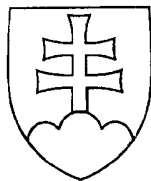


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

PATENTOVÝ SPIS

- (21) Číslo prihlášky: **1799-2000**
- (22) Dátum podania prihlášky: **4. 6. 1999**
- (24) Dátum nadobudnutia účinkov patentu: **3. 11. 2006**
Vestník ÚPV SR č.: **11/2006**
- (31) Číslo prioritnej prihlášky: **60/088 114 09/325 140**
- (32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **5. 6. 1998 3. 6. 1999**
- (33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: **US, US**
- (40) Dátum zverejnenia prihlášky: **10. 5. 2001**
Vestník ÚPV SR č.: **05/2001**
- (47) Dátum sprístupnenia patentu verejnosti: **2. 11. 2006**
- (62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:
- (86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **PCT/US99/12531**
- (87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **WO99/62523**

(11) Číslo dokumentu:

285 368

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl. (2006):

A61K 31/55
C07D 498/00

(73) Majiteľ: **CEPHALON, INC., West Chester, PA, US;**

(72) Pôvodca: **Singh Jasbir, Gilbertsville, PA, US;**
Hudkins Robert L., Chester Springs, PA, US;
Mallamo John P., Glenmoore, PA, US;
Underiner Theodore L., Malvern, PA, US;
Tripathy Rabindranath, Landenberg, PA, US;

(74) Zástupca: **Žovicová Viera, Mgr., Bratislava, SK;**

(54) Názov: **Premostené indenopyrolokarbazoly, farmaceutické kompozície s ich obsahom a ich použitie**

(57) Anotácia:
Kondenzované arylové a heteroarylové premostené indenopyrolokarbazoly, ktoré sú užitočné ako liečebné prostriedky.

SK 285368 B6

Oblasť techniky

Predložený vynález sa týka kondenzovaných arylových a hetero-arylových premostených indenopyrolokarbazolov, ktoré sa ďalej označujú ako „premostené indenopyrolokarbazoly“. Vynález sa týka aj farmaceutických kompozícií s ich obsahom a použitím premostených indenopyrolokarbazolov.

Doterajší stav techniky

Látka získaná z mikróbov označovaná ako „K-252a“ je jedinečná zlúčenina, ktorá v priebehu niekoľkých rokov získala výraznú pozornosť v dôsledku radu funkčných aktivít, ktoré má. K-252a je indolokarbazolový alkaloid, ktorý bol pôvodne izolovaný z kultúry *Nocardiosis* sp. (Kase, H et al. 39 J. Antibiotics 1059, 1986). K-252a je inhibítorom niekoľkých enzýmov vrátane proteín kinázy C (PKC), ktorá má centrálnu úlohu pri regulácii bunkových funkcií, a trk tyrozin kinázy. Udávané funkčné aktivity K-252a a jeho derivátov sú početné a rôznorodé: inhibícia nádorov (pozrite patenty USA č. 4,877,776, 4,923,986 a 5,063,330; európska publikácia 238,011 v mene Nomato); antiinsekticídna aktivita (pozrite patent USA č. 4,735,939); inhibícia zápalov (pozrite patent USA č. 4,816,450); liečba chorôb spojených s neurónovými bunkami (pozrite patenty USA č. 5,461,146; 5,621,100; 5,621,101 a publikáciu WIPO WO 94/02488, uverejnenú 3. 2. 1994 v mene Cephalon, Inc. a Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.); a liečba choroby prostaty (pozrite patenty USA č. 5,516,771 a 5,654,427). Bolo tiež udávané, že K-252a inhibuje aj produkciu IL-2 (pozrite Grove, D.S. et al., *Experimental Cell Research* 193: 175 - 182, 1991).

Opísané indolokarbazoly majú niekoľko spoločných atribútov. Konkrétne, každý má tri päťčlenné kruhy, ktoré všetky obsahujú dusíkové zoskupenie; staurosporín (odvodený od *Streptomyces* sp.) a K-252a ďalej obsahujú cukrové zoskupenie prepojené cez dve N-glykozidické väzby. K-252a aj staurosporín boli rozsiahlo študované vzhľadom na svoju použiteľnosť ako liečebné prostriedky. Indolokarbazoly sú vo všeobecnosti lipofilné, čo im umožňuje relatívne jednoducho prechádzať biologické membrány a na rozdiel od proteínových látok majú dlhší polčas života *in vivo*.

Hoci K-252a sa bežne získava z kultivačného média fermentačným procesom, uskutočnila sa aj totálna syntéza prírodného (+) izoméru a neprírodného (-) izoméru, v ktorom tri chirálne uhľíky cukru majú opačné konfigurácie (pozrite Wood et al., *J. Am. Chem. Soc.* 117: 10413, 1995, a publikácia WIPO WO 97/07081). Táto syntéza však nie je vhodná na komerčné využitie.

Okrem indolokarbazolových alkaloidov, ktoré predstavuje K-252a a staurosporín, boli pripravené aj syntetické malé organické molekuly, ktoré sú biologicky aktívne a známe ako kondenzované pyrolokarbazoly (pozrite patenty USA č. 5,475,110; 5,591,855; 5,594,009; 5,705,511 a 5,616,724).

Sú známe aj kondenzované izoindolóny, ktoré sú molekulami neobsahujúcimi indol a možno ich pripraviť chemicky de novo (pozrite publikáciu WIPO WO 97/21677).

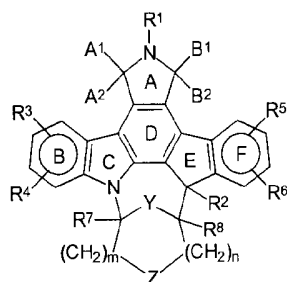
Boli opísané aj isté bis-indolylmaleimidové makrocyclické deriváty (pozrite napríklad patenty USA č. 5,710,145; 5,672,618; 5,552,396 a 5,545,636).

Opísané sú aj cukrové deriváty indolopyrolokarbazolov (pozrite publikáciu WIPO WO 98/07433).

Ostáva potreba nových pyrolokarbazolových derivátov, ktoré majú priaznivé vlastnosti. Tento vynález sa týka tohto ako aj iných významných cieľov.

Podstata vynálezu

Predložený vynález sa týka kondenzovaných arylových a heteroarylových premostených indenopyrolokarbazolov, ktoré sa ďalej označujú ako „premostené indenopyrolokarbazoly“. Vzorové zlúčeniny podľa vynálezu majú všeobecný vzorec (II):



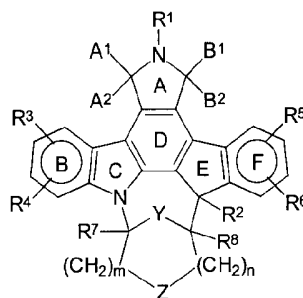
(II).

Jednotlivé prvky a výhodné uskutočnenia sú podrobne uvedené v prihláške. Zlúčeniny sú užitočné medzi iným na podporu aktivít indukovaných trofickým faktorom buniek reagujúcich na trofický faktor, napr. cholinergických neurónov, a môžu tiež fungovať ako prostriedky podporujúce prežitie pre iné neurónové bunkové typy, napr. dopaminergické a glutamatergické, a sú preto užitočnými farmakologickými a liečebnými prostriedkami. Predložené zlúčeniny sú užitočné aj pri liečbe porúch spojených so zníženou aktivitou ChAT alebo smrťou, alebo poraním miechových motoneurónov a majú význam pri chorobách spojených s umieraním apoptotických buniek centrálného a periférneho nervového systému, imunitného systému a pri zápalových chorobách.

Isté premostené indenopyrolokarbazolové zlúčeniny tu opísané môžu tiež nájsť využitie pri liečbe chorobných stavov zahŕňajúcich malígnu proliferáciu buniek, napríklad rakovín.

Sú uvedené kompozície obsahujúce predložené zlúčeniny a použitie predložených zlúčenín. Sú uvedené aj metódy na prípravu týchto premostených indenopyrolokarbazolov. Ďalšie užitočné metódy budú zjavné odborníkom v danej oblasti po preštudovaní predloženého vynálezu. Tieto a ďalšie vlastnosti zlúčenín podľa predloženého vynálezu sú podrobnejšie opísané.

Uvádzajú sa premostené indenopyrolokarbazoly, ktoré predstavuje všeobecný vzorec (II):

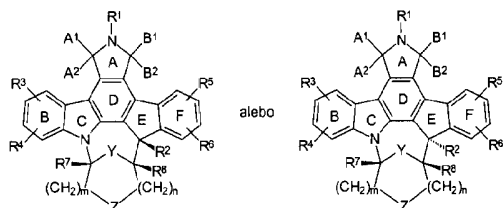


(II).

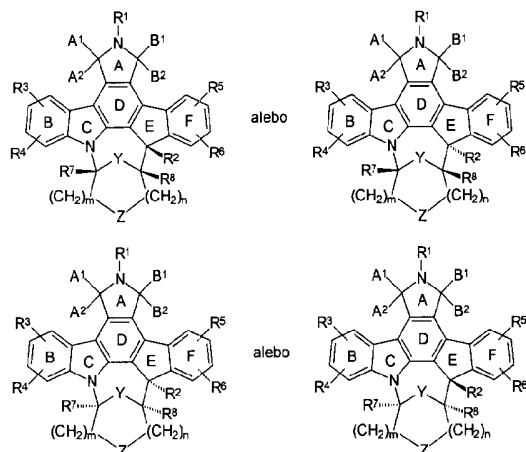
kde:

$R^1, R^4, R^6, a R^7$ sú každé H, Y je O, n je 1, A^1A^2 a B^1B^2 sú nezávisle =O alebo H, R^2 je H, OH alebo lineárny, cyklický alebo rozvetvený C_1-C_4 -alkyl, R^3 je H, Br, CH_2OCH_2OEt alebo $3'NH_2Ph$, alebo lineárny, cyklický alebo rozvetvený C_1-C_8 -alkyl, R^5 je H alebo lineárny, cyklický alebo rozvetvený C_1-C_8 -alkoxy a R^8 je H, Me, CH_2OH , CO_2Et alebo lineárny, cyklický alebo rozvetvený C_1-C_8 -alkoxy, Z je väzba alebo O a m je 1 alebo 2.

V niektorých výhodných uskutočneniach zlúčenín vzorca (II) majú zlúčeniny diastereoméry vzorca:



V ďalších výhodných uskutočneniach zlúčenín vzorca (II) majú zlúčeniny enantioméry vzorca:

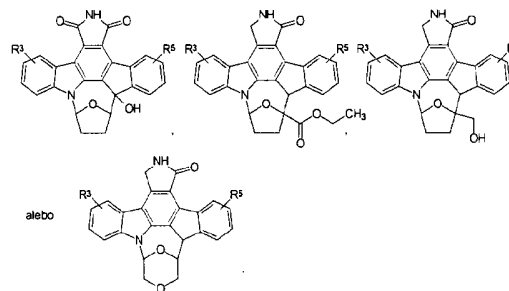
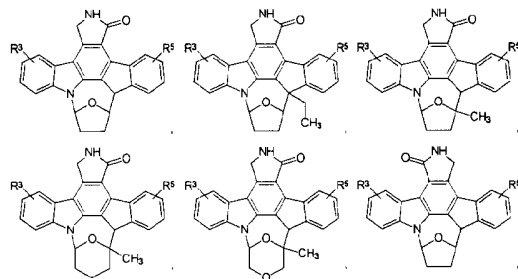


V niektorých výhodných uskutočneniach je R^8 H alebo substituovaný alebo nesubstituovaný alkyl.

V ďalších výhodných uskutočneniach je A^1A^2 a B^1B^2 nezávisle =O alebo H, H.

V niektorých osobitne výhodných uskutočneniach sú R^1, R^4, R^6 aj R^7 H, Y je =O, n je 1, A^1A^2 a B^1B^2 sú =O alebo H, H, R^2 je H, OH alebo nižší alkyl, R^3 je H alebo substituovaný alkyl, R^5 a R^8 sú každé H alebo alkoxy, pričom metoxy je výhodnejšie, Z je väzba alebo O a m je 1 alebo 2.

V ďalších výhodných uskutočneniach majú zlúčeniny vzorca (II) vzorec:



Niektorými osobitne výhodnými uskutočneniami zlúčenín vzorca (II) sú zlúčeniny II-1, II-1b, II-2, II-3, II-4a, II-4b, II-5, II-6, II-7a, II-7b, II-8, II-9, II-10, II-11, II-12, II-13, II-14a, II-14b, II-15, II-16a a II-16b, ktorých štruktúry sú uvedené v tabuľke 8. Niektoré výhodné chirálne špecifické uskutočnenia zlúčenín vzorca (II) sú uvedené v tabuľke 9.

V ďalších uskutočneniach poskytuje predložený vynález farmaceutické kompozície obsahujúce zlúčeninu vzorca (II) a farmaceuticky prijateľný nosič.

V istých výhodných farmaceutických kompozíciách kompozícia slúži na inhibíciu jednej alebo viacerých aktivít trk kinázy, aktivity VEGFR kinázy alebo aktivity PDGFR, pričom kompozícia obsahuje zlúčeninu vzorca (II) a farmaceuticky prijateľný nosič. V ďalších výhodných farmaceutických kompozíciách kompozícia slúži na podporu aktivity trofického faktora alebo ChAT miechy, pričom kompozícia obsahuje zlúčeninu vzorca (II) a farmaceuticky prijateľný nosič.

V iných výhodných farmaceutických kompozíciách je kompozícia na liečbu alebo prevenciu porúch prostaty, napríklad rakoviny prostaty alebo benígnej hyperplázie prostaty. V iných výhodných farmaceutických kompozíciách je kompozícia na liečbu alebo prevenciu angiogénnych porúch, ako je rakovina alebo tuhé nádory, endometrióza, diabetická retinopatia, psoriáza, hemangioblastóm, očné poruchy alebo makulárna degenerácia. V iných výhodných farmaceutických kompozíciách je kompozícia na liečbu alebo prevenciu neoplázie, reumatoidnej artritídy, pulmonárnej fibrózy, myelofibrózy, abnormálneho hojenia rán, aterosklerózy alebo restenózy. V iných výhodných farmaceutických kompozíciách je kompozícia na liečbu alebo prevenciu Alzheimerovej choroby, amyotrofickej laterálnej sklerózy, Parkinsonovej choroby, mŕtvice, ischémie, Huntingtonovej choroby, AIDS demencie, epilepsie, sklerózy multiplex, periférnej neuropatie alebo zranení mozgu, alebo miechy.

V ďalších uskutočneniach sa predložený vynález týka použitia zlúčeniny vzorca (II) na výrobu lieku na inhibíciu aktivity trk kinázy. Vo výhodnom uskutočnení sa zlúčenina vzorca (II) podáva na liečbu zápalu. V ďalšom výhodnom uskutočnení je receptorom trk kinázy trk A.

V ďalších uskutočneniach sa predložený vynález týka použitia zlúčeniny vzorca (II) na výrobu lieku na liečbu alebo prevenciu porúch prostaty. Vo výhodnom uskutočnení je poruchou prostaty rakovina prostaty alebo benígna hyperplázia prostaty.

V ďalších uskutočneniach sa predložený vynález týka použitia zlúčeniny vzorca (II) na výrobu lieku na liečbu alebo prevenciu angiogénnych porúch. V ďalšom uskutočnení sa predložený vynález týka použitia zlúčeniny vzorca (II) na výrobu lieku na liečbu alebo prevenciu angiogén-

nych porúch. Vo výhodnom uskutočnení je angiogénnu poruchou rakovina alebo tuhé nádory, očné poruchy, makulárna degenerácia, endometrióza, diabetická retinopatia, psoriáza alebo hemangioblastóm.

V ďalších uskutočneniach sa predložený vynález týka použitia zlúčeniny vzorca (II) na výrobu lieku na liečbu alebo prevenciu porúch, kde aktivita PDGFR prispieva k patologickým stavom. V ďalšom uskutočnení sa predložený vynález týka použitia zlúčeniny vzorca (II) na výrobu lieku na liečbu alebo prevenciu patologických porúch. Vo výhodných uskutočneniach je patologickou poruchou neoplázia, reumatoidná artritída, pulmonárna fibróza, myelofibróza, abnormálne hojenie rán, ateroskleróza alebo restenóza.

V ďalších uskutočneniach sa predložený vynález týka použitia zlúčeniny vzorca (II) na výrobu lieku na liečbu porúch vyznačujúcich sa aberantnou aktivitou buniek reagujúcich na trofický faktor. Vo výhodných uskutočneniach je aktivitou buniek reagujúcich na trofický faktor ChAT aktívna. V ďalšom uskutočnení sa predložený vynález týka použitia zlúčeniny vzorca (II) na výrobu lieku na liečbu alebo prevenciu Alzheimerovej choroby, amyotrofickej laterálnej sklerózy, Parkinsonovej choroby, mŕtvice, ischemie, Huntingtonovej choroby, AIDS demencie, epilepsie, sklerózy multiplex, periférnej neuropatie alebo zranení mozgu, alebo miechy.

Zlúčeniny podľa predloženého vynálezu zahŕňajú všetky diastereoméry a enantioméry. Zlúčeniny vzorca (II) sa tu označujú aj ako zlúčenina (II) a to isté platí aj pre zlúčeniny s inými číslami vzorcov.

V tu používanom význame sa pojem „karbocyklický“ vzťahuje na cyklické skupiny, v ktorých je kruhová časť zložená výlučne z atómov uhlíka. Pojmy „heterocyklo“ a „heterocyklický“ sa vzťahujú na cyklické skupiny, v ktorých kruhová časť obsahuje aspoň jeden heteroatóm ako O, N alebo S.

V tu používanom význame pojem „alkyl“ znamená lineárny, cyklický alebo rozvetvený alkyl majúci 1 až 8 atómov uhlíka, napríklad metyl, etyl, propyl, izopropyl, butyl, izobutyl, *sek*-butyl, *terc*-butyl, pentyl, izoamyl, neopentyl, 1-etylpropyl, hexyl, oktyl, cyklopropyl a cyklopentyl. Alkylové zoskupenie skupín obsahujúcich alkyl, napríklad alkoxy, alkoxykarbonyl a alkylaminokarbonyl, má rovnaký význam ako definovaný alkyl. Nižšie alkylové skupiny, ktoré sú výhodné, sú alkylové skupiny s uvedeným významom, ktoré obsahujú 1 až 4 uhľiky.

Funkčné skupiny prítomné na zlúčeninách vzorca (II) môžu obsahovať chrániace skupiny. Chrániace skupiny sú známe ako chemické funkčné skupiny, ktoré možno selektívne naviazať a odstrániť zo skupín, ako sú hydroxylové skupiny a karboxylové skupiny. Tieto skupiny sú prítomné v chemickej zlúčenine, aby takú funkčnú skupinu urobili inertnou proti podmienkam chemickej reakcie, ktorým je zlúčenina vystavená. V predloženom vynáleze možno použiť ktorúkoľvek z radu chrániacich skupín. Jednou z takých chrániacich skupín je benzyloxykarbonyl (Cbz; Z). Ďalšie výhodné chrániace skupiny podľa vynálezu možno nájsť v Greene, T. W. a Wuts, P. G. M., „Protective Groups in Organic Synthesis“ 2. vyd., Wiley & Sons, 1991.

Premostené indenopyrolokarbazolové zlúčeniny majú dokázané významné funkčné farmakologické aktivity, ktoré nachádzajú uplatnenie v celom rade situácií vrátane výskumu a terapie. Tieto deriváty sú užitočné ako terapeutické prostriedky. Aktivity zlúčenín majú pozitívne efekty na funkciu a/alebo prežitie buniek reagujúcich na trofický faktor. Účinok na funkciu a/alebo prežitie buniek reagujú-

cich na trofický faktor, napr. bunky neurónovej rodiny, bol preukázaný pomocou ktoréhokoľvek z nasledujúcich testov. (1) test kultivovanej acetyltransferázy cholínu miechy („ChAT“ - choline acetyltransferase); alebo (2) test aktivity ChAT kultivovaných neurónov bazálneho predného mozgu.

V tu používanom význame pojem „účinnosť“, keď sa používa ako rozvinutie pojmov „funkcia“ a „prežitie“ znamená pozitívnu alebo negatívnu premenu alebo zmenu. Účinnosť, ktorý je pozitívny, tu môže byť označený ako „zlepšenie“ alebo „podporujúci“ a účinnosť, ktorý je negatívny, tu môže byť označený ako „inhibícia“ alebo „inhibujúci“.

V tu používanom význame pojmy „podporiť“ alebo „zlepšujúci“ pri použití ako rozvinutie pojmov „funkcia“ alebo „prežitie“ znamená, že prítomnosť premostenej indenopyrolokarbazolovej zlúčeniny má kladný účinok na funkciu a/alebo prežitie bunky reagujúcej na trofický faktor v porovnaní s bunkou za neprítomnosti zlúčeniny. Napríklad (nie je myslené obmedzujúco) vzhľadom na prežitie napríklad cholinergického neurónu by zlúčenina mala zlepšenie prežívania cholinergickej neurónovej populácie ohrozenej smrťou (v dôsledku napríklad zranenia, chorobného stavu, degeneratívneho stavu alebo prirodzeného progresu) v porovnaní s cholinergickou neurónovou populáciou, na ktorú nepôsobí taká zlúčenina, keby liečená populácia mala pomerne väčšie obdobie funkčnosti ako neliečená populácia.

V tu používanom význame „inhibovať“ a „inhibícia“ znamená, že špecifikovaná odozva určeného materiálu (napr. enzymatická aktivita) je pomerne znížená za prítomnosti premostenej indenopyrolokarbazolovej zlúčeniny.

V tu používanom význame sa pojem „trk“ vzťahuje na rodinu vysokoafinitných neurotrofinových receptorov v súčasnosti pozostávajúcu z trk A, trk B a trk C, a na ďalšie proteíny spojené s membránami, na ktoré sa neurotrofin môže viazať.

V tu používanom význame inhibícia VEGFR implikuje použiteľnosť napríklad pri chorobách, kde angiogenéza má dôležitú úlohu, napríklad rakovina alebo tuhé nádory, endometrióza, diabetická retinopatia, psoriáza, hemangioblastóm ako aj iné očné choroby a rakoviny.

Inhibícia trk implikuje použiteľnosť napríklad pri chorobách prostaty, napríklad pri rakovine prostaty a benígnej hyperplázii prostaty, a liečbe zápalovej bolesti.

Inhibícia receptora rastového faktora odvodeného z trombocytov (PDGFR - Platelet Derived Growth Factor Receptor) implikuje použiteľnosť napríklad pri rôznych formách neoplázie, reumatoidnej artritídy, pulmonárnej fibrózy, myelofibrózy, abnormálnom hojení rán, chorobách s kardiovaskulárnymi prejavmi ako ateroskleróza, restenóza, restenóza po angioplastike atď.

V tu používanom význame sa pojmy „rakovina“ a „rakovinový“ vzťahujú na akúkoľvek malígnu proliferáciu buniek u cicavca. Medzi príklady patria rakovina prostaty, benígna hyperplázia prostaty, rakoviny vaječníkov, prsníkov, mozgu, pľúc, pankreasu, kolorektálna rakovina, rakovina žalúdka, tuhé nádory, rakovina hlavy a krku, neuroblastóm, karcinóm renálnych buniek, lymfóm, leukémia, iné známe zhubné nádory hematopoetických systémov a iné známe rakoviny.

V tu používanom význame pojmy „neurón“, „bunka neurónovej rodiny“ a „neurónová bunka“ zahŕňajú, ale nie sú obmedzené na heterogénnu populáciu neurónových typov s jednotlivými alebo viacerými transmitrami a/alebo jednotlivými alebo viacerými funkciami; výhodne ide o cholinergické a senzorické neuróny. V tu používanom výz-

name slovné spojenie „cholinergický neurón“ znamená neuróny centrálnej nervovej sústavy (CNS) a periférnej nervovej sústavy (PNS), ktorých neurotransmitrom je acetylcholin; príkladmi sú bazálny predný mozog, neuróny priečne pruhovaného svalstva a miechové neuróny. V tu používanom význame fráza „senzorický neurón“ zahŕňa neuróny reagujúce na environmentálne podnety (napr. teplota, pohyb) napríklad z kože, svalov a kĺbov; príkladom je neurón z ganglionu zadného senzorického koreňa miechových nervov.

„Bunka reagujúca na trofický faktor“ podľa tu používaného významu je bunka, ktorá obsahuje receptor, na ktorý sa môže špecificky viazať trofický faktor; medzi príklady patria neuróny (napr. cholinergické a senzorické neuróny) a neneurónové bunky (napr. monocyty a neoplastické bunky).

Premostené indenopyrolokarbazolové zlúčeniny tu opísané nachádzajú uplatnenie vo výskume i v terapii, napríklad pri inhibícii enzýmovej aktivity. Napríklad vo výskume možno zlúčeniny použiť vo vývoji testov a modelov na ďalšie zlepšenie pochopenia úloh, ktoré má inhibícia serín/tyreonín alebo tyrozín proteín kinázy (napr. PKC, trk tyrozín kinázy) v mechanistických aspektoch súvisiacich porúch a chorôb. V terapii možno zlúčeniny, ktoré inhibujú tieto enzýmové aktivity, použiť na inhibíciu škodlivých dôsledkov týchto enzýmov vzhľadom na choroby, ako je rakovina.

Ako dokazujú uvedené príklady, inhibíciu enzýmovej aktivity pomocou premostených indenopyrolokarbazolových zlúčenín možno určiť napríklad pomocou nasledujúcich testov:

1. Test inhibície aktivity tyrozín kinázy trk A.
2. Inhibícia fosforylácie trk stimulovanej NGF v celobunkovom prípravku.
3. Test inhibície kinázy vaskulárneho endotelového receptora rastového faktora.
4. Test inhibície aktivity PKC.
5. Test inhibície PDGFR.

Uvedené premostené indenopyrolokarbazolové zlúčeniny možno použiť na zlepšenie funkcie a/alebo prežitia buniek neurónovej rodiny u cicavca, napríklad človeka. V týchto kontextoch možno tieto zlúčeniny použiť jednotlivo alebo s inými kondenzovanými pyrolokarbazolmi a/alebo indolokarbazolmi, alebo v kombinácii s inými užitočnými molekulami, ktoré tiež majú schopnosť ovplyvňovať funkciu a/alebo prežitie cieľovej bunky.

Rad neurologických porúch je charakterizovaný neurónovými bunkami, ktoré umierajú, sú poranené, funkčne narušené, podliehajú axonálnej degenerácii, sú ohrozené rizikom smrti atď. Medzi tieto poruchy patria okrem iných nasledujúce: Alzheimerova choroba; poruchy motorických neurónov (napr. amyotroická laterálna skleróza); Parkinsonova choroba; cerebrovaskulárne poruchy (napr. mŕtvica, ischemia); Huntingtonova choroba; AIDS demencia; epilepsia; skleróza multiplex; periférne neuropatie (napr. neuropatie postihujúce DRG neuróny pri periférnej neuropatii spojenej s chemoterapiou) vrátane diabetickej neuropatie; poruchy indukované excitáčnými aminokyselinami; a poruchy spojené s nárazovými alebo prienikovými poraneniami mozgu alebo miechy.

ChAT katalyzuje syntézu neurotransmitra acetylcholínu a považuje sa za enzymatický marker pre funkčný cholinergický neurón. Funkčný neurón je tiež schopný prežiť. Prežívanie neurónov sa hodnotí kvantifikáciou špecifickej

absorpcie a enzymatickej konverzie farbiva (napr. kalceín AM) žijúcimi neurónmi.

Vzhľadom na svoju rozmanitú použiteľnosť nachádzajú tu uvedené premostené indenopyrolokarbazolové zlúčeniny uplatnenie v rade oblastí. Tieto zlúčeniny možno použiť pri vývoji in vitro modelov prežívania, funkcie alebo identifikácie neurónových buniek alebo na skríning iných syntetických zlúčenín, ktoré majú aktivity podobné aktivitám premostených indenopyrolokarbazolových zlúčenín. Tieto zlúčeniny možno použiť vo výskume na skúmanie, definovanie a určenie molekulových cieľov spojených s funkčnými odozvami. Napríklad rádioaktívnym označením premostenej indenopyrazolokarbazolovej zlúčeniny spojené so špecifickou bunkovou funkciou (napr. mitogénozu) možno identifikovať, izolovať a vyčistiť na charakterizáciu cieľovú entitu, na ktorú sa tento derivát viaže.

Zlúčeniny sú užitočné medzi iným nielen na podporu aktivít indukovaných trofickým faktorom buniek reagujúcich na trofický faktor, napr. cholinergických neurónov, ale môžu tiež fungovať ako prostriedky podporujúce prežitie pre iné neurónové bunkové typy, napr. dopaminergické a glutamatergické. Rastový faktor môže regulovať prežívanie neurónov signalizačnými kaskádami v smere malých GTP viazucich proteínov ras, rac a cdc42 (Denhardt, D. T., Biochem. J., 1996, 318, 729). Špecificky, aktivácia ras vedie k fosforylácii a aktivácii kinázy aktivovanej mimobunkovým receptorom (ERK - extracellular receptor-activated kinase), ktorá bola dávaná do súvislosti s biologickým rastom a diferenciálnymi procesmi. Stimulácia rac/cdc42 vedie k zvýšeniu aktivácie JNK a p38, čo sú odozvy spojené so stresom, apoptózou a zápalom. Hoci odozvy rastového faktora sú primárne cez dráhu ERK, ovplyvnenie týchto procesov môže viesť k alternatívnym mechanizmom prežívania neurónov, ktoré môžu napodobňovať rastový faktor podporujúci vlastnosti prežívania (Xia et al., Science, 1995, 270, 1326). Tieto zlúčeniny môžu pôsobiť aj ako prostriedky podporujúce prežitie pre neurónové a neneurónové bunky mechanizmami súvisiacimi ale aj vzdialenými prežívaniu sprostredkovanému rastovým faktorom, napríklad inhibíciou dráh JNK a p38 MAPK, čo môže viesť k prežitiu inhibíciu procesov umierania apoptotických buniek.

Predložené zlúčeniny sú užitočné pri liečbe porúch spojených so zníženou aktivitou ChAT alebo smrťou, alebo poranením miechových motoneurónov a majú napríklad význam pri chorobách spojených s umieraním apoptotických buniek centrálneho a periférneho nervového systému, imunitného systému a pri zápalových chorobách.

Premostené indenopyrolokarbazolové zlúčeniny tu opísané môžu tiež nájsť využitie pri liečbe chorobných stavov zahŕňajúcich malígnu proliferáciu buniek, napríklad mnohých rakovín.

Medzi farmaceuticky prijateľné soli zlúčenín II patria farmaceuticky prijateľné kyselinové adičné soli, soli kovov, amóniové soli, adičné soli organických aminov a aminokyselinové adičné soli. Príkladmi kyselinových adičných solí sú adičné soli s anorganickými kyselinami, ako je hydrochlorid, sulfát a fosfát, a adičné soli s organickými kyselinami, ako je acetát, maleát, fumarát, vínan, citrát a laktát; príkladmi solí s kovmi sú soli s alkalickými kovmi, napríklad lítna soľ, sodná soľ a draselná soľ, soli s kovmi alkalických zemín, napríklad horečnatá soľ a vápenatá soľ, hlinitá soľ a zinočnatá soľ; príkladom amóniových solí je amónna soľ a tetrametylamóniová soľ; príkladmi adičných solí s organickými amínmi sú soli s morfolínom a piperidínom; a príkladmi aminokyselinových adičných solí sú soli

s glycinom, fenylyalanínom, kyselinou glutámovou a lyzínom.

Tu uvedené zlúčeniny možno formulovať do farmaceutických kompozícií zmiešaním s farmaceuticky prijateľnými netoxickými vehikulami a nosičmi. Také kompozície možno pripraviť na použitie pri parenterálnom podaní, najmä vo forme kvapalných roztokov alebo suspenzií; alebo orálnom podaní, najmä vo forme tabliet alebo kapsúl; alebo intranazálne, najmä vo forme práškov, nosných kvapiek alebo aerosólov; alebo dermálne napríklad prostredníctvom transdermálnych náplastí.

Kompozíciu možno výhodne podávať v jednotkovej liekovej forme a možno ju pripraviť ktorýmkoľvek zo spôsobov známych v oblasti farmácie, napríklad podľa Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Pub. Co., Easton, PA, 1980). Formulácie na parenterálne podanie môžu obsahovať ako bežné vehikulá sterilnú vodu alebo fyziologický roztok, polyalkylénglykoly ako polyetylénglykol, oleje rastlinného pôvodu, hydrogenované naftalény a podobne. Užitočnými vehikulami na kontrolu uvoľňovania účinných zlúčenín môžu byť najmä biologicky kompatibilné, biologicky odbúrateľné laktidové polyméry, laktidovo-glykolidový kopolymér alebo polyoxyetylénovo-polyoxypropylénové kopolyméry. Medzi ďalšie potenciálne užitočné systémy na parenterálne podávanie pre tieto účinné zlúčeniny patria etylénovo-vinylacetátové kopolymérové čiastočky, osmotické pumpy, implantovateľné infúzne systémy a lipozómy. Formulácie na inhalačné podanie obsahujú ako vehikulá napríklad laktózu, alebo môže ísť o vodné roztoky obsahujúce napríklad polyoxyetylén-9-lauryléter, glykocholát a deoxycholát, alebo olejovité roztoky na podávanie vo forme nosných kvapiek alebo ako gél na intranazálnu aplikáciu. Formulácie na parenterálne podanie môžu tiež obsahovať glykocholát na bukálne podávanie, salicylát na rektálne podávanie alebo kyselinu citrónovú na vaginálne podávanie. Formulácie na transdermálne náplasti sú výhodne lipofilné emulzie.

Zlúčeniny podľa tohto vynálezu možno použiť ako jediné účinné látky vo farmaceutickej kompozícii. Alternatívne ich možno použiť v kombinácii s inými účinnými zložkami, napríklad inými rastovými faktormi, ktoré uľahčujú prežívanie neurónov alebo axonálnu regeneráciu pri chorobách alebo poruchách.

Zlúčeninu vzorca (II) a jej farmaceuticky prijateľné soli možno podávať orálne alebo neorálne, napríklad ako masť alebo ako injekciu. Koncentrácie zlúčenín podľa vynálezu v terapeutickkej kompozícii sa môžu meniť. Koncentrácia bude závisieť od faktorov ako celkové dávkovanie liečiva, ktoré sa má podávať, chemické charakteristiky (napr. hydrofóbnosť) použitých zlúčenín, cesta podania, vek, telesná hmotnosť a symptómy pacienta atď. Zlúčeniny podľa tohto vynálezu sa väčšinou podávajú vo vodnom fyziologickom tlmenom roztoku obsahujúcom asi 0,1 až 10 % hmotnosť/objem zlúčeniny na parenterálne podanie. Typické rozmedzia dávok sú od asi 1 µg/kg do asi 1 g/kg telesnej hmotnosti na deň; výhodný interval dávok je od asi 0,01 mg/kg do 100 mg/kg telesnej hmotnosti na deň a výhodne asi 0,1 až 20 mg/kg raz až štyrikrát denne. Výhodné dávkovanie liečiva, ktoré sa má podávať, bude pravdepodobne závisieť od premenných, ako je typ a rozsah progresie choroby alebo poruchy, celkový zdravotný stav konkrétneho pacienta, relatívna biologická účinnosť vybranej zlúčeniny a formulácia vehikula zlúčeniny a cesta jej podania.

Zlúčeniny vzorca (II) a jej farmaceuticky prijateľné soli možno podávať samotné alebo vo forme rôznych farmaceutických kompozícií podľa farmakologickej aktivity a účelu podania. Farmaceutické kompozície podľa predloženého vynálezu možno pripraviť rovnomerným zmiešaním účinného množstva zlúčeniny vzorca (II) alebo jej farmaceuticky prijateľnej soli ako účinnej zložky s farmaceuticky prijateľným nosičom. Nosič môže mať široké spektrum foriem podľa foriem kompozície vhodných na podávanie. Je vhodné, aby sa také farmaceutické kompozície pripravovali v jednotkovej liekovej forme vhodnej na orálne alebo neorálne podanie. Medzi formy na neorálne podanie patria masť a injekcie.

Tablety možno pripraviť pomocou vehikul ako laktóza, glukóza, sacharóza, manitol a metylcelulóza, dezintegrátorov ako škrob, alginát sodný, kalcium karboxymetylcelulóza a kryštalická celulóza, mazív ako stearan horečnatý a mastenec, spojív ako želatína, polyvinylalkohol, polyvinylpyrrolidón, hydroxypropylcelulóza a metylcelulóza, povrchovo aktívnych látok ako ester sacharózy s masťou kyselinou a ester sorbitolu s masťou kyselinou a podobne, konvenčným spôsobom. Je výhodné, aby každá tableta obsahovala 15 - 300 mg účinnej zložky.

Granuly možno pripraviť s použitím vehikul ako laktóza a sacharóza, dezintegrátorov ako škrob, spojív ako želatína a podobne, konvenčným spôsobom. Prášky možno pripraviť s použitím vehikul ako laktóza a manitol a podobne, konvenčným spôsobom. Kapsuly možno pripraviť s použitím želatíny, vody, sacharózy, arabskej gummy, sorbitolu, glycerínu, kryštalickej celulózy, stearanu horečnatého, mastenca a podobne, konvenčným spôsobom. Je výhodné, aby každá kapsula obsahovala 15 - 300 mg účinnej zložky.

Sirupové prípravky možno pripraviť s použitím cukrov ako sacharóza, vody, etanolu a podobne, konvenčným spôsobom.

Masť možno pripraviť s použitím masťových základov ako vazelína, kvapalný parafín, lanolín a makrogol, emulgátorov ako laurylacetát sodný, benzalkónium chlorid, monoester sorbitanu s masťou kyselinou, natrium karboxymetylcelulóza, arabská guma a podobne, konvenčným spôsobom.

Injektovateľné prípravky možno pripraviť s použitím rozpúšťadiel ako voda, fyziologický roztok, rastlinné oleje (napr. olivový olej a arašidový olej), etyloléat a propylénglykol, solubilizačné prostriedky ako benzoát sodný, salicylát sodný a uretán, izotonické prostriedky ako chlorid sodný a glukóza, konzervačné prostriedky ako fenol, krezol, ester kyseliny p-hydroxybenzoovej a chlórbutanol, antioxidanty ako kyselina askorbová, pyrosiričitan sodný a podobne, konvenčným spôsobom.

Vynález je ďalej ilustrovaný nasledujúcimi príkladmi, ktoré slúžia ako vysvetlenie vynálezu. Tieto príklady nie sú myslené ako obmedzenie rozsahu vynálezu a nemajú sa tak ani vysvetľovať.

Prehľad obrázkov na výkresoch

Obrázok 1 je schematický obrázok zobrazujúci všeobecnú prípravu premostených indenopyrolokarbazolov.

Obrázok 2 je schematický obrázok zobrazujúci všeobecnú prípravu premostených indenopyrolokarbazolov.

Obrázok 3 je schematický obrázok zobrazujúci prípravu premostených indenopyrolokarbazolov naviazaných na živicu.

Obrázok 4 je schematický obrázok zobrazujúci prípravu chránených, rozpustných indenopyrolokarbazolov.

Obrázok 5 je schematický obrázok zobrazujúci prípravu intermediátu V.

Obrázok 6 je schematický obrázok zobrazujúci prípravu premostených indenopyrolokarbazolov použitím spôsobu A.

Obrázok 7 je schematický obrázok zobrazujúci prípravu premostených indenopyrolokarbazolov použitím spôsobu B.

Obrázok 8 je schematický obrázok zobrazujúci prípravu premostených indenopyrolokarbazolov substituovaných na kruhu B.

Obrázok 9 je schematický obrázok zobrazujúci derivatizáciu kruhu E premostených indenopyrolokarbazolov.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklad 1

Inhibícia aktivity tyrozín kinázy trkA

Vybrané premostené indenopyrolokarbazolové zlúčeniny boli testované na svoju schopnosť inhibovať kinázovú aktivitu baculovírusom exprimovanej ľudskej trkA cytoplazmatickej domény pomocou testu na báze ELISA podľa publikovaného popisu (Angeles et al., Anal. Biochem. 236: 49 - 55, 1996). Stručne, 96-jamková mikrotitračná platnička bola nartetá substrátovým roztokom (recombinant human phospholipase C- γ 1/glutathione S-transferase fusion protein) (Rotin et al., EMBO J., 11: 559 - 567, 1992). Inhibičné štúdie sa uskutočnili v 100 μ l testovacích zmesiach obsahujúcich 50 mM Hepes, pH 7,4, 40 μ M ATP, 10 mM MnCl₂, 0,1 % BSA, 2 % DMSO a rôzne koncentrácie inhibítora. Reakcia bola iniciovaná pridaním trkA kinázy a nechala sa prebiehať 15 minút pri 37 °C. Potom sa pridala protilátka fosfotyrozínu (UBI) a po nej sekundárna protilátka konjugovaná s enzýmom, alkalickou fosfatázou označený kozí protimýšiaci IgG (Bio-Rad). Aktivita viazaného enzýmu sa merala pomocou systému zosilnenej detekcie (Gibco-BRL). Dáta inhibície sa analyzovali pomocou sigmoidnej rovnice dávka-odozva (s premenlivým sklonom) v GraphPad Prism. Koncentrácia, ktorá mala za následok 50 % inhibíciu aktivity kinázy, sa označuje ako „IC₅₀“. Výsledky sú zhrnuté v tabuľke 2.

Tabuľka 2

Inhibičné účinky premostených indenopyrolokarbazolových zlúčenín na aktivitu trkA kinázy

| Zlúčenina č. | trkA (% inh. pri 300 nM) IC ₅₀ , nM |
|--------------|--|
| II-1 | 13 |
| II-2 | (20) |
| II-3 | 9 |
| II-4a | 76 |
| II-4b | 16 |
| II-5 | 72 |
| II-6 | 6 |
| II-7a | 11 |
| II-7b | 5 |
| II-8 | 254 |
| II-9 | (34) |
| II-10 | (17) |
| II-11 | 121 |
| II-12 | 17 |
| II-14a | 14 |
| II-14b | 242 |

Príklad 2

Inhibícia fosforylácie trk stimulovanej NGF v celobunkovom prípravku

Inhibícia fosforylácie trk stimulovanej NGF vybranými premostenými indenopyrolokarbazolovými zlúčeninami sa uskutočnila podľa uvedeného popisu, ktorý bol modifikáciou publikovaného postupu (pozrite patent USA č. 5,516,771). NIH3T3 bunky transfikované pomocou trkA sa kultivovali v 100 mm miskách. Subkonfluentné bunky sa sérovo vyhladovali nahradením média bezsérovým 0,05 % BSA-DMEM obsahujúcim zlúčeninu (100 nM a 1 μ M) alebo DMSO (pridané ku kontrolám) na jednu hodinu pri 37 °C. NGF (Harlan/Bioproducts for Science) sa potom pridalo k bunkám pri koncentrácii ng/ml na 5 minút. Bunky sa lýzovali v tlmivom roztoku obsahujúcom detergent a proteázové inhibítory. Vyčistené bunkové lyzáty sa normalizovali na proteín pomocou metódy BCA a imunoprecipitovali anti-trk protilátkou. Polyklonálna anti-trk protilátka bola pripravená oproti peptidu zodpovedajúcemu 14 aminokyselinám na karboxylovom konci trk (Martin-Zanca et al., Mol. Cell. Biol. 9: 24 - 33, 1989). Imunitné komplexy sa zachytili na granuly Protein A Sepharose (Sigma Chem. Co., St. Lois, MO), oddelili sa elektroforézou na SDS polyakrylamidovom géli (SDS-PAGE) a preniesli sa do polyvinylidéndifluoridovej (PVDF) membrány. Membrána bola imunoblotovaná anti-fosfotyrozínovou protilátkou (UBI), potom sa inkubovala s kozím protimýšiacim IgG spojeným s chrenovou peroxidázou (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA). Fosforylované proteíny sa zviditeľnili pomocou ECL (Amersham Lite Science, Inc., Arlington Heights, IL). Plocha pásu trk proteínu sa odmerala a porovnávala s kontrolou stimulovanou pomocou NGF. Použitý systém skórovania inhibície na základe percentuálneho zníženia pásu trk proteínu bol nasledovný: 0 = žiadne zníženie; 1 = 1 - 25 %; 2 = 26 - 49 %; 3 = 50 - 75 %; 4 = 76 - 100 %. Výsledky sú uvedené v tabuľke 3.

Tabuľka 3

Účinky premostených indenopyrolokarbazolových zlúčenín na fosforyláciu trkA stimulovanú NGF v bunkách NIH3T3

| Zlúčenina č. | Skóre inhibície | |
|--------------|-----------------|-------------|
| | pri 100 nM | pri 1000 nM |
| II-1 | 3 | 4 |
| II-3 | 1 | 4 |
| II-4b | 0 | 2 |
| II-6 | 4 | 4 |
| II-7a | 3 | 4 |
| II-7b | 3 | 4 |

Príklad 3

Inhibícia aktivity kinázy receptora vaskulárneho endotelového rastového faktora

Premostené indenopyrolokarbazolové zlúčeniny boli skúmané na svoje inhibičné účinky na kinázovú aktivitu baculovírusom exprimovanej VEGF receptorovej (ľudský flk-1, KDR, VEGFR2) kinázovej domény pomocou postupu opísaného pre ELISA test trkA kinázy. Kinázová reakčná zmes pozostávajúca z 50 mM Hepes, pH 7,4, 40 μ M ATP, 10 mM MnCl₂, 0,1 % BSA, 2 % DMSO a rôznych koncentrácií inhibítora, sa preniesla na platničky pokryté PLC- γ /GST. Pridalo sa VEGFR kináza a reakcia sa nechala prebiehať 15 minút pri 37 °C. Detekcia fosforylovaného produktu sa uskutočnila pridaním anti-fosfotyrozínovej

protilátky (UBI). Pridala sa sekundárna s enzýmom konjugovaná protilátka, aby zachytila komplex protilátka-fosforylovaný PLC- γ /GST. Aktivita viazaného enzýmu sa merala pomocou systému zosilnenej detekcie (Gibco-BRL). Dáta inhibície sa analyzovali pomocou sigmoidnej rovnice dávka-odozva (s premenlivým sklonom) v GraphPad Prism. Výsledky sú zhrnuté v tabuľke 4.

Tabuľka 4

Inhibičné účinky premostených indenopyrolokarbazolových zlúčenín na aktivitu kinázy VEGF receptora

| Zlúčenina č. | VEGFR kináza (% inh. pri 300 nM) IC ₅₀ , nM |
|--------------|---|
| II-1 | 30 |
| II-1b | 67 |
| II-2 | > 10,000 |
| II-3 | 71 |
| II-4a | 17 |
| II-4b | 184 |
| II-5 | 398 |
| II-6 | 9 |
| II-7a | 87 |
| II-7b | 260 |
| II-8 | 26 |
| II-9 | 318 |
| II-10 | 601 |
| II-11 | 205 |
| II-12 | 20 |
| II-13 | 8 |
| II-14a | 32 |
| II-14b | 538 |
| II-15 | 25 |
| II-16a | 43 |
| II-16b | 57 |

Príklad 4

Inhibícia aktivity proteín kinázy C

Aktivita proteín kinázy C bola hodnotená pomocou Millipore Multiscreen TCA „in-plate“ testu podľa popisu v Pitt, A. M. a Lee, C. (J. Biomol. Screening, 1: 47-51, 1996). Testy sa uskutočnili v 96-jamkových platničkách Multiscreen-DP (Millipore). Každá 40 ml testovaná zmes obsahovala 20 mM Hepes, pH 7,4, 10 mM MgCl₂, 2,5 mM EGTA, 2,5 mM CaCl₂, 80 mg/ml fosfatidylserínu, 3,2 mg/ml dioleínu, 200 mg/ml histónu H-1 (Fluka), 5 mM [γ -³²P]ATP, 1,5 ng proteín kinázy C (UBI; zmiešané izozýmy a, b, g), 0,1 % BSA, 2 % DMSO a testovanú premostenú kondenzovanú pyrolokarbazolovú zlúčeninu. Reakcia sa nechala prebiehať 10 minút pri 37 °C, potom sa ukončila pridaním ľadovo studenej 50 % kyseliny trichlóroctovej. Platničky sa nechali ekvilibrovať 30 min. pri 4 °C, potom sa umyli ľadovo studenou 25 % TCA. Na platničky sa pridal scintilačný koktejl a rádioaktivita sa určila pomocou scintilačného počítača Wallac MicroBeta 1450 PLUS. Hodnoty IC₅₀ sa vypočítali korelovaním dát na sigmoidnú rovnicu dávka-odozva (s premenlivým sklonom) v GraphPad Prism. Výsledky sú zhrnuté v tabuľke 5.

Tabuľka 5

Inhibičné účinky premostených indenopyrolokarbazolových zlúčenín na aktivitu proteín kinázy C

| Zlúčenina č. | PRC (% inh. pri 1 μ M) IC ₅₀ , nM |
|--------------|--|
| II-1 | 1300 |
| II-2 | (-9) |
| II-3 | (23) |
| II-4a | (18) |
| II-4b | (28) |
| II-5 | (37) |
| II-6 | 221 |
| II-7a | 696 |
| II-7b | 568 |
| II-8 | 1078 |
| II-9 | (5) |
| II-10 | (5) |
| II-11 | (19) |
| II-12 | 518 |
| II-13 | 576 |
| II-14a | 126 |
| II-14b | 1239 |
| II-15 | (02) |
| II-16a | 46 |

Príklad 5

Inhibícia aktivity kinázy receptora rastového faktora odvodeného z trombocytov

Premostené indenopyrolokarbazolové zlúčeniny boli skúmané na svoje inhibičné účinky na kinázovú aktivitu baculovírusom exprimovanej PDGFR β receptorovej kinázovej domény pomocou ELISA testu trka kinázy. Testy sa uskutočnili v substrátových 96-jamkových mikrotitračných platničkách pokrytých (PLC- γ /GST). Každá 100 μ l reakčná zmes obsahovala 50 mM HEPES, pH 7,4, 20 μ M ATP, 10 mM MnCl₂, 0,1 % BSA, 2 % DMSO a rôzne koncentrácie inhibítora. Reakcia sa iniciovala pridaním predfosforylovaného rekombinantného ľudského enzýmu (10 ng/ml PDGFR β) a nechala sa prebiehať 15 minút pri 37 °C. Predfosforylovaný enzým sa pripravil pred použitím inkubáciou kinázy v tlmivom roztoku obsahujúcom 20 μ M ATP a 10 mM MnCl₂ počas 1 hodiny pri 4 °C. Detekcia fosforylovaného produktu sa uskutočnila pridaním chrenovej peroxidázy (HRP)-konjugovanej anti-fosfotyrozínovej protilátky (UBI). Neskôr sa pridal roztok substrátu HRP obsahujúci 3,3'-5,5'-tetrametylbenzidín a peroxid vodíka a platničky sa inkubovali 10 minút pri teplote miestnosti. Reakcia sa ukončila pridaním kyseliny a výsledná absorbancia sa odčítala pri 450 nm pomocou prístroja Microplate Bio-kinetics Reader (Bio-Tek Instrument EL 312e). Dáta inhibície sa analyzovali pomocou sigmoidnej rovnice dávka-odozva (s premenlivým sklonom) v GraphPad Prism. Výsledky sú zhrnuté v tabuľke 6.

Tabuľka 6

PDGFR inhibičné účinky premostených indenopyrolokarbazolových zlúčenín

| Zlúčenina č. | PDGFR (% inh. pri 1 μ M) IC ₅₀ , nM |
|--------------|--|
| II-1 | 1383 |
| II-2 | (7) |

Tabuľka 6 (pokračovanie)

| Zlúčenina č. | PDGFR (% inh. pri 1 μ M) IC ₅₀ , nM |
|--------------|--|
| II-3 | (28) |
| II-4a | (0) |
| II-4b | (17) |
| II-5 | 1076 |
| II-6 | 96 |
| II-7a | (36) |
| II-7b | (34) |
| II-8 | (15) |
| II-9 | (24) |
| II-10 | (23) |
| II-11 | (15) |
| II-12 | 125 |
| II-13 | 1229 |
| II-14a | 81 |
| II-14b | 1406 |

Príklad 6

Zvýšenie aktivity ChAT miechy

Ako je diskutované, ChAT je špecifický biochemický marker pre funkčné cholinergické neuróny. Cholinergické neuróny predstavujú dôležitý cholinergický vstup do hipokampálneho útvaru, čuchového jadra, interpedunkulárneho jadra, kortexu, amygdaly a častí talamu. V mieche sú motorické neuróny cholinergické neuróny, ktoré obsahujú ChAT (Phelps et al., J. Comp. Neurol. 273:459 - 472 (1988)). Aktivity ChAT sa použila na štúdium účinkov neurotrofinov (napr. NGF alebo NT-3) na prežité a/alebo funkciu cholinergických neurónov. Test ChAT slúži aj ako indikácia regulácie hladín ChAT v cholinergických neurónoch.

Premostené indenopyrolokarbazolové zlúčeniny zvyšovali aktivitu ChAT v teste kultúry disociovej miechy potkaních embryí (tabuľka 7). V týchto testoch sa napríklad zlú-

čenina priamo pridala do kultúry disociovej miechy. Zlúčeniny, ktoré zvyšovali aktivitu ChAT na aspoň 120 % aktivity kontroly, sa považovali za aktívne. Výsledky sú zhrnuté v tabuľke 7.

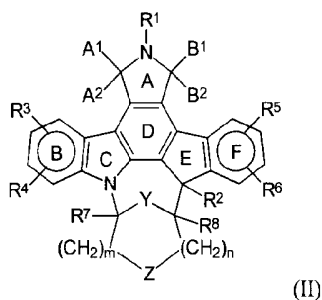
Tabuľka 7

Zvýšenie aktivity ChAT miechy premostenými indenopyrolokarbazolovými zlúčeninami

| ChAT miechy % kontroly | | |
|---------------------------|--------------------|--------------------|
| Zlúčenina č. | Aktivita pri 30 nM | Maximálna aktivita |
| II-1 | 114 | 139 pri 300 nM |

Metódy: Bunky miechy potkaních plodov sa disociovali a experimenty sa uskutočnili podľa popisu (Smith et al., J. Cell Biology 101: 1608 - 1621 (1985); Glicksman et al., J. Neurochem. 61: 210 - 221 (1993)). Disociované bunky sa pripravili z miech vypitvaných z potkanov (embryonálny deň 14 - 15) štandardnými trypsinovými disociačnými technikami (Smith et al., supra.). Bunky sa naplatičkovali pri 6×10^5 buniek/cm² na poly-1-ornitínom pokrytých kultivačných jamkách z plastového tkaniva v bezsérovom médiu N2 doplnenom 0,05 % albumínu hovädzieho séra (BSA) (Bottenstein et al., PNAS USA 76: 514 - 517 (1979)). Kultúry sa inkubovali pri 37 °C v zvlhčovanej atmosfére s 5 % CO₂/95 % vzduchu počas 48 hodín. Aktivita ChAT sa merala po 2 dňoch in vitro pomocou modifikácie Fonnumovho postupu (Fonnum, J. Neurochem. 24: 407 - 409 (1975)) podľa McManaman et al. a Glicksman et al. (McManaman et al., Developmental Biology 125: 311 - 320 (1988); Glicksman et al., J. Neurochem., supra.).

Zlúčeniny vzorca (II) opísané v príkladoch sú uvedené v tabuľke 8. Hodnoty pre R¹, R⁴, R⁶ a R⁷ sú H; Y je O a n je 1.



(II)

Tabuľka 8

| Zlúčenina č. | A ¹ A ² | B ¹ B ² | R ² | R ³ | R ⁵ | R ⁶ | Z | m |
|--------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------|----------------------------|----------------|---------------------|-------|---|
| II-1 | H, H | O | H | H | H | H | väzba | 1 |
| II-1b | H, H | O | H | H | H | H | väzba | 1 |
| II-2 | H, H | O | Et | H | H | H | väzba | 1 |
| II-3 | H, H | O | H | H | H | Me | väzba | 1 |
| II-4a | H, H | O | H | H | H | Me | väzba | 2 |
| II-4b | H, H | O | H | H | H | Me | väzba | 2 |
| II-5 | H, H | O | H | 3-Br | H | Me | väzba | 1 |
| II-6 | H, H | O | H | H | 10-OMe | H | väzba | 1 |
| II-7a | H, H | O | H | H | H | Me | O | 1 |
| II-7b | H, H | O | H | H | H | Me | O | 1 |
| II-8 | O | H, H | H | H | H | H | väzba | 1 |
| II-9 | H, H | O | H | 3-(3'-NH ₂ -Ph) | H | H | väzba | 1 |
| II-10 | O | O | OH | H | H | H | väzba | 1 |
| II-11 | H, H | O | H | H | H | CO ₂ -Et | väzba | 1 |

Tabuľka 8 (pokračovanie)

| Zlúčenina č. | A ¹ A ² | B ¹ B ² | R ² | R ³ | R ⁵ | R ⁸ | Z | m |
|--------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------|---|----------------|---------------------|-------|---|
| II-12 | H, H | O | H | H | H | CH ₂ -OH | väzba | 1 |
| II-13 | H, H | O | H | H | 9-OMe | H | väzba | 1 |
| II-14a | H, H | O | H | H | H | H | väzba | 1 |
| II-14b | H, H | O | H | H | H | H | väzba | 1 |
| II-15 | H, H | O | H | 3-CH ₂ O-CH ₂ OEt | H | H | väzba | 1 |
| II-16a | H, H | O | H | H | H | H | O | 1 |
| II-16b | H, H | O | H | H | H | H | O | 1 |

Všeobecný opis syntetických postupov a príklady

Všeobecný syntetický postup použitý na prípravu premostených indenopyrolokarbazolov podľa tohto vynálezu je zobrazený na obrázkoch 1 a 2. Všeobecné postupy na syntézu indenopyrolokarbazolov III/VIII možno uskutočniť podľa opisu v patente USA č. 5,705,511, ktorého publikácia sa týmto celá zahŕňa odkazom. Keď R¹ je H, laktámový dusík indenopyrolokarbazolov III/VIII je chránený vhodnou chrániacou skupinou, čo vedie k IV/IX. Chránené zlúčeniny sa spracúvajú vhodnou bázou v bezvodých organických rozpúšťadlách, čo má za následok vytvorenie tmavočerveného roztoku, čo sa pripisuje vzniku karbaniónu. Reakcia karbaniónu s dvojfunkčným reagentom V vedie k elektrofilnej adícii na väzbu C=Y vzorca (V) za vzniku počiatočného intermediátu VI/X. Pridaním buď kyseliny sulfónovej, alebo Lewisovej kyseliny, napríklad bórt trifluorid éterátu, k intermediátom VI/X a/alebo VII/XI sa získajú premostené indenopyrolokarbazoly I/II.

Stratégia chránenia laktámového dusíka (zobrazená na obrázkoch 3 a 4) sa môže uskutočniť buď kyslo, alebo bázičky katalyzovaným procesom. Kyselinou katalyzovanú reakciu možno uskutočniť činidlom viazaným na živicu, umožňujúcim imobilizáciu indenopyrolokarbazolu III/VIII na polymérny nosič, napríklad na Rinkovu kyselinovú živicu na báze polystyrénu XII (obrázok 3), čím sa získa XIII. Alternatívne možno kyselinou katalyzovanú reakciu uskutočniť s rozpustným činidlom, čím sa získa zlúčenina XIV (obrázok 4). Silylom chránená zlúčenina XV sa pripraví za bázičky katalýzy (obrázok 4).

Obrázok 5 opisuje niekoľko metód na prípravu intermediátu V. Postup (a) opisuje transformácie rôznych acetálov XVI na (XVII, Z = väzba). Napríklad ester-acetál/ketál (XVI, D = COOR) sa úplne redukuje na príslušný alkohol a potom sa oxiduje (napr. Swernovou alebo Dess-Martinovou oxidáciou) na aldehyd-acetál/ketál (XVII, R⁸ = H). Alternatívne sa ester-acetál/ketál (XVI, D = COOR) čiastočne redukuje pomocou DIBAL, čím sa získa priamo aldehyd (XVII, R⁸ = H). Podobne redukcia nitril-acetálu (XVI, D = CN) pomocou DIBAL dáva aldehyd (XVII, R⁸ = H). Keto-acetály/ketály sa pripravujú adíciou Grignardových činidiel na Weinrebamid-acetál/ketál (XVI, D = CON(OMe)Me).

Intermediát (XVII, Z = väzba) možno získať aj dvojstupňovým postupom načrtnutým v postupe (b). Pridanie organokovového činidla XIX k acetálu/ketálu XVIII dáva alkén XX, ktorý ozonolýzou s nasledujúcim redukčným spracovaním dáva keto-acetál/ketál XVII. Príprava intermediátu (XVII, Z = heteroatóm) dvojstupňovým postupom je načrtnutá v postupe (c). Naviazanie acetálu XXII na alkén XXI s nasledujúcou ozonolýzou (s redukčným spracovaním) získaného alkénu dáva keto-acetál/ketál XVII. Alternatívne možno intermediát (XVII, Z = heteroatóm) pripraviť dvojstupňovým postupom načrtnutým v postupe (d). Reakcia zlúčeniny XXIV s acetálom/ketálom XVIII dáva XXV, ktorá sa trans-

formuje na keto-acetál/ketál XVII metódami opísanými v postupe (a). Kondenzácia keto-acetálu/ketálu XVII s hydroxylamínmi, hydrazínmi, N-alkyl-N-alkoxyamínmi a aminmi dáva intermediát XXVI nesúci elektrofilnú funkciu C=N.

Na živicu naviazaný indenopyrolokarbazol XIII [obrázok 6, metóda A] sa pôsobí nadbytkom Grignardovho činidla ako bázy, čo vedie k vytvoreniu tmavočerveného roztoku karbaniónu. Následná reakcia s V vedie k produktom získaným elektrofilnou adíciou na skupinu C=Y. Spracovanie vodou a odštiepenie produktov od živice zriedenou kyselinou (1 % TFA v dichlórmetáne) vedie k izolácii zlúčenín XXVII a/alebo XXVIII. Pridaním buď kyseliny sulfónovej alebo Lewisovej kyseliny, napríklad bórt trifluorid éterátu, k intermediátom XXVII a/alebo XXVIII sa získajú premostené indenopyrolokarbazoly II.

Podobná stratégia sa používa na reakciu rozpustného laktámového chráneného intermediátu, napr. XV (obrázok 7, metóda B). V tomto prípade sa však na intermediát XV pôsobí činidlom Triton B v pyridíne ako bázou namiesto Grignardovho činidla. Intermediáty XXIX a/alebo XXX možno izolovať s chrániacou skupinou laktámu nedotknutou a možno ich čistiť chromatografiou. Rovnako ako v metóde A (obrázok 6), pôsobenie Lewisovej kyseliny (napríklad bórt trifluorid éterát) vedie k premosteným indenopyrolokarbazolom II, kde R¹ = H.

Zavedenie skupín R³, R⁴, R⁵ a R⁶ možno uskutočniť podľa popisu v patentoch USA č. 5,705,511 a 4,923,986, ktorých publikácie sa týmto celú zahŕňajú odkazom. Substituent R³ možno inak zaviesť po skonštruovaní premostených indenopyrolokarbazolov, ako je uvedené na obrázku 8. Poloha 3 kruhu B sa brómuje pomocou NBS, čím sa získa zlúčenina XXXI. Potom sa zavedie uhľkatý fragment pomocou paládiom katalyzovanej Stilleho, Suzukiho, Heckovej, Kumadovej alebo Castro-Stephensovej reakcie, čím sa získajú zlúčeniny typu XXXII, XXXIII atď. Okrem toho zlúčenina XXXI môže poskytnúť prístup k zlúčeninám, kde je bróm nahradený heteroatómom, napr. skupinou na báze amínu, použitím Buchwaldovej paládiom katalyzovanej aminačnej chémie.

Oxidačným procesom možno zaviesť skupinu naviazanú cez kyslík na indénový uhlík kruhu E, ako to ukazuje obrázok 9, zlúčenina XXXIV. Táto chémia tiež vedie k oxidácii metylénovej skupiny laktámu (kruh A), čím sa získa amidový derivát, ako je uvedené.

Príklad 7

Príprava intermediátov viazaných na Rinkovu živicu: (XIII-A), (XIII-B) a (XIII-C), (obrázok 3)

Príklad 7-A

Trojhrdlová banka s guľatým dnom vybavená horným mechanickým miešadlom a Dean-Starkovým nastavcom sa postupne naplnila Rinkovou kyselinovou živicom XII (10,00 g, 0,64 mmol/g), 1-metyl-2-pyrolidinónom (80 ml), benzénom (350 ml), VIII-A [A¹, A² = H₂, B¹, B² = O, R³ =

= R⁴ = R⁵ = R⁶ = H)] (3,00 g) a kyselinou p-toluénsulfónovou (1,00 g). Reakčná zmes sa zahrievala na reflux 20 hodín a potom sa prefiltrovala. Živica sa premyla THF (5 x 175 ml) a filtrát sa odložil. Živica sa potom postupne premyla DMSO (4 x 100 ml), 2 % vodným NaHCO₃ (4 x 100 ml), vodou (4 x 100 ml), DMSO (2 x 200 ml), THF (4 x 100 ml) a etylacetátom (4 x 100 ml). Živica sa vysušila za vakuu (24 hodín), čím sa získalo 11,70 (0,47 mmol/g) na živicu viazaného VIII-A (XIII-A).

Pôvodné extrakty v THF sa odparili, zvyšok sa zriedil vodou (750 ml) a získaná zrazenina sa prefiltrovala a postupne premyla vodou, 2 % vodným NaHCO₃ (4 x 100 ml), a vodou (4 x 100 ml). Po vysušení vo vákuu sa získala látka VIII-A (1,28 g).

Príklad 7-B

Podobným spôsobom sa na Rinkovu kyselinovú živicu XII (1,52 g) naviazala látka VIII-B [A¹, A² = O, B¹, B² = H₂, R³ = R⁴ = R⁵ = R⁶ = H], (0,5 g), čím sa získalo 1,58 g na živicu naviazanej látky VIII-B, (XIII-B).

Príklad 7-C

Podobným spôsobom sa na Rinkovu kyselinovú živicu (3,12 g) naviazala látka VIII-C [A¹, A² = H₂, B¹, B² = O, R³ = R⁴ = R⁵ = H, R⁶ = 10-OMe], (1,02 g), čím sa získalo 3,70 (0,46 mmol/g) na živicu naviazanej zlúčeniny VIII-C, (XIII-C) spolu so spätne získanou zlúčeninou VIII-C (0,44 g).

Príklad 8

Príprava zlúčeniny (II-1), zlúčeniny (II-2), zlúčeniny (II-3), zlúčeniny (II-4a), zlúčeniny (II-4b), zlúčeniny (II-6) a zlúčeniny (II-8). [Metóda A, obrázok 6]

Príklad 8-A

Do suspenzie (XIII-A), (1,25 g) v THF (24 ml) sa pridal 1,0 M roztok EtMgBr (6,25 ml v THF) a reakčná zmes sa miešala 1 hodinu pred pridaním HMPA (5,0 ml). Po 10 minútach miešania sa pridal dietoxybutyraldehyd (3,0 g) [ktorý sa pripravil podľa literárneho postupu: Paguette, L. A., Bachhaus, D., Braum, R., Underiner, T. L., a Fuchs, K. J. Am. Chem. Soc. 1997, 119, 9662-71], a reakčná zmes sa miešala 20 hodín. Reakcia sa ukončila pridaním 10 % vodného NH₄Cl (5 ml) a prefiltrovala sa. Živica sa postupne premyla 10 % vodným NH₄Cl (3 x 10 ml), vodou (3 x 10 ml), THF (3 x 10 ml), DMF (3 x 10 ml), vodou (3 x 10 ml), THF (3 x 10 ml) a éterom (3 x 10 ml). Živica sa vysušila za vakuu, rozmiešala sa v dichlórmetáne (15 ml) a pridala sa kyselina trifluóroctová (0,15 ml). Po 1 hodine miešania sa reakčná zmes prefiltrovala a filtrát sa odparil. Získaný zvyšok sa rozpustil v dichlórmetáne (20 ml), pridal sa pyridinium tozylát (50 mg) a získaný roztok sa miešal 4 hodiny. Reakčná zmes sa premyla nasýteným vodným NaHCO₃ a soľankou a vysušila sa nad MgSO₄. Po filtrácii a odparení rozpúšťadla sa zvyšok vyčistil preparatívnou HPLC (Zorbax RX-8, 4 x 25 cm, elúcia 60 % zmesou MeCN a vody s 0,1 % kyseliny trifluóroctovej). Príslušné frakcie sa neutralizovali NaHCO₃, extrahovali do dichlórmetánu (3 x 50 ml) a vysušili nad MgSO₄. Po filtrácii a odparení rozpúšťadla sa získalo 70,2 mg zlúčeniny II-1 vo forme bieleho prášku, ktorý mal nasledujúce charakteristiky: ¹³C NMR (DMSO-d₆) δ 171,8, 143,3, 142,4, 141,4, 140,1, 140,0, 136,6, 129,2, 127,9, 127,4, 127,1, 126,8, 124,1 (2C), 122,7, 121,6, 121,5, 118,3, 112,1, 88,1, 79,2, 56,6, 45,6, 33,4, 24,8; ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 9,21 (d, J = 7,5, 1 H), 8,62 (s, 1 H), 7,98 (d, J = 7,7, 1 H),

7,86 (d, J = 8,3, 1 H), 7,71 (d, J = 7,3, 1 H), 7,49 (dd, J = 7,9, 7,4, 1 H), 7,41 (dd, J = 7,5, 7,4, 1 H), 7,36 - 7,27 (m, 2 H), 6,86 (d, J = 6,0, 1 H), 5,63 - 5,58 (m, 1 H), 4,91 (s, 2 H), 4,53 (d, J = 3,3, 1 H), 2,23 - 2,14 (m, 1 H), 1,96 - 1,92 (m, 1 H), 0,96 - 0,88 (m, 1 H), 0,60 - 0,57 (m, 1 H); MS m/z (M + H) vypočítané 379, nájdené 379.

Preparatívnu HPLC tejto reakčnej zmesi sa izolovala aj zlúčenina II-2 (0,5 mg), ktorá mala nasledujúce charakteristiky: ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 9,17 (d, J = 8,1, 1 H), 8,62 (s, 1 H), 7,98 (d, J = 7,0, 1 H), 7,85 (d, J = 6,8, 1 H), 7,57 (d, J = 6,8, 1 H), 7,49 (dd, J = 7,9, 7,4, 1 H), 7,44 - 7,26 (m, 3 H), 6,81 (d, J = 6,0, 1 H), 5,43 - 5,33 (m, 1 H), 4,43 (s, 2 H), 2,23 - 2,14 (m, 1 H), 1,96 - 1,92 (m, 1 H), 1,45 - 1,55 (m, 2 H), 0,96 - 0,88 (m, 1 H), 0,60 - 0,57 (m, 1 H), 0,29 (t, J = 7,0, 3 H); MS m/z (M + H) vypočítané 407, nájdené 407.

Príklad 8-B

Podobným spôsobom, ako je opísané pre zlúčeninu II-1, sa na živicu (XIII-A) (70,3 mg) pôsobilo 1,1-dietoxy-2-pentanómom (0,75 ml) [ktorý sa pripravil podľa literatúry: Sworin, M. a Neuman, W. L. J. Org. Chem. 1988, 53, 4894-6], čím sa získala zlúčenina II-3 (3,5 mg), ktorá bola izolovaná preparatívnou TLC (silikagél, elúcia zmesou 50 % EtOAc/toluén) a mala nasledujúce vlastnosti: ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 9,42 (d, J = 8,2, 1 H), 8,58 (s, 1 H), 7,95 (d, J = 7,4, 1 H), 7,79 (d, J = 8,3, 1 H), 7,71 (d, J = 7,1, 7,50 - 7,20 (m, 4 H), 6,81 (d, J = 5,9, 1 H), 4,90 (s, 2 H), 4,46 (s, 1 H), 2,35 - 2,20 (m, 1 H), 1,98 (s, 3 H), 1,75 - 1,60 (m, 1 H), 1,25 - 1,00 (m, 1 H), 0,35 - 0,15 (m, 1 H); MS m/z (M + H) vypočítané 393, nájdené 393.

Príklad 8-C

Podobným spôsobom sa na zlúčeninu (XIII-A) (74,3 mg) pôsobilo 1,1-dietoxy-2-hexanómom [ktorý sa pripravil podľa literatúry: Brenner, J. E., J. Org. Chem. 1961, 26, 22-7] (0,75 ml), čím sa získala zlúčenina II-4a (2,10 mg) a zlúčenina II-4b (1,06 mg), ktoré boli individuálne izolované preparatívnou HPLC (Zorbax RX-8, 4 x 25 cm, 65 % MeCN/voda s 0,1 % kyseliny trifluóroctovej). Zlúčenina II-4a mala nasledujúce vlastnosti: ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 9,30 (d, J = 8,3, 1 H), 8,55 (s, 1 H), 7,97 (d, J = 7,2, 1 H), 7,65 (d, J = 8,5, 1 H), 7,59 (d, J = 7,59, 7,48 (dd, J = 7,8, 7,2, 1 H) 7,39 - 7,15 (m, 3 H), 6,31 (dd, J = 5,9, 5,5, 1 H), 5,02 (s, 1 H), 4,88 (s, 2 H), 0,88 (s, 3 H) iné alifatické signály stratené pod píkmí rozpúšťadla; MS m/z (M+H) vypočítané 407, nájdené 407. Zlúčenina II-4b mala nasledujúce vlastnosti: ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 9,43 (d, J = 8,1, 1 H), 8,59 (s, 1 H), 7,99 (d, J = 7,3, 1 H), 7,75 - 7,65 (m, 2 H), 7,49 (dd, J = 7,0, 6,4, 1 H), 7,43 (dd, J = 8,2, 8,1, 1 H), 7,36 - 7,25 (m, 2 H), 6,75 (s, 1 H), 4,91 (s, 2 H), 4,50 (s, 1 H), 1,95 (s, 3 H) iné alifatické signály stratené pod píkmí rozpúšťadla; MS m/z (M + H) vypočítané 407, nájdené 407.

Príklad 8-D

Podobným spôsobom sa na zlúčeninu (XIII-C) (1,00 g) pôsobilo dietoxybutyraldehydom (3,65 g), čím sa získala zlúčenina II-6 (87,8 mg), ktorá bola izolovaná preparatívnou HPLC (Zorbax RX-8, 2,5 x 25 cm, 65 % MeCN/voda s 0,1 % kyseliny trifluóroctovej) a mala nasledujúce vlastnosti: ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 9,09 (d, J = 8,6, 1 H), 8,60 (s, 1 H), 7,95 (d, J = 7,4, 1 H), 7,84 (d, J = 8,3, 1 H), 7,47 (dd, J = 7,2, 7,0, 1 H), 7,35 (s, 1 H), 7,29 (dd, J = 7,0, 7,0, 1 H), 6,98 (dd, J = 8,6, 1,9, 1 H), 6,83 (d, J = 6,0, 1 H), 5,65 -

- 5,55 (m, 1 H), 4,88 (s, 2 H), 4,48 (d, J = 3,9, 1 H), 3,82 (s, 3 H), 2,25 - 2,10 (m, 1 H), 2,08 - 1,85 (m, 1 H), 0,96 - 0,75 (m, 1 H), 0,65 - 0,50 (m, 1 H); MS m/z (M+Na) vypočítané 431, nájdené 431.

Príklad 8-E

Podobným spôsobom sa na živicu (XIII-B) (153,2 mg) pôsobilo dietoxybutyraldehydom (1,5 ml), čím sa získala zlúčenina II-8 (3,6 mg), ktorá bola izolovaná preparatívnou HPLC (Zorbax RX-8, 2,5 x 25 cm, 65 % MeCN/voda s 0,1 % kyseliny trifluórotovej) a mala nasledujúce vlastnosti: ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 9,09 (d, J = 7,9, 1 H), 8,81 (s, 1 H), 7,81 - 7,73 (m, 3 H), 7,48 - 7,35 (m, 3 H), 7,24 (dd, J = 7,6, 7,5, 1 H), 6,85 (d, J = 6,2, 1 H), 5,63 - 5,59 (m, 1 H), 4,86 (s, 2 H), 4,61 (d, J = 3,6, 1 H), 3,82 (s, 3 H), 2,21 - 2,13 (m, 1 H), 1,96 - 1,90 (m, 1 H), 0,87 - 0,79 (m, 1 H), 0,61 - 0,56 (m, 1 H); MS m/z (M+ H) vypočítané 379, nájdené 379.

Príklad 9

Príprava zlúčeniny II-7a a zlúčeniny II-7b (metóda A, obrázok 6)

Príklad 9-A

Príprava (1,1-dietoxyetoxy)acetónu

Do studenej (0 °C) suspenzie NaH (2,68 g, 60 %) v THF (15,0 ml) sa pridal roztok 1,1-dietoxyetanolu [ktorý bol pripravený podľa literatúry: Zirkle, C. L. et. al. J. Org. Chem. 1961, 26, 395-407] (9,00 g) v THF (20 ml), a reakčná zmes sa miešala pri teplote miestnosti 1 hodinu pred pridaním metalychloridu (8,0 ml). Reakčná zmes sa zahrievala na reflux cez noc, ochladila sa a prefiltrovala cez vrstvu celitu. Rozpúšťadlo sa odstránilo na rotačnej odparke a zvyšok sa vyčistil stĺpcovou chromatografiou (silikagél, 20 % éter/hexán), čím sa získal 1,1-dietoxyetylmetalyléter (11,5 g, 90 %). Ozonolýza chladeného (-30 °C) roztoku tohto éteru (6,00 g) v EtOAc (80 ml) sa uskutočňovala do vtedy, kým sa pomocou TLC nedokázala neprítomnosť východiskovej látky (1 hodina). Vtedy sa reakčná zmes prepláchlá kyslíkom, pridal sa Pd(OH)₂ (150 mg) a zmes sa miešala pod atmosférou vodíka cez noc. Katalyzátor sa odfiltraval a filtrát sa nakoncentroval na rotačnej odparke. Získaný zvyšok sa vyčistil stĺpcovou chromatografiou (silikagél, 20 % EtOAc/hexán), čím sa získala titulná zlúčenina (4,53 g, 82 %).

Príklad 9-H

Podľa metódy A (obrázok 6) sa na živicu (XIII-A) (230,2 mg) pôsobilo EtMgBr (1,25 ml) a potom (1,1-dietoxyetoxy)acetónom (príklad 8-A) (1,2 ml). Po spracovaní a odštiepení od živice sa časť surového reakčného produktu (10,5 mg) rozpustila v dichlórmetáne (20 ml) a pridal sa BF₃ éterát (20 µl). Po 2,5 hodinách miešania sa roztok premyl nasýteným vodným NaHCO₃ a soľankou a vysušil sa nad MgSO₄. Po filtrácii a odstránení rozpúšťadla sa zvyšok vyčistil preparatívnou HPLC (Zorbax RX-8, 4 x 25 cm, 65 % MeCN/voda s 0,1 % kyseliny trifluórotovej), čím sa získala zlúčenina II-7a (2,34 mg) a zlúčenina II-7b (1,34 mg). Zlúčenina (II-7a) mala nasledujúce vlastnosti: ¹H NMR (CDCl₃) δ 9,35 - 9,20 (m, 1 H), 7,87 (d, J = 7,6, 1 H), 7,62 (d, J = 7,0, 1 H), 7,60 - 7,45 (m, 1 H), 7,49 (dd, J = 7,7, 7,5, 1 H), 7,40 (d, J = 8,1, 1 H), 7,37 - 7,26 (m, 3 H), 6,22 (s, 1 H), 5,20 - 4,85 (m, 1 H), 4,47 (s, 1 H), 3,67 (d, J = 12,7, 1 H), 3,52 (d, J = 11,8, 1 H), 3,40 (d, J = 12,7, 1 H), 3,38 (d, J = 11,8, 1 H), 1,91 (s, 3 H); MS m/z (M+ H) vypočítané 409, nájdené 409.

Zlúčenina II-7b mala nasledujúce vlastnosti: ¹H NMR (CDCl₃) δ 9,58 - 9,22 (m, 1 H), 7,82 (d, J = 7,4, 1 H), 7,60 - 7,40 (m, 3 H), 7,37 - 7,27 (m, 3 H), 7,21 (d, J = 8,1, 1 H), 5,81 (s, 1 H), 5,21 (s, 1 H), 5,10 - 4,80 (m, 1 H), 4,59 (d, J = 13,5, 1 H), 4,38 (dd, J = 13,5, 5,3, 1 H), 4,21 (d, J = 13,1, 1 H), 3,82 (d, J = 13,2, 1 H), 1,13 (s, 3 H); MS m/z (M+ H) vypočítané 409, nájdené 409.

Príklad 10

Príprava zlúčeniny II-5 (obrázok 8)

Do roztoku zlúčeniny II-1 (8,1 mg) v THF (2 ml) sa pridal NBS (4,6 mg) a reakčná zmes sa miešala cez noc. Pridal sa ďalší NBS (4,5 mg) a reakčná zmes sa miešala 2,5 hodiny. Nerozpustný materiál sa odfiltraval a filtrát sa nakoncentroval na rotačnej odparke. Získaný zvyšok sa vyčistil stĺpcovou chromatografiou (C-18, 65 % MeCN/voda s 0,1 % kyseliny trifluórotovej). Príslušné frakcie sa neutralizovali NaHCO₃, extrahovali do dichlórmetánu (3 x 20 ml) a vysušili nad MgSO₄. Po filtrácii a odparení rozpúšťadla sa získala zlúčenina II-5 (5,1 mg) vo forme bieleho prášku, ktorý mal nasledujúce charakteristiky: ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 9,22 (d, J = 7,4, 1 H), 8,67 (s, 1 H), 8,14 (s, 1 H), 7,86 (d, J = 8,7, 1 H), 7,72 (d, J = 7,0, 1 H), 7,63 (d, J = 7,8, 1 H), 7,42 (dd, J = 7,5, 7,3, 1 H), 7,35 (dd, J = 7,3, 7,2, 1 H), 6,86 (d, J = 6,0, 1 H), 5,63 - 5,58 (m, 1 H), 4,94 (s, 2 H), 4,54 (d, J = 3,1, 1 H), 2,30 - 2,14 (m, 1 H), 2,00 - 1,82 (m, 1 H), 0,96 - 0,88 (m, 1 H), 0,62 - 0,50 (m, 1 H); MS m/z (M+ H) vypočítané 457/9 (1 : 1), nájdené 457/9 (1 : 1).

Príklad 11

Príprava intermediátu XV (obrázok 4)

Do roztoku VIII-A [A¹, A² = H₂, B¹, B² = O, R³ = R⁴ = R⁵ = R⁶ = H] (1,05 g) v DMF (25 ml) sa pridal trietylamín (0,75 ml) a *t*-butyldimetylsilylchlorid (TBS-Cl) (0,65 g). Po 3 hodinách miešania sa reakcia ukončila pridaním nasýteného vodného NaHCO₃ a zmes sa extrahovala do EtOAc. Organická vrstva sa premyla vodou a soľankou a vysušila sa nad MgSO₄. Po filtrácii a odparení rozpúšťadla sa získaný zvyšok rozotrel s éterom, čím sa získala zlúčenina XV (848 mg). Extrakty sa odparili a zanechali zvyšok, ktorý sa vyčistil stĺpcovou chromatografiou (silikagél, 1 % EtOAc/CH₂Cl₂) a získal sa ďalší produkt (502 mg, kombinovaný výťažok 94 %), ktorý mal nasledujúce spektrálne vlastnosti: ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 11,94 (s, 1 H), 9,32 (d, J = 7,6, 1 H), 8,03 (d, J = 7,7, 1 H), 7,64 (d, J = 7,2, 1 H), 7,58 (d, J = 8,1, 1 H), 7,44 (dd, J = 7,7, 7,6, 1 H), 7,39 (dd, J = 7,7, 7,6, 1 H), 7,32 (d, J = 7,3, 1 H), 7,25 (dd, J = 7,6, 7,3, 1 H), 5,00 (s, 2 H), 4,14 (s, 2 H), 0,99 (s, 9 H), 0,46 (s, 6 H); MS m/z (M+ H) vypočítané 425, nájdené 425.

Príklad 12

Príprava zlúčeniny II-1 metódou B (obrázok 7)

Roztok činidla Triton B v pyridíne (0,45 M) sa pripravil rozpustením 40 % roztoku činidla Triton B v metanole (10 ml) v pyridíne (10 ml). Rozpúšťadlo sa odstránilo za zníženého tlaku (20 mm Hg) na konečný objem ~ 8 ml. Zvyšok sa zriedil pyridínom na 50 ml, prefiltraval a uložil pod dusíkom. Roztok látky XV (20,3 mg) v pyridíne (2,0 ml) sa vpláchol argónom a pridalo sa 300 µl činidla Triton B (0,45 M v pyridíne) a dietoxybutyraldehyd (50 µl). Po 2 hodinách miešania sa reakčná zmes extrahovala do EtOAc, premyla sa 1 N vodnou HCl, soľankou a vysušila sa nad MgSO₄. Po filtrácii a odparení rozpúšťadla sa adukt rozpustil v CH₂Cl₂ (10 ml) a pridal sa BF₃ éterát (10 µl). Po 2,0 hodinách miešania sa roztok premyl nasýteným vodným NaHCO₃ a soľankou

kou a vysušil sa nad $MgSO_4$. Odstránením rozpúšťadla na rotačnej odparke sa získal zvyšok, ktorý sa vyčistil preparatívnou HPLC (Zorbax RX-8, 2,5 x 25 cm, 65 % MeCN/voda s 0,1 % kyseliny trifluóroctovej). Príslušné frakcie sa neutralizovali $NaHCO_3$, extrahovali do dichlórmetánu (3 x 20 ml) a vysušili nad $MgSO_4$. Po filtrácii a odparení rozpúšťadla sa získala látka II-1 (11,8 mg, 65 % výťažok), ktorej 1H NMR a MS spektrá a HPLC retenčný čas boli identické s materiálom pripraveným a izolovaným metódou A opísanou v príklade 8-A.

Príklad 13

Príprava zlúčeniny II-9 (obrázok 8)

Do suspenzie brómovanej zlúčeniny II-5 (6,2 mg) v 1-propanole (4,0 ml) sa pridala kyselina 3-aminofenylboritá (3,8 mg). Po 0,25 hodiny miešania sa postupne pridali $Pd(OAc)_2$ (2,0 mg), Ph_3P (4,8 mg), Na_2CO_3 (2,8 mg) a voda (2,0 ml). Zmes sa zahrievala na reflux 0,75 hodiny, ochladila sa, extrahovala do CH_2Cl_2 a premyla sa vodou a soľankou. Organická vrstva sa vysušila nad $MgSO_4$ a rozpúšťadlo sa odstránilo na rotačnej odparke, čím sa získal zvyšok, ktorý sa vyčistil preparatívnou HPLC (Zorbax RX-8, 2,5 x 25 cm, 50 % MeCN/voda s 0,1 % kyseliny trifluóroctovej). Príslušné frakcie sa neutralizovali $NaHCO_3$, extrahovali do dichlórmetánu (3 x 20 ml) a vysušili nad $MgSO_4$. Po filtrácii a odparení rozpúšťadla sa získala zlúčenina II-9 (3,1 mg, 49 % výťažok) s nasledujúcimi spektrálnymi charakteristikami: 1H NMR ($DMSO-d_6$) δ 9,22 (d, J = 7,5, 1 H), 8,66 (s, 1 H), 8,00 - 7,25 (m, 8 H), 7,12 (dd, J = 7,1, 7,0, 1 H), 6,95 - 6,80 (m, 3 H), 6,53 (d, J = 6,0, 1 H), 5,63 - 5,58 (m, 1 H), 4,99 (s, 2 H), 4,55 (s, 1 H), 2,25 - 2,10 (m, 1 H), 1,95 - 1,90 (m, 1 H), 0,98 - 0,88 (m, 1 H), 0,65 - 0,57 (m, 1 H); MS m/z (M+ H) vypočítané 470, nájdené 470.

Príklad 14

Príprava zlúčeniny II-10 (obrázok 9)

Do roztoku zlúčeniny II-1 (5,0 mg) v DMSO (1 ml) sa pridali $NaCN$ (4,3 mg) a zmes sa zahrievala na 145 °C 1 hodinu. Zmes sa ochladila, extrahovala do EtOAc a premyla vodou (3 x 20 ml) a soľankou. Organická vrstva sa vysušila nad $MgSO_4$, prefiltrovala a odparila, čím sa získal zvyšok, ktorý sa vyčistil preparatívnou HPLC (Zorbax RX-8, 2,5 x 25 cm, 55 % MeCN/voda s 0,1 % kyseliny trifluóroctovej). Príslušné frakcie sa neutralizovali $NaHCO_3$, extrahovali do dichlórmetánu (3 x 20 ml) a vysušili nad $MgSO_4$. Po filtrácii a odparení rozpúšťadla sa získala zlúčenina II-10 (2,7 mg, 50 % výťažok) s nasledujúcimi spektrálnymi charakteristikami: 1H NMR ($DMSO-d_6$) δ 11,4 (s, 1 H), 8,86 (d, J = 7,9, 1 H), 8,79 (d, J = 7,6, 1 H), 7,90 (d, J = 8,3, 1 H), 7,62 - 7,55 (m, 2 H), 7,49 (dd, J = 7,6, 7,4, 3 H), 7,40 (dd, J = 7,4, 7,3, 1 H), 7,35 (dd, J = 7,5, 7,4, 1 H), 6,86 (d, J = 6,0, 1 H), 6,03 (s, 1 H), 5,40 - 5,30 (m, 1 H), 2,25 - 2,14 (m, 1 H), 2,03 - 1,90 (m, 1 H), 1,10 - 0,98 (m, 1 H), 0,82 - 0,77 (m, 1 H).

Príklad 15

Príprava zlúčeniny II-11 (metóda A, obrázok 6)

Podľa metódy A sa nechala reagovať živica (XIIIa) (150,2 mg) s $EtMgBr$ (1,0 ml) a potom s etyl-2,5-dioxopentanoátom [Schmidt, U., Reidl, B. *Synthesis*, 1993, 809] (1,5 ml). Po spracovaní a odštiepení od živice sa surový reakčný produkt rozpustil v dichlórmetáne (20 ml) a pridali sa BF_3 éterát (20 μ l). Po 2,5 hodinách miešania sa roztok premyl nasýteným vodným $NaHCO_3$ a soľankou a vysušil sa nad $MgSO_4$. Po filtrácii a odstránení rozpúšťadla sa zvyšok

vyčistil preparatívnou HPLC (Zorbax RX-8, 4 x 25 cm, 55 % MeCN/voda s 0,1 % kyseliny trifluóroctovej), čím sa získala zlúčenina II-11 (6,4 mg), ktorá mala nasledujúce vlastnosti: 1H NMR ($DMSO-d_6$) δ 9,36 (d, J = 7,7, 1 H), 8,68 (s, 1 H), 8,00 (d, J = 7,7, 1 H), 7,83 (d, J = 8,3, 1 H), 7,58-7,15 (m, 5 H), 6,97 (d, J = 5,9, 1 H), 4,93 (s, 2 H), 4,82 (s, 1 H), 4,48 (q, J = 7,1, 2 H), 2,42 - 1,91 (m, 2 H), 1,37 (t, 3H, J = 7,1), 1,25 - 0,63 (m, 2 H).

Príklad 16

Príprava zlúčeniny II-12

K roztoku zlúčeniny II-11 (3,4 mg) v THF (2 ml) sa pridali 2 M roztok $LiBH_4$ (1,0 ml v THF) a reakčná zmes sa miešala 1,5 hodiny. Reakcia sa ukončila pridaním 1 N vodnej HCl (4 ml). Po 20 minútach miešania sa pridali 10 % vodný roztok $NaOH$ (15 ml) a zmes sa extrahovala do dichlórmetánu (3 x 10 ml). Po vysušení nad $MgSO_4$ sa zmes prefiltrovala a rozpúšťadlo sa odparilo, čím sa získala zlúčenina II-12 (0,32 mg), ktorá mala nasledujúce vlastnosti: 1H NMR ($DMSO-d_6$) δ 9,35 (d, J = 7,7, 1 H), 8,62 (s, 1 H), 7,98 (d, J = 7,7, 1 H), 7,83 (d, J = 8,2, 1 H), 7,75 (d, J = 8,2, 1 H), 7,50 - 7,25 (m, 4 H), 6,84 (d, J = 7,7, 1 H), 6,11 (s, 1 H), 4,91 (s, 2 H), 4,71 (s, 1 H), 4,50 - 4,40 (m, 1 H), 4,30 - 4,20 (m, 1 H), 2,42 - 1,91 (m, 2 H), 1,25 - 0,63 (m, 2 H); MS m/z (M+ H) vypočítané 409, nájdené 409.

Príklad 17

Príprava zlúčeniny II-13

Podľa postupu z príkladu 11 sa roztok zmesi asi 95:5 látky VIII-C [A^1 , $A^2 = H_2$, B^1 , $B^2 = O$, $R^3 = R^4 = R^5 = H$, $R^6 = OMe$] a VIII-D [A^1 , $A^2 = H_2$, B^1 , $B^2 = O$, $R^3 = R^4 = R^5 = H$, $R^6 = OMe$] (1,25 g) silylovala v DMF (45 ml) s trietylaminom (0,85 ml) a *t*-butyldimetylsilylchloridom (0,65 g), čím sa získala látka VIII-B-TDBMS (1,41 g), ktorá mala nasledujúce spektrálne vlastnosti: 1H NMR ($DMSO-d_6$) δ 11,91 (s, 1 H), 9,18 (d, J = 8,6, 1 H), 7,99 (d, J = 7,8, 1 H), 7,56 (d, J = 8,0, 1 H), 7,42 (dd, J = 7,7, 7,6, 1 H), 7,30 - 7,20 (m, 2 H), 6,95 (dd, J = 7,6, 2,5, 1 H), 4,97 (s, 2 H), 4,09 (s, 2 H), 3,81 (s, 3 H), 0,99 (s, 9 H), 0,45 (s, 6 H). Stĺpcovou chromatografiou sa izolovala aj látka VIII-D-TBDMS (65 mg), ktorá mala nasledujúce spektrálne vlastnosti: 1H NMR ($DMSO-d_6$) δ 11,92 (s, 1 H), 9,01 (d, J = 1,8, 1 H), 8,02 (d, J = 7,9, 1 H), 7,58 (d, J = 8,1, 1 H), 7,53 (d, J = 8,3, 1 H), 7,44 (dd, J = 7,2, 7,1, 1 H), 7,25 (dd, J = 7,2, 7,1, 1 H), 6,91 (dd, J = 8,1, 2,7, 1 H), 4,99 (s, 2 H), 4,06 (s, 2 H), 3,78 (s, 3 H), 0,99 (s, 9 H), 0,46 (s, 6 H).

Syntéza zlúčeniny II-13 v roztoku

Podľa postupu z príkladu 12 sa roztok VIII-D-TBDMS (10,3 mg) v pyridíne (2,0 ml) prepláchal argónom a pridalo sa 350 μ l činidla Triton B (0,45 M v pyridíne) a dietoxybutyraldehyd (50 μ l) (ktorý bol pripravený podľa literatúry: Paquette, L. A., Backhaus, D., Braum, R., Underiner, T. L. a Fuchs, K., *J. Am. Chem. Soc.* 1997, 119, 9662 - 71, ktorého publikácia sa týmto celá zahŕňa odkazom). Po 2 hodinách miešania sa reakčná zmes extrahovala do EtOAc, premyla sa 10 % vodným roztokom $CuSO_4$ (3 x 50 ml), soľankou a vysušila sa nad $MgSO_4$. Po filtrácii a odparení rozpúšťadla sa zvyšok eluoval cez silikagél (30 % EtOAc/hexán) a UV aktívna frakcia sa nakoncentrovala, rozpustila v CH_2Cl_2 (4 ml) a pridali sa BF_3 éterát (10 μ l). Po 2,0 hodinách miešania sa roztok premyl nasýteným vodným $NaHCO_3$ a soľankou a vysušil sa nad $MgSO_4$. Odstránením rozpúšťadla na rotačnej odparke sa získal zvyšok, ktorý sa rozotrel s éterom, čím sa získala čistá zlúčenina II-13 (4,6 mg), ktorá mala nasledujúce

spektrálne vlastnosti: $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) δ 8,92 (d, $J = 2,3$, 1 H), 8,59 (s, 1 H), 7,97 (d, $J = 7,7$, 1 H), 7,86 (d, $J = 8,3$, 1 H), 7,59 (d, $J = 8,2$, 1 H), 7,47 (dd, $J = 7,7$, 7,6, 1 H), 7,28 (dd, $J = 7,5$, 7,4, 1 H), 6,89 (dd, $J = 8,3$, 2,4, 1 H), 6,82 (d, $J = 6,0$), 5,55 - 5,50 (m, 1 H), 4,89 (s, 2 H), 4,53 (d, $J = 3,5$, 1 H), 3,85 (s, 3 H), 2,30 - 2,20 (m, 1 H), 2,10 - 1,90 (m, 1 H), 1,10 - 0,90 (m, 1 H), 0,73 - 0,66 (m, 1 H); MS m/z (M+ H) vypočítané 409, nájdené 409.

Príklad 18

Syntéza zlúčeniny II-14a a zlúčeniny II-14b

Syntéza VIII-A-TBDPS. Do roztoku VIII-A (6,2 g) v DMF (150 ml) sa pridala TEA (9,7 ml), *t*-butylchlór-difenylosilán (tBDPS-Cl, 10,5 ml) a katalytické množstvo dimetylamino-pyridínu. Zmes sa zahrieva na 50 °C 15 hodín. Pridal sa ďalší trietylamin (5,0 ml) a tBDPS-Cl (5,0 ml) a reakčná zmes sa udržiavala pri 50 °C ďalších 20 hodín. Reakcia sa ukončila pridaním NaHCO_3 a extrahovala sa do EtOAc. Organická vrstva sa premyla vodou (2 x 100 ml) a soľankou a vysušila sa nad MgSO_4 . Po filtrácii a odparení rozpúšťadla sa získaný zvyšok rozotrel so zmesou éteru a hexánu 1 : 1, čím sa získal produkt VIII-A-TBDPS (9,1 g, 83 %), ktorý mal nasledujúce spektrálne vlastnosti: $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) δ 11,95 (s, 1 H), 9,21 (d, $J = 1,8$, 1 H), 7,80 - 7,20 (m, 16 H), 7,13 (dd, $J = 8,1$, 2,7, 1 H), 4,83 (s, 2 H), 4,13 (s, 2 H), 1,25 (s, 9 H); MS m/z (M+ H) vypočítané 549, nájdené 549.

Syntéza zlúčeniny II-17 v roztoku

Roztok VIII-A-TBDPS (102,5 mg) v pyridíne (4,0 ml) sa vypláchol argónom a pridala sa 1,0 ml činidla Triton B (0,45 M v pyridíne) a dietylbutyraldehyd (140 μl) [ktorý sa pripravil podľa literatúry: Paquette, L. A., Backhaus, D., Braum, R., Underiner, T. L. a Fuchs, K. J. Am. Chem. Soc. 1997, 119, 9662 - 71]. Po 2 hodinách miešania sa reakčná zmes extrahovala do EtOAc, premyla sa 10 % vodným roztokom CuSO_4 (3 x 50 ml), soľankou a vysušila sa nad MgSO_4 . Po filtrácii a odparení rozpúšťadla sa zvyšok eluoval cez silikagél (30 % EtOAc/hexán) a UV aktívna frakcia sa nakoncentrovala, rozpustila v CH_2Cl_2 (10 ml) a pridala sa BF_3 éterát (10 μl). Po 0,5 hodinách miešania sa roztok premyl nasýteným vodným NaHCO_3 a soľankou a vysušil sa nad MgSO_4 . Odstránením rozpúšťadla na rotačnej odparke sa získal zvyšok, ktorý sa vyčistil stĺpcovou chromatografiou (silikagél, 25 % EtOAc/hexán), čím sa získal produkt (75,5 mg) s nasledujúcimi spektrálnymi vlastnosťami: $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6) δ 9,08 (d, $J = 7,2$, 1 H), 7,86 (d, $J = 8,2$, 1 H), 7,73 (d, $J = 6,9$, 1 H), 7,70 - 7,24 (m, 15 H), 6,88 (d, $J = 5,9$, 1 H), 5,72 (m, 1 H), 4,86 (s, 2 H), 4,55 (d, $J = 3,3$, 1 H), 2,30 - 2,20 (m, 1 H), 2,10 - 1,90 (m, 1 H), 1,10 - 0,90 (m, 1 H), 0,73 - 0,66 (m, 1 H); MS m/z (M+Na) vypočítané 639, nájdené 639.

Oddelenie enantiomérov látky II-1a chránenej TBDPS chirálnou HPLC a príprava zlúčenín II-14a a II-14b.

Látka II-1a chránená TBDPS sa rozpustila v minimálnych množstvách zmesi CHCl_3 a EtOH (1 : 4, objem/objem) a 500 μl dávky sa vstrekovali do kolóny CHIRACEL OD (1 cm vnútorný priemer x 25 cm) a ako eluent sa použil 100 % etanol (1,5 ml/min.). Frakcie z každej dávky zodpovedajúce enantioméru A (24,0 - 27,0 min.) a enantioméru B (36,0 - 39,0 min.) sa zhromaždili a oddelene nakoncentrovali. Jednotlivé enantioméry látky II-1a chránenej TBDPS sa rozpustili v THF (12 ml) a pridali sa do 0,1 M vodného roztoku KF (4,6 ml) tlmeneho pomocou HF (0,125 ml 0,1 M vodného roztoku). Každý roztok sa miešal 40 hodín. Roztok sa

rozpustil v dichlórmetáne a premyl sa vodným NaHCO_3 . Vodná vrstva sa extrahovala dichlórmetánom (3 x 100 ml) a spojené organické vrstvy sa hneď pretlačili cez vrstvu MgSO_4 a odparili, čím sa získal zvyšok, ktorý sa rozotrel so zmesou éteru a hexánu 1 : 1 a vyčistil preparatívnu HPLC podľa popisu v príklade 8-A. Retenčné časy HPLC a spektrálne dáta MS pre každý enantiomér zodpovedali autentickej látke II-1a. Zlúčenina II-14a (2,84 mg) sa získala v 97 % ee a zlúčenina II-14b (3,52 mg) sa získala v 90 % ee podľa určenia chirálnou HPLC. Chirálna čistota jednotlivých enantiomérov sa určila pomocou kolóny CHIRACEL OD (0,46 cm vnútorný priemer x 5 cm) s použitím zmesi metanolu a etanolu 1 : 1 ako eluentu (0,25 ml/min.). R_t pre II-14a: 14,0 min. a R_t pre II-14b: 20,5 min.

Príklad 19

Syntéza zlúčeniny II-15

Do suspenzie zlúčeniny VIII-A (1 g, 3,2 mmol) v THF (40 ml) sa pridala NBS (632 mg, 3,5 mmol) a reakčná zmes sa miešala pri teplote miestnosti 18 hodín. Rozpúšťadlo sa odstránilo za vákuua a získaná žltoranžová tuhá látka sa suspendovala v metanole (50 ml). Suspenzia sa prefiltrovala a tuhá látka sa premyla ďalším metanolom. Po vysušení sa získala bromovaná zlúčenina ($R^3 = \text{Br}$) (1,09 g, 2,8 mmol, 88 % výtťažok) vo forme svetložltej tuhej látky: (MS: m/z (M+ H) 389, 391).

Do roztoku uvedeného bromidu (1,09 g, 2,8 mmol) v benzéne (60 ml) a *N*-metylpiperidinóne (6 ml) sa pridala 4,4'-dimetoxibenzhydrol (818 mg, 3,4 mmol) a kyselina *p*-toluénsulfónová (532 mg, 2,8 mmol) a zmes sa zahrieva na reflux. Po 24 hodinách sa reakčná zmes ochladila na teplotu miestnosti a zriedila sa etylacetátom (200 ml). Organická vrstva sa premyla NaHCO_3 (2 x), H_2O (2 x) a soľankou (2 x). Organická vrstva sa vysušila nad bezvodným MgSO_4 , prefiltrovala a rozpúšťadlo sa odstránilo vo vákuu. Surový materiál sa vyčistil stĺpcovou chromatografiou (10 % EtOAc - hexán), čím sa získal požadovaný 3-bromindolový derivát chránený DMB (1,5 g, 2,4 mmol, 87 % výtťažok) vo forme oranžovej tuhej látky: (MS m/z (M+ H) 615, 617).

250 ml zataviteľná ampulka sa naplnila 3-bromderivátom chráneným DMB (1,5 g, 2,4 mmol), bis(trifenylofosfín)paládium dichloridom (100 mg, 0,14 mmol), bezvodným octanom sodným (3,9 g, 4,8 mmol) a metoxyetanolom (50 ml). Ampulka sa striedavo evakuovala a plnila CO a nechala sa pod atmosférou CO. Potom sa ponorila do olejového kúpeľa s teplotou 150 °C. Po 4 hodinách sa ampulka ochladila na teplotu miestnosti a znova sa naplnila CO. Toto sa opakovalo ešte raz, pričom reakcia prebiehala celkom 10 hodín. Reakčná zmes sa zriedila etylacetátom (250 ml), premyla sa vodou, vysušila nad bezvodným MgSO_4 , prefiltrovala a vysušila vo vákuu. Zvyšok sa rozotrel s metanolom, čím sa získala 3-karboxylová zlúčenina (1,29 g, 2,02 mmol, 84 % výtťažok) vo forme žltej tuhej látky: MS m/z (M+ H) 639.

Do roztoku uvedeného esteru (1,2 g, 1,9 mmol) v dichlórmetáne (20 ml) sa pridala tioanizol (1 ml) a po ňom TFA (4 ml). Po hodine miešania pri teplote miestnosti sa reakčná zmes odparila dosucha a zvyšok sa suspendoval v dietyléteri. Suspenzia sa prefiltrovala a tuhá látka sa premyvala dietyléterom, kým nebol filtrát bezfarebný. Tuhá látka sa vysušila vo vákuu, čím sa získal ester (636 mg, 1,54 mmol) vo forme belavej tuhej látky: MS m/z (M+ H) 413.

Uvedený ester (500 mg, 1,2 mmol) sa suspendoval v dichlórmetáne (15 ml) a pridala sa roztok diizobutylaluminiumhydridu v dichlórmetáne (5,5 ml, 5,5 mmol, 1,0 M). Po 2 hodinách pri teplote miestnosti sa reakcia ukončila pri-

daním metanolu. Rozpúšťadlo sa odstránilo na rotačnej odparke a k zvyšku sa pridala voda. Suspenzia sa prefiltrovala a tuhá látka sa vysušila vo vákuu. Požadovaný produkt [A¹, A² = O, B¹, B² = H₂, R³ = 3-CH₂OH, R⁴ = R⁵ = R⁶ = H, Q = NH] (367 mg, 1,08 mmol) sa získal vo forme svetložltej tuhej látky: MS m/z (M+ H) 341 m/e.

Uvedený alkohol (360 mg, 0,9 mmol) [A¹, A² = O, B¹, B² = H₂, R³ = 3-CH₂OH, R⁴ = R⁵ = R⁶ = H, Q = NH] sa umiestnil do zataviteľnej ampulky s etanolom (15 ml). Do tejto suspenzie sa pridal anhydrid kyseliny trifluoróctovej (254 ml, 1,8 mmol). Reakčná zmes sa zahrievala na 70 °C 15 hodín. Ampulka sa ochladila a rozpúšťadlo sa odstránilo vo vákuu. Získaná tuhá látka sa rozotrela s metanolom, prefiltrovala a vysušila, čím sa získal požadovaný éter (239 mg, 0,65 mmol, 72 % výtťažok) vo forme oranžovej tuhej látky: MS m/z (M+ H) 369.

Podľa postupu z príkladu 11 sa uvedený éter (100 mg, 0,27 mmol) silyloval v DMF (5 ml) s trietylamínom (0,75 ml, 0,54 mmol) a *t*-butyldimetylsilylchloridom (81,0 mg, 0,54 mmol). Po spracovaní vodou a odparení rozpúšťadla sa tuhá látka rozotrela so zmesou éteru a hexánu (1 : 1), čím sa získal produkt (114,6 mg, 0,24 mmol, 88 %) vo forme oranžovej tuhej látky: MS m/z (M+ H) 483.

Podľa postupu z príkladu 12 sa roztok uvedeného éteru (23,0 mg, 0,048 mmol) v pyridíne (4,0 ml) vypláchol argónom a pridalo sa 200 µl činidla Triton B (0,45 M v pyridíne) a 5,5-dimetyl-1,3-dioxán-2-propionaldehyd (50 µl). Khanna, I. K.; Weier, R. M.; Yu, Y.; Collins, P. W.; Miyashiro, J. M.; et. al., *J. Med. Chem.* 1997, 40, 1619-33 sa týmto zahŕňa odkazom. Po 0,5 hodiny sa pridal ďalší Triton B (200 µl 0,45 M v pyridíne). To sa opakovalo ešte dvakrát. Nakoniec sa reakčná zmes extrahovala do EtOAc, premyla sa 10 % vodným roztokom CuSO₄ (3 x 50 ml), soľankou a vysušila sa nad MgSO₄. Po filtrácii a odparení rozpúšťadla sa zvyšok eluoval cez silikagél (30 % EtOAc/hexán) a UV aktívna frakcia sa nakoncentrovala, rozpustila v CH₂Cl₂ (4 ml) a pridalo sa katalytické množstvo pyridinium tozylátu (1 mg). Zmes sa zahrievala na reflux 48 hodín a rozpúšťadlo sa odstránilo vo vákuu. Získaný zvyšok sa rozpustil v THF (8,0 ml) a pridala sa do 0,1 M vodného roztoku KF (2,9 ml) tlmeného pomocou HF (0,09 ml 0,1 M vodného roztoku). Po 20 hodinách miešania sa roztok extrahoval do dichlórmetánu a premyl sa vodným roztokom NaHCO₃. Vodná vrstva sa extrahovala dichlórmetánom (3 x 100 ml) a spojené organické vrstvy sa hneď pretačili cez vrstvu MgSO₄ a odparili, čím sa získal zvyšok, ktorý sa rozotrel so zmesou éteru a hexánu 1 : 1 a vyčistil preparatívnu HPLC podľa popisu v príklade 8-A. Takto sa získal požadovaný produkt II-15 (1,26 mg, 6,0 %), ktorý mal nasledujúce spektrálne vlastnosti: ¹H NMR (DMSO-d₆) 9,41 (d, J = 2,3, 1 H), 8,53 (s, 1 H), 7,90 (s, 1 H), 7,80 - 7,25 (m, 5 H), 6,33 (d, J = 6,0, 1 H), 5,31 (m, 1 H), 4,95 (s, 2 H), 4,66 (s, 2 H), 4,48 (m, 1 H), 3,50 (q, J = 6,8, 2 H), 2,30 - 2,20 (m, 1 H), 2,10 - 1,90 (m, 1 H), 1,25 (t, J = 6,8, 3H), 1,10 - 0,90 (m, 1 H), 0,73 - 0,66 (m, 1 H); MS m/z (M+ H) vypočítané 437, nájdené 437.

Príklad 20

Syntéza zlúčeniny II-1b

Príprava XIV (DMB-VIII A). Trojhrdlová banka s guľatým dnom vybavená horným mechanickým miešadlom a Dean-Starkovým nastavcom sa postupne naplnila DMB-OH (2,44 g, 10 mmol), 1-metyl-2-pyrrolidinónom (30 ml), benzénom (270 ml), VIII-A (3,10 g, 10 mmol) a kyselinou *p*-toluénsulfónovou (1,90 g, 10 mmol). Reakčná zmes sa zahrievala na reflux. Po 2 hodinách sa reakčná zmes stala

homogénnou a zahrievanie pokračovalo ďalšie 2 hodiny. Reakčná zmes sa ochladila na teplotu miestnosti, zriedila sa EtOAc (200 ml), premyla nasýteným vodným roztokom NaHCO₃ (4 x 100 ml), vodou (4 x 100 ml) a organická vrstva sa vysušila nad bezvodným MgSO₄, prefiltrovala a nakoncentrovala vo vákuu. Zvyšok sa rozotrel s EtOAc/hexán a získaná tuhá látka sa prefiltrovala a vysušila pod vysokým vákuom, čím sa získala látka XIV (obrázok 4) [A¹, A² = H₂, B¹, B² = O, R³ = R⁴ = R⁵ = R⁶ = H, Q = NH, R' = R'' = H], (5,2 g, 98 %), ktorá mala nasledujúce spektrálne vlastnosti: ¹H NMR (CDCl₃-d₆) δ 9,54 (d, J = 7,82, 1 H), 8,55 (s, 1 H), 7,68 (d, J = 7,8 1 H), 7,60 - 6,70 (m, 15 H), 4,71 (s, 2 H), 4,03 (s, 2 H), 3,78 (s, 6 H); MS m/z (M+ H) vypočítané 537, nájdené 537.

Do roztoku zlúčeniny XIV (obrázok 4) (102,5 mg) v THF (6,0 ml) sa pridal roztok EtMgBr v THF (0,8 ml, 1,0 M) a zmes sa miešala 1 hodinu. Pridal sa 5,5-dimetyl-1,3-dioxán-2-propionaldehyd (300 µl) [ktorý bol pripravený podľa literatúry: Khanna, I. K.; Weier, R. M.; Yu, Y.; Collins, P. W.; Miyashiro, J. M.; et. al., *J. Med. Chem.* 1997, 40, 1619 - 33] a zmes sa miešala 3 hodiny. Reakcia sa ukončila pridaním vodného NH₄Cl a extrahovala sa do EtOAc. Organická vrstva sa premyla nasýteným vodným roztokom NaHCO₃ a soľankou a vysušila sa nad MgSO₄. Odstránením rozpúšťadla na rotačnej odparke sa získal zvyšok, ktorý sa vyčistil stĺpcovou chromatografiou (silikagél, 40 % EtOAc/hexán), čím sa získali dve frakcie zodpovedajúce dvom diastereomérnym aduktom: MS m/z (M+ H) 709. Poľárnejšia frakcia (25 mg) sa rozpustila v dichlórmetáne (10 ml) a pridala sa BF₃ éterát (10 µl).

Po 1,5 hodiny miešania sa roztok premyl nasýteným vodným roztokom NaHCO₃ a soľankou a organická vrstva sa vysušila nad bezvodným MgSO₄, prefiltrovala a nakoncentrovala vo vákuu. Získaný zvyšok sa vyčistil preparatívnu HPLC podľa popisu v príklade 8-A, čím sa získal produkt (1,75 mg), ktorý mal nasledujúce spektrálne vlastnosti: ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 9,20 (d, J = 7,46, 1 H), 8,56 (s, 1 H), 7,97 (d, J = 7,7, 1 H), 7,69 (d, J = 8,2, 1 H), 7,57 (d, J = 7,3, 1 H), 7,52 - 7,20 (m, 4 H), 6,57 (m, 1 H), 5,1 (m, 1 H), 4,88 (s, 2 H), 4,67 (s, 1 H), 2,30 - 2,20 (m, 1 H), 2,10 - 1,90 (m, 1 H), 1,10 - 0,90 (m, 1 H), 0,73 - 0,66 (m, 1 H); MS m/z (M+ H) vypočítané 379, nájdené 379.

Príklad 21

Syntéza zlúčenín II-16a a II-16b

Roztok VIII A-TBDPS (pozrite príklad 18) (214 mg) v pyridíne (4,0 ml) sa vypláchol argónom a pridalo sa 750 µl činidla Triton B (0,45 M v pyridíne) a roztok 2,2-dietoxyetoxyacetaldehydu (200 mg) [ktorý bol pripravený podľa literatúry: Aparico, F. J. L.; Benitez, F. Z.; Gonzalez, F. S.; Carbohydr. Res. 1983, 297 - 302, ktorého publikácia sa týmto celá zahŕňa odkazom], v pyridíne (2 ml). Po 2 hodinách sa pridala ďalší Triton B (250 µl). Po ďalšej 0,5 hodine miešania sa reakčná zmes extrahovala do EtOAc, premyla sa 10 % vodným roztokom CuSO₄ (3 x 50 ml), soľankou a vysušila sa nad MgSO₄. Po filtrácii a odparení rozpúšťadla sa zvyšok eluoval cez silikagél (35 % EtOAc/hexán) a UV aktívna frakcia sa nakoncentrovala, rozpustila v CH₂Cl₂ (10 ml) a pridala sa BF₃ éterát (10 µl). Po 0,5 hodine miešania sa roztok premyl nasýteným vodným NaHCO₃ a soľankou a vysušil sa nad MgSO₄. Odstránením rozpúšťadla na rotačnej odparke sa získal zvyšok, ktorý sa vyčistil stĺpcovou chromatografiou (silikagél, 35 % EtOAc/hexán), čím sa získali dve frakcie zodpovedajúce dvom diastereomérnym aduktom: MS m/z (M+ H) 725. Každý adukt sa rozpustil v CH₂Cl₂ (10 ml)

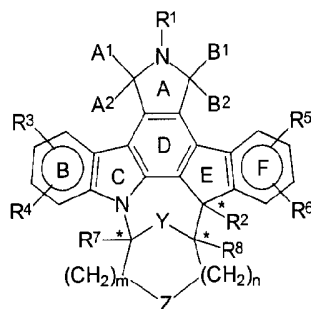
a pridal sa BF_3 éterát (10 μl). Po 0,5 hodine miešania sa rozpúšťadlo odstránilo na rotačnej odparke a každý zvyšok sa rozpustil v THF (15 ml) a pridal do 0,1 M vodného roztoku KF (5,8 ml) tlmeného pomocou HF (0,20 ml 0,1 M vodného roztoku). Každý roztok sa miešal 20 hodín, extrahoval sa do dichlórmetánu a premyl sa vodným roztokom NaHCO_3 . Vodná vrstva sa extrahovala dichlórmetánom (3 x 100 ml) a spojené organické vrstvy sa okamžite pretlačili cez vrstvu MgSO_4 a odparili. Výsledný pár zvyškov sa rozpustil v CH_2Cl_2 (10 ml), pridal sa BF_3 éterát (10 μl) a zmes sa miešala 48 hodín.

Každá reakčná zmes sa extrahovala do CH_2Cl_2 , premyla sa nasýteným vodným NaHCO_3 a soľankou a vysušila sa nad MgSO_4 . Odstránením rozpúšťadla na rotačnej odparke sa získal zvyšok, ktorý sa vyčistil preparatívnou HPLC podľa popisu v príklade 8-A. Jeden diastereomér, zlúčenina II-16a, (izolovaných 2,38 mg) mala nasledujúce spektrálne vlastnosti: ^{13}C NMR (DMSO-d_6) δ 172,0, 142,6, 142,5, 142,1, 141,0, 139,8, 134,8, 130,6, 128,0, 127,2, 127,0, 126,5, 124,4, 124,2, 122,7, 121,7, 121,0, 116,8, 112,1, 80,0, 70,0, 69,1,

65,6, 54, 1, 45,7; ^1H NMR (DMSO-d_6) δ 9,23 (d, $J = 7,7$, 1 H), 8,58 (s, 1 H), 7,99 (d, $J = 7,7$, 1 H), 7,77 (d, $J = 8,3$, 1 H), 7,63 (d, $J = 7,22$, 1 H), 7,48 - 7,30 (m, 4 H), 6,56 (s, 1 H), 5,10 (m, 1 H), 4,90 (s, 2 H), 4,70 (m, 1 H), 3,80 - 3,60 (m, 2 H), 3,30 - 3,00 (m, 2 H) MS m/z ($\text{M}+\text{Na}$) vypočítané 395, nájdené 395.

Druhý diastereomér, zlúčenina II-16b, (izolovaný 1,00 mg) mal nasledujúce spektrálne vlastnosti: ^1H NMR (DMSO-d_6) δ 9,21 (d, $J = 7,7$, 1 H), 8,59 (s, 1 H), 7,99 (d, $J = 7,7$, 1 H), 7,77 - 7,30 (m, 6 H), 5,95 (s, 1 H), 5,05 (m, 1 H), 4,91 (s, 2 H), 4,63 (m, 1 H), 4,55 - 4,30 (m, 2 H), ďalšie signály stratené pod píkom rozpúšťadla; MS m/z ($\text{M}+\text{Na}$) vypočítané 395, nájdené 395.

Zlúčeniny vzorca (II) možno ďalej pochopiť s odkazom na tabuľku 9, ktorá uvádza isté výhodné uskutočnenia označené ako vzorec (III), kde sú špecifikované chirálne centrá (*). Hodnoty pre R^1 , R^4 , R^6 a R^7 sú H; Y je O a n je 1.



(III)

Tabuľka 9

| Zlúč. č. | A^1A^2 | B^1B^2 | R^2 | R^3 | R^5 | R^8 | Z | m | $\text{R}^2\text{R}^7\text{R}^8$ |
|----------|------------------------|------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------|---|----------------------------------|
| III-A1 | H,H | O | H | H | H | H | väzba | 1 | RSR |
| III-A2 | H,H | O | H | H | H | H | väzba | 1 | SSR |
| III-A3 | H,H | O | H | H | H | H | väzba | 1 | RRS |
| III-A4 | H,H | O | H | H | H | H | väzba | 1 | SRS |
| III-B1 | H,H | O | Et | H | H | H | väzba | 1 | RSR |
| III-B2 | H,H | O | Et | H | H | H | väzba | 1 | SSR |
| III-B3 | H,H | O | Et | H | H | H | väzba | 1 | RRS |
| III-B4 | H,H | O | Et | H | H | H | väzba | 1 | SRS |
| III-C1 | H,H | O | H | H | H | Me | väzba | 1 | RSR |
| III-C2 | H,H | O | H | H | H | Me | väzba | 1 | SSR |
| III-C3 | H,H | O | H | H | H | Me | väzba | 1 | RRS |
| III-C4 | H,H | O | H | H | H | Me | väzba | 1 | SRS |
| III-D1 | H,H | O | H | H | H | Me | väzba | 2 | RRS |
| III-D2 | H,H | O | H | H | H | Me | väzba | 2 | SRS |
| III-D3 | H,H | O | H | H | H | Me | väzba | 2 | RSR |
| III-D4 | H,H | O | H | H | H | Me | väzba | 2 | SSR |
| III-E1 | H,H | O | H | 3-Br | H | Me | väzba | 1 | RSR |
| III-E2 | H,H | O | H | 3-Br | H | Me | väzba | 1 | SSR |
| III-E3 | H,H | O | H | 3-Br | H | Me | väzba | 1 | RRS |
| III-E4 | H,H | O | H | 3-Br | H | Me | väzba | 1 | SRS |
| III-F1 | H,H | O | H | H | 10-OMe | H | väzba | 1 | RSR |
| III-F2 | H,H | O | H | H | 10-OMe | H | väzba | 1 | SSR |
| III-F3 | H,H | O | H | H | 10-OMe | H | väzba | 1 | RRS |
| III-F4 | H,H | O | H | H | 10-OMe | H | väzba | 1 | SRS |
| III-G1 | H,H | O | H | H | H | Me | O | 1 | SSS |

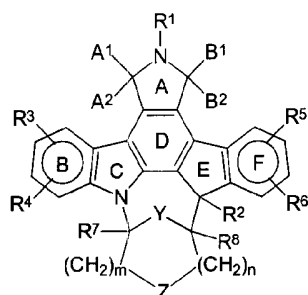
Tabuľka 9 (pokračovanie)

| Zlúčen. č. | A ¹ A ² | B ¹ B ² | R ² | R ³ | R ⁵ | R ⁸ | Z | m | R ² R ⁷ R ⁸ |
|------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------|---|----------------|---------------------|-------|---|--|
| III-G2 | H,H | O | H | H | H | Me | O | 1 | RSS |
| III-G3 | H,H | O | H | H | H | Me | O | 1 | RRR |
| III-G4 | H,H | O | H | H | H | Me | O | 1 | SRR |
| III-H1 | O | H,H | H | H | H | H | väzba | 1 | RSR |
| III-H2 | O | H,H | H | H | H | H | väzba | 1 | SSR |
| III-H3 | O | H,H | H | H | H | H | väzba | 1 | RRS |
| III-H4 | O | H,H | H | H | H | H | väzba | 1 | SRS |
| III-I1 | H,H | O | H | 3-(3'-NH ₂ -Ph) | H | H | väzba | 1 | RSR |
| III-I2 | H,H | O | H | 3-(3'-NH ₂ -Ph) | H | H | väzba | 1 | SSR |
| III-I3 | H,H | O | H | 3-(3'-NH ₂ -Ph) | H | I-I | väzba | 1 | RRS |
| III-I4 | H,H | O | H | 3-(3'-NH ₂ -Ph) | H | H | väzba | 1 | SRS |
| III-J1 | O | O | OH | H | H | H | väzba | 1 | SSR |
| III-J2 | O | O | OH | H | H | H | väzba | 1 | RSR |
| III-J3 | O | O | OH | H | H | H | väzba | 1 | RRS |
| III-J4 | O | O | OH | H | H | H | väzba | 1 | SRS |
| III-K1 | H,H | O | H | H | H | CO ₂ -Et | väzba | 1 | RSR |
| III-K2 | H,H | O | H | H | H | CO ₂ -Et | väzba | 1 | SSR |
| III-K3 | H,H | O | H | H | H | CO ₂ -Et | väzba | 1 | RRS |
| III-K4 | H,H | O | H | H | H | CO ₂ -Et | väzba | 1 | SRS |
| III-L1 | H,H | O | H | H | H | CH ₂ OH | väzba | 1 | RSR |
| III-L2 | H,H | O | H | H | H | CH ₂ OH | väzba | 1 | SSR |
| III-L3 | H,H | O | H | H | H | CH ₂ OH | väzba | 1 | RRS |
| III-L4 | H,H | O | H | H | H | CH ₂ OH | väzba | 1 | SRS |
| III-M1 | H,H | O | H | H | 9-OMe | H | väzba | 1 | RSR |
| III-M2 | H,H | O | H | H | 9-OMe | H | väzba | 1 | SSR |
| III-M3 | H,H | O | H | H | 9-OMe | H | väzba | 1 | RRS |
| III-M4 | H,H | O | H | H | 9-OMe | H | väzba | 1 | SRS |
| III-N1 | H,H | O | H | H | H | H | väzba | 1 | RSR |
| III-N2 | H,H | O | H | H | H | H | väzba | 1 | SSR |
| III-N3 | H,H | O | H | H | H | H | väzba | 1 | RRS |
| III-N4 | H,H | O | H | H | H | H | väzba | 1 | SRS |
| III-P1 | H,H | O | H | 3-CH ₂ O-CH ₂ OEt | H | H | väzba | 1 | RSR |
| III-P2 | H,H | O | H | 3-CH ₂ O-CH ₂ OEt | H | H | väzba | 1 | SSR |
| III-P3 | H,H | O | H | 3-CH ₂ O-CH ₂ OEt | H | H | väzba | 1 | RRS |
| III-P4 | H,H | O | H | 3-CH ₂ O-CH ₂ OEt | H | H | väzba | 1 | SRS |
| III-Q1 | H,H | O | H | H | H | H | O | 1 | RSS |
| III-Q2 | H,H | O | H | H | H | H | O | 1 | SSS |
| III-Q3 | H,H | O | H | H | H | H | O | 1 | RRR |
| III-Q4 | H,H | O | H | I-I | H | H | O | 1 | SRR |

Ako bude zrejme odbornikom v danej oblasti, na výhodných uskutočneniach vynálezu možno uskutočniť mnoho zmien a úprav. Všetky také variácie spadajú do rozsahu predloženého vynálezu.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Premostené indenopyrrolokarbazoly vzorca (II)

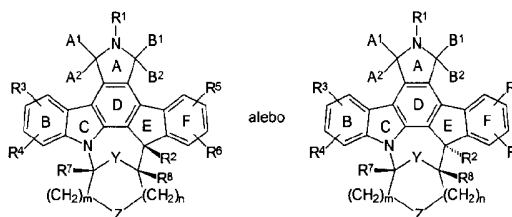


(II),

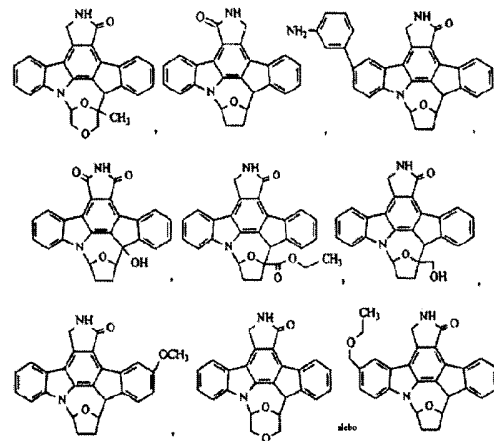
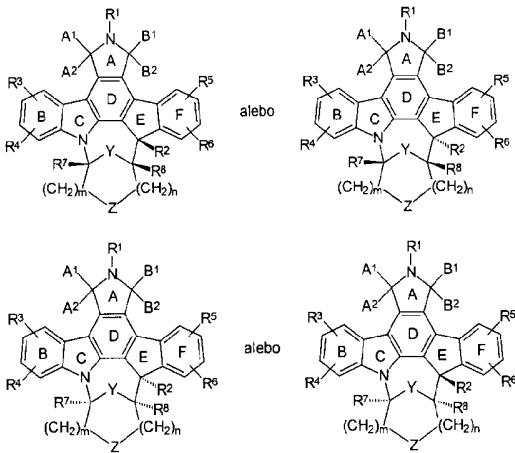
kde,

R¹, R⁴, R⁶ a R⁷ sú každé H, Y je O, n je 1, A¹A² a B¹B² sú nezávisle =O alebo H, H, R² je H, OH alebo lineárny, cyklický alebo rozvetvený C₁-C₄-alkyl, R³ je H, Br, CH₂OCH₂OEt alebo 3'-NH₂Ph alebo lineárny, cyklický alebo rozvetvený C₁-C₈-alkyl, R⁵ je H alebo lineárny, cyklický alebo rozvetvený C₁-C₈-alkoxy a R⁸ je H, Me, CH₂OH, CO₂Et alebo lineárny, cyklický alebo rozvetvený C₁-C₈-alkoxy, Z je väzba alebo O, a m je 1 alebo 2.

2. Zlúčenina podľa nároku 1, ktorá má diastereoméry vzorca

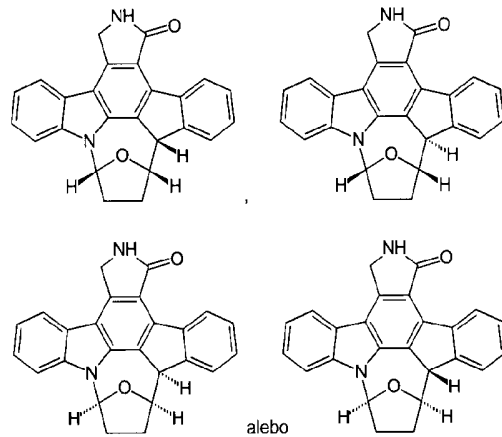
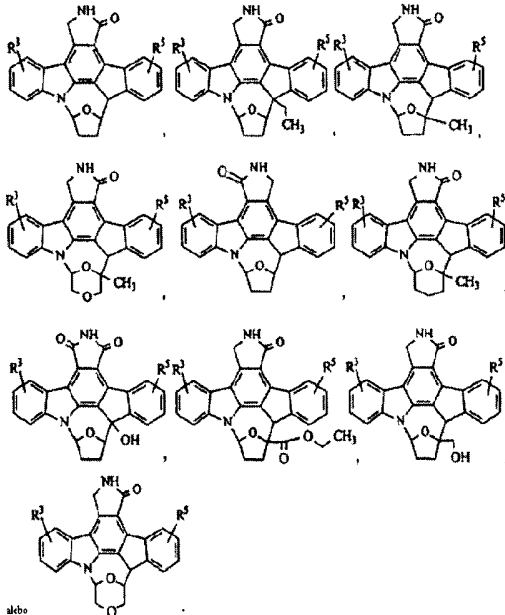


3. Zlúčenina podľa nároku 2, ktorá má enantioméry vzorca

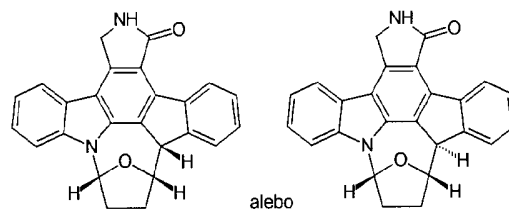


6. Zlúčenina podľa nároku 5, ktorá má enantioméry vzorca

4. Zlúčenina podľa nároku 1, ktorá má vzorec:



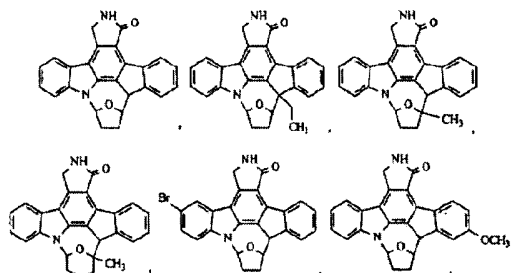
7. Zlúčenina podľa nároku 5, ktorá má diastereoméry vzorca



kde

R³ je H, Br, CH₂OCH₂OEt alebo 3'NH₂Ph, alebo lineárny, cyklický alebo rozvetvený C₁-C₈-alkyl, R⁵ je H alebo lineárny, cyklický alebo rozvetvený C₁-C₈-alkoxy.

5. Zlúčenina podľa nároku 4, ktorá má vzorec



8. Farmaceutická kompozícia, **v y z n a ě u j ú c a s a t ý m**, že obsahuje zlúčeninu podľa nároku 1 a farmaceuticky prijateľný nosič.

9. Farmaceutická kompozícia, **v y z n a ě u j ú c a s a t ý m**, že obsahuje zlúčeninu podľa nároku 5 a farmaceuticky prijateľný nosič.

10. Farmaceutická kompozícia na liečbu alebo prevenciu porúch prostaty, **v y z n a ě u j ú c a s a t ý m**, že obsahuje zlúčeninu podľa nároku 1 a farmaceuticky prijateľný nosič.

11. Farmaceutická kompozícia podľa nároku 10, **v y z n a ě u j ú c a s a t ý m**, že poruchou prostaty je rakovina prostaty alebo benígna hyperplázia prostaty.

12. Farmaceutická kompozícia na liečbu alebo prevenciu angiogénnych porúch, **v y z n a ě u j ú c a s a t ý m**, že obsahuje zlúčeninu podľa nároku 1 a farmaceuticky prijateľný nosič.

13. Farmaceutická kompozícia podľa nároku 12, **v y z n a ě u j ú c a s a t ý m**, že angiogénnou poruchou je rakovina alebo tuhé nádory, endometrióza, diabetická retinopatia, psoriáza, hemangioblastóm, očné poruchy alebo makulárna degenerácia.

14. Farmaceutická kompozícia na liečbu alebo prevenciu neoplázie, reumatoidnej artritídy, pulmonárnej fibrózy, myelofibrózy, abnormálneho hojenia rán, aterosklerózy alebo restenózy, **v y z n a ě u j ú c a s a t ý m**, že obsahuje zlúčeninu podľa nároku 1 a farmaceuticky prijateľný nosič.

15. Farmaceutická kompozícia na liečbu alebo prevenciu Alzheimerovej choroby, amyotrofickéj laterálnej sklerózy, Parkinsonovej choroby, mŕtvice, ischémie, Huntingtonovej choroby, AIDS demencie, epilepsie, sklerózy multiplex, periférnej neuropatie alebo zranení mozgu alebo miechy, **v y z n a ě u j ú c a s a t ý m**, že obsahuje zlúčeninu podľa nároku 1 a farmaceuticky prijateľný nosič.

16. Použitie zlúčeniny podľa nároku 1 na výrobu lieku na inhibíciu aktivity trk kinázy.

17. Použitie podľa nároku 16, kde trk kinázou je trk A.

18. Použitie podľa nároku 16, kde zlúčenina podľa nároku 1 je na liečenie zápalu.

19. Použitie zlúčeniny podľa nároku 1 na výrobu lieku na liečenie alebo prevenciu porúch prostaty.

20. Použitie podľa nároku 19, kde poruchou prostaty je rakovina prostaty alebo benígna hyperplázia prostaty.

21. Použitie zlúčeniny podľa nároku 1 na výrobu lieku na liečenie alebo prevenciu angiogénnych porúch.

22. Použitie podľa nároku 21, kde angiogénnou poruchou je rakovina alebo tuhé nádory, endometrióza, diabetická retinopatia, psoriáza, hemangioblastóm, očné poruchy alebo makulárna degenerácia.

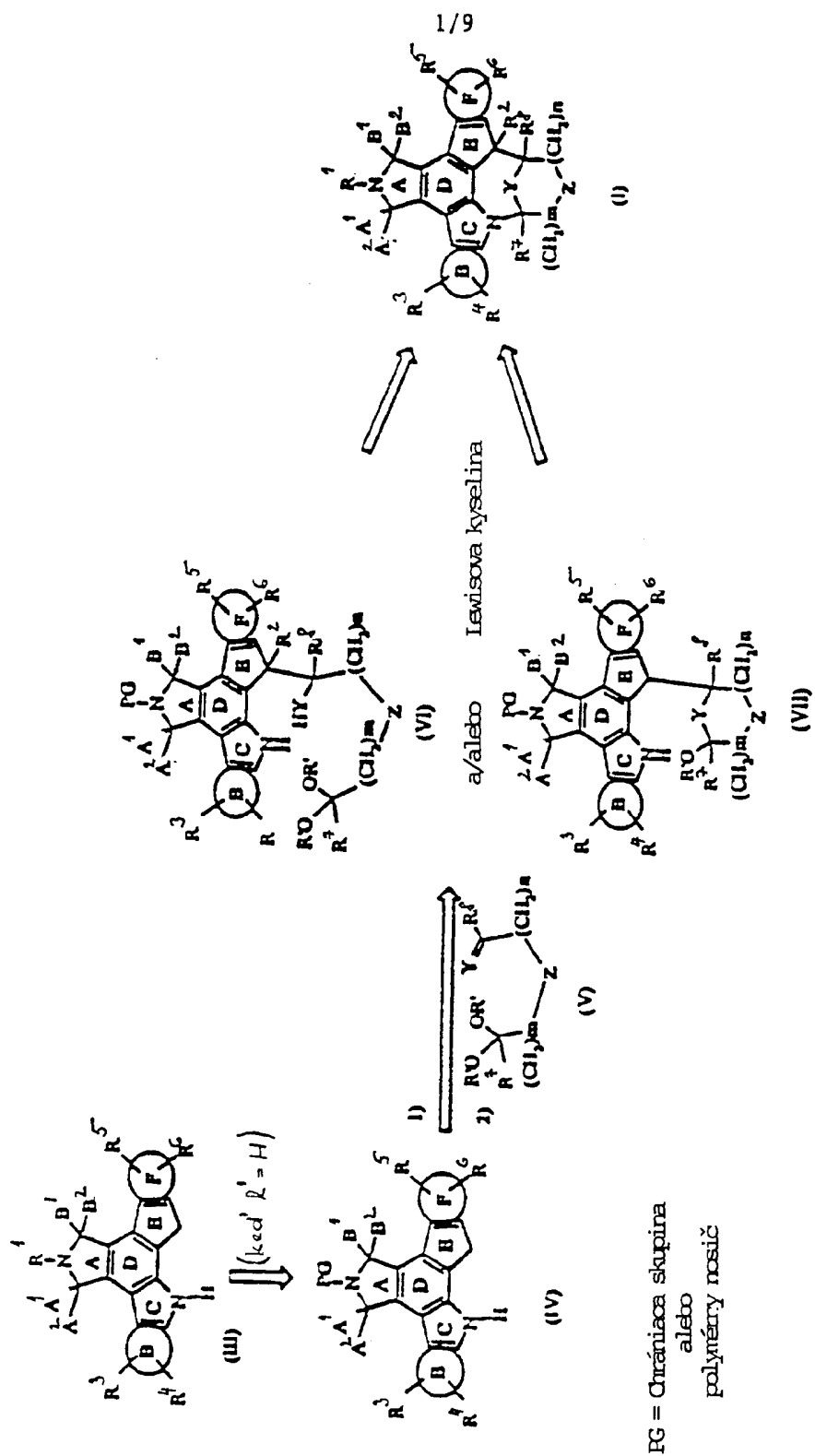
23. Použitie zlúčeniny podľa nároku 1 na výrobu lieku na liečenie alebo prevenciu porúch, kde aktivita PDGFR prispieva k patologickým stavom.

24. Použitie zlúčeniny podľa nároku 1 na výrobu lieku na liečenie alebo prevenciu neoplázie, reumatoidnej artritídy, pulmonárnej fibrózy, myelofibrózy, abnormálneho hojenia rán, aterosklerózy alebo restenózy.

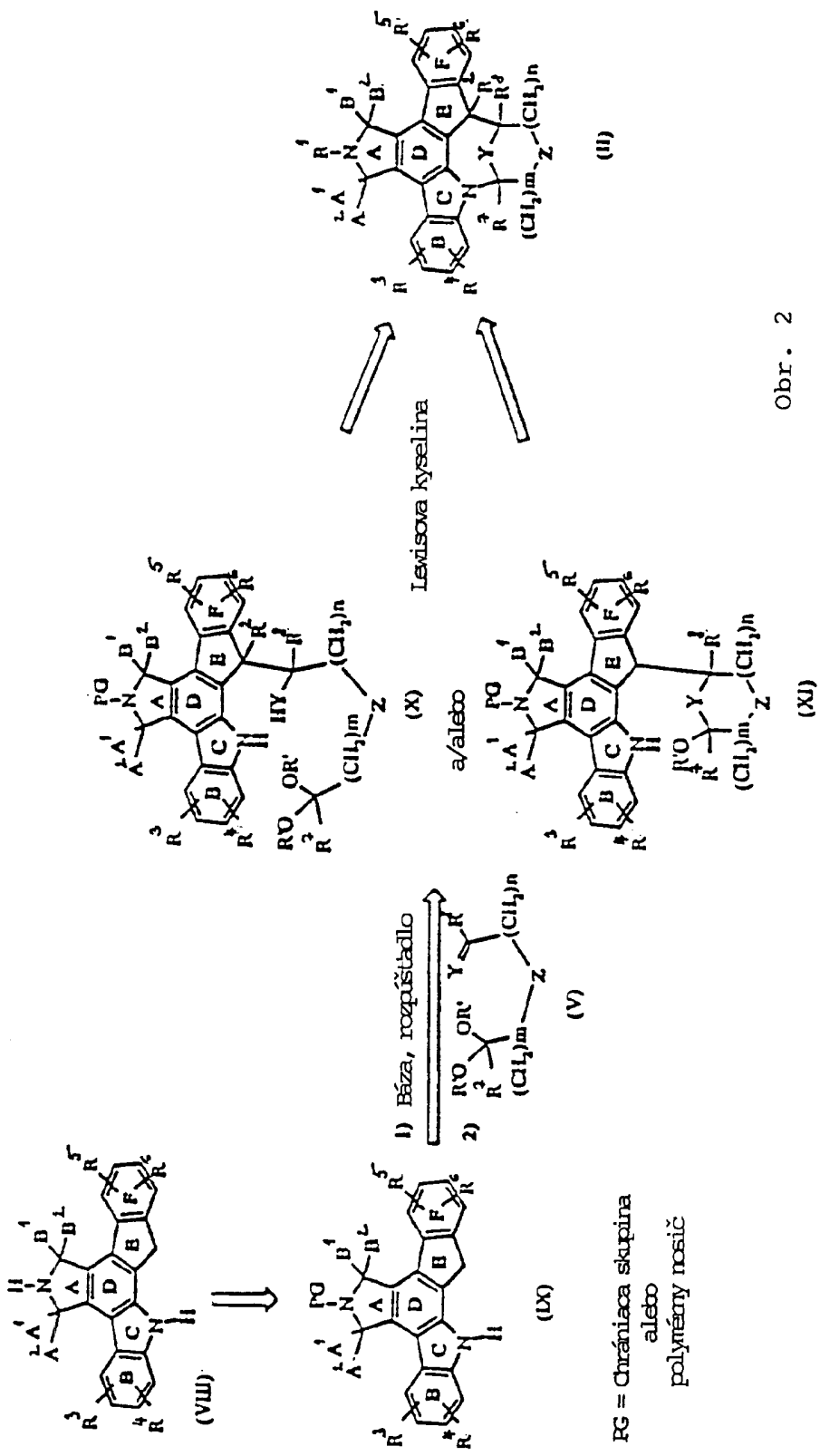
25. Použitie zlúčeniny podľa nároku 1 na výrobu lieku na liečenie alebo prevenciu porúch charakteristických aberantnou aktivitou buniek reagujúcich na trofický faktor.

26. Použitie zlúčeniny podľa nároku 1 na výrobu lieku na liečenie alebo prevenciu Alzheimerovej choroby, amyotrofickéj laterálnej sklerózy, Parkinsonovej choroby, mŕtvice, ischémie, Huntingtonovej choroby, AIDS demencie, epilepsie, sklerózy multiplex, periférnej neuropatie alebo zranení mozgu alebo miechy.

9 výkresov

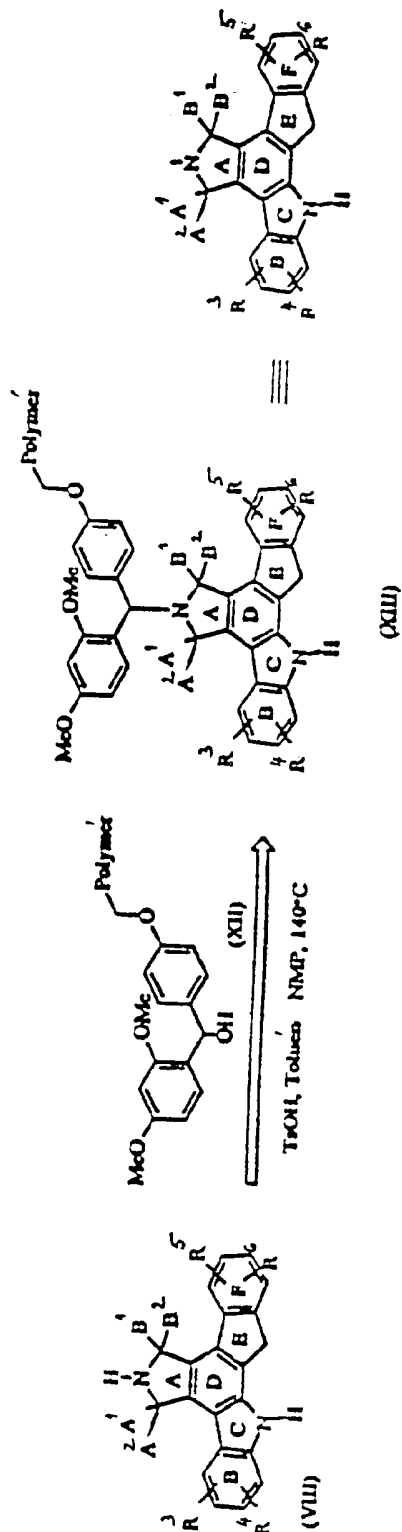


Obr. 1



Obr. 2

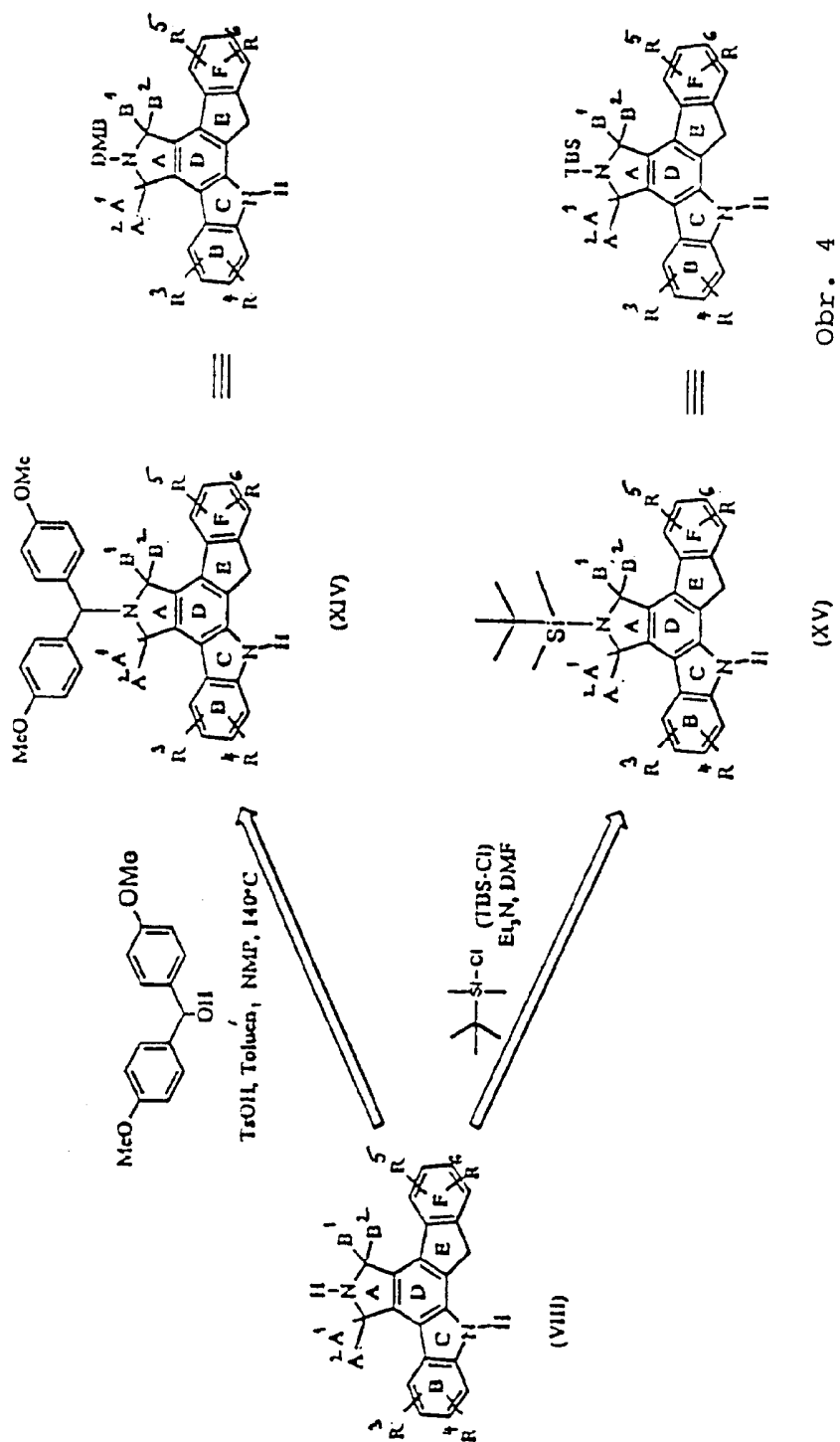
3/9



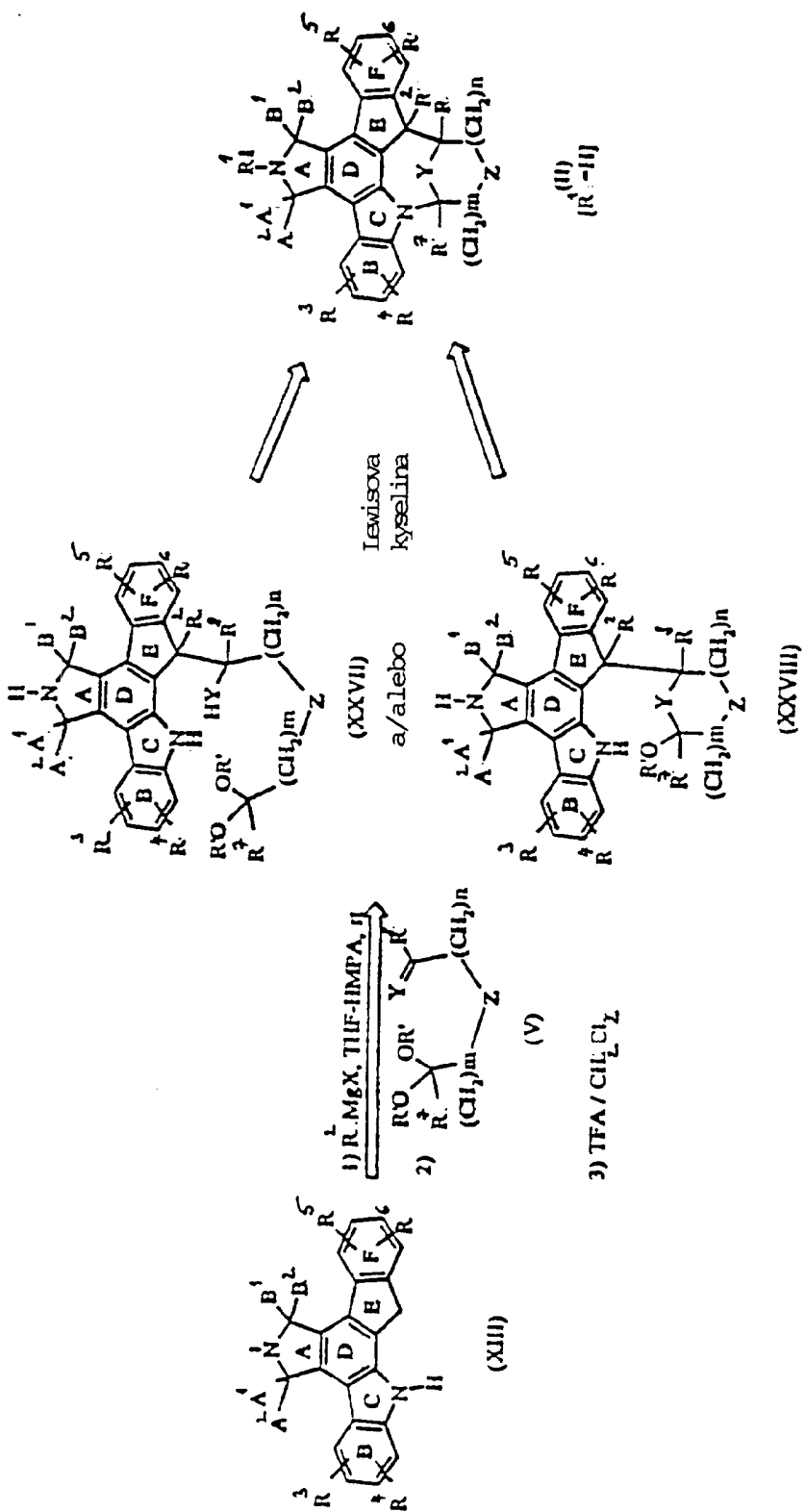
(XIII)

(Polymér = kopolystyrén - 1% divinylbenzén)

Obr. 3

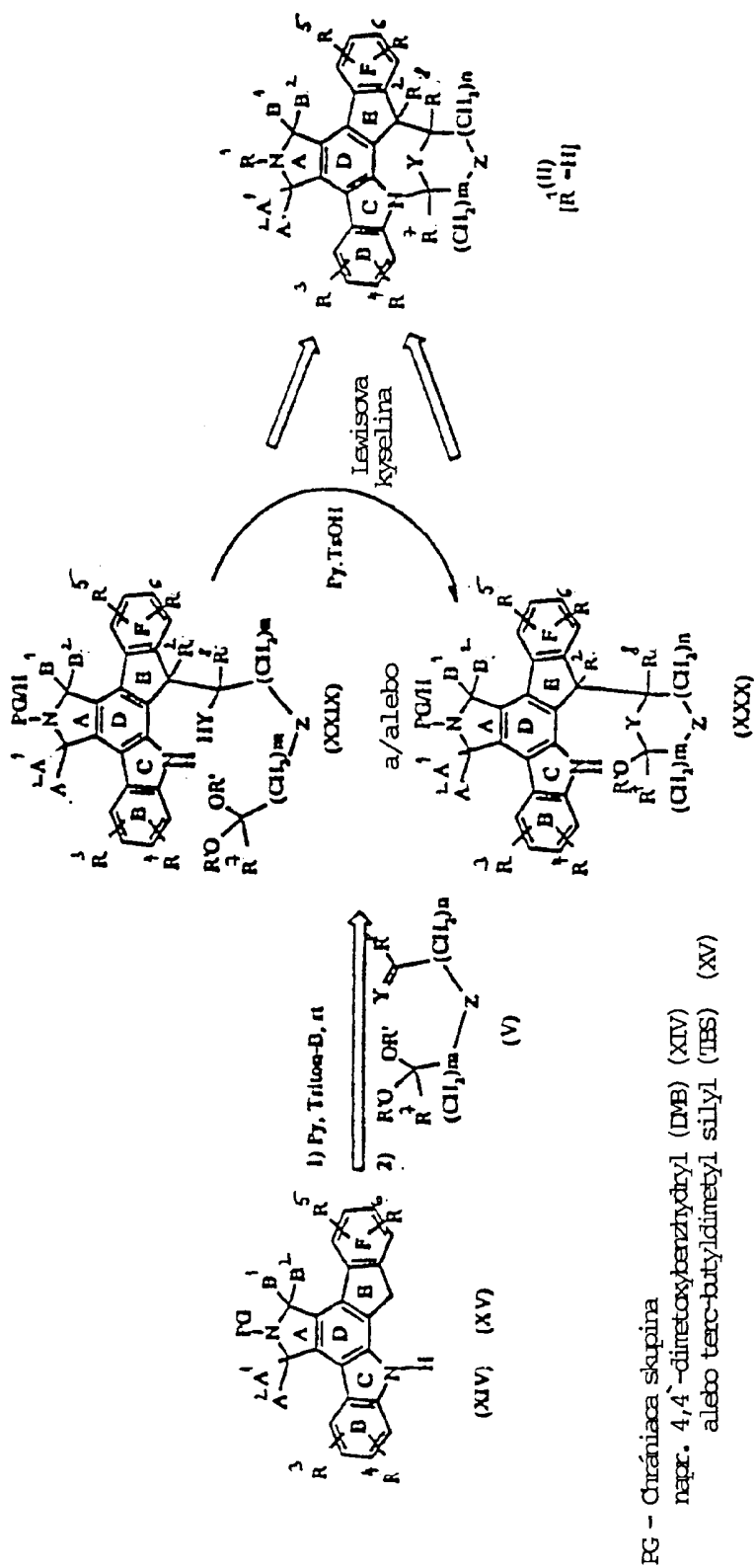


6/9



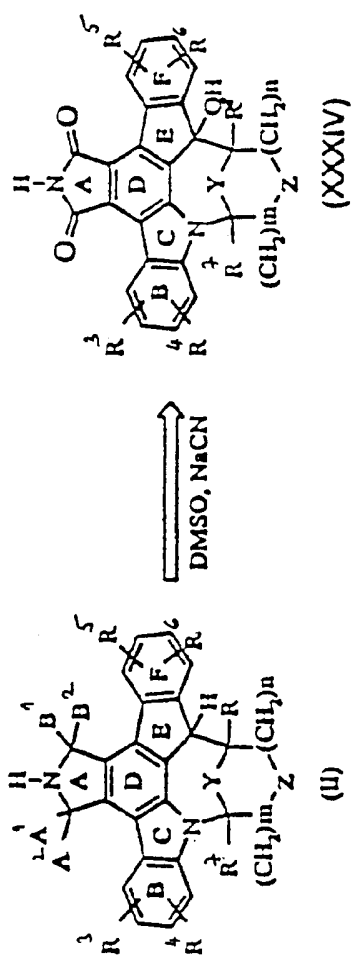
Obr. 6

7/9



Obz. 7

PG - Chrániaca skupina
 napr. 4,4'-dimetoxibenzohydril (DMB) (XIV)
 alebo terc-butylidimetyl sílyl (TBS) (XV)



Lead
 A^1 or A^2-H , B^1 or B^2-O
alicyclic
 A^1 or A^2-O , B^1 or B^2-H

Obr. 9

Koniec dokumentu