-amino-, hidroxil-, egyenes vagy elágazó láncú alkil-, alkenil-, alkil-oxi-, aril-oxi-, aril-alkil-oxi- vagy piridilcsoport.

Egy előnyös megoldás szerint az L kapcsoló csoport (a) képletű csoportot tartalmaz.

Egy további előnyös megoldás szerint a találmány szerinti vegyület (77) képletű. Bármely fentiekben bemutatott vegyületből gyógyászatiilag megfelelő vivőanyagok alkalmazásával gyógyászati készítmények állíthatók elő.

A fentiekben bemutatott vegyületek bármelyike a gyógyszertechnológiából jól ismert módszerrel gyógyászatiilag megfelelő sóvá alakítható.

A bemutatott vegyületek bármelyikéből jól ismert farmakológiai művelettel prekursorok állíthatók elő.

A fentiekben bemutatott vegyületek bármelyike alkalmazható a daganatos sejtek differenciálódásának kiváltására, amikor is úgy járunk el, hogy a sejteket hatásos mennyiségű, a daganatos sejtek differenciálódását előidéző mennyiségben találmány szerinti vegyülettel hozunk érintkezésbe.

A fentiekben bemutatott vegyületek bármelyike alkalmazható hiszton dezacetiláz aktivitásának gátlására, amikor is úgy járunk el, hogy a hiszton dezacetiláz hatásos, a hiszton dezacetiláz aktivitását gátolni képes mennyiségben a találmány szerinti vegyülettel hozzuk érintkezésbe.



A fentiekben bemutatott vegyületeken túlmenően a találmány oltalmi körébe tartozik a bemutatott vegyületek homológjainak és analógjainak alkalmazása. Fenti összefüggésben homológokról beszélünk az esetben, ha a molekulák lényegében hasonló szerkezetűek, analógokról beszélünk az esetben, ha a molekulák lényegében hasonló biológiai hatást mutatnak függetlenül a szerkezeti hasonlóságoktól.

A találmány tárgyához tartoznak azon gyógyászati készítmények is, amelyek hatásos mennyiségben valamely fentiekben bemutatott vegyületet és gyógyászatilag megfelelő vivőanyagot tartalmaznak.

A találmány szerinti készítményekkel szelektív módon leállítható a daganatos sejtek szaporodása, továbbá előidézhető a daganatos sejtek differenciálódása és/vagy apoptózisa, így módon ezen sejtek burjánzása gátolható; ebből a célból úgy járunk el, hogy a kezelendő sejteket megfelelő körülmények között hatásos mennyiségű fent említett vegyületek valamelyikével hozzuk érintkezésbe.

Az érintkeztetést célszerűen folyamatosan, hosszabb időn keresztül végezzük, így például legalább 48 óra hosszat, előnyösen mintegy 4-5 napig vagy ennél hosszabb ideig.

A kezelési eljárás végezhető in vivo vagy in vitro körülmények között. Amennyiben in vitro körülmények között végzünk kezelést, úgy a kezelendő sejteket a vegyületekkel együtt inkubáljuk. A sejtekkel érintkezésbe hozott vegyületek koncentrációja mintegy 1 nmól/l és mintegy 25 mmól/l között kell legyen, előnyösen a koncentráció mintegy 20 nmól/l és 25 nmól/l közötti, még előnyösebben mintegy 40 nmól/l és 100 μmól/l, legelőnyösebben mintegy 40 nmól/l és mintegy 200 nmól/l között van. A koncentráció függ a választott vegyülettől, valamint a daganatos sejtek állapotától.



A kezelésnél eljárhatunk úgy is, hogy a sejteket először daganatellenes szerrel kezeljük a sejteket a daganatellenes szerrel szemben rezisztenssé téve, majd ezután a rezisztens sejteket megfelelő körülmények között hatásos mennyiségű, a fentiekben bemutatott vegyületek valamelyikével kezeljük, olyan vegyülettel amely alkalmas ezen sejtek terminális differenciálódásának szelektív előidézésére.

A találmány szerinti gyógyászati készítmények segítségével kezelhetünk daganatos betegeket is, akiknél a daganatos sejtek burjánzása áll fenn, a kezelés során a kezelt betegnek a fentiekben bemutatott vegyületek bármelyikét hatásos, a szaporodás szelektív leállítására képes, a daganatos sejtek terminális differenciálódását és/vagy apoptózist előidéző mennyiségben adjuk, így módon a sejtek burjánzását gátolva.

A találmány szerinti gyógyászati készítmények alkalmazhatók daganatos humán betegek kezelésére. Azonban feltételezhető, hogy a találmány szerinti gyógyászati készítmények hasznosíthatók egyéb emlősök daganatos betegségeinek kezelésére is. A daganatos betegség kifejezést bármely olyan rákbetegség esetében alkalmazzuk, ahol a daganatos sejtek burjánzása tapasztalható, így prosztaták, tüdőrák, akut leukémia, csontvelő daganat, húgyhólyag karcinóma, vesekarcinóma, mellkarcinóma, végbélkarcinóma, neuroblasztóma vagy melanóma esetében.

A találmány szerinti vegyületek bármely szokásos és fiziológiailag megfelelő úton beadhatók, így például orálisan, pulmonálisan, parenterálisan (intramuszkulárisan, intraperitoneálisan, intravénásan (i.v.) vagy szubkután injekció formájában), inhalálással (finom por vagy finom ködkészítmény alakjában), transzdermálisan, nazálisan, vaginálisan, rektálisan vagy szublingvális úton; a készítmények a beadás útjával összhangban álló dózisalakok formájában készülhetnek.

A találmány szerinti gyógyászati készítmények tartalmaznak gyógyászatilag megfelelő vivőanyagokat is, mint például steril pirogénmentes vizet, valamint gyó-



gyászatilag megfelelő mennyiségű találmány szerinti hatóanyagot. A hatásos mennyiség kifejezés előnyösen olyan mennyiséget jelent, amely képes a daganatos sejtek szelektív terminális differenciálódását előidézni, de kevesebb annál, hogy a betegnél toxicitást idézzon elő.

A találmány szerinti gyógyászati készítmények tartalmazhatnak a találmány szerinti hatóanyagok mellett azokkal kombinálva egyéb daganatellenes szereket, hormonokat, szteroidot vagy retionoidot.

A daganatellenes szerek különféle kemoterápiás szerek lehetnek, így alkilezőszerek, antimetabolitok, hormonkészítmények, antibiotikumok, colchicin, vinka alkaloida, L-aszparagináz, prokarbazin, hidroxikarbamid, mitotán, nitrozó karbamidok vagy egy imidazol-karboxamid. Megfelelőek azok a szerek, amelyek a tubulin depolarizációját segítik elő. Daganatellenes szerként előnyösen a colchicint és a vinka alkaloidokat említjük; különösen előnyös a vinblasztin és a vinkrisztin. Amennyiben daganatellenes szerként vinkrisztint alkalmazunk, úgy ebből a kezelés során annyit adunk be, hogy a sejteket rezisztenssé tegyük vinkrisztinnel szemben, ami mintegy 5 mg/ml koncentrációnál érhető el. A daganatellenes szer beadása lényegében a találmány szerinti vegyületekkel kapcsolatosan a fentiekben leírtak szerint történik. Előnyösen a daganatellenes szert legalább 3-5 napig adjuk. A vegyületek beadása történhet a fentiekben leírtak szerint.

A találmány szerinti gyógyászati készítmények adhatók naponta 2-6 óra hosszat infúzió formájában 3-21 napig, például naponta 4 óra hosszat, 5 napig.

A találmány szerinti megoldást részletesen az alábbi kísérleti rész mutatja be. Azonban a szakember számára nyilvánvaló, hogy a bemutatott módszerek és eredmények kizárólag a találmány szemléltetését szolgálják anélkül, hogy az oltalmi kört korlátoznák; a találmány terjedelmét az igénypontok körvonalazzák.



A kísérletek részletei

Az 1-5. példák szemléltetik a találmány szerinti szubsztituált L- α -amino-szuberin-hidroxámsavak előállítását; a 6. és 7. példák mutatják be az 1-5. példák szerinti vegyületeknek az MEL sejtek differenciálódására és a hiszton dezacetiláz aktivitására kifejtett hatását.

1. példa : (1) képletű vegyület előállítása

N-Boc- ω -Metil-(L)- α -amino-szuberát, Boc-Asu-(OMe); a cím szerinti vegyületet a leírás végén bemutatott 40. számmal jelzett közleményben ismertetett módszer szerint állítjuk elő („Boc” = terc-butoxi-karbonil-csoport); „Asu” = α -amino-szuberát (vagy α -amino-szuberinsav).

N-Cbz- ω -terc-Butil-(L)- α -amino-szuberát-diciklohexil-aminsó; e vegyületet Research Plus cégtől, Bayonne, NJ. szereztük be.

N-Boc- ω metil-(L)- α -Amino-szuberát-anilid, Boc-Asu(OMe)-NHPh; (1-a) képletű vegyület

493 mg (1,63 mmól) N-Boc- ω -metil-(L)- α -amino-szuberátot argongáz védelme alatt 7 ml vízmentes CH₂Cl₂-ben feloldunk. 470 mg (2,45 mmól) EDC-t adunk hozzá, majd 230 μ l (2,52 mmól) anilin hozzáadagolása következik. Az oldatot szobahőmérsékleten 2,5 óra hosszat keverjük, majd 2x5 ml híg sósavoldattal (pH = 2,4), 10 ml telített NaHCO₃ oldattal és 2x10 ml vízzel mossuk. Az így nyert terméket oszlopkromatográfiás művelettel tisztítjuk (szilikagél, hexán/AcOEt 3,5:1). Az elkülönített vegyület hozama 366 mg (60 %-os hozam).

Az ¹H-NMR és tömegspektroszkópiás vizsgálatok eredménye összhangban áll a termék szerkezetével.



***N*-Benzoil- ω -Metil-(*L*)- α -amino-szuberát-anilid, *PhCOHN-Asu-(OMe)-NHPH*; (*l-b*) képletű vegyület**

90 mg (0,238 mmól) N-Boc- ω -metil-(*L*)- α -amino-szuberát-anilidet 3,2 ml 25 %-os, CH₂Cl₂-vel készült trifluor-ecetsav-oldattal (TFA) kezelünk; 30 perc eltelte után az oldószert eltávolítjuk, a maradékot 12 óra hosszat nagyvákuumban tartjuk. A maradékot argongáz védelme alatt 3 ml vízmentes CH₂Cl₂-ben feloldjuk, majd 149 mg (0,286 mmól) benzotriazol-1-il-oxi-trisz-pirrolidino-foszfónium-hexafluor-foszfátot (PyBOP), 44 mg (0,357 mmól) benzoesavat és 114 μ l (0,655 mmól) diizopropil-etil-amint adunk hozzá. Az oldatot szobahőmérsékleten 1 óra hosszat keverjük. A terméket oszlopkromatográfiás művelettel tisztítva (szilikagél, hexán/AcOEt 3:1 $\rightarrow$ 2:1) 75 mg fehér színű szilárd terméket kapunk (82 %-os hozam).

Az ¹H-NMR és tömegspektroszkópiás adatok összhangban állnak a termék szerkezetével.

A fenti kapcsolási reakció eredményesen végezhető el az esetben is, ha reagensként 1-(3-dimetil-amino-propil)-3-etil-karbodiimid-hidrokloridot (EDC) alkalmazunk.

***N*-Benzoil-(*L*)- α -amino-szuberóil-anilid, *PhCONH-Asu-(OH)-NHPH* (*1-c*) képletű vegyület**

75 mg (0,196 mmól) N-benzoil-amino-szuberát-anilidet 0°C hőmérsékleten 6 óra hosszat 1 normál NaOH/THF/MeOH 1:1:1 arányú elegyében elkeverjük. A kiindulási vegyület teljes eltűnése után az oldatot normál HCl oldattal semlegesítjük, majd AcOEt-tel extraháljuk. A szerves fázist elkülönítjük és szárítjuk. Az oldószert eltávolítása után 67 mg fehér színű szilárd terméket kapunk (93 %-os hozam).

Az ¹H-NMR és a tömegspektroszkópiás adatok összhangban állnak a termék szerkezetével.



***N*-Benzoil-(L)- α -amino-szuberoil-anilid- ω -hidroxámsav, *PhCONH*-Asu-(NHOH)-*NHPh*; (1) képletű vegyület**

26 mg (1-b) képletű N-benzoil- ω -metil-(L)- α -amino-szuberát-anilid 1 ml vízmentes CH_2Cl_2 -vel készült szuszpenziójához 58 mg $\text{H}_2\text{NOTBDPS}$ -t (H_2NO -terc-butil-difenil-szilil), majd ezután 22 mg EDC-t adunk. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten 4 óra hosszat keverjük. A közbenső termékként kapott védett hidroxámsavat oszlopkromatográfiás művelettel tisztítjuk (szilikagél, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 100:0-98-2). Az így nyert vegyületről a védőcsoportot CH_2Cl_2 -vel készült 5 %-os TFA oldattal eltávolítjuk, a védőcsoport eltávolítása 1,5 óra hosszat tart. A keletkezett terméket acetonos oldatból pentánnal csapjuk le.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6), δ : 10,29 (s, 1H), 8,53 (d, 1H), 7,90 (d, 2H), 7,60 (d, 2H), 7,53 (m, 1H), 7,46 (t, 2H), 7,28 (t, 2H), 7,03 (t, 2H), 4,53 (q, 1H), 1,92 (t, 2H), 1,78 (m, 2H), 1,50-1,25 (m, 6H). ESI-MS: 384 (M+1), 406 (M+Na), 422 (M+K).

2. példa: (2) képletű vegyület előállítása

***N*-Nikotinoil-(L)- α -amino-szuberoil-anilid- ω -hidroxámsav, $\text{C}_5\text{H}_4\text{NCO}$ -Asu-(NHOH)-*NHPh*; (2) képletű vegyület**

Kiindulási anyagként N-Boc- ω -metil-L- α -amino-szuberátot alkalmazunk; az előállítást a benzoil analógnál leírtak szerint végezzük. A hozam és az előállított vegyület kromatográfiás viselkedése az (1) képletű vegyületéhez hasonló.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6), δ : 10,30 (s, 1H), 10,10 (s, 1H), 9,05 (m, 1H), 8,80 (m, 1H), 8,71 (m, 1H), 8,24 (m, 1H), 7,60 (m, 2H), 7,30 (m, 2H), 7,04 (m, 1H), 4,56 (m, 1H), 1,93 (t, 2H), 1,79 (m, 2H), 1,55-1,30 (m, 6H). ESI-MS: 385 (M+1), 407 (M+Na).

3. példa: (3) képletű vegyület előállítása



N-Benzil-oxi-karbonil- ω -terc-butil-(L)-amino-szuberinsav, N-Cbz-(L)-Asu-(OtBu)-OH; (1-d) képletű vegyület előállítása

100 mg (0,178 mmól) N-Cbz-(L)-Asu-(OtBu)-OH-diciklohexil-aminsót 5 ml normál HCl oldat és 10 ml EtOAc elegyével kirázunk. A szerves fázist eltávolítjuk, a vizes fázist 3x3 ml EtOAc-vel mossuk. A szerves frakciókat egyesítjük, 1x2 ml telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, majd magnézium-szulfáttal szárítjuk. Az elegyet szűrjük és betöményítjük; így 67 mg (0,176 mmól) szintelen filmszerű terméket kapunk (99 %-os hozam). Az így nyert vegyületet azonnal felhasználjuk a következő lépéshez.

N-Benzil-oxi-karbonil- ω -terc-butil-(L)- α -amino-szuberát-anilid, N-Cbz-(L)-Asu-(OtBu)-NHPH; (1-e) képletű vegyület

67 mg (0,176 mmól) N-Cbz-(L)-Asu-(OtBu)-OH-t 2,5 ml vízmentes CH_2Cl_2 -ben feloldunk. Az oldathoz 17 μl (0,187 mmól) anilint, 97 mg (0,187 mmól) PyBOP-t és 46 μl (0,266 mmól) iPr_2NEt -t adunk, majd az elegyet 2 óra hosszat keverjük. A reakció előrehaladását TLC vizsgálattal követjük. A reakció teljessé válása után az elegyet 5 ml EtOAc-vel és 5 ml vízzel meghígítjuk, majd a fázisokat elkülönítjük. A vizes fázist 3x3 ml EtOAc-vel mossuk, majd a szerves fázisokat egyesítjük. A szerves oldatot 1x2 ml normál HCl oldattal, 1x2 ml telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, magnézium-szulfáttal szárítjuk, szűrjük, majd betöményítjük; így nyers olajhoz jutunk. Az olajat szilikagéllal töltött oszlopon átengedve (30 % EtOAc/hexán) a szennyezéseket eltávolítjuk; 76 mg cím szerinti vegyületet kapunk (0,167 mmól) 94 %-os hozammal.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , TMS nélkül), δ : 8,20 (széles s, 1H), 7,47 (d, 2H), 7,32 (m, 5H), 7,28 (t, 2H), 7,08 (t, 1H), 5,39 (d, 1H), 5,10 (m, 2H), 4,26 (m, 1H), 2,18 (t, 2H), 1,93 (m, 1H), 1,67 (m, 1H), 1,55 (m, 3H), 1,42 (s, 9H), 1,36 (m, 3H).



***N-Benzil-oxi-karbonil-(L)- α -amino-szuberát-anilid, N-Cbz-(L)-Asu-(OH)-NHPH;
(1-f) képletű vegyület***

76 mg (0,167 mmól) N-Cbz-(L)-Asu-(OtBu)-anilidet 5 ml vízmentes CH₂Cl₂-ben feloldunk, majd az oldathoz 0,5 ml TFA-t csepegtetünk. A reakció előrehaladását TLC vizsgálattal követjük, a reakció 3 óra eltelte után teljessé válik. Az elegyet vákuumban betöményítve 80 mg cím szerinti nyers vegyületet kapunk. Az így kapott vegyületet további tisztítás nélkül használjuk fel a következő lépésben.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆), δ : 11,93 (széles s, 1H), 9,99 (széles s, 1H), 7,57 (m, 3H), 7,34 (m, 5H), 7,29 (t, 2H), 7,03 (t, 1H), 5,02 (m, 2H), 4,11 (m, 1H), 2,17 (t, 2H), 1,61 (m, 2H), 1,46 (m, 2H), 1,27 (m, 4H).

N-Benzil-oxi-karobnil-(L)- α -amino-szuberát-anilid- ω -hidroxámsav, N-Cbz-(L)-Asu-(NH-OH)-NHPH; (3) képletű vegyület

80 mg nyers N-Cbz-(L)-Asu-(OH)-anilidet és 60 mg (0,221 mmól) O-terc-butil-difenil-szilil-hidroxil-amint 4 ml CH₂Cl₂-ben feloldunk. Az oldathoz 125 mg (0,241 mmól) PyBOP-t, 52 μ l (0,302 mmól) iPr₂NEt-t adunk, majd az elegyet egy éjszakán át keverjük. A TLC vizsgálat szerint ezen időpontban a reakció már teljessé vált. A reakcióelegyet vákuumban betöményítjük, majd szilikagéllel töltött oszlopon átengedve (50 % EtOAc/hexán) a szennyezéseket eltávolítjuk. Ezután az illó komponenseket eltávolítva 107 mg anyagot kapunk, ezt 5 ml vízmentes CH₂Cl₂-ben feloldjuk, majd 0,25 ml TFA-t adunk hozzá. A reakció előrehaladását TLC vizsgálattal követjük, 1,5 óra eltelte után a reakció teljessé válik. Vákuumban végzett betöményítéssel az illó komponensek mind eltávolíthatók. A maradékot 3 ml EtOAc-vel felvesszük, majd az oldathoz lassan hexánt adagolva csapadék válik le fehér színű gél formájában. A felülúszót eltávolítjuk, a csapadékot 3x2 ml hexánnal mossuk. Az így nyert anyagot csökkentett



nyomáson beszárítjuk, így 40 mg cím szerinti vegyületet kapunk (0,097 mmól) 59 %-os hozammal.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ : 10,32 (s, 1H), 10,00 (s, 1H), 8,64 (széles s, 1H), 7,57 (m, 3H), 7,37 (m, 5H), 7,30 (t, 2H), 7,04 (t, 1H), 5,02 (m, 2H), 4,12 (m, 1H), 1,93 (t, 2H), 1,62 (m, 2H), 1,45 (m, 2H), 1,29 (m, 4H). ESI-MS: 414 ($\text{M}+1$).

4. példa: (4) képletű vegyület előállítása

N-Benzil-oxi-karbonil-(L)- α -amino-szuberoil-8-kinolin-amid- ω -hidroxámsav; (4) képletű vegyület

A 3. példánál leírtak szerint eljárva állítjuk elő a cím szerinti vegyületet.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ : 10,45 (s, 1H), 10,31 (s, 1H), 8,85 (dd, 1H), 8,63 (dd, 1H), 8,42 (dd, 1H), 8,13 (dd, 1H), 8,68 (m, 2H), 7,60 (t, 1H), 7,37 (m, 2H), 7,28 (m, 2H), 5,10 (m, 2H), 4,24 (m, 1H), 1,93 (t, 2H), 1,85 (m, 1H), 1,70 (m, 1H), 1,50 (m, 2H), 1,42 (m, 2H), 1,30 (m, 2H). ESI-MS: 465 ($\text{M}+1$).

5. példa: (5) képletű vegyület előállítása

N-Benzoil-(L)- α -amino-szuberoil-8-kinolin-amid- ω -hidroxámsav; (5) képletű vegyület

90 mg (0,178 mmól) előző lépés szerint előállított N-Cbz- ω -terc-butyl-L- α -amino-szuberoil-8-kinolin-amidról a Cbz csoportot hidrogénezéssel eltávolítjuk; e műveletet 5 %-os aktívszenes palládium jelenlétében metanolos közegben végezzük. Az így nyert szabad amint benzoessavval kapcsoljuk össze EDC jelenlétében, a műveletet vízmentes CH_2Cl_2 -ben végezzük (a két lépésre számított hozam: 69 %). A vegyületről a terc-butyl-észter-csoportot TFA segítségével eltávolítva $\text{H}_2\text{NOTBDPS}$ -sel szokásos kapcsolást végzünk; a védőcsoport eltávolítása után az előállítani kívánt hidroxámsavat kapjuk.



$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6), δ : 10,55 (s, 1H), 10,30 (s, 1H), 9,03 (m, 1H), 8,78 (m, 1H), 8,62 (m, 1H), 8,40 (m, 1H), 7,97 (m, 2H), 7,67-7,46 (m, 6H), 4,66 (m, 1H), 1,94 (t, 2H), 1,87 (m, 1H), 1,80-1,20 (m, 7H). ESI-MS: 435 ($\text{M}+1$).

6. példa:

Invertált amidcsoportot tartalmazó vegyület előállítása

Az (I-3) általános képletű vegyületeket oly módon állítjuk elő, hogy (XI) általános képletű malonsav-észtert egy bázissal kezelünk, majd ezt (XII) általános képletű vegyülettel reagáltatjuk, ahol a képletben X jelentése halogénatom, így (XIII) általános képletű vegyületet kapunk; e vegyületről az R csoportot egy amin és egy karbodiimid reagens segítségével eltávolítva (XIV) általános képletű vegyülethez jutunk, e vegyületről az R' csoportot eltávolítva hidroxámsav származékot kapunk.

A fenti képletekben R jelenthet terc-butil-csoportot, ezt trifluor-ecetsavval távolíthatjuk el; R' jelenthet metilcsoportot, ezt egy bázissal vagy LiI-vel távolíthatjuk el; mindegyik R" jelentése azonos vagy egymástól eltérő csoport lehet függően az alkalmazott reagenstől.

7. példa:

Az (1) képletű (N-Benzoil-(L)- α -amino-szuberoil-anilid- ω -hidroxámsav (PhCONH-Asu-(NHOH)-NHPh) hatása az MEL sejtdifferenciálódásra és a hiszton dezacetiláz aktivitásra

Egérfélélktől származó eritroleukémia (MEL) sejtek differenciálódása

Az MEL sejt differenciálódási vizsgálatot alkalmazzuk annak ellenőrzésére, hogy az (1) képletű vegyület képes-e terminális differenciálódást előidézni. MEL sejteket (logaritmikusan osztódó) tenyésztünk a (1) képletű vegyület jelenlétében, ahol a vegyületet a megadott koncentrációkban alkalmazzuk. A tenyésztést 5 napig végezzük, a



sejtszaporulatot Coulter Counter készülékkel határozzuk meg, a differenciálódást mikroszkóppal ellenőrizzük, aholis benzidin vizsgálatot végzünk a hemoglobin fehérje akkumulációjának meghatározására.

Azt találtuk, hogy az (1) képletű vegyület 200 nmól/l koncentrációban képes az MEL sejtek differenciálódását előidézni (lásd az 1. ábrát).

Hisztón dezacetiláz (HDAC) enzimatis aktivitásának vizsgálata

Az (1) képletű vegyületnek a tisztított humán, epitóppal jelzett (Flag) HDAC1 afinitására kifejtett hatását oly módon vizsgáljuk, hogy az enzim készítményt szubsztátum távollétében jégen inkubáljuk 20 percig az (1) képletű vegyület megadott mennyiségének jelenlétében. Szubsztátumként ($[^3\text{H}]$ acetillel jelzett egér eritroleukémia sejtől származó hisztón) hozzáadása után a vizsgálati mintát 20 percig 37°C hőmérsékleten inkubáljuk, a vizsgálati minta össztérfogata $30\ \mu\text{l}$. A reakciót ezután leállítjuk, majd a felszabaduló acetátot extraháljuk és ennek radioaktivitását szcintillációs számolással meghatározzuk.

Azt találtuk, hogy az (1) képletű vegyület hatásosan gátolja a HDAC1 enzimatis aktivitását ($\text{ID}_{50} = 1\ \text{nmól/l}$), mint azt a 2. ábra is szemlélteti.

8. példa

A (2) képletű (N-Nikotionoil)-(L)- α -amino-szuberoil-anilid- ω -hidroxámsav, $\text{C}_5\text{H}_4\text{NCO-Asu-(NHOH)-NHPh}$) hatása az MEL sejt differenciálódásra

Egérféléktől származó eritroleukémia (MEL) sejtek differenciálódásának vizsgálata

A MEL sejt differenciálódási vizsgálatot alkalmazzuk annak ellenőrzésére, hogy a (2) képletű vegyület képes-e terminális differenciálódást előidézni. MEL sejteket (logaritmikusan osztódó) tenyésztünk a (2) képletű vegyület jelenlétében, ahol a ve-



gyületet a megadott koncentrációkban alkalmazzuk. A tenyésztést 5 napig végezzük, a sejtszaporulatot Coulter Counter készülékkel határozzuk meg, a differenciálódást mikroszkóppal ellenőrizzük, ehhez benzidin vizsgálatot végzünk a hemoglobin fehérje akkumulációjának meghatározására.

Mint a 3. ábrából kitűnik, a (2) képletű vegyület 800 nmól/l koncentrációban képes előidézni MEL sejtdifferenciálódást.

9. példa

A (3) képletű (N-benzil-oxi-karbonil-(L)- α -amino-szuberát-anilid- ω -hidroxámsav, (N-Cbz-(L)-Asu-(NH-OH)-NHPH) hatása az MEL sejtdifferenciálódásra és a hiszton dezacetiláz aktivitásra

Egérféléktől származó eritroleukémia (MEL) sejtek differenciálódása:

A MEL sejtdifferenciálódás vizsgálatát alkalmazzuk annak ellenőrzésére, hogy a (3) képletű vegyület képes-e terminális differenciálódást előidézni. MEL sejteket (logaritmikusan osztódó) tenyésztünk a (3) képletű vegyület jelenlétében, ahol a vegyületet a megadott koncentrációkban alkalmazzuk. A tenyésztést 5 napig végezzük, a sejtszaporulatot Coulter Counter készülékkel határozzuk meg, a differenciálódást mikroszkóppal ellenőrizzük, ennek során benzidin vizsgálatot végzünk a hemoglobin fehérje akkumulációjának meghatározására.

Azt találtuk, hogy a (3) vegyület 400 nmól/l koncentrációban képes MEL sejtdifferenciálódást előidézni (lásd a 4. ábrát).

Hiszton dezacetiláz (HDAC) enzimatis aktivitás vizsgálata

A (3) képletű vegyületnek a tisztított humán, epitóppal jelzett (Flag) HDAC1 affinitására kifejtett hatását oly módon vizsgáljuk, hogy az enzim készítményt szubsztátum távollétében jégen inkubáljuk 20 percig a (3) képletű vegyület megadott mennyi-



ségének jelenlétében. Szubsztrátum ($[^3\text{H}]$ acetillel jelzett egér eritroleukémia sejtéből származó hiszton) hozzáadása után a vizsgálati mintát 20 percig 37°C hőmérsékleten inkubáljuk, a vizsgálati minta össztérfogata $30\ \mu\text{l}$. A reakciót ezután leállítjuk, majd a felszabaduló acetátot extraháljuk és ennek radioaktivitását szcintillációs számlálással meghatározzuk.

Mint az 5. ábrából kitűnik, a (3) képletű vegyület a HDAC1 enzimatis aktivitás szempontjából hatásos inhibitorként viselkedik; e vegyület ID_{50} értéke mintegy $100\ \text{nmol/l}$.

10. példa

A (4) vegyület (N-benzil-oxi-karbonil-(L)- α -amino-szuberol-8-kinolin-amid- ω -hidroxámsav) hatásának vizsgálata az MEL sejtek differenciálódására és a hiszton dezacetiláz aktivitására

Egérfélétől származó eritroleukémia (MEL) sejtek differenciálódásának vizsgálata

A (4) vegyületnek terminális differenciálódást előidéző képességét a MEL sejtek differenciálódásának vizsgálatával ellenőrizzük. Az MEL sejteket (logaritmikusan osztódó) a megadott mennyiségű (4) vegyület jelenlétében tenyésztjük. 5 napig tartó tenyésztés után mikroszópos vizsgálattal meghatározzuk a sejtek differenciálódását, ennek során a hemoglobin fehérje akkumulációját a benzidines módszerrel ellenőrizzük.

Mint a 6. ábra szemlélteti, a (4) vegyület $40\ \text{nmol/l}$ koncentrációban képes a MEL sejtek differenciálódását előidézni.

Hiszton-dezacetiláz (HDAC) enzimatis aktivitás vizsgálata

A (4) képletű vegyületnek a tisztított humán, epitóppal jelzett (Flag) HDAC1 affinitására kifejtett hatását oly módon vizsgáljuk, hogy az enzim készítményt szubsztrá-

tum távollétében jégen inkubáljuk 20 percig a megadott mennyiségű HPC jelenlétében. Ezután szubsztrátumot adunk az elegyhez ($[^3\text{H}]$ acetillel jelzett, egér eritroleukémia sejtéből származó hiszton), majd a vizsgálati mintát 37°C hőmérsékleten $30\ \mu\text{l}$ ösztérfogatban 20 percig inkubáljuk. A reakciót ezután leállítjuk, majd a felszabaduló acetátot extraháljuk és meghatározzuk a kibocsátott anyagban mérhető radioaktivitást, a méréseket szcintillációs számlálással végezzük.

A 7. ábrán bemutatott adatok igazolják, hogy a (4) vegyület a HDAC1 enzimatis aktivitás hatásos inhibitoraként viselkedik ($\text{ID}_{50} < 10\ \text{nmol/l}$).

Az SAHA gátolja az affinitás alapján tisztított HDAC1 és HDAC3 aktivitását (39). Az SAHA-val és a HDAC-vel rokon fehérjével végzett krisztallográfiai tanulmányok azt mutatják, hogy az SAHA gátolja a HDAC-t a katalitikus hellyel közvetlen kölcsönhatásba lépve (66). További tanulmányok azt igazolják, hogy a tríciummal jelzett, fotoaffinitással rendelkező SAHA analóg (^3H -498), amely egy azidcsoportot tartalmaz (67), közvetlenül kapcsolódik a HDAC1-hez (lásd a 8. ábrát). Ezen eredmények azt igazolják, hogy a hidroxámsav alapú vegyületek a HDAC aktivitást oly módon gátolják, hogy a HDAC fehérjével közvetlen kölcsönhatásba lépnek.

Az SAHA in vivo körülmények között az acetilezett hiszton H3 és H4 akkumulációját idézi elő. Az SAHA in vivo hatását egereken vizsgálták CWR22 humán prosztata daganat beültetést végezve (68). Az SAHA a tumor végtömeg átlagértékében 97 %-os csökkenést eredményezett (a SAHA-t $50\ \text{mg/kg}$ dózisban adva); ezen eredményt látszólag nem toxikus kontrollal hasonlítottuk össze. Ezen dózisban SAHA-t adva ez növeli az acetilezett hiszton H3 és H4 mennyiségét a beültetett daganatban (9. ábra).

Az SAHA jelenleg a klinikai kísérlet I-es fázisában van, ahol a vizsgálatokat olyan betegekkel végzik, akiknél szilárd daganatok jelentkeztek. Azt találták, hogy a



SAHA az acetilezett hiszton H3 és H4 akkumulációját idézi elő a perifériás vérben lévő mononukleáris sejtekben, amely sejteket a kezelt betegek véréből különítették el (lásd a 10. ábrát).

A 7-10. példák eredményeit az 1. táblázat foglalja össze; ezen példáknál az 1-4. vegyületeket vizsgáltuk, az eredményeket az SAHA-val elért eredményekkel hasonlítjuk össze.

1. T á b l á z a t

Az 1-4. vegyület alkalmazásával nyert eredmények, és ezeknek az SAHA-val nyert eredményekkel történő összehasonlítása

<i>MEL differenciálódás</i>				<i>HDAC gátlás</i>	
vegyületek száma, neve	koncentráció-tartomány	optimális érték	% B+	koncentráció-tartomány	ID ₅₀
1.	0,1 - 50 $\mu\text{mol/l}$	200 nmól/l	44 %	0,0001 - 100 $\mu\text{mol/l}$	1 nmól/l
2.	0,2 - 12,5 $\mu\text{mol/l}$	800 nmól/l	27 %		TBT
3.	0,1 - 50 $\mu\text{mol/l}$	400 nmól/l	16 %	00,1 - 100 $\mu\text{mol/l}$	100 nmól/l
4.	0,01 - 50 $\mu\text{mol/l}$	40 nmól/l	8 %	0,01 - 100 $\mu\text{mol/l}$	< 10 nmól/l
SAHA		2500 nmól/l	68 %	0,01 - 100 $\mu\text{mol/l}$	200 nmól/l

12. példa

Módosított HDAC inhibitorok

További kísérleteinkkel igazolható, hogy a 6 és 7 képletű vegyületek eredményesen gátolják a HDAC enzimet. A 6 képletű vegyület ID₅₀ értéke 2,5 nmól/l, a 7 képletű vegyület ID₅₀ értéke 50 nmól/l. Ezzel szemben az SAHA ID₅₀ értéke 1 $\mu\text{mol/l}$, azaz sokkal magasabb. Hangsúlyozni szeretnénk, hogy az SAHA 1 $\mu\text{mol/l}$ ID₅₀ értéke mint



HDAC inhibitor ugyanazon általános nagyságrendet mutatja, mint az MEL sejtek differenciálódásánál mutatott $2,5 \mu\text{mol/l}$ optimális dózis értéke; ez a nagyfokú hasonlóság azonban nem áll fenn a többi vizsgált vegyület esetében. Vannak olyan esetek, ahol igen hatásos HDAC inhibitorok kevésbé hatásosak, mint sejtdifferenciálódást előidéző szerek, talán azért, mert a hatóanyag a sejtvizsgálat során metabolizálódik. Ezen kívül a sejtípusok maguk sem azonosak; továbbá némely vegyület kedvezőbb hatást fejt ki a humán daganatos sejtekkel szemben (HT-29), mint az MEL sejtekkel szemben. Így a HDAC sejtek gátlása egy előzetes indikátornak tekinthető.

13. példa

Hidroxámsav részt nem tartalmazó vegyületek előállítása

A fenti hidroxámsav vegyületeknél azt találtuk, hogy ezek enzimatisz hidrolízis révén gyorsan karbonsavakká alakulnak át, így e vegyületek biológiai élettartama viszonylag rövid. Így olyan vegyületek előállítására törekedtünk, amelyek in vivo körülmények között nagyobb stabilitást mutatnak. Olyan HDAC inhibitorokat fejlesztettünk ki, amelyek nem hidroxámsavak, sejtdifferenciálódást előidéző szerként alkalmazhatók és biológiai élettartamuk hosszabb. Ezen túlmenően azt találtuk, hogy ezen újonnan kidolgozott vegyületek kedvezőbb szelektivitást mutatnak a HDAC-vel szemben, mint például az SAHA.

Kísérleteinkhez Trikosztatin A-hoz (TSA) hasonló, kettős kötést tartalmazó vegyületeket állítottunk elő és ellenőriztük, hogy ezen vegyületek hatása kedvezőbb-e. A TSA láncban csak öt szénatom van jelen, szemben az SAHA hat szénatomjával. Az oxámflatinban négy szénatomból álló lánc van jelen, amelyben egy kettős kötés és egy etinil kötés található a hidroxámsav csoport és az első fenilgyűrű között; az oxámflatinról ismert, hogy az a HDAC hatásos inhibitoraként viselkedik. Ezen szem-



pontokat új vegyületeinknél figyelembe vettük, azon vegyületeknél is, amelyek hidroxámsavtól eltérő szerkezetűek.

A leírásban egyszerű kombinatorikus módszereket ismertetünk különböző vegyületek esetében a HDAC gátlás szelektivitásának vizsgálatára.

Számos fontos enzimről ismeretes, hogy ezek Zn(II) -t tartalmaznak, így a hidroxámsav csoport és esetleg egyéb fém koordináló csoportok szintén kapcsolódhatnak a Zn(II) -hez és egyéb fémekhez.

Minthogy a HDAC célpontja egy acetyl-lizin oldallánc a hiszton molekulában, olyan vegyületeket állítunk elő, amelyekben a szubsztráttal analóg átmeneti állapot áll fenn. Így például olyan SAHA-hoz hasonló vegyületeket szintetizáltunk, amelyekben a $-\text{CO}-\text{NHOH}$ képletű hidroxámsav csoport helyett $-\text{CO}-\text{CF}_3$ képletű trifluor-acetil-csoport van jelen. Az így nyert **8** képletű csoport könnyen képez hidrátot, így a HDAC-ben lévő Zn(II) -hez kapcsolódik (lásd a **9.** képletű csoportot), ez a csoport a dezacetileződést megelőző **10** képletű átmeneti állapothoz hasonló. Ezen átalakulásokkal foglalkozik Lipscomb közleménye [56], aki vizsgálta a normális amidcsoport helyett $\text{CF}_3-\text{CO}-\text{CH}_2$ csoportot tartalmazó **11** képletű szubsztrátum analógnak egy karboxi-peptidáz A-hoz való kötődését. A keton hidrátjának az Zn(II) -hez való koordinációs kötődése az amid szubsztrátum katalizált hidrolízisének átmeneti állapotát utánozza. A **12** képletű fluorketon vegyület előállítását a 2. reakcióvázlat szemlélteti. Ennek során a malonészter alkilezése után aldehid vegyületet állítunk elő, majd ezt Rupperts reagenssel [57, 58] trifluor-metil-karbinol-származékká alakítjuk át. A malonsav bisz-anilid-származékok előállítása után a karbinol vegyületet **12** képletű ketonná oxidáljuk, e lépéshez Dess-Marin-féle reagenst [59] használunk. Más megoldások nem bizonyultak



eredményesnek. Különösen az a kísérlet, hogy karbonsav-származékot közvetlenül trifluor-metil-ketonná alakítsunk át, nem volt eredményes.

A 12 képletű vegyület HDAC-ra kifejtett hatását vizsgálva azt találtuk, hogy e vegyület az enzim inhibitoraként viselkedik. A fentiekben bemutatott eljárást alkalmazhatjuk a 12 képletű analógok előállítására is, amely vegyületek telítetlen kötést tartalmaznak a láncban vagy egyéb csoportokat hordoznak a molekula bal oldali részén.

14. példa

Eljárás olyan vegyületek előállítására, amelyek képletében a hidroxámsav csoport helyett NH-P(O)OH-CH₃ csoport áll

A 3. reakcióvázlat szerint eljárva állítunk elő olyan SAHA analógot, amelyben a CH₂-CO-NHOH csoport helyett NH-P(O)OH-CH₃ csoport áll. Az így nyert 13 képletű vegyület a HDAC-ben lévő Zn(II)-höz kapcsolódik oly módon, ahogy a karboxipeptidázban lévő Zn(II) csoporthoz kapcsolódnak a hasonló csoportok a Bartlett [60] által előállított analógok esetében.

A Zn(II) csoportot tartalmazó karbonsav-anhidráz enzim klasszikus inhibitoraként tartják számon azon szulfonamidot, amelynek anionja az Zn(II) csoporthoz kötődik [61]. Ezt figyelembe véve állítottuk elő 14 képletű vegyületet, amely szulfonamid csoportot tartalmazó SAHA analóg. Az előállítás utolsó lépésében szulfon-diklorid-csoportot hordozó karbonsav származékot anilinnel és ammóniával reagáltatunk. Minthogy a karbonsav klorid reagál gyorsabban, ezért előbb anilinnel reagáltatjuk a vegyületet ezt követően ammóniával, de a sorrend meg is fordítható vagy az elegy szétválasztható olyan esetekben, amikor a két csoport hasonló reakcióképességet mutat.



A 4. reakcióvázlat szemlélteti a **14** képletű vegyület előállítását; ennek során kiindulási anyagként **15** képletű tiolt alkalmazunk, e vegyület karbonsav-halogenidből egyszerű módon előállítható. A tiolok szintén a Zn(II) enzimek inhibitoraiként viselkednek, például a karboxipeptidáz A vagy hasonló peptidázok, mint angiotenzin átalakító enzim (ACE) esetében, így a **15** képletű vegyületet **16** képletű vegyületté alakítjuk át, ami HDAC inhibitorként viselkedik. Hasonló eljárással NH-P(O)OH-CH₃ csoportot kapcsolhatunk egyéb vegyületekhez is, így például a 6 és 7 képletű vegyülethez.

15. példa

A Zn(II) kapcsoló csoport és a hidrofób kapcsoló csoport közötti összekötő csoport változtatása

Az Oxámflatinnal elért eredmények alapján úgy tűnik, előnyös lehet olyan molekula alkalmazása, amelynek képletében a Zn(II) kapcsoló csoport és a molekula bal oldali része között fenilgyűrű helyezkedik el, különösen, ha a fenilgyűrű meta-helyzetben kapcsolódik. Így olyan vegyületeket állítottunk elő, amelyekben meta-helyzetben szubsztituált fenilcsoport van jelen. Ilyen származékokat képez a **17** és **18** képletű vegyület. Az egyszerű előállítást nem mutatjuk be részletesen, a műveletnél mindössze arra van szükség, hogy a fenilcsoporthoz kötődő hidroxámsav csoport helyett a **17** és **18** képletben bemutatott aril-amid-csoportot kapcsoljuk.

Előállítottuk a **19** és **20** képletű vegyületeket is (5. reakcióvázlat), amelyekben szerepel a **12** képletű vegyületben lévő trifluor-metil-kezon-csoport is, amelyről ismeretes, hogy a HDAC-ben lévő Zn(II) csoportot eredményesen megköti. Az előállítás során úgy járunk el, hogy a **21** és **22** képletű vegyületek előállítása után CF₃-mat adunk a vegyületekhez, amikoris karbinol képződik, majd ezután a vegyületet oxidáljuk a **12** képletű vegyület előállításánál leírtak szerint. Egy egyszerű megoldás szerint a **23**



és 24 képletű vegyületeket etil-akriláttal Heck-féle kapcsolásnak vetjük alá, majd az észterszármazékokat 21 és 22 képletű aldehiddé alakítjuk redukció segítségével, ezután oxidációs lépés következik.

Az eddig bemutatott vegyületek a láncban csak szénatomot tartalmaznak, azonban tioéter csoportok jelenléte is eredményes lehet és e vegyületek könnyen előállíthatók. Így 25 és 26 képletű szulfonamid vegyületek állíthatók elő a megfelelő tiofenolból és bróm-metil-szulfonamidból kiindulva. A megfelelő, 27 és 28 képletű foszfonamidátok hasonló szintézissel állíthatók elő, amennyiben ezen vegyületek eredményesen alkalmazhatók HDAC inhibitorként és sejtdifferenciálódást előidéző szerként. Ez esetben (N-védett)-m-amino-benzoésavat alkalmazunk az aril-amin-csoport acilezéséhez, majd az anilincsoportot foszforilezzük.

16. példa

A molekula bal oldali, a hidrofób csoportot hordozó részének változtatása

A 6. reakcióvázlattal bemutatottak szerint a hidrofób csoport változtatására 29 képletű vegyületet állítunk elő közbenső termékként, e vegyületet különböző amin vegyületekkel kezelve 30 általános képletű vegyületet állíthatunk elő. A hidroxámsav részről ezután a védőcsoportot eltávolítva 31 képletű vegyületekhez jutunk.

Az előállítás során úgy járunk el, hogy az O-védett hidroxil-amint bróm-hexánsavval acilezzük, majd a kapott vegyülettel a malonsav bisz-pentafluor-észter-származékát alkilezzük. Az így nyert 29 képletű vegyületet ezután különböző amin vegyületekkel reagáltatjuk, majd a védőcsoportot savval eltávolítjuk.

Az így nyert vegyületet kiindulási anyagként alkalmazva olyan vegyületek állíthatók elő, amelyek egyéb Zn(II)-t megkötő csoportot tartalmaznak. Így például a malonátot 32 képletű vegyülettel alkilezve foszfonamidát vegyületekhez jutunk, a 33



képletű vegyületből pedig $\text{CF}_3\text{-CO}$ részt tartalmazó vegyületeket kapunk. Hasonló módon eljárva, szulfonamid csoportot tartalmazó vegyületek is előállíthatók, amennyiben igazolódik az, hogy ez a csoport a HDAC-ben lévő Zn(II) csoport megkötésére alkalmas. A malonát alkilezése és aminolízise után a **32** képletű vegyületből képzett származékot demetilezzük, a **33** vegyületből képzett származékot pedig oxidáljuk.

Ezen tapasztalatok lehetővé teszik, hogy a **6** képletű vegyület szerkezetét is változtassuk; a **6** képletű vegyület aminoszuberinsav származék és mint a fentiekben leírtuk, az egyik leghatásosabb HDAC inhibitor. E vegyület előállításánál enzimatisz hidrolízist végzünk, így a két karbometoxi csoportot tartalmazó **34** képletű vegyületet optikailag rezolváljuk és szétválasztjuk, majd ezek közül az egyiket **6** képletű aminokinolin-származékká alakítjuk át, miközben a nitrogénatomot karbobenzoxi csoport formájában védjük. A szintézis végén a távolabbi karbometoxi csoportot hidroxamát csoporttá alakítjuk. A **6** képletű vegyület olyan származék, amely közbenső termékként alkalmazható egyéb származékok előállítására is. A **6** képletű vegyületről a karbobenzoxi csoportot eltávolítva **35** képletű amin vegyülethez jutunk, ezt különböző karbonsavakkal acilezve **36** általános képlet alá tartozó vegyületeket vagy ezek szulfonsav-klorid-származékát kapjuk, amelyekből a megfelelő szulfonamidok előállíthatók. A fentiekben ismertetett lépéseket a 7. reakcióvázlat mutatja be.

A **6** képletű vegyülettel rokon **37** általános képletű amidszármazékok is előállíthatók, majd ezekből **38** általános képletű amidszármazékok készülhetnek a védőcsoport eltávolítása után az aminocsoportot acilezve. A **37** általános képletű vegyületről a karbobenzoxi csoportot eltávolítva állíthatók elő **39** általános képletű származékok; különféle szulfonil-klorid-származékot alkalmazva a szulfonamid vegyületek könyvtárához jutunk. Mindezen lépéseknél a hidroxámsav csoportot védőcsoporttal lehet ellátni.



A fentiekben bemutatott előállítási műveletek szerint igen nagyszámú vegyület-variáció állítható elő. Az alábbi szubsztituens csoportok alkalmasak feltehetően olyan vegyületek kialakítására, amelyek a HDAC-hez kedvező módon kötődnek vagy, amelyek sejtdifferenciáló szerként alkalmazhatók:

Aminocsoportként szerepelhetnek az SAHA-ban lévő anilin helyett vagy a 37 és 38 általános képletű csoportban X csoportként állhatnak a következők:

(AM-1), (AM-2), (AM-3), (AM-4), (AM-5), (AM-6), (AM-7) vagy (AM-8).

Karbonsav- vagy szulfonsav-csoportként jelen lehetnek a 38 vagy 39 általános képletű vegyületben Y-CO csoportként az alábbiak:

(S-1), (S-2), (S-3), (S-4), (S-5), (S-6), (S-7), (S-8) (S-9) vagy (S-10).

17. példa

A fentiekben bemutatott reakcióvázlatok szerinti előállítási műveletek

A reagenseket és kiindulási vegyületeket a kereskedelemből szereztük be, ezeket további tisztítás nélkül alkalmazzuk, hacsak másként nincs feltüntetve. A nedvességre érzékeny reakciók esetében az oldószereket felhasználás előtt frissen ledesztilláljuk; a tetrahidrofuránt argongáz védelme alatt fémnátriumról desztilláljuk le, indikátorként benzofenont alkalmazva; a diklór-metánt és acetonitrilt por alakú nátrium-hidridről desztilláljuk. A vízmentes benzolt, vízmentes DIEA-t és vízmentes piridint lezárt palackból fecskendő segítségével vesszük ki (szállító: Aldrich). Felhasználás előtt a terc-butanolt 4 Å méretű molekulaszűrőn szárítjuk. Nátrium-hidridet ásványolajjal készült 60 %-os diszperzió formájában szereztük be. Az anilint, diizopropil-amint, N-metil-anilint és benzil-alkoholt használat előtt frissen desztilláljuk. A deutérium tartalmú oldószereket a Cambridge Isotope Laboratories cégtől szereztük be. A levegőre és/vagy nedvességre érzékeny reakciókat vízmentes argongázatmoszférában, szárí-



tószekrényben vagy lánggal szárított üvegedényben végezzük szorosan záró gumidugókat használva. A fecskendőket és tűket alkalmazás előtt szárítószekrényben szárítjuk. A 0°C-on történő műveletekhez jég/víz fürdőt alkalmazunk. A -78°C hőmérsékleten végzett műveletekhez szárazjég/aceton fürdőt használunk.

Kromatográfia:

Az analitikai vékonyrétegekromatográfiás (TLC) műveleteket előzőleg szilikagél 60 F-254-gyel bevont üveglemezeken végezzük, a szilikagél bevonat vastagsága: 0,25 mm (előállító: EM Science, Németország). Az eluált vegyületek előhívására egy vagy több alábbi kezelés alkalmazható: rövid hullámhosszú ultraibolya fény, I₂ gőz, KMnO₄ befúvás vagy FeCl₃-os befúvás. A preparatív TLC műveleteket Whatman lemezeken végezzük, amelyek előzőleg 500 µm vagy µm vastagságban szilikagél réteggel lettek bevonva. A flash-kromatográfiás művelethez Merck-féle szilikagél 60-at használunk (0,04-0,063 mm).

Műszerek:

Az NMR-spektrumok felvételéhez Bruker DPX300 és DRX400 típusú spektrométereket alkalmaztunk; az ¹H értékeket 300 és 400 MHz-nél vettük fel; a ¹⁹F értékeket 376 MHz-nál mértük. A kémiai eltolódást δ-val jeleztük és ppm-ben adtuk meg az oldószer által mutatott csúcshoz viszonyítva. A tömegspektrum vizsgálathoz Nermag R-10-1 készüléket használtunk kémiai ionizációval (CI) vagy elektron ionizációval (EI), továbbá Jeol JMS LCmate készüléket alkalmaztunk az elektropray ionizációs (ESI⁺) spektrum felvételére. A CI spektrumhoz ionizációs gázként ammóniát (NH₃) vagy metánt (CH₄) használtunk.

***(E,E)-7-terc-Butoxi-karbonil-okta-2,4-diéndisav-8-terc-butil-észter-1-metil-észter;
(40) képletű vegyület***

234 mg (5,85 mmól) NaH (60 %-os diszperzió) 35 ml THF-fel készült oldatához 0°C hőmérsékleten keverés közben 1,20 ml (5,37 mmól) di-terc-butil-malonátot csepegtetünk. Gázfejlődés figyelhető meg, majd az oldatot hagyjuk szobahőmérsékletre felmelegedni és 6 óra hosszat keverjük. Különálló lombikban 1,00 g (4,88 mmól) 6-brom-2,4-hexadiénsav-metil-észtert (62) 20 ml THF-ben feloldunk, majd vízfürdőn keverjük. Csövön keresztül ezen oldathoz a fenti malonát elegyet hozzácsepegtetjük, majd a reakcióelegyet hagyjuk egy éjszakán át tovább reagálni. A reakcióelegyet 5 ml telített NH_4Cl oldattal, majd 10 ml vízzel meghígítjuk és 3x15 ml dietil-éterrel extraháljuk. Az egyesített szerves frakciókat 1x10 ml vízzel, majd telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, MgSO_4 -gyel szárítjuk, majd szűrjük. A szűrletet csökkentett nyomáson ledesztillálva, majd flash-kromatográfiás műveletet végezve (0 $\rightarrow$ 20 % EtOAc/hexán) 850 mg (2,49 mmól) **40** képletű vegyületet kapunk tiszta, színtelen olaj formájában (51 %-os hozam). TLC R_f : 0,66 (20 % EtOAc/hexán).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 7,26 (dd, 1H), 6,26 (dd, 1H), 6,10 (m, 1H), 5,82 (d, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,12 (t, 1H), 2,64 (t, 2H), 1,41 (s, 18H).

(E,E)-7-Karboxi-okta-2,4-diéndisav-1-metil-észter; (41) képletű vegyület

200 mg (0,59 mmól) **40** képletű vegyület 10 ml CH_2Cl_2 -vel készült oldatához keverés közben 1 ml TFA-t adunk. A reakciót hagyjuk egy éjszakán át előrehaladni. Az illó komponenseket csökkentett nyomáson eltávolítva **41** képletű vegyülethez jutunk fehér színű szilárd anyag formájában (112 mg, 0,49 mmól) 83 %-os hozammal.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD), δ : 7,11 (dd, 1H), 6,33 (dd, 1H), 6,16 (m, 1H), 5,81 (d, 1H), 3,76 (s, 3H), 3,15 (t, 1H), 2,70 (t, 2H).

4-Penténsav-fenil-amid; (42) képletű vegyület



11,5 ml, 2,0 mól/l koncentrációjú, 100 ml CH_2Cl_2 -vel készült oxalil-klorid-oldat (23,1 mmól) és 1 csepp DMF elegyéhez keverés közben 0°C hőmérsékleten 2,25 ml (22,0 mmól) 4-penténsavat adagolunk. Az elegyet hagyjuk szobahőmérsékletre felmelegedni. A gázfejlődés megszűnte után az elegy hőmérsékletét ismét 0°C -ra lehűtjük, majd 2,00 ml (22,0 mmól) anilin és 6,72 ml (26,3 mmól) TEA 5 ml CH_2Cl_2 -vel készült oldatát csepegtetjük hozzá. Szobahőmérsékletre történő felmelegítés után a reakcióelegyet 3 óra hosszat állni hagyjuk. Ezután csökkentett nyomáson az elegyet betöményítjük, a maradékot 10 ml normál HCl oldat és 30 ml etil-acetát elegyével kirázzuk, a fázisokat elkülönítjük. A vizes fázist 3x15 ml etil-acetáttal extraháljuk, a szerves fázisokat egyesítjük, telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, magnézium-szulfáttal szárítjuk, majd szűrjük. A szűrletet csökkentett nyomáson betöményítve sárga színű szilárd terméket kapunk, ezt toluolból átkristályosítva 1,97 g (11,24 mmól) **42** képletű terméket kapunk fehér színű kristályok formájában (51 %-os hozam). TLC R_f : 0,68 (50 % EtOAc/hexán).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3), δ : 7,49 (d, 2H), 7,29 (t, 2H), 7,08 (t, 1H), 5,88 (m, 1H), 5,10 (dd, 2H), 4,42 (széles s, 4H).

(E,E)-Okta-2,4-dién-disav-8-terc-butil-észter-1-metil-észter; (43) képletű vegyület

2,06 ml (14,7 mmól) diizopropil-amin 25 ml THF-fel készült oldatához -78°C hőmérsékleten 6,2 ml (12,4 mmól) n-BuLi oldatot (hexánnal készült 2,0 mól/l koncentrációjú) adunk, majd az elegyet -78°C hőmérsékleten 20 percig keverjük. Ezután 2,66 g (11,3 mmól) **43a** jelzésű foszfonátnak (63) 4 ml THF-fel készült oldatát csepegtetjük hozzá, ekkor az adagolás közben sötétsárga szín fejlődik ki. Az elegyet 20 percig -78°C hőmérsékleten tartjuk, majd 0°C hőmérsékletre felmelegítjük és 1,78 g (11,3 mmól) **43b** jelzésű aldehidnek (64) 4 ml THF-fel készült oldatát csepegtetjük hozzá. Az



adagolás befejezte után az oldatot hagyjuk szobahőmérsékletre felmelegedni, majd egy éjszakán át keverjük. Ezután az elegyet 30 ml Et₂O-val meghígítjuk és 3x10 ml vízzel mossuk. Az egyesített vizes mosófolyadékot 2x10 ml dietil-éterrel extraháljuk, az egyesített szerves fázisokat telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, magnézium-szulfáttal szárítjuk, majd szűrjük. A szűrletet csökkentett nyomáson betöményítve, majd a maradékot flash-kromatográfiás művelettel tisztítva (10 → 20 % EtOAc/hexán) 1,54 g **43** képletű vegyületet kapunk tiszta olaj formájában (57 %-os hozam). TLC F_R: 0,56 (20 % EtOAc/hexán).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃), δ: 7,22 (dd, 1H), 6,19 (dd, 1H), 6,08 (m, 1H), 5,77 (d, 1H), 2,42 (m, 2H), 2,32 (t, 2H), 1,42 (s, 9H).

(E,E)-7-Fenil-karbamoil-hepta-2,4-diénsav-metil-észter; (44) képletű vegyület

1,00 g (4,61 mmól) **43** képletű diészter 40 ml CH₂Cl₂-vel készült oldatához keverés közben 4,0 TFA-t adunk, majd az elegyet hagyjuk 6 óra hosszat reagálni. Az elegyet csökkentett nyomáson betöményítve az illó komponenseket eltávolítjuk. 710 mg (3,85 mmól) nyers sav marad vissza fehér színű szilárd termék formájában. Ezen savból 400 mg-ot (2,17 mmól) 20 ml CH₂Cl₂-ben feloldunk, majd keverés közben ezen oldathoz 13 mg DMAP-t, 218 μl (2,39 mmól) anilint és 500 mg (2,61 mmól) EDC-t adunk. 1,5 óra eltelte után az elegyet etil-acetáttal meghígítjuk és vízzel mossuk. A fázisokat elkülönítjük, a vizes fázist 3x15 ml etil-acetáttal extraháljuk. Az egyesített szerves fázisokat 1x5 ml normál HCl oldattal és telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, magnézium-szulfáttal szárítjuk, majd szűrjük. A szűrletet csökkentett nyomáson betöményítve barna színű szilárd anyag marad vissza. A maradékot minimális mennyiségű CH₂Cl₂-ben feloldjuk, majd az oldatot szilikagéllal töltött oszlopon átbocsátva (20 → 30 % EtOAc/hexán 200 ml) a szennyezéseket eltávolítjuk. Az eluenst betöményítve

halványbarna színű olajat kapunk, ezt kismennyiségű CH_2Cl_2 -vel felvesszük, ehhez hexán/dietil-étert adva kristályos csapadékot választunk le. Az anyalúgot ledesztillálva a keletkezett kristályokat elkülönítjük, dietil-éterrel mossuk, majd a folyékony frakciókat betöményítve a műveletet többször megismételjük. Végülis összesen 324 mg (1,25 mmól) **44** képletű vegyületet kapunk csaknem fehér színű kristályok formájában (58 %-os hozam). TLC R_f : 0,44 (50 % EtOAc/hexán).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 7,47 (d, 1H), 7,30 (t, 2H), 7,24 (m, 1H), 7,09 (t, 1H), 6,24 (dd, 1H), 6,14 (m, 1H), 5,81 (d, 1H), 3,72 (s, 3H), 2,60 (m, 2H), 2,47 (t, 2H).

(E,E)-7-(Metil-fenil-karbamoil)-hepta-2,4-diénsav-metil-észter; (45) képletű vegyület

A **44** képletű vegyület előállításánál az első lépésében nyert nyers savszármazékot képező közbenső terméket (200 mg, 1,09 mmól) és 130 μl (1,19 mmól) N-metil-anilint 10 ml CH_2Cl_2 -ben feloldunk, majd az oldatot keverjük. 271 mg (1,41 mmól) EDC és 5 mg DMAP hozzáadása után a reakcióelegyet egy éjszakán át állni hagyjuk. Az elegyet H_2O és etil-acetát elegyével kirázzuk, majd a fázisokat elkülönítjük. A vizes fázist 3x10 ml etil-acetáttal extraháljuk, a szerves fázist 1x5 ml normál HCl oldattal és telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, magnézium-szulfáttal szárítjuk, majd szűrjük. A szűrletet csökkentett nyomáson betöményítve 286 mg (1,05 mmól) tiszta **45** képletű vegyületet kapunk barna színű olaj formájában (96 %-os hozam). TLF R_f : 0,81 (5 % MeOH/ CH_2Cl_2).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3), δ : 7,40 (t, 2H), 7,35 (t, 1H), 7,20 (d, 2H), 7,15 (dd, 1H), 6,20 (m, 2H), 5,76 (d, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,24 (s, 3H), 2,42 (m, 2H), 2,18 (t, 2H).

(E,E)-7-Metil-fenil-karbamoil-hepta-2,4-diénsav; (46) képletű vegyület



260 mg (0,95 mmól) **45** képletű észter származékot 7,5 ml metanolban feloldunk. Az oldathoz 200 mg (4,76 mmól) LiOH · H₂O 2,5 ml vízzel készült oldatát adjuk, majd az elegyet 6 óra hosszat keverjük. A reakcióelegyet normál HCl oldattal 2-es pH-ra savanyítjuk, majd 3x10 ml etil-acetáttal extraháljuk. Az egyesített szerves frakciókat vízzel és telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, magnézium-szulfáttal szárítjuk, majd szűrjük. A szűrletet csökkentett nyomáson betöményítve 200 mg **46** képletű vegyületet kapunk barna színű szilárd termék formájában (0,77 mmól, 81 %-os hozam). TLC R_f: 0,13 (40 % EtOAc/hexán).

¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD), δ: 7,47 (t, 2H), 7,41 (d, 1H), 7,28 (d, 2H), 7,19 (dd, 1H), 6,18 (dd, 1H), 6,05 (m, 1H), 3,27 (s, 3H), 3,40 (m, 2H), 2,22 (t, 2H).

(E,E)-Okta-2,4-diéndisav-1-hidroxi-amid-8-metil-fenil-amid; (47) képletű vegyület

200 mg (0,77 mmól) **46** képletű savszármazékot és 220 mg (0,81 mmól) TBDPSO-NH₂-t 8 ml CH₂Cl₂-ben feloldunk. Az oldathoz keverés közben 178 mg (0,93 mmól) EDC-t és 5 mg DMAP-t adunk, majd a reakcióelegyet egy éjszakán át állni hagyjuk. Az elegyet ezután betöményítjük, a maradékot szilikagéllal töltött oszlopon (EtOAc) átengedjük. A szűrletet csökkentett nyomáson betöményítve 383 mg (0,75 mmól) halványbarna színű olajat kapunk (97 %-os hozam). 270 mg (0,53 mmól) védett hidroxamát vegyületet 10 ml CH₂Cl₂-ben feloldunk, majd az oldathoz 0,5 ml TFA-t adunk. Az oldatot ezután 2 óra hosszat keverjük, ekkor a TLC vizsgálatnál egy FeCl₃-mal festhető új folt észlelhető. Az oldatot csökkentett nyomáson betöményítve és dietil-étert hozzáadva a lombikhoz tapadó maradékhoz jutunk. A folyékony fázist leszívátjuk, a maradékot EtOAc-vel eldörzsöljük, a folyadékot eltávolítjuk, a maradékból az összes illó komponenst ledesztillálva 23 mg (0,084 mmól) **47** képletű vegyületet kapunk barna



színű gumiszerű termék formájában (16 %-os hozam). TLC R_f : 0,22 (5 % MeOH/CH₂Cl₂).

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD), δ : 7,50 (t, 2H), 7,40 (t, 1H), 2,27 (d, 2H), 7,08 (m, 1H), 6,11 (m, 1H), 5,97 (m, 1H), 5,80 (m, 1H), 3,23 (s, 3H), 3,39 (m, 2H), 2,21 (t, 2H).

Oktándisav-hidroxi-amid-metil-fenil-amid; (48) képletű vegyület

A 47 képletű vegyület előállításánál leírtak szerint eljárva állítjuk elő a 48 képletű vegyületet; 9 mg terméket kapunk barna színű gumiszerű termék formájában. TLC R_f : 0,20 (5 % MeOH/CH₂Cl₂).

¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD), δ : 7,51 (t, 2H), 7,41 (t, 1H), 7,30 (d, 2H), 3,29 (s, 3H), 2,11 (m, 4H), 1,58 (m, 4H), 1,22 (m, 4H).

Oktándisav-benzil-amid; (49) képletű vegyület

1,00 ml (5,55 mmól) szuberoil-klorid 40 ml THF-fel készült oldatához 0°C hőmérsékleten keverés közben 0,61 ml (5,55 mmól) benzil-amin és 1,45 ml (8,33 mmól) DIEA 10 ml THF-fel készült oldatát csepegtetjük. Az elegyet hagyjuk szobahőmérsékletre felmelegedni, majd 1 óra hosszat keverjük. Ezután 10 ml normál HCl oldatot adunk hozzá, majd az elegyet 0,5 óra hosszat keverjük. A reakcióelegyet 30 ml etil-acetáttal meghígítjuk, majd a fázisokat elkülönítjük. A vizes fázist 3x10 ml etil-acetáttal extraháljuk, a szerves fázisokat egyesítjük, 5 ml telített nátrium-klorid-oldattal mossuk és magnézium-szulfáttal szárítjuk. A szűrletet csökkentett nyomáson betöményítve 49 képletű vegyülethez jutunk csaknem fehér színű szilárd termék formájában.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆), δ : 11,98 (széles s, 1H), 9,80 (t, 1H), 7,32 (m, 2H), 7,23 (m, 3H), 4,25 (d, 2H), 2,19 (t, 2H), 2,12 (t, 2H), 1,50 (m, 4H), 1,25 (m, 4H).

Oktándisav-benzil-amid-hidroxi-amid; (50) képletű vegyület



E vegyületet a **49** képletű vegyületből kiindulva állítjuk elő a védett hidroxamát származékon keresztül, az előállítást a korábbiakban leírtak szerint végezzük; az **50** képletű vegyületet fehér színű szilárd termék formájában kapjuk.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6), δ : 10,30 (s, 1H), 8,27 (t, 1H), 7,28 (m, 2H), 7,23 (m, 3H), 5,65 (d, 2H), 2,11 (t, 2H), 1,91 (t, 2H), 1,46 (m, 4H), 1,23 (m, 4H).

(7S)-7-Benzil-oxi-karbonil-amino-7-fenil-karbamoil-heptánsav-terc-butil-észter;

(51) képletű vegyület

100 mg (0,18 mmól) N-Cbz-(L)-2-amino-szuberinsav-8-terc-butil-észter-diciklohexil-aminsót 5 ml normál HCl oldatban feloldunk, az így nyert oldatot 3x10 ml etil-acetáttal extraháljuk. Az egyesített extraktumokat telített nátrium-klorid-oldattal mossuk és magnézium-szulfáttal szárítjuk. Bepárlás után 68 mg (0,179 mmól) szabad savhoz jutunk fehér színű szilárd termék formájában. Az így kapott vegyületet 2,5 ml CH_2Cl_2 -ben feloldjuk, az oldathoz 17 μl (0,19 mmól) anilint, 46 μl (0,27 mmól) DIEA-t és végül 97 mg (0,19 mmól) Py.BOP-t adunk. Az oldatot 1 óra hosszat keverjük, ezután betöményítjük, a maradékot 5 ml víz és 10 ml etil-acetát elegyével kirázzuk. A fázisokat elkülönítjük, a vizes fázist 3x10 ml etil-acetáttal extraháljuk. Az egyesített extraktumokat normál HCl oldattal és telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, magnézium-szulfáttal szárítjuk, majd szűrjük. A szűrletet csökkentett nyomáson betöményítve szilárd maradékhoz jutunk, ezt szilikagéllel töltött oszlopon átmoszuk (30 % EtOAc/hexán). Az összegyűjtött eluenst bepárolva 76 mg **51** képletű vegyületet kapunk fehér színű szilárd termék formájában (0,167 mmól, 94 %-os hozam). TLC R_f : 0,38 (30 % EtOAc/hexán).



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 8,21 (s, 1H), 7,48 (d, 2H), 7,32 (m, 5H), 7,28 (t, 2H), 7,08 (t, 1H), 5,39 (széles d, 1H), 5,10 (m, 2H), 4,26 (széles dd, 1H), 2,07 (t, 2H), 1,92 (m, 1H), 1,66 (m, 1H), 1,55 (m, 2H), 1,42 (s, 9H), 1,38 (m, 4H).

(7S)-7-Benzil-oxi-karbonil-amino-7-fenil-karbamoil-heptánsav; (52) képletű vegyület

76 mg (0,167 mmól) **51** képletű észter 5 ml CH_2Cl_2 -vel készült oldatához 0,5 ml TFA-t adunk, majd a reakcióelegyet 5 óra hosszat keverjük. Az oldatot ezután csökkentett nyomáson betöményítve 80 mg **52** képletű nyers vegyülethez jutunk fehér színű szilárd termék formájában; ezt további tisztítás nélkül használjuk fel a következő lépésben. TLC R_f : 0,32 (5 % MeOH/ CH_2Cl_2).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ : 11,93 (széles s, 1H), 9,99 (s, 1H), 7,58 (d, 2H), 7,55 (d, 1H), 7,35 (m, 4H), 7,29 (t, 2H), 7,03 (t, 1H), 5,02 (m, 2H), 4,11 (széles dd, 1H), 2,17 (t, 2H), 1,59 (m, 2H), 1,48 (m, 2H), 1,22 (m, 4H).

(1S)-(6-Hidroxi-karbamoil-1-fenil-karbamoil-hexil)-karbamidsav-benzil-észter; (53) képletű vegyület

80 mg **52** képletű nyers savszármazék és 60 mg (0,221 mmól) TBDPSO- NH_2 CH_2Cl_2 -vel készült oldatához 52 μl (0,302 mmól) DIEA-t, majd 125 mg (0,241 mmól) Py.BOP-t adunk. Az oldatot 3 óra hosszat keverjük, majd csökkentett nyomáson betöményítjük. A maradékot szilikagéllal töltött oszlopon átengedjük (50 % EtOAc/hexán), az összegyűjtött eluenst bepároljuk. Így 107 mg (0,164 mmól) fehér színű habszerű terméket kapunk (82 %-os hozam). Ezt 5 ml CH_2Cl_2 -ben feloldjuk, az oldathoz 0,25 ml TFA-t adunk, majd az oldatot 2 óra hosszat keverjük. Ekkor a TLC vizsgálatnál egy FeCl_3 -mal kimutatható új foltot észlelünk. Az elegyet ekkor csökkentett nyomáson betöményítjük, a maradékot minimális mennyiségű etil-acetáttal szolvatáljuk, majd hexán



hozzáadásával a terméket az oldatból lecsapjuk. Az így nyert fehér színű gél hexánnal átmosva és vákuumban szárítva 40 mg (0,097 mmól) **53** képletű vegyületet kapunk fehér színű szilárd termék formájában (58 %-os hozam a három lépésre számítva).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6), δ : 10,31 (s, 1H), 9,99 (s, 1H), 7,59 (d, 2H), 7,56 (d, 1H), 7,37 (m, 4H), 7,29 (t, 2H), 7,02 (t, 1H), 5,02 (m, 2H), 4,11 (dt, 1H), 1,90 (t, 2H), 1,61 (m, 2H), 1,47 (m, 2H), 1,30 (m, 4H). TS (ESI $^+$) a $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_5$ képletre számított: 413, talált: 414 (M+H) $^+$.

(7S)-7-Benzil-oxi-karbonil-amino-7-(kinol-8-il-karbamoil)-heptánsav-terc-butil-észter; (54) képletű vegyület

Az **51** képletű vegyület előállításánál leírtak szerint eljárva állítjuk elő a cím szerinti vegyületet; kiindulási anyagként N-Cbz-(L)-2-amino-szuberinsav-8-terc-butil-észter-diciklohexil-aminsót alkalmazunk. Flash-kromatográfiás művelet után (0 $\rightarrow$ 1 % MeOH/ CH_2Cl_2) 70 mg (0,138 mmól) **54** képletű vegyületet kapunk halványbarna színű szilárd termék formájában (82 %-os hozam). TLC R_f : 0,42 (2 % MeOH/ CH_2Cl_2).

$^1\text{H-MMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 10,19 (s, 1H), 8,77 (dd, 1H), 8,71 (dd, 1H), 8,15 (dd, 1H), 7,52 (m, 2H), 7,45 (m, 1H), 7,33 (m, 4H), 5,50 (széles d, 1H), 5,15 (m, 2H), 4,51 (széles dd, 1H), 2,17 (t, 2H), 2,00 (m, 1H), 1,79 (m, 1H), 1,56 (m, 2H), 1,45 (m, 2H), 1,40 (s, 9H), 1,38 (m, 2H).

(7S)-7-Benzil-oxi-karbonil-amino-7-(kinol-8-il-karbamoil)-heptánsav; (55) képletű vegyület

Az **52** képletű vegyület előállításához hasonló módon állítjuk elő a cím szerinti vegyületet; kiindulási anyagként az **54** képletű származékot alkalmazzuk. 72 mg (0,129 mmól) **55** képletű vegyületet kapunk barna színű szilárd termék formájában. TLC (50 % EtOAc/hexán).



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ : 11,92 (széles s, 1H), 10,46 (s, 1H), 8,49 (dd, 1H), 8,63 (dd, 1H), 8,42 (dd, 1H), 8,10 (d, 1H), 7,68 (dd, 1H), 7,58 (t, 1H), 7,36 (m, 2H), 7,28 (m, 2H), 5,09 (m, 2H), 4,22 (m, 1H), 2,19 (t, 2H), 1,83 (m, 1H), 1,67 (m, 1H), 1,48 (m, 2H), 1,39 (m, 2H), 1,28 (m, 2H).

(1S)-[6-Hidroxi-karbamoil-1-(kinol-8-il-karbamoil)-hexil]-karbamidsav-benzil-észter; (56) képletű vegyület

Az **53** képletű vegyület előállításánál leírtak szerint eljárva állítjuk elő a cím szerinti vegyületet; kiindulási anyagként az **55** képletű vegyületet alkalmazzuk. 15 mg (0,032 mmól) **56** képletű vegyülethez jutunk fehér színű szilárd termék formájában (44 %-os hozam).

$^1\text{H-NMR}$ 400 MHz, DMSO-d_6), δ : 10,46 (s, 1H), 10,31 (s, 1H), 8,85 (dd, 1H), 8,63 (dd, 1H), 8,42 (dd, 1H), 8,12 (d, 1H), 8,66 (m, 2H), 7,58 (t, 1H), 7,37 (m, 2H), 7,28 (m, 2H), 7,20-6,90 (1H), 5,10 (m, 2H), 4,10 (m, 1H), 1,92 (t, 2H), 1,82 (m, 1H), 1,68 (m, 1H), 1,49 (m, 2H), 1,40 (m, 2H), 1,26 (m, 2H). TS (ESI^+) a $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_5$ képletre számított: 464, talált: 465 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

(7S)-(Ciklohexán-karbonil-amino)-7-fenil-karbamoil-heptánsav-metil-észter; (57) képletű vegyület

81 mg (0,214 mmól) **5** képletű vegyület CH_2Cl_2 -vel készült oldatához 0,5 ml TFA-t adunk, majd az oldatot 2 óra hosszat keverjük. Az elegyet csökkentett nyomáson betöményítjük. Ezen amin (62 mg, 0,223 mmól) és 31 μl (0,245 mmól) ciklohexán-karbonsav 4 ml CH_2Cl_2 -vel készült oldatához 140 mg (0,268 mmól) Py.BOP-t és 58 μl (0,335 mmól) DIEA-t adunk. Az oldatot ezután 2 óra hosszat keverjük, majd csökkentett nyomáson betöményítjük, a maradékot flash-kromatográfiás művelettel tisztítjuk (40 % EtOAc/hexán). Betöményítés után 95 mg **57** képletű, nyers terméket kapunk



fehér színű szilárd anyag formájában, ami szennyezésként kismennyiségű el nem reagált ciklohexánt tartalmaz. Az így nyert anyagot további tisztítás nélkül használjuk fel a következő lépésben. TLC R_f : 0,58 (50 % EtOAc/hexán).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 8,58 (s, 1H), 7,50 (d, 2H), 7,28 (t, 2H), 7,07 (t, 1H), 6,14 (d, 1H), 4,56 (dt, 1H), 3,64 (s, 3H), 2,28 (t, 2H), 2,13 (tt, 1H), 1,94 (m, 1H), 1,85 (m, 2H), 1,76 (m, 2H), 1,64 (m, 4H), 1,41 (m, 5H), 1,22 (m, 4H).

(7S)-(Ciklohexán-karbonil-amino)-7-fenil-karbamoil-heptánsav; (58) képletű vegyület

95 mg **57** képletű észter vegyület 2,5 ml metanollal készült oldatához 0°C hőmérsékleten 2,5 ml normál NaOH oldatot adunk. Az NaOH hozzáadása után fehér csapadék válik le, ezt 2,5 ml THF hozzáadásával újra feloldjuk. 3 óra eltelte után újabb adag NaOH-t (1,0 ml normál oldat) adunk az elegyhez, miközben ennek hőmérsékletét 0°C -on tartjuk. A reakció előrehaladását TLC vizsgálattal követjük, a kiindulási vegyület teljes eltűnése után a reakcióelegyet normál HCl oldattal megsavanyítjuk, ekkor fehér színű csapadék válik le. A felülúszót leszívjuk, a szilárd anyagot vákuumszivattyúval szűrjük. Az egyesített folyadékokat 3x5 ml EtOAc-vel extraháljuk, az egyesített extraktumokat telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, magnézium-szulfáttal szárítjuk, majd szűrjük. Csökkentett nyomáson betöményítve fehér színű szilárd anyag marad vissza, ezt a szűrőlepennyel egyesítve és vákuumban szárítva 75 mg karbonsavat kapunk (0,200 mmól, 90 %-os hozam).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ : 11,95 (s, 1H), 9,98 (s, 1H), 7,90 (d, 1H), 7,58 (d, 1H), 7,28 (t, 2H), 7,02 (t, 1H), 4,33 (dt, 1H), 2,22 (tt, 1H), 2,17 (t, 2H), 1,67 (m, 6H), 1,60 (m, 2H), 1,46 (m, 2H), 1,22 (m, 9H).

(2S)-2-(Ciklohexán-karbonil-amino)-oktándisav-8-hidroxi-amid-1-fenil-amid; (59)
képletű vegyület

70 mg (0,187 mmól) **58** képletű vegyületet, 61 mg (0,224 mmól) TBDPSO-NH₂-t és 5 mg DMAP-t 4 ml CH₂Cl₂-ben feloldunk, majd az oldathoz 47 mg (0,243 mmól) EDC-t adunk. Az oldatot egy éjszakán át keverjük, ezután csökkentett nyomáson betöményítjük, a visszamaradt anyagot flash-kromatográfiás művelettel tisztítjuk (50 % EtOAc/hexán). Az egyesített frakciókat bepárolva 80 mg (0,131 mmól) fehér színű habszerű terméket kapunk (70 %-os hozam). Az így nyert védett hidroxamát vegyületet 2 ml CH₂Cl₂ és 3 ml THF elegyében feloldjuk, az oldathoz 0,25 ml TFA-t adunk, majd az elegyet 1,5 óra hosszat keverjük. A TLC vizsgálatnál egy új, FeCl₃-mal festhető folt jelentkezik. Az oldatot ekkor betöményítjük, az illó komponenseket vákuumban eltávolítjuk. A maradékot EtOAc-vel eldörzsölve fehér színű gélyszerű csapadékhoz jutunk, amit 5 ml etil-acetát segítségével műanyag csőbe töltünk. A csövet centrifugálva szilárd anyag különül el, a felülúszót leszívátjuk, a maradékhoz 10 ml etil-acetátot adunk. Az elkülönített szilárd anyagot ultrahangos kezelés segítségével újra szuszpendáljuk, majd ismét centrifugáljuk, a felülúszót elöntjük, majd a maradékot vákuumban szárítjuk. 18 mg (0,046 mmól) **59** képletű vegyületet kapunk fehér színű szilárd termék formájában (35 %-os hozammal).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆), δ: 10,31 (s, 1H), 9,97 (s, 1H), 7,89 (d, 1H), 7,57 (d, 2H), 7,28 (t, 2H), 7,02 (t, 1H), 4,33 (dt, 1H), 2,22 (t, 2H), 1,91 (t, 2H), 1,61 (m, 6H), 1,68 (m, 2H), 1,45 (m, 2H), 1,21 (9H).

Oktándisav-hidroxi-amid-kinol-8-il-amid; (60) képletű vegyület

A **48** képletű vegyület előállításánál leírtak szerint eljárva állítjuk elő a cím szerinti vegyületet, kiindulási anyagként szuberinsav-monometil-észtert alkalmazunk, e



vegyületet 8-amino-kinolinnal reagáltatjuk. A védett hidroxamátról a védőcsoportot TFA-val eltávolítva a nyers maradékot kismennyiségű etil-acetáttal felvesszük, majd hexán hozzáadásával csapadékot választunk le; így 18 mg (0,057 mmól) **60** képletű vegyülethez jutunk fehér színű szilárd anyag formájában (21 %-os hozam a karbonsavra számítva).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6), δ : 10,31 (s, 1H), 10,02 (s, 1H), 8,92 (dd, 1H), 8,61 (dd, 1H), 8,40 (dd, 1H), 7,65 (dd, 1H), 7,63 (dd, 1H), 7,56 (t, 1H), 2,56 (t, 1H), 1,93 (t, 1H), 1,63 (m, 2H), 1,49 (m, 2H), 1,28 (m, 4H). TS (ESI $^+$) a $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_3$ képletre számított: 315, talált: 316 (M+H) $^+$.

2-terc-Butoxi-karbonil-oktándisav-1-terc-butil-észter-8-etil-észter; (61) képletű vegyület

197 mg (4,913 mmól) NaH (60 %-os diszperzió) 25 ml THF-fel készült szuszpenziójához 0°C hőmérsékleten keverés közben 1,00 ml (4,466 mmól) di-terc-butyl-malonátot adunk, majd az elegyet hagyjuk szobahőmérsékletre felmelegedni. 1 óra eltelte után a gázfejlődés megszűnik, ekkor 0,88 ml (4,913 mmól) 6-bróm-hexánsav-etil-észtert csepegtetünk az elegyhez. A reakcióelegyet visszafolyató hűtő alkalmazásával egy éjszakán át forraljuk. A reakciót ezután 10 ml víz óvatos hozzáadásával leállítjuk, majd az elegyet etil-acetáttal meghígítjuk. A fázisokat ezután elkülönítjük, a vizes fázist 3x10 ml etil-acetáttal extraháljuk. Az extraktumokat egyesítjük, vízzel és telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, magnézium-szulfáttal szárítjuk, majd szűrjük. Csökkentett nyomáson végzett betöményítés után sárga színű olajat kapunk, amit szilikagéllal töltött oszlopon átszűrünk (10 % EtOAc/hexán). Betöményítés után 1,52 g (4,24 mmól) **61** képletű vegyülethez jutunk halványsárga szirup formájában (95 %-os hozam). TLC R_f : 0,44 (10 % EtOAc/hexán).



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 4,10 (q, 2H), 3,08 (t, 1H), 2,26 (t, 2H), 1,76 (m, 2H), 1,60 (m, 2H), 1,43 (s, 18H), 1,32 (m, 4H), 1,23 (m, 3H).

2-Karboxi-oktándisav-8-etil-észter; (62) képletű vegyület

500 mg (1,395 mmól) **61** képletű triészter 20 ml CH_2Cl_2 -vel készült oldatához 2,0 ml TFA-t adunk, majd a reakcióelegyet egy éjszakán át keverjük. Az illó komponenseket vákuumban ledesztillálva, majd a maradékot CH_2Cl_2 -ben ismételten feloldva és újból betöményítve a TFA nyomokat eltávolítjuk. 327 mg (1,33 mmól) **62** képletű vegyületet kapunk szilárd termék formájában, amit további tisztítás nélkül használunk fel közvetlenül a következő lépésben.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ : 12,62 (széles s, 2H), 4,03 (q, 2H), 3,16 (t, 1H), 2,25 (t, 2H), 1,67 (m, 2H), 1,49 (m, 2H), 1,25 (m, 4H), 1,16 (t, 3H).

7,7-bisz(Kinol-8-il-karbamoil)-heptánsav-etil-észter; (63) képletű vegyület

150 mg (0,609 mmól) **62** képletű disavat, 211 mg (1,462 mmól) 8-amino-kinolint és 5 mg DMAP-t 6 ml THF-ben feloldunk. Ezen oldathoz 350 mg (1,827 mmól) EDC-t adunk, majd a reakciót hagyjuk egy éjszaka alatt végbemenni. Az elegyet ezután csökkentett nyomáson betöményítjük, az így nyert terméket flash-kromatográfiás művelettel tisztítjuk (40 % EtOAc/hexán). Az egyesített frakciókat betöményítve 100 mg (0,201 mmól) **63** képletű vegyületet kapunk halványbarna színű szilárd termék formájában (hozam: 14 %).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ : 10,85 (s, 2H), 8,92 (dd, 2H), 8,64 (dd, 2H), 8,40 (dd, 2H), 7,68 (dd, 2H), 7,62 (dd, 2H), 7,57 (t, 2H), 4,35 (t, 1H), 3,98 (q, 2H), 2,24 (t, 2H), 2,00 (m, 2H), 1,51 (m, 2H), 1,37 (m, 4H), 1,12 (t, 3H).

7,7-bisz(Kinol-8-il-karbamoil)-heptánsav; (64) képletű vegyület



94 mg (0,212 mmól) **63** képletű észter vegyület 3 ml MeOH-val és 1 ml THF-fel készült oldatához 44 mg (1,062 mmól) LiOH · H₂O-nak 1 ml vízzel készült oldatát adagoljuk, majd az elegyet 5 óra hosszat keverjük. Normál HCl oldattal végzett savanyítás után (pH = 7-ig) 10 ml etil-acetátot adunk az elegyhez, majd a fázisokat szétválasztjuk. A vizes fázist 3x5 ml etil-acetáttal extraháljuk, az egyesített extraktumokat 3 ml telített ammónium-klorid-oldattal, 3 ml vízzel, majd telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, magnézium-szulfáttal szárítjuk, majd szűrjük. Csökkentett nyomáson végzett betöményítés után 94 mg **64** képletű vegyülethez jutunk fehér színű szilárd termék formájában (0,200 mmól, 94 %-os hozam). TLC R_f: 0,21 (50 % EtOAc/hexán).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆), δ: 11,88 (s, 1H), 10,85 (s, 2H), 8,93 (dd, 2H), 8,65 (dd, 2H), 8,40 (dd, 2H), 7,69 (dd, 2H), 7,63 (dd, 2H), 7,58 (t, 2H), 4,35 (t, 1H), 2,16 (t, 2H), 2,00 (m, 2H), 1,49 (m, 2H), 1,38 (m, 4H).

2-(Kinol-8-il-karbamoil)-oktándisav-8-hidroxi-amid-1-kinol-8-il-amid; (65) képletű vegyület

94 mg (0,200 mmól) **64** képletű savszármazékot, 74 mg (0,272 mmól) TBDPSO-NH₂-t és 5 mg DMAP-t 4 ml CH₂Cl₂-ben feloldunk, majd 57 mg (0,295 mmól) EDC-t adunk hozzá. Az oldatot egy éjszakán át keverjük, majd csökkentett nyomáson betöményítjük. Flash-kromatográfiás tisztítás után (30 → 50 % EtOAc/hexán), az egyesített frakciókat betöményítve fehér színű habszerű termékhez jutunk. Az így nyert védett hidroxamátot 4 ml CH₂Cl₂-ben feloldjuk, az oldathoz 0,2 ml TFA-t adunk, majd 4 óra hosszat keverjük. A TLC vizsgálat szerint a kiindulási vegyület ezen időpontban már teljes mértékben elhasználódott és egy új, FeCl₃-mal festhető folt jelenik meg. Az oldatot ekkor csökkentett nyomáson betöményítjük, a maradékot minimális mennyiségű etil-acetátban feloldjuk. Hexán hozzáadása nyomán fehér színű csapadék válik le, az



anyalúgot ettől elkülönítjük. Hexánnal végzett átmosás után a maradékot vákuumban szárítjuk, így 30 mg **65** képletű vegyülethez jutunk fehér színű szilárd termék formájában (0,061 mmól, 22 %-os hozam a karbonsavra számítva).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 10,85 (s, 2H), 10,30 (s, 1H), 8,93 (dd, 2H), 8,65 (dd, 2H), 8,40 (dd, 2H), 7,69 (dd, 2H), 7,63 (dd, 2H), 7,58 (t, 2H), 4,35 (t, 1H), 1,99 (m, 2H), 1,92 (t, 2H), 1,48 (m, 2H), 1,35 (m, 4H). TS (ESI^+) a $\text{C}_{27}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_4$ képletre számított: 485, talált: 486 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

2-(Kínol-3-il-karbamoil)-oktándisav-8-hidroxil-amid-1-kínol-3-il-amid; (66) képletű vegyület

A **65** képletű vegyület előállításánál leírtak szerint eljárva állítjuk elő a cím szerinti vegyületet; kiindulási anyagként a **62** képletű disavat alkalmazzuk.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ : 10,60 (s, 1H), 10,34 (s, 1H), 8,95 (dd, 2H), 8,74 (s, 2H), 7,93 (dd, 2H), 7,64 (dd, 2H), 7,56 (dd, 2H), 3,71 (t, 1H), 1,96 (m, 4H), 1,51 (m, 2H), 1,34 (m, 4H).

6-Bróm-hexánsav-fenil-amid; (67) képletű vegyület

1,00 ml (6,53 mmól) 6-bróm-hexanoil-kloridnak 35 ml THF-fel készült oldatához 0°C hőmérsékleten 0,60 ml (6,53 mmól) anilin és 1,09 ml (7,84 mmól) TEA 5 ml THF-fel készült oldatát csepegtetjük. A reakcióelegyet hagyjuk szobahőmérsékletre felmelegedni, majd 2 óra hosszat keverjük. Az elegyet ezután leszűrjük, a keletkezett szilárd anyagot etil-acetáttal átöblítjük, a szűrletet vákuumban betöményítjük. A maradékot 15 ml víz és 20 ml etil-acetát elegyével kirázzuk, majd a fázisokat elkülönítjük. A vizes fázist 3x10 ml etil-acetáttal extraháljuk, az egyesített szerves fázisokat normál HCl oldattal, telített nárium-klorid-oldattal mossuk, magnézium-szulfáttal szárítjuk, majd szűrjük. Csökkentett nyomáson végzett betöményítés után barna színű olajhoz jutunk,



ezt szilikagéllel töltött oszlopon (30 % EtOAc/hexán) átengedjük, e műveletnél szívatást alkalmazunk. A szűrletet csökkentett nyomáson betöményítve 1,55 g (5,74 mmól) **67** képletű vegyülethez jutunk szilárd termék formájában (88 %-os hozam). TLC R_f : 0,36 (25 % EtOAc/hexán).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6), δ : 9,85 (s, 1H), 7,57 (d, 2H), 7,27 (t, 2H), 7,01 (t, 1H), 3,53 (t, 2H), 2,30 (t, 2H), 1,81 (t, 2H), 1,63 (m, 2H), 1,42 (m, 2H). TS (ESI $^+$ a $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{BrNO}$ képletre számított: 268+270, talált: 269+272 (M+H) $^+$).

Tioecetsav-S-(5-fenil-karbamoil-pentil)-észter; (68) képletű vegyület

200 mg (0,74 mmól) **67** képletű bromidot, 110 mg (0,96 mmól) kálium-tioacetátot és 10 mg nátrium-jodidot 6 ml THF-fel elegyítünk, majd az elegyet erélyes keverés közben visszafolyató hűtő alkalmazásával egy éjszakán át forraljuk. A reakcióelegyet ezután betöményítjük, majd szilikagéllel töltött oszlopon átengedjük (20 % EtOAc/hexán, 200 ml), e lépésnél szívatást végzünk. A szűrletet csökkentett nyomáson betöményítve 190 mg **68** képletű vegyületet kapunk narancssárga színű kristályos szilárd termék formájában (0,72 mmól, 97 %-os hozam). TLC R_f : 0,22 (25 % EtOAc/hexán).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6), δ : 9,83 (s, 1H), 7,56 (d, 2H), 7,27 (t, 2H), 7,00 (t, 1H), 2,82 (t, 2H), 2,30 (s, 3H), 2,28 (t, 2H), 1,57 (m, 2H), 1,52 (m, 2H), 1,35 (m, 2H).

6-Metánszulfonil-amino-hexánsav; (69) képletű vegyület

904 mg (6,89 mmól) 6-amino-hexánsavat és 415 mg (10,34 mmól) NaOH-t 30 ml vízben feloldunk, majd az oldatot 0-5°C hőmérsékletre lehűtjük. 0,586 ml (7,58 mmól) metánszulfonil-klorid hozzáadása után a reakcióelegyet 2 óra hosszat keverjük, majd szobahőmérsékletre felmelegítjük és további 2 óra hosszat keverjük. Az elegyet normál HCl oldattal megsavanyítjuk, majd 3x15 ml etil-acetáttal extraháljuk. Az

extraktumokat egyesítjük, vízzel és telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, magnézium-szulfáttal szárítjuk, majd szűrjük. Csökkentett nyomáson végzett betöményítés után 207 mg (0,99 mmól) **69** képletű vegyületet kapunk fehér színű kristályos termék formájában (14 %-os hozam).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6), δ : 11,95 (s, 1H), 6,91 (t, 1H), 2,90 (dt, 2H), 2,87 (s, 3H), 2,20 (t, 2H), 2,48 (m, 2H), 2,43 (m, 2H), 1,27 (m, 2H).

6-Metánszulfonil-amino-hexánsav-fenil-amid; (70) képletű vegyület

100 mg (0,48 mmól) **69** képletű savat, 60 μl (0,66 mmól) anilint és 5 mg DMAP-t 5 ml THF-ben feloldunk, majd az oldathoz 119 mg (0,57 mmól) EDC-t adunk. A reakcióelegyet egy éjszakán át keverjük, ezután 10 ml víz és 15 ml etil-acetát elegyével kirázzuk. A fázisokat elkülönítjük, a vizes fázist 3x10 ml etil-acetáttal extraháljuk. Az egyesített szerves frakciókat 5 ml telített NH_4Cl oldattal, majd telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, magnézium-szulfáttal szárítjuk, majd szűrjük. Csökkentett nyomáson végzett betöményítés után 130 mg (0,46 mmól) **70** képletű vegyülethez jutunk fehér színű kristályos termék formájában (95 %-os hozam).

$^1\text{H-NMR}$ -(400 MHz, DMSO- d_6), δ : 9,84 (s, 1H), 7,57 (d, 2H), 7,26 (t, 2H), 7,00 (t, 1H), 6,92 (t, 1H), 2,91 (dt, 2H), 2,85 (s, 3H), 1,58 (m, 2H), 1,47 (m, 2H), 1,31 (m, 2H).

9,9,9-Trifluor-8-oxo-nonánsav-metil-észter; (71) képletű vegyület

1,00 g (5,31 mmól) szuberinsav-monometil-észter 15 ml THF-fel készült oldatához 2 ml oxalil-kloridot, majd 1 csepp DMF-fet adunk. Az oldatot 2 óra hosszat keverjük, majd csökkentett nyomáson betöményítjük. Az illó komponenseket nagyvákuumban egy éjszaka alatt eltávolítjuk, így 1,08 g (5,22 mmól) olaj marad vissza (98 %-os hozam). Az így nyert nyers savkloridot ezután az irodalomból ismert módszer segítségével (65) trifluor-metil-ketonná alakítjuk. Az oldathoz 1,08 g (5,22 mmól) savklorid 45



ml CH_2Cl_2 -vel készült oldatát adjuk 0°C hőmérsékleten, majd az elegyhez 4,64 ml (32,81 mmól) trifluor-ecetsavanhidridet és 3,54 ml (43,74 mmól) piridint adunk. Az elegyet hagyjuk szobahőmérsékletre felmelegedni, majd 2 óra hosszat keverjük. Ismét 0°C hőmérsékletre lehűtve az elegyhez óvatosan 20 ml jéghideg vizet adunk. További 100 ml víz hozzáadása után a fázisokat elkülönítjük. A vizes fázist 2x30 ml CH_2Cl_2 -vel extraháljuk, a szerves fázisokat egyesítjük, telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, magnézium-szulfáttal szárítjuk, majd szűrjük. Csökkentett nyomáson betöményítést végezve barna színű olajat kapunk, ezt flash kromatográfiás művelettel tisztítva (2-4 % $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$) 641 mg (2,67 mmól) **71** képletű termékhez jutunk tiszta olaj formájában (49 %-os hozam). TLC R_f : 0,24 (2 % $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 3,67 (s, 3H), 2,71 (t, 2H), 2,31 (t, 2H), 1,65 (m, 4H), 1,35 (m, 4H).

9,9,9-Trifluor-8-oxo-nonánsav-fenil-amid; (72) képletű vegyület

300 mg (1,25 mmól) **71** képletű észternek 18 ml THF-fel készült oldatához 262 mg (6,24 mmól) $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 6 ml vízzel készült oldatát adjuk, majd a szuszpenziót egy éjszakán át keverjük. Az elegyet ezután normál HCl oldattal 2-es pH-ra savanyítjuk, ezután 3x15 ml EtOAc-vel extraháljuk. Az extraktumokat egyesítjük, telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, magnézium-szulfáttal szárítjuk, majd szűrjük. A szűrletet csökkentett nyomáson betöményítve 211 mg (0,93 mmól) fehér színű szilárd terméket kapunk (75 %-os hozam). 109 mg (0,48 mmól) ily módon előállított savat, 111 mg (0,58 mmól) EDC-t és 5 mg DMAP-t 5 ml CH_2Cl_2 -ben feloldunk, az oldathoz 49 μl (0,53 mmól) anilint adunk, majd az elegyet egy éjszakán át állni hagyjuk. Az oldatot ezután 5 ml H_2O és 10 ml EtOAc elegyével kirázzuk. A fázisokat elkülönítjük, a vizes fázist 3x5 ml EtOAc-vel extraháljuk. Az egyesített szerves fázisokat telített nátrium-klorid-oldattal



mossuk, magnézium-szulfáttal szárítjuk, majd szűrjük. A szűrletet csökkentett nyomáson ledesztillálva szilárd anyag marad vissza, ezt preparatív TLC művelettel (30 % EtOAc/hexán) tisztítjuk a kevésbé poláros sávot EtOAc-vel extrahálva. Az extraktumot betöményítve 92 mg (0,31 mmól) **72** képletű termékhez jutunk sárga színű szilárd anyag formájában (65 %-os hozam). TLC R_f : 0,48 (50 % EtOAc/hexán).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3), δ : 7,51 (d, 2H), 7,32 (t, 2H), 7,10 (t, 1H), 2,72 (t, 2H), 2,36 (t, 2H), 1,72 (m, 4H), 1,40 (m, 4H). $^{19}\text{F-NMR}$ (MHz, CDCl_3): -78,40 (s, 3F). TS (APCI $^+$) a $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{NO}_2$ képletre számított: 301, talált: 325 (M+Na) $^+$.

(5-Fenil-karbanoil-pentil)-karbamidsav-terc-butil-észter; (73) képletű vegyület

2,50 g (10,81 mmól) N-Boc-6-amino-hexánsav, 2,69 g (14,05 mmól) EDC és 20 mg DMAP 100 ml CH_2Cl_2 -vel készült oldatához 1,04 ml (11,35 mmól) anilint adunk, majd az elegyet egy éjszakán át keverjük. Az oldatot ezután csökkentett nyomáson kis térfogatra betöményítjük, majd a maradékot 20 ml víz és 30 ml EtOAc elegyével kirázzuk. A fázisokat elkülönítjük, a vizes fázist 3x15 ml etil-acetáttal extraháljuk. Az egyesített szerves fázisokat 5 ml telített NH_4Cl oldattal és telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, magnézium-szulfáttal szárítjuk, majd szűrjük. A szűrletet csökkentett nyomáson betöményítve 3,14 g (10,25 mmól) **73** képletű tiszta vegyületet kapunk fehér színű szilárd termék formájában (95 %-os hozam). TLC R_f : 0,40 (50 % EtOAc/hexán).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ : 9,81 (s, 1H), 7,56 (d, 2H), 7,26 (t, 2H), 7,00 (t, 1H), 6,74 (t, 1H), 2,89 (dt, 2H), 2,27 (t, 2H), 1,56 (m, 2H), 1,38 (m, 2H), 1,35 (s, 9H), 1,25 (m, 2H).

6-Amino-hexánsav-fenil-amid-TFA-só; (74) képletű vegyület

300 mg (0,98 mmól) **73** képletű karbamát vegyület 15 ml CH_2Cl_2 -vel készült oldatához 0,75 ml TFA-t adunk, majd az oldatot egy éjszakán át keverjük. A reakció elő-



rehaladását TLC vizsgálattal ellenőrizve a kiindulási vegyület teljes mértékű felhasználódása mutatható ki. Az elegyet csökkentett nyomáson ledesztillálva az összes illó komponenseket eltávolítjuk, így 295 mg (0,92 mmól) csaknem fehér színű szilárd termék marad vissza (94 %-os hozam). Az így nyert **74** képletű vegyületet további tisztítás nélkül használjuk fel a következő lépésben.

N-(N-Fenil-karbamoil-5-pentil)-foszforsavamid-dimetil-észter; (75) képletű vegyület

197 mg (0,62 mmól) **74** képletű vegyület és 148 μ l (0,85 mmól) DIEA 7 ml CH_2Cl_2 -vel készült szuszpenziójához 0°C hőmérsékleten keverés közben 77 μ l (0,72 mmól) dimetil-klór-foszfátot csepegtetünk. Az elegyet hagyjuk szobahőmérsékletre felmelegedni, majd egy éjszakán át keverjük. Az oldatot ezután 10 ml vízzel meghígítjuk, a fázisokat szétválasztjuk. A vizes fázist 3×10 ml CH_2Cl_2 -vel extraháljuk, az egyesített szerves fázisokat 5 ml telített NH_4Cl oldattal és telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, magnézium-szulfáttal szárítjuk, majd szűrjük. Betöményítés után a maradékot flash-kromatográfiás művelettel tisztítjuk (2-5 % $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$), majd a TLC lemezen lévő két UV aktív sáv közül a polárosabbat tartalmazó frakciókat egyesítjük, betöményítjük, így 40 mg (0,13 mmól) **75** képletű vegyületet kapunk tiszta olaj formájában (20 %-os hozam). TLC R_f : 0,23 (5 % $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6), δ : 9,84 (s, 1H), 7,57 (d, 2H), 7,26 (t, 2H), 7,00 (t, 1H), 4,90 (dt, 1H), 3,51 (d, 6H), 2,71 (m, 2H), 2,28 (t, 2H), 1,56 (m, 2H), 1,40 (m, 2H), 1,29 (m, 2H).

Metil-N-(5-N-fenil-karbamoil-pentil)-metil-foszfonomidát; (76) képletű vegyület

155 mg (0,48 mmól) **74** képletű vegyület 8 ml CH_3CN -nel készült szuszpenziójához 0,21 ml DIEA-t és 77 mg (0,600 mmól) metil-metilfoszfono-kloridátot adunk. A re-



akcióelegyet egy éjszakán át keverjük, miközben az elegy feltisztul. Az oldatot 10 ml víz és 15 ml etil-acetát elegyével kirázzuk, majd a fázisokat elkülönítjük. A vizes fázist 3x10 ml etil-acetáttal extraháljuk, az egyesített szerves fázisokat 1x5 ml telített NH_4Cl oldattal és telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, magnézium-szulfáttal szárítjuk, majd szűrjük. Az így nyert terméket flash-kromatográfiás művelettel tisztítva (3 $\rightarrow$ 10 % $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$), majd a polárosabb anyagot tartalmazó frakciókat egyesítve 102 mg (0,34 mmól) **76** képletű vegyülethez jutunk tiszta olaj formájában (71 %-os hozam). TLC R_f : 0,16 (5 % $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$).

^1H -NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), δ : 9,85 (s, 1H), 7,57 (d, 2H), 7,26 (t, 2H), 7,00 (t, 1H), 4,52 (dt, 1H), 3,43 (d, 3H), 2,73 (m, 2H), 2,28 (t, 2H), 1,57 (m, 2H), 1,38 (m, 2H), 1,28 (m, 2H), 1,26 (d, 3H).

18. példa

A (77) képletű vegyület előállítása

3-Bróm-fenil-malonsav-dietil-éter; (77-1) képletű vegyület

A cím szerinti vegyületet Cehnevert R. és Desjardins M. módszere szerint [Can. J. Chem. 72, 3212-3217 (1994)] állítjuk elő.

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3), δ : 7,6 (s, 1H), 7,50 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz), 7,37 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz), 7,26 (t, 1H, $J = 7,9$ Hz), 4,58 (s, 1H), 4,22 (m, 4H), 1,29 (t, $J = 10$ Hz).

3-Bróm-fenil-malonil-di(fenil-amid); (77-2) képletű vegyület

1 g (3,2 mmól) 3-bróm-fenil-malonsav-dietil-észtert adunk 5 ml anilinhez. A reakcióelegyet argongázzal átáramoltatjuk, majd visszafolyató hűtő alkalmazásával 2 óra hosszat forraljuk. Lehűtés után a reakcióelegyet 20 ml 10 %-os sósavoldat és 50 ml etil-acetát elegyével meghígítjuk. A szerves fázist ezután elkülönítjük, ezt betöményítve



3-bróm-fenil-malonil-di(fenil-amid)-ot kapunk fehér színű por formájában (540 mg, 1,3 mmól, 42 %-os hozam).

$^1\text{H-NMR}$ δ (300 MHz, DMSO- d_6), δ : 10,3 (széles s, 2H), 7,65 (s, 1H), 7,60 (d, 4H, $J = 7,9$ Hz), 7,54 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz), 7,46 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz), 7,35 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz), 7,31 (t, 4H, $J = 7,8$ Hz), 7,06 (t, 2H, $J = 7,6$ Hz), 4,91 (s, 1H).

3-(Malonil-di(fenil-amid))-fahéjsav; (77-3) képletű vegyület

500 mg (1,22 mmól) 3-bróm-fenil-malonil-di(fenil-amid), 115 mg (1,6 mmól, 1,3 ekvivalens) akrilsav, 2 mg $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, 20 mg tri-*o*-tolil-foszfón, 0,6 ml tributil-amin és 5 ml xilol elegyét lezárt edényben 6 óra hosszat 120°C hőmérsékleten hőkezeljük. Lehűtés után a reakcióelegyet 10 ml 5 %-os sósavoldattal és 50 ml etil-acetáttal meghígítjuk. A szerves fázist elkülönítjük, szűrjük, a szűrletből állás során 450 mg (1,12 mmól) 3-(malonil-di(fenil-amid))-fahéjsav válik le csapadék formájában; a terméket fehér színű por formájában nyerjük.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6), δ : 12,4 (széles s, 1H), 10,3 (széles s, 2H), 7,73 (s, 1H), 7,7-7,5 (m, 6H), 7,52 (d, 1H, $J = 7,7$ Hz), 7,43 (t, 1H, $J = 7,6$ Hz), 7,31 (t, 4H, $J = 7,5$ Hz), 7,06 (t, 2H, $J = 7,4$ Hz), 6,52 (d, 1H, $J = 16$ Hz), 4,95 (s, 1H). APCI-TS: 401 (M+1).

3-(Malonil-di(fenil-amid))-cinnamil-hidroxámsav; (77) képletű vegyület

200 mg (0,5 mmól) 3-(malonil-di(fenil-amid))-fahéjsavat 10 ml vízmentes CH_2Cl_2 -ben feloldunk. 0°C hőmérsékleten az oldathoz keverés közben 0,10 ml (0,77 mmól) klór-hangyasav-izobutil-észtert és 0,20 ml trietil-amint adagolunk. Az elegyet 2 óra hosszat 25°C hőmérsékleten tartjuk, majd *o*-(terc-butyl-difenil-szilil)-hidroxil-amin hozzáadása után az elegyet további 4 óra hosszat keverjük. A nyers reakcióelegyet ezután közvetlenül 15 g szilikagél töltetre felvisszük, ezt 20 % etil-acetát/hexán eleggyel



eluálva szililcsoporttal védett megfelelő hidroxámsavat kapunk (R_f : 0,58, 50 % etil-acetát/hexán), így habszerű termékhez jutunk. A kapott anyagot közvetlenül 10 % trifluor-ecetsav diklór-metánnal készült oldatával (10 ml) kezeljük 4 óra hosszat. Az oldószert 50°C hőmérsékleten rotavap készülékkel betöményítjük, a maradékot 10 ml dietil-éterrel szuszpendáljuk. A szuszpenziót szűrve 150 mg (0,365 mmól) **77** képletű vegyületet kapunk fehér színű por formájában (73 %-os hozam).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6), δ : 10,8 (széles s, 0,5 H), 10,2 (széles s, 2H), 9,06 (széles s, 0,5H), 7,7-7,55 (m, 5H), 7,53-7,38 (m, 4H), 7,31 (t, 4H, $J = 7,7$ Hz), 7,06 (t, 2H, $J = 7,3$ Hz), 6,50 (d, 1H, $J = 16$ Hz), 4,92 (s, 1H). APCI-MS: 416 ($M+1$).

A **77** képletű vegyületnek a MEL sejtdifferenciálódásra és a hiszton dezacetiláz aktivitásra kifejtett hatását a 2. táblázat mutatja be. A **77** képletű vegyület a 2. táblázat 683-as szerkezetének felel meg. Mint a 2. táblázat adataiból kitűnik, a **77** képletű vegyület nagyhatású sejtdifferenciáló szer.

Eredmények:

Mindegyik előállított vegyületet megvizsgáltuk. Az alábbiakban bemutatott 2. táblázat az előállított vegyületekből csak egy alcsoport eredményeit mutatja be. A 2. táblázatban szereplő kísérleti adatokat a 7-10. példánál leírtak szerint nyert eredményekből állítottuk össze. A vizsgált vegyületek szerkezetét a 2. táblázat mutatja be. A bemutatott szerkezetek számozása találomszerűen történt, függetlenül a leírásban alkalmazott egyéb számozástól.

A 2. táblázat adatai igazolják a vegyületek szerkezetével kapcsolatos elképzeléseket a sejtdifferenciálódás és HDAC inhibitor hatás vonatkozásában. Ezen elvek alapján és a bemutatott előállítási módszerek segítségével számos további vegyület



tervezhető meg, állítható elő és vizsgálható sejtdifferenciálódás és HDAC gátló hatás tekintetében.

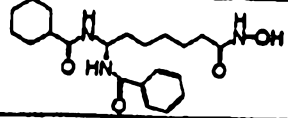
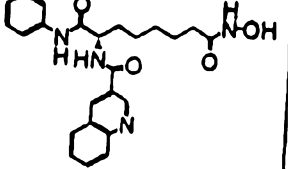
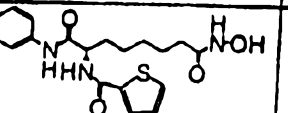
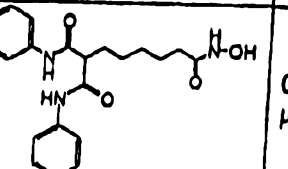
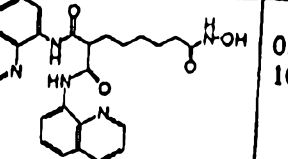
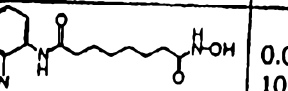
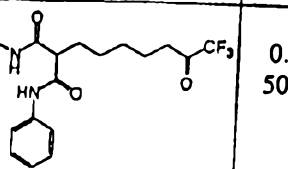
A 11a-f ábrák szemléltetik a kiválasztott vegyületeknek a tisztított humán, epitop jelzett (Flag) HDAC1 affinitására kifejtett hatását. A hatás vizsgálatánál úgy járunk el, hogy az enzim preparátumot szubsztrátum távollétében 20 percig jégen kezeljük a megadott mennyiségű vizsgált vegyülettel együtt. Ezután szubsztrátumot ($[^3\text{H}]$ -acetillel jelzett egér eritroleukémia sejtéből nyert hisztonok) adunk a mintához, az inkubálást 37°C -on 20 percig folytatjuk, a minta össztérfogata $30\ \mu\text{l}$. A reakciót ezután leállítjuk, a felszabadult acetátot extraháljuk, a felszabaduló radioaktivitás mennyiségét szcintillációs számlálással meghatározzuk. Ezen műveletet Richon és munkatársai módosított módszerével végeztük [HDAC vizsgálat, (1998) (39)].

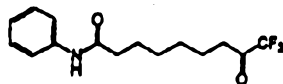
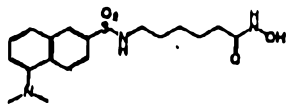
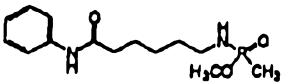
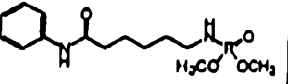
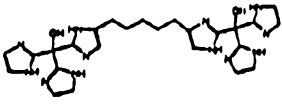
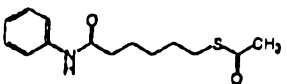
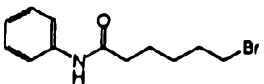
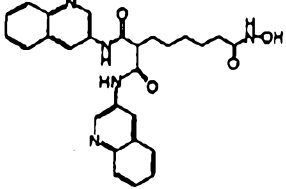


2. Táblázat

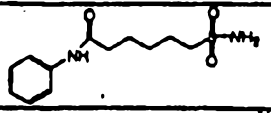
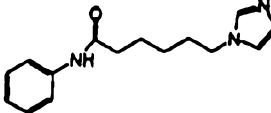
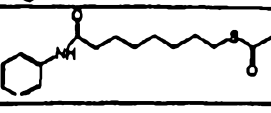
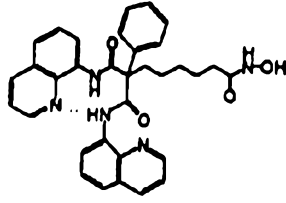
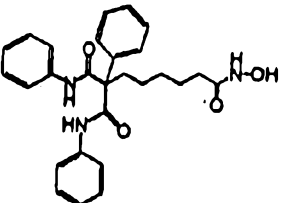
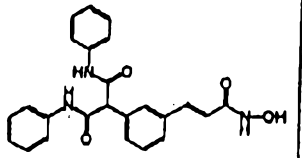
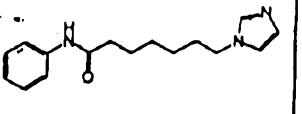
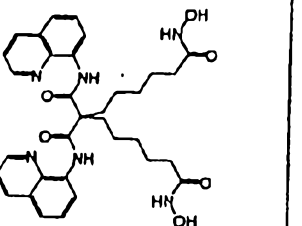
A kiválasztott vegyületek gátló hatására vonatkozó adatok

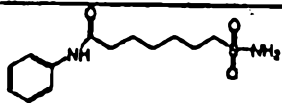
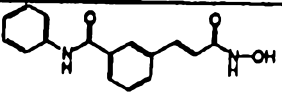
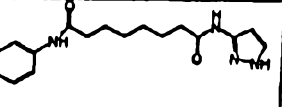
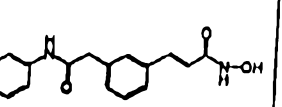
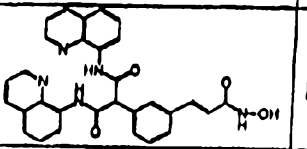
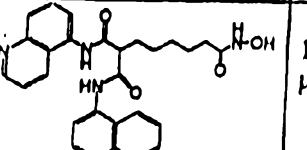
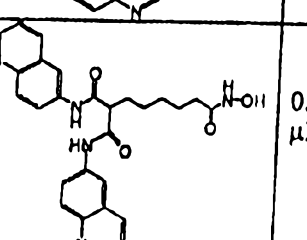
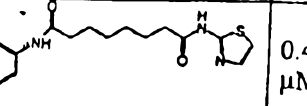
sor-szám	szerkezet	MEL Diff				HDAC inh	
		tarto-mány	opti-mális	% B+	sejtek/mlx10 ⁻³	tarto-mány	ID50
SAHA (390)		0.5 - 50 μ M	2.5 μ M	68	3.6	0.001 - 100 μ M	200 nM
654		0.1 - 50 μ M	200 nM	44	9	0.0001 - 100 μ M	1 nM
655		0.1 - 50 μ M	400 nM	16	3.3	0.01 - 100 μ M	100 nM
656		0.4 - 50 μ M		0		0.01 - 100 μ M	>100 μ M
657		0.4 - 50 μ M		0		0.01 - 100 μ M	>100 μ M
658		0.01 - 50 μ M	40 nM	8	13	0.0001 - 100 μ M	2.5 nM
659		0.4 - 50 μ M		0		0.01 - 100 μ M	10 μ M
660		0.2 - 12.5 μ M	800 nM	27		0.001 - 100 μ M	50 nM
661		0.1 - 50 μ M	500 nM	7		0.01 - 100 μ M	20 nM
662		0.2 - 50 μ M		0		0.001 - 100 μ M	>100 μ M

663		0.2 - 50 μ M	200 nM	43	7	0.001 - 100 μ M	100 nM
664		0.2 - 50 μ M	400 nM	33	22	0.001 - 100 μ M	50 nM
665		0.1 - 50 μ M	150 nM	24	30	0.001 - 100 μ M	50 nM
666		0.1 - 50 μ M	150 nM	31	28	0.001 - 100 μ M	100 nM
667		0.02 - 10 μ M	80 nM	27	2	0.001 - 100 μ M	50 nM
668		0.02 - 10 μ M	10 μ M	11	4.7	0.001 - 100 μ M	100 nM
669		0.8 - 50 μ M	4 μ M	11	16.0	0.001 - 100 μ M	10 μ M

670		0.4 – 50 μM	nincs hatás 25 μM - tg	-	13.0	0.001 – 100 μM	>100 μM
671		0.4 – 50 μM	3.1 μM	35	12.5	0.001 – 100 μM	200 nM
672		0.8 – 50 μM		0	nincs inhi- bitor hatás	0.01 – 100 μM	100 μM
673		0.8 – 50 μM		0	nincs inhi- bitor hatás	0.01 – 100 μM	100 μM
674		0.8 – 50 μM		0	pusz- tulás 25 μM - nél	0.01 – 100 μM	50 μM
675		0.8 – 50 μM		0	nincs inhi- bitor hatás	0.001 – 100 μM	>100 μM
676		0.8 – 50 μM		0	nincs inhi- bitor hatás	0.01 – 100 μM	100 μM
677		0.05 – 25 μM	1.6 μM	23	4.5	0.001 – 100 μM	5 nM

XXXXX

678		0.8 - 50 μM		0	nincs inhibitor hatás	0.001 - 100 μM	>100 μM
679		0.8 - 50 μM		0	nincs inhibitor hatás	0.001 - 100 μM	>100 μM
680						0.01 - 100 μM	>100 μM
681		0.8 - 50 μM	3 μM	3	2.5	0.01 - 100 μM	200 nM
682		0.8 - 50 μM	50 μM	8	1.1	0.01 - 100 μM	150 nM
683		0.01 - 0.1 μM	20 nM	9	9.0	0.0001 - 100 μM	1 nM
684		0.4 - 50 μM		0	nincs inhibitor hatás	0.01 - 100 μM	100 μM
685		0.125 - 5 μM	1.0 μM	20	1.0	0.01 - 100 μM	150 nM

686		0.4 - 50 μ M		0	nincs inhibitor hatás	0.01 - 100 μ M	100 μ M
687		0.125 - 5 μ M		0	nincs inhibitor hatás	0.01 - 100 μ M	200 nM
688		0.4 - 50 μ M		0	nincs inhibitor hatás	0.01 - 100 μ M	>100 μ M
689		5.0 - 40 μ M	35 μ M	48	2.0	0.01 - 100 μ M	200 nM
690		5.0 - 40 μ M	10 μ M	38	2.5	0.01 - 100 μ M	150 nM
691		1.0 - 25 μ M		0	nincs inhibitor hatás	0.01 - 100 μ M	100 nM
692		0.03 - 5 μ M	1 μ M	27	18.0	0.01 - 100 μ M	1 nM
693		0.4 - 50 μ M		0	nincs inhibitor hatás	0.01 - 100 μ M	>100 μ M



IRODALOM

1. Sporn, M. B., Roberts, A. B., and Driscoll, J. S. (1985) in Cancer: Principles and Practice of Oncology, eds. Hellman, S., Rosenberg, S. A., and DeVita, V. T., Jr., Ed. 2, (J. B. Lippincott, Philadelphia), P. 49.
2. Breitman, T. R., Selonick, S. E., and Collins, S. J. (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 2936-2940.
3. Olsson, I. L. and Breitman, T. R. (1982) Cancer Res. 42: 3924-3927.
4. Schwartz, E. L. and Sartorelli, A. C. (1982) Cancer Res. 42: 2651-2655.
5. Marks, P. A., Sheffery, M., and Rifkind, R. A. (1987) Cancer Res. 47: 659.
6. Sachs, L. (1978) Nature (Lond.) 274: 535.
7. Friend, C., Scher, W., Holland, J. W., and Sato, T. (1971) Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 68: 378-382.
8. Tanaka, M., Levy, J., Terada, M., Breslow, R., Rifkind, R. A., and Marks, P. A. (1975) Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 72: 1003-1006.
9. Reuben, R. C., Wife, R. L., Breslow, R., Rifkind, R. A., and Marks, P. A. (1976) Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 73: 862-866.
10. Abe, E., Miyaura, C., Sakagami, H., Takeda, M., Konno, K., Yamazaki, T., Yoshika, S., and Suda, T. (1981) Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 78: 4990-4994.

11. Schwartz, E. L., Snoddy, J. R., Kreutter, D., Rasmussen, H., and Sartorelli, A. C. (1983) Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 24: 18.
12. Tanenaga, K., Hozumi, M., and Sakagami, Y. (1980) Cancer Res. 40: 914-919.
13. Lotem, J. and Sachs, L. (1975) Int. J. Cancer 15: 731-740.
14. Metcalf, D. (1985) Science, 229: 16-22.
15. Scher, W., Scher, B. M., and Waxman, S. (1983) Exp. Hematol. 11: 490-498.
16. Scher, W., Scher, B. M., and Waxman, S. (1982) Biochem. & Biophys. Res. Comm. 109: 348-354.
17. Huberman, E. and Callahan, M. F. (1979) Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 76: 1293-1297.
18. Lottem, J. and Sachs, L. (1979) Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 76: 5158-5162.
19. Terada, M., Epner, E., Nudel, U., Salmon, J., Fibach, E., Rifkind, R. A., and Marks, P. A. (1978) Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 75: 2795-2799.
20. Morin, M. J. and Sartorelli, A. C. (1984) Cancer Res. 44: 2807-2812.
21. Schwartz, E. L., Brown, B. J., Nierenberg, M., Marsh, J. C., and Sartorelli, A. C. (1983) Cancer Res. 43: 2725-2730.
22. Sugano, H., Furusawa, M., Kawaguchi, T., and Ikawa, Y.

- (1973) *Bibl. Hematol.* 39: 943-954.
23. Ebert, P. S., Wars, I., and Buell, D. N. (1976) *Cancer Res.* 36: 1809-1813.
 24. Hayashi, M., Okabe, J., and Hozumi, M. (1979) *Gann* 70: 235-238.
 25. Fibach, E., Reuben, R. C., Rifkind, R. A., and Marks, P. A. (1977) *Cancer Res.* 37: 440-444.
 26. Melloni, E., Pontremoli, S., Damiani, G., Viotti, P., Weich, N., Rifkind, R. A., and Marks, P. A. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 85: 3835-3839.
 27. Reuben, R., Khanna, P. L., Gazitt, Y., Breslow, R., Rifkind, R. A., and Marks, P. A. (1978) *J. Biol. Chem.* 253: 4214-4218.
 28. Marks, P. A. and Rifkind, R. A. (1988) *International Journal of Cell Cloning* 6: 230-240.
 29. Melloni, E., Pontremoli, S., Michetti, M., Sacco, O., Cakiroglu, A. G., Jackson, J. F., Rifkind, R. A., and Marks, P. A. (1987) *Proc. Natl. Acad. Sciences (USA)* 84: 5282-5286.
 30. Marks, P. A. and Rifkind, R. A. (1984) *Cancer* 54: 2766-2769.
 31. Egorin, M. J., Sigman, L. M., VanEcho, D. A., Forrest, A., Whitacre, M. Y., and Aisner, J. (1987) *Cancer Res.* 47: 617-623.
 32. Rowinsky, E. W., Ettinger, D. S., Grochow, L. B.,



- Brundrett, R. B., Cates, A. E., and Donehower, R. C. (1986) *J. Clin. Oncol.* 4: 1835-1844.
33. Rowinsky, E. L., Ettinger, D. S., McGuire, W. P., Noe, D. A., Grochow, L. B., and Donehower, R. C. (1987) *Cancer Res.* 47: 5788-5795.
34. Callery, P. S., Egorin, M. J., Geelhaar, L. A., and Nayer, M. S. B. (1986) *Cancer Res.* 46: 4900-4903.
35. Young, C. W., Fanucchi, M. P., Walsh, T. B., Blatzer, L., Yaldaie, S., Stevens, Y. W., Gordon, C., Tong, W., Rifkind, R. A., and Marks, P. A. (1988) *Cancer Res.* 48: 7304-7309.
36. Andreeff, M., Young, C., Clarkson, B., Fettes, J., Rifkind, R. A., and Marks, P. A. (1988) *Blood* 72: 186a.
37. Marks, P.A., Richon, V.M., Breslow, R., Rifkind, R.A., *Life Sciences* 1999, 322: 161-165.
38. Yoshida et al., 1990, *J. Biol. Chem.* 265:17174-17179.
39. Richon, V.M., Emiliani, S., Verdin, E., Webb, Y., Breslow, R., Rifkind, R.A., and Marks, P.A., *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 95: 3003-3007 (1998).
40. Nishino, N. et. al. *Chem. Pharm. Bull.* 1996, 44, 212-214.
41. U.S. Patent No. 5,369,108, issued November 29, 1994.
42. Kijima et al., 1993, *J. Biol. Chem.* 268:22429-22435.
43. Lea et al., 1999, *Int. J. Oncol.* 2:347-352.
44. Kim et al., 1999, *Oncogene* 15:2461-2470.



45. Saito et al., 1999, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96:4592-4597.
46. Lea and Tulsyan, 1995, *Anticancer Res.* 15:879-883.
47. Nokajima et al., 1998, *Exp. Cell Res.* 241:126-133.
48. Kwon et al., 1998, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:3356-3361.
49. Richon et al, 1996, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:5705-5708.
50. Kim et al., 1999, *Oncogene* 18:2461-2470.
51. Yoshida et al., 1995, *Bioessays* 17:423-430.
52. Yoshida & Beppu, 1988, *Exp. Cell. Res.* 177:122-131.
53. Warrell et al., 1998, *J. Natl. Cancer Inst.* 90:1621-1625.
54. Desai et al., 1999, *Proc. AACR* 40: abstract #2396.
55. Cohen et al., *Antitumor Res.*, submitted.
56. D. W. Christianson and W. N. Lipscomb, "The Complex Between Carboxypeptidase A and a Possible Transition-State Analogue: Mechanistic Inferences from High-Resolution X-ray Structures of Enzyme-inhibitor Complexes," *J. Am. Chem. Soc.* 1986, 108, 4998-5003.
57. G. H. S. Prakash and A. K. Yudin, "Perfluoroalkylation with Organosilicon Reagents," *Chem. Rev.* 1997, 97, 757-786.
58. J.-C. Blazejewski, E. Anselmi, and M. P. Wilmschurst, "Extending the Scope of Ruppert's Reagent:

- Trifluoromethylation of Imines," *Tet. Letters* 1999, 40, 5475-5478.
59. R. J. Linderman and D. M. Graves, "Oxidation of Fluoroalkyl-Substituted Carbinols by the Dess-Martin Reagent," *J. Org. Chem.* 1989, 54, 661-668.
 60. N. E. Jacobsen and P. A. Bartlett, "A Phosphoramidate Dipeptide Analogue as an Inhibitor of Carboxypeptidase A," *J. Am. Chem. Soc.* 1981, 103, 654-657.
 61. S. Lindskog, L. E. Henderson, K. K. Kannan, A. Liljas, P. O. Nyman, and B. Strandberg, "Carbonic Anhydrase", in *The Enzymes*, 3rd edition, P.D. Boyer, ed., 1971, vol. V, pp. 587-665, see p. 657.
 62. Durrant, G.; Greene, R.H.; Lambeth, P.F.; Lester, M.G.; Taylor, N.R., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* 1983, 2211-2214.
 63. Burden, R.S.; Crombie, L., *J. Chem. Soc. (C)* 1969, 2477-2481.
 64. Farquhar, D.; Cherif, A.; Bakina, E.; Nelson, J.A., *J. Med. Chem.*, 1998, 41, 965-972.
 65. Boivin, J.; El Kaim, L.; Zard, S.Z., *Tet. Lett.* 1992, 33, 1285-1288.
 66. Finnin, M.S. et al., Structures of a histone deacetylase homologue bound to the TSA and SAHA inhibitors. *Nature* 401, 188-93 (1999).
 67. Webb, Y. et al., Photoaffinity labeling and mass

- spectrometry identify ribosomal protein S3 as a potential target for hybrid polar cytodifferentiation agents. *J. Biol. Chem.* 274, 14280-14287 (1997).
68. Butler, L.M. et al., Suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA), an inhibitor of histone deacetylase, suppresses the growth of the CWR22 human prostate cancer xenograft. *submitted* (2000).



SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Az (I) általános képletű vegyületek és ezek gyógyászatilag megfelelő sói, ahol a képletben

R_1 és R_2 jelentése azonos vagy egymástól eltérő hidrofób csoport;

R_3 jelentése hidroxámsav-, hidroxil-amino-, hidroxil-, amino-, alkil-amino- vagy alkil-oxi-csoport; és

n értéke 3-10-ig terjedő egész szám, a 10-et is beleértve.

2. Az 1. igénypont szerinti vegyületek, amelyek képletében

R_1 és R_2 közvetlenül kapcsolódik vagy egy kapcsoló csoporton keresztül kötődik és jelentésük szubsztituált vagy szubsztituálatlan aril-, cikloalkil-, cikloalkil-amino-, naftil-, piridil-amino-, piperidino-, 9-purin-6-amino-, tiazol-amino-, hidroxil-, egyenes vagy elágazó láncú alkil-, alkenil-, alkil-oxi-, aril-oxi-, aril-alkil-oxi- vagy piridincsoport.

3. A 2. igénypont szerinti vegyületek, ahol a kapcsoló csoport amidcsoport, -O-, -S-, -NH- vagy -CH₂- csoport.

4. Az 1. igénypont szerinti (I-1) általános képletű vegyületek, ahol a képletben

R_4 jelentése szubsztituált vagy szubsztituálatlan aril-, cikloalkil-, cikloalkil-amino-, naftil-, piridil-amino-, piperidino-, 9-purin-6-amino-, tiazolil-amino-, hidroxil-, egyenes vagy elágazó láncú alkil-, alkenil-, alkil-oxi-, aril-oxi-, aril-alkil-oxi- vagy piridilcsoport.

5. A 4. igénypont szerint vegyületek, ahol a képletben

R_2 jelentése -amid- R_5 általános képletű csoport, amelyben R_5 jelentése szubsztituált vagy szubsztituálatlan aril-, cikloalkil-, cikloalkil-amino-, naftil-, piridil-amino-, piperidino-, 9-purin-6-amino-, tiazolil-amino-, hidroxil-, egyenes vagy elágazó láncú alkil-, alkenil-, alkil-oxi-, aril-oxi-, aril-alkil-oxi- vagy piridilcsoport.



6. Az (I-2) általános képletű vegyületek vagy ezek gyógyászatilag megfelelő sói, ahol a képletben

R_1 és R_2 jelentése szubsztituált vagy szubsztituálatlan aril-, cikloalkil-, cikloalkil-amino-, naftil-, piridil-amino-, piperidino-, 9-purin-6-amino-, tiazolil-amino-, hidroxil-, egyes vagy elágazó láncú alkil-, alkenil-, alkil-oxi-, aril-oxi-, aril-alkil-oxi- vagy piridilcsoport;

R_3 jelentése hidroxámsav-, hidroxil-amino-, hidroxil-, amino-, alkil-amino- vagy alkil-oxi-csoport;

R_4 jelentése hidrogénatom, halogénatom, fenil- vagy cikloalkilcsoport;

A jelentése azonos vagy egymástól eltérő amidcsoport, -O-, -S-, -NR₅- vagy -CH₂-csoport, ahol R_5 jelentése szubsztituált vagy szubsztituálatlan 1-5 szénatomos alkilcsoport, továbbá

n értéke 3-10-ig terjedő egész szám a 10-et is beleértve.

7. A 6. igénypont szerinti (I-3) általános képletű vegyület, ahol a képletben a szubsztituensek jelentése a 6. igénypontban megadottal azonos.

8. A 6. igénypont szerinti (I-4) általános képletű vegyület, ahol a képletben a szubsztituensek jelentése a 6. igénypontban megadottal azonos.

9. A 6. igénypont szerinti (I-5) általános képletű vegyület, ahol a képletben mindegyik R_1 és R_2 jelentése szubsztituált vagy szubsztituálatlan aril-, cikloalkil-, cikloalkil-amino-, naftil-, piridil-amino-, piperidino-, terc-butil-, aril-oxi-, aril-alkil-oxi- vagy piridil csoport; továbbá

n értéke 3-8-ig terjedő egész szám.

10. A 9. igénypont szerinti vegyületek, ahol az aril- vagy cikloalkilcsoportok szubsztituálva vannak metil-, ciano-, nitro-, trifluor-metil-, amino-, amino-karbonil-, metil-ciano-csoporttal, klóratommal, fluoratommal, brómatommal, jódatommal, 2,3-difluor-,



2,4-difluor-, 2,5-difluor-, 3,4-difluor-, 3,5-difluor-, 2,6-difluor-, 1,2,3-trifluor-, 2,3,6-trifluor-, 2,4,6-trifluor-, 3,4,5-trifluor-, 2,3,5,6-tetrafluor-, 2,3,4,5,6-pentafluor-, azido-, hexil-, terc-butyl-, fenil-, karboxil-, hidroxil-, metoxi-, fenil-oxi-, benzil-oxi-, fenil-amino-oxi-, fenil-amino-karbonil-, metoxi-karbonil-, metil-amino-karbonil-, dimetil-amino-, dimetil-amino-karbonil- vagy hidroxil-amino-karbonil-csoporttal.

11. A 6. igénypont szerinti (I-6) általános képletű vegyület vagy ennek egy enantiomerje, ahol a képletben n értéke a 6. igénypontban megadottal azonos.

12. A 11. igénypont szerinti vegyület, ahol a képletben n értéke 5.

13. A 6. igénypont szerinti (I-7) általános képletű vegyület vagy ennek egy enantiomerje, ahol a képletben n értéke a 6. igénypontban megadottal azonos.

14. A 13. igénypont szerinti vegyület, ahol a képletben n értéke 5.

15. A 6. igénypont szerinti (I-8) általános képletű vegyület vagy ennek egy enantiomerje, ahol a képletben n értéke a 6. igénypontban megadottal azonos.

16. A 15. igénypont szerinti vegyületek, ahol a képletben n értéke 5.

17. A 6. igénypont szerinti (I-9) általános képletű vegyület vagy ennek egy enantiomerje, ahol a képletben n értéke a 6. igénypontban megadottal azonos.

18. A 17. igénypont szerinti vegyület, ahol a képletben n értéke 5.

19. A 6. igénypont szerinti (I-10) általános képletű vegyület vagy ennek egy enantiomerje, ahol a képletben n értéke a 6. igénypontban megadottal azonos.

20. A 19. igénypont szerinti vegyület, ahol a képletben n értéke 5.

21. A 6. igénypont szerinti (I-11) általános képletű vegyület vagy ennek egy enantiomerje, ahol a képletben n értéke a 6. igénypontban megadottal azonos.

22. A 21. igénypont szerinti vegyület, ahol a képletben n értéke 5.

23. A 6. igénypont szerinti (I-12) általános képletű vegyület vagy ennek egy enantiomerje, ahol a képletben n értéke a 6. igénypontban megadottal azonos.



24. A 23. igénypont szerinti vegyület, ahol a képletben n értéke 5.
25. A 6. igénypont szerinti (I-13) általános képletű vegyület vagy ennek egy enantiomerje, ahol a képletben n értéke a 6. igénypontban megadottal azonos.
26. A 25. igénypont szerinti vegyület, ahol a képletben n értéke 5.
27. A 6. igénypont szerinti (I-14) általános képletű vegyület vagy ennek egy enantiomerje, ahol a képletben n értéke a 6. igénypontban megadottal azonos.
28. A 27. igénypont szerinti vegyület, ahol a képletben n értéke 5.
29. A 6. igénypont szerinti (I-15) általános képletű vegyület vagy ennek egy enantiomerje, ahol a képletben n értéke a 6. igénypontban megadottal azonos.
30. A 29. igénypont szerinti vegyület, ahol a képletben n értéke 5.
31. A 6. igénypont szerinti (I-16) általános képletű vegyület vagy ennek egy enantiomerje, ahol a képletben n értéke a 6. igénypontban megadottal azonos.
32. A 31. igénypont szerinti vegyület, ahol a képletben n értéke 5.
33. Gyógyászati készítmények, amelyek gyógyászatilag hatásos mennyiségben az 1-9. igénypontok bármelyike szerinti vegyületet és gyógyászatilag megfelelő vivőanyagot tartalmaznak.
34. Eljárás daganatos sejtek terminális differenciálódásának szelektív előidézése és így módon ezen sejtek burjánzásának gátlására, azzal jellemezve, hogy megfelelő körülmények között ezen sejteket hatásos mennyiségű, 1-9. igénypontok bármelyike szerinti vegyülettel hozzuk érintkezésbe.
35. Eljárás daganatos betegek kezelésére, ahol a daganatra jellemző a daganatos sejtek burjánzása, azzal jellemezve, hogy a kezelt betegnek hatásos mennyiségben 1-9. igénypont bármelyike szerinti vegyületet adunk.
36. Az (I-17) általános képletű vegyületek vagy ezek gyógyászatilag megfelelő sói, ahol a képletben



R_1 és R_2 jelentése azonos vagy egymástól eltérő hidrofób csoport;

R_5 jelentése $-C(O)-NHOH$ (hidroxámsav csoport), $-C(O)-CF_3$ (trifluor-acetil-csoport), $-NH-P(O)OH-CH_3$, $-SO_2NH_2$ (szulfonamidcsoport), $-SH$ (tiolcsoport), $-C(O)-R_6$, ahol R_6 jelentése hidroxil-, amino-, alkil-amino- vagy alkil-oxi-csoport, továbbá

n értéke 3-10-ig terjedő egész szám, a 10-et is beleértve.

37. A 36. igénypont szerinti vegyületek, ahol a képletben

R_1 és R_2 közvetlenül kapcsolódik vagy egy kapcsoló csoporton keresztül kötődik és jelentésük szubsztituált vagy szubsztituátlan aril-, cikloalkil-, cikloalkil-amino-, naftil-, piridin-amino-, piperidino-, 9-purin-6-amino-, tiazol-amino-, hidroxil-, egyenes vagy elágazó láncú alkil-, alkenil-, alkil-oxi-, aril-oxi-, aril-alkil-oxi- vagy piridilcsoport.

38. A 37. igénypont szerinti vegyületek, ahol a kapcsoló csoport amidcsoport, $-O-$, $-S-$, $-NH-$ vagy $-CH_2-$ csoport.

39. Az (I-18) általános képletű vegyületek, ahol a képletben mindegyik R_7 jelentése jelentése szubsztituált vagy szubsztituátlan aril-, cikloalkil-, cikloalkil-amino-, naftil-, piridil-amino-, piperidino-, 9-purin-6-amino-, tiazolil-amino-, hidroxil-, egyenes vagy elágazó láncú alkil-, alkenil-, alkil-oxi-, aril-oxi-, aril-alkil-oxi- vagy piridilcsoport.

40. A 39. igénypont szerinti vegyületek, ahol a képletben

R_2 jelentése szulfonamid- R_8 vagy $-amid-R_8$, ahol R_8 jelentése szubsztituált vagy szubsztituátlan aril-, cikloalkil-, cikloalkil-amino-, naftil-, piridil-amino-, piperidino-, 9-purin-6-amino-, tiazolil-amino-, hidroxil-, egyenes vagy elágazó láncú alkil-, alkenil-, alkil-oxi-, aril-oxi-, aril-alkil-oxi- vagy piridilcsoport.

41. A 39. igénypont szerinti vegyületek, ahol a képletben R_2 jelentése $-NH-C(O)-Y$, $-NH-SO_2-Y$, ahol Y jelentése (Y-1), (Y-2), (Y-3), (Y-4), (Y-5), (Y-6), (Y-7), (Y-8), (Y-9) vagy (Y-10) képletű csoport.



42. A 39. igénypont szerinti vegyületek, ahol a képletben R_7 jelentése (R-1), (R-2), (R-3), (R-4), (R-5), (R-6), (R-7) vagy (R-8) képletű csoport.

43. Az (I-19) általános képletű vegyületek vagy ezek gyógyászatilag megfelelő sói, ahol a képletben

R_1 és R_2 jelentése azonos vagy egymástól eltérő hidrofób csoport,

R_5 jelentése $-C(O)-NHOH$ (hidroxámsav csoport), $-C(O)-CF_3$ (trifluor-acetil-csoport), $-NH-P(O)OH-CH_3$, $-SO_2NH_2$ (szulfonamidcsoport), $-SH$ (tiolcsoport), $-C(O)-R_6$, ahol R_6 jelentése hidroxil-, amino-, alkil-amino- vagy alkil-oxi-csoport, továbbá

L jelentése kapcsoló csoport, ahol kapcsoló csoportként jelen lehet $-(CH_2)-$, $-C(O)-$, $-S-$, $-O-$, $-(CH=CH)-$, -fenil- vagy -cikloalkilcsoport vagy ezek bármilyen kombinációja.

44. A 43. igénypont szerinti vegyületek, ahol a képletben n értéke 4-7-ig terjedő egész szám, továbbá m értéke 1, 2 vagy 3.

45. A 43. igénypont szerinti vegyületek, ahol mindegyik R_1 és R_2 közvetlenül vagy egy kapcsoló csoporton keresztül van a molekulához kötve, továbbá R_1 és R_2 jelentése szubsztituált vagy szubsztituátlan aril-, cikloalkil-, cikloalkil-amino-, naftil-, piridil-amino-, piperidino-, 9-purin-6-amino-, tiazolil-amino-, hidroxil-, egyenes vagy elágazó láncú alkil-, alkenil-, alkil-oxi-, aril-oxi-, aril-alkil-oxi- vagy piridilcsoport.

46. A 43. igénypont szerinti vegyületek, amelyek képletében a kapcsoló csoport amidcsoport, $-O-$, $-S-$, $-NH-$ vagy $-CH_2-$.

47. A 43. igénypont szerinti (I-20) általános képletű vegyületek, ahol a képletben L jelentése kapcsoló csoport, ahol kapcsoló csoportként jelen lehet $-(CH_2)-$, $-(CH=CH)-$, -fenil- vagy -cikloalkilcsoport vagy ezek bármilyen kombinációja, továbbá mindegyik R_7 és R_8 jelentése egymástól függetlenül szubsztituált vagy szubsztituátlan aril-, cikloalkil-, cikloalkil-amino-, naftil-, piridil-amino-, piperidino-,

—

49. A 43. igénypont szerinti (77) képletű vegyület.

51. Az 1., 36. vagy 43. igénypont szerinti vegyületek gyógyászatilag megfelelő sója.

53. Eljárás daganatos sejtek differenciálódásának előidézésére, azzal jellemezve, hogy ezen sejteket hatásos mennyiségben az 1., 36. vagy 43. igénypont szerinti vegyülettel hozzuk érintkezésbe, ily módon a daganatos sejtek differenciálódását előidézve.

54. Eljárás a hiszton dezacetiláz aktivitásának gátlására, azzal jellemezve, hogy hiszton-dezacetilázt hatásos mennyiségű 1., 36. vagy 43. igénypont szerinti vegyülettel hozunk érintkezésbe, ily módon a hiszton dezacetiláz aktivitását gátolva.

Handed myself
2002-05-19 JK

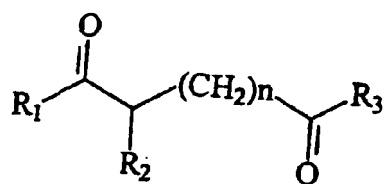
A meghatalmazott:

ifj. Szentpéteri Adám v.

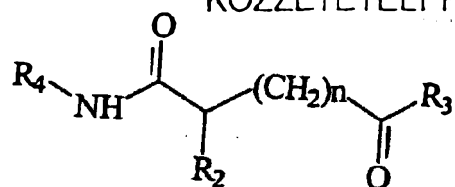
szabadalmi ügyvivő

az S.B.G. & K. Szabadalmi Ügyvivői Iroda
tagja

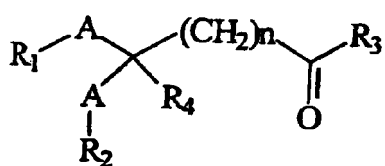
H-1062 Budapest, Andrássy út 113.
Telefon: 461-1000 Fax: 461-1099



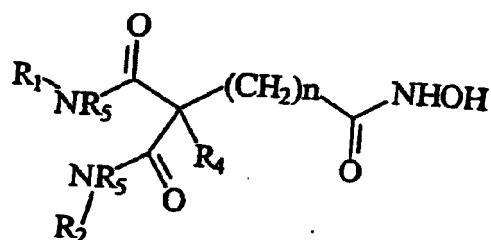
(I)



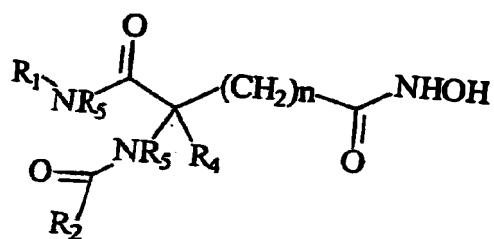
(I-1)



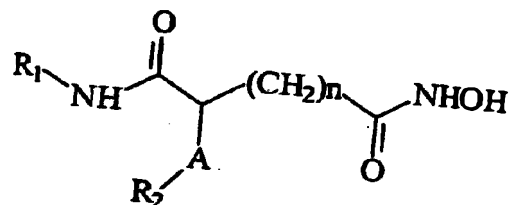
(I-2)



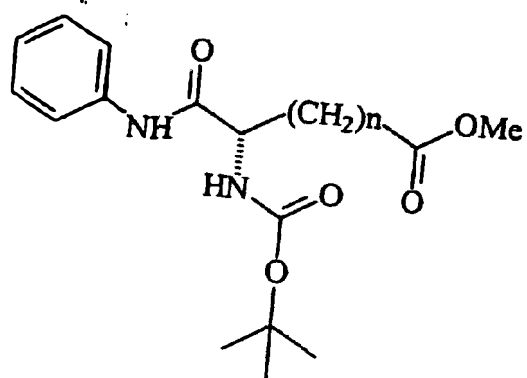
(I-3)



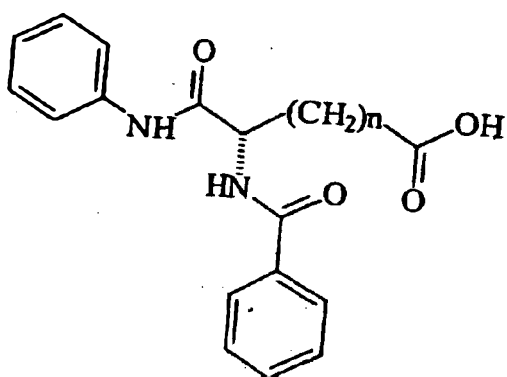
(I-4)



(I-5)

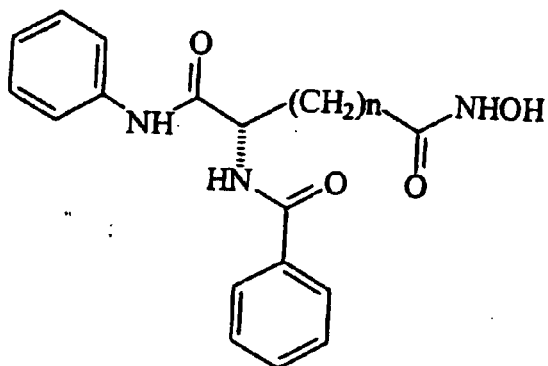


(I-6)

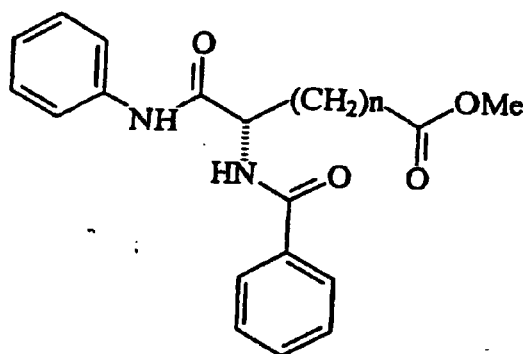


(I-7)

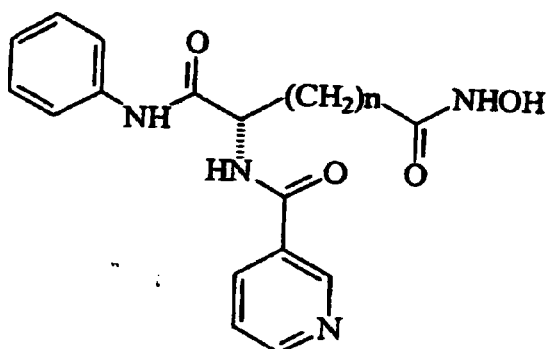
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



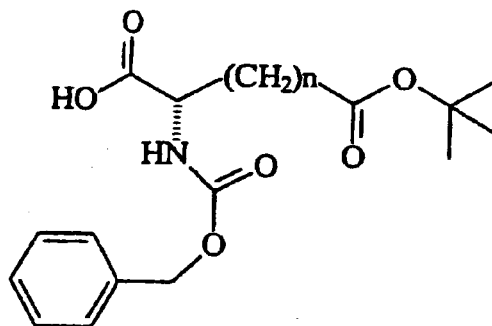
(I-8)



(I-9)

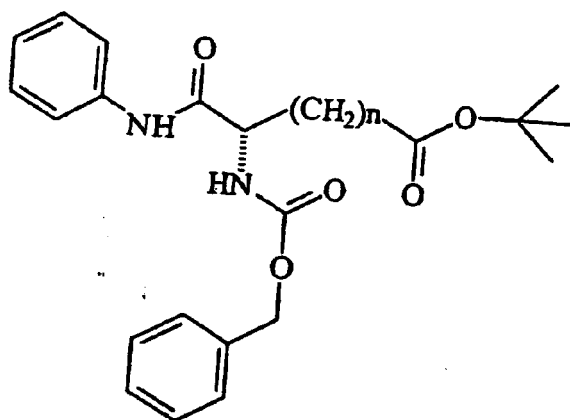


(I-10)

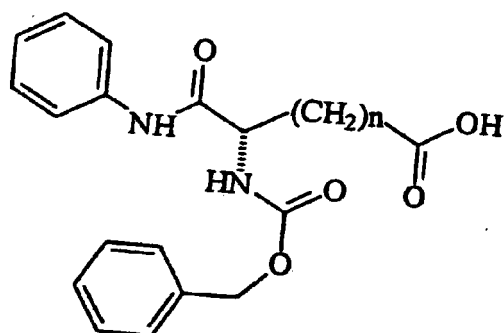


(I-11)

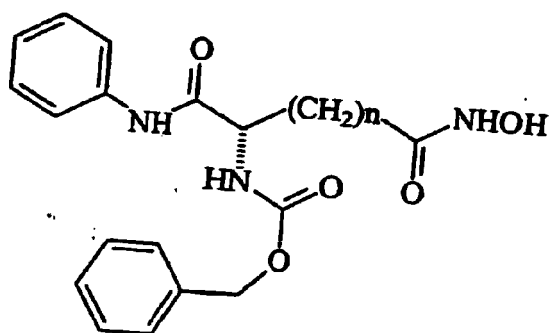
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



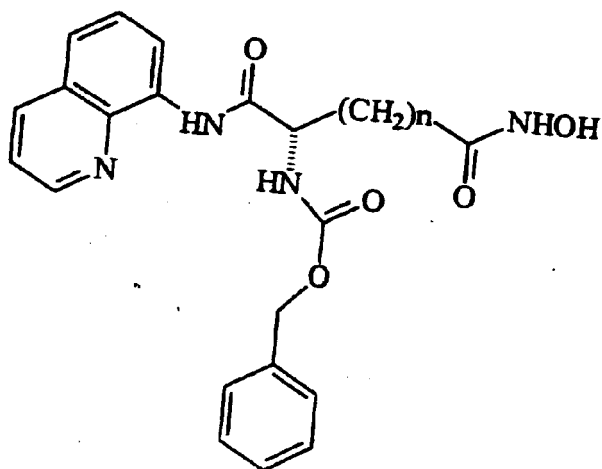
(I-12)



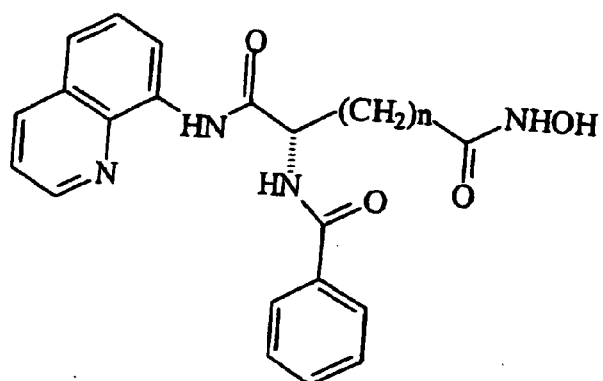
(I-13)



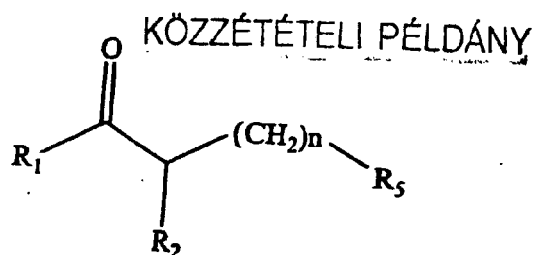
(I-14)



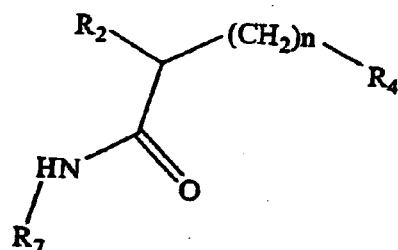
(I-15)



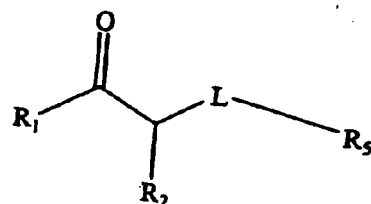
(I-16)



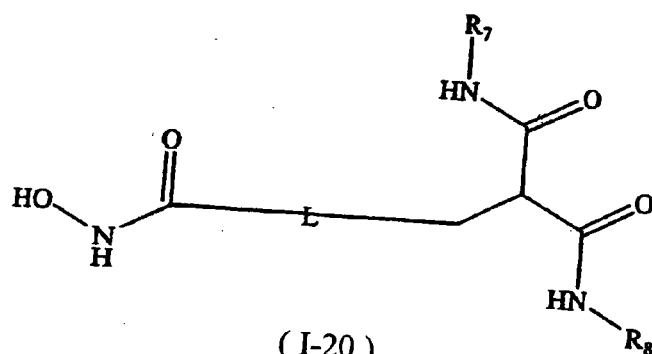
(I-17)



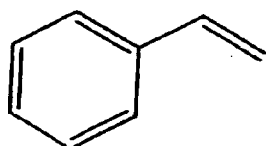
(I-18)



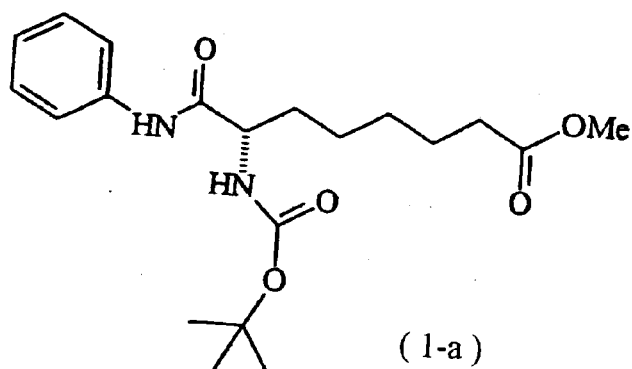
(I-19)



(I-20)

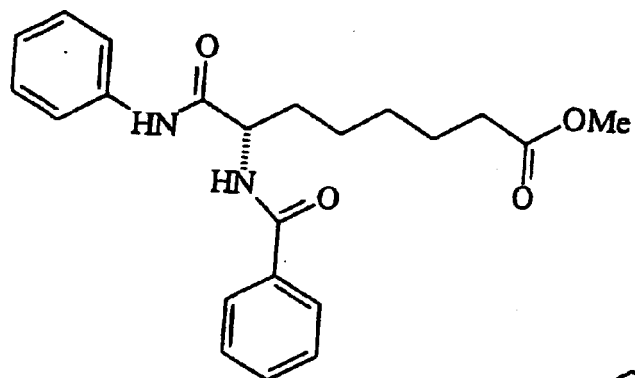


(a)

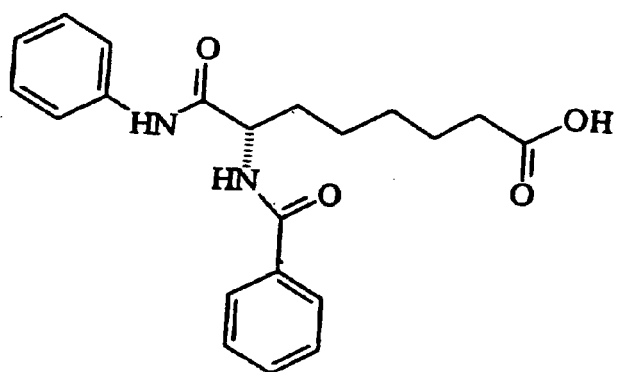


(1-a)

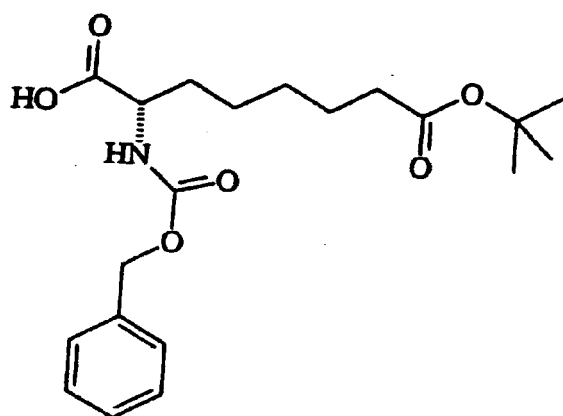
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



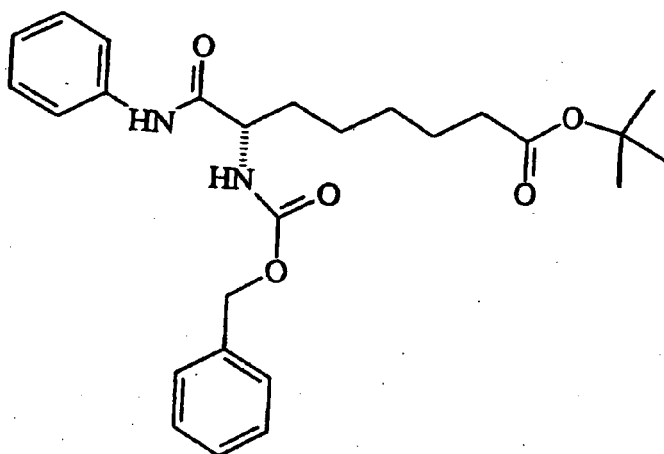
(1-b)



(1-c)

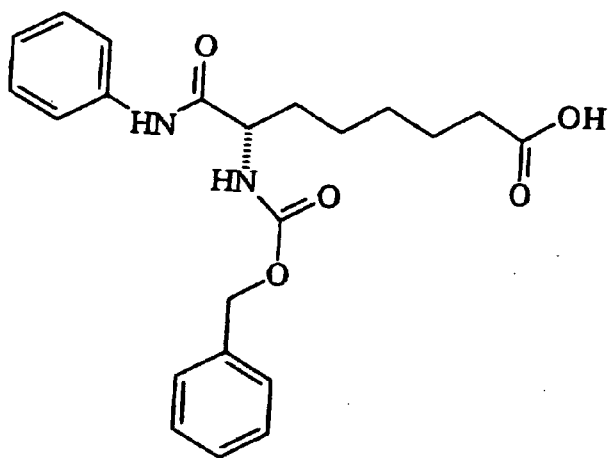


(1-d)

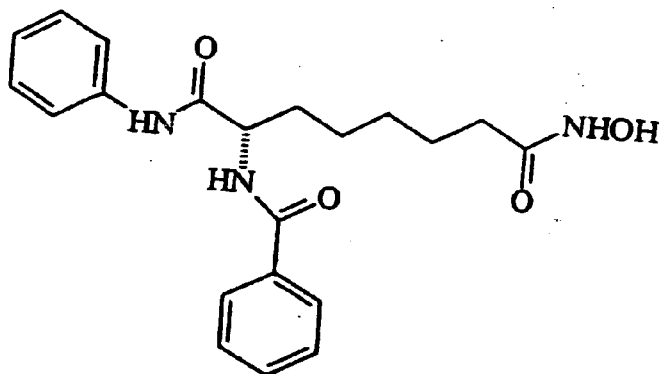


(1-e)

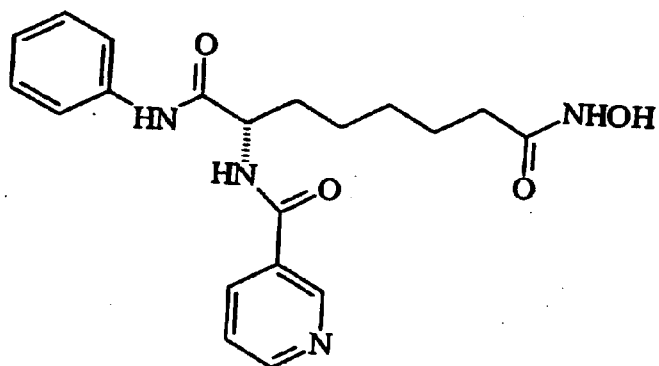
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



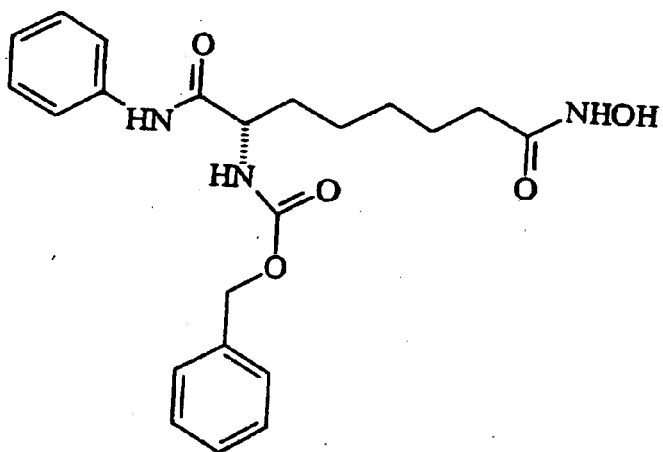
(1-f)



(1)



(2)



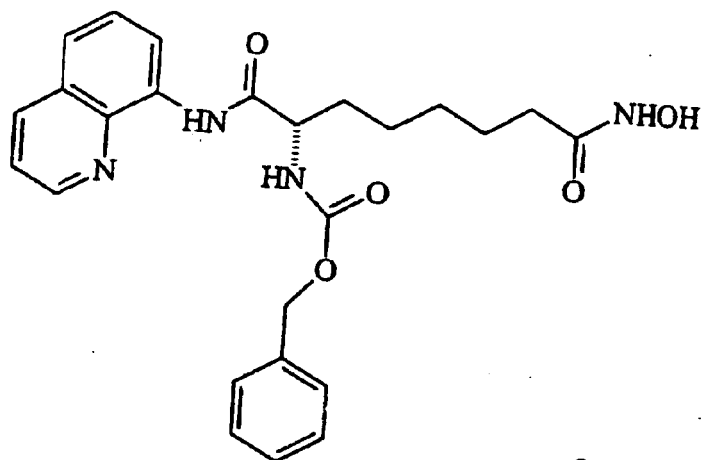
(3)

P 02 02707

7/48

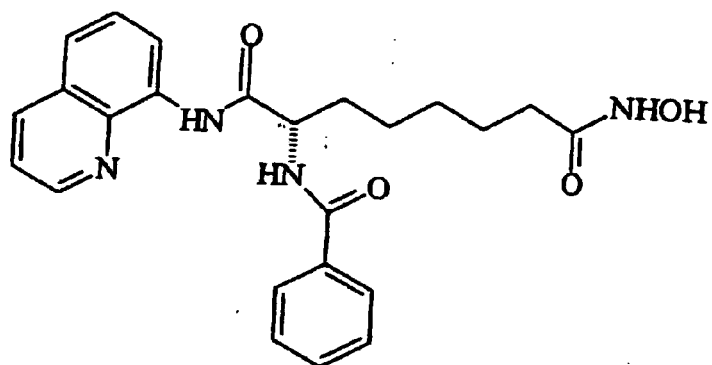
000000

74.343/SzE

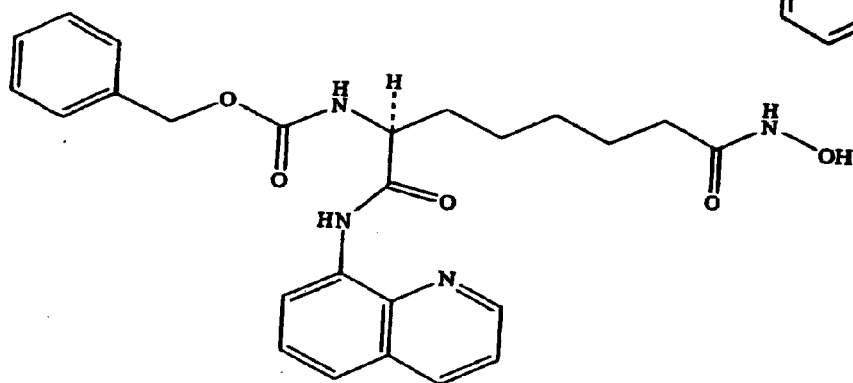


KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

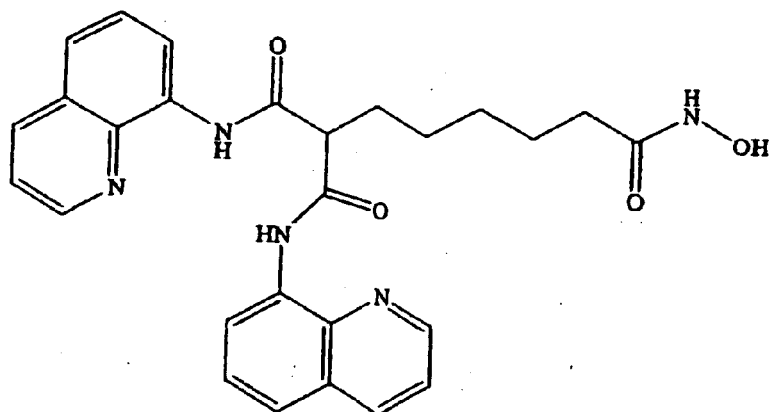
(4)



(5)

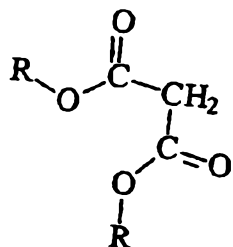


(6)

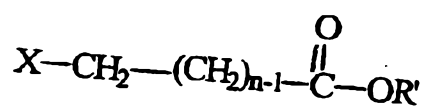


(7)

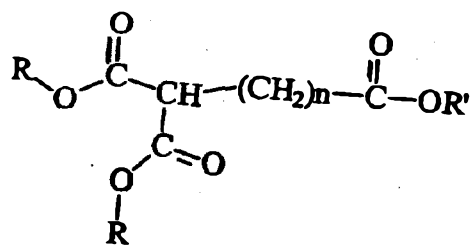
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



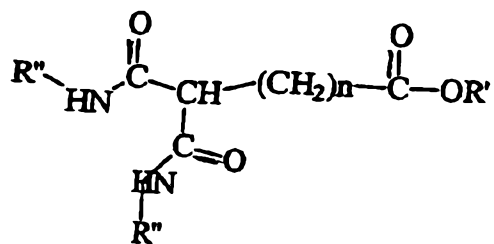
XI



XII



XIII



XIV

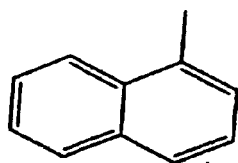
P02 02707

9/48

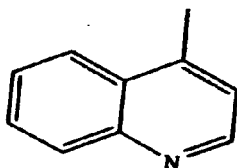
28330

74.343/SzE

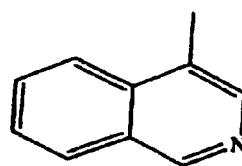
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



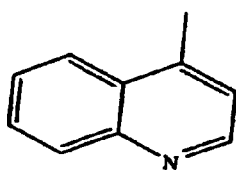
Y - 1



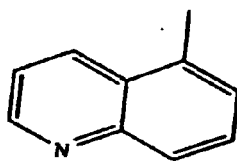
Y - 2



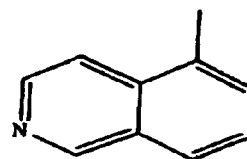
Y - 3



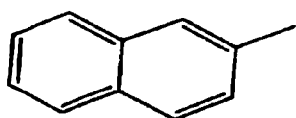
Y - 4



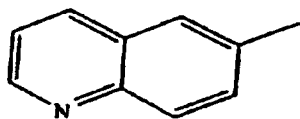
Y - 5



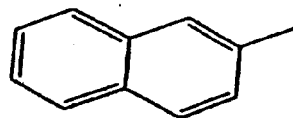
Y - 6



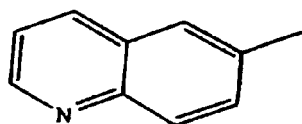
Y - 7



Y - 8

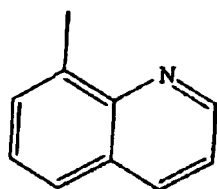


Y - 9

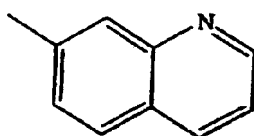


Y - 10

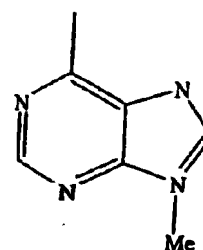
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



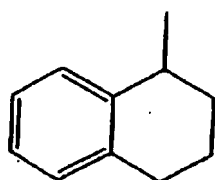
R - 1



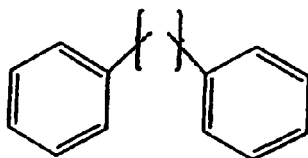
R - 2



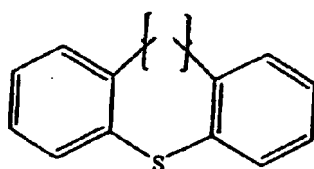
R - 3



R - 4



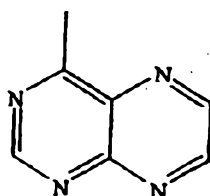
R - 5



R - 6



R - 7



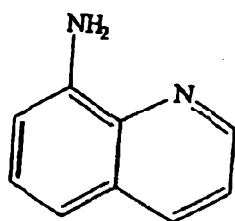
R - 8

P 02 02707

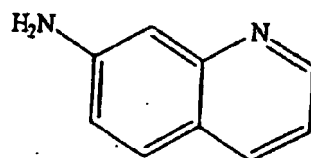
11/48

74.343/SzE

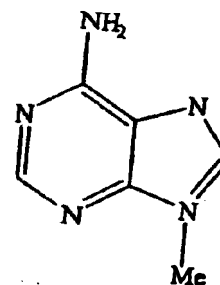
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



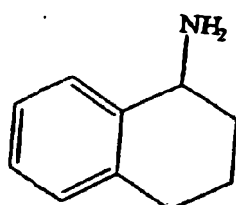
(AM-1)



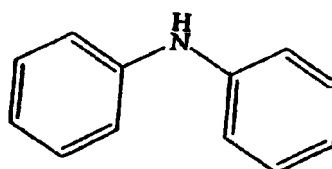
(AM-2)



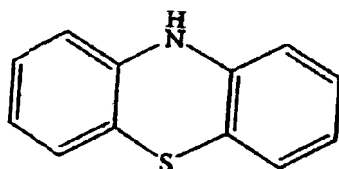
(AM-3)



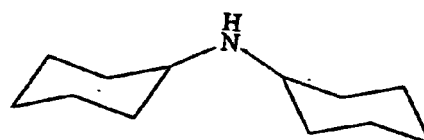
(AM-4)



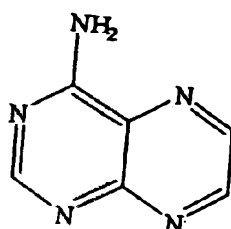
(AM-5)



(AM-6)



(AM-7)



(AM-8)

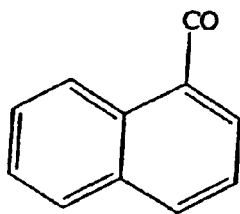
P02 02707

12/48

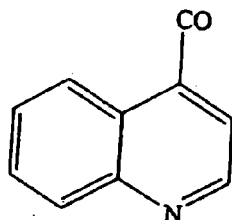
28330

74.343/SzE

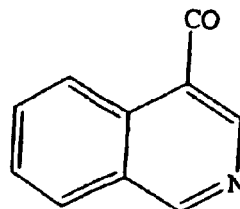
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



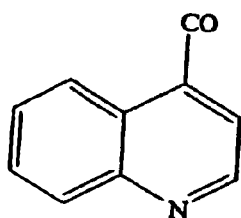
(S-1)



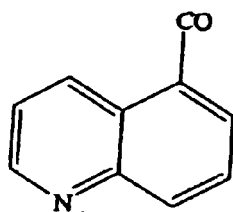
(S-2)



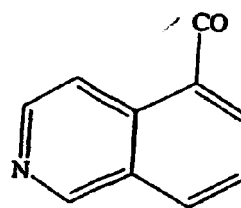
(S-3)



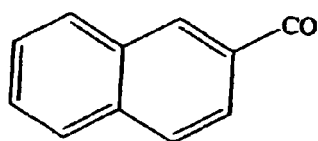
(S-4)



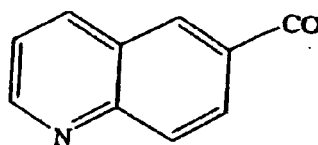
(S-5)



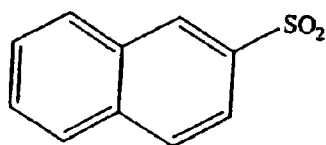
(S-6)



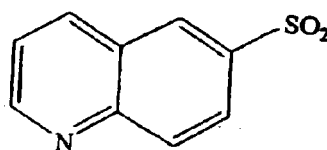
(S-7)



(S-8)



(S-9)



(S-10)

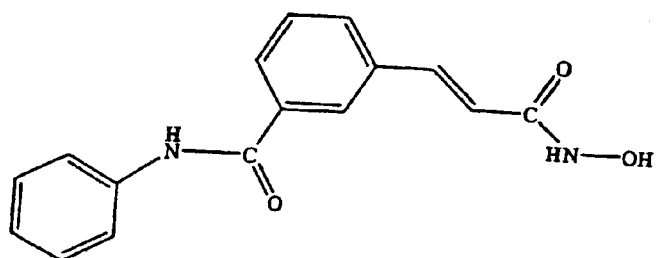
P 0 2 0 2 7 0 7

28330

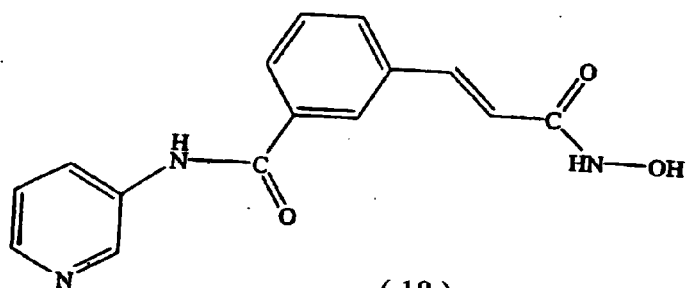
74.343/SzE

13/48

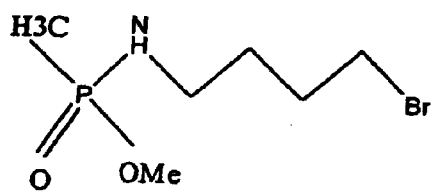
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



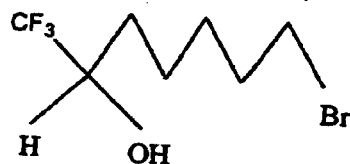
(17)



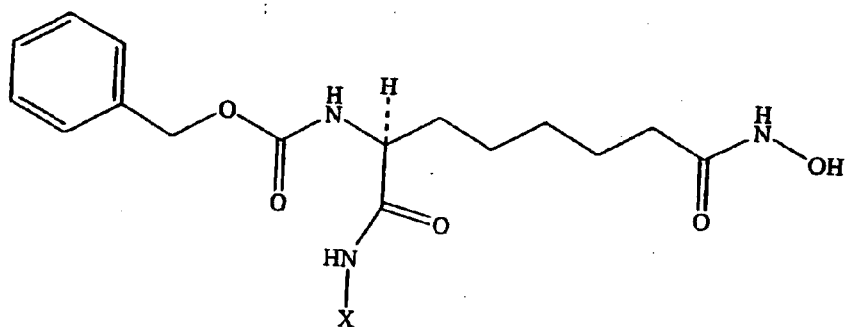
(18)



(32)



(33)



(37)

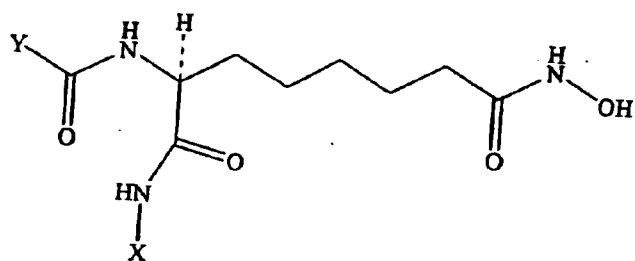
P02 02707

28330

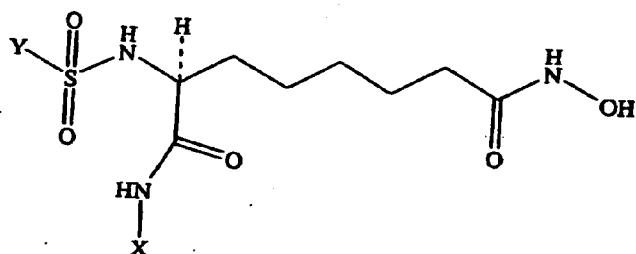
74.343/SzE

14/48

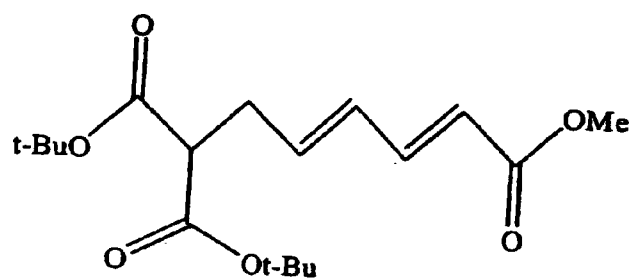
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



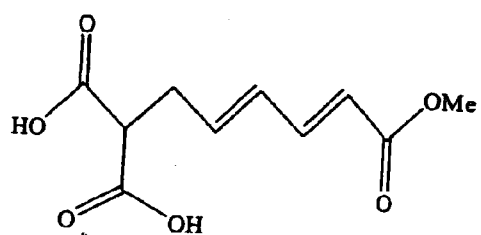
(38)



(39)



(40)



(41)

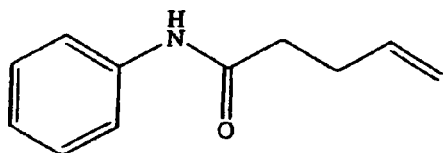
P 0 2 . 0 2 7 0 7

28330

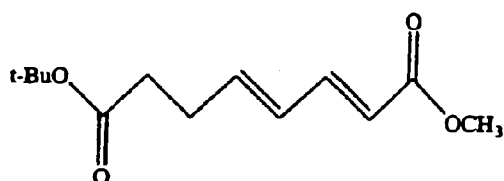
74.343/SzE

15/48

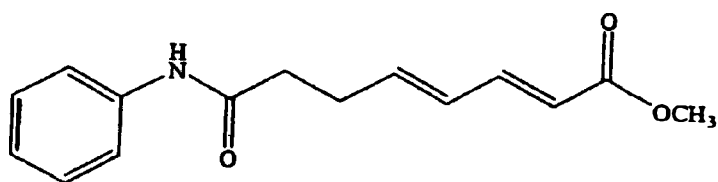
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



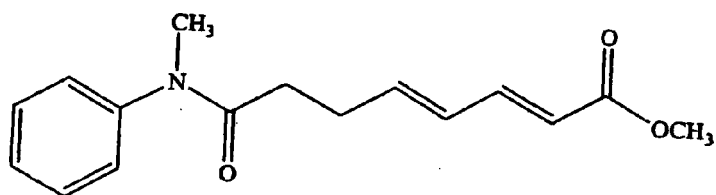
(42)



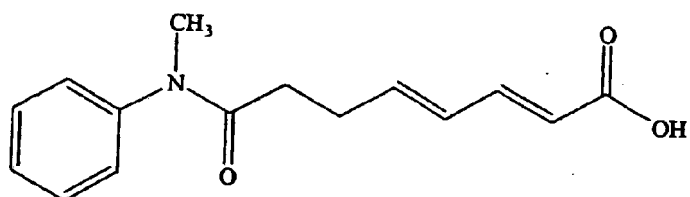
(43)



(44)



(45)



(46)

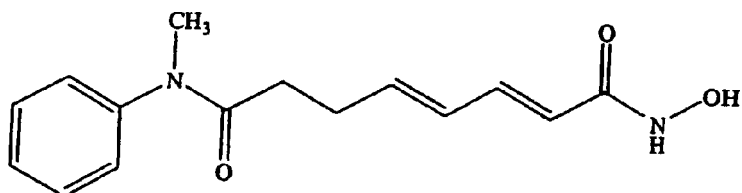
P02 02707

28330

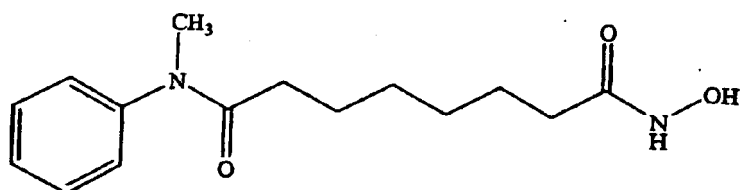
74.343/SzE

16/48

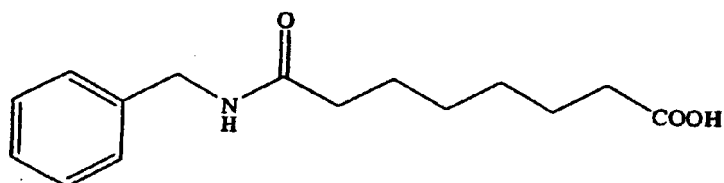
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



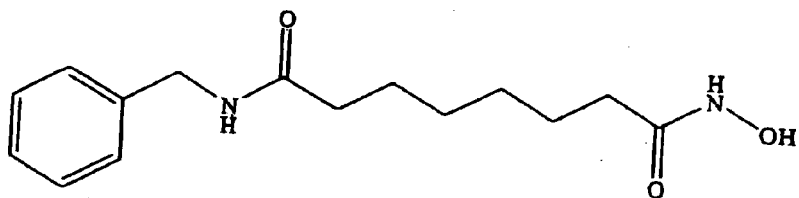
(47)



(48)



(49)



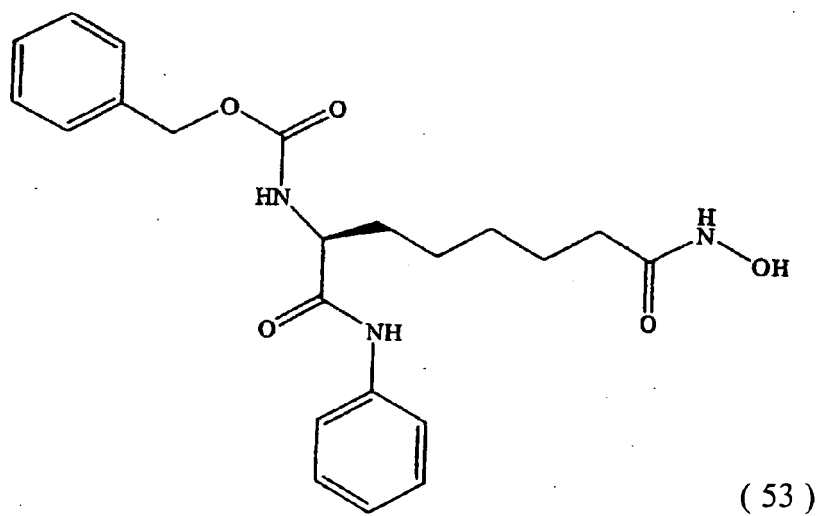
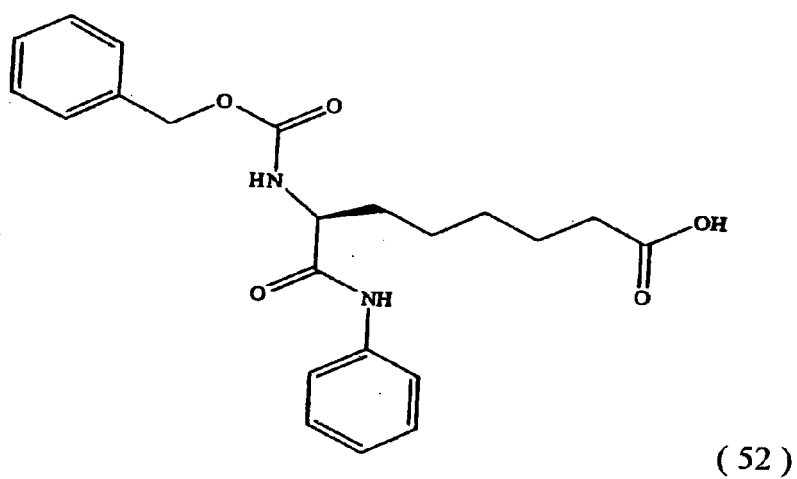
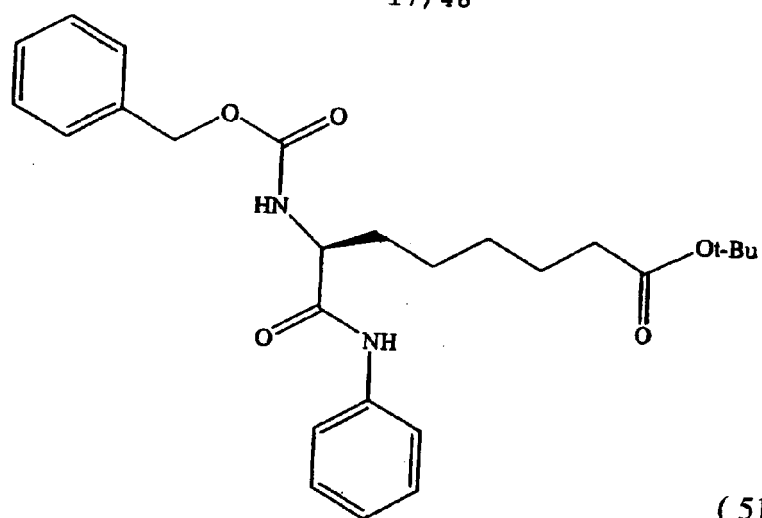
(50)

P02 02707

74.343/SzE

17/48

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



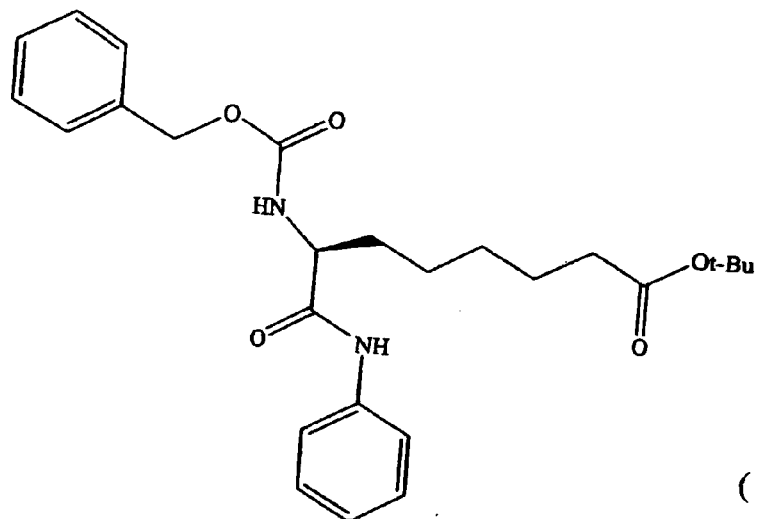
P02 02707

18/48

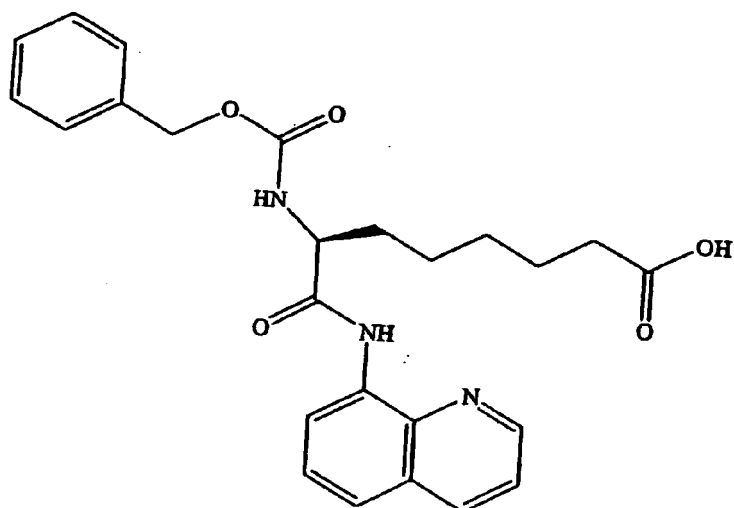
000000

74.343/SzE

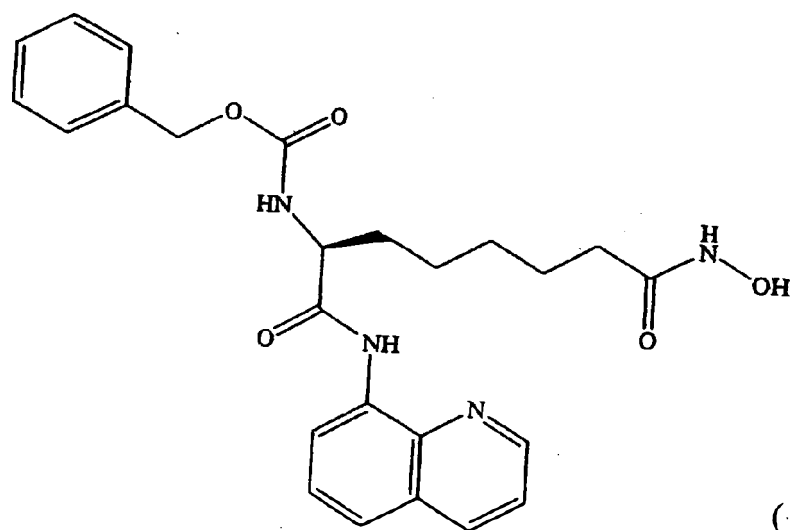
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



(54)



(55)



(56)

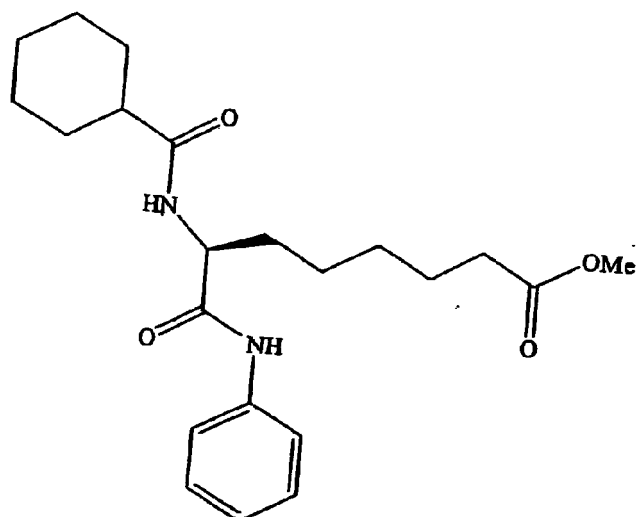
P02 02707

28330

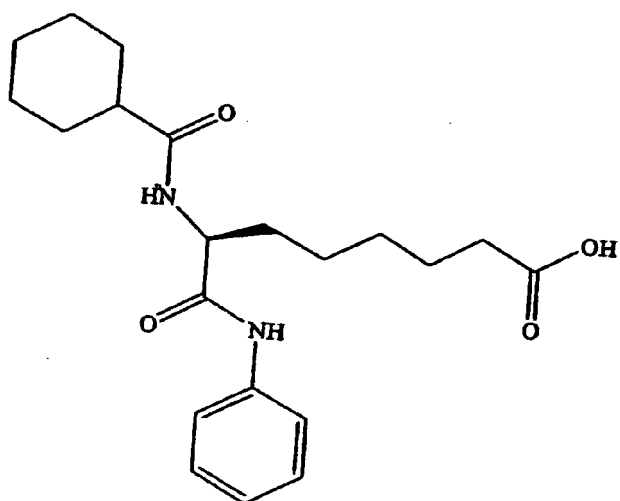
19/48

74.343/SzE

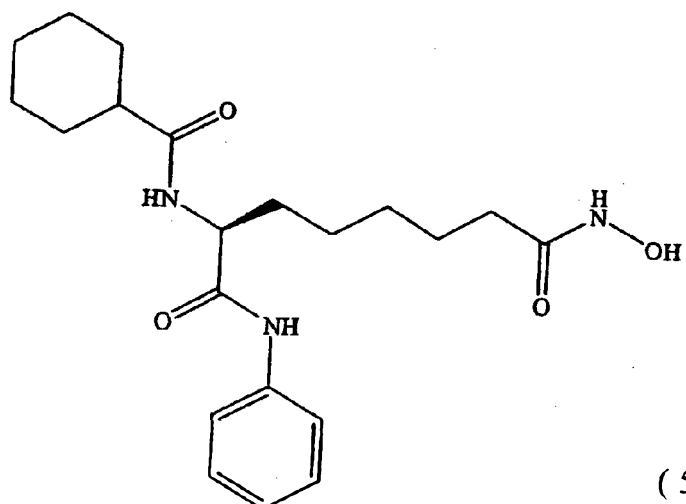
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



(57)



(58)



(59)

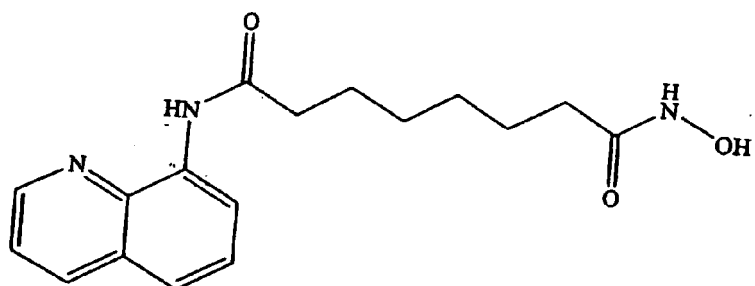
P 02 02707

28330

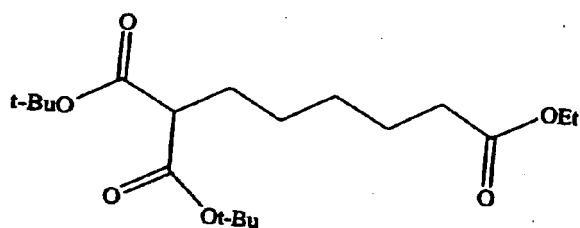
20/48

74.343/SzE

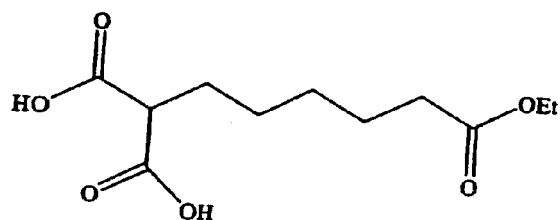
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



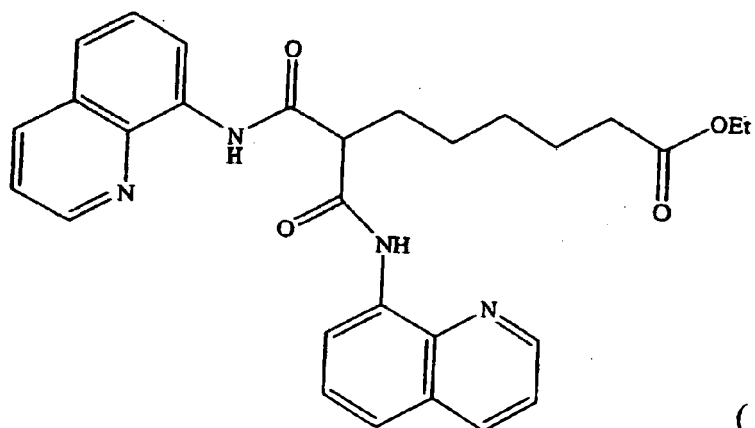
(60)



(61)

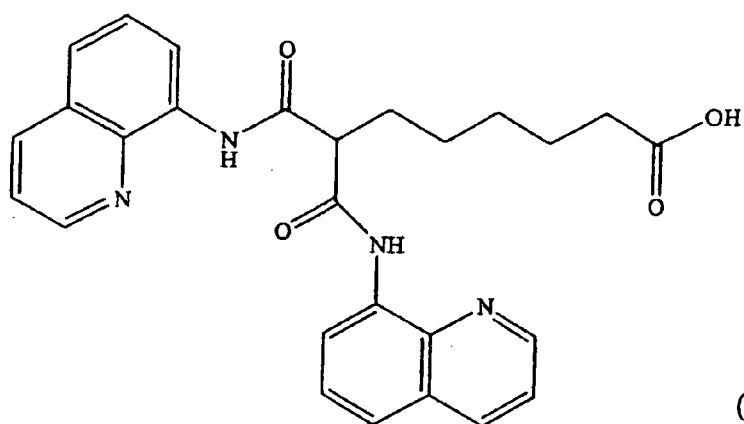


(62)

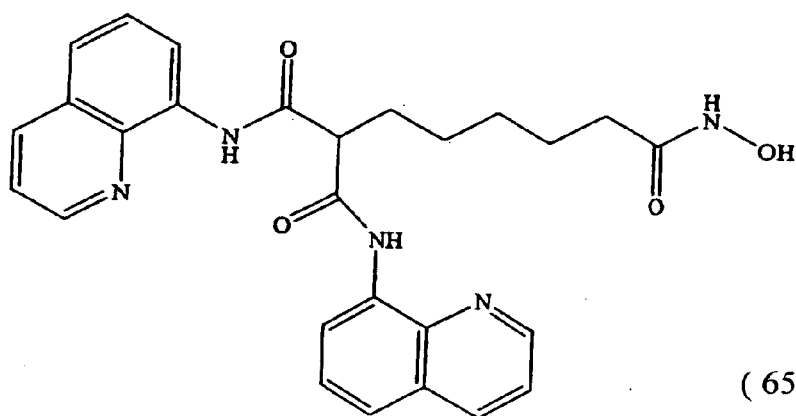


(63)

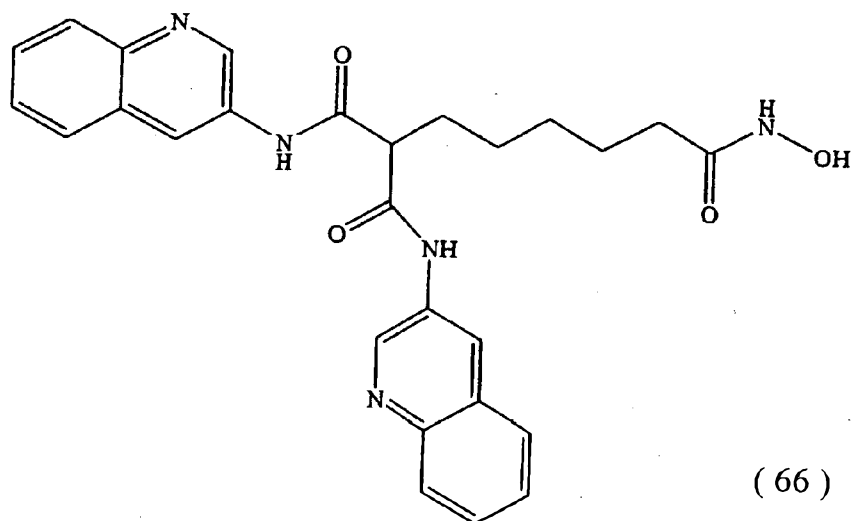
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



(64)



(65)



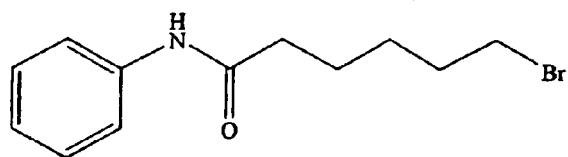
(66)

P02 02707

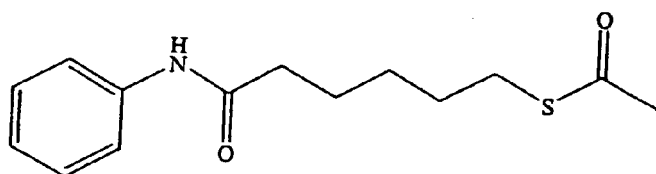
22/48

74.343/SzE

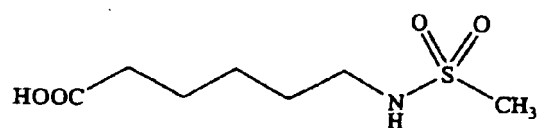
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



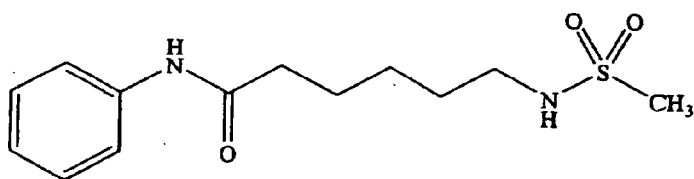
(67)



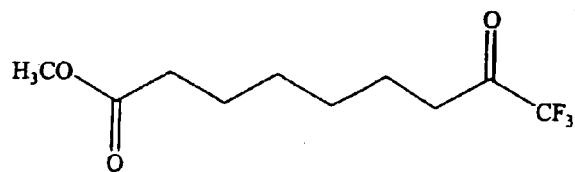
(68)



(69)



(70)



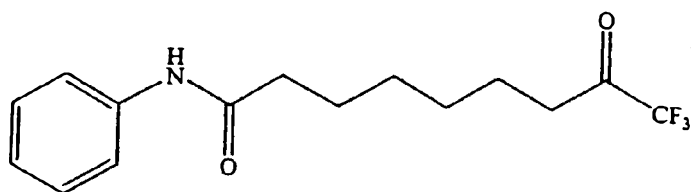
(71)

P02 02707

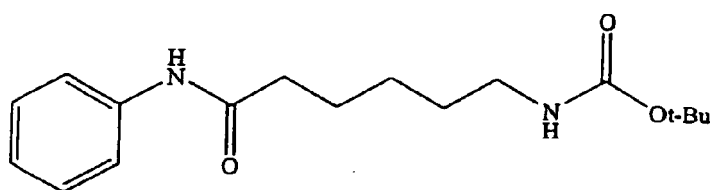
74.343/SzE

23/48

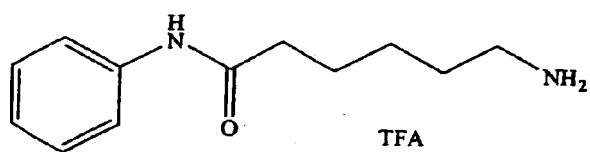
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



(72)

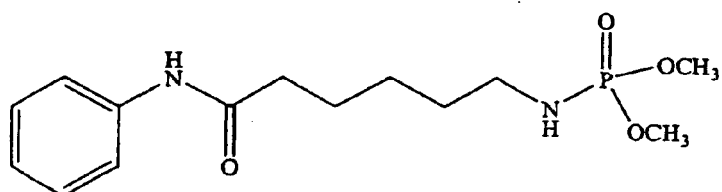


(73)

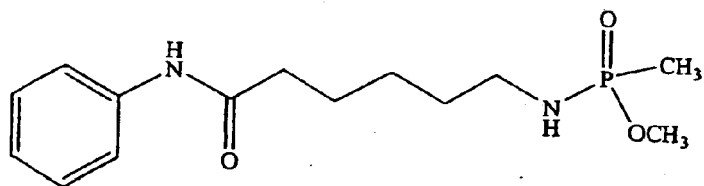


TFA

(74)



(75)



(76)

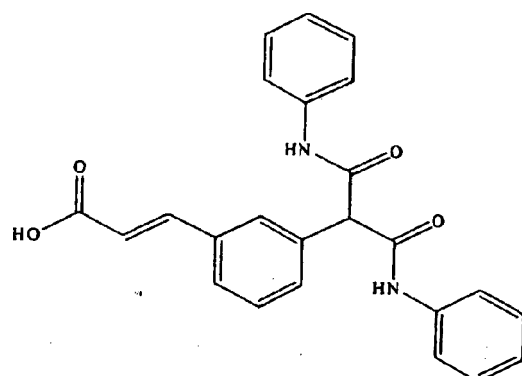
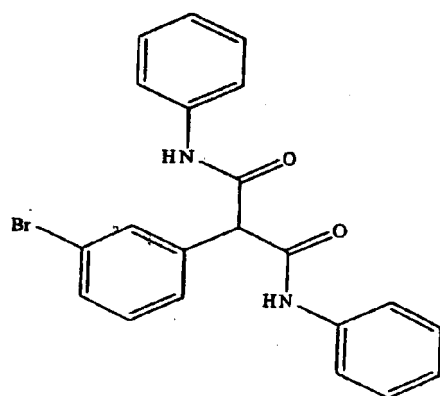
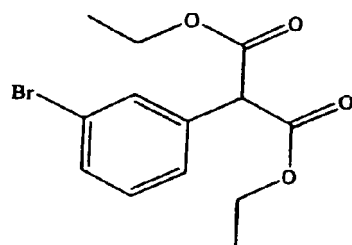
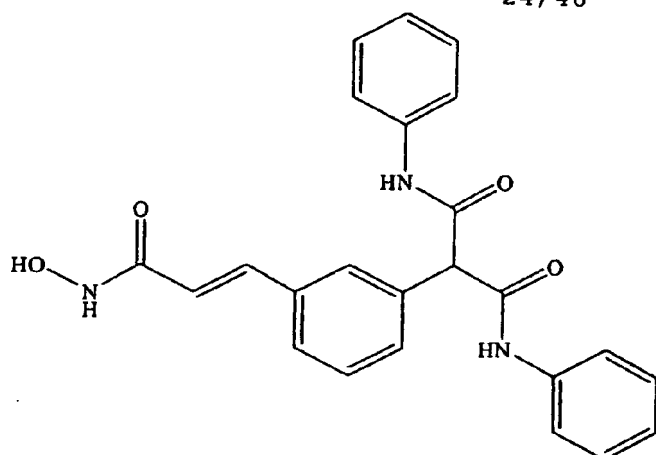
P02 02707



74.343/SzE

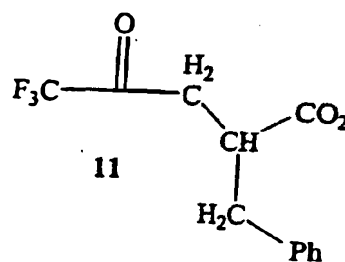
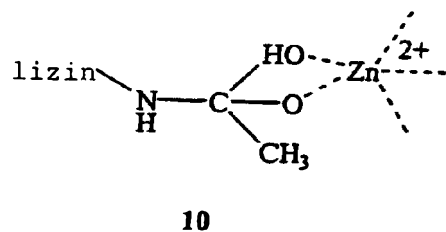
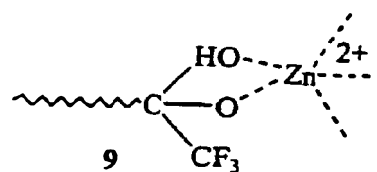
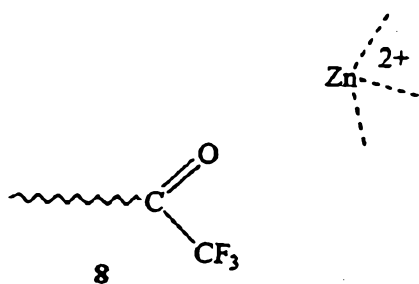
24/48

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

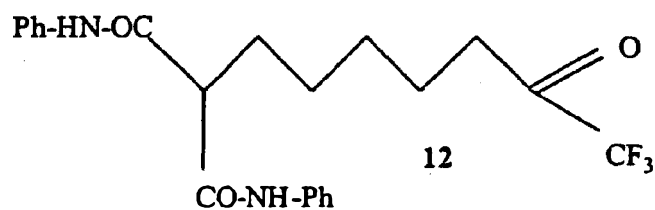


KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

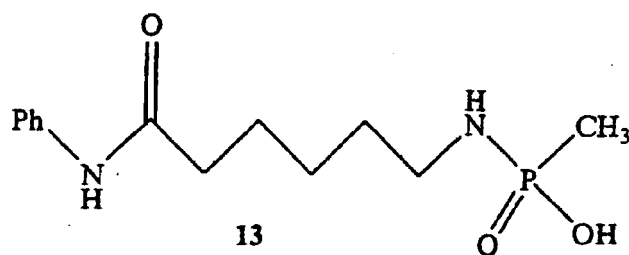
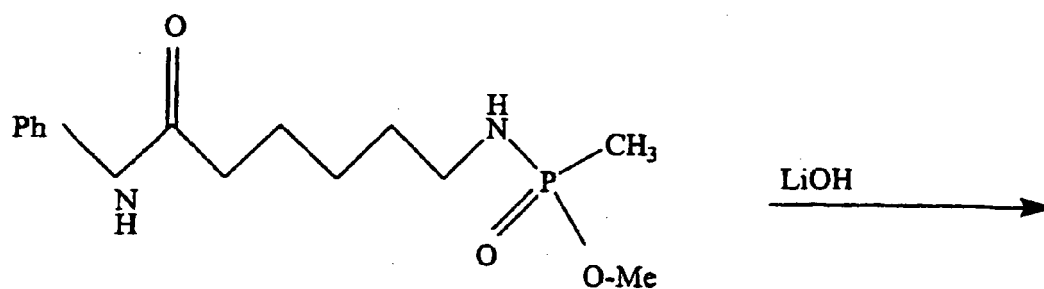
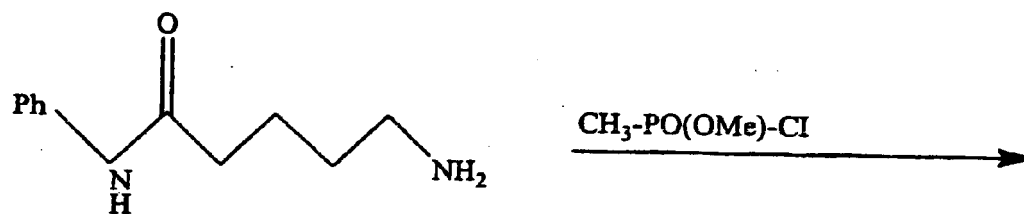
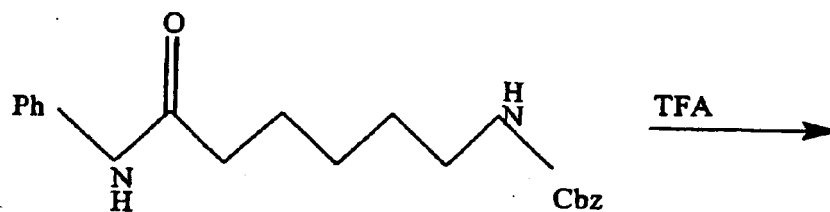
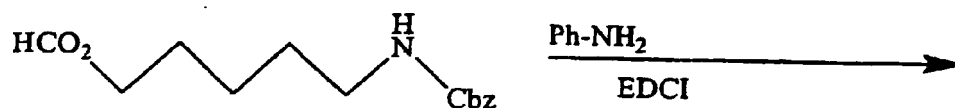
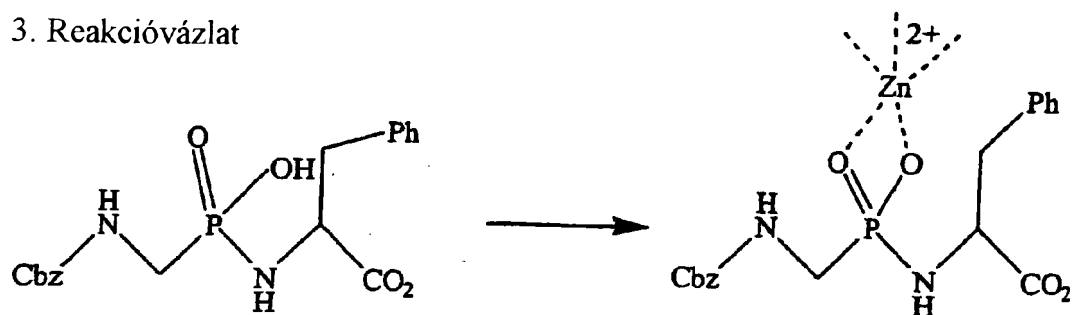
1. Reakcióvázlat



KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

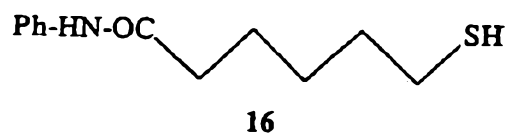
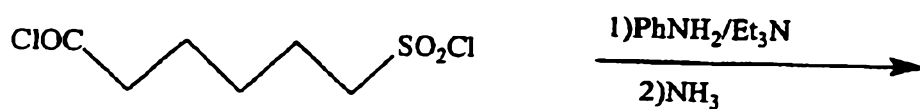
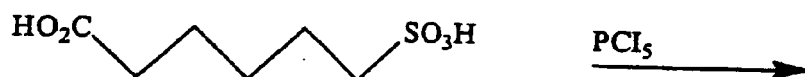
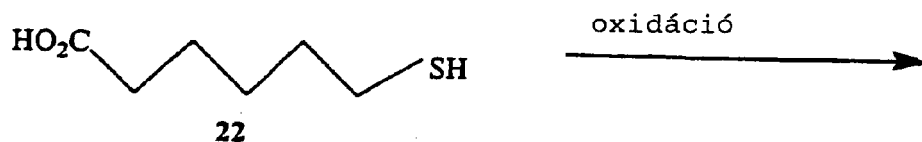


3. Reakcióvázlat



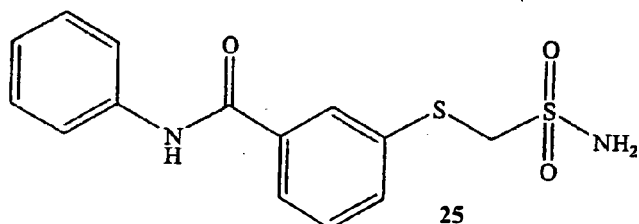
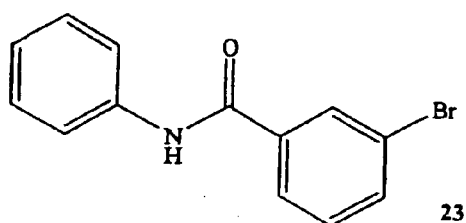
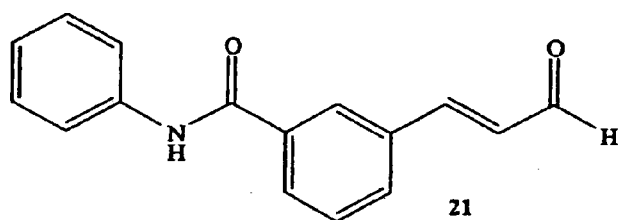
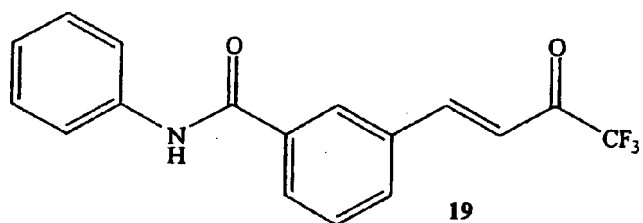
4. Reakcióvázlat

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



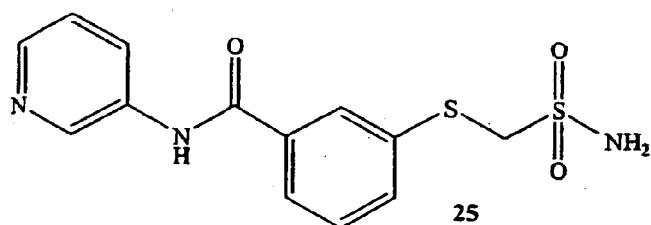
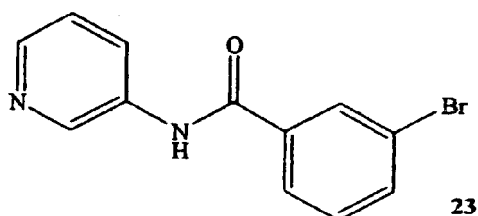
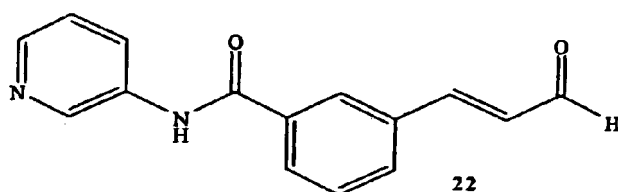
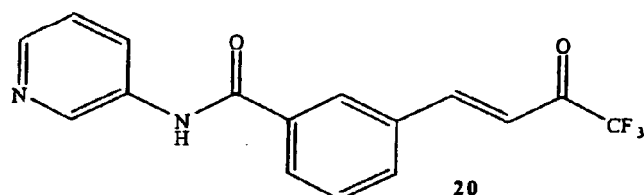
5. Reakcióvázlat

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



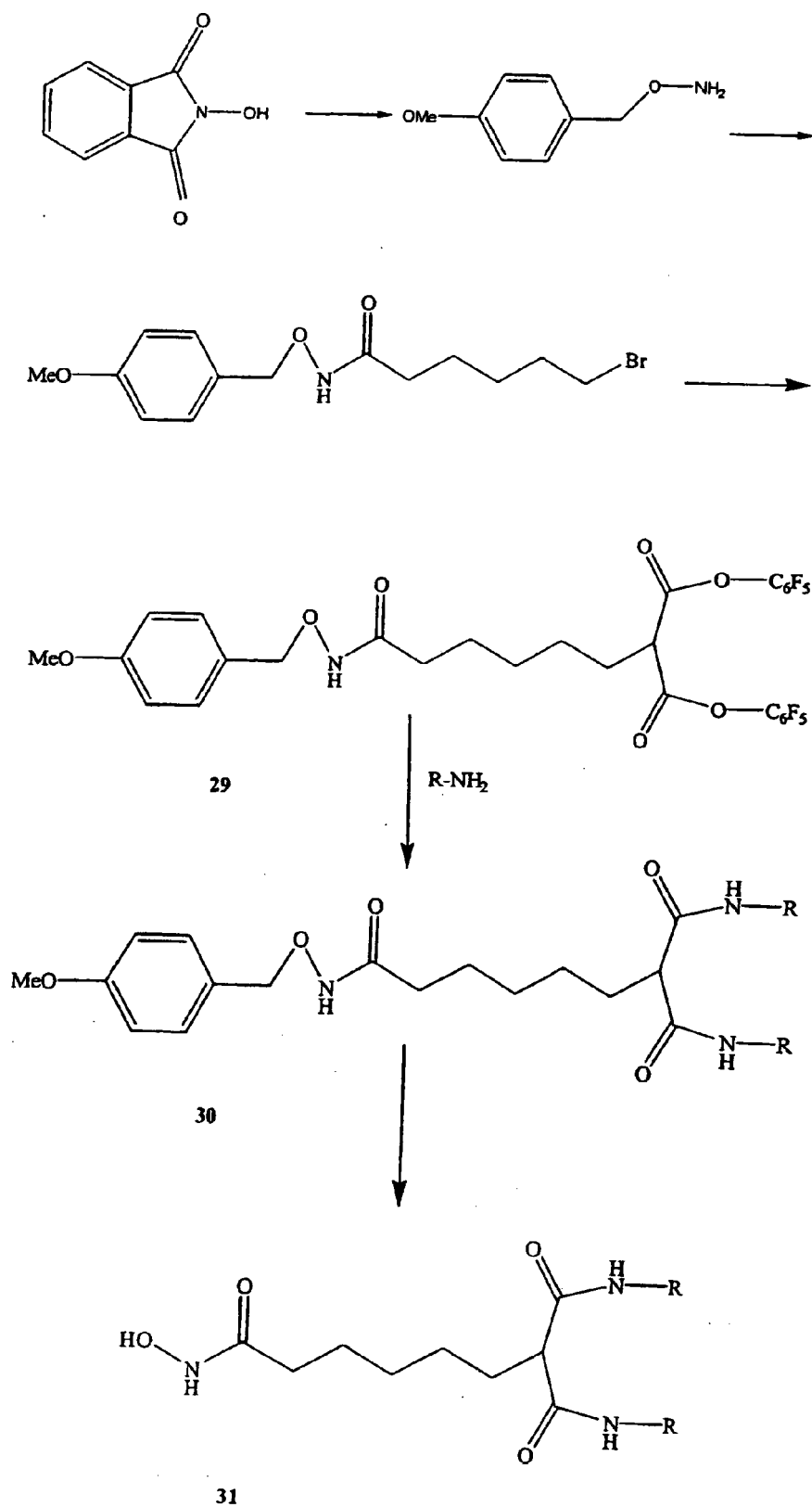
5. Reakcióvázlat (folytatás)

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



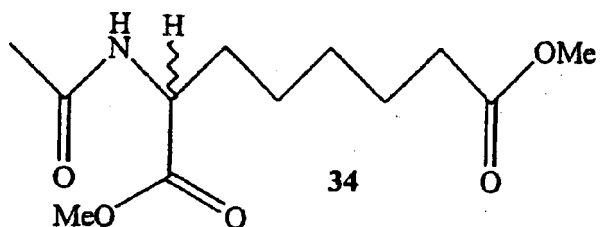
6. Reakcióvázlat

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

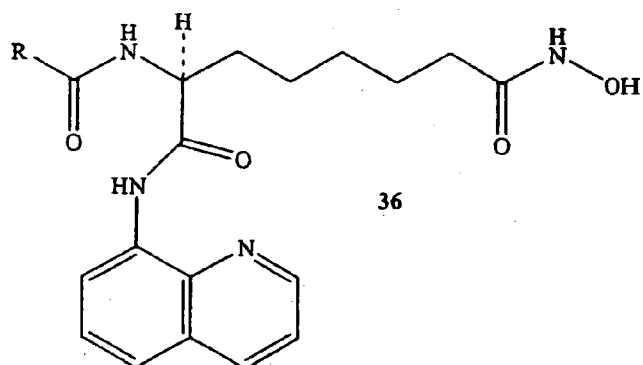
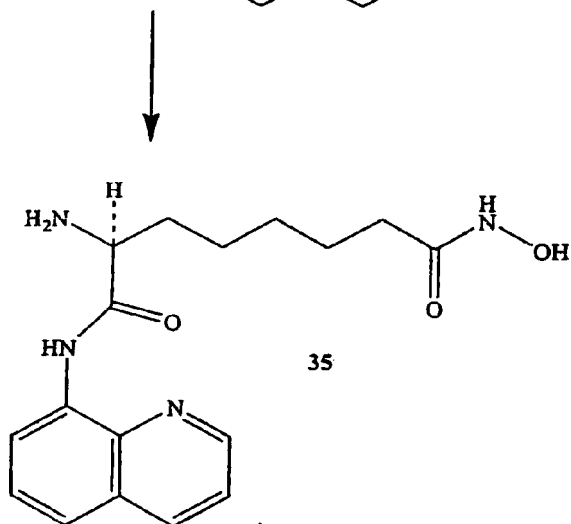
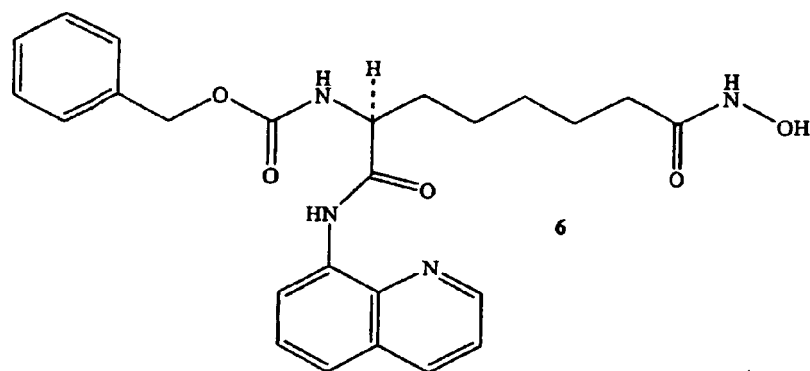
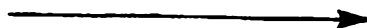


7. Reakcióvázlat

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



1. chimotripszin
2. aminoaciláz
3. kémiai lépés



P02 02707

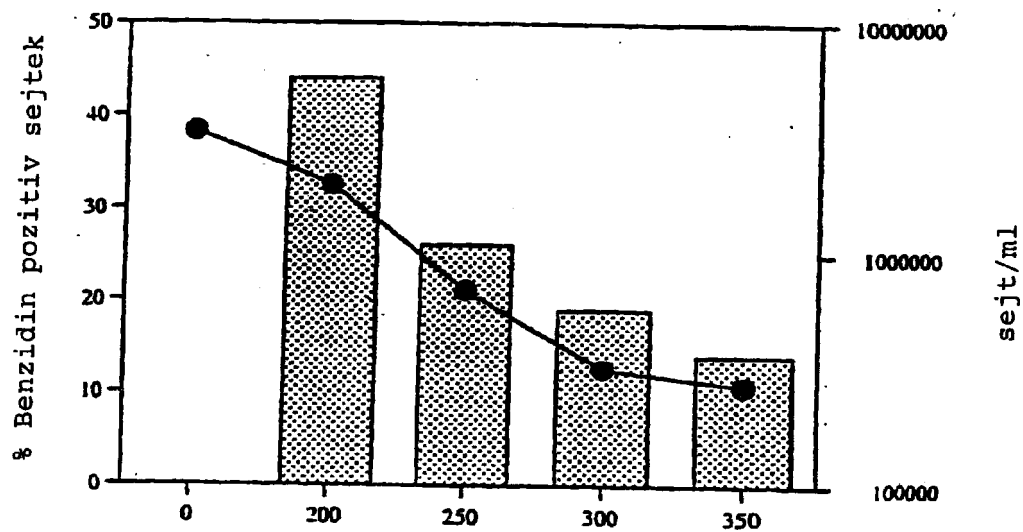


74.343/SzE

33/48

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

1. ábra



1. vegyület nmól/l

■ B+

—●— sejt/ml

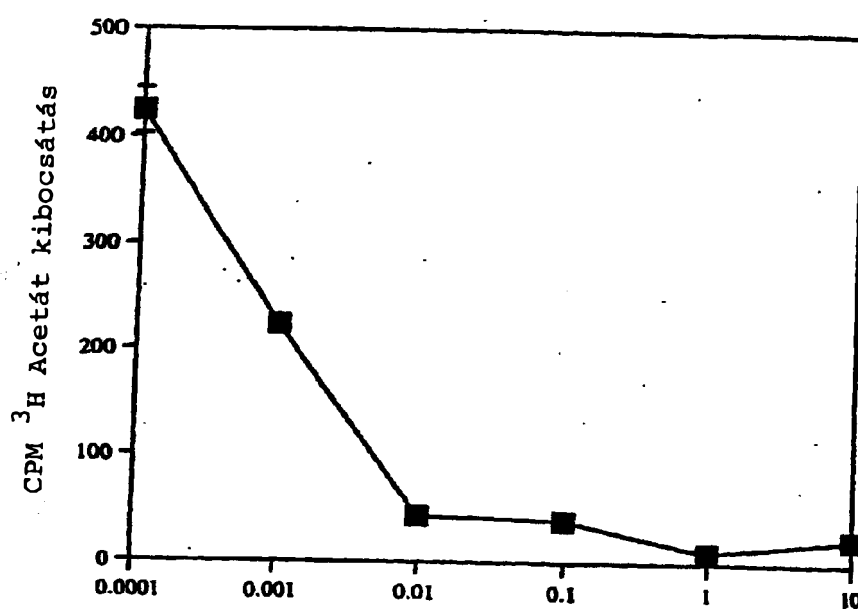
P02 02707

28330
74.343/SzE

34/48

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

2. ábra



1. vegyület $\mu\text{mól/l}$

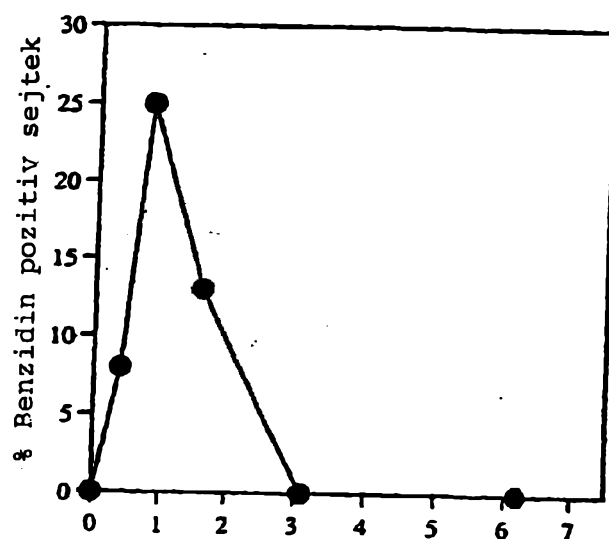
P02 02707

74.343/SzE

35/48

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

3. ábra



2. vegyület $\mu\text{mol/l}$

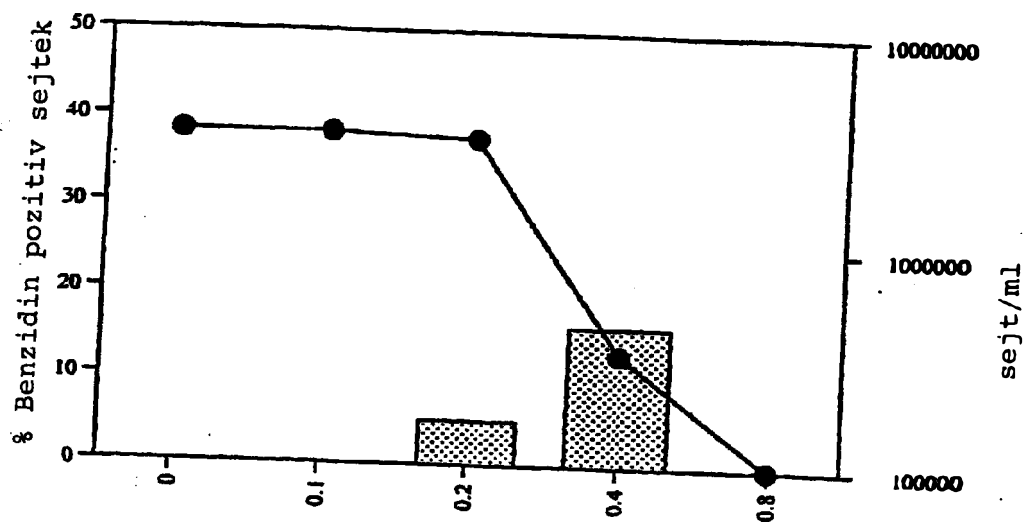
P02 02707

74.343/SzE

36/48

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

4. ábra



3. vegyület $\mu\text{mol/l}$

■ % Benzidin pozitív sejtek
—●— sejtek/ml

P02 02707

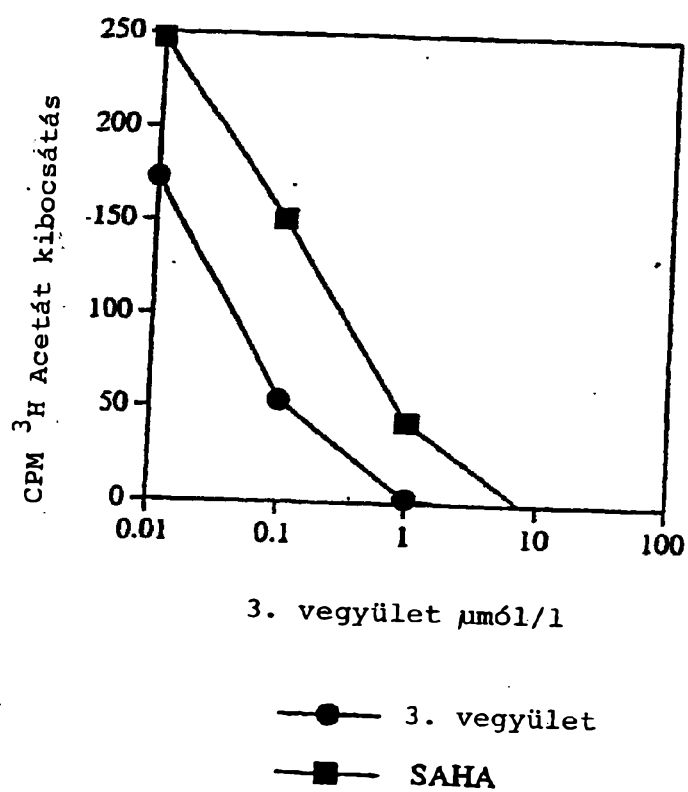
28330

74.343/SzE

37/48

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

5. ábra



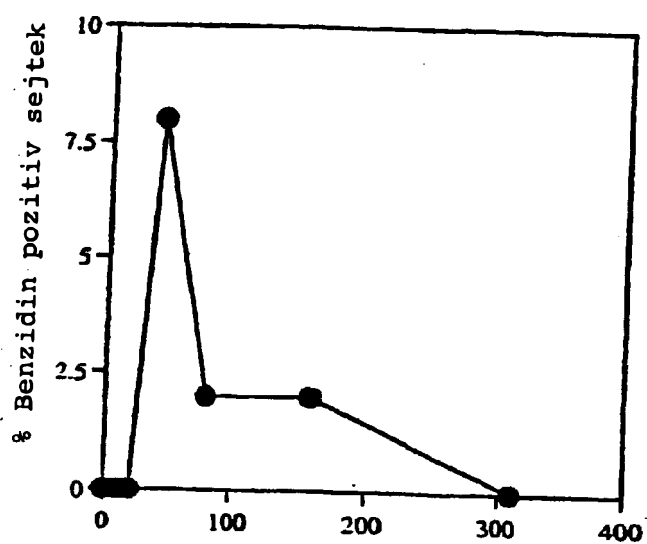
P02 02707

38/48

74.343/SzE

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

6. ábra



4. vegyület nmól/l

P02 02707

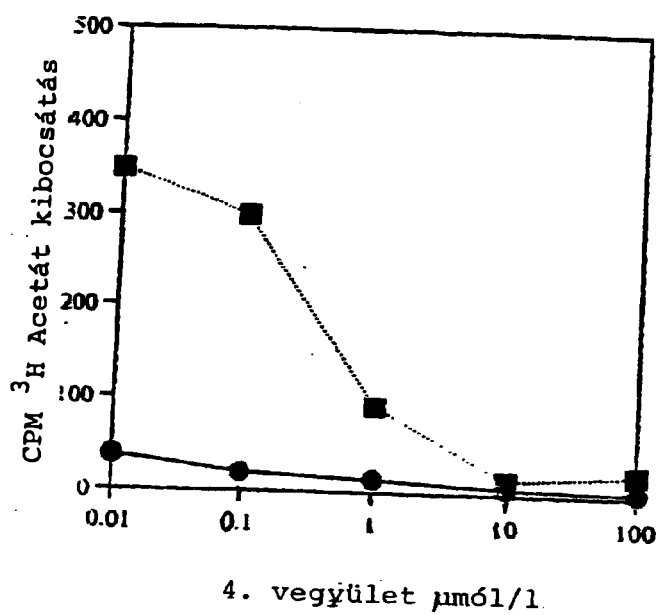
39/48



74.343/SzE

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

7. ábra



—●— 4. vegyület
- -■- SAHA

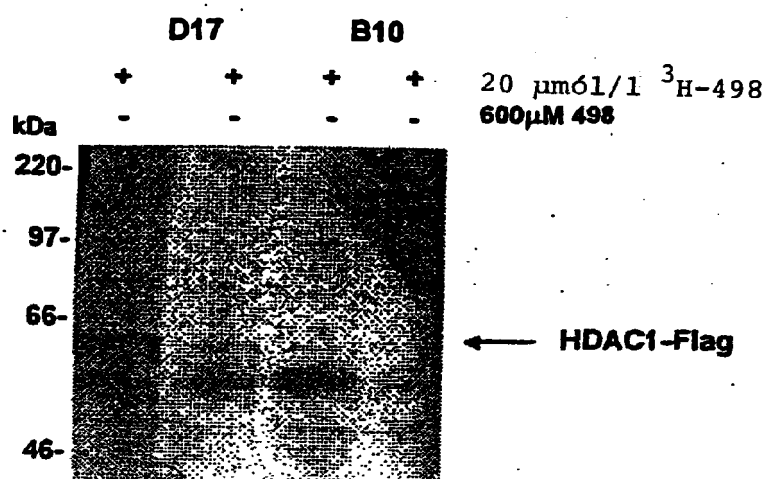
U 2707

40/48

74.343/SzE

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

8. ábra



P02 02707

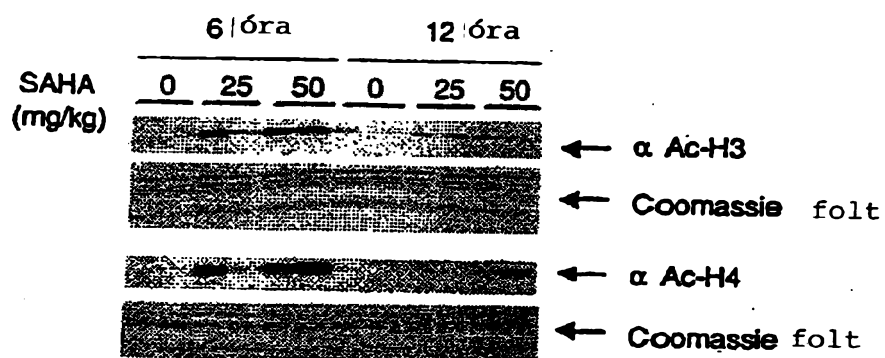
41/48



74.343/SzE

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

9. ábra



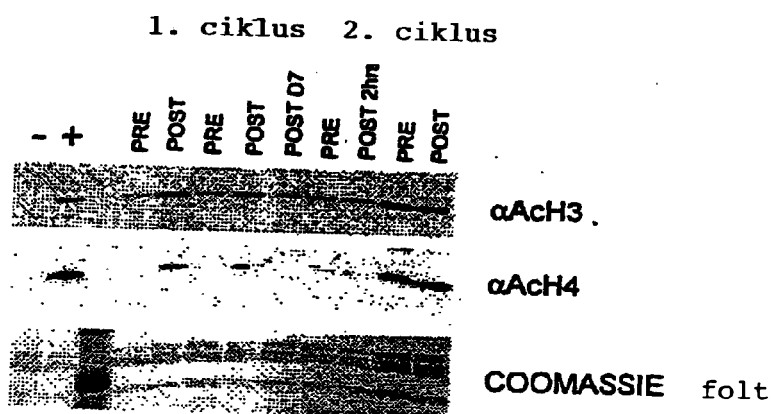
P02 02707

74:343/SZE

42/48

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

10 ábra



02 02707

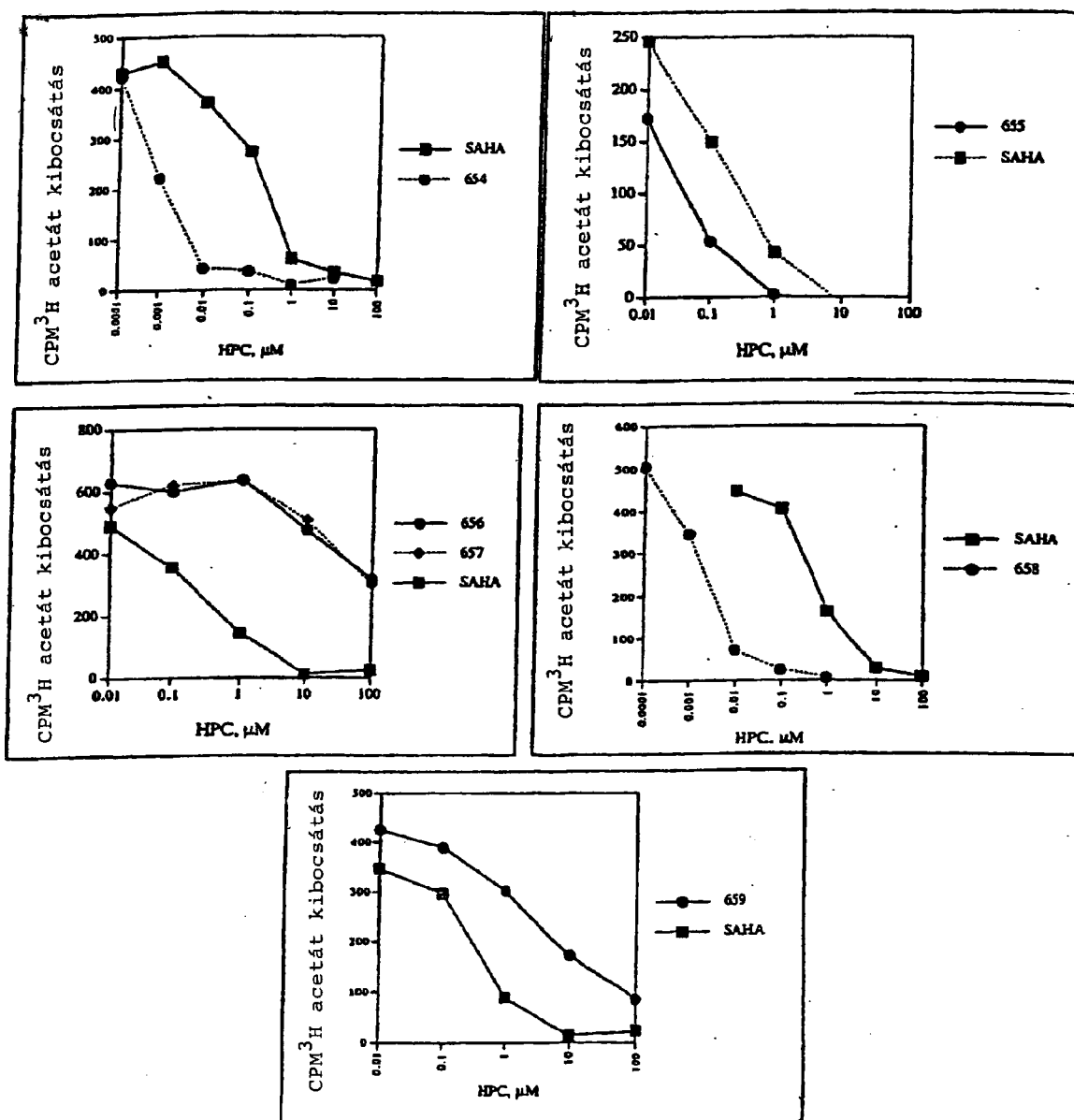


74.343/SzE

43/48

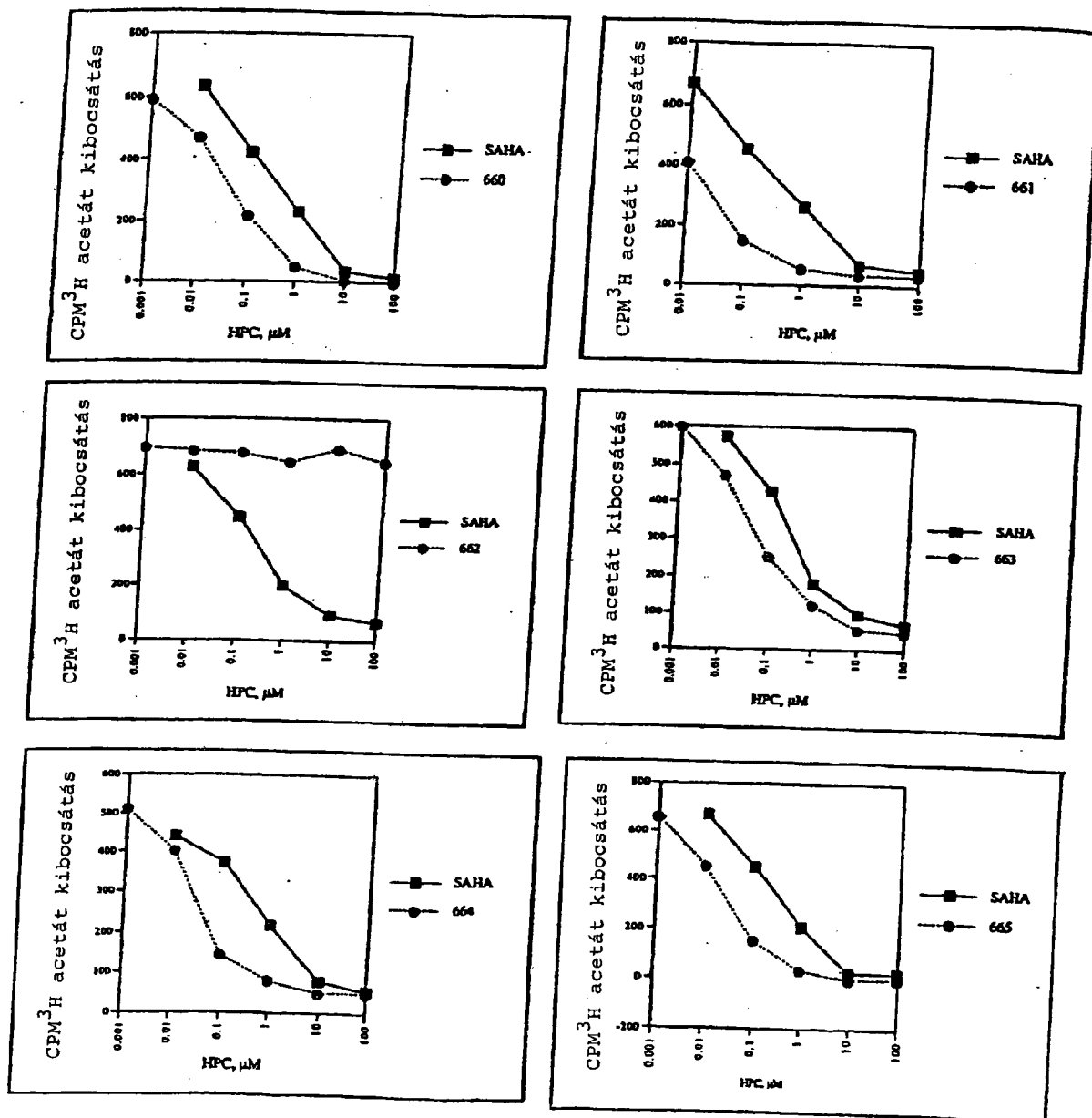
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

11a ábra



11b ábra

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



F02 02707

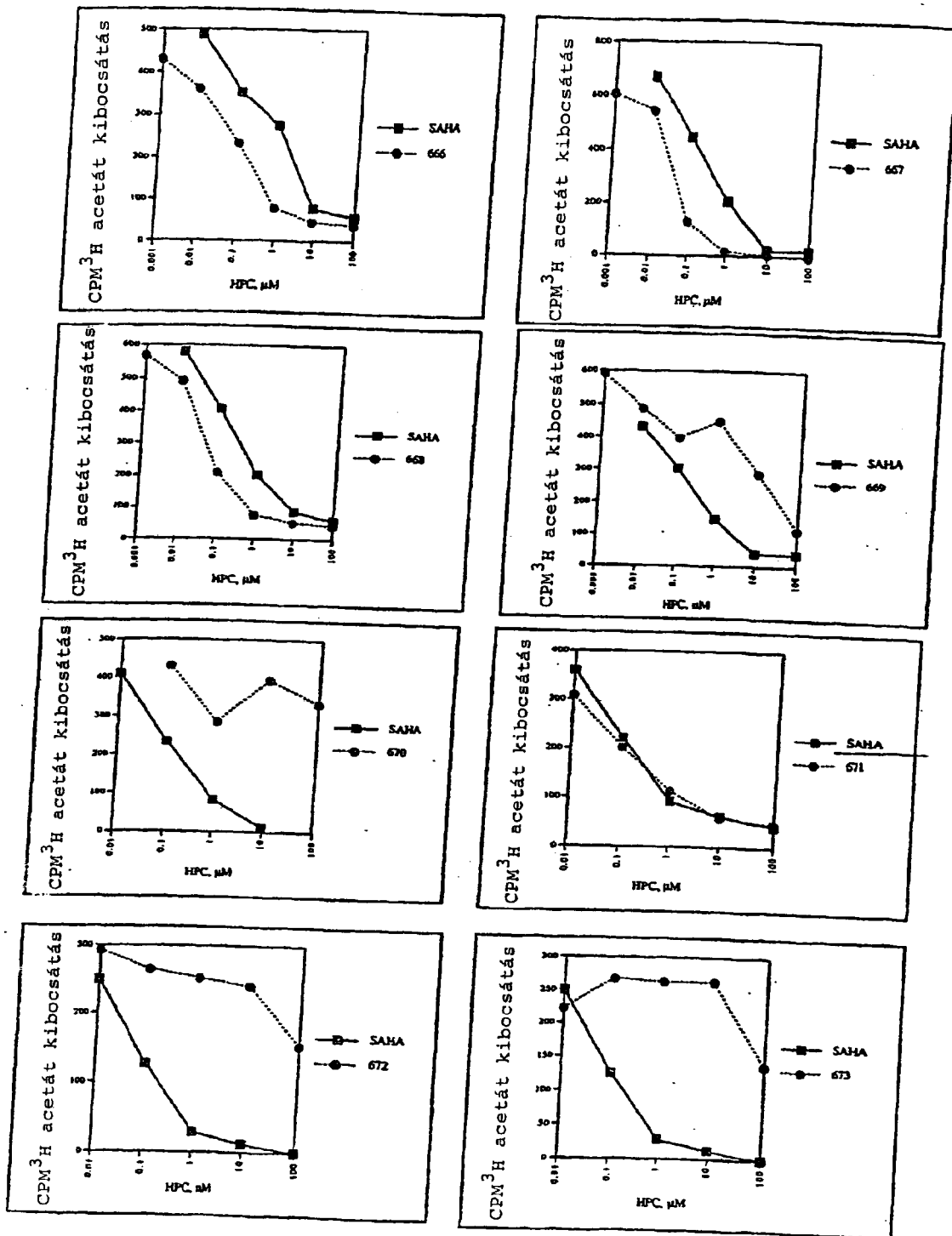
45/48

11c ábra

00000

74.343/SZE

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

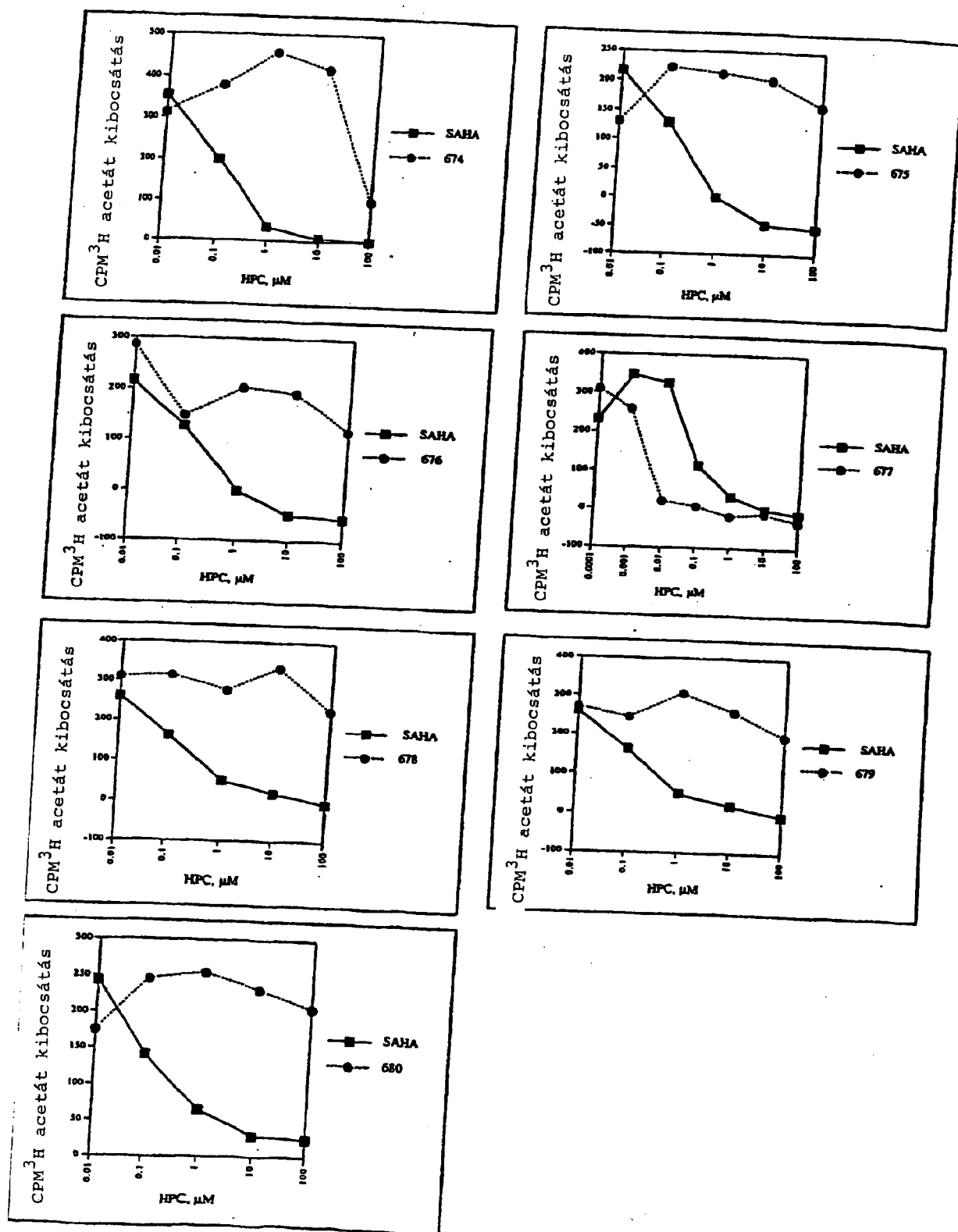


11c ábra

45/48

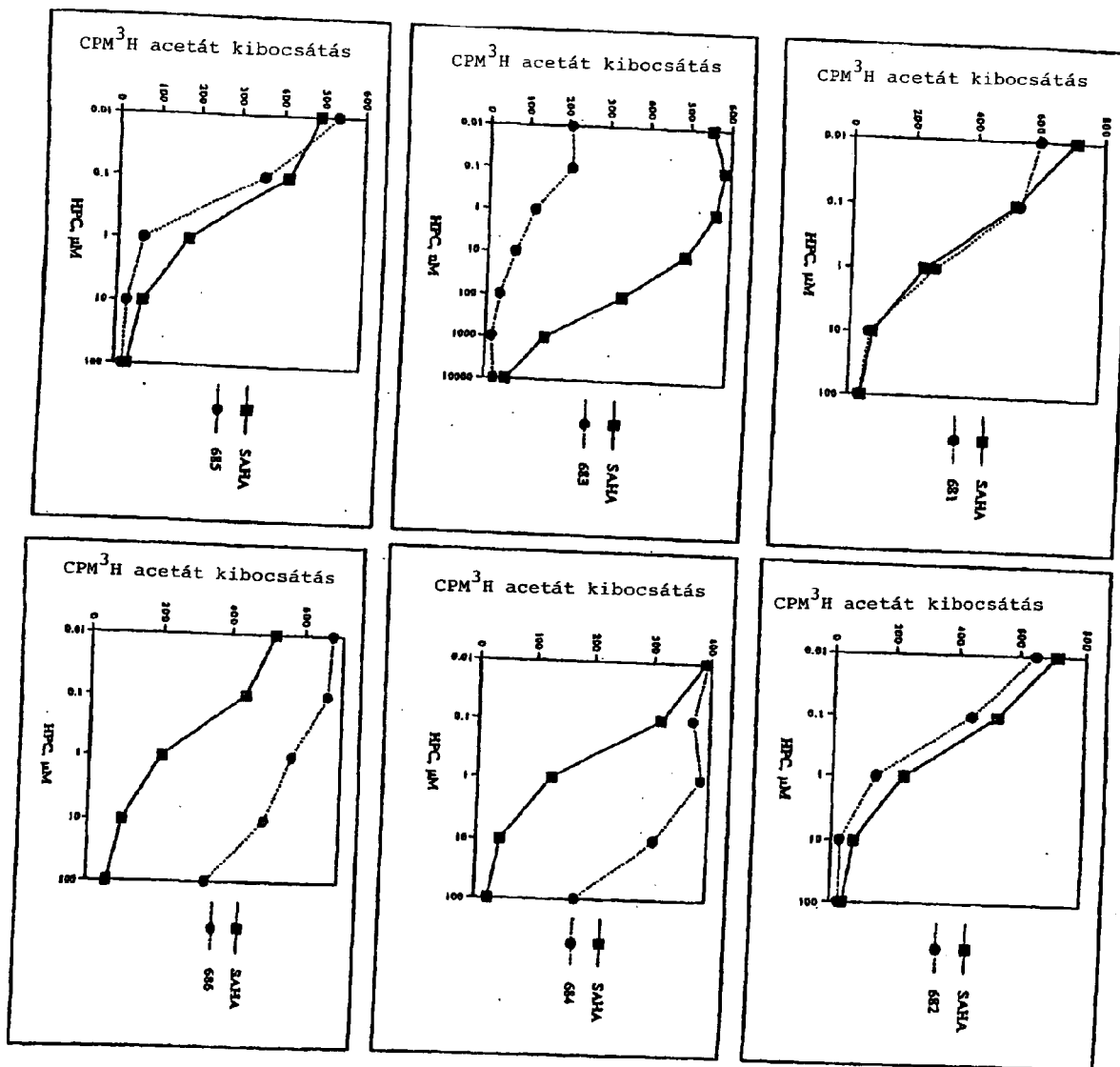
74.343/SZE

11d ábra



KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

11e ábra



11 f ábra

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

