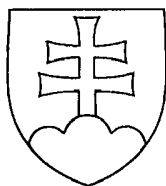


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA
VYNÁLEZU

(21) Číslo dokumentu:

1284-95

- (22) Dátum podania: 17.10.95
(31) Číslo prioritnej prihlášky: P 44 37 406.2
(32) Dátum priority: 19.10.94
(33) Krajina priority: DE
(43) Dátum zverejnenia: 05.06.1996
(86) Číslo PCT:

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int. Cl.⁶:

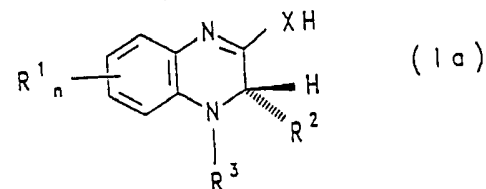
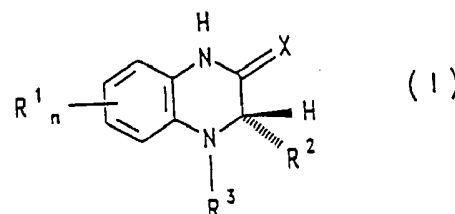
C 07D 241/44,
C 07C 391/00,
A 61K 31/495

- (71) Prihlasovateľ: Hoechst Aktiengesellschaft, Frankfurt am Main, DE;
- (72) Pôvodca vynálezu: Rösner Manfred Dr., Eppstein, DE;
Billhardt-Troughton Uta-Maria Dr., Raleigh, NC, US;
Kirsch Reinhard Dr., Braunschweig, DE;
Kleim Jörg-Peter Dr., Kelkheim, DE;
Meichsner Christoph Dr., Liederbach, DE;
Riess Günther Dr., Hattersheim, DE;
Winkler Irvin Dr., Liederbach, DE;

(54) Názov prihlášky vynálezu: **Chinoxalíny, spôsob ich výroby a ich použitie**

(57) Anotácia:

Sú opísané zlúčeniny všeobecného vzorca I prípadne Ia, v ktorých n a substituenty R¹ až R³ majú význam uvedený v opise vynálezu. Tieto zlúčeniny, v ktorých X predstavuje atóm kyslíka, boli vyrobené reakciou zlúčeniny všeobecného vzorca II so zlúčeninou všeobecného vzorca III, pričom R¹, R² a R³ majú význam uvedený v opise vynálezu a Z predstavuje odštiepujúcu sa skupinu ako napríklad chlór. Zlúčeniny všeobecného vzorca I, v ktorom X predstavuje atóm síry, sa vyrábajú reakciou zlúčeniny všeobecného vzorca I, pričom X je atóm kyslíka, so sulfuračným reakčným činidlom. Uvedené zlúčeniny majú protívirusovú účinnosť.



Chinoxalíny, spôsob ich výroby a ich použitie

Oblasť techniky

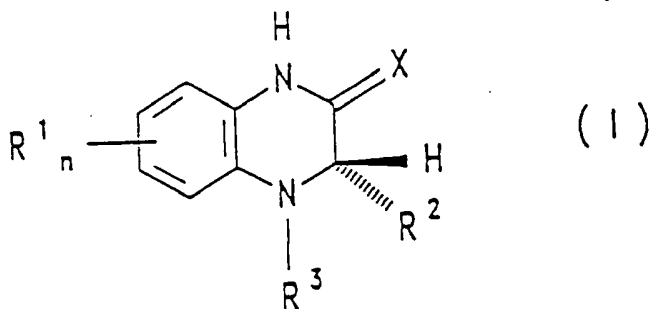
Vynález sa týka chinoxalínov, spôsobu ich výroby a ich použitia ako vírustatika, najmä na liečbu infekcií spôsobených vírusom HIV (Human Immunodeficiency Virus - vírus ľudskej imunodeficiencie).

Doterajší stav techniky

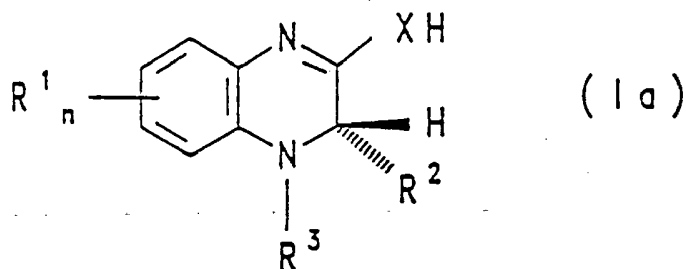
V európskej patentovej prihláške EP-509398-A sú opísané deriváty chinoxalínu pre túto oblasť použitia.

Podstata vynálezu

Teraz bolo neočakávane zistené, že skupina špeciálne substituovaných chinoxalínov všeobecného vzorca I



ako aj ich tautomérne formy všeobecného vzorca Ia



a ich fyziologicky prijateľné soli, ako aj prekurzory liekov majú protivírusovú účinnosť najmä proti retrovírusom ako napríklad proti HIV.

V zlúčeninách podľa vynálezu všeobecného vzorca I prípadne Ia:

- 1) n sa rovná číslu nula, jedna alebo dva,
 R^1 je atóm fluóru, chlóru, hydroxylová skupina, alkoxy-skupina s 1 až 3 atómami uhlíka,
 R^2 je alkylová skupina s 1 až 4 atómami uhlíka, prípadne substituovaná hydroxylovou skupinou, alkoxy skupinou s 1 až 4 atómami uhlíka alebo alkyltioskupinou s 1 až 4 atómami uhlíka,
 R^3 je alkoxykarbonylová skupina s 1 až 6 atómami uhlíka alebo alkenyloxykarbonylová skupina s 2 až 6 atómami uhlíka a
 X znamená atóm kyslíka, síry alebo selénu.

Vo výhodnej skupine zlúčenín všeobecného vzorca I prípadne Ia:

- 2) n sa rovná číslu nula alebo jedna,
 R^1 je atóm fluóru, chlóru, hydroxylová skupina, alkoxy skupina s 1 až 3 atómami uhlíka,
 R^2 je alkylová skupina s 1 až 4 atómami uhlíka, prípadne substituovaná hydroxylovou skupinou, alkoxy skupinou s 1 až 4 atómami uhlíka alebo alkyltioskupinou s 1 až 4 atómami uhlíka,
 R^3 je alkyloxykarbonylová skupina s 1 až 4 atómami uhlíka alebo alkenyloxykarbonylová skupina s 2 až 4 atómami uhlíka a
 X je atóm kyslíka alebo síry.

V ešte výhodnejšej skupine zlúčenín všeobecného vzorca I prípadne Ia:

3) n sa rovná číslu nula alebo jedna,

R^1 predstavuje atóm fluóru, chlóru, metoxyskupinu, etoxyskupinu, propoxyskupinu,

R^2 predstavuje metyltiometylovú skupinu, etylovú skupinu, propylovú skupinu, alkylovú skupinu s 1 alebo 2 atómami uhlíka substituovanú hydroxylovou skupinou alebo alkoxykupinou s 1 až 4 atómami uhlíka,

R^3 je alkoxykarbonylová skupina s 1 až 4 atómami uhlíka alebo alkenyloxykarbonylová skupina s 2 až 4 atómami uhlíka,

X je atóm kyslíka alebo síry.

Zvláštny význam majú zlúčeniny všeobecného vzorca I alebo Ia, kde uvedené symboly majú nasledujúci význam:

4) n číslo nula alebo jedna,

R^1 atóm fluóru, chlóru, metoxyskupinu, etoxyskupinu,

R^2 metyltiometylovú skupinu, etylovú skupinu, propylovú skupinu, alkylovú skupinu s 1 alebo 2 atómami uhlíka substituovanú hydroxylovou skupinou alebo alkoxykupinou s 1 až 4 atómami uhlíka,

R^3 alkyloxykarbonylovú skupinu s 1 až 4 atómami uhlíka alebo alkenyloxykarbonylovú skupinu s 2 až 4 atómami uhlíka,

X atóm kyslíka alebo síry.

Úplne zvláštny význam má zlúčenina S-4-izopropoxykarbonyl-6-metoxy-3-(metyltiometyl)-3,4-dihydrochinoxalín-2(1H)-tión (príklad č. 85). Zlúčeniny všeobecného vzorca I a Ia obsahujú asymetrický atóm uhlíka v tzv. konfigurácii S.

Teraz sa s prekvapením zistilo, že zlúčeniny podľa vynálezu majú zreteľne zvýšenú protivírusovú účinnosť. Ďalej bolo zistené, že čisté enantioméry sú zreteľne ľahšie rozpustné ako príslušné racemické zlúčeniny. Tieto existujú ako pravé racemáty, to znamená ako 1:1 - zlúčeniny obidvoch enantiomérov,

s individuálnymi fyzikálnymi vlastnosťami.

V dôsledku toho sa čisté enantioméry pri pokusoch na zvieratách po orálnom podaní zreteľne lepšie resorbujú. To je dôležitý predpoklad pre vývoj nového liečiva.

Je všeobecne známe, že na dosiahnutie pokiaľ možno čo najvyššieho farmakologického alebo chemoterapeutického účinku je najmä dôležitá možnosť dosiahnutia vysokých hladín v krvi.

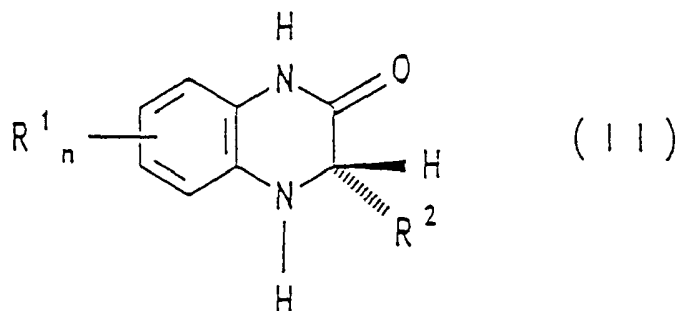
Vzhľadom na skutočnosť, že mnohými vírustatikami nebolo možné dosiahnuť v dôsledku ich nízkej biologickej dostupnosti po orálnom podaní dostatočných hladín v krvi na potlačenie replikácie vírusov, predstavujú zlúčeniny podľa vynálezu výhodnejšie účinné protivírusové prostriedky a tým terapeutický pokrok.

Čisté enantioméry zlúčenín všeobecných vzorcov I a Ia je možné vyrábať priamo známymi metódami alebo analogicky so známymi metódami alebo dodatočne deliť.

Zlúčeniny všeobecných vzorcov I a Ia sa dajú vyrábať podľa známych metód alebo podľa ich modifikácií (viď napríklad EP-509398-A, Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, S. Coffy, M.F. Ansell (vydavateľ), Elsevier, Amsterdam, 1989, zv. IV diel IJ, str. 301 až 311, Heterocyclic Compounds, R.C. Elderfield (vydavateľ), Wiley, New York, 1957, zv. 6, str. 491 až 495).

Predmetom vynálezu je ďalej spôsob výroby zlúčenín všeobecného vzorca I a Ia, ktoré sú hore definované pod 1) až 4). Tento spôsob sa vyznačuje tým, že sa:

A) na výrobu zlúčenín všeobecného vzorca I, v ktorom X znamená atóm kyslíka a zvyšky R^1 , R^2 a R^3 majú hore definovaný význam pod 1) až 4), nechá reagovať zlúčenina všeobecného vzorca II



v ktorom R^1 a R^2 majú význam uvedený pod 1) až 4), so zlúčeninou so všeobecným vzorcom III



v ktorom R^3 má význam hore uvedený pod 1) až 4) a Z je odštiepujúca sa skupina ako napr. chlór, alebo, že sa

B) zlúčeniny všeobecného vzorca I, v ktorom X znamená atóm síry a R^1, R^2 a R^3 majú význam definovaný pod 1) až 4), vyrábajú reakciou zlúčeniny všeobecného vzorca I, v ktorom X znamená atóm kyslíka a R^1, R^2 a R^3 majú hore definovaný význam pod 1) až 4), so sulfuračným reakčným činidlom.

Pri vyššie uvedenej metóde A) prebieha reakcia s výhodou s alkylesterom halogénmravčej kyseliny alebo s alkenylesterom halogénmravčej, s dialkyluhličitanom alebo dialkenyluhličitanom alebo s dialkylesterom kyseliny pyrouhličitej alebo s alkenylesterom kyseliny pyrouhličitej. Substituent Z vo všeobecnom vzorci III je teda vhodná odštiepujúca sa skupina, ako napríklad atóm chlóru, brómu alebo jódu, alkoxykupina alebo alkenyloxykarbonylskupina alebo alkoxykarbonyloxykupina alebo alkenyloxykarbonyloxykupina. S výhodou Z znamená atóm chlóru.

Reakcia sa účelne uskutočňuje v inertnom rozpúšťadle.

Vhodné sú napríklad aromatické uhľovodíky ako toluén alebo xy-
lén, nízke alkoholy ako metanol, etanol alebo 1-butanol, étery
ako tetrahydrofurán alebo glykoldimetyléter, dipolárne apro-
tické rozpúšťadlá ako N,N-dimetylformamid, N-metyl-2-pyro-
lidón, acetonitril, nitrobenzén, dimetylsulfoxid alebo zmesi
týchto rozpúšťadiel. Do úvahy prichádzajú tiež dvojfázové sys-
témy s vodnými roztokmi zásad v prítomnosti katalyzátora fázo-
vého transféru, ako napríklad benzyltrietylamóniumchloridu.

Užitočná tiež môže byť prítomnosť vhodnej zásady naprík-
lad uhličitanu alkalického kovu alebo uhličitanu kovu alkalick-
kých zemín alebo hydrogénuhličitanu alkalického kovu alebo
hydrogénuhličitanu kovu alkalických zemín ako uhličitanu sod-
ného, uhličitanu vápenatého alebo hydrogénuhličitanu sodného,
hydroxidu alkalického kovu alebo hydroxidu kovu alkalických
zemín ako hydroxidu draselného alebo bárnateho, alkoholátu ako
metanolátu sodného alebo terc-butylátu draselného, lítnoorga-
nické zlúčeniny ako butyllítia alebo lítiumdiizopropylamidu,
hydridu alkalického kovu alebo hydridu kovu alkalických zemín
ako hydridu sodného alebo hydridu vápenatého, fluoridu alka-
lického kovu ako fluoridu draselného alebo organickej zásady
ako trietylamínu, pyridínu, 4-metylpyridínu alebo 4-(dimetyl-
amino)pyridínu na zachytenie kyseliny uvoľnenej pri reakcii.

V niektorých prípadoch je vhodný prídavok soli jódu, na-
príklad jodidu draselného. Reakcia sa uskutočňuje obvykle pri
teplotách medzi -10 a 160°C , s výhodou pri teplote miestnosti.

Na túto reakciu je potrebné prípadné nukleofilné substi-
tuenty ako napríklad hydroxylové skupiny, merkaptoskupiny ale-
bo aminoskupiny s výnimkou polohy 4 v zlúčeninách všeobecného
vzorca II pred uskutočnením reakcie vhodným spôsobom derivati-
zovať alebo opatřit obvyklými eliminovateľnými chrániacimi
skupinami ako napríklad acetylovou skupinou, benzylovou skupi-
nou, tritylovou skupinou, tetrahydropyranylovou skupinou alebo
terc-butoxykarbonylovou skupinou.

Na reakciu opísanú hore pod B) sa použije s výhodou ako sulfuračné reakčné činidlo 2,4-bis(4-metoxyfenyl)-1,3-ditia-2,4-difosfoetán-2,4-disulfid (Lawessonovo činidlo), bis-(tricyklohexylcín)sulfid, bis(tri-n-butylcín)sulfid, bis(trifenylcín)sulfid, bis(trimetylsilyl)sulfid alebo fosforpentasulfid.

Reakcia sa uskutočňuje účelne v organickom rozpúšťadle alebo v zmesi rozpúšťadiel pri -10 až 120°C , s výhodou pri teplote miestnosti až 60°C , a pokiaľ možno za bezvodých podmienok. Vhodný je napríklad sírouhlík, toluén, pyridín, dichlórmetán, 1,2-dichlóretán, tetrahydrofurán, etylester kyseliny octovej alebo butylester kyseliny octovej. Pri použití uvedeného sulfidu cínu alebo silylsulfidu je vhodné uskutočniť sulfuračnú reakciu v prítomnosti Lewisovej kyseliny ako chloridu boritého.

Prítomnosť karbonylovej skupiny vo zvyšku R^3 v zlúčeninách všeobecného vzorca I nie je na závädu vzhľadom k jej malej reaktivite, takže selektívna sulfurácia je možná.

Chinoxalíny všeobecného vzorca II, potrebné ako východiskové látky pre opísané syntézy, sú známe z literatúry alebo môžu byť vyrobené známymi metódami, napríklad podľa európskej patentovej prihlášky EP-509398-A.

Ďalej spadajú do rozsahu vynálezu zlúčeniny, opísané pod 1) až 4), ako liečivá, s výhodou na liečbu vírusových ochorení, predovšetkým ochorení vyvolaných HIV.

Okrem toho sa vynález týka liečiv s obsahom aspoň jednej zlúčeniny podľa vynálezu ako aj použitia uvedených zlúčenín na výrobu liečiv, s výhodou na liečbu vírusových ochorení, predovšetkým ochorení vyvolaných HIV.

Ďalej spadá do rozsahu vynálezu použitie zlúčenín hore uvedeného všeobecného vzorca I prípadne Ia na výrobu liečiv pre liečbu vírusových ochorení.

Na toto použitie sú tieto hore pod 1) až 4) menované a definované zlúčeniny výhodné.

Liečivá podľa vynálezu sa môžu používať enterálne (orálne), parenterálne (intravenózne), rektálne, subkutáne, intramuskulárne alebo lokálne (topicky).

Môžu sa podávať vo forme roztokov, práškov (tabliet, toboliiek vrátane mikrotoboliiek), mastí (krémov alebo želé) alebo čapíkov. Ako pomocné látky pre uvedené formy prípravkov prichádzajú do úvahy vo farmácii obvyklé plnivá, rozpúšťadlá, emulgátory, klzné látky, chuťové korigencie, farbivá alebo/a pufre.

Ako účelná dávka sa podáva 0,1 až 10, s výhodou 0,2 až 8 mg/kg telesnej hmotnosti raz alebo viackrát denne. Použité dávkovacie jednotky sa riadia účelne podľa farmakokinetiky použitej substancie respektíve použitého galenického prípravku.

Používaná dávkovacia jednotka zlúčeniny podľa vynálezu je napríklad 1 až 1500 mg, s výhodou 50 až 500 mg.

Zlúčeniny podľa vynálezu sa môžu podávať taktiež v kombinácii s inými protivírusovými prostriedkami, napríklad analógmi nukleozidov alebo inhibítorov adsorpcie, imunostimuláciami, interferónmi, interleukínmi a faktormi stimulujúcimi rast kolónií (napríklad GM-CSF, G-CSF, M-CSF).

Pod pojmom čisté enantioméry sa rozumejú také zlúčeniny, u ktorých pomer enantiomérov tvorí najmenej 95 : 5, s výhodou 97 : 3.

Vynález je bližšie objasnený nasledujúcimi príkladmi ako aj obsahom patentových nárokov.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklad 1

N-(5-fluór-2-nitrofenyl)-S-metyl-L-cysteín

16,2 g (0,1 mol) (-)-S-metyl-L-cysteínu sa suspenduje pod dusíkom v zmesi 120 ml vody a 120 ml acetónu v štvorhrdlej banke. Za súčasného miešania sa rýchlo pridá 30,4 ml (22,2 g, 0,22 mol) trietylamínu. Do vzniknutého žltého roztoku sa za pokračujúceho miešania pridá 15,9 g (0,1 mol) 2,4-difluórnitrobenzénu.

Za súčasného miešania sa zohrieva 7,5 hodiny pod spätným chladičom (oranžovo sfarbený roztok), na rotačnej odparke sa za zníženého tlaku odstráni acetón a vodný zvyšok sa preniesie do oddelovacej banky a extrahuje sa dvakrát asi 50 ml metylterc-butyléteru (MTB). Tento extrakt pozostáva prevažne z 2,4-difluórnitrobenzénu a odstráni sa. Vodná fáza sa preniesie do štvorhrdlej banky, zmieša sa so 150 ml MTB-éteru a za súčasného chladenia (< 25 °C) sa pomocou asi 25 ml 38% kyseliny sírovej upraví na pH 1. Mieša sa tak dlho, až sa vytvorí číra fáza. Éterová fáza sa oddelí a vodná fáza sa extrahuje ešte raz 50 ml MTB-éteru.

Extrakty sa vysušia nad síranom sodným a odparia sa na rotačnej odparke. Získa sa výťažok 27 g žltého oleja, ktorý čoskoro stuhne, s teplotou topenia 147 °C (zo zmesi vody s metanolom)

MS: chemická ionizácia, $(M+H)^+ = 275$

Chemická analýza:

vypočítané: 43,8% C, 4,0% H, 10,2% N, 11,7% S

nájdene : 43,8% C, 4,1% H, 10,0% N, 11,3% S

Príklad 2

N-(5-metoxy-2-nitrofenyl)-S-metyl-L-cysteín

27 g N-(5-fluór-2-nitrofenyl)-S-metyl-L-cysteínu (0,1 mol) z príkladu 1 sa rozpustí v štvorhrdľej banke v 150 ml absolútneho metanolu a za súčasného miešania pod argónom a chladenia pomocou ľadového kúpeľa sa zmieša v priebehu 20 minút po častiach so 14,4 g 95% metylátu sodného (0,25 mol). Reakčná zmes sa potom zohrieva 2 hodiny pod spätným chladičom za súčasného miešania. Po kontrole chromatografiou na tenkej vrstve je reakcia dokončená.

Hlavné množstvo metanolu sa odparí na rotačnej odparke za zníženého tlaku. Zvyšok sa zmieša s 200 ml ľadovej vody a pomocou asi 25 ml 38% kyseliny sírovej sa upraví na pH 1 a rozotrie sa so 150 ml MTB-éteru. Éterová fáza sa oddelí a vodná fáza sa extrahuje ešte raz 30 ml MTB-éteru a za zníženého tlaku sa odstredí.

Výtťažok: 21,5 g hnedočerveného oleja, ktorý pomaly kryštalizuje

MS : chemická ionizácia, $(m+H)^+ = 287$

HPLC : 99,3% S-enantioméru

Chemická analýza:

vypočítané: 46,2% C, 4,9% H, 9,8% N, 11,1% S

nájdene : 47,3% C, 5,6% H, 9,1% N, 10,6% S

Príklad 3

S-6-metoxy-3-(metyltiometyl)-3,4-dihydrochinoxalín-2(1H)-on

20,7 g (0,065 mol) zlúčeniny z príkladu 2 sa rozpustí v 250 ml metanolu a hydrogenuje sa pod argónom za normálneho tlaku pri teplote miestnosti s 0,5 ml ľadovej kyseliny octovej a asi 20 g Raneyovho niklu. Keď podľa chromatografie na tenkej vrstve už nie je zrejмый žiaden východzí materiál, hydrogenácia sa ukončí. Reakčný produkt sa odsaje pod atmosférou dusíka a premyje sa 100 ml metanolu.

Filtračný zvyšok vrátane katalyzátora sa rozotrie pod atmosférou dusíka s dimetylformamidom (DMF) pri 45 až 50 °C,

potom sa znovu odsaje. Roztok DMF obsahujúci produkt sa ihneď za súčasného miešania vleje do 1 l ľadovej vody, do ktorej boli pridané 2 g kyseliny askorbovej ako antioxidantu. Produkt sa pritom vylúči vo forme svetlo žltých kryštálov, ktoré sa odsajú, premyjú asi s 2 l vody, potom 500 ml etanolu a nakoniec s 300 ml pentánu a vysuší sa nad oxidom fosforečným.

Výťažok: 10,8 g, ďalších 1,3 g je možné získať zahustením filtrátu

Teplota topenia je 186 až 187 °C, žltosivá pevná látka

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, d_6 -DMSO): δ = 2,08 (s, 3H, SCH_3), 2,75 (dq_{AB}, 2H, $-\text{CH}_2-\text{S}$), 3,65 (s, 3H, MeO), 3,95 (m, 1H, CH), 6,05 (br,s, NH), 6,1 - 6,7 (m, 3H, aromáty), 10,15 (s, 1H, amid)

MS : chemická ionizácia, $(\text{M}+\text{H})^+ = 239$

HPLC : 97,5% čistota, 98,2% S-enantiotirméru

Optická rotácia: $[\alpha]_D^{22} = -42^\circ$ (c = 1 v acetóne)

Chemická analýza:

vypočítané: 55,5% C, 5,9% H, 11,8% N, 13,4% S

nájdene : 55,2% C, 5,8% H, 11,7% N, 13,3% S

Analogickým spôsobom sa získa:

Príklad 4

S-6-etoxy-3-(metyltiometyl)-3,4-dihydrochinoxalín-2(1H)-on

Zo zlúčeniny z príkladu 1 s lítiumetylátom v etanole a redukciou a uzavretím kruhu analogicky s príkladom 2.

MS: chemická ionizácia, $(\text{M}+\text{H})^+ = 253$

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, d_6 -DMSO): etoxyskupina δ = 1,27 (t, 3H), 3,87 (q, 2H)

Príklad 5

S-3-(metyltiometyl)-6-propoxy-3,4-dihydrochinoxalín-2(1H)-on

Zo zlúčeniny z príkladu 1 s propylátom sodným v propanole. Živica, MS: chemická ionizácia, $(\text{M}+\text{H})^+ = 267$

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, d_6 -DMSO): propoxyskupina $\delta = 0,95$ (t, 3H),
1,67 (q, 2H), 3,79 (t, 2H)

Príklad 6

S-3-(metyltiometyl)-3,4-dihydrochinoxalín-2(1H)-on

Použitím 2-fluórnitrobenzénu namiesto 2,4-difluórnitrobenzénu v príklade 1.

Teplota topenia: 109 °C

MS: chemická ionizácia, $(\text{M}+\text{H})^+ = 208$

Príklad 7

S-6-fluór-(metyltiometyl)-3,4-dihydrochinoxalín-2(1H)-on

Pri priamom ďalšom použití zlúčeniny z príkladu 1 v redukčnej reakcii a uzavretí kruhu podľa príkladu 3.

Teplota topenia: 149 °C

MS: chemická ionizácia, $(\text{M}+\text{H})^+ = 243$

Príklad 8

S-6-chlór-3-(metyltiometyl)-3,4-dihydrochinoxalín-2(1H)-on

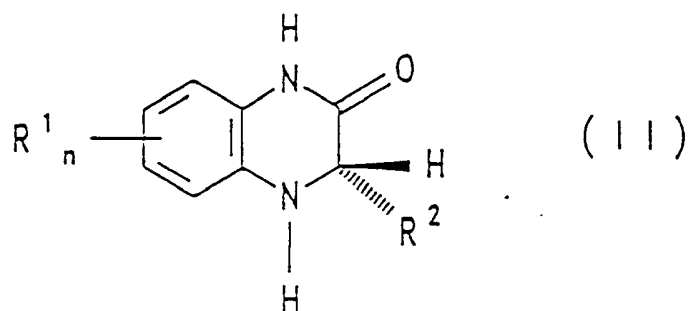
Použitím 2,4-dichlórnitrobenzénu namiesto 2,4-difluórnitrobenzénu v príklade 1 a s hydroxidom sodným a glykolmonometyléterom pri teplote varu pod spätným chladičom.

Teplota topenia: 149 °C

MS: chemická ionizácia, $(\text{M}+\text{H})^+ = 243$

Analogickým spôsobom ako podľa príkladov 1 až 8 je možné napríklad použitím iných aminokyselín získať zodpovedajúce zlúčeniny všeobecného vzorca II, v ktorých sa substituent použitej aminokyseliny stane substituentom R^2 vo všeobecnom vzorci II:

Tabuľka 1



Príklad č.	R^1_n	R^2	Teplota topenia $^{\circ}C$,
9	H (n = 0)	C_2H_5	olej
10	H (n = 0)	C_3H_7	živica
11	H (n = 0)	C_4H_9	olej
12	H (n = 0)	HO- CH_2	82
13	6-Cl	C_2H_5	120
14	6-Cl	C_3H_7	75 - 77
15	6-Cl	C_4H_9	olej
16	6-F	C_2H_5	93
17	6-F	C_3H_7	živica
18	6-F	HO- CH_2	134
19	6- CH_3 O	C_2H_5	olej
20	6- CH_3 O	C_3H_7	138
21	6- CH_3 O	C_4H_9	
22	6- CH_3 O	HO- CH_2	125 rozkl.
23	6- CH_3 O	CH_3 CH(OH)-	156
24	6- CH_3 O	CH_3 O- CH_2	167

Príklad č.	R ¹ _n	R ²	Teplota topenia °C,
25	6-C ₂ H ₅ O	C ₂ H ₅	
26	6-C ₂ H ₅ O	C ₃ H ₇	
27	6-C ₂ H ₅ O	CH ₃ O-CH ₂	
28	6-C ₃ H ₇ O	C ₂ H ₅	
28a	6-OH	CH ₃ SCH ₂	145

Príklad 29

S-4-izopropoxykarbonyl-6-metoxo-3-(metyltiometyl)-3,4-dihydro-
chinoxalín-2(1H)-on

11,9 g (0,05 mol) zlúčeniny z príkladu 3 sa suspenduje v 300 ml metylénchloridu pod dusíkom. Za súčasného miešania sa rýchlo pridá 7 g 4-metylpyridínu (0,075 mol) ako zásady; pričom sa pridá po kvapkách pri teplote miestnosti v priebehu 30 minút 60 ml 1 molárneho roztoku izopropylesteru kyseliny chlórnravčej v toluéne (0,06 mol). Pritom prejde suspenzia pomaly do roztoku. Po kontrole chromatograficou na tenkej vrstve je reakcia po 4 až 6 hodinách pri teplote miestnosti ukončená. Roztok sa okyslí 2N kyselinou sírovou, organické fázy sa oddeľia, vodná fáza sa extrahuje ešte raz 50 ml metylénchloridu. Po odparení rozpúšťadla za zníženého tlaku zostane polotuhý produkt, ktorý sa prekryštalizuje za miešania z diizopropyl-éteru.

Výťažok: 15 g

Teplota topenia: 115 °C

¹H-NMR (200 MHz, d₆-DMSO): δ = 1,3 (2d, J = 7 Hz, 6H,

2 izopropyl-CH₃), 2,1 (s, 3H, SCH₃), 2,35 + 2,7 (dq_{AB}, 2H, -CH₂-S), 3,73 (s, 3 H, MeOH), 4,87 (q, 1H, CH), 4,97 (m, J = 7 Hz, 1H, izopropyl-CH), 6,7 - 7,25 (m, 3H, aromáty), 10,65 (s, 1H, amid)

MS : chemická ionizácia, (M+H)⁺ = 325

HPLC: 98 % čistota, 99,9 % S-enantioméru

Optická rotácia: [α]_D²² = 39° (c = 1 v metanole)

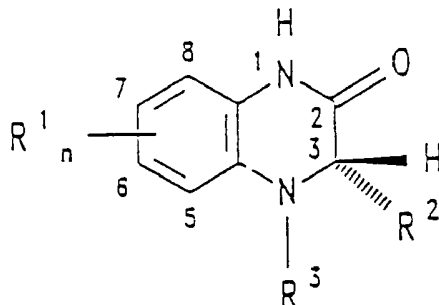
Chemická analýza:

vypočítané: 55,6% C, 6,2% H, 8,6% N, 9,8% S

nájdene : 55,5% C, 5,8% H, 8,4% N, 9,7% S

Analogickým spôsobom ako v príklade 29 je možné použitím zlúčenín všeobecného vzorca II, ktoré sú uvedené napríklad v príkladoch 3 až 28, získať reakciou so zodpovedajúcimi zlúčeninami všeobecného vzorca III nasledujúce zlúčeniny všeobecného vzorca I s X = O:

Tabuľka 2



Príklad č.	R ¹ _n	R ²	R ³	Teplota topenia °C,
30	H (n = 0)	C ₂ H ₅	COOCH(CH ₃) ₂	163
31	H (n = 0)	C ₃ H ₇	COOCH(CH ₃) ₂	117
32	H (n = 0)	C ₄ H ₉	COOCH(CH ₃) ₂	120
33	H (n = 0)	HO-CH ₂	COOCH(CH ₃) ₂	
34	H (n = 0)	CH ₃ SCH ₂	COOCH(CH ₃) ₂	119
35	6-Cl	C ₂ H ₅	COOCH(CH ₃) ₂	145-147
36	6-Cl	C ₃ H ₇	COOCH(CH ₃) ₂	

Příklad	R ¹ _n	R ²	R ³	Teplota topenia °C,
37	6-Cl	C ₄ H ₉	COOCH(CH ₃) ₂	
38	6-Cl	CH ₃ SCH ₂	COOCH(CH ₃) ₂	105
39	6-F	C ₂ H ₅	COOCH(CH ₃) ₂	123 - 125
40	6-F	C ₃ H ₇	COOCH(CH ₃) ₂	110
41	6-F	C ₄ H ₉	COOCH(CH ₃) ₂	
42	6-F	CH ₃ SCH ₂	COOCH(CH ₃) ₂	136
43	6-CH ₃ O	C ₂ H ₅	COOCH(CH ₃) ₂	olej
44	6-CH ₃ O	C ₃ H ₇	COOCH(CH ₃) ₂	153
45	6-CH ₃ O	C ₄ H ₉	COOCH(CH ₃) ₂	
46	6-CH ₃ O	HO-CH ₂	COOCH(CH ₃) ₂	živica
47	6-CH ₃ O	CH ₃ CH(OH)-	COOCH(CH ₃) ₂	živica
48	6-CH ₃ O	CH ₃ O-CH ₂	COOCH(CH ₃) ₂	98
49	6-C ₂ H ₅ O	C ₂ H ₅	COOCH(CH ₃) ₂	
50	6-C ₂ H ₅ O	C ₃ H ₇	COOCH(CH ₃) ₂	
51	6-C ₂ H ₅ O	CH ₃ O-CH ₂	COOCH(CH ₃) ₂	
52	6-C ₂ H ₅ O	CH ₃ SCH ₂	COOCH(CH ₃) ₂	112
53	6-C ₃ H ₇ O	C ₂ H ₅	COOCH(CH ₃) ₂	
54	6-C ₃ H ₇ O	CH ₃ SCH ₂	COOCH(CH ₃) ₂	105

Príklad č.	R ¹ _n	R ²	R ³	Teplota topenia °C,
55	H (n = 0)	C ₂ H ₅	COOC(CH ₃)=CH ₂	
56	H (n = 0)	CH ₃ SCH ₂	COOC(CH ₃)=CH ₂	
57	6-Cl	C ₂ H ₅	COOC(CH ₃)=CH ₂	143
58	6-Cl	C ₂ H ₅	COOCH ₂ CH=CH ₂	122-124
59	6-Cl	CH ₃ SCH ₂	COOC(CH ₃)=CH ₂	182
60	6-Cl	CH ₃ SCH ₂	COOC ₃ H ₇	68
61	6-Cl	CH ₃ SCH ₂	COOC ₂ H ₅	143
62	6-F	C ₂ H ₅	COOC(CH ₃)=CH ₂	125
63	6-F	C ₃ H ₇	COOC(CH ₃)=CH ₂	
64	6-F	CH ₃ SCH ₂	COOC(CH ₃)=CH ₂	
65	6-CH ₃ O	C ₂ H ₅	COOC(CH ₃)=CH ₂	
66	6-CH ₃ O	C ₃ H ₇	COOC(CH ₃)=CH ₂	
67	6-CH ₃ O	CH ₃ O-CH ₂	COOC(CH ₃)=CH ₂	
68	6-CH ₃ O	CH ₃ SCH ₂	COOC(CH ₃)=CH ₂	152
69	6-CH ₃ O	CH ₃ SCH ₂	COOCH ₂ CH(CH ₃)-C ₂ H ₅	
70	6-C ₂ H ₅ O	C ₂ H ₅	COOC(CH ₃)=CH ₂	
71	6-C ₂ H ₅ O	C ₃ H ₇	COOC(CH ₃)=CH ₂	
72	6-C ₂ H ₅ O	CH ₃ O-CH ₂	COOC(CH ₃)=CH ₂	
73	6-C ₂ H ₅ O	CH ₃ SCH ₂	COOC(CH ₃)=CH ₂	
74	H (n = 0)	C ₂ H ₅	COOC ₂ H ₅	
75	H (n = 0)	C ₃ H ₇	COOC ₂ H ₅	
76	H (n = 0)	CH ₃ SCH ₂	COOC ₂ H ₅	
77	6-Cl	C ₂ H ₅	COOC ₂ H ₅	

Príklad č.	R ¹ _n	R ²	R ³	Teplota topenia °C
78	6-F	C ₂ H ₅	COOC ₂ H ₅	116
79	6-F	CH ₃ SCH ₂	COOC ₂ H ₅	
80	6-CH ₃ O	C ₂ H ₅	COOC ₂ H ₅	
81	6-CH ₃ O	CH ₃ O-CH ₂	COOC ₂ H ₅	
82	6-CH ₃ O	CH ₃ SCH ₂	COOC ₂ H ₅	
83	6-C ₂ H ₅ O	C ₂ H ₅	COOC ₂ H ₅	
84	6-C ₂ H ₅ O	CH ₃ SCH ₂	COOC ₂ H ₅	

Príklad č.	R ¹ _n	R ²	R ³	Teplota topenia °C
84a	6-OH	CH ₃ SCH ₂	COOCH(CH ₃) ₂	182
84b	6-OH	C ₂ H ₅	COOCH(CH ₃) ₂	201
84c	6-Cl	CH ₃	COOC ₂ H ₅	151
84d	6-Cl	C ₄ H ₉	COOC(CH ₃)=CH ₂	158
84e	6-Cl	CH ₃ SCH ₂	COOC ₂ H ₅	143
84f	6-Cl	CH ₃ SCH ₂	COOC ₃ H ₇	68
84g	6-CH ₃ O	CH ₃ SCH ₂	COOCH(CH ₃)-C ₂ H ₅	86
84h	6-CH ₃ O	CH ₃ SCH ₂	COOCH ₂ CH(CH ₃) ₂	60
84i	6-F	CH ₃	COOCH(CH ₃) ₂	151
84j	6-F	C ₂ H ₅	COOCH(CH ₃)-C ₂ H ₅	živica
84k	6-F	C ₂ H ₅	COOCH ₃	50
84l	6-F	C ₂ H ₅	COOC ₄ H ₉	92
84m	6-F	C ₂ H ₅	COOCH ₂ CH(CH ₃) ₂	90
84n	6-F	CH ₂ OH	COOCH(CH ₃) ₂	živica
84o	6-F	CH ₃ OCH ₂	COOCH(CH ₃) ₂	114

Príklad 85

S-4-izopropoxykarbonyl-6-metoxy-3-(metyltiometyl)-3,4-dihydrochinaxolín-2(1H)-tión

16,1 g zlúčeniny z príkladu 29 (0,05 mol) sa rozpustí v 200 ml bezvodého dimetoxyetánu a pod atmosférou argónu a za súčasného miešania sa mieša z 13 g jemne rozomletého sulfidu fosforečného (0,06 mol), potom sa reakčná zmes mieša pri teplote miestnosti. Po 24 hodinách nie je ešte reakcia ukončená, takže sa pridajú ešte ďalšie 4 g sulfidu fosforečného. Po 24 hodinách pri teplote miestnosti sa mieša ešte 3 hodiny pri 30°C. Pevné látky sa odsajú a premyjú dimetoxyetánom. Spojené filtráty sa odparia pri zníženom tlaku. Ostávajúci tmavý olej sa vyextrahuje do 250 ml MTB-éteru a titruje sa s 200 ml nasýteného roztoku hydrogénuhličitanu sodného. Fáze sa rozdelia, vodná fáza sa extrahuje ešte raz s 20 ml MTB-éteru. Organické extrakty sa vysušia nad síranom horečnatým alebo síranom sodným a odstredia sa.

Zostávajúci žltohnedý olej sa rozpustí za horúca v 30 ml diizopropyléteru. Po ochladení pri miešaní vykryštalizuje. Vylúčené kryštály sa premyjú malým množstvom diizopropyléteru a n-pentánu a vysušia sa v exsikátore.

Výťažok je 91,4 g a teplota topenia je 103°C.

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, d_6 -DMSO): δ = 1,27 (2d, J = 7 Hz, 6H, 2 izopropyl- CH_3), 2,1 (s, 3H, SCH_3), 2,34 + 2,79 (dq_{AB} , 2H, $-\text{CH}_2-\text{S}$), 3,75 (s, 3H, MeO), 4,97 (m, J = 7 Hz, 1H, izopropyl-CH), 5,25 (q, 1H, CH), 6,75 - 7,3 (m, 3H, aromáty), 12,73 (s, 1H, tioamid).

MS: chemická ionizácia, (M + H) = 341,

HPLC: 99,6% čistota, 99,4% S-enantioméru

Optická rotácia: $[\alpha]_D^{22} = 18^\circ$ (c = 1 v metanole)

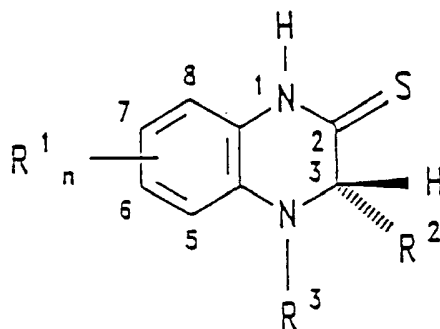
Chemická analýza:

vypočítané: 52,9% C, 5,9% H, 8,4% N, 18,8% S

nájdené : 52,9% C, 5,3% H, 8,3% N, 18,6% S

Analogickým spôsobom ako v príklade 85 je možné napríklad použitím zlúčenín všeobecného vzorca $I \text{ s } X = O$, ktoré sú napríklad uvedené v príkladoch 30 až 84, reakciou so zodpovedajúcimi činidlami získať nasledujúce zlúčeniny všeobecného vzorca $I \text{ s } X = S$:

Tabuľka 3



Príklad č.	R^1_n	R^2	R^3	Teplota topenia $^{\circ}C$
86	H (n = 0)	C_2H_5	$COOCH(CH_3)_2$	114
87	H (n = 0)	C_3H_7	$COOCH(CH_3)_2$	128
88	H (n = 0)	C_4H_9	$COOCH(CH_3)_2$	78
89	H (n = 0)	$HO-CH_2$	$COOCH(CH_3)_2$	
90	H (n = 0)	CH_3SCH_2	$COOCH(CH_3)_2$	olej
91	6-Cl	C_2H_5	$COOCH(CH_3)_2$	161
92	6-Cl	C_3H_7	$COOCH(CH_3)_2$	
93	6-Cl	C_4H_9	$COOCH(CH_3)_2$	
94	6-Cl	CH_3SCH_2	$COOCH(CH_3)_2$	124
95	6-F	C_2H_5	$COOCH(CH_3)_2$	93
96	6-F	C_3H_7	$COOCH(CH_3)_2$	60
97	6-F	C_4H_9	$COOCH(CH_3)_2$	
98	6-F	CH_3SCH_2	$COOCH(CH_3)_2$	122
99	6- CH_3 O	C_2H_5	$COOCH(CH_3)_2$	74
100	6- CH_3 O	C_3H_7	$COOCH(CH_3)_2$	140
101	6- CH_3 O	C_4H_9	$COOCH(CH_3)_2$	
102	6- CH_3 O	$HO-CH_2$	$COOCH(CH_3)_2$	

Príklad č.	R ¹ _n	R ²	R ³	Teplota topenia °C
103	6-CH ₃ O	CH ₃ CH(OH)-	COOCH(CH ₃) ₂	
104	6-CH ₃ O	CH ₃ O-CH ₂	COOCH(CH ₃) ₂	137
105	6-C ₂ H ₅ O	C ₂ H ₅	COOCH(CH ₃) ₂	
106	6-C ₂ H ₅ O	C ₃ H ₇	COOCH(CH ₃) ₂	
107	6-C ₂ H ₅ O	CH ₃ O-CH ₂	COOCH(CH ₃) ₂	
108	6-C ₂ H ₅ O	CH ₃ SCH ₂	COOCH(CH ₃) ₂	olej
109	6-C ₃ H ₇ O	C ₂ H ₅	COOCH(CH ₃) ₂	
110	6-C ₃ H ₇ O	CH ₃ SCH ₂	COOCH(CH ₃) ₂	živica

Príklad č.	R ¹ _n	R ²	R ³	Teplota topenia °C
111	H (n = 0)	C ₂ H ₅	COOC(CH ₃)=CH ₂	
112	H (n = 0)	CH ₃ SCH ₂	COOC(CH ₃)=CH ₂	
113	6-Cl	C ₂ H ₅	COOC(CH ₃)=CH ₂	170
114	6-Cl	C ₂ H ₅	COOCH ₂ CH=CH ₂	123
115	6-Cl	CH ₃ SCH ₂	COOC(CH ₃)=CH ₂	123
116	6-Cl	CH ₃ SCH ₂	COOC ₃ H ₇	
117	6-Cl	CH ₃ SCH ₂	COOC ₂ H ₅	
118	6-F	C ₂ H ₅	COOC(CH ₃)=CH ₂	
119	6-F	C ₃ H ₇	COOC(CH ₃)=CH ₂	
120	6-F	CH ₃ SCH ₂	COOC(CH ₃)=CH ₂	
121	6-CH ₃ O	C ₂ H ₅	COOC(CH ₃)=CH ₂	

Príklad č.	R ¹ _n	R ²	R ³	Teplota topenia °C
122	6-CH ₃ O	C ₃ H ₇	COOC(CH ₃)=CH ₂	
123	6-CH ₃ O	CH ₃ O-CH ₂	COOC(CH ₃)=CH ₂	
124	6-CH ₃ O	CH ₃ SCH ₂	COOC(CH ₃)=CH ₂	152
125	6-CH ₃ O	CH ₃ SCH ₂	COOCH ₂ CH(CH ₃)-C ₂ H ₅	
126	6-C ₂ H ₅ O	C ₂ H ₅	COOC(CH ₃)=CH ₂	
127	6-C ₂ H ₅ O	C ₃ H ₇	COOC(CH ₃)=CH ₂	
128	6-C ₂ H ₅ O	CH ₃ O-CH ₂	COOC(CH ₃)=CH ₂	
129	6-C ₂ H ₅ O	CH ₃ SCH ₂	COOC(CH ₃)=CH ₂	
130	H (n = 0)	C ₂ H ₅	COOC ₂ H ₅	
131	H (n = 0)	C ₃ H ₇	COOC ₂ H ₅	
132	H (n = 0)	CH ₃ SCH ₂	COOC ₂ H ₅	
133	6-Cl	C ₂ H ₅	COOC ₂ H ₅	
134	6-F	C ₂ H ₅	COOC ₂ H ₅	živica
135	6-F	CH ₃ SCH ₂	COOC ₂ H ₅	
136	6-CH ₃ O	C ₂ H ₅	COOC ₂ H ₅	
137	6-CH ₃ O	CH ₃ O-CH ₂	COOC ₂ H ₅	
138	6-CH ₃ O	CH ₃ SCH ₂	COOC ₂ H ₅	
139	6-C ₂ H ₅ O	C ₂ H ₅	COOC ₂ H ₅	
140	6-C ₂ H ₅ O	CH ₃ SCH ₂	COOC ₂ H ₅	

Príklad č.	R ¹ _n	R ²	R ³	Teplota topenia °C
140a	6-OH	CH ₃ SCH ₂	COOCH(CH ₃) ₂	113
140b	6-OH	C ₂ H ₅	COOCH(CH ₃) ₂	živica
140c	6-Cl	CH ₃	COOCH ₂ CH=CH ₂	144
140d	6-Cl	CH ₃	COOC(CH ₃)=CH ₂	149
140e	6-Cl	C ₄ H ₉	COOC(CH ₃)=CH ₂	132
140f	6-CH ₃ O	CH ₃ SCH ₂	COOCH(CH ₃)-C ₂ H ₅	60
140g	6-CH ₃ O	CH ₃ SCH ₂	COOCH ₂ CH(CH ₃) ₂	89
140h	6-F	C ₂ H ₅	COOCH ₃	146
140i	6-F	C ₂ H ₅	COOC ₄ H ₉	103
140j	6-F	C ₂ H ₅	COOCH ₂ CH(CH ₃) ₂	živica
140k	6-F	C ₂ H ₅	COOCH(CH ₃)-C ₂ H ₅	51
140l	6-F	CH ₃ OCH ₂	COOCH(CH ₃) ₂	143

Testy účinnosti:

Skúšanie prostriedkov proti HIV v bunkovej štruktúre

Opis metódy:

Médium: RPMI, pH 6,8

Kompletné médium obsahuje dodatočne 20% fetálneho telacieho séra a 40 IU/ml rekombinantného interleukínu 2.

Bunky:

Z čerstvej darcovskej krvi sa odstredení v gradiente Ficoll[®] izolované leukocyty kultivujú pri prídavku 2 g/ml fytohemaglutinínu (Wellcome) 36 hodín v kompletnom médiu pri 37 °C pod 5% oxidu uhličitého. Bunky sa zmrazia po pridaní dimetylsulfoxidu (DMSO) pri hustote buniek 4×10^6 a uložia sa v kvapalnom dusíku. Na pokus sa bunky rozmrazia, premyjú sa v médiu RPMI a kultivujú sa 3 až 4 dni v kompletnom médiu.

Celkové usporiadanie:

Testované prostriedky sa rozpustili v koncentrácii 16,7 mg/ml v DMSO a zriedili sa v kompletnom médiu na 1 mg/ml. Na doštičky s 24 otvormi sa uložilo 0,4 ml média. Po pridaní 0,1 ml rozpusteného prostriedku do horného radu doštičky sa dosiahol prenesením vždy 0,1 ml geometrický rad riedenia. Kontrolы bez prostriedku obsahovali 0,4 ml kompletného média s 0,5% DMSO.

Kultúry lymfocytov s počtom buniek 5×10^5 buniek/ml boli infikované prídavkom 1/50 objemu supernatantu z HIV infikovaných kultúr lymfocytov. Titer týchto supernatantov kultúr bol stanovený konečným riedením pomocou 1 až 5×10^6 infekčných jednotiek. Po 30 minútach inkubácie pri 37 °C sa infikované lymfocyty odstredili a znovu sa vybrali do rovnakého objemu média. Z tejto suspenzie buniek sa vložilo vždy 0,6 ml do všetkých otvorov doštičky. Vzorky sa inkubovali 3 dni pri 37 °C.

Vyhodnotenie:

Infikované bunkové kultúry boli skúmané pod mikroskopom na prítomnosť obrích buniek, ktoré poukazujú na aktívne množenie vírusu v kultúre. Najmenšia koncentrácia, pri ktorej sa nevyskytli žiadne obrie bunky, bola stanovená ako inhibičná koncentrácia proti HIV. Na kontrolu boli skúmané supernatanty z kultivačných doštičiek pomocou testu na HIV-antigén podľa údajov výrobcu (Organon) na prítomnosť HIV-antigénu.

Výsledky:

Tabuľka 4

Zlúčenina z príkladu č.	Pokus s kultúrou T-buniek MHK EC ₅₀ (ng/ml)
29	<8
30	<40
31	50
34	<1
35	<80
38	<1
42	<8
43	<1
44	<80
52	<8
54	40
57	1
58	10

Zlúčenina z príkladu č.	Pokus s kultúrou T-buniek MHK EC ₅₀ (ng/ml)
59	20
60	40
61	2
68	8
85	2
86	1
87	4
88	<40
90	<8
91	2
94	<8
95	2
99	<1
100	4
108	<5
110	4
113	0,8
114	1,6
115	1,6
124	<8

Zlúčenina z príkladu č.	Pokus s kultúrou T-buniek MHK EC ₅₀ (ng/ml)
39	8
40	80
62	80
78	<80
84i	80
84j	<80
84l	80
84c	80
96	80
98	3
104	8
134	8
140a	40
140b	<80
140c	40
140d	10
140f	8
140g	40
140h	10
140i	10
140j	10
140k	8
140l	8

Testovanie látok na inhibíciu reverznej transkriptázy z HIV

Aktivita reverznej transkriptázy (RT) bola stanovená pomocou "Scintillation Proximity Assay" (SPA).

Reakčný súbor pre RT-SPA bol odobraný od firmy Amersham/Buchler (Braunschweig). Enzým RT (z HIV klonovaný v *E. coli*) pochádzal od firmy HT-Biotechnology Ltd., Cambridge, Anglicko.

Celkové usporiadanie:

Test bol uskutočnený podľa manuálu výrobcu Amersham s nasledujúcimi modifikáciami:

- ku vzorkovému pufre bol pridaný hovädzí albumín na konečnú koncentráciu 0,5 mg/ml,
- test bol uskutočnený v Eppendorfových reakčných nádobách s objemom vzoriek 100 μ l,
- RT-koncentrát výrobcu (5000 U/ml) bol zriedený v tris-HCl pufre 20 mM, pH 7,2, 30% glycerínu na aktivitu 15 U/ml,
- inkubačná doba vzoriek bola 60 minút pri 37 °C,
- po zastavení reakcie a vyvíjaní s perlovou suspenziou sa 130 μ l vzorky v 4,5 ml tris-HCl pufre, 10 mM, pH 7,4, 0,15 M NaCl transférovalo a aktivita trícia sa zmerala v β - počítači.

Skúšanie substancií

Na predbežné skúšanie inhibičnej aktivity sa substancie rozpustili v DMSO (koncentrácia základného roztoku bola 1 mg/ml) a testovali sa pri zriedení v DMSO 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} atď.

Na stanovenie hodnôt IC_{50} sa inhibičné základné roztoky v tris-HCl pufre, 50 mM, pH 8, ďalej zriedili a vo vhodných koncentráciách testovali.

Z grafického znázornenia aktivity RT oproti $\log C_{inh}$ bola zistená koncentrácia zodpovedajúca 50% inhibícii enzýmu.

Výsledky skúšok ukazuje tabuľka 5

Tabuľka 5

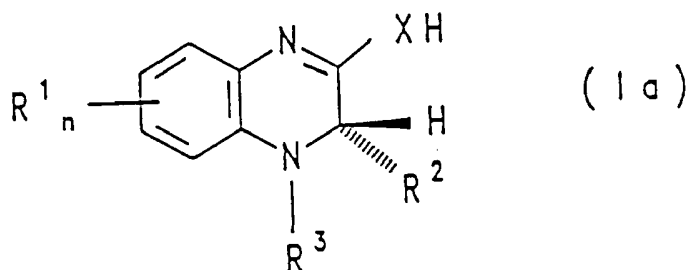
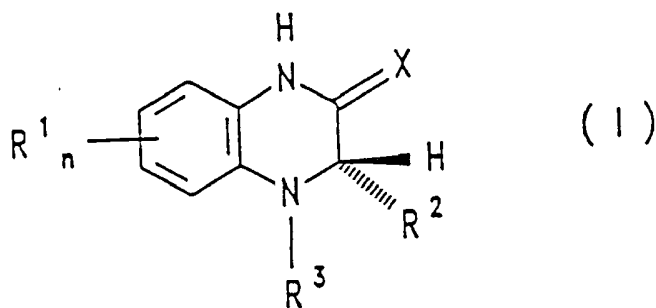
Zlúčenina z príkladu č.	Pokus s reverznou transkriptázou IC_{50} (ng/ml)
29	10-100
34	10-100
35	10
38	5
52	10-100
57	10-100
58	10-100
59	18
60	10
61	10-100
68	16
85	8
86	11
87	27
90	5
91	4
94	15

Zlúčenina z príkladu č.	Pokus s reverznou transkriptázou IC ₅₀ (ng/ml)
99	11
100	16
108	8
110	10-100
113	6
114	7
115	10
125	15

Zlúčenina z príkladu č.	Pokus s reverznou transkriptázou IC ₅₀ (ng/ml)
39'	20
40	10-100
62	92
78	80
84g	118
84i	170
84j	87
84l	150
96	16
98	12
104	35
134	3
140a	93
140b	70
140c	110
140d	27
140f	19
140g	17
140h	8
140i	22
140j	15
140k	16
140l	22

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Chinoxalíny všeobecného vzorca I a Ia



ako aj ich fyziologicky prijateľné soli a prekurzory liekov, pričom vo všeobecných vzorcoch I a Ia:

n sa rovná číslu nula, jedna alebo dva,

R¹ je atóm fluóru, chlóru, hydroxylová skupina, alkoxykupina s 1 až 3 atómami uhlíka,

R² je alkylová skupina s 1 až 4 atómami uhlíka, prípadne sub-

stituoaná hydroxylovou skupinou, alkoxykupinou s 1 až 4 atómami uhlíka alebo alkyltioskupinou s 1 až 4 atómami uhlíka,

R^3 je alkyloxykarbonylová skupina s 1 až 6 atómami uhlíka alebo alkenyloxykarbonylová skupina s 2 až 6 atómami uhlíka a

X je atóm kyslíka, síry alebo selénu.

2. Chinoxalíny všeobecného vzorca I prípadne Ia podľa nároku 1, v y z n a č u j ú c e s a t ý m, že substituenty v uvedených vzorcoch majú nasledujúci význam:

n sa rovná číslu nula alebo jedna,

R^1 predstavuje atóm fluóru, chlóru, hydroxylovú skupinu, alkoxykupinu s 1 až 3 atómami uhlíka,

R^2 predstavuje alkylovú skupinu s 1 až 4 atómami uhlíka, prípadne substituovanú hydroxylovou skupinou, alkoxykupinou s 1 až 4 atómami uhlíka alebo alkyltioskupinou s 1 až 4 atómami uhlíka,

R^3 je alkyloxykarbonylová skupina s 1 až 4 atómami uhlíka alebo alkenyloxykarbonylová skupina s 2 až 4 atómami uhlíka a

X je atóm kyslíka alebo síry.

3. Chinoxalíny všeobecného vzorca I prípadne Ia podľa nárokov 1 alebo 2, v y z n a č u j ú c e s a t ý m, že substituenty v uvedených vzorcoch majú nasledujúci význam:

n sa rovná nule alebo jednej

R^1 predstavuje atóm fluóru, chlóru, metoxykupinu, etoxykupinu, propoxykupinu,

R^2 je metyltiometylová skupina, etylová skupina, propylová skupina, alkylová skupina s 1 alebo 2 atómami uhlíka substituovanú hydroxylovou skupinou alebo alkoxykupinou s 1 až 4 atómami uhlíka,

R^3 je alkoxykarbonylová skupina s 1 až 4 atómami uhlíka alebo alkenyloxykarbonylová skupina s 2 až 4 atómami uhlíka,

X je atóm kyslíka alebo síry.

4. Chinoxalíny všeobecného vzorca I alebo Ia podľa nárokov 1 až 3, v y z n a č u j ú c e s a t ý m, že substituenty v uvedených vzorcoch majú nasledujúci význam:

n sa rovná nule alebo jednej,

R^1 predstavuje atóm fluóru, chlóru, metoxyskupinu, etoxyskupinu,

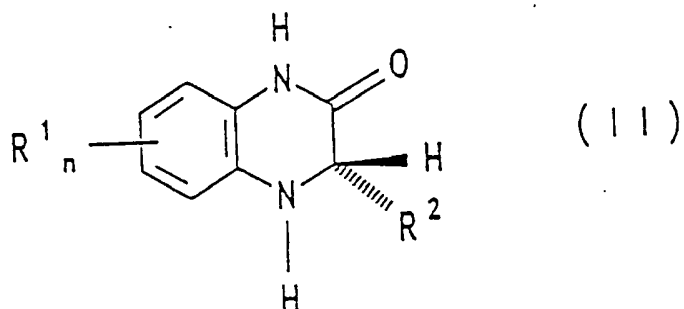
R^2 predstavuje metyltiometylovú skupinu, etylovú skupinu, propylovú skupinu, alkylovú skupinu s 1 alebo 2 atómami uhlíka substituovanú hydroxylovou skupinou alebo alkoxykupinou s 1 až 4 atómami uhlíka,

R^3 predstavuje alkyloxykarbonylovú skupinu s 1 až atómami uhlíka alebo alkenyloxykarbonylovú skupinu s 2 až 4 atómami uhlíka,

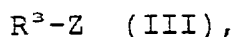
X je atóm kyslíka alebo síry.

5. Spôsob výroby chinoxalínov všeobecného vzorca I prípadne Ia podľa nároku 1, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že sa

A) na výrobu zlúčenín všeobecného vzorca I, v ktorom X znamená atóm kyslíka a zvyšky R^1 , R^2 a R^3 majú význam definovaný v nárokoch 1 až 4, nechá reagovať zlúčenina všeobecného vzorca II



v ktorom R^1 a R^2 majú význam uvedený v nárokoch 1 až 4, so zlúčeninou všeobecného vzorca III



v ktorom R^3 má význam uvedený v nárokoch 1 až 4 a Z je odštiepujúca sa skupina ako napríklad chlór, alebo, že sa

B) zlúčeniny všeobecného vzorca I, v ktorom X znamená atóm síry a R^1 , R^2 a R^3 majú význam uvedený v nárokoch 1 až 4, vyrábajú reakciou zlúčeniny všeobecného vzorca I, v ktorom X znamená atóm kyslíka a R^1 , R^2 a R^3 majú význam uvedený v nárokoch 1 až 4, so sulfuračným reakčným činidlom.

6. Použitie zlúčenín všeobecného vzorca I prípadne Ia podľa nárokov 1 až 4 ako liečiva.

7. Liečivo ^{význač. sa týka} obsahujúce účinné množstvo najmenej jednej zlúčeniny všeobecného vzorca I prípadne Ia podľa nárokov 1 až 4.

8. Spôsob výroby liečiva podľa podľa nároku 7,

v y z n a č u j ú c i s a t ý m, ž e s a účinné množstvo zlúčeniny všeobecného vzorca I prípadne Ia upraví s obvyklými pomocnými farmaceutickými látkami do vhodnej aplikačnej formy.

✓9. Použitie zlúčenín všeobecného vzorca I prípadne Ia podľa nárokov 1 až 4 na výrobu liečiv na liečbu vírusových ochorení.